



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

MARIA MARIANA BARROS MELO DA SILVEIRA

**IMPACTO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS E GALECTINA-3 NA FIBROSE
DO ÁTRIO ESQUERDO EM PACIENTES COM FIBRILAÇÃO ATRIAL**

Recife
2022

MARIA MARIANA BARROS MELO DA SILVEIRA

**IMPACTO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS E GALECTINA-3 NA FIBROSE
DO ÁTRIO ESQUERDO EM PACIENTES COM FIBRILAÇÃO ATRIAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de doutor em Inovação Terapêutica. Área de concentração: Fármacos, medicamentos e insumos essenciais para a saúde.

Orientador: Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Dário Celestino Sobral Filho

Coorientador: Prof. Dr. Luydson Richardson da Silva Vasconcelos

Recife

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Silveira, Maria Mariana Barros Melo da

Impacto dos polimorfismos genéticos e galectina-3 na fibrose do átrio esquerdo em pacientes com fibrilação atrial/ Maria Mariana Barros Melo da Silveira– 2022.

114 f. : il., fig., tab.

Orientador: Dinaldo Cavalcanti de Oliveira

Coorientadores: Dário Celestino Sobral Filho e Luydson Richardson da Silva Vasconcelos

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, Recife, 2022.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Fibrilação atrial 2. Ecocardiograma 3. Polimorfismos (Genética) I. Oliveira, Dinaldo Cavalcanti de (orient.) II. Sobral Filho, Dário Celestino (coorient.) III. Vasconcelos, Luydson Richardson da Silva (coorient.) IV. Título

616.128

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022 -230

MARIA MARIANA BARROS MELO DA SILVEIRA

**IMPACTO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS E GALECTINA-3 NA FIBROSE
DO ÁTRIO ESQUERDO EM PACIENTES COM FIBRILAÇÃO ATRIAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de doutor em Inovação Terapêutica. Área de concentração: Fármacos, medicamentos e insumos essenciais para a saúde.

Aprovado em: 31/10/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof^a. Dra. Taciana Furtado de Mendonça Belmont (Examinador Externo)
Universidade de Pernambuco – UPE

Prof^a. Dra. Amanda Tavares Xavier (Examinador Externo)
Universidade de Pernambuco – UPE

Prof. Dr. Augusto Cézar Lacerda Brasileiro (Examinador Externo)
Faculdade de Medicina Nova Esperança - FAMENE

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por todas as bênçãos derramadas, todas as oportunidades enviadas e por estar comigo em todos os momentos.

À minha mãe **Conceição**, minha base, meu espelho, meu exemplo, a quem eu devo o que sou hoje. A senhora sempre deu mais do que podia. Obrigada por todo amor e carinho. Ao meu padrasto **Antonio**, por toda dedicação e carinho por nossa família.

Aos meus irmãos **Adriano e Fernando** que junto com minha mãe sempre me apoiaram e me incentivaram a ser o que sou. Obrigada pela confiança e torcida.

Ao meu marido **Igor**, que me acompanha desde a escola, sempre confiou e acreditou no meu potencial, até mesmo mais do que eu. Obrigada por sempre me enxergar melhor do que realmente sou e por me lembrar do quanto eu sou capaz. E a família **Menezes**, obrigada por me acolherem como integrante da família de vocês.

As minhas cunhadas **Kalynne e Lenita** por estarem junto comigo.

Aos meus professores e orientadores **Dr. Dinaldo Cavalcanti, Dr. Dário Sobral e Dr Luydson Vasconcelos**, por me darem a oportunidade de trabalhar com vocês, acreditarem no meu potencial, pelos ensinamentos e orientações.

Aos **amigos da vida, escola, faculdade, vida acadêmica e trabalho** que não serão citados todos por serem muitos, obrigada pelo carinho e me perdoem os momentos de ausência.

Aos amigos, em especial, **Christefany, Amanda, Victor, Leiliandry, Kleyton e Andrey**. Obrigada por auxiliarem na condução da pesquisa e por serem ouvido e acalento nos momentos de surto.

Ao secretário do programa de pós-graduação, **Paulo**, por sua paciência, competência e dedicação ao programa.

A equipe de pesquisa do PROCAPE, **Cleide, Gildo, Clara, Simone, Lidianne Lucas, Gabriela, Priscilla, Julio, Viviane e Nathalia**, pelo apoio e confiança que depositam em mim e por toda ajuda.

A meus cachorros, **Sherlock e Cruella**, por trazerem sempre alegria a casa, pela companhia nos momentos (que antes solitários) de escrita da tese e estudos, eles não largam do meu pé nesses momentos.

RESUMO

A fibrilação atrial (FA) é a arritmia sustentada mais comum na prática clínica. Além de sua importância epidemiológica, a FA é destacada por suas repercussões incluindo fenômenos tromboembólicos, hospitalizações e alta taxa de morbimortalidade. Seu mecanismo fisiopatológico é complexo, envolvendo uma associação de fatores hemodinâmicos, estruturais, eletrofisiológicos e autonômicos e sendo conhecido por incluir fibrose. Como possível biomarcador, a Galectina-3 (Gal-3) uma lectina de ligação à β -galactosidase, foi descrita como um mediador de fibrose cardíaca e aparece elevada em algumas cardiopatias. Os biomarcadores podem ser úteis para melhorar a precisão da avaliação clínica, dentre eles, os polimorfismos descritos na literatura que envolve o processo fisiopatológico da FA como, *CAV1*, *HCN4* e *KCNN3*, além do *LGALS3* envolvido no processo fibrótico. Existem alguns parâmetros eletrocardiográficos bem estabelecidos, mas poucos marcadores sorológicos, genéticos e ecocardiográficos definidos para fibrose atrial e FA. Assim o objetivo desse estudo foi verificar a associação entre os níveis séricos e expressão gênica da Gal-3, a presença de polimorfismos em genes envolvidos no processo fibrótico e canais iônicos com os parâmetros ecocardiográficos sugestivos de fibrose atrial. Para isso, foi realizado um estudo do tipo corte transversal, com comparação de grupos e foram incluídos 206 pacientes com FA permanente e 70 com FA paroxística. Os SNPs rs4652 e 4644 do gene *LGALS3*, bem como genes envolvidos com os canais iônicos foram estudados usando o sistema de PCR em tempo real TaqMan. Os níveis séricos de GAL-3 foram medidos por ELISA e foi realizado ecocardiograma *speckle-tracking* (EST). Os valores estatísticos foram significantes quando $p < 0,05$. Como resultados, os indivíduos com FA permanente apresentaram média de idade de 66.56 ± 12 anos (50.5%) e eram do sexo masculino.

Os parâmetros ecocardiográficos no grupo FA permanente quando comparados ao grupo FA paroxística apresentaram significância estatística, diâmetro de átrio esquerdo (AE) ($p=0.007$), volume de AE ($p=0.02$) e volume indexado pela superfície corpórea ($p=0.04$), além do *strain* longitudinal de átrio esquerdo (SLAE) ($p=0.002$). Não houve associação entre os genótipos dos genes *HCN4*, *KCNN3*, *CAV1* e *LGALS3* dos SNPs rs4652 e rs4644 e o tipo de FA. A expressão de mRNA da Gal-3, quando comparada entre os tipos de FA não apresentou associação. O grupo FA permanente teve correlação com níveis séricos de Gal-3 quando comparado ao SLAE ($r=0.24$; $p=0.01$). Nesse estudo o diâmetro de AE, volume de AE, volume de AE/superfície corpórea e o *strain* longitudinal de AE tiveram associação quando comparados entre os grupos de FA permanente e paroxística. O EST pode ser usado para avaliar a fibrose atrial como marcador de remodelação e para detectar disfunção precoce do AE mesmo antes das alterações estruturais. A distribuição das frequências alélicas, genotípicas e dos haplótipos do polimorfismo *LGALS3* rs4652 e rs4644 não apresentou variação estatística, o que sugere que estes SNPs não possuem associação com as formas clínicas da FA (permanente e paroxística).

Palavras-chave: Fibrilação Atrial; Fibrose Atrial; Galectina-3; Polimorfismo Genético; Ecocardiograma *Speckle-Tracking*.

ABSTRACT

Atrial fibrillation (AF) is the most common sustained arrhythmia in clinical practice, in addition to its epidemiological importance; AF is highlighted by its clinical repercussions, including thromboembolic phenomena, hospitalizations and higher mortality rate. Its pathophysiological mechanism is complex, involving an association of hemodynamic, structural, electrophysiological and autonomic factors and being known include fibrosis. As a possible biomarker, Galectin-3 (Gal-3), a β -galactosidase binding lectin, has been described as a mediator of cardiac fibrosis and appears elevated in some heart diseases. In clinical practice, biomarkers can be useful to improve the accuracy of clinical assessment, among them, the polymorphisms described in the literature that involve the pathophysiological process of AF such as *CAV1*, *HCN4* and *KCNN3*, in addition to *LGALS3* involved in the fibrotic process. There are some established electrocardiographic parameters, but few defined serological, genetic and echocardiographic markers for atrial fibrosis and AF. The objective of the study was to verify the association between serum levels and gene expression of Gal-3, the presence of polymorphisms in genes involved in the fibrotic process and ion channels with echocardiographic parameters suggestive of atrial fibrosis. The study included 206 patients with permanent AF and 70 with paroxysmal AF. The rs4652 and 4644 SNPs of the *LGALS3* gene, as well as genes involved with ion channels were studied using the TaqMan real-time PCR system. Serum GAL-3 levels were measured by ELISA and speckle-tracking echocardiography (STE) was performed. Statistical values were significant when $p < 0.05$. As a result, individuals with permanent AF had a mean age of 66.56 ± 12 years, 50.5% were mostly male. As for the echocardiographic parameters in the permanent AF group when compared to the paroxysmal AF group, they showed statistical significance, left atrial (LA) diameter ($p = 0.007$), LA volume ($p = 0.02$) and volume indexed by body surface ($p = 0.04$), in addition to left atrial longitudinal strain (SLAE) values ($p = 0.002$). There was no association between the genotypes of genes *HCN4*, *KCNN3*, *CAV1* and *LGALS3* of SNPs rs4652 and rs4644 and the type of AF. The expression of Gal-3 mRNA, when compared between the types of AF, was not associated, the permanent AF group had a correlation with serum levels of Gal-3 when compared to SLAE ($r = 0.24$; $p = 0.01$). In this study, LA diameter, LA volume, LA volume/body surface and LA longitudinal strain were associated when compared

between the permanent and paroxysmal AF groups. STE can be used to assess atrial fibrosis and serves as a marker of LA remodeling to detect early LA dysfunction even before structural changes in the left atrium. The distribution of allelic, genotypic and haplotype frequencies of the *LGALS3* rs4652 and rs4644 polymorphism did not show statistical variation, which suggests that these SNPs are not associated with the clinical forms of AF (permanent and paroxysmal).

Keywords: Atrial Fibrillation; Atrial Fibrosis; Galectin-3; Genetic Polymorphism; Speckle-Tracking Echocardiography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Prevalência da fibrilação atrial associada ao incremento da idade.	22
Figura 2 –	Deformação (<i>strain</i>) de átrio esquerdo pelo método <i>speckle-tracking</i> .	26
Figura 3 –	Representação esquemática da estrutura proteica da família das caveolinas.	28
Figura 4 –	Localização gênica da <i>CAV1</i> no cromossomo 7.	29
Figura 5 –	Localização gênica do <i>HCN4</i> no cromossomo 15.	31
Figura 6 -	A infecção, vias inflamatórias e de lesão impulsionadas pela galectina-3 que levam à fibrose do órgão.	33
Figura 1		
Artigo –	Níveis de mRNA do gene <i>LGALS3</i> e quantificação sérica da galectina-3 em pacientes com FA.	50
Figura 2	Correlação dos níveis séricos da galectina-3 e o mRNA do gene <i>LGALS3</i> com o <i>strain</i> de átrio esquerdo.	52
Artigo –		

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Caracterização sociodemográfica, clínica e parâmetros ecocardiográficos dos pacientes portadores de fibrilação atrial.	48
Tabela 2 –	Frequência dos polimorfismos no gene <i>LGALS3</i> (rs4652 e rs4644) em pacientes com fibrilação atrial.	49
Tabela Suplementar	Frequência dos polimorfismos nos genes <i>KCCN3</i> , <i>HCNN4</i> e <i>CAV1</i> em pacientes com fibrilação atrial.	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPc	Adenosina Monofosfato cíclico
AOS	Apneia Obstrutiva do Sono
AE	Átrio Esquerdo
AVE	Acidente Vascular Encefálico
Ca ⁺²	Cálcio
CaM	Calmodulina
CAV1	Caveolina-1
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CRM	Cirurgia de Revascularização do Miocárdio
CSD	<i>Caveolin Saffold Domain</i>
DAC	Doença Arterial Coronariana
DCV	Doença Cardiovascular
DdVE	Diâmetro diastólico do Ventrículo Esquerdo
DM	Diabetes Mellitus
DsVE	Diâmetro sistólico do Ventrículo Esquerdo
ECOPE	Escola de Ecocardiografia de Pernambuco
EST	Ecocardiografia <i>Speckle-tracking</i>
EUA	Estados Unidos da América
FA	Fibrilação Atrial
FE	Fração de Ejeção
FEVE	Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo
Gal-3	Galectina-3
GWAS	<i>Genome Wide Association Studies</i>
HCN4	<i>Hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated potassium channel 4</i>
IC	Insuficiência Cardíaca
IMC	Índice de Massa Corpórea
MCD	Miocardiopatia Dilatada
NSA	Nó Sinusal
OR	<i>Odds Ratios</i>
PALS	Pico de Tensão Longitudinal Atrial
PBMC	Células Mononucleares do Sangue Periférico
PROCAPE	Pronto Socorro Cardiológico de Pernambuco

RTK	Receptores Tirosina Quinase
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF-beta	Fator de Transformação do Crescimento-Beta
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UPE	Universidade de Pernambuco
VR	Valor de Referência
Vol AE	Volume de Átrio Esquerdo
Vol AE/SC	Volume de Átrio Esquerdo indexado a Superfície Corpórea
SLAE	<i>Strain</i> Longitudinal de Átrio Esquerdo
SLGVE	<i>Strain</i> Longitudinal Global de Ventrículo Esquerdo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1	ASPECTOS GERAIS DA FIBRILAÇÃO ATRIAL	20
3.1.1	Fibrose Atrial na Fibrilação Atrial	23
3.2	ECOCARDIOGRAMA NA DETECÇÃO DA FIBROSE ATRIAL	24
3.3	GENÉTICA NA FIBRILAÇÃO ATRIAL	26
3.3.1	Gene <i>CAV1</i>	27
3.3.2	Gene <i>HCN4</i>	30
3.3.3	Gene <i>KCNN3</i>	31
3.4	GALECTINA-3	33
3.4.1	Gene <i>LGALS3</i>	35
4	MÉTODOS	37
4.1	DESENHO DO ESTUDO	37
4.2	LOCAL DO ESTUDO	37
4.3	POPULAÇÃO E AMOSTRA	37
4.3.1	Grupos de estudo	37
4.4	CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	37
4.4.1	Critérios de Inclusão	37
4.4.2	Critérios de Exclusão	38
4.5	OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA	38
4.6	ASPECTOS ÉTICOS	39
4.7	ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
6	CONCLUSÃO	60
	APÊNDICE	61
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	61
	APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO PARA COLETA DE DADOS	62
	APÊNDICE C – MATERIAL SUPLEMENTAR	63

ANEXO	64
ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	64
ANEXO B - ANEXO B - ARTIGO Nº 1 - REVISÃO SISTEMÁTICA	65
ANEXO C - ARTIGO Nº 2 - REVISÃO DA LITERATURA	74
ANEXO D - ARTIGO Nº3	80
REFERÊNCIAS	104

1 INTRODUÇÃO

A Fibrilação Atrial (FA) é a arritmia supraventricular mais comum na prática clínica (MAGALHÃES et al., 2016). Os mecanismos da FA são complexos e associados a remodelamento elétrico dos átrios. Acredita-se que envolve respostas pró-inflamatórias, levando à remodelação estrutural e fibrose tecidual, além de remodelação eletrofisiológica, e como resultado um substrato pró-arrítmico para arritmogênese (CINTRA, FIGUEREDO, 2021).

Com o aumento da população idosa, estima-se que a FA possa afetar de 6-12 milhões de pessoas nos Estados Unidos da América (EUA) até 2050 e 9 milhões de pessoas na Europa até o ano de 2060 (KRIJTHE et al., 2013). Na população brasileira, estima-se que 1,5 milhões de indivíduos sejam portadores de FA e 33% das internações hospitalares ocorram por essa arritmia (MAGALHÃES et al., 2016).

A FA está associada à dilatação da cavidade atrial, hipertrofia e rarefação variável de cardiomiócitos atriais, focais ou difusos que são substituídos por tecido fibrótico. O acúmulo progressivo de tecido fibrótico no miocárdio é descrito como um dos principais componentes para remodelação cardíaca. A formação e redistribuição do tecido conjuntivo modulam a forma do miocárdio para se adaptar às novas condições, ou seja, ao processo patológico. Esse processo de adaptação envolve componentes celulares do miocárdio e a matriz extracelular com predominância de colágeno (TARONE et al., 2014). A remodelação do miocárdio é associada à patogênese das doenças cardiovasculares e apresenta como resultado anormalidades de contração cardíaca e relaxamento (DZESHKA et al., 2015; TARONE et al., 2014).

Sabe-se que pacientes com história de FA tem maior carga de fibrose do que pacientes sem FA, demonstrando que pacientes com FA tem um substrato atrial diferente dos pacientes sem FA (KASTAD et al., 2021; DZESHKA et al., 2015). Os mecanismos de manutenção da FA e da doença ventricular estrutural são conhecidos por incluir fibrose. Como possível biomarcador da fibrose, a Galectina-3 (Gal-3) aparece elevada em algumas cardiopatias (CLEMENTY et al., 2018a) e no caso da FA, há lesões teciduais que levam ao aumento da síntese e secreção de Gal-3. A Gal-3 possui uma estrutura quimérica e é codificada pelo gene denominado *LGALS3* que pertence ao cromossomo 14 (locus q21-22) (CLEMENTY et al., 2018b).

Os níveis de Gal-3 se correlacionam com fatores de risco de doença cardiovascular associada à inflamação crônica (SEHRAWAT/ KAUR, 2021) em condições como hipertensão, diabetes ou obesidade, e mostraram-se elevados na insuficiência cardíaca (CLEMENTY et al., 2018a; BOER et al. 2012). A Gal-3 aparece agora com as características recomendadas de um biomarcador que pode ser útil no domínio cardiovascular (CLEMENTY et al., 2018b; CHOW et al., 2017; DONG et al., 2018; SCIACCHITANO et al., 2018).

Na prática clínica, os biomarcadores podem ser úteis para melhorar a precisão da avaliação prognóstica e podem ser usados para detectar aumento do risco de progressão da doença (CRUZ et al., 2015). Nessa perspectiva, na tentativa de encontrar novos biomarcadores, a realização de *Genome Wide Association Studies* (GWAS) permite a identificação de genes que podem estar relacionados a determinadas doenças (ELLINOR et al., 2012). Dentre eles, os descritos na literatura que envolve o processo fisiopatológico da FA são, *CAV1*, *HCN4* e *KCNN3*.

Porém, além dos polimorfismos associados ao aparecimento da FA, têm-se descrito na literatura alterações fibróticas nos exames de imagem, como o Ecocardiograma *Strain* com técnica *Speckle-Tracking*. O ecocardiograma *strain* é um exame realizado através de um *software* que foi desenvolvido para captar informações por meio do ecocardiograma transtorácico tradicional. Esses softwares tem a capacidade de dar informações sobre os *speckles* (posição dos pontos brilhantes) e analisar a deformação do miocárdio em 2 ou 3 dimensões. Como vantagem, essa técnica apresenta independência do ângulo de insonação, relação sinal-ruído mais satisfatória, maior eficiência quanto a captar sinal (CLEMENTY et al., 2016).

A técnica de *strain* tem sido usada para avaliar a deformação miocárdica pelo ecocardiograma, apresentando alta sensibilidade na detecção de alterações subclínicas, ao introduzir a técnica de *speckle-tracking*, se ganha na quantificação da deformação miocárdica em duas dimensões, medindo velocidade tecidual e torção do ventrículo (BARBERATO et al., 2019). O ecocardiograma pode ser usado para avaliar a fibrose (LEUNG et al., 2018) e ser associado à dosagem sérica e avaliação dos polimorfismos da Gal-3 para refinar o diagnóstico (WALEK et al., 2021).

A predição de risco na doença cardiovascular (DCV) pode ser útil para fornecer melhora na qualidade de vida e para orientar a tomada de decisão clínica.

No entanto, continua a ser um desafio prever o risco individual para novos eventos (CLEMENTY et al., 2018a; LALA, PUSCHITA, DARABANTIU, 2015). Assim, é de grande contribuição para a ciência e saúde de um paciente quando exames conseguem prever qualquer problema que ele pode vir a desenvolver em virtude do risco avaliado e de acordo com fatores intrínsecos e extrínsecos existentes. Há grande esforço da comunidade científica em tentar desenvolver marcadores prognósticos para uma doença afim de que seja traçada qual a melhor abordagem terapêutica para aquele indivíduo.

Pacientes com fibrose atrial podem ao longo do tempo desenvolver FA ou a FA pode ser um gatilho da fibrose atrial, bem como das demais cardiopatias. Com isso, de forma geral, existem alguns parâmetros eletrocardiográficos estabelecidos, mas poucos marcadores sorológicos, genéticos e ecocardiográficos definidos para fibrose atrial e FA. Dado o grande papel epidemiológico, clínico e econômico da FA, torna-se necessário um estudo que busque marcador robusto e reprodutível envolvido no aparecimento e prognóstico da FA visando à utilização na prática clínica de forma inovadora além de contribuir na detecção de possíveis patologias antes de sua manifestação, beneficiando os pacientes com a economia para o estado por detectar a doença.

Considerando o potencial envolvimento da Gal-3 na fisiopatologia da fibrose atrial e considerando também a ausência de estudos que avaliem polimorfismos do gene da Gal-3 (*LGALS3*) em pacientes com FA, investigamos a associação destes polimorfismos com os parâmetros ecocardiográficos sugestivos de fibrose.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a associação entre os níveis séricos e expressão gênica da galectina-3, a presença de polimorfismos em genes envolvidos no processo fibrótico e canais iônicos com os parâmetros ecocardiográficos sugestivos de fibrose atrial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar na literatura a associação da galectina-3 como marcador sugestivo de fibrose de átrio esquerdo em pacientes com FA.
- Identificar na literatura a utilidade do STE como marcador sugestivo de fibrose de átrio esquerdo em pacientes com FA.
- Investigar os parâmetros ecocardiográficos que podem sugerir fibrose atrial nos indivíduos selecionados;
- Determinar as frequências alélicas e genotípicas nos genes *LGALS3* (rs4644 e rs4652), *CAV1* (rs3807989), *HCN4* (rs7164883) e *KCNN3* (rs13376333) nos indivíduos estudados;
- Correlacionar níveis séricos e expressão gênica da galectina-3 com parâmetros ecocardiográficos;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ASPECTOS GERAIS DA FIBRILAÇÃO ATRIAL

A Fibrilação Atrial é a arritmia supraventricular mais comum na prática clínica (GONG et al., 2020; MAGALHÃES et al., 2016), caracterizada por ativação elétrica descoordenada dos átrios, gerando assim, ritmo irregular e muitas vezes resposta ventricular rápida causando descompensação hemodinâmica (GUTIERREZ, BLANCHARD, 2016). A FA é um distúrbio de ritmo cardíaco caracterizada por excitação rápida e desorganizada dos átrios e ativação irregular dos ventrículos. Os mecanismos fisiopatológicos subjacentes são complexos e variáveis, podendo ser atribuído a diferentes fatores de risco alimentando o processo adverso de remodelação atrial na FA (CINTRA; FIGUEIREDO, 2021; LAU, et al., 2019).

O início e a manutenção da FA podem ser vinculados à interação entre um gatilho e um substrato, sendo o gatilho o foco de disparo rápido que pode atuar como um precursor para a FA, a manutenção dessa arritmia geralmente reque um substrato, ou seja, características anatômicas, mecânicas, eletrofisiológicas dos átrios que sustentam a FA. O desenvolvimento desse substrato pode incluir condução elétrica e elementos estruturais de remodelação atrial. A remodelação elétrica envolve alteração nos canais iônicos que afetam a ativação miocárdica atrial e a condução elétrica, enquanto a remodelação estrutural refere-se a alterações na estrutura do tecido, com fibrose e dilatação atrial (WIJESURENDRA, CASADEI, 2019).

Existem diversos fatores de risco que predisõem a ocorrência de FA, eles podem ser divididos em convencionais (habituais nas literaturas diversas) e os menos estabelecidos (citados por um menor percentual de estudos). Os convencionais são: idade avançada, sexo masculino, doença arterial coronariana (DAC), hipertensão, insuficiência cardíaca (IC), doenças cardíacas valvulares, diabetes mellitus (DM) e hipertireoidismo. Novos fatores de risco potenciais podem ocasionar grandes consequências nos pacientes com a doença. Dentre eles, destacam-se a presença de Apneia Obstrutiva do Sono (AOS), obesidade, álcool, exercício físico, história familiar e fatores genéticos (MAGALHÃES et al., 2016).

Outra causa não convencional da FA está associada à cirurgia cardíaca. A FA no pós-operatório é uma complicação comum dessas cirurgias e ocorre em

aproximadamente 15% a 40% dos pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica (CRM) e até cerca de 60% dos pacientes submetidos a procedimento valvar. A incidência dessa arritmia tem aumentado continuamente ao longo das últimas décadas, o que tem relação com o maior percentual de idosos sendo submetidos à cirurgia cardíaca. Portanto, a FA é a principal causa de readmissão hospitalar precoce após cirurgia cardíaca (BAEZA-HERRERA et al., 2019; FREEMAN et al., 2015).

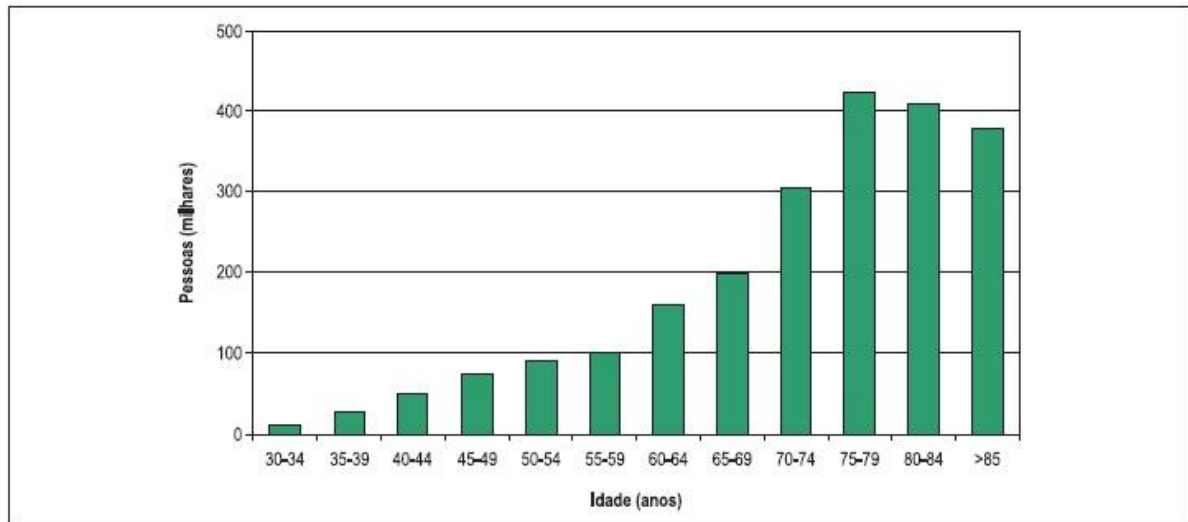
Após o primeiro episódio, a FA pode ser classificada segundo a Diretriz Brasileira de Fibrilação Atrial (2016), tendo como base para a classificação a duração e o controle da arritmia, assim sendo, foi proposto que paciente com episódio de arritmia com duração menor do que sete dias, que pode ser revertida espontaneamente ou com intervenção é classificado como FA paroxística. Os que apresentarem episódios de arritmia com mais de sete dias, são classificados com FA persistente. Os episódios de fibrilação persistente, que resistem à cardioversão, são denominados FA permanente (MAGALHÃES et al., 2016).

A sintomatologia para as diversas classificações é a mesma, variando só a intensidade e durabilidade. Sendo os principais sintomas relatados pelo paciente, palpitações, síncope, dispneia em suas diversas formas, intolerância ao exercício, tonturas ou tonturas, fadiga e precordiagia (KRIJTHE et al., 2013).

Com o crescimento da população idosa, estima-se que a FA possa afetar de 6-12 milhões de pessoas nos EUA até 2050 e 9 milhões de pessoas na Europa até o ano de 2060 (CHUGH et al., 2014). Calcula-se que sua prevalência (Figura 1), na população geral, seja de 0,5 e 1%, mas consideram que esse valor pode estar subestimado, pois 10 a 25% das pessoas com FA são assintomáticas (MAGALHÃES et al., 2016).

Na população brasileira, estima-se que 1,5 milhões de indivíduos sejam portadores de FA e 33% das internações hospitalares ocorram por essa arritmia. A FA permanente é a mais frequente, ocorre em 40 a 50% dos casos, seguida da paroxística e posteriormente da persistente (MAGALHÃES et al., 2016; ALMEIDA et al., 2015).

Figura 1 – Prevalência da fibrilação atrial associada ao incremento da idade.



(Fonte: II Diretriz Brasileira de Fibrilação Atrial, 2016).

Sua prevalência aumenta com a idade, e 70% da população com FA encontram-se entre 65 e 85 anos. A doença ocorre mais em homens do que em mulheres, numa proporção de 1,2:1, porém, após os 75 anos, as mulheres constituem 70% da população afetada devido à sua maior sobrevivência (MAGALHÃES et al., 2016; ALMEIDA et al., 2015). Portadores de FA possuem um elevado risco de morbimortalidade, sendo a doença um importante problema de saúde pública, elevando, assim, o tempo de internamento e os custos com a saúde (CHUGH et al., 2014).

Com o incremento de novas tecnologias para o tratamento de doenças cardíacas crônicas houve um aumento no número de indivíduos com o diagnóstico de FA, após a implementação nos testes diagnósticos, com dispositivos de monitorização cardíaca que prolongaram o tempo de monitoração, chegando a taxas de diagnóstico, variando de 6% a 28% (ALMEIDA et al., 2015).

A FA é responsável por aproximadamente um terço das hospitalizações por alterações do ritmo cardíaco. Mesmo na ausência de doenças cardíacas valvulares e doença cardiovascular pré-existente, na presença de FA, a mortalidade aumenta em 2 vezes em ambos os sexos. A FA está associada a um prognóstico desfavorável e a incidência de acidente vascular encefálico (AVE) cinco vezes maior, além da insuficiência cardíaca três vezes maior (ALMEIDA et al., 2015).

3.1.1 Fibrose Atrial na Fibrilação Atrial

Os colágenos são as principais proteínas da matriz extracelular no coração. A fibrose geralmente resulta de um acúmulo de depósitos de colágeno fibrilar, ocorrendo mais frequentemente como um processo reparador para substituir o tecido miocárdico em degeneração com fibrose reativa concomitante, que causa expansão intersticial. A remodelação atrial influencia o curso natural da FA, é responsável pela perpetuação da arritmia e sua recorrência, caracterizando a história clínica típica desses pacientes (LONGOBARDO, et al., 2014).

Mecanismos diversos estão envolvidos na patogênese de trombose atrial na FA, como estase atrial, adiposidade cardíaca, inflamação, hipercoagulabilidade, disfunção endotelial, patologias estruturais, fatores genéticos, fibrose atrial, entre outros (OLTEAN-PÉTER et al., 2017). A inflamação está envolvida em vários processos patológicos, como estresse oxidativo, apoptose e fibrose (HARADA, NATTEL, 2020).

Estudo recente sugere que os cardiomiócitos podem liberar células inflamatórias, como exemplo, os fibroblastos cardíacos que são responsáveis pela formação de tecido fibroso, sendo ativados por citocinas, fatores de crescimento, adipocinas, entre outros, relacionados assim a doenças inflamatórias, o que pode ser agravado quando associados à comorbidades. Portanto, a inflamação no átrio, mesmo que subclínica pode contribuir para o surgimento da fibrose (HARADA, NATTEL, 2020).

A fibrose desempenha um papel importante no início e na perpetuação de FA através de processos de remodelação estrutural e elétrica. Diversas vias moleculares estão envolvidas na modificação do substrato atrial e a subsequente manutenção de FA (XINTARAKOU et al., 2020).

Biomarcadores inflamatórios podem prever risco de FA e o desenvolvimento da doença é favorecido pela ativação de vias bioquímicas. Os mediadores pró-fibróticos e produtos finais podem entrar na circulação sanguínea, assim, essas moléculas podem ser usadas como biomarcadores clínicos para avaliar a condição fibroinflamatória (HARADA, NATTEL, 2020).

3.2 ECOCARDIOGRAMA NA DETECÇÃO DA FIBROSE ATRIAL

Com o passar dos anos, novas técnicas de exame de imagem surgiram para avaliar a função atrial para prever o risco de recorrência da FA (LACALZADA-ALMEIDA, GARCÍA-NIEBLA, 2017). Também nos últimos anos, surgiu o interesse em avaliar a função e as características do átrio esquerdo (AE), provavelmente devido ao impacto prognóstico do tamanho e função do AE em diferentes doenças cardiovasculares (DONAL, 2019).

O átrio esquerdo (AE) atua como um reservatório, se enchendo e se estendendo para receber sangue das veias pulmonares durante a sístole do ventrículo esquerdo (VE), de forma que a sua curva de tensão aumenta (CAMELI, 2016); como um conduto, transferindo passivamente sangue para o VE durante o início da diástole e tem uma função de bomba para direcionar sangue para o VE no final da diástole. Em pessoas sem doença cardíaca, as fases do reservatório, conduíte e bomba de AE contribuem 40%, 35% e 25% do volume sistólico, respectivamente (LACALZADA-ALMEIDA, GARCÍA-NIEBLA, 2017).

Na FA, o pico de tensão longitudinal atrial (PALS) medido no final da fase reservatório é um parâmetro de deformação importante, uma vez que depende essencialmente da complacência atrial, podendo ser útil na previsão de estase atrial e prevenção de AVE e pode ser avaliado através dos exames de imagem (CAMELI, 2016). A imagem por *Doppler* tecidual foi à primeira técnica ecocardiográfica para avaliar a função atrial, no entanto é limitada pela baixa reprodutibilidade, é dependente do ângulo e pela presença de muitos artefatos (HARADA, NATTEL, 2020).

A Ecocardiografia (bidimensional, onda pulsada, *Doppler*, ecocardiograma *speckle-tracking*) pode avaliar o tamanho e volume da câmara atrial em pacientes com FA (NJOKU, et al., 2018; OGATA, et al., 2017). Ecocardiografia *Speckle-tracking* (EST) é um método não *Doppler* que permite a quantificação objetiva da deformação atrial a partir de imagens 2D (HARADA, NATTEL, et al., 2020; PILICHOWSKA-PASZKIET, et al.; 2018) que permite a avaliação de deformações da função reservatório de AE, potencialmente causadas por redução da complacência em decorrência da fibrose atrial (PILICHOWSKA-PASZKIET, et al.; 2018).

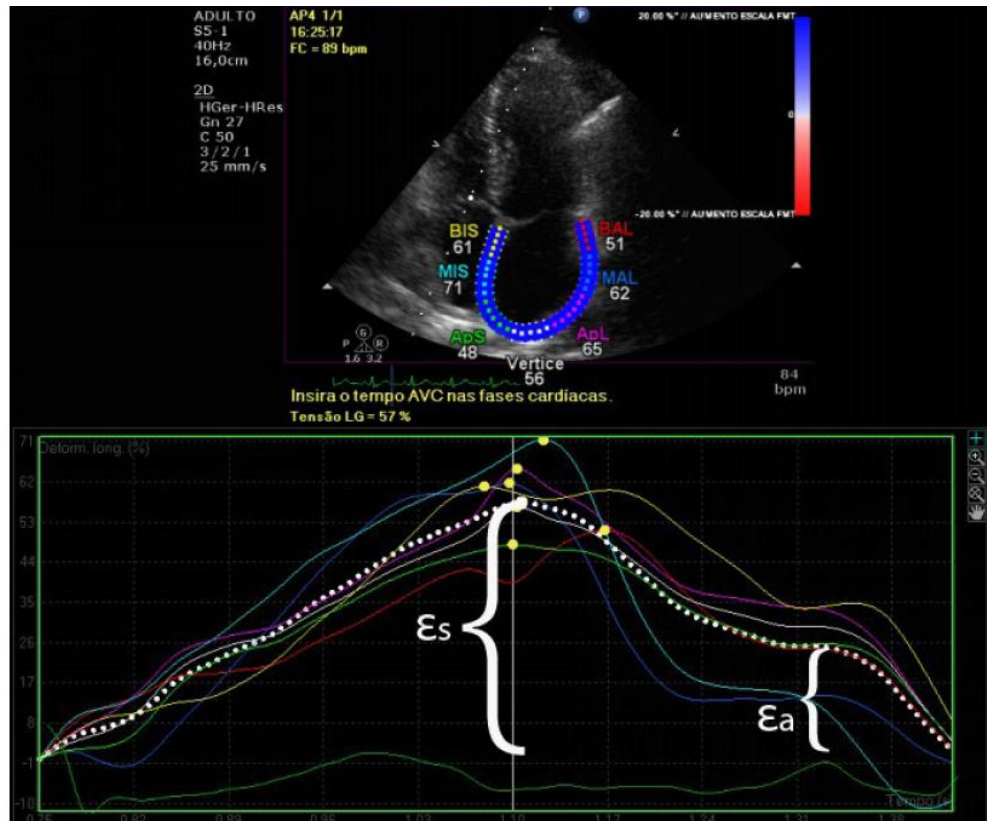
A alteração no tamanho e volume do AE implica na progressão do remodelamento da função atrial associada à fibrose, podendo também se relacionar

com a recorrência de FA após ablação por cateter e risco de AVE (NJOKU, et al., 2018; OGATA, et al., 2017). Alterações na contratilidade do AE e da função diastólica estão associadas com fibrose atrial e pode ser avaliada por EST (PATHAN et al., 2017). A atenuação da tensão da parede do AE avaliada por EST foi considerada um preditor independente de recorrência de FA após ablação por cateter (HARADA, NATTEL, 2020).

O EST (Figura 2) vem sendo utilizado para detecção de fibrose atrial, com boas perspectivas de uso rotineiro na prática clínica (NIELSEN et al., 2020). A técnica de *speckle-tracking* para mensuração da deformação do miocárdio (*strain*) foi desenvolvida mais recentemente, sendo considerado um novo parâmetro para avaliação da função sistólica de átrios e ventrículos (MANCUSO 2019). O EST é utilizado para analisar/ rastrear “manchas” que sugerem deformação miocárdica (CAMELI, 2016).

Em diversas doenças que podem cursar com comprometimento da função sistólica, o *Strain* miocárdico é um parâmetro que se altera antes da fração de ejeção, além de ter valor prognóstico em algumas condições clínicas (MANCUSO 2019). Os parâmetros diastólicos do AE derivados do EST correlacionam-se bem com a extensão da fibrose do AE. Com isso, foi sugerido que o EST poderia ser útil na avaliação não invasiva de fibrose (PILICHOWSKA-PASZKIET, et al., 2018).

Figura 2. Deformação (*strain*) de átrio esquerdo pelo método *speckle-tracking*.



(Fonte: Medeiros, Pedrosa, Del Castillo, 2019).

3.3 GENÉTICA NA FIBRILAÇÃO ATRIAL

Embora historicamente considerada como doença adquirida e associada ao avanço da idade, a história familiar é compreendida como fator de risco para desenvolvimento da FA (VAN OUWERKERK et al., 2020). Uma pessoa com parente de primeiro grau com FA possui risco duas vezes maior de desenvolver essa arritmia, independente de outros fatores de risco. A literatura mostra que indivíduos com genótipos específicos possuem aumento do risco de desenvolver FA (HAYASHI; TADA; YAMAGISHI, 2017).

Um estudo em famílias e em grandes populações identificou múltiplos loci genéticos, genes específicos e variantes específicas que aumentavam a suscetibilidade para FA. Uma vez que está se tornando cada vez mais barato para obter dados do genótipo e de todo o genoma, a questão passa a ser definir se o uso de novos conhecimentos genéticos emergentes pode melhorar o atendimento aos pacientes antes e depois do desenvolvimento da doença (VAN OUWERKERK et al., 2020).

Um exemplo de melhoria na abordagem terapêutica do paciente seria a identificação de pacientes com risco aumentado de desenvolver FA, implantando maior vigilância e reduzindo exposição a fatores que podem levar a FA, como uso abusivo de álcool, estresse, pressão alta, entre outros (VAN OUWERKERK et al., 2020). O objetivo é gerar, validar e implantar preditores de risco da FA para identificar e traçar planejamento e intervenção para esses pacientes com foco na prevenção e tratamento precoce.

Um GWAS em indivíduos de ascendência europeia incluiu 6.707 pacientes com FA e 52.426 sem FA. Foram identificados seis novos loci de susceptibilidade à fibrilação atrial (*PRRX1*, *CAV1*, *SYNE2*, *FBP*, *HCN4* e *SYNPO2L*), genes que estão envolvidos com fatores de transcrição, canais iônicos e moléculas de sinalização expressos no tecido cardíaco (ELLINOR et al., 2012). Outro GWAS realizado com uma população de afro-americanos nos EUA verificou que dos seis SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) associados com FA em GWAS de populações de descendentes europeias, apenas três foram encontrados em afro-americanos (*PITX2*, *KCNN3* e *ZFHX3*) (KAO et al., 2013).

Os SNPs nos genes *CAV1* (rs3807989) e *HCN4* (rs7164883) foram associados com a FA em estudos anteriores (MARTIN et al., 2015; ELLINOR et al., 2013). O mecanismo biológico envolvendo esses genes na FA não está completamente elucidado, sendo necessário estudo para desvendar suas funções e conhecer melhor suas características.

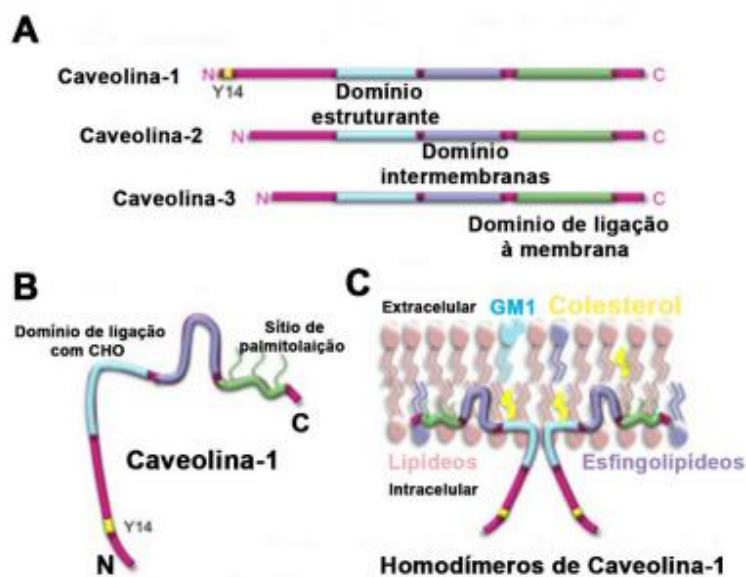
3.3.1 Gene *CAV1*

As caveolas são subdomínios da membrana plasmática que contêm duas famílias de proteínas muito importantes para sua estrutura e função, a família das CAVs e das cavinas (FRIDOLFSSON, ROTH, INSEL, PATEL, 2014). A Cav-1 é uma proteína estrutural de membrana plasmática de 22 kDa, descoberta através da imunocitoquímica como componente chave das caveolas, sendo a sua expressão essencial para a sua biogênese (GUPTA, TOUFAILY, ANNABI, 2014).

A proteína caveolina é altamente estruturada e composta por domínios funcionais. A presença do domínio estruturante da caveolina (do inglês *Caveolin Scaffold Domain*, CSD), na porção 82-101 na Cav-1, é essencial, uma vez que é onde ocorre a interação com moléculas e proteínas de sinalização. Assim, a

interação direta com o CSD da CAV1 geralmente resulta no sequestro de uma molécula de sinalização dentro da membrana das caveolas e a modulação da sua atividade de sinalização. Diante disso, estas proteínas de sinalizações interagem com receptores acoplados a proteína, canais iônicos, óxido nítrico sintase endotelial, receptor de fatores de crescimento epidermais, família das Src cinases, adenil ciclases, cinases ativadas por mitógenos e a proteína cinase A (FRIDOLFSSON, ROTH, INSEL, PATEL, 2014).

Figura 3. Representação esquemática da estrutura proteica da família das caveolinas.



(Fonte: Adaptado e traduzido de FIALA, MINGUET, 2018).

O *CAV1* codifica uma isoforma maior da cavéola, a caveolina-1, uma invaginação membranosa celular proteica com 50 – 100 nm localizada na superfície plasmática da célula, rica em colesterol, que tem um importante papel de transdução por interações com moléculas sinalizadoras como o fator de crescimento para receptores tirosina quinase (RTK), que tem papel na fibrose miocárdica, e o fator de crescimento para receptores tipo insulina (LIU et al., 2015).

O SNP rs3807989 está situado no cromossomo 7q31 (Figura 4), próximo ao gene *CAV1*, responsável pela proteína de membrana integral – caveolina-1 – importante na endocitose celular. Esse SNP foi associado à FA como doença única, sem associações com demais comorbidades (ELLINOR et al., 2012). Abrigam muitos canais iônicos, alguns deles responsáveis pelo potencial de ação cardíaco, e são muito expressos em células endoteliais e cardiomiócitos (WAGONER et al.,

2015; PALUDAN-MULLER et al., 2016; LIN et al., 2016; JIA, QI, LI, 2016). *CAV-1* é um inibidor da via de sinalização do TGF-beta1, que desempenha papel importante na fibrose atrial (ULUS et al., 2021).

Figura 4. Localização gênica da *CAV1* no cromossomo 7.



(Fonte: Genecard)

Em seres humanos, o SNP rs3807989 presente no gene *CAV1* com substituição A>G mostrou-se associado à ocorrência da FA, inclusive da FA paroxística, a qual pode ocorrer no coração sadio, independente dos fatores de risco e antes mesmo dos 40 anos; e da FA pós-operatória, complicação que pode ocorrer após cirurgias cardíacas (WAGONER et al., 2015).

O possível mecanismo para o aumento de risco da FA pelo polimorfismo do gene *CAV1* seria pelo prejuízo na regulação dos canais de sódio e potássio, que junto das alterações provocadas também em outros genes reguladores dos mecanismos de controle da despolarização cardíaca levariam aos fatores predisponentes para aparecimento da arritmia, como encurtamento do período refratário e formação de mecanismos de reentrada. Foi observada relação do *CAV1* com a sinalização do TGF-beta, que também tem papel na fibrose atrial, conhecido substrato para desenvolvimento da arritmia (CHEN et al., 2015; YI, LIU, ZHONG, ZHANG, 2014).

No fim do ano de 2015 em metanálise publicada por Jia, Qi e Li (2014) realizada com os trabalhos publicados na China em língua inglesa teve-se por resultado a associação de risco do polimorfismo do gene *CAV1* com a FA. Estudo realizado por Ulus et al. (2021) demonstrou que polimorfismo no gene *CAV1* conseguiu prever a recorrência de FA após ablação por cateter na população estudada e que esse polimorfismo estava associado à FA também na análise univariada.

3.3.2 Gene *HCN4*

Uma família de quatro genes codifica as subunidades dos canais de cátions controlados por nucleotídeos cíclicos ativados por hiperpolarização – denominados de HCN1 a HCN4 – responsáveis pela corrente de hiperpolarização. Cada subunidade do canal HCN é composta por seis segmentos transmembrana, com um sensor de voltagem e uma região formadora de poro. Uma importante característica dos canais HCN é seu domínio de ligação com o nucleotídeo cíclico regulado pela adenosina monofosfato cíclico (AMPc), e não requer a fosforilação de proteína. Os canais HCN2 e HCN4 são fortemente modulados por aumento das concentrações de cAMP, com a voltagem de ativação e deslocamento para potenciais mais positivos, perto de 10 mV a 20 mV. Com o aumento do AMPc, um pulso de voltagem de hiperpolarização ativa os canais HCN2 e HCN4 (JIANG et al., 2008).

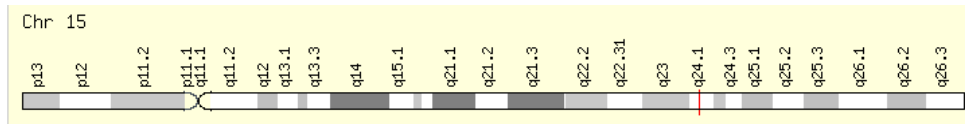
O gene *HCN4* é responsável pela expressão dos canais ativados por hiperpolarização cíclica codificados por nucleotídeo, altamente expressos no nó sinusal (NSA) (VAN OUWERKERK et al., 2020; PALUDAN-MULLER, SVENDSEN, OLESEN, 2016) e relacionados a diversas disfunções nodais na medida em que constituem as correntes relacionadas com o automatismo cardíaco (PALUDAN-MULLER, SVENDSEN, OLESEN, 2016).

Após a hiperpolarização, as quatro isoformas geram uma corrente interna no coração e no sistema nervoso. A corrente ativada por hiperpolarização é o principal determinante da despolarização diastólica cardíaca, desempenhando um papel fundamental no controle da frequência cardíaca. A expressão do canal HCN está relacionada à idade e tem diferença em estágios de crescimento distintos. Três isoformas (HCN1, HCN2, HCN4) são expressas em tecidos cardíacos, sendo o HCN2 e HCN4 os subtipos dominantes. No coração de um adulto saudável, os canais HCN são predominantemente expressos no sistema de condução, especialmente no nó sinoatrial, o HCN4 tem sido determinado como a principal isoforma HCN nas células do nó sinoatrial (ZHAO, GU, 2016).

O SNP *HCN4* (rs7164883) por substituição A>G tem localização intrônica, dentro do gene, na posição cromossômica 15q24 (Figura 5), justamente próximo ao gene *HCN4*. Por isso, mutações no referido gene ou próximos a ele foram associadas a diversas formas de disfunção nodal (ELLINOR et al., 2012), inclusive

mutações de perda de função foram identificadas em pacientes com FA (ROBERTS et al., 2016).

Figura 5. Localização gênica do *HCN4* no cromossomo 15.



(Fonte: Genecard)

Um possível mecanismo para o desenvolvimento da FA através desse polimorfismo seria por alteração no NSA, que através de outros fatores de risco formaria substrato para a arritmia. Com as alterações elétricas, tem-se o aparecimento de atividade ectópica precipitado por estresse adrenérgico na forma de extrassístoles ou através da atividade das veias pulmonares. Pela heterogeneidade já formada no NSA, mecanismos de reentrada são formados dando início então à FA, que ao longo de algum tempo vai provocando remodelamento molecular e estrutural no NSA para tornar a arritmia permanente (DUHME et al., 2013).

O canal HCN4 é essencial para condução do impulso cardíaco normal e um mediador importante do controle da frequência cardíaca (NAKANO et al., 2018). Estudos moleculares que investigavam o sistema de condução cardíaco descobriram que HCN4 é expresso não apenas no NSA, mas também no nó atrioventricular (DiFRANCESCO, 2013; VERKERK et al., 2015). Outros estudos relataram que a superexpressão de *HCN4* induz a taquicardia, sugerindo que o HCN4 desempenha papel importante no controle da frequência cardíaca (NAKANO et al., 2018; LI et al., 2015).

3.3.3 Gene *KCNN3*

O gene *KCNN3* codifica um membro dos canais de potássio voltagem-independente, de pequena condutância, que são expressos no cérebro e coração (MAHIDA et al., 2014), com expressão cardíaca maior nos miócitos atriais (HOU et al., 2016). A variante genética rs13376333 é um SNP localizado entre o primeiro e segundo éxons do gene *KCNN3* (também conhecido como SK3), no cromossomo 1q21 com substituição C→T (LUO et al., 2014).

O SK3 é um tetrâmero composto de uma subunidade alfa, calmodulina (CaM), proteína quinase CKZ e proteína fosfatase ZA. A subunidade alfa é o núcleo e a calmodulina a fração reguladora. A combinação Cálcio (Ca^{+2}) - Calmodulina pode induzir uma mudança conformacional nos canais SK causando então sua abertura (HOU et al., 2016), por concentrações submicromolares de cálcio intracelular. Logo, canais SK fornecem uma ligação entre os transientes de Ca^{2+} intracelular e a membrana condutora de K^+ . Os outros dois canais mostraram regulações diferenciais, de concentrações diferentes a depender da localização, mas agindo em conjunto na regulação dos canais de K ativados por Ca^{2+} (MAHIDA et al., 2014).

Contudo, a função precisa dos canais SK na eletrofisiologia cardíaca ainda não foi bem definida. Sabe-se que existe relação com regulação dos potenciais de ação (MAHIDA et al., 2014). Uma metanálise de estudos GWAS mostrou que o SNP rs13376333 do canal de potássio ativado por cálcio do gene *KCNN3* foi associado significativamente com FA isolada. Contudo, a replicação de estudos com essa associação mostra resultados conflitantes (LUO et al., 2014).

Um estudo mostrou que o risco de FA pode ser reduzido pela inibição do canal SK, prolongando o período refratário atrial efetivo (LI et al., 2015). Por outro estudo foi demonstrado que canais SK3 são bem expressos nos miócitos atriais de SK3T/T em camundongos mutantes bem como com uso da técnica *Patch Clamp* (utilizada para estudar a atividade elétrica das células), demonstrando que os camundongos portadores da mutação tinham um potencial de ação encurtado durante a repolarização, comparados aos camundongos selvagens. Todos estes resultados indicam que o referido polimorfismo no gene *KCNN3* é importante na regulação do ritmo cardíaco. Esse seria um dos únicos genes de canal iônico identificados no GWAS cuja mutação estaria relacionada à FA (LUO et al., 2014).

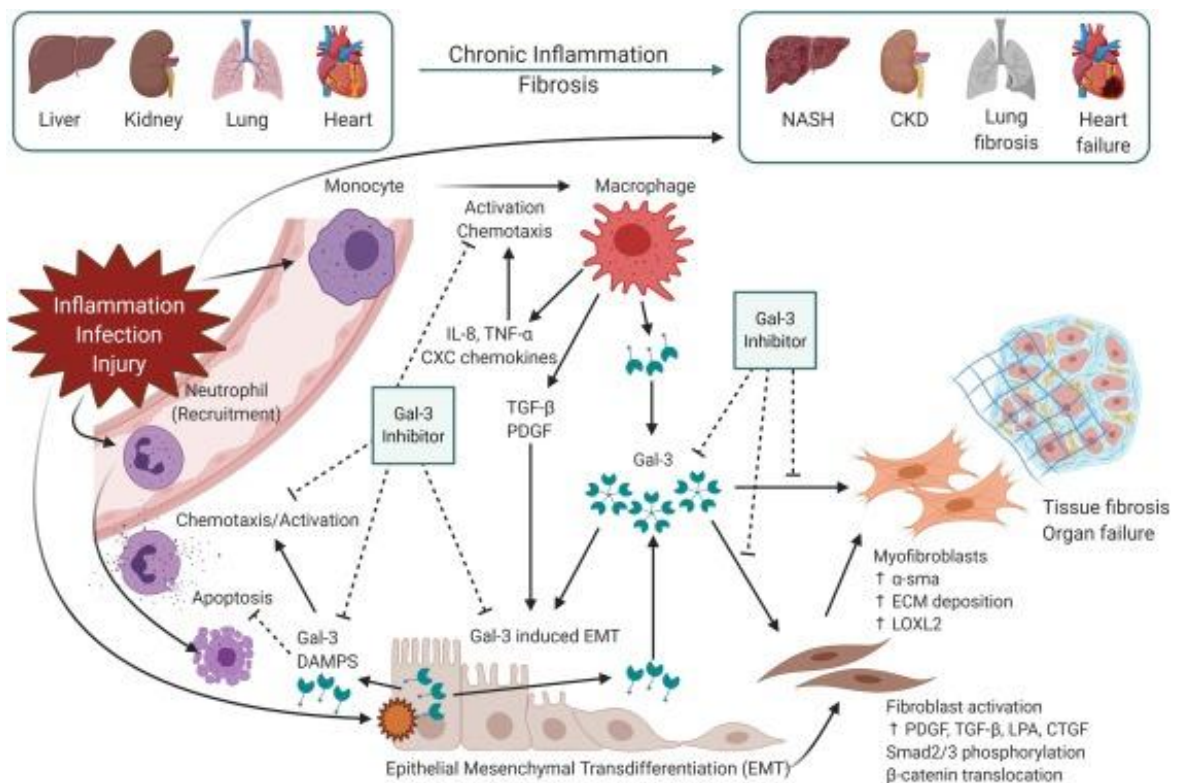
Entretanto, a ausência de associações também foi demonstrada em outro estudo, porém deve-se lembrar que a susceptibilidade para FA difere em diferentes populações. Outro motivo poderia estar relacionado às interações gene-gene e gene-ambiente que poderiam levar a diferenças, podendo diluir ou acentuar efeitos genéticos na FA (YAO et al., 2015).

3.4 GALECTINA-3

As Galectinas são lectinas de ligação ao β -galactosídeo. A Gal-3 é a única do tipo químera. A galectina-3 humana é uma proteína que é codificada por um único gene, *LGALS3*, localizado em cromossomo 14 (locus q21-22) (SACCON et al., 2017). A Gal-3 é amplamente expressa em tecidos humanos, incluindo células imunológicas, células epiteliais, células endoteliais e neurônios sensoriais (OLIVEIRA et al., 2015), estando envolvida na diferenciação celular, inflamação, fibrogênese e defesa do hospedeiro (CHEN, KUO, 2016).

A Gal-3 é uma proteína versátil que participa de vários processos fisiopatológicos, com isso, surgiu um interesse em pesquisar sobre a Gal-3 por causa do seu potencial como biomarcador de diversas doenças. Sua expressão pode ser induzida em condições de lesão tecidual ou estresse (SUTHAHAR et al., 2018). A Gal-3 é fundamental em inúmeras atividades biológicas, incluindo crescimento celular, apoptose, diferenciação, transformação, angiogênese, inflamação, fibrose e defesa do hospedeiro (SOARES et al., 2021; DONG et al., 2018) (Figura 6).

Figura 6. A infecção, vias inflamatórias e de lesão impulsionadas pela galectina-3 que levam à fibrose do órgão.



(Fonte: SLACK, MILLS, MACKINNON, 2021).

Estudos anteriores indicaram que a galectina-3 está envolvida na patogênese da remodelação cardiovascular, bem como em várias doenças autoimunes e processos inflamatórios (SACCON et al., 2017; HU et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2015). A Gal-3 pode ser usada no diagnóstico e prognóstico de diversos tipos de doenças e também como alvo terapêutico para o tratamento de doenças (DONG et al., 2018).

O papel da galectina-3 na patogênese da fibrose cardíaca envolve o recrutamento de macrófagos, miofibroblastos e fibroblastos para o miocárdio, resultando em proliferação celular e deposição de colágeno (CALKINS et al., 2018; LAU et al., 2017). Após a ativação dos macrófagos ocorre a liberação de Gal-3, levando a ativação e proliferação de fibroblastos, deposição de colágeno e como consequência, fibrose cardíaca, predispondo assim, o surgimento de FA, o que leva a mais ativação de macrófagos e a perpetuação desse ciclo vicioso (LIPPI, CERVELLIN, SANCHIS-GOMAR, 2015).

A FA induz lesões teciduais, que levam ao aumento da síntese e secreção de Gal-3. Estudo realizado por Stanojevic et al. (2019) verificou que pacientes com FA apresentaram níveis mais altos de Gal-3 do que os sem FA ($p < 0.05$) e que a Gal-3 pode ser considerada fator preditor independente para o aparecimento da FA. Segundo Fashanu et al. (2017) no estudo ARIC, a associação de Gal-3 com a incidência de FA foi forte nos primeiros anos de acompanhamento, podendo ser explicada pelo papel da Gal-3 na fibrose miocárdica.

Estudos mostram que o aumento dos níveis de Gal-3 está associado significativamente à população com FA (SILVEIRA et al., 2020; GONG et al., 2018; KANG et al., 2018; BERGER et al., 2018; WU et al., 2015). Os níveis aumentados de Gal-3 podem estimular a migração de macrófagos, proliferação de fibroblastos e desenvolvimento de fibrose, sendo a fibrose um dos fatores importantes no processo de remodelação miocárdica. O estudo concluiu que a Gal-3 possui importante papel na fibrose miocárdica (KANG et al., 2018).

Clementy et al. (2016) chegaram à conclusão que os níveis de Gal-3 aumentado são fortes preditores da recorrência da FA após a ablação, independente do tipo da FA. Com isso, conclui-se que a Gal-3 é uma variável independente para previsão de risco em pacientes com FA, possuindo papel importante como marcador potencial para remodelação estrutural (SILVEIRA et al., 2020; BERGER et al., 2018).

Ao estimar se a extensão da circulação da Gal-3 varia entre pacientes com FA nova ou FA crônica, Chen e colaboradores (2016) encontraram que a Gal-3 está relacionada independentemente a FA nova, ou seja, ao início da FA. Com isso, os pesquisadores sugerem que a Gal-3 possa ser um biomarcador de cronicidade da FA, onde seria possível facilitar o diagnóstico do início da doença em pacientes com alto risco.

3.4.1 Gene *LGALS3*

A Gal-3 é codificada pelo gene *LGALS3*, localizado no cromossomo 14 (locus q21-22), é composto por 6 éxons e 5 íntrons, apresenta 484 SNPs em região intrônica e 54 SNPs em regiões codificantes (SUTHAHAR et al., 2018; KAUR et al., 2017). Os SNPs no *LGALS3* mais estudados para diversas doenças são rs4652 e rs4644, estão localizados no éxon e conferem mudança de aminoácido (uma troca de treonina para prolina e prolina para histidina, respectivamente) (KAUR et al., 2017). Um GWAS foi publicado avaliando alguns SNPs de *LGALS3* bem como os níveis plasmáticos da proteína em indivíduos de ancestralidade europeia (BOER et al., 2012).

Outros estudos avaliaram os polimorfismos do gene *LGALS3*. O primeiro avaliou os SNPs e níveis séricos da Gal-3 em crianças com anemia falciforme. Foi verificado que a diminuição dos níveis séricos de Gal-3 estava relacionada com os polimorfismos do gene *LGALS3*, e que causavam susceptibilidade para uma alta frequência de infecção respiratória e crises vaso-oclusivas (MENDONÇA-BELMONT et al., 2016). Em outro estudo, foi avaliada a relação dos mesmos polimorfismos com níveis totais de IgE e atopia. Contudo, os rs4652 e rs4644 não apresentaram associação (CORNEJO-GARCÍA et al., 2016). Cunha et al. (2021) encontrou em seu estudo que o genótipo *LGALS3* rs4652 AC foi mais frequente em pacientes com ES do que nos controles e genótipo CC polimórfico foi associado a níveis mais baixos de Gal-3 nos pacientes com esclerose sistêmica assim como no grupo controle.

Os SNPs do *LGALS3* também foram estudados na susceptibilidade a cardiopatias, como a doença de Chagas, doença crônica com características fibróticas nos estágios mais avançados. Conhecida por desempenhar importante função em processos inflamatórios e fibróticos, a Gal-3, bem como estes SNPs, foi avaliada, porém os resultados desta pesquisa não foram significativos quanto à

influência do polimorfismo e dos níveis séricos da Gal-3 em pacientes com a doença de Chagas (CRUZ et al., 2015).

Estudo realizado por Zhang et al. (2018) avaliou se os polimorfismos da *LGALS3* foram associados à susceptibilidade e prognóstico da miocardiopatia dilatada (MCD). O alelo do SNP rs4652 foi associado à baixa susceptibilidade de desenvolver a doença, porém sugeriram que pode estar envolvido na regulação da secreção da Gal-3. A variante do SNP rs4644 foi associada a níveis baixos de Gal-3 e a baixa fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE). Ao analisar a sobrevida dos pacientes usando o *LGALS3* como marcador prognóstico, nenhum SNP foi associado ao prognóstico de MCD.

4 MÉTODOS

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo de corte transversal, descritivo, analítico, com comparação de grupos que utilizou características clínicas e exames complementares.

4.2 LOCAL DA PESQUISA

A coleta foi realizada no Pronto Socorro Cardiológico de Pernambuco Professor Luiz Tavares (PROCAPE) da Universidade de Pernambuco – UPE.

4.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

Foram selecionados 276 participantes randomicamente mediante banco de dados estruturado com dados clínicos e laboratoriais. Todos os indivíduos foram genotipados para os polimorfismos propostos. Os pacientes foram divididos nos grupos descritos abaixo.

4.3.1 Grupos de estudo

Grupo 1 – Pacientes com FA Permanente.

Grupo 2 – Pacientes com FA Paroxística.

4.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

4.4.1 Critério de Inclusão:

Para ambos os grupos, os critérios foram: pacientes portadores de FA nas suas diversas etiologias e nas apresentações clínicas paroxística e permanente, com diagnóstico estabelecido através de exame clínico confirmado por registro eletrocardiográfico convencional ou pelo registro eletrocardiográfico ambulatorial de 24 horas (Holter), atendidos no Hospital PROCAPE.

4.4.2 Critério de Exclusão

- Pacientes que não foram capazes de compreender as explicações acerca dos exames, bem como esclarecimentos inerentes a sua participação na pesquisa;
- Pacientes que desistam de seguir as orientações fornecidas pelos pesquisadores ou cujo preenchimento dos questionários esteja incompleto;
- Paciente que se recusar a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).
- Pacientes com diagnóstico de doença hepática e doenças malignas.

4.5 OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA

4.5.1 Coleta e processamento das amostras

Os dados clínicos foram coletados através de questionário elaborado pelos autores com informações clínicas e sociodemográficas. A detecção da fibrose foi realizada através do Ecocardiograma *Strain*. Essa técnica é baseada no rastreamento (*tracking*) de marcadores acústicos naturais (*speckles*) presentes na imagem bidimensional em escala de cinza durante todo o ciclo cardíaco. Os exames foram realizados na Escola de Ecocardiografia de Pernambuco (ECOPE). As medidas foram obtidas em decúbito lateral esquerdo com aparelho Vivid IQ e ecocardiograma T8 (GE Healthcare, Horten, Noruega). Todos os pacientes foram submetidos à avaliação ecocardiográfica padrão. Todas as imagens e sinais de *Doppler* foram gravados para análise offline posteriormente usando o software Echopack (GE Healthcare), de acordo com as diretrizes atuais (Badano et al., 2018). Todas as imagens utilizadas para análise ecocardiográfica de speckle tracking foram obtidas em 50-70 quadros por segundo. Essas medidas foram então avaliadas por um cardiologista que desconhecia a condição clínica dos pacientes, e os parâmetros de deformação foram calculados.

O material biológico (sangue) foi coletado por punção venosa em tubos seco e contendo EDTA, para extração do DNA, mRNA e nível sérico da Gal-3. O DNA das amostras foi extraído a partir de sangue total (EDTA) com kit QIAamp Mini Spin Columns (Qiagen) seguindo as instruções do fabricante. Posteriormente, as

amostras de DNA foram armazenadas a -20°C até o momento em que foram realizados os ensaios de genotipagem. A metodologia de genotipagem utilizada foi PCR em tempo real, através do sistema TAQMAN® utilizando sondas fluorescentes, as reações foram realizadas utilizando mastermix Taqman Genotyping (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Para as genotipagens foi utilizado o equipamento QuantiStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA).

As Células Mononucleares do Sangue Periférico (PBMC) foram obtidas por centrifugação em gradiente de densidade Ficoll-Hypaque (*Amersham Bioscience, Uppsala, Suécia*). A extração de DNA genômico foi realizada a partir dos leucócitos pela técnica de fenol-clorofórmio modificado descrita por Davis et al., 1986. Para a obtenção de RNA total, foi utilizado o método de extração em Trizol (Invitrogen, UK), a partir de PBMCs, que englobam os linfócitos, monócitos e os macrófagos.

As amostras de RNA foram quantificadas, utilizando a tecnologia de espectrofotometria, com o equipamento NanoDrop 2000 (ThermoScientific). Para obtenção do cDNA foi utilizado o kit High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante.

A análise sérica da Gal-3 foi determinada por ensaio imunoenzimático *Enzyme (-linked Immunosorbent Assay – ELISA)*, por meio do kit comercial Human LGALS3/Galectina-3 ELISA Kit (Sigma Aldrich, USA), de acordo com as instruções do fabricante. Foi utilizada a leitora de microplacas Epoch (Biotek Instruments Inc.) com o programa Gen5 ELISA (Biotek®).

4.6 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo fundamentar-se-á na Resolução CNS nº 466/2012 e nº 510/2016, que versa sobre os aspectos éticos das pesquisas que envolvem seres humanos, buscando a forma de oferecer menor risco para os envolvidos e trazer maior benefício. Na redação do referido termo, consta a garantia de sigilo das informações relacionadas à identidade pessoal e, ainda, a garantia de retirar-se do estudo a qualquer momento se assim julgar necessário. Destaca-se neste projeto o não conflito de interesses. Para a realização do estudo foi solicitado previamente autorização da direção do hospital, seguida de submissão do projeto à aprovação

pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Complexo Hospitalar HUOC/PROCAPE, cujo parecer nº 3.850.635 e CAAE nº 27527719.6.0000.5192.

4.7 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Os dados foram armazenados em computador no programa Microsoft Excel®. Os cálculos estatísticos foram realizados através do software PRISMStatistics v.8.0 e SPSS statistics v.22. A prevalência de diferentes genótipos foi comparada pelo teste Qui-quadrado (χ^2). As frequências alélicas foram estimadas pelo método da contagem gênica. O teste χ^2 foi utilizado para verificar se a distribuição genotípica está de acordo com a hipótese do equilíbrio de *Hardy-Weinberg*. A existência de associações entre variáveis categóricas foi avaliada pelos testes Qui-quadrado de Pearson e exato de Fisher. Foi utilizado um modelo multivariado para correção dos fatores de confusão. As diferenças foram consideradas significativas para valores de $p < 0,05$. A magnitude destas associações foi estimada como *Odds Ratios* (OR), utilizando intervalos de confiança de 95%. Regressão logística foi utilizada para o ajuste do OR de acordo com os possíveis fatores de confusão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultado dos objetivos traçados, o artigo 4 traz um compilado de informações sobre as análises realizadas.

Artigo nº 4 - Papel da galectina-3 em pacientes com Fibrilação Atrial permanente e paroxística e parâmetros ecocardiográficos de fibrose do átrio esquerdo.

Maria Mariana Barros Melo da Silveira^a, Luydson Richardson da Silva Vasconcelos^b,
Dário Celestino Sobral Filho^c, Dinaldo Cavalcanti de Oliveira^a

^a Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica – Universidade Federal de Pernambuco-UFPE;

^bInstituto Aggeu Magalhães-FIOCRUZ-PE

^c Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – Universidade de Pernambuco-UPE;

RESUMO: A fibrilação atrial (FA) é a arritmia sustentada mais comum na prática clínica. Marcadores bioquímicos e exames de imagem têm sido utilizados com a finalidade de estratificação de risco e detecção de fibrose atrial. O ecocardiograma *speckle-tracking* (EST) é utilizado para detecção de fibrose atrial, bem como, a Gal-3 fornece valor prognóstico importante. Objetivou-se verificar a associação entre os marcadores de fibrose atrial com os níveis séricos, polimorfismos genéticos e expressão gênica da galectina-3. Foram incluídos 206 pacientes com FA permanente e 70 com paroxística. Os SNPs rs4652 e 4644 do gene *LGALS3* foram estudados usando o sistema de PCR em tempo real (TaqMan). Os níveis séricos de GAL-3 foram medidos por ELISA e foi realizado ecocardiograma EST para avaliação de fibrose. Os indivíduos com FA permanente apresentaram média de idade de 66.56 ± 12 anos, quanto aos parâmetros ecocardiográficos no grupo FA permanente quando comparado ao grupo FA paroxística apresentaram significância estatística, diâmetro de átrio esquerdo (AE) ($p=0.007$), volume de AE ($p=0.02$) e volume indexado pela superfície corpórea ($p=0.04$), além dos valores de *strain* longitudinal de átrio esquerdo (SLAE) ($p=0.002$). O grupo FA permanente apresentou correlação com níveis séricos de Gal-3 quando comparado ao SLAE ($r=0.24$; $p=0.01$). A distribuição das frequências alélicas, genótípicas e dos haplótipos do polimorfismo *LGALS3* rs4652 e rs4644 não apresentou variação estatística, o que sugere que estes SNPs não possuem associação com as formas clínicas da FA (permanente e paroxística). Achados ecocardiográficos tiveram associação entre os grupos, bem como quando comparado ao nível sérico na FA permanente.

Palavras-chave: Fibrilação Atrial, Fibrose Atrial, Galectina-3, Ecocardiograma *Speckle-tracking*, Polimorfismo genético.

INTRODUÇÃO

A fibrilação atrial (FA) é a arritmia supraventricular mais comum na prática clínica, com prevalência crescente, em parte, devido ao envelhecimento da população. (GONG, et al., 2018; ANUMONWO, KALIFA, 2016). Acredita-se que a fisiopatologia da FA, acredita-se que envolve respostas pró-inflamatórias, levando à remodelação estrutural e fibrose tecidual, além de remodelação eletrofisiológica, e como resultado um substrato pró-arritmico para arritmogênese (CINTRA, FIGUEREDO, 2021).

O melhor entendimento da relação entre fibrose atrial e FA pode permitir a identificação de um subgrupo de alto risco resultando em impacto positivo no manejo desses pacientes (controle de ritmo, controle da frequência ou ablação) (CAMELI et al., 2016). Marcadores bioquímicos e exames de imagem, cada vez menos invasivos, têm sido utilizados com a finalidade de estratificação de risco e detecção de fibrose atrial (GONG, et al., 2018).

Como método diagnóstico, o ecocardiograma *speckle-tracking* (EST) vem sendo utilizado para detecção de fibrose atrial, com boas perspectivas de uso rotineiro na prática clínica (NIELSEN et al., 2020). A fibrose pode ser identificada pela avaliação de diferentes biomarcadores envolvidos na formação da matriz extracelular, como a galectina-3 (Gal-3) (CLEMENTE et al., 2018).

Imran et al. (2017) demonstraram que a Gal-3 fornece valor prognóstico importante além dos fatores de risco tradicionais no contexto das doenças que cursam com inflamação. Estudos mostraram que altas concentrações de Gal-3 circulante estiveram associadas ao aumento do risco de desenvolvimento da FA (PRANATA et al., 2020; AKSU et al., 2019).

Pacientes com fibrose atrial podem ao longo do tempo desenvolver FA ou a FA pode ser um gatilho da fibrose atrial, bem como de demais cardiopatias. Com isso, de forma geral, existem alguns parâmetros eletrocardiográficos estabelecidos, mas poucos marcadores sorológicos, genéticos e ecocardiográficos definidos para fibrose atrial e FA (BAO et al., 2022).

Dado o grande papel epidemiológico, clínico e econômico da FA, torna-se necessário um estudo que busque marcador robusto e reproduzível envolvido no aparecimento e prognóstico da FA visando à utilização na prática clínica de forma inovadora além de contribuir na detecção de possíveis patologias antes de sua manifestação, beneficiando os pacientes com a economia para o estado por detectar a doença precocemente. Portanto, o presente estudo teve como objetivo verificar a associação entre os marcadores sugestivos de fibrose atrial com os níveis séricos, polimorfismos genéticos e expressão gênica da galectina-3 em pacientes com fibrilação atrial.

MÉTODO

Trata-se de um estudo de corte transversal, descritivo, analítico, com comparação de grupos. A coleta foi realizada no Pronto Socorro Cardiológico de Pernambuco Professor Luiz Tavares (PROCAPE) da Universidade de Pernambuco – UPE.

Foram selecionados 276 participantes que tinham como critério de inclusão ser portadores de FA nas suas diversas etiologias e nas apresentações clínicas paroxística, persistente ou permanente, com diagnóstico estabelecido através de exame clínico confirmado por registro eletrocardiográfico convencional ou pelo

registro eletrocardiográfico ambulatorial de 24 horas (Holter). Esses participantes foram selecionados mediante banco de dados estruturado composto por pacientes com FA atendidos no PROCAPE. Desses participantes, uma amostra de 66 voluntários realizou o ecocardiograma e retornaram ao centro para coleta de sangue e posterior extração de RNA total e dosagem de galectina sérica.

Como critério de exclusão para ambos os grupos a presença de doença hepática e câncer foram considerados. Os grupos foram divididos de acordo com o tipo da fibrilação atrial, 206 pacientes tinham FA permanente e 70 FA paroxística.

Os dados clínicos foram coletados através de questionário elaborado pelos autores com informações clínicas e sociodemográficas. A detecção da fibrose foi realizada através do Ecocardiograma *Strain*. Essa técnica é baseada no rastreamento (*tracking*) de marcadores acústicos naturais (*speckles*) presentes na imagem bidimensional em escala de cinza durante todo o ciclo cardíaco. Os exames foram realizados numa Escola de Ecocardiografia. As medidas foram obtidas em decúbito lateral esquerdo com aparelho Vivid IQ e ecocardiograma T8 (GE Healthcare, Horten, Noruega). Todos os pacientes foram submetidos à avaliação ecocardiográfica padrão. Todas as imagens e sinais de Doppler foram gravados para análise offline posteriormente usando o software Echopack (GE Healthcare), de acordo com as diretrizes atuais (Badano et al., 2018). Todas as imagens utilizadas para análise ecocardiográfica de *speckle-tracking* foram obtidas em 50-70 quadros por segundo. Essas medidas foram então avaliadas por um cardiologista que desconhecia a condição clínica dos pacientes e os parâmetros de deformação foram calculados.

Coleta e Processamento das Amostras

O material biológico (sangue) foi coletado por punção venosa em tubos seco e contendo EDTA, para extração do DNA, mRNA e nível sérico da Gal-3. O DNA das amostras foi extraído a partir de sangue total (EDTA) com kit QIAamp Mini Spin Columns (Qiagen) seguindo as instruções do fabricante. Posteriormente, as amostras de DNA foram armazenadas a -20°C até o momento em que foram realizados os ensaios de genotipagem. A metodologia de genotipagem utilizada foi PCR em tempo real, através do sistema TAQMAN® utilizando sondas fluorescentes, as reações foram realizadas utilizando mastermix Taqman Genotyping (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Para as genotipagens foi utilizado o equipamento QuantiStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA).

As Células Mononucleares do Sangue Periférico (PBMC) foram obtidas por centrifugação em gradiente de densidade Ficoll-Hypaque (*Amersham Bioscience, Uppsala, Suécia*). A extração de DNA genômico foi realizada a partir dos leucócitos pela técnica de fenol-clorofórmio modificado descrita por Davis et al., 1986. Para a obtenção de RNA total, foi utilizado o método de extração em Trizol (Invitrogen, UK), a partir de PBMCs, que englobam os linfócitos, monócitos e os macrófagos.

As amostras de RNA foram quantificadas, utilizando a tecnologia de espectrofotometria, com o equipamento NanoDrop 2000 (ThermoScientific). Para obtenção do cDNA foi utilizado o kit High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante.

A análise sérica da Gal-3 foi determinada por ensaio imunoenzimático *Enzyme (-linked Immunosorbent Assay – ELISA)*, por meio do kit comercial Human LGALS3/Galectina-3 ELISA Kit (Sigma Aldrich, USA), de acordo com as instruções

do fabricante. Foi utilizada a leitora de microplacas Epoch (Biotek Instruments Inc.) com o programa Gen5 ELISA (Biotek®).

Análise e Interpretação dos dados

Os cálculos estatísticos foram realizados através do software PRISMStatistics v.6.0 e SPSS statistics v.22. Para testar o equilíbrio de *Hardy-Weinberg* e construção dos haplótipos, foi utilizado o software Arlequin (versão 3.2). A prevalência de diferentes genótipos foi comparada pelo teste Qui-quadrado (χ^2). A existência de associações entre variáveis categóricas foi avaliada pelos testes Qui-quadrado de Pearson e exato de Fisher.

Para variáveis quantitativas sem distribuição normal foi usado o teste Mann-Whitney e com distribuição normal o teste T-Student. Análise de correlação foi realizada entre as variáveis clínicas e valores de Rq, utilizando os testes de Spearman ou Pearson quando apropriado para obtenção do valor de p e r^2 . As diferenças foram consideradas significativas para valores de $p < 0,05$. A magnitude destas associações foi estimada como *Odds Ratios* (OR), utilizando intervalos de confiança de 95%.

Aspectos Éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Pernambuco (UPE), sob parecer nº 3.850.635.

RESULTADOS

A tabela 1 mostra as características clínicas, demográficas e variáveis do

ecocardiograma dos pacientes do estudo. Os indivíduos com FA permanente apresentaram média de idade de 66.56 ± 12 anos, 50.5% eram do sexo masculino e com o Índice de Massa Corpórea (IMC) sobrepeso/obeso (73.3%) sendo o mais prevalente nesse grupo. As principais comorbidades foram hipertensão arterial sistêmica (HAS) (86.9%), insuficiência cardíaca (IC) (50%), dislipidemia (47%) e valvopatia (39.8%). Os participantes com FA paroxística eram em sua maioria do sexo feminino (60%), com IMC sobrepeso/obeso sendo o mais prevalente (40%) e quanto às comorbidades, HAS (90%), IC (51.47%), doença valvar (37.1%) e dislipidemia (32.8%) apareciam em maior número, características essas semelhantes ao grupo com FA permanente. As variáveis clínicas e demográficas não foram estatisticamente diferentes entre os grupos de FA.

Para análise ecocardiográfica 66 voluntários foram randomicamente selecionados de bando de dados, sendo eles 48 do grupo FA permanente e 18 do grupo FA Paroxística. Quanto aos parâmetros ecocardiográficos (tabela 1) no grupo FA permanente quando comparado ao grupo FA paroxística, chama atenção às alterações principalmente no grupo FA permanente, sendo elas, diâmetro de AE (46.49 ± 7.68 vs. 41 ± 5.85 , $p=0.007$), volume de AE (106.5 ± 41.64 vs. 79; P25: 54.7, P75: 97, $p=0.02$) e volume AE indexado pela superfície corpórea (51.29; P25: 39.9, P75: 78.1 vs. 41.55; P25: 28; P75: 54.9, $p=0.04$), além dos valores de *strain* longitudinal de átrio esquerdo (SLAE) (10; P25: 7.2, P75: 12.4 vs. 16.3; P25: 8.1, P75: 21.2, $p=0.002$).

Tabela 1. Caracterização sociodemográfica, clínica e parâmetros ecocardiográficos dos pacientes portadores de fibrilação atrial.

Variáveis	Total (n= 276)	FA Permanente N =206 (%)	FA Paroxística N =70 (%)	P valor
Gênero				
Feminino	144 (52.2)	102 (49.5)	42 (60)	0.16
Masculino	132 (47.8)	104 (50.5)	28 (40)	
Idade (anos)	65.32±14.73	66.56±12	61.66±20.35	0.18
Índice de Massa Corpórea (IMC)				
Normal	77 (28)	55 (26.7)	23 (32.9)	0.35
Sobrepeso/ Obeso	199 (72)	151 (73.3)	47 (67.1)	
Comorbidades				
Dislipidemia	120 (43.5)	97 (47)	23 (32.8)	0.05
Hipertensão Arterial Sistêmica	242 (87.7)	179 (86.9)	63 (90)	0.67
Diabetes Mellitus	56 (20.3)	44 (21.3)	12 (17.4)	0.49
Insuficiência Cardíaca	138 (50)	102 (49.5)	36 (51.4)	0.89
Acidente Cerebrovascular	61 (22.1)	45 (21.8)	16 (22.8)	0.86
Doença Renal	23 (8.3)	16 (7.7)	7 (10)	0.61
Doença Valvar	110 (39.8)	84 (40.7)	26 (37.1)	0.67
Doença Arterial Coronariana	33 (12)	23 (11)	10 (14.3)	0.53
Variáveis		FA Permanente (n=48) Média/mediana	FA Paroxística (n=18) Média/mediana	P valor
DdVE		49.71±6.48*	53.5±11.17*	0.09
DsVE		35.37±7.13*	37.5±13.44*	0.4
FE (Teichholz)		55.69±12.28*	57.26±15.65*	0.67
AE		46.49±7.68*	41±5.85*	0.007
Vol AE		106.5±41.64*	79 (54.7-97) ‡	0.02
Vol AE/SC		51.29 (39.9-78.1) ‡	41.55 (28-54.9) ‡	0.04
SLAE		10 (7.2-12.4) ‡	16.3 (8.1-21.2) ‡	0.02
SLGVE		14.34±3.22*	15.48±5.22*	0.28

Legenda: FA= fibrilação atrial; VR: Valor de referência; DdVE: Diâmetro diastólico do Ventrículo Esquerdo (VR: 38-52); DsVE: Diâmetro sistólico do Ventrículo Esquerdo (VR: 22-35); FE: Fração Ejeção (VR: >=55); AE: Diâmetro de Átrio Esquerdo (VR:27-38); Vol AE: Volume de Átrio Esquerdo (VR: 22-53); Vol AE/SC: Volume de Átrio Esquerdo/ Superfície Corpórea (VR: <34); SLAE: *Strain* Longitudinal de Átrio Esquerdo (VR: 38-41); SLGVE: *Strain* Longitudinal Global de Ventrículo Esquerdo (VR: <18); *média±desvio-padrão; ‡mediana (P25-P75).

A tabela 2 mostra a frequência dos genótipos de acordo com os grupos de estudo. A distribuição dos genótipos para os polimorfismos estavam de acordo com o equilíbrio de *Hardy-Weinberg*. A frequência do alelo variante C para o rs4652 foi de 208 (49.8%) no grupo FA permanente e 65 (47.1%) no grupo FA paroxística, e para o genótipo polimórfico CC, 56 (27%) para o grupo FA permanente e 12 (17.8%) no grupo FA paroxística. Quanto ao rs4644, a frequência do alelo variante A foi de 105 (96.2%) para o grupo FA permanente e 35 (27.8%) para FA paroxística. Nos indivíduos com FA permanente, o genótipo e o alelo mais prevalente, respectivamente foram o AC (49.6%) e A (50.5%) no rs4652 e CC (53%) e C (74%)

no rs4644. Não houve associação entre os genótipos do gene *LGALS3* (AA, AC, CC) dos SNPs rs4652 e rs4644 e o tipo de FA.

Tabela 2. Frequência dos polimorfismos no gene *LGALS3* (rs4652 e rs4644) em pacientes com fibrilação atrial.

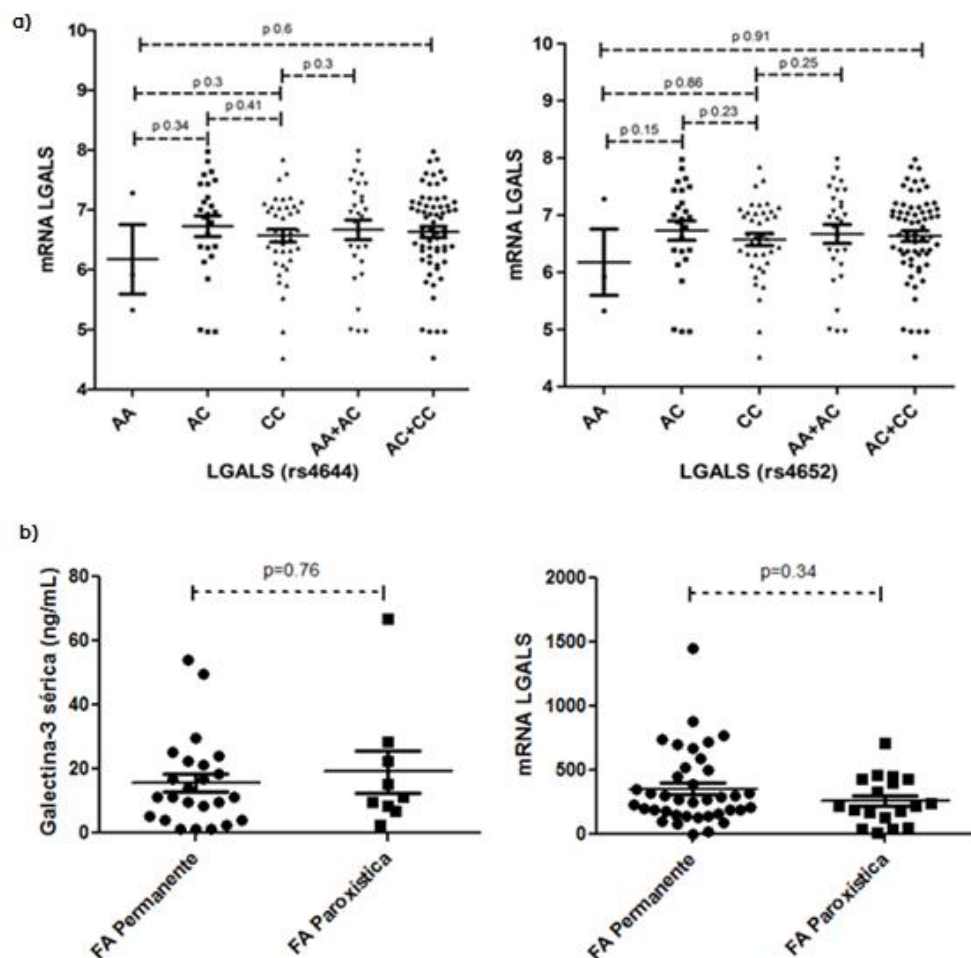
Polimorfismo	Alelo (n)	FA N (%)	FA PERMANENTE n = 206 (%)	FA PAROXÍSTICA n = 70 (%)	Teste χ^2 (p valor) / OR (IC 95%)*
					FA Permanente vs FA Paroxística
<i>LGALS3</i> (rs4652) (n = 276)	A	279 (50.5)	206 (50.2)	73 (52.9)	A vs C: 0.55; 0.88 (0.59-1.29)
	C	273 (49.5)	208 (49.8)	65 (47.1)	AA vs AC: 0.32/ 1.46 (0.75-2.85)
	AA	71 (25.7)	55 (26.6)	16 (23.2)	AA vs CC: 0.52; 0.73 (0.31-1.7)
	AC	137 (49.6)	96 (46.4)	41 (59.4)	AC vs CC: 0.06; 0.5 (0.24-1.03)
	CC	68 (24.7)	56 (27)	12 (17.8)	AA+AC vs CC: 0.14; 0.56 (0.28-1.13) AC+CC vs AA: 0.63; 0.83 (0.44-1.58)
Polimorfismo	Alelo (n)	FA N (%)	FA PERMANENTE n = 206 (%)	FA PAROXÍSTICA n = 70 (%)	Teste χ^2 (p valor) OR (IC 95%)
					FA Permanente vs FA Paroxística
<i>LGALS3</i> (rs4644) (n = 276)	A	144 (26)	105 (96.2)	35 (27.8)	A vs C: 0.64; 0.88 (0.56-1.38)
	C	408 (74)	309 (3.8)	91 (72.2)	AA vs AC: 0.99; 0.91 (0.26-3.12)
	AA	14 (5)	10 (4.8)	4 (5.8)	AA vs CC: 0.74; 0.75 (0.22-2.77)
	AC	116 (42)	85 (41)	31 (45)	AC vs CC: 0.56; 0.83 (0.47-1.46)
	CC	146 (53)	112 (54.2)	34 (49.2)	AA+AC vs CC: 0.49; 0.82 (0.47-1.42) AC+CC vs AA: 0.75; 1.21 (0.36-3.99)
<i>LGALS3</i>		FA (N= 276)	FA Permanente n = 206 (%)	FA Paroxística n = 70 (%)	Teste χ^2 (p valor)/ OR (IC 95%)
Baixo		52 (19)	42 (20.4)	10 (14.3)	
Intermediário		155 (56)	112 (50.4)	44 (62.9)	0.27/ 1.6 (0.73-3.48)
Alto		69 (25)	52 (25.2)	16 (22.8)	0.65/ 1.28 (0.52-3.13)
Intermediário/ Alto		220 (80)	161 (78)	53 (75.7)	0.37/ 1.5 (0.7-3.19)

Legenda: FA= fibrilação atrial; OR= odds ratio; IC= intervalo de confiança.

Foram construídos haplótipos dos dois SNPs, e baseado na literatura, de acordo com Mendonça-Belmont et al. (2016) os haplótipos podem ser classificados de acordo com os níveis séricos da Gal-3, sendo eles, baixo 52 (19%), intermediário 155 (56%) e alto 69 (25%), sendo mais prevalente no intermediário em ambos os grupos e não houve associação entre eles e os tipos de FA (tabela 2). A expressão de mRNA da Gal-3, quando comparada entre os tipos de FA não teve associação

($p=0.95$), bem como, também não teve associação quando comparada com os genótipos dos SNPs rs4652 e 4644 do gene *LGALS3* nos grupos estudados ($p=0.95$). Não houve associação ao comparar os níveis de Gal-3 ($p=0.76$) e o mRNA ($p=0.34$) com o tipo de FA (figura 1).

Figura 1. Níveis de mRNA do gene *LGALS3* e quantificação sérica da galectina-3 em pacientes com FA.



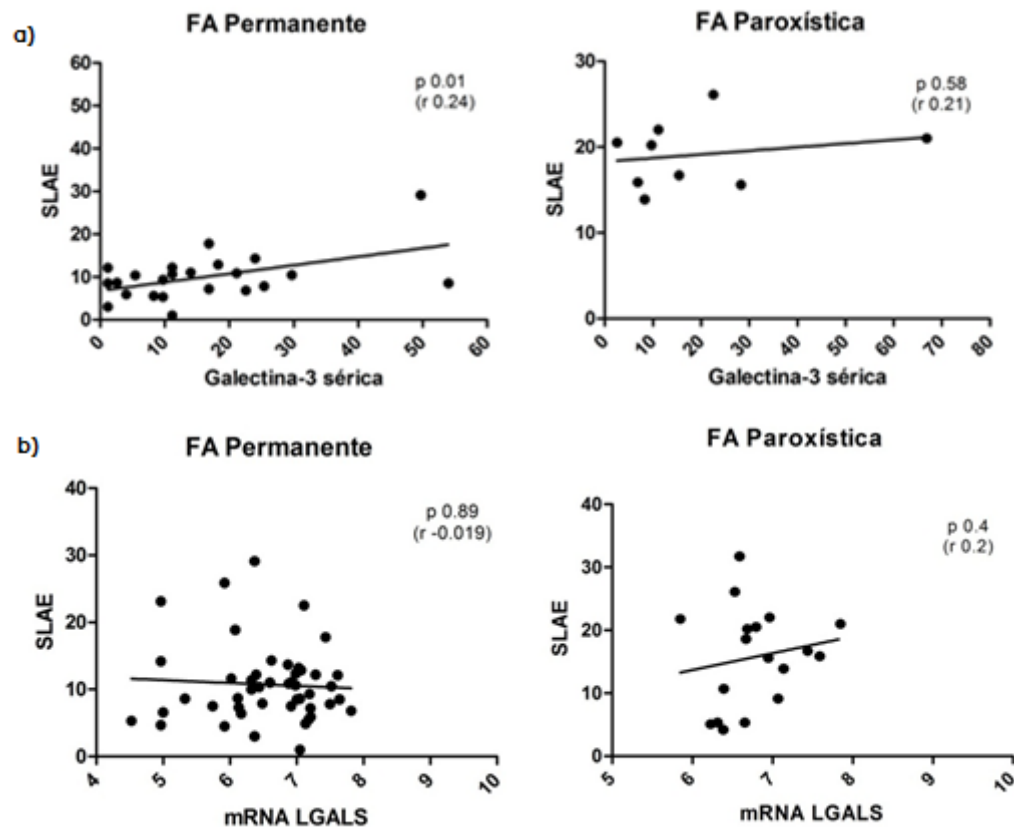
Legenda: FA= fibrilação atrial. a) Níveis de mRNA do gene *LGALS3* por genótipo nos rs4652 e rs4644. b) Níveis séricos da Gal-3 comparados por subtipos da FA (permanente e paroxística).

Correlação do mRNA e dos níveis séricos da galectina-3 com parâmetros ecocardiográficos em pacientes com FA

Os mRNAs foram investigados e identificados em PBMC de ambos os grupos. Correlações de Spearman e de Pearson foram verificadas, em todos os grupos, entre a expressão do mRNAs e os principais parâmetros ecocardiográficos estudados (SLAE) conforme mostrado na Figura 2. A presença do mRNA entre os grupos não foi correlacionada significativamente com nenhum dos parâmetros, apesar da subexpressão entre os pacientes com FA (figura 2).

Os níveis séricos de Gal-3 foram investigados e comparados ao parâmetro do *strain* de AE (SLAE). Correlações de Spearman e de Pearson foram verificadas, em todos os grupos, o grupo FA permanente teve correlação com níveis séricos de Gal-3 ($r=0.24$; $p=0.01$), quanto menor os níveis de Gal-3, menor o *strain* de AE, as demais comparações não tiveram correlação significativamente estatística (figura 2).

Figura 2. Correlação dos níveis séricos da galectina-3 e o mRNA do gene LGALS3 com o strain de átrio esquerdo.



Legenda: FA= fibrilação atrial; SLAE: *Strain* Longitudinal de Átrio Esquerdo (VR: 38-41); mRNA: RNA mensageiro. a) SLAE vs Galectina-3 sérica; b) SLAE vs mRNA LGALS3.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a associação entre os parâmetros ecocardiográficos sugestivos de fibrose atrial e as variantes genéticas do gene *LGALS3*, que codifica a galectina-3, bem como sua expressão gênica e os níveis séricos em pacientes com fibrilação atrial. A galectina-3 foi previamente associada como possível biomarcador para fibrose cardíaca (Sygitowicz et al., 2022; Sciacchitano et al., 2018; Clementy et al., 2018).

Nesse estudo, o diâmetro de AE, volume de AE, volume de AE indexado a superfície corpórea e o *strain* longitudinal de AE tiveram associação quando

comparados entre os grupos de FA permanente e paroxística. Alterações no tamanho do AE podem estar associadas à deformação da parede atrial, representando uma redução na complacência atrial indicando que a função encontra-se alterada (CAMELI et al., 2016), bem como a FA está independentemente associada ao aumento do diâmetro do AE (Bao et al., 2022).

Alterações no diâmetro e volume de AE causadas por efeitos da inflamação, estresse oxidativo e fibrose atrial desempenham papel importante no desenvolvimento e progressão da FA (LIU et al., 2022). A fibrose está associada ao remodelamento e diminuição da complacência do AE, os parâmetros de função do AE avaliados pelo ecocardiograma *speckle-tracking* (EST) podem ter valor preditivo sobre a fibrose do AE (Bao et al., 2022).

O EST pode ser usado para avaliar a fibrose atrial (Lacalzada-Almeida et al., 2017), e serve como marcador de remodelação do AE para detectar disfunção precoce do AE mesmo antes das alterações estruturais do átrio esquerdo (Goette et al., 2017). A técnica de *strain* tem sido usada para avaliar a deformação miocárdica pelo ecocardiograma, apresentando grande sensibilidade na detecção de alterações subclínicas. Ao introduzir a técnica de *speckle-tracking*, que permite quantificar a deformação miocárdica em duas dimensões, medindo velocidade tecidual e torção de ventrículo (BARBERATO et al., 2019).

De acordo com Pilichowska et al. (2018) volume do AE correlacionaram-se com a extensão da fibrose, avaliada por mapeamento eletroanatômico através de acesso transeptal e comprovaram que EST pode ser útil na avaliação não invasiva de fibrose do AE. Kiliçgedik et al. (2017) em seu estudo demonstrou associação significativa entre a deformação (*strain*) longitudinal atrial global do AE e a

progressão da FA, além disso outros estudos abordando métodos não-invasivos podem colaborar com o valor prognóstico da doença.

Quando avaliado os SNPs (rs4652 e rs4644) do gene *LGALS3* não foi encontrada diferença significativa entre os genótipos AA, AC e CC e os grupos de comparação FA permanente e paroxística. Cruz et al. (2015) investigaram o desenvolvimento das formas cardíacas da doença de Chagas, que também cursa com mecanismo inflamatório crônico, não encontraram predisposição genética para o polimorfismo da galectina-3 (Cruz et al., 2015).

Ao investigar os SNPs do gene *LGALS3* e níveis séricos de Gal-3 em pacientes com esclerose sistêmica (ES), doença autoimune que cursa com dano vascular, inflamação e produção exacerbada de matriz extracelular, resultando em fibrose, Cunha et al. (2021) encontraram em seu estudo que o genótipo *LGALS3* rs4652 AC foi mais frequente em pacientes com ES do que nos controles e genótipo CC polimórfico foi associado a níveis mais baixos de Gal-3 nos pacientes com esclerose sistêmica assim como no grupo controle.

No presente estudo, não foi observada associação dos níveis séricos da Gal-3 com o subtipo da FA. De acordo com um estudo de metanálise, níveis de Gal-3 são mais altos em pacientes com FA do que nos pacientes sem a doença e estão associados a maiores chances de desenvolver FA, bem como os níveis da Gal-3 diferem significativamente entre os grupos com e sem FA (Gong et al. 2018). Contrariamente, um estudo realizado por Kalstad et al. (2021), que investigou associação entre a presença de FA e marcadores de remodelação cardíaca, observaram que não foi encontrada associação entre o subtipo de FA e níveis séricos de Gal-3.

Quanto aos níveis de mRNA do gene *LGALS3* não foi observada diferença significativa, contudo observamos uma correlação positiva com os níveis séricos da Gal-3 e SLAE, o que difere do resultado encontrado no estudo de Walek et al. (2021), onde a correlação encontrada foi negativa. Em seu estudo, Walek comparou o SLAE em pacientes com FA e em ritmo sinusal após cardioversão elétrica. Os resultados do estudo de Walek et al. (2021) diferem dos apresentados por nós em termos da correlação da concentração de Gal-3. Essa discrepância pode ser resultado da seleção dos grupos testados. No nosso estudo, todos os pacientes tinham FA permanente ou paroxística, enquanto no de Walek, o subtipo da FA era a persistente, bem como seu grupo de comparação que tinha ritmo sinusal após cardioversão.

A Gal-3 vem sendo discutida no tocante às doenças cardiovasculares, já documentada na aterosclerose, acidente vascular cerebral isquêmico, síndrome coronariana aguda, insuficiência cardíaca, hipertensão arterial, cardiomiopatias e fibrilação atrial (Sygitowicz et al., 2022; Bland et al., 2020). Acredita-se que desempenha papel na transição da remodelação compensatória à descompensação, mediando a ativação dos macrófagos e induzindo a remodelação estrutural e eletrofisiológica dos átrios. A FA pode ainda induzir a liberação de macrófagos produzindo um ciclo vicioso que pode perpetuar a progressão da doença (Gong et al., 2018), tal fenômeno pode explicar o fato de termos encontrado uma correlação positiva entre o aumento da SLAE e níveis de galectina.

Limitações

O presente estudo tem algumas limitações, dentre elas o tamanho da amostra dos pacientes que realizaram ecocardiograma e que tem resultado do nível sérico de

Gal-3, além disso, a utilização de um grupo controle pareado por idade poderia ajudar a explicar a função da glectina na doença crônica causada pela FA, contudo, a principal pergunta abordada nesse estudo foi à alteração da glectina nas formas clínicas da FA (permanente e paroxística).

CONCLUSÃO

Portanto, a distribuição das frequências alélicas, genótípicas e dos haplótipos do polimorfismo *LGALS3* rs4652 e rs4644 não apresentou variação estatística, o que sugere que estes SNPs não possuem associação com as formas clínicas da FA (permanente e paroxística). Em contrapartida, achados ecocardiográficos tiveram associação entre os grupos, bem como quando comparado ao nível sérico na FA permanente. Dessa forma a avaliação de marcadores de fibrose na fibrilação atrial pode colaborar no manejo da doença e no seu prognóstico, contudo mais estudos com um tamanho amostral maior precisam ser realizados para confirmar o papel da glectina na FA.

REFERÊNCIAS

- 1 - Gong M, Cheung A, Wang Q-S, et al. Galectin-3 and risk of atrial fibrillation: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Lab Anal.* 2020;34:e23104.
- 2 – Anumonwo JM, Kalifa J. Risk factors and genetics of atrial fibrillation. *Heart Fail Clin.* 2016;12:157-166.
- 3 - Cintra FD, Figueiredo MJO. Atrial Fibrillation (Part 1): Pathophysiology, Risk Factors, and Therapeutic Basis. *Arq Bras Cardiol.* 2021; 116(1):129-139.

4 - Cameli GEM, Loiacono F, Sparla S, Iardino E, Mondillo S. Left atrial strain: A useful index in atrial fibrillation. *Int J of Cardiol.* 2016; 220: 208–13.

5 - Nielsen AB, Skaarup KG, Lassen MCH, Djernæs K, Hansen ML, Svendsen JH, Johannessen A, et al.. Usefulness of left atrial speckle tracking echocardiography in predicting recurrence of atrial fibrillation after radiofrequency ablation: a systematic review and meta-analysis. *The Int J of Cardiovasc Imag.* 2020.

6 - Clementy N, Garcia B, Clementine A, Bisson A, Benhenda N, Bertrand P, et al. Galectin-3 level predicts response to ablation and outcomes in patients with persistent atrial fibrillation and systolic heart failure. *PLoS ONE.* 2018; 13 (8): 1-12.

7 - Imran TF, Shin HJ, Mathenge N, Wang F, Kim B, Joseph J, et al. Meta-analysis of the use-fulness of plasma galectin-3 to predict the risk of mortality in patients with heart failure and in the general population. *Am J Cardiol.* 2017;119:57-64

8 - Pranata R, Yonas E, Chintya V, Tondas AE, Raharjo SB. Serum Galectin-3 level and recurrence of atrial fibrillation post-ablation e Systematic review and meta-analysis, *Indian Pacing and Electrophysiology J.* 2020; 20: 64-69.

9 - Aksu U, Kalkan K, Gulcu O, Aksakal E, Öztürk M, Topcu S. The role of the right atrium in development of postoperative atrial fibrillation: A speckle-tracking echocardiography study. *J Clin Ultrasound.* 2019;1–7.

10 - Bao L, Cheng L, Gao X, Yan F, Fan H, Shan Y, et al. Left atrial morpho-functional remodeling in atrial fibrillation assessed by three dimensional speckle tracking echocardiography and its value in atrial fibrillation screening. *Cardiovascular Ultrasound.* 2022; 20 (13): 1-14.

11 - Badano LP, Kolas TJ, Muraru D, Abraham TP, Aurigemma G, Edvardsen T, et al. Standardization of left atrial, right ventricular, and right atrial deformation imaging using two dimensional speckle-tracking echocardiography: a consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2018;19: 591-600.

12 – Davis LG, Dibner MD, Battey JF. *Basic Method in Molecular Biology.* Londres: Elsevier. 1986, 338–388.

13 - Mendonça Belmont TF, do Ó KP, Silva AS, Vilar KVM, Silva FM, Vasconcelos LRS, et al. Single Nucleotide Polymorphisms at +191 and +292 of Galectin-3 Gene (LGALS3) Related to Lower GAL-3 Serum Levels Are Associated with Frequent

Respiratory Tract Infection and Vaso-Occlusive Crisis in Children with Sick Cell Anemia. PLoS ONE. 2016; 11(9): e0162297.

14 - Sygitowicz G, Maciejak-Jastrzebska A, Sitkiewicz D. The Diagnostic and Therapeutic Potential of Galectin-3 in Cardiovascular Diseases. Biomol. 2022; 12 (46): 1-22.

15 - Sciacchitano S, Lavra L, Morgante A, Olivieri A, Magi F, Francesco GP et al. Galectin-3: One Molecule for an Alphabet of Diseases, from A to Z. Int. J. Mol. Sci. 2018; 19.

16 - Clementy N, Piver E, Bisson A, Clémentine A, Bernard A, Pierre B, et al. Galectin-3 in Atrial Fibrillation: Mechanisms and Therapeutic Implications. Int. J Mol Sci. 2018; 19, 976.

17 – Liu HT, Lee HL, Chou CC. From Left Atrial Dimension to Curved M-Mode Speckle-Tracking Images: Role of Echocardiography in Evaluating Patients with Atrial Fibrillation. Rev. Cardiovasc. Med. 2022; 23(5): 171.

18 - Lacalzada-Almeida J, García-Nlebla J. How to detect atrial fibrosis. J of Geriatric Cardiol. 2017; 14, 185-94.

19 - Goette A, Kalman JM, Aguinaga L, Akar J, Cabrera JA, Chen SA, et al. EHRA/HRS/APHRS/SOLAECE expert consensus on atrial cardiomyopathies: Definition, characterization, and clinical implication. Heart Rhythm. 2017; 14: e3–e40.

20 - Yuda S, Muranaka A, Miura T. Clinical implications of left atrial function assessed by speckle tracking echocardiography. Journal of Echocardiography. 2016; 14: 104–112.

21 – Barberato SH, Romano MMD, Beck ALS, Rodrigues ACT, Almeida ALC, Assunção BMBL, et al. Posicionamento sobre Indicações da Ecocardiografia em Adultos. Arq Bras de Cardiologia. 2016; 113 (1): 135-181.

22 - Pilichowska-Paszkiel E, Baran J, Sygitowicz G, Sikorska A, Stec S, Kulakowski P, et al. Noninvasive assessment of left atrial fibrosis. Correlation between echocardiography, biomarkers, and electroanatomical mapping. Echocardiography. 2018; 0, 1–9.

23 - Kiliçgedik EFE, Gürbüz AS, Acar E, Yilmaz MF, Yilmaz F, Yaman A, et al. Galectin-3 in Middle-Aged Patients with First Episode of Non-valvular Atrial Fibrillation: a Speckle-tracking Study. Koşuyolu Heart J. 2017; 20 (3), 224-29.

24 - Cruz GS, Angelo ALD, Larocca TF, Macedo CT, Noya-Rabelo M, Correia LCL, et al. Assessment of Galectin-3 Polymorphism in Subjects with Chronic Chagas Disease. *Arq Bras Cardiol.* 2015; 105 (5), 472–8.

25 – Cunha EGC, Lima CAD, Vilar KM, Nóbrega MF, Almeida AR, Pereira MC, et al. Genetic variants in LGALS3 are related to lower galectin-3 serum levels and clinical outcomes in systemic sclerosis patients: A case-control study, *Autoimmunity.* 2021; 54 (4), 187-194.

26 – Kalstad AA, Myhre PL, Laake K, Trine B, Tveit OA, Harald SSA et al. Biomarkers of ageing and cardiac remodeling are associated with atrial fibrillation, *Scandinavian Cardiovascular J.* 2021; 55(4), 213-19.

27 – Walek P Grabowska U Ciesla E, Sielski J, Roskal-Walek J, Wozakowska-Kaplon B. Analysis of the Correlation of Galectin-3 Concentration with the Measurements of Echocardiographic Parameters Assessing Left Atrial Remodeling and Function in Patients with Persistent Atrial Fibrillation. *Biomolecules.* 2021; 11, 1108.

28 - Blanda V, Bracale UM, Di Taranto MD, Fortunato G. Galectin-3 in Cardiovascular Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 9232.

6 CONCLUSÃO

Diâmetro de átrio esquerdo, volume do átrio esquerdo e volume do átrio esquerdo indexado a superfície corpórea, além do *strain* do átrio esquerdo são parâmetros sugestivos de fibrose em pacientes com fibrilação atrial em suas formas clínicas paroxística e permanente.

A distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos genes envolvidos com o canal iônico e com a galectina-3 e a expressão gênica dessa proteína, não tiveram associação com as formas clínicas da FA, o que sugere que estes SNPs não possuem associação com a doença.

Níveis séricos de galectina-3, apesar de já descritos na literatura como provável marcador de fibrose, não apresentaram associação quando correlacionados com os subtipos da doença.

APÊNDICE

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos V.Sa. a participar como voluntário(a) da pesquisa “**IMPACTO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS E GALECTINA-3 NA FIBROSE ATRIAL EM PACIENTES COM FIBRILAÇÃO ATRIAL**”, sob responsabilidade do pesquisador Dário C. Sobral Filho, que tem por objetivo Verificar a associação entre a fibrose atrial com os níveis séricos de galectina-3 e a presença de polimorfismos em genes envolvidos no processo fibrótico e canais iônicos nos pacientes selecionados nos pacientes com fibrilação atrial.

Para a realização deste trabalho serão utilizados os seguintes métodos:

- Será retirada uma amostra de 04 ml de sangue, por profissionais habilitados, durante o atendimento. O material genômico será congelado à -80° até o momento da identificação dos polimorfismos, que será realizado no laboratório de Biologia Molecular de Vírus-LBMV/FCM/ICB-UPE.
- Um questionário será aplicado ao paciente com perguntas relacionadas ao seu perfil socioeconômico, estado geral de saúde e tratamento.

Quanto aos **riscos e desconfortos**, o procedimento para coletar o material da pesquisa é a retirada de uma única coleta de 04 ml de sangue através de punção venosa, por profissionais habilitados. Entretanto, um risco de maior gravidade para o paciente seria a não coleta por dificuldade em puncionar a sua veia e esse fato pode representar um risco mínimo de ocasionar uma pequena mancha roxa no local da punção.

Os **benefícios** esperados com o resultado desta pesquisa são:

- Fornecer subsídios para o desenho de estratégias terapêuticas empregando as moléculas estudadas;
- Fornecer subsídios para estabelecer o melhor manejo clínico dos pacientes com fibrilação atrial;

O senhor (a) terá os seguintes **direitos**: a garantia de esclarecimento e resposta a qualquer pergunta; a liberdade de abandonar a pesquisa a qualquer momento sem prejuízo para si **ou para seu tratamento**; a garantia de privacidade à sua identidade e do sigilo de suas informações e de que caso haja algum dano a sua pessoa, os prejuízos serão assumidos pelos pesquisadores ou pela instituição responsável, inclusive acompanhamento médico e hospitalar. Para garantir que seus direitos sejam resguardados, o presente documento constará em duas vias: uma para o voluntário e outra para o pesquisador.

Nos casos de **dúvidas e esclarecimentos** procurar os pesquisadores através do endereço, celular ou e-mail:

Dário C. Sobral Filho – Rua dos Palmares, 262, Santo Amaro, Recife-PE. Cel: (81) 99989-9190/ E-mail: dsobral@uol.com.br

Dinaldo Cavalcanti de Oliveira - (81) 98679-3821/ E-mail: dinaldooliveira5@gmail.com

Mariana Barros Melo – Cel: (81) 99461-3705/ E-mail: marianabms@gmail.com

Eu, _____, após ter recebido todos os esclarecimentos e ciente dos meus direitos, concordo em participar desta pesquisa, bem como autorizo a divulgação e a publicação de toda informação por mim transmitida em publicações e eventos de caráter científico.

Recife, ____/____/____

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador

Testemunha

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO PARA COLETA DE DADOS

Ficha de Coleta de Dados

1. Identificação

Nome: _____
Sexo: F () M () **Data de Nascimento:** _____
Registro: _____ **Telefone:** _____
Raça: Branco () Pardo () Negro () Indígena ()
Estado civil: Casado/união estável () Separado ()
 Viúvo () Solteiro ()
Endereço: _____

Procedência: RMR () Interior () Outros Estados ()

FA: Paroxística () Persistente () Permanente ()
Data do diagnóstico da FA: _____
Sintomas iniciais: _____

Sintomas atuais: _____

Permanece com FA: Sim () Não ()
Possui comprovação do diagnóstico:
ECG: Sim () Não ()
Holter: Sim () Não ()
Confirmação no prontuário: Sim () Não ()
Classe Funcional (NYHA): _____
Chads: _____ **ChadsVasc:** _____

COMORBIDADES

Dislipidemia	Sim ()	Não ()
IC	Sim ()	Não ()
Sedentarismo	Sim ()	Não ()
DM	Sim ()	Não ()
HAS	Sim ()	Não ()
Doença Renal	Sim ()	Não ()
Câncer	Sim ()	Não ()
Obesidade	Sim ()	Não ()
AVC ou AIT	Sim ()	Não ()
D. Valvar	Sim ()	Não ()
D. Vascular Per	Sim ()	Não ()
D. Reumática	Sim ()	Não ()
DAC	Sim ()	Não ()
D. Carotídea	Sim ()	Não ()
Outra Doença:	_____	
Tabagista:	Sim ()	Não () Quanto:
Etilista:	Sim ()	

Ocupação: _____

Renda mensal: até 1 salário () de 1 a 3 salários ()
de 3 a 5 salários () acima de 5 salários ()

Escolaridade:

Analfabeto ()
 Ensino fundamental incompleto ()
 Ensino fundamental completo ()
 Ensino médio incompleto ()
 Ensino médio completo ()
 Ensino superior incompleto ()
 Ensino superior completo ()

3. Antecedentes Familiares

Casos de FA na família: Sim () Não ()

Grau de Parentesco: _____

Casos de DCV na família: Sim () Não ()

Se sim, quais: _____

RC: _____ **FC:** _____ bpm

PA: _____ X _____ mmHg

Sopro: _____

Pulmões: _____

Abdome: _____

Peso: _____ **Altura:** _____ **IMC:** _____

Circ. Abd.: _____

5. Medicamentos

() Anticoagulantes () Anti-hipertensivo
 () Hipoglicemiante () Estatinas
 () Antiagregantes () Antiarrítmicos
 () Antidepressivos () Diurético
 () Outros (Especificar): _____

6. Procedimentos

ATC: () **ABLAÇÃO:** ()
CATE: ()
Cirurgia Cardíaca () Sim Não () Qual? _____
Possui MP/CDI Sim () Não ()

APÊNDICE C – MATERIAL SUPLEMENTAR

Foram genotipados pacientes, para os SNPs *KCNN3* (rs1337633), *HCNN4* (rs7164883), *CAV1* (rs3807989). A frequência do alelo variante C e o genótipo polimórfico CC para o *KCNN3* foram, respectivamente, de 286 (75.66%) e 108 (76%) no grupo FA permanente e 92 (24.34%) e 34 (24%) no grupo FA paroxística. Para o gene *HCNN4*, a frequência do alelo variante A e genótipo AA foram, respectivamente, de 330 (74.8%) e 111 (25.2%) para o grupo FA permanente e 111 (25.2%) e 42 (25.6%) para o grupo FA paroxística. Quanto ao gene *CAV1*, a frequência do alelo variante A e genótipo AA foram, respectivamente, de 206 (75.66%) e 72 (24.34%) para o grupo FA permanente e 111 (25.2%) e 42 (25.6%) para o grupo FA paroxística. Não houve associação entre os genótipos do gene citados tipo de FA.

Tabela suplementar. Frequência dos polimorfismos nos genes *KCCN3*, *HCNN4* e *CAV1* em pacientes com fibrilação atrial.

Polimorfismo	Alelo (n)	FA N (%)	(FA PERMANENTE) n = 192 (%)	(FA PAROXÍSTICA) n = 64 (%)	Teste χ^2 (p valor) OR (IC 95%)
FA Permanente vs FA Paroxística					
<i>KCNN3</i> (rs1337633) (n = 256)	C	378 (73.8)	286 (75.66)	92 (24.34)	C vs T: 0.56; 1.14 (0.72-1.78)
	T	134 (26.2)	98 (73.13)	36 (26.87)	CC vs CT: 0.84; 1.08 (0.59-1.99)
	CC	142 (55.5)	108 (76)	34 (24)	CC vs TT: 0.58; 1.36 (0.48-3.81)
	CT	94 (36.7)	70 (74.5)	24 (25.5)	CT vs TT: 0.78; 1.25 (0.43-3.61)
	TT	20 (7.8)	14 (70)	6 (30)	CC+CT vs TT: 0.59; 1.31 (0.48-3.58) TT+CT vs CC: 0.66; 0.88 (0.49-1.55)
Polimorfismo	Alelo (n)	FA N (%)	(FA PERMANENTE) n = 220 (%)	(FA PAROXÍSTICA) n = 72 (%)	Teste χ^2 (p valor) OR (IC 95%)
FA Permanente vs FA Paroxística					
<i>HCNN4</i> (rs7164883) (n = 292)	A	441 (75.5)	330 (74.8)	111 (25.2)	A vs G: 0.65; 0.87 (0.56-1.36)
	G	143 (20.5)	110 (76.9)	33 (23.1)	AA vs AG: 0.78; 0.9 (0.52-1.56)
	AA	164 (56.1)	122 (74.4)	42 (25.6)	AA vs GG: 0.76; 0.69 (0.18-2.57)
	AG	113 (38.7)	86 (76)	27 (24)	AG vs GG: 0.99; 0.76 (0.2-2.91)
	GG	15 (5.2)	12 (80)	3 (20)	AA+AG vs GG: 0.76; 0.72 (0.19-2.63) GG+AG vs AA: 0.68; 1.14 (0.67-1.93)
Polimorfismo	Alelo (n)	FA N (%)	(FA PERMANENTE) n = 208 (%)	(FA PAROXÍSTICA) n = 69 (%)	Teste χ^2 (p valor) OR (IC 95%)
FA Permanente vs FA Paroxística					
<i>CAV1</i> (rs3807989) (n = 277)	A	278 (50.2)	206 (75.66)	72 (24.34)	A vs G: 0.62; 0.89 (0.61-1.32)
	G	276 (49.8)	210 (73.13)	66 (26.87)	AA vs AG: 0.62; 0.85 (0.44-1.62)
	AA	77 (28)	56 (72.7)	21 (27.3)	AA vs GG: 0.71; 0.82 (0.39-1.71)
	AG	124 (44.78)	94 (75.8)	30 (24.2)	AG vs GG: 0.99; 0.97 (0.49-1.9)
	GG	76 (27.22)	58 (76.3)	18 (23.7)	AA+AG vs GG: 0.87; 0.91 (0.49-1.69) GG+AG vs AA: 0.99; 0.98 (0.58-1.67)

Legenda: FA= fibrilação atrial; OR= odds ratio; IC= intervalo de confiança.

ANEXO
ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA

COMPLEXO HOSPITALAR
HUOC/PROCAPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IMPACTO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS E GALECTINA-3 NA FIBROSE ATRIAL EM PACIENTES COM FIBRILAÇÃO ATRIAL

Pesquisador: Dário Celestino Sobral Filho

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 27527719.6.0000.5192

Instituição Proponente: PRONTO S.CARDIOLOGICO DE PE.PROF.LUIZ TAVARES-PROCAPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.850.635

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto com temática sobre a Fibrilação Atrial (FA) que é a arritmia mais comum na prática clínica. Os mecanismos da FA são associados a remodelamento elétrico dos átrios, tendo como causa a condução heterogênea do impulso acarretada pela fibrose atrial. O desenvolvimento e a progressão da fibrose podem levar a FA e são considerados essenciais a perpetuação da doença. Como possível biomarcador da fibrose, a Galectina-3 (Gal-3) tem sido associada ao desenvolvimento de algumas cardiopatias. Foram identificados alguns loci de susceptibilidade à fibrilação atrial, como CAV1, KCNN3 e PITX2. Além dos polimorfismos, exames simples podem ser utilizados para avaliar remodelação estrutural em pacientes com FA. O ecocardiograma strain pode ser usado para avaliar a fibrose e ser associado à dosagem sérica e avaliação dos polimorfismos da Gal-3 para complementar o diagnóstico. Na prática clínica, os biomarcadores podem ser úteis para melhorar a precisão da avaliação prognóstica e podem ser usados para detectar aumento do risco de progressão da doença. Objetiva-se com esse projeto, Verificar a associação entre a fibrose atrial com os níveis séricos de galectina-3 e a presença de polimorfismos em genes envolvidos no processo fibrótico e canais iônicos nos pacientes selecionados nos pacientes com fibrilação atrial. Métodos: Estudo de corte transversal, descritivo, analítico, com comparação de grupos que utilizará características clínicas e de exames complementares. A população deste estudo será constituída duas cortes de pacientes atendidos no Pronto Socorro Cardiológico de Pernambuco Professor Luiz Tavares (PROCAPE) da Universidade de Pernambuco e de pacientes do ambulatório

Endereço: Rua Amóbio Marques, 310

Bairro: Santo Amaro

CEP: 50.100-130

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3184-1271

Fax: (81)3184-1271

E-mail: cep_huoc.procape@upe.br

ANEXO B - ARTIGO Nº 1 - REVISÃO SISTEMÁTICA

O artigo foi publicado na revista *Journal of Clinical Medicine Research*, no ano de 2020.

How Can Galectin-3 as a Biomarker of Fibrosis Improve Atrial Fibrillation Diagnosis and Prognosis?

Maria Mariana Barros Melo da Silveira^{a, b, f}, Joao Victor Batista Cabral^a, Bruno de Melo Souza^c,
Louis Hussein Patu Hazime^c, Sara Larissa de Melo Araujo^d, Amanda Tavares Xavier^{c, e},
Edivaldo Bezerra Mendes Filho^a, Luydson Richardson da Silva Vasconcelos^c,
Dario Celestino Sobral Filho^{b, c}, Dinaldo Cavalcanti de Oliveira^{a, b}

Abstract

Galectin-3 (Gal-3) is a biomarker of fibrosis that has been associated with atrial remodeling. Acknowledging the presence of a biomarker in patients with atrial fibrillation (AF) can allow for a better clinical treatment. The aim of this study was to assess the association of Gal-3 with atrial fibrosis in patients with AF. This is a systematic review study. From the total number of studies analyzed, 12 demonstrated a relation between atrial fibrosis and Gal-3 in patients with AF and presented statistically significant association values. We conclude that Gal-3 is associated with atrial fibrosis in patients with AF in all types, as well as after the arrhythmia treatment by ablation.

Keywords: Galectin-3; Atrial fibrosis; Atrial fibrillation; Clinical studies; Observational studies; Experimental studies

Introduction

Atrial fibrillation (AF) is the most prevalent sustained cardiac arrhythmia in the world [1]. Its prevalence is almost twice as high as the observed in the past decade, but data about AF may

be underestimated because the asymptomatic form is not diagnosed frequently [2]. AF is associated with a mortality increase of approximately two times that observed among patients with sinus rhythm [3].

AF genesis is related to electrophysiological alterations in the atrial tissue that foster and propagate the abnormal electric impulse. Many clinical conditions are considered risk factors for the development of AF, and possibly influence in the prevalence rise observed in the last decades [2].

Atrial fibrosis is an induction factor of cardiac structural remodeling, which can create arrhythmogenic substrate for the emergence of AF [4, 5]. Studies performed with humans and animals show that left atrial fibrosis is involved with this arrhythmia physiopathology [6-8]. Better understanding of the relation between atrial fibrosis and AF can allow for the identification of a higher-risk subgroup, and may have an impact in the management of those patients (rhythm control, frequency or ablation control) [6].

The exact mechanism leading to atrial fibrosis still remains undefined, however, some studies demonstrated that the activation of the immune system and inflammatory response play a role in the physiopathology of atrial fibrosis [1, 5]. In this scenario, galectin-3 (Gal-3) has been considered one of the possible substances contributing to cardiac fibrosis [5].

The role of Gal-3 in the pathogenesis of cardiac fibrosis involves macrophages and fibroblasts recruitment in the myocardium, resulting in cell proliferation and collagen accumulation [5, 9, 10], and it plays a role in the electric atrial activity and structural remodeling [1]. Studies showed that high circulating Gal-3 concentrations were associated with an increased risk of developing AF [1, 5, 9, 10]. Despite of inferences that point to Gal-3 playing a role in the atrial fibrosis and AF physiopathology, there is still a need for further understanding of the molecular basis and clinical associations of it [11, 12] (Fig. 1).

Better understanding of Gal-3 association with atrial fibrosis in patients with AF will allow for progress in the understanding of this arrhythmia physiopathology and contribute for a more appropriate clinical management of carrier patients or those with high risk for the development of AF. The present study aimed at assessing the association of Gal-3 with atrial fibrosis in patients with AF.

Manuscript submitted August 3, 2020, accepted August 18, 2020
Published online September 21, 2020

^aPostgraduate Program in Therapeutic Innovation, Federal University of Pernambuco (PPGIT/UFPE), Recife, PE, Brazil

^bPernambuco Cardiovascular Emergency Room Teacher Luiz Tavares (PRO-CAPE/UPE), Recife, PE, Brazil

^cFaculty of Medical Sciences, University of Pernambuco (FCM/UPE), Recife, PE, Brazil

^dHealth and Biological Sciences Program, University of Vale do São Francisco (PPGCSB/UNIVASF), Petrolina, PE, Brazil

^eAggeu Magalhães Institute, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Recife, PE, Brazil

^fCorresponding Author: Maria Mariana Barros Melo da Silveira, Pernambuco Cardiovascular Emergency Room Teacher Luiz Tavares (PROCAPE/UPE), Palmares Street, Santo Amaro, Recife, PE 50100-060, Brazil.
Email: marianabms@gmail.com

doi: <https://doi.org/10.14740/jocmr4313>

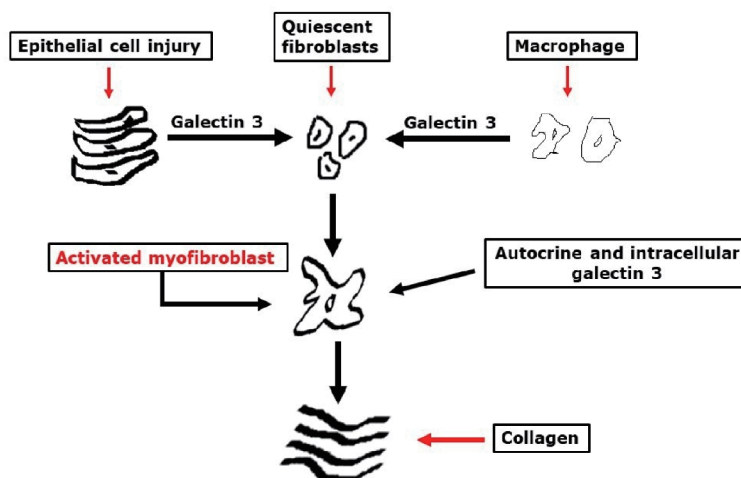


Figure 1. Potential mechanistic roles of galectin-3 in tissue fibrogenesis.

Methods

The present study is a systematic review of literature following the guidelines of Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) statement [13]. The question asked in this review was: “What is the relation between Gal-3 and atrial fibrosis in patients with AF?” Using PICOS [14] search strategy, we considered eligible studies in which the population was composed of patients with AF, where Gal-3 had been assessed as a possible marker for cardiac fibrosis and those studies that were clinical, observational or experimental studies.

The following databases were searched up until April 2020: Cochrane Library, British Medical Journal (BMJ) Best Practice, National Library of Medicine National Institutes of Health (PubMed/MEDLINE), World Wide Science, Science Direct, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), and Directory of Open Access Journal e University of Alberta Library. Search strategy was guided by the use of controlled vocabulary according to Descritores em Ciências da Saúde (DeCs) as an extended translation of Medical Subject Headings (MeSH). In DeCs, the search was carried out in Portuguese and keywords were obtained in English, and their combination was done using the boolean operators “and” and “or”. Keywords used in this study were: “galactin-3”, “atrial fibrosis”, “atrial fibrillation”, “cardiovascular disease”, “clinical studies”, “observational studies”, and “experimental studies”.

The search for the studies was guided by the research question and the combination of the keywords in the database, aiming to find the term in the article title, abstract and keywords. There were no restrictions with language but articles from 2010 to 2020 were given priority. Excluded studies encompassed review articles, systematic reviews, meta-analysis and grey literature. Keywords were combined two by two in each database, and when necessary, we chose to use a triple combination.

First, titles and abstracts were read and each researcher

registered the agreement or not to the inclusion of the study (the first step). Disagreeing cases were discussed and submitted to a third evaluation performed by a more experienced researcher (the second step). Second, selected articles were fully read aiming to find the answer to the research question of the review (the third step). Figure 2 describes the flow for the identification, selection, eligibility and inclusion of studies.

Data extraction was carried out independently by two researchers with the aid of an electronic form built using Microsoft Excel®, and a data compatibility assessment was performed by a third researcher, in order to evaluate consistency and cleanliness of data. Kappa coefficient was used to assess the inter-observer reliability. Critical review of studies’ quality of data was carried out using Oxford Centre Evidence Based Medicine [15], as well as the methodology quality of studies was evaluated using GRADE [16] guidelines, using a check list with questions (Supplementary Material 1, www.jocmr.org) in order to assess the scientific inference and significance. Study data synthesis was guided by PRISMA, following the structure rationale IMRaD (Introduction, Methods, Results and Discussion).

Results

A total of 12 studies fulfilled the eligibility criteria established and their main information is listed in Table 1 [5, 10-12, 17-24]. Inter-observer reliability of the study relevance was considered substantial (Kappa = 0.67), and it pointed to the homogeneity of the articles included in the study. As shown here (Supplementary Material 1, www.jocmr.org), with regard to the relevance of the outcomes presented, there was an agreement that 100% (n = 12) of studies analyzed present scientific relevant results, as well as 100% of studies presented a clear methodology and in accordance to the main outcome.

Articles were analyzed with regard to quality and categorized by degree of recommendation and level of evidence [15]. It was observed that 91.66% (n = 11) of the articles were classi-

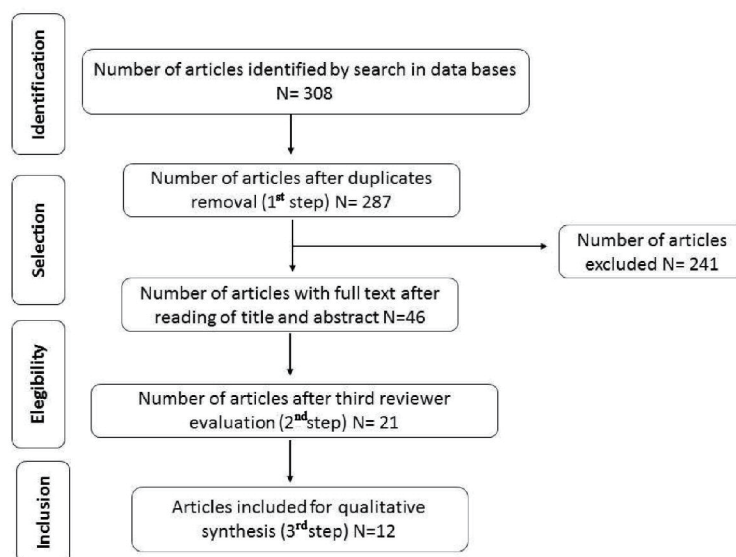


Figure 2. Results flowchart of studies search and selection strategy.

fied as grade B of recommendation (moderate), and one article (8.34%) as grade A of recommendation (high). Cohort studies were the most frequent type 62.5% (n = 10). Case-control studies were 58.3 % (n = 7), 33.3% (n = 4) were prospective cohort and 8.4% (n = 1) were ecological studies (Table 1).

Discussion

Twelve studies that fit the inclusion criteria were included in the present review [5, 10-12, 17-24], comprising a total of 9,470 individuals. Age of study subjects ranged from 46.1 to 70 years old. All studies demonstrated that Gal-3 levels are higher in patients with AF non-valvular and that it can be considered a marker for fibrosis in this population (Table 1).

Stanojevic et al (2019) [17] compared levels of Gal-3 in patients with acute myocardial infarction (AMI) and AF in order to investigate the role of Gal-3, and they found that patients with AMI and AF had higher levels of Gal-3 than those without AF ($P < 0.05$), and that Gal-3 can be considered and independent predictive factor for the emergence of AF.

Fashanu et al (2017) [12] in the ARIC study, analyzed if Gal-3 was associated with AF incidence in a cohort of 8,436 individuals, and found out that subjects with elevated Gal-3 levels presented higher risk of developing AF ($P < 0.0001$). The association of Gal-3 with AF incidence was very strong in the first year of follow-up, and it can be explained by the role Gal-3 plays in myocardial fibrosis. The association between plasma Gal-3 and AF was moderately strong and independent of baseline AF risk factors. This association was accounted for by participants with high Gal-3 levels having developed more heart failure (HF) during follow-up of AF. Gal-3 may increase AF risk via pathways involving HF [12]. Most articles excluded patients with HF.

In a study assessing whether Gal-3 was involved in the evolution and in the progress of coronary cardiac disease and

in the progress of AF, Gal-3 was considered a biomarker of severity and/or atherosclerotic plaque instability. It was observed that elevated levels of Gal-3 are significantly associated with AF patients ($P < 0.05$). Elevated levels of Gal-3 can stimulate macrophage migration, proliferation of fibroblasts and fibrosis development, being the last one as an important factor affecting the process of myocardial fibrosis [18]. When the type of AF was compared, levels of Gal-3 were significantly higher in patients with persistent AF than in those with paroxysmal AF ($P < 0.001$).

Gurses et al (2015) [10] also observed that elevated levels of Gal-3 are associated with AF ($P < 0.001$), and it can be considered an independent AF predictor in a multivariate analysis ($P < 0.001$). When the relation was assessed comparing the type of AF, levels of Gal-3 were significantly higher in patients with persistent AF than in those with paroxysmal AF ($P < 0.001$). These results suggest that Gal-3 is involved in the structural remodeling process in those patients.

Berger and colleagues, in 2017 [19] aimed at assessing the levels of serum Gal-3 and in the left atrial tissue in patients to be submitted to thoracoscopic surgery for AF, and investigated if the baseline levels of Gal-3 or its alteration had any impact in the fibrotic process that contribute to the arrhythmogenic substrate after AF modification to the sinus rhythm. As a result, they observed that an increase in the levels of Gal-3 was significantly associated with a higher recurrence of AF after its correction by surgical procedure ($P = 0.014$).

Clementy et al (2016) also verified that patients with an elevated level of Gal-3 presented more frequently AF recurrence after ablation ($P = 0.0006$). In a univariate analysis, Gal-3 was an AF recurrence predictor ($P = 0.02$), and in a multivariate analysis it was an independent predictor of new AF events ($P = 0.02$). Thus, they concluded that high levels of Gal-3 are strong predictors of AF recurrence after ablation, independently of its type [22]. As a limitation, Clementy et al (2016) [22] showed that patients with HF were also included in the study, despite

Table 1. Studies About Galectin-3 and Its Association With Fibrosis in Patients With Atrial Fibrillation

Author and year of publication	LE	GR	Type of study	Sample size	Parameters age (mean $\pm$ SD)	Comparison of Gal-3 levels	Results and P value	Conclusions
Stanojevic et al, 2019 [17]	3B	B	Case-control	51	66.33 $\pm$ 11.34	8.41 $\pm$ 2.76 vs. 10.53 $\pm$ 2.75 ^a , P = 0.011	Patients with AF presented higher levels of Gal-3 when compared to those without AF (P < 0.05).	Patients with AF presented higher levels of Gal-3 than those without AF. Gal-3, as a fibrosis marker, could be a potential target in the treatment of patients with AML.
Kang et al, 2018 [18]	3B	B	Case-control	30	57.9 $\pm$ 1.09 (control G)/67 $\pm$ 3.02 (case G)	0.51 $\pm$ 0.03 vs. 1.05 $\pm$ 0.08 ^a , P < 0.05	Elevation in the levels of Gal-3 is associated with the population with AF (P < 0.05).	Gal-3 plays an important role in myocardial fibrosis. Its inhibition could prevent myocardial fibrosis, effectively preventing myocardial remodeling.
Berger et al, 2017 [19]	2B	B	Prospective cohort	98	59.8 $\pm$ 8.6	194 vs. 126 ^a , P = 0.011	The increase in the level of Gal-3 after ablation was associated to a higher AF recurrence rate during the 2-year period after ablation (P = 0.014). Gal-3 is an independent predictor for AF (P = 0.035).	Circulating Gal-3 alterations above the baseline value can reflect the change in the arrhythmogenic substrate and predict the results of thoracoscopic ablation for AF.
Fashanu et al, 2017 [12]	2B	B	Prospective cohort	8,436	61.4 $\pm$ 5.4 (Q1)/62.2 $\pm$ 5.6 (Q2)/62.7 $\pm$ 5.6 (Q3)/64 $\pm$ 5.7 (Q4)	1.37 (1.05 - 1.78) vs. 1.67 (1.29 - 2.16) ^a , P = 0.004	Gal-3 was associated with all risk factors for AF. High levels of Gal-3 were associated with increased risk of developing AF (P < 0.0001).	High levels of Gal-3 are associated to an increase in the incidence of AF in the general population.
Hernandez-Romero et al, 2017 [20]	1B	A	Prospective cohort	115	65.1 $\pm$ 9.5	14.25 $\pm$ 4.15 vs. 17.61 $\pm$ 6.84 ^a , P = 0.02	There is difference in levels of Gal-3 in patients with and without AF (P = 0.05). There is association between Gal-3 and fibrosis (P = 0.02). Elevated serum levels of Gal-3 are considered an independent predictor for fibrosis (P = 0.022).	Gal-3 is a biomarker of cardiac fibrosis. Atrial fibrosis is considered the only independent predictor for the development of AF.
Chen et al, 2016 [21]	3B	B	Case-control	131	68 $\pm$ 11 (new AF)/71 $\pm$ 12 (chronic AF)	9.4 $\pm$ 3.3 vs. 8 $\pm$ 3.3 ^a , P = 0.04	Patients with new onset AF have elevated levels of Gal-3 when compared to patients with chronic AF (P = 0.05).	Gal-3 can be used as a biomarker for AF chronicity. Elevated levels of Gal-3 can stratify these patients in risk groups for the development of AF.
Clementy et al, 2016 [22]	2B	B	Prospective cohort	160	61 $\pm$ 10	13.5 $\pm$ 4.8 vs. 16.1 $\pm$ 6.6 ^a , P = 0.01	Elevated serum levels of Gal-3 were associated with AF (P = 0.0006), and as a predictive factor for AF recurrence after ablation (P = 0.02).	Higher levels of Gal-3 in patients with AF after ablation can predict independently AF new episodes recurrence and identify patients with low, medium and high risk.

Table 1. Studies About Galectin-3 and Its Association With Fibrosis in Patients With Atrial Fibrillation - (continued)

Author and year of publication	LE	GR	Type of study	Sample size	Parameters age (mean $\pm$ SD)	Comparison of Gal-3 levels	Results and P value	Conclusions
Selcoki et al, 2016 [5]	3B	B	Case-control	84	59.1 $\pm$ 7.7 (control G)/59.8 $\pm$ 7.3 (case G)	1.38 (1.21-1.87) vs. 1.21 (0.88 - 1.37) ^a , P < 0.001	AF was associated to elevated Gal-3 levels. Serum levels of Gal-3 predicted 89.7% of patients with paroxysmal AF (P < 0.001).	Gal-3 is a potential mediator of cardiac fibrosis. Results suggest that serum levels of Gal-3 can be an indicator for AF. It was shown that AF leads to atrial fibrosis and remodeling.
Gurses et al, 2015 [10]	3B	B	Case-control	151	57.6 $\pm$ 11.1 (control G)/58.6 $\pm$ 9.2 (case G)	0.8 (0.4 - 1.4) vs. 0.5 (0.2 - 0.9) ^a , P < 0.001	Patients with permanent AF presented fibrosis more frequently than patients with paroxysmal AF. Levels of Gal-3 were elevated in patients with AF (P < 0.001).	Serum Gal-3 is significantly elevated in patients with AF with preserved left ventricular function.
Wu et al, 2015 [23]	3B	B	Case-control	96	46.1 $\pm$ 10.7 (control G)/48.9 $\pm$ 7.8 (case G)	3.63 $\pm$ 1.18 vs. 5.4 $\pm$ 2.24 ^a , P < 0.001	Association between an increase in levels of Gal-3 with AF (P = 0.001). Patients with AF recurrence presented elevated Gal-3 (P = 0.007). An increase in levels of Gal-3 as an independent predictor for AF occurrence after ablation (P = 0.007).	Plasmatic concentrations of Gal-3 provide an independent prognostic value for the prediction of AF recurrence after catheter ablation.
Yalcin et al, 2015 [11]	2C	B	Ecological study	33	58	0.549 $\pm$ 7.745 ^a , P < 0.001	Serum levels of Gal-3 were independently correlated with the extension of the fibrosis in patients with AF (P < 0.001).	It is suggested that Gal-3 has a mechanical role in the atrial electrical and structural remodeling in patients with AF.
Sonmez et al, 2014 [24]	3B	B	Case-control	85	70 $\pm$ 10 for both groups	1,166 (1,166 - 1,204) vs. 1,204 (1,166 - 1,362) ^b , P = 0.001	Gal-3 as a fibrosis marker can predict the onset of the atrial remodeling process (P = 0.001).	It is suggested that Gal-3 can contribute for clinical and therapeutic treatment of AF as a new target for therapies that aim to decrease fibrosis in the atriums.

^ang/mL; ^bpg/mL. LE: level of evidence; GR: grade of recommendation; Gal-3: galectin-3; AF: atrial fibrillation; SD: standard deviation; AMI: Acute myocardial infarction.

the bias that Gal-3 levels are greater in this population. In addition, Gal-3 remained an independent predictor of AF recurrence even after removing HF patients from the population.

Furthermore, the findings of Berger and colleagues suggest that the increase in the levels of Gal-3 is determined by the presence of AF, reflecting a process that can cause the disease. In those patients, the increase in the levels of Gal-3 occurs with time and it leads to a fibrotic process, increasing the risk of arrhythmogenic substrate development that remains or develops further, independently of AF modification to sinus rhythm. In a multivariate analysis, it was observed that Gal-3 is an independent AF recurrence predictor ($P = 0.035$) [19]. As a conclusion of their study, Gal-3 is an independent variable for predicting risk in patients with AF, playing an important role as a potential marker for structural remodeling. Fibrosis is an important component of the arrhythmogenic substrate, and patients with AF have an increase in the load of fibrosis [19].

In some studies, females presented higher levels of Gal-3 when compared to males ($P < 0.0001$) [12], ($P = 0.03$) [21], ($P = 0.046$) [19], however, Stanojevic et al (2019) [17] and Selcoki et al (2016) [5] found out that males presented elevated levels of Gal-3 in univariate and multivariate analysis ($P < 0.001$) [17] and $P = 0.047$ [5], respectively). Black patients presented higher levels of Gal-3 when compared to white patients ($P < 0.00001$) [12].

Hernandez-Romero and colleagues (2017) evaluated the role of Gal-3 in atrial remodeling and they found out that there are differences in the increase of serum levels of Gal-3 between patients with and without AF ($P = 0.02$); besides that, they found association between elevated levels of Gal-3 and fibrosis ($P = 0.015$). Atrial remodeling evaluated as tissue atrial fibrosis remained an independent factor for AF development ($P = 0.022$) [20].

Study results indicate that the pro-fibrotic effects of Gal-3 and interstitial atrial remodeling are converging processes in fibrosis development and consequently in the emergence of AF. Atrial fibrosis is an independent predictor of post-operative AF occurrence ($P = 0.022$) [20].

With the goal of determining if Gal-3 is related to atrial remodeling markers and fibrosis extension, the study carried out by Yalcin et al (2015) showed that the increase in Gal-3 is related to cardiac fibrosis in patients with AF ($P < 0.001$), and it is independently correlated to the fibrosis extension in the left atrium ($P < 0.001$), suggesting a possible mechanical role of Gal-3 in atrial electrical and structural remodeling [11].

When estimating whether the extension of Gal-3 circulation varied between patients with new onset AF and chronic AF, Chen and colleagues (2016) found out that Gal-3 is independently related to new onset AF, that is, to the early stage of AF ($P = 0.05$). Thus, researchers suggest that Gal-3 can be a chronicity biomarker for AF, which could be used to ease the diagnosis of the early stage of the disease in high-risk patients, because elevated levels of Gal-3 can stratify the risk of developing AF [21].

Sonmez et al (2014), found significant results in patients with AF and elevation in the levels of Gal-3 ($P = 0.001$), suggesting that Gal-3 can be used as a new target to lower the level of atrial fibrosis and inflammation in patients with AF. In-

creased Gal-3 leads to an increased number of monocytes and macrophages involved in cell interactions during atrial remodeling. Gal-3 and other fibrosis markers can predict the onset of the atrial remodeling process and contribute to the clinical and therapeutic treatment of AF, with a new target aiming at decreasing atrial fibrosis and inflammation [24].

Selcoki et al (2016) reported that serum levels of Gal-3 and left atrial diameter (LAD) were significantly elevated in patients with paroxysmal AF ($P < 0.001$ and $P = 0.02$, respectively), as well as the association of elevated levels of Gal-3 and an increase in the LAD ($P < 0.001$). Elevated levels of Gal-3 predicted 89.7% of patients with paroxysmal AF ($P < 0.001$). These results strongly suggest that the levels of Gal-3 can be AF markers and can reflect structural remodeling of the left atrium in patients with paroxysmal AF [5].

Wu et al (2015) also verified that the concentration of Gal-3 in patients with AF was elevated ($P = 0.001$). Patients with AF recurrence presented elevated circulating Gal-3 ($P = 0.007$), being an independent predictor for the occurrence of AF after arrhythmia circuit ablation by radiofrequency in a multivariate analysis ($p = 0.007$), thus providing diagnostic value. Patients with persistent AF presented higher LAD ($P < 0.001$). LAD and Gal-3 were independent predictors for the occurrence of AF after ablation ($P = 0.02$ and $P = 0.03$, respectively). However, Gal-3 cannot be described as a cause or a consequence of AF [23].

Fibrosis is an important component of the AF arrhythmogenic substrate, and patients with the disease show an increase in the fibrosis. A study showed that the presence of thick fibrotic strands in atrial tissue can harness the re-entry activation and contribute to the AF arrhythmogenic substrate [25].

Conclusions

Studies demonstrated an association between elevated serum levels of Gal-3 and the presence of AF, either in the persistent or permanent paroxysmal form, or in the recurrence of this arrhythmia after the ablation procedure. This association can be explained by the interaction of Gal-3 with cardiac fibrosis when we consider that these patients are more likely to present atrial fibrosis.

Supplementary Material

Suppl 1. Quality Assessment of Study Methodology According to GRADE.

Acknowledgments

None to declare.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Financial Disclosure

This study was financed in part by the Coordenacao de Aperfeicoamento de Pessoal de Nivel Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

Author Contributions

MMBMS: conceptualization, literature search, analysis, interpretation, writing first draft, reviewed and finalized the manuscript. JVBC: conceptualization, literature search, analysis, interpretation, reviewed and finalized the manuscript. BMS: literature search and analysis. LPH: literature search and analysis. SLMA: literature search and analysis. ATX: conceptualization, literature search, analysis, interpretation, reviewed and finalized the manuscript. EBMF: conceptualization, literature search, analysis, interpretation, reviewed and finalized the manuscript. LRSV: conceptualization, administrative support, interpretation, reviewed and finalized the manuscript. DCSF: conceptualization, administrative support, interpretation, reviewed and finalized the manuscript. DCO: conceptualization, administrative support, interpretation, reviewed and finalized the manuscript.

Data Availability

The authors declare that data supporting the findings of this study are available within the article.

References

- Pranata R, Yonas E, Chintya V, Tondas AE, Raharjo SB. Serum Galectin-3 level and recurrence of atrial fibrillation post-ablation - Systematic review and meta-analysis. *Indian Pacing Electrophysiol J.* 2020;20(2):64-69.
- Magalhaes LP, Figueiredo MJO, Cintra FD, Saad EB, Kuniyoshi RR, Menezes Lorga Filho A, D'Avila ALB, et al. Executive summary of the II brazilian guidelines for atrial fibrillation. *Arq Bras Cardiol.* 2016;107(6):501-508.
- Shen H, Wang J, Min J, Xi W, Gao Y, Yin L, Yu Y, et al. Activation of TGF-beta1/alpha-SMA/Col I Profibrotic Pathway in Fibroblasts by Galectin-3 Contributes to Atrial Fibrosis in Experimental Models and Patients. *Cell Physiol Biochem.* 2018;47(2):851-863.
- Nortamo S, Ukkola O, Lepojarvi S, Kentta T, Kiviniemi A, Junttila J, Huikuri H, et al. Association of sST2 and hs-CRP levels with new-onset atrial fibrillation in coronary artery disease. *Int J Cardiol.* 2017;248:173-178.
- Selcoki Y, Aydin HI, Celik TH, Isleyen A, Erayman A, Demircelik MB, Demirin H, et al. Galectin-3: A biochemical marker to detect paroxysmal atrial fibrillation? *Clin Invest Med.* 2016;39(6):27528.
- Dunn MI, Marcum JL. Atrial mechanical performance following internal and external cardioversion of atrial fibrillation: its relationship to peripheral embolization and acute cerebrovascular accident. *Chest.* 2002;121(1):1-3.
- Marrouche NF, Wilber D, Hindricks G, Jais P, Akoum N, Marchlinski F, Kholmovski E, et al. Association of atrial tissue fibrosis identified by delayed enhancement MRI and atrial fibrillation catheter ablation: the DECAAF study. *JAMA.* 2014;311:498-506.
- Smaill BH. Fibrosis, myofibroblasts, and atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2015;8(2):256-257.
- Ho JE, Yin X, Levy D, Vasan RS, Magnani JW, Ellinor PT, McManus DD, et al. Galectin 3 and incident atrial fibrillation in the community. *Am Heart J.* 2014;167(5):729-734 e721.
- Gurses KM, Yalcin MU, Kocyigit D, Canpinar H, Evranos B, Yorgun H, Sahiner ML, et al. Effects of persistent atrial fibrillation on serum galectin-3 levels. *Am J Cardiol.* 2015;115(5):647-651.
- Yalcin MU, Gurses KM, Kocyigit D, Canpinar H, Canpolat U, Evranos B, Yorgun H, et al. The association of serum galectin-3 levels with atrial electrical and structural remodeling. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2015;26(6):635-640.
- Fashanu OE, Norby FL, Aguilar D, Ballantyne CM, Hoo-geveen RC, Chen LY, Soliman EZ, et al. Galectin-3 and incidence of atrial fibrillation: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am Heart J.* 2017;192:19-25.
- Galvao TF, Pansani TS. Principais itens para relatar Revisoes sistematicas e Meta-analises: A recomendacao PRISMA. *Epidemiol e Servicos Saude.* 2015;24(2):335-342.
- Galvao TF, Pereira MG. Revisoes sistematicas da literatura: passos para sua elaboracao. *Epidemiol e Servicos Saude.* 2014;23(1):183-184.
- OCEBM Levels of Evidence Working Group, Durieux N, Pasleau F, Howick J. The Oxford 2011 Levels of Evidence. Group [Internet]. 2011;1(version):5653. Available from: <http://www.cebm.net/index.aspx?o=1025>.
- Guyatt G, Oxman AD, Akl EA, Kunz R, Vist G, Brozek J, Norris S, et al. GRADE guidelines: 1. Introduction- GRADE evidence profiles and summary of findings tables. *J Clin Epidemiol.* 2011;64(4):383-394.
- Stanojevic D, Apostolovic S, Stokanovic D, Momcilovic S, Jevtovic-Stoimenov T, Salinger-Martinovic S, Kostic T, et al. Galectin-3 in acute myocardial infarction patients with atrial fibrillation. *Med Princ Pract.* 2019;28(3):284-290.
- Kang Q, Li X, Yang M, Fernando T, Wan Z. Galectin-3 in patients with coronary heart disease and atrial fibrillation. *Clin Chim Acta.* 2018;478:166-170.
- Berger WR, Jagu B, van den Berg NWE, Chan Pin Yin D, van Straalen JP, de Boer OJ, Driessen AHG, et al. The change in circulating galectin-3 predicts absence of atrial fibrillation after thoracoscopic surgical ablation. *Europace.* 2018;20(5):764-771.
- Hernandez-Romero D, Vilchez JA, Lahoz A, Romero-Aniorte AI, Jover E, Garcia-Alberola A, Jara-Rubio R, et al. Galectin-3 as a marker of interstitial atrial remodelling involved in atrial fibrillation. *Sci Rep.* 2017;7:40378.

21. Chen D, Procter N, Goh V, Liu S, Chua SJ, Assadi-Khansari B, Stewart S, et al. New onset atrial fibrillation is associated with elevated galectin-3 levels. *Int J Cardiol.* 2016;223:48-49.
22. Clementy N, Benhenda N, Piver E, Pierre B, Bernard A, Fauchier L, Pages JC, et al. Serum galectin-3 levels predict recurrences after ablation of atrial fibrillation. *Sci Rep.* 2016;6:34357.
23. Wu XY, Li SN, Wen SN, Nie JG, Deng WN, Bai R, Liu N, et al. Plasma galectin-3 predicts clinical outcomes after catheter ablation in persistent atrial fibrillation patients without structural heart disease. *Europace.* 2015;17(10):1541-1547.
24. Sonmez O, Ertem FU, Vatankulu MA, Erdogan E, Tasal A, Kucukbuzcu S, Goktekin O. Novel fibro-inflammation markers in assessing left atrial remodeling in non-valvular atrial fibrillation. *Med Sci Monit.* 2014;20:463-470.
25. Krul SP, Berger WR, Smit NW, van Amersfoort SC, Driessen AH, van Boven WJ, Fiolet JW, et al. Atrial fibrosis and conduction slowing in the left atrial appendage of patients undergoing thoracoscopic surgical pulmonary vein isolation for atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2015;8(2):288-295.

ANEXO C - ARTIGO Nº 2 – REVISÃO DA LITERATURA

O artigo foi publicado na revista da Associação Médica Brasileira, no ano de 2022.

Detection of atrial fibrosis using echocardiographic strain: a new pathway

Maria Mariana Barros Melo da Silveira^{1,2*} , João Victor Batista Cabral¹ , Amanda Tavares Xavier³ , Lucas Reis da Costa² , Dhoulgas José Ferreira do Nascimento⁴ , José Maria Del Castillo⁵ , Luydson Richardson da Silva Vasconcelos⁶ , Dário Celestino Sobral Filho^{2,3} , Dinaldo Cavalcanti de Oliveira^{1,2} 

INTRODUCTION

Atrial fibrillation (AF) is the most common sustained cardiac arrhythmia, with a prevalence of approximately 3% in adults, which is likely to increase with age, making its prevention and appropriate management essential factors¹. AF is independently associated with a 1.5- to 2-fold increase in morbidity and mortality risk by all causes in the population in general^{2,3}.

Inflammation has been associated with the pathophysiology of AF and several pathological processes, such as oxidative stress and apoptosis. Inflammation in the atrium seems to be related to the emergence of AF, which is part of the fibrosis pathophysiology, and contributes to its appearance in the left atrium (LA)⁴.

Diseases such as ischemic cardiomyopathy, cardiac valvulopathy, and cardiac insufficiency are associated with the dilation of the LA and an increased risk of developing AF^{1-3,5}. The enlargement of the LA was initially studied with the aim of evaluating its relationship with AF, because an atrium with a larger volume is associated with a higher risk of AF, mainly in the elderly⁶. Recently, a significant association of peak atrial longitudinal strain (PALS) of the LA and the progression of AF was demonstrated⁴.

In addition to other cardiovascular diseases, the high prevalence of AF represents an important epidemiological, clinical, and economic concern. The identification of echocardiographic parameters, with the objective of an early detection of atrial alterations in structure and function, becomes a valuable tool that can contribute to the identification of patients with

a higher risk or a worse prognosis in face of AF⁶. The increase in the LA fibrosis can predict the prognosis after ablation⁷.

Echocardiography is the most used tool to evaluate atrial size and function⁷. As a diagnostic method, speckle tracking echocardiography (STE) has been used for the detection of atrial fibrosis and it presents good perspectives for its use in the routine of clinical practice⁸. STE is an advanced imaging technique that allows the assessment of the deformations of the LA reservoir function, potentially caused by the decrease in complacency due to atrial fibrosis⁷.

The objective of this review was to investigate the usefulness of STE as an atrial fibrosis marker in patients with AF.

METHODS

This study is an integrative literature review carried out in six steps:

- 1) identification of the subject and selection of the research question;
- 2) definition of inclusion and exclusion criteria;
- 3) search for the studies and extraction of results;
- 4) assessment of the studies;
- 5) interpretation of the results; and
- 6) knowledge summarizing⁹.

The research question was elaborated based on PICO search strategy (P – population: patients with FA; I – interest: atrial fibrosis; Co – context: STE for the assessment of atrial fibrosis). It resulted in the following guiding question: Are

¹Universidade Federal de Pernambuco, Program in Therapeutic Innovation – Recife (PE), Brazil.

²Pronto-Socorro Cardiológico Universitário de Pernambuco Professor Luiz Tavares – Recife (PE), Brazil.

³Universidade de Pernambuco, Faculty of Medical Sciences – Recife (PE), Brazil.

⁴Faculdade de comunicação e turismo de Olinda – Olinda (PE), Brazil.

⁵Escola de Ecografia de Pernambuco – Recife (PE), Brazil.

⁶Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Aggeu Magalhães – Recife (PE), Brazil.

*Corresponding author: marianabms@gmail.com

Conflicts of interest: the authors declare there is no conflicts of interest. Funding: none.

Received on December 08, 2021. Accepted on March 10, 2022.

the parameters assessed in the STE useful as markers for atrial fibrosis in patients with AF?

The inclusion criteria were as follows: articles which the objectives aimed at discussing the use of STE as a marker for atrial fibrosis in patients with AF, of the type clinical studies, observational studies, and meta-analysis or systematic reviews that were published between 2011 and 2021. We excluded articles targeting the pediatric population, other review methods, studies that did not approach atrial fibrosis assessed by STE, books, monographs, dissertations, thesis, and editorials. Databases used were as follows: PubMed, ScienceDirect, *Literatura Latino Americana y del Caribe em Ciências de La Salud* (LILACS), *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MEDLINE), and *Portal da Biblioteca Virtual de Saúde* (BVS).

Sampling was carried out by survey and analysis of the publications using the descriptors selected from *Descritores em Ciências da Saúde* (DeCS, <http://desc.bvs.br>): Atrial fibrillation, Atrial fibrosis, Strain, Speckle tracking, and their respective translations to Portuguese language, with the crossing performed by the Boolean operator “and.”

Initially, titles and abstracts were read by two independent researchers and each researcher registered the decision to include or not the study assessed (step 1). Divergent cases were submitted to a third researcher for evaluation (step 2). Subsequently, articles included by the three researchers were fully read in order to search for the study question (step 3).

The assessment with regard to the Level of Evidence (LE) followed the guidelines of the *Oxford Centre for Evidence-Based Medicine*^{10,11} as shown in Table 1. Information extracted was descriptive and directly related to the study question (Tables 1 and 2).

The search retrieved 76 studies, which were reviewed according to the eligibility criteria, and 6 articles^{5,8,12-15} were selected, as shown in Figure 1.

RESULTS

In total, six articles fulfilled the eligibility criteria and answered the research question. Figure 1 describes the flow for the identification, selection, eligibility, and inclusion of studies.

The articles were analyzed regarding their quality and categorized by the degree of recommendation and LE¹¹. Two studies^{8,12} were classified as recommendation grade A (high), two studies^{13,14} were grade B (moderate), and two studies were grade C (low)^{5,15}. With regard to the type of study, five articles were primary research and only one was a review (Table 1).

DISCUSSION

Atrial fibrosis causes conduction disturbances and contributes to the atrial remodeling. A recent study suggests that cardiomyocytes can release inflammatory cells, for instance, cardiac fibroblasts that are responsible for the fibrous tissue formation. They are activated by cytokines, growth factors, and adipokines, among others, being related to inflammatory diseases that can be aggravated when associated with comorbidities. Therefore, atrial inflammation, even the subclinical type, can contribute to the appearance of fibrosis¹⁶.

In AF, an important LA remodeling occurs in addition to collagen deposition in the interstice. It causes fibrosis and consequently alterations in the electric conduction that tend to increase progressively, favoring the conversion to permanent AF⁷. Atrial

Table 1. Summary of studies according to author, year, level of evidence, method, and objective.

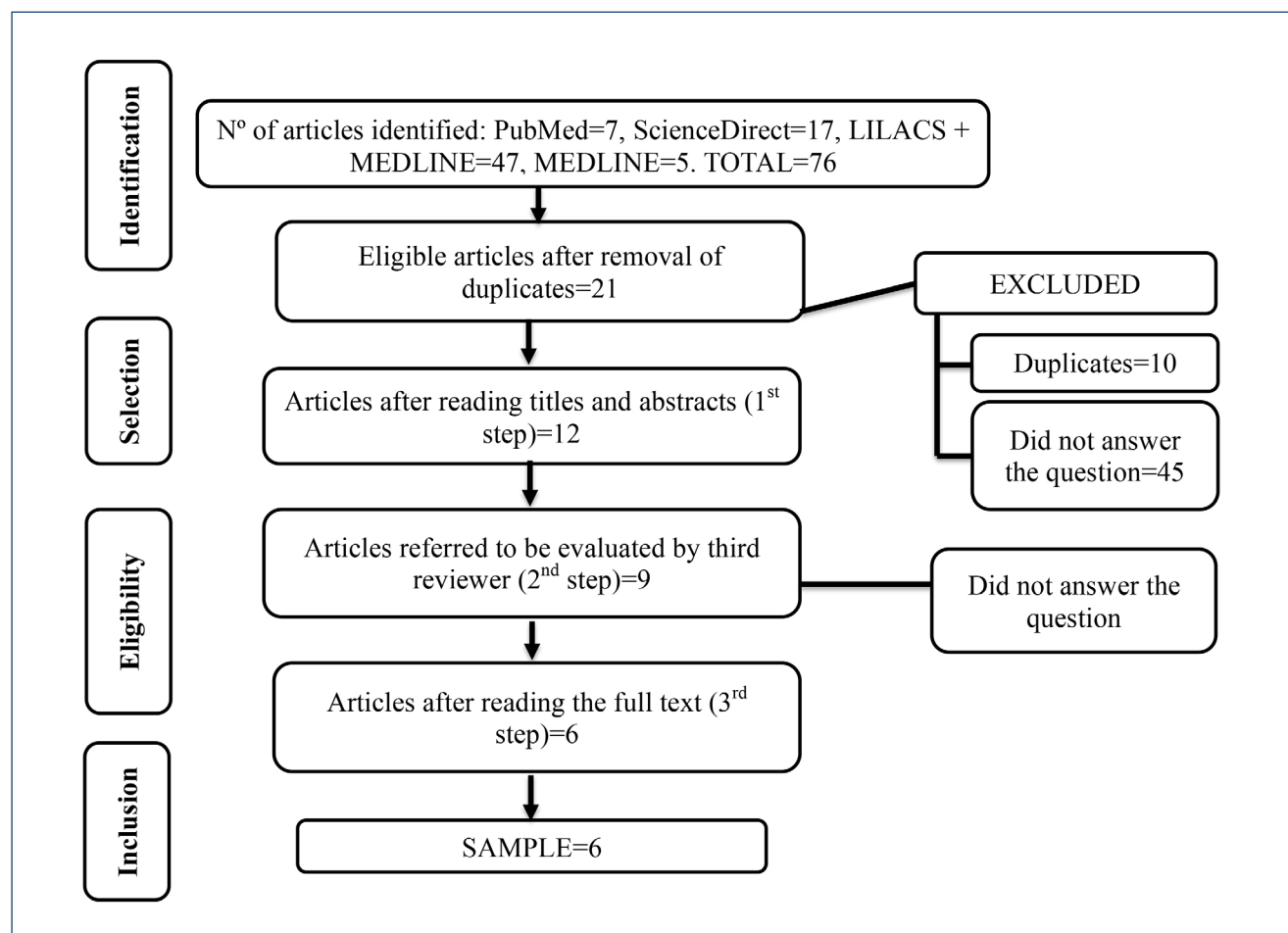
Author and year/ level of evidence and recommendation	Method	Objective
Nielsen et al., 2020 ⁸ /1A	Systematic review and meta-analysis	Investigate whether the peak atrial longitudinal strain assessed by STE can predict AF recurrence after treatment with radiofrequency ablation.
Laish-Farkash et al., 2020 ¹² /1A	Clinical trial	Investigate the relationship between LA remodeling using STE and high-density voltage mapping in AF patients
Moreno-Ruiz et al., 2019 ¹³ /2B	Cohort prospective	Evaluate the predictive value of PALS for arrhythmia recurrence after electrical cardioversion in persistent and long-standing persistent nonvalvular atrial fibrillation using STE
Leung et al., 2018 ¹⁴ /3B	Case-control retrospective	Investigate the relationship between LA reservoir strain and total atrial conduction time using STE
Pilichowska et al., 2018 ⁵ /2C	Observational prospective	Evaluate the relationship between LA fibrosis derived from STE parameters as well as biomarkers of fibrosis in patients with AF
Watanabe et al., 2015 ¹⁵ /2C	Observational retrospective	Clarify the relationship between LA mechanical function STE and LA electrical remodeling using an electroanatomic mapping system and to estimate AF substrate

STE: speckle tracking echocardiography; AF: atrial fibrillation; LA: left atrium; PALS: peak atrial longitudinal strain.

Table 2. Summary of studies according to the number of patients and main results.

Number of patients	Main results
1,025 ⁸	– Patients with lower values of peak atrial longitudinal strain (PALS) are associated with an increased risk of AF recurrence. – PALS is considered a significant predictor of AF recurrence after radiofrequency ablation – PALS provides information regarding the expected response to ablation, which can be of use to select patients for optimal treatment.
42 ¹²	– Low-voltage zones $\geq 5\%$ present a negative association with the LA reservoir phase, which suggests significant remodeling and fibrosis ($p < 0.01$).
131 ¹³	– Atria from patients with AF of shorter evolution time are more compliant due to a lower degree of fibrosis when considering the difference in PALS values ($p < 0.001$). – Patients with AF recurrence presented more fibrosis (remodeling) by lower global atrial longitudinal deformation ($p < 0.001$).
602 ¹⁴	– Fibrosis is considered a primary driver of AF, resulting in the formation of micro reentry circuits that may initiate and perpetuate the atrial arrhythmia. – Remodeling of the atrial substrate and increasing fibrosis may reduce LA compliance ($p < 0.001$). – LA compliance is impaired in AF, and together with the significant negative relation with total atrial activation time, suggests that these changes may be due to atrial fibrosis ($p < 0.001$).
66 ⁵	– Left atrial diastolic ($p < 0.001$) and volume ($p < 0.002$) parameters correlate well with the extent of LA fibrosis, assessed by invasive methods. – STE may be useful in the noninvasive assessment of LA fibrosis ($p < 0.001$).
52 ¹⁵	– Dyssynchrony was prominent in AF patients with low-voltage zones in the LA ($p < 0.001$).

AF: atrial fibrillation; LA: left atrium; PALS: peak atrial longitudinal strain.


Figure 1. Flow diagram of search strategy results and study selection.

fibrosis is a result of an atrial structural remodeling and acts as a substrate for AF, playing an important role in the disease¹⁷.

In the long run, fibrosis is an important factor causing mechanic damages¹⁷. It can be caused and/or aggravated by several diseases or clinical conditions, among them, AF itself, in which a rapid atrial myocyte depolarization occurs and contributes to the fibrosis¹⁸. Thus, AF may be a consequence of the fibrosis and can be aggravated by arrhythmia, leading to a chronic process.

Atrial fibroblast remodeling prevention is essential, and evidence shows how important it is to detect the fibrosis stage because it can help in the therapeutic decision for these patients⁶. Therefore, it has been suggested that the assessment of atrial fibrosis presence as early as possible is crucial.

Markers can be used in the clinical practice for the prediction, diagnosis, and prognosis, in addition to allowing the monitoring of the response to the treatments offered. It is noteworthy that markers should be used together with a critical analysis and always interpreted in the light of clinical data¹⁹.

In the context of fibrosis and AF, the possibility of imaging examinations to identify and/or predict atrial fibrosis has emerged. STE is used to assess/track "stains" that are suggestive of myocardial deformation. In AF, the peak atrial longitudinal strain (PALS) measured at the end of reservoir phase is an important deformation parameter, since it depends essentially in the atrial compliance⁶.

Nielsen et al.⁸ suggest that PALS can be considered a superior predictor of AF recurrence after ablation because it reflects the compliance of the LA wall as well as atrial fibrosis and characterization and quantification of myocardial deformation (weighted mean difference [WMD]: 6.57, 95%CI -8.49 to -4.65, $p < 0.001$).

The authors also defined an ideal PALS value to predict AF recurrence ($< 12.8\%$, range 10–18.8%), with a weighted mean sensitivity of 80% (range 74–86%) and specificity 87% (range 71–98%). The optimal value for PALS to predict the maintenance of sinus rhythm is $> 20.5\%$ (range 15–30%), with a weighted mean sensitivity of 76% (range 56–97%) and specificity of 81% (range 58–100%)⁸.

In a clinical trial carried out by Laish-Farkash et al.¹², the relationship between LA remodeling assessed by STE and high-density voltage mapping in patients with AF was investigated. The study showed low-voltage zones $\geq 5\%$ were negatively correlated with LA reservoir phase, suggesting significant remodeling and fibrosis ($p < 0.01$).

Evaluation of the fibrosis extension in the LA guided by magnetic resonance imaging may influence the decision-making process in the management of patients with AF, mainly by guiding the selection of patients considered adequate candidates

for ablation and predicting the probability post-ablation of maintaining sinus rhythm¹². This examination is an established tool for obtaining images of myocardial fibrosis; however, it is highly costly, requires experience for the appropriate image acquisition and analysis⁷, cannot be performed in all patients (for instance, patients with chronic kidney insufficiency), and is not available in most hospitals in developing countries⁶.

Moreno-Luiz et al.¹³ carried out a study with the objective of assessing PALS predictive value in patients with persistent and long-standing persistent AF submitted to electrical cardioversion. The authors demonstrated that atria from patients with shorter evolution time AF are more compliant due to a lower degree of fibrosis when considering PALS values ($p < 0.001$) and that patients with AF recurrence presented more fibrosis by lower global atrial longitudinal deformation ($p < 0.001$).

Leung et al.¹⁴ found out that, compared with controls, patients with paroxysmal AF and patients with persistent AF presented a progressive reduction in the LA reservoir deformation ($36.9 \pm 11.6\%$, $29.8 \pm 13.4\%$, $24.2 \pm 12.3\%$, respectively, $p < 0.001$). The study also demonstrated that both the presence and burden of AF were associated with morphofunctional abnormalities of the LA, represented by larger LA volumes, longer total atrial activation time, and more impaired LA reservoir strain.

Pilichowska et al.⁷ reported that LA diastolic parameters derived from STE correlate well with the extent of LA fibrosis. Hence, they suggested STE could be useful in the noninvasive assessment of LA fibrosis and selection of candidates for ablation. In diagnosis and determining interventional AF treatment, the need for precise LA evaluation is highlighted because the LA wall properties are associated with the effectiveness of the treatment.

Watanabe et al.¹⁵ suggested that LA dyssynchrony was especially pronounced in patients with paroxysmal AF who had a low-voltage zone in their LA ($p < 0.001$). This alteration may be a result of the regional fibrosis of the LA myocardial tissue. Regional fibrosis may lead to the heterogeneity of LA wall, result in dyssynchrony, and also cause the local conduction delay by separating atrial myocytes.

Anamnesis, physical examination, and imaging examinations already established in the literature, associated with new examinations of atrial fibrosis markers, can represent the future of patients' assessment with or in risk of developing AF. The reason is that this strategy presents a potential to guide a more individualized and appropriate therapeutic choice for this disease, which represents a public health concern all over the world. In that regard, speckle tracking assessed by the echocardiography is an atrial fibrosis marker candidate useful for the selection of patients suitable for ablation.

CONCLUSION

Atrial fibrosis is considered a substrate for AF, especially in patients who are in an advanced stage of the disease. The use of markers is an important tool in the search for new means of disease management. In our review, we confirmed that STE can be considered a predictive, diagnostic, and prognostic marker for atrial fibrosis in patients with AF.

REFERENCES

- Rodríguez CJ, Soliman EZ, Alonso A, Swett K, Okin PM, Goff Junior DC, et al. Atrial fibrillation incidence and risk factors in relation to race-ethnicity and the population attributable fraction of atrial fibrillation risk factors: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Ann Epidemiol.* 2015;25(2):71-6.76.e1. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2014.11.024>
- Bassand JP, Accetta G, Camm AJ, Cools F, Fitzmaurice DA, Fox KA, et al. Two-year outcomes of patients with newly diagnosed atrial fibrillation: results from GARFIELD-AF. *Eur Heart J.* 2016;37(38):2882-9. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw233>
- Donal E, Galli E, Lederlin M, Martins R, Schnell F. Multimodality imaging for best dealing with patients in atrial arrhythmias. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2019;12(11 Pt 1):2245-2261. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2018.06.031>
- Kılıçgedik A, Efe SÇ, Gürbüz AS, Acar E, Yılmaz MF, Yılmaz F, et al. Galectin-3 in middle-aged patients with first episode of non-valvular atrial fibrillation: a speckle-tracking study. *Koşuyolu Heart J.* 2017;20(3):224-9. <https://doi.org/10.5578/khj.50722>
- Staerk L, Sherer JA, Ko D, Benjamin EJ, Helm RH. Atrial Fibrillation: Epidemiology, Pathophysiology, and Clinical Outcomes. *Circ Res.* 2017;120(9):1501-17. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.309732>
- Cameli M, Mandoli GE, Loiacono F, Sparla S, Iardino E, Mondillo S. Left atrial strain: A useful index in atrial fibrillation. *Int J Cardiol.* 2016;220:208-13. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.06.197>
- Pilichowska-Paszkiel E, Baran J, Sygitowicz G, Sikorska A, Stec S, Kułakowski P, et al. Noninvasive assessment of left atrial fibrosis. Correlation between echocardiography, biomarkers, and electroanatomical mapping. *Echocardiography.* 2018;35(9):1326-34. <https://doi.org/10.1111/echo.14043>
- Nielsen AB, Skaarup KG, Lassen MCH, Djernæs K, Hansen ML, Svendsen JH, et al. Usefulness of left atrial speckle tracking echocardiography in predicting recurrence of atrial fibrillation after radiofrequency ablation: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2020;36(7):1293-1309. <https://doi.org/10.1007/s10554-020-01828-2>
- Mendes KDS, Silveira RCCP, Galvão CM. Use of bibliographic reference manager in the selection of primary studies in an integrative review. *Texto Contexto - Enferm.* 2019;28:e20170204. <https://doi.org/10.1590/1980-265X-TCE-2017-0204>

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

MMBMS: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Writing – original draft. **DCO:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Writing – original draft. **JVBC:** Data curation. **ATX:** Data curation. **LRC:** Data curation. **DJFN:** Data curation. **JMDC:** Writing – original draft, Writing – review & editing. **LRSV:** Writing – original draft, Writing – review & editing. **DCSF:** Writing – original draft, Writing – review & editing.

- University of Oxford, Centre for Evidence-Based Medicine. Levels of evidence [Internet]. 2009 [cited on Jan 20, 2022]. Available from: <http://www.cebm.net/oxfordcentre-evidence-based-medicine-levels-evidencemarch-2009/>
- Centre for Evidence-Based Medicine, Durieux N, Pasleau F, Howick J. The Oxford 2011 levels of evidence. [Internet]. 2011 [cited on Jan 20, 2022]. Available from: <http://www.cebm.net/index.aspx?o=1025>
- Laish-Farkash A, Perelshtein Brezinov O, Valdman A, Tam D, Rahkovich M, Kogan Y, et al. Evaluation of left atrial remodeling by 2D-speckle-tracking echocardiography versus by high-density voltage mapping in patients with atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2021;32(2):305-15. <https://doi.org/10.1111/jce.14837>
- Moreno-Ruiz LA, Madrid-Miller A, Martínez-Flores JE, González-Hermosillo JA, Arenas-Fonseca J, Zamorano-Velázquez N, et al. Left atrial longitudinal strain by speckle tracking as independent predictor of recurrence after electrical cardioversion in persistent and longstanding persistent non-valvular atrial fibrillation. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2019;35(9):1587-96. <https://doi.org/10.1007/s10554-019-01597-7>
- Leung M, Abou R, van Rosendaal PJ, van der Bijl P, van Wijngaarden SE, Regeer MV, et al. Relation of echocardiographic markers of left atrial fibrosis to atrial fibrillation burden. *Am J Cardiol.* 2018;122(4):584-91. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2018.04.047>
- Watanabe Y, Nakano Y, Hidaka T, Oda N, Kajihara K, Tokuyama T, et al. Mechanical and substrate abnormalities of the left atrium assessed by 3-dimensional speckle-tracking echocardiography and electroanatomic mapping system in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Heart Rhythm.* 2015;12(3):490-7. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2014.12.007>
- Harada M, Nattel S. Implications of inflammation and fibrosis in atrial fibrillation pathophysiology. *Card Electrophysiol Clin.* 2021;13(1):25-35. <https://doi.org/10.1016/j.ccep.2020.11.00>
- He B, Huang B, Lu Z, He W, Jiang H. Galectin-3: a potential new target for upstream therapy of atrial fibrillation. *Int J Cardiol.* 2016;203:1131-2. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.09.058>
- Oltean-Péter B, Korodi S, Benedek Junior I, Lázár E, Kéri J, Pakucs A, et al. Imaging-derived biomarkers associated with atrial FIBROSis, structural remodeling and the risk of cardioembolic events in patients with atrial fibrillation – the FIBROS study. *Journal of Interdisciplinary Medicine.* 2017;2(S4):31-5. <https://doi.org/10.1515/jim-2017-0095>
- Garcia PCR, Tonial CT, Piva JP. Septic shock in pediatrics: the state-of-the-art. *J Pediatr (Rio J).* 2020;96(Suppl 1):87-98. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2019.10.007>

ANEXO D - ARTIGO Nº 3

O artigo foi submetido à revista, aguardando resposta.

The American Journal of Cardiology

EVALUATION OF THE LEFT ATRIUM FUNCTION BY SPECKLE-TRACKING Echocardiography AS A PREDICTOR OF ATRIAL FIBROSIS

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Full Length Article
Keywords:	Atrial Fibrillation; Atrial Fibrosis; Strain; and Speckle-tracking.
Corresponding Author:	Maria Mariana Barros Melo da Silveira PROCAPE Recife, BRAZIL
First Author:	Maria Mariana Barros Melo da Silveira
Order of Authors:	Maria Mariana Barros Melo da Silveira
	João Victor Batista Cabral
	Amanda Tavares Xavier
	Lucas Reis da Costa
	Julio Francisco de Moura Junior
	Viviane Sibelly Pereira de Lima
	José Maria Del Castillo
	Luydson Richardson da Silva Vasconcelos
	Dário Celestino Sobral Filho
	Dinaldo Cavalcanti de Oliveira
Abstract:	Objective: The aim of the study was to verify the association of parameters obtained with speckle-tracking echocardiography (STE) that can be suggestive of atrial fibrosis in patients with atrial fibrillation. Methods: Prospective, case-control study, in which STE parameters were studied in 50 individuals with atrial fibrillation (AF) and 30 healthy individuals. Results: The evaluation of echocardiographic parameters in the AF group compared to the control group showed that the items related to the left atrium (LA) alterations, such as LA diameter (46.2 ± 9.46 vs. 29.9 ± 3.83, $p < 0.0001$), left ventricle end-diastolic diameter (LVEDD) (50.82 ± 8.43 vs. 45.87 ± 4.24, $p = 0.001$), left ventricle end-systolic diameter (LVESD) (35.86 ± 9.59 vs. 29 ± 2.93, $p < 0.0001$), LV volume (94; P25: 74.5, P75: 129.5 vs. 34.77 ± 10.42, $p < 0.0001$) and indexed volume to body surface area (53.6; P25: 39.4, P75: 73.3 vs. 20.61 ± 5.27, $p < 0.0001$), peak atrial longitudinal strain (PALS) (11.05; P25: 7.83, P75: 16.98 vs. 43.94 ± 12.17, $p < 0.0001$) and left ventricular global longitudinal strain (LVGLS) (14.9 ± 3.66 vs. 22.33 ± 2.32, $p < 0.0001$) were altered. In the multivariate analysis, Age (OR: , 95% CI: 1.2-21.54, p: 0.027) and BMI (OR: , 95% CI: 0.024-0.63, p: 0.012) were independently associated with PALS < 26.5. ROC curve analysis showed a better diagnostic performance for PALS (< 26.5) when compared to LVGLS (< 18.7). Conclusion: Dysfunction of the left atrium evaluated by STE can be directly associated to the development of AF. The evaluation of PALS and LVGLS can collaborate to a better understanding of the emergence and development of atrial fibrosis and provide additional data to improve the diagnosis and the prognostic evaluation of atrial fibrillation.

Dear Editor,

The manuscript with title is “**EVALUATION OF THE LEFT ATRIUM FUNCTION BY SPECKLE-TRACKING ECHOCARDIOGRAPHY AS A PREDICTOR OF ATRIAL FIBROSIS**” has been sent for your Journal to be considered for publication. The article talks about the use of markers as an important tool in the search for new ways to manage diseases. In our article, we confirmed that speckle tracking echocardiography can be considered a predictive, diagnostic and prognostic marker for atrial fibrosis in patients with atrial fibrillation.

I declare that:

1. All authors have participated in the work and have reviewed and agree with the content of the article.
2. None of the article contents are under consideration for publication in any other journal or have been published in any journal.
3. No portion of the text has been copied from other material in the literature (unless in quotation marks, with citation).
4. I am aware that it is the authors responsibility to obtain permission for any figures or tables reproduced from any prior publications, and to cover fully any costs involved. Such permission must be obtained prior to final acceptance.

Best Regards.

Maria Mariana Barros Melo da Silveira

EVALUATION OF THE LEFT ATRIUM FUNCTION BY SPECKLE-TRACKING ECHOCARDIOGRAPHY AS A PREDICTOR OF ATRIAL FIBROSIS

Authors: Maria Mariana Barros Melo da Silveira^{a,c}, João Victor Batista Cabral^a, Amanda Tavares Xavier^b, Lucas Reis da Costa^c, Julio Francisco de Moura Junior^b, Viviane Sibelly Pereira de Lima^b, José Maria Del Castillo^d, Luydson Richardson da Silva Vasconcelos^e, Dário Celestino Sobral Filho^{b,c}, Dinaldo Cavalcanti de Oliveira^{a,c}.

^aProgram in Therapeutic Innovation, Federal University of Pernambuco – PPGIT/UFPE

^bFaculty of Medical Sciences, University of Pernambuco - FCM/UPE

^cPernambuco Cardiovascular Emergency Room Teacher Luiz Tavares – PROCAPE/UPE

^dPernambuco School of Ecography

^eAggeu Magalhães Institute, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz)

Corresponding Author: Maria Mariana Barros Melo da Silveira/ Pernambuco Cardiovascular Emergency Room Teacher Luiz Tavares – PROCAPE/UPE. Palmares Street - Santo Amaro, Recife, PE, Brazil 50100-060/ Tel +558 199 461 3705/ E-mail: marianabms@gmail.com.

Conflict of interest: none declared;

Funding: none

ABSTRACT

Objective: The aim of the study was to verify the association of parameters obtained with speckle-tracking echocardiography (STE) that can be suggestive of atrial fibrosis in patients with atrial fibrillation. **Methods:** Prospective, case-control study, in which STE parameters were studied in 50 individuals with atrial fibrillation (AF) and 30 healthy individuals. **Results:** The evaluation of echocardiographic parameters in the AF group compared to the control group showed that the items related to the left atrium (LA) alterations, such as LA diameter (46.2 ± 9.46 vs. 29.9 ± 3.83 , $p < 0.0001$), left ventricle end-diastolic diameter (LVEDD) (50.82 ± 8.43 vs. 45.87 ± 4.24 , $p = 0.001$), left ventricle end-systolic diameter (LVESD) (35.86 ± 9.59 vs. 29 ± 2.93 , $p < 0.0001$), LV volume (94; P25: 74.5, P75: 129.5 vs. 34.77 ± 10.42 , $p < 0.0001$) and indexed volume to body surface area (53.6; P25: 39.4, P75: 73.3 vs. 20.61 ± 5.27 , $p < 0.0001$), peak atrial longitudinal strain (PALS) (11.05; P25: 7.83, P75: 16.98 vs. 43.94 ± 12.17 , $p < 0.0001$) and left ventricular global longitudinal strain (LVGLS) (14.9 ± 3.66 vs. 22.33 ± 2.32 , $p < 0.0001$) were altered. In the multivariate analysis, Age (OR: , 95% CI: 1.2-21.54, p : 0.027) and BMI (OR:, 95% CI: 0.024-0.63, p : 0.012) were independently associated with PALS < 26.5 . ROC curve analysis showed a better diagnostic performance for PALS (< 26.5) when compared to LVGLS (< 18.7). **Conclusion:** Dysfunction of the left atrium evaluated by STE can be directly associated to the development of AF. The evaluation of PALS and LVGLS can collaborate to a better understanding of the emergence and development of atrial fibrosis and provide additional data to improve the diagnosis and the prognostic evaluation of atrial fibrillation.

Keywords: Atrial Fibrillation; Atrial Fibrosis; Strain; and Speckle-tracking.

INTRODUCTION

In the past few years, new techniques for imaging exams to evaluate atrial function and predict the risk of atrial fibrillation (AF) recurrence have emerged.¹⁻² Due to this advent, the need and interest to evaluate the function and characteristics of the left atrium (LA) rose, likely because of the prognostic impact of the LA size and function in different cardiovascular diseases. The development of the catheter ablation technique contributed to increase the knowledge about the LA internal anatomic structure.³

LA acts as a reservoir, filling and stretching to receive blood from pulmonary veins during the LV systole, so that its tension curve goes up⁴ as a conduit, passively transferring blood to the LV during the beginning of diastole, in addition to having the function of a pump to drive blood to the LV in the end of diastole. In people without cardiac diseases, the reservoir, conduit, and pump phases of LA contribute 40%, 35%, and 25% to stroke volume, respectively.¹

In AF, peak atrial longitudinal strain (PALS) measured at the end of reservoir phase is an important deformation parameter since it depends basically on atrial compliance. It could be useful in predicting atrial stasis and preventing cerebrovascular accident (CVA), as well as it is an important factor in the genesis of thrombus formation, leading to important information for prevention, and can be assessed by imaging exams.⁴ Tissue Doppler imaging was the first echocardiographic technique used to assess atrial function; however, it is limited by the low reproducibility, angle dependency and the presence of many artifacts.⁵

Echocardiography (two-dimensional, Doppler, speckle-tracking echocardiogram) can assess the size and volume of the atrial chamber in patients with

AF.⁶⁻⁷ Speckle-tracking echocardiography (STE) using the two-dimensional method (2D) can overcome the limitations of tissue Doppler. STE is a non-Doppler method for the objective quantification of the atrial deformation, derived from 2D images acquisition,^{5,8} which allows the assessment of the deformation in the LA reservoir function, potentially caused by the reduction in compliance due to atrial fibrosis.⁸

STE has been used for the detection of atrial fibrosis and it presents good perspectives of being used in routine clinical practice.⁹ The speckle-tracking technique for measuring myocardial deformation (strain) has been developed more recently and it is considered a new parameter for the assessment of atrial and ventricular systolic function.¹⁰ STE has been used to assess/track findings that suggest myocardial deformation.⁴

In several diseases that can evolve to compromised systolic function, myocardial strain is a parameter that gets altered before the ejection fraction, in addition to present a prognostic value in some clinical conditions.¹⁰ LA diastolic parameters derived from STE correlate well with the LA fibrosis extension. Thus, it has been suggested that STE could be useful in the non-invasive assessment of fibrosis and in the selection of candidates for ablation.⁸

The aim of the study was to verify the association of parameters obtained with STE that can be suggestive of atrial fibrosis in patients with atrial fibrillation.

METHODS

This is a prospective, analytic, case-control study that included clinical characteristics and complementary exams from the participants. It was carried out in the cardiology emergency room (Pronto Socorro Cardiológico de Pernambuco Professor

Luiz Tavares/PROCAPE) from the University of Pernambuco/UPE and in a cardiology outpatient unit.

Fifty individuals were included in the case group, in which the inclusion criteria were: patients with AF in its various etiologies and patients with paroxysmal clinical presentations, persistent or permanent, with diagnosis established by clinical exams and confirmed by the conventional electrocardiogram recording or 24-hour Holter electrocardiogram recording. Thirty individuals were included in the control group, in which the inclusion criteria were: patients without cardiopathy, assisted in the cardiology outpatient unit with 24-hour Holter electrocardiogram recording and complementary exams that excluded existence of arrhythmia or cardiopathies. The exclusion criteria for both groups were the presence of hepatic disease and/or cancer.

Clinical data was collected using a questionnaire elaborated by the authors with clinical and sociodemographic information. Fibrosis detection was performed using STE. This technique is based on the tracking of natural acoustic markers (speckles) present in the two-dimensional image in grey scale during all the cardiac cycle. It is a non-invasive exam, performed with the same technique as the traditional thoracic echocardiogram, but with the reading being performed by a specific software. The echocardiogram exams were carried out at Escola de Ecocardiografia de Pernambuco (ECOPE).

Measurements were obtained on the left lateral decubitus position using a Vivid IQ and T8 echocardiography device (GE Healthcare, Horten, Noruega). All patients underwent standard echocardiographic assessment. All images and Doppler signals were recorded for offline analysis later using Echopack software (GE Healthcare), according to the current guidelines.¹¹ In addition to the PALS and LVGLS variables, conventional variables were measured or calculated, including Left Ventricle End-

Diastolic Diameter, Left Ventricle End-Systolic Diameter, Ejection Fraction, Left Atrium Diameter, Left Atrium Volume, Left Atrium Volume/ Body Surface Area. All images used for speckle tracking echocardiographic analysis were obtained at 50-70 frames per second. These measurements were then evaluated by a cardiologist who was blinded to the patients' clinical condition, and the deformation parameters were calculated.

Data was analyzed using descriptive and inferential statistics with *GraphPad Prism* (version 6) and SPSS 20.0 software. The Kolmogorov-Smirnov test was used to test for normality. Continuous variables were expressed as mean or median, depending on the variation coefficient, and categorical variables were expressed as percentages. Continuous variables were compared between case and control groups using Mann-Whitney and chi-square tests.

The analysis of Receiver Operating Characteristic (ROC) curve was performed to determine PALS and left ventricular global longitudinal strain (LVGLS) cut-off points. Likelihood ratio (LR) and Youden index (YI) were calculated to help with the diagnostic precision of sensitivity and specificity data. The differences were considered significant if $p < 0.05$.

The Project was reviewed and approved by the Research Ethics Committee from the University of Pernambuco (UPE), under the number 3.850.635.

RESULTS

Clinical and demographic characteristics of the patients are described in table 1. The mean age of individuals with AF was 63.7 ± 14.5 years, 60% were female and 74% were overweight/obese according to the body mass index (BMI). The main

comorbidities identified were systemic arterial hypertension (88.7%), cardiac insufficiency (47.2%), dyslipidemia (37.7%) and valvulopathies (45.3%). In the control group, mean age was 42.2 ± 15.7 years, the majority was female (63.3%) and had normal BMI (60%).

Table 1. Clinical and sociodemographic variables of patients from the AF group (N=50) and control group (N=30).

Variables	Atrial Fibrillation N (%)	Control N (%)	P value
Gender			
Female	30 (60)	19 (63.3)	0.81
Male	20 (40)	11 (36.7)	
Age (years)	63.7 (± 14.5)	42.2 (± 15.9)	<0.0001
Body Mass Index			
Normal	13 (26)	18 (60)	0.0025
Overweight/ Obese	37 (74)	12 (40)	
Comorbidities			
Smoking	20 (37.7)	-	
Alcoholism	21 (42)	-	
Dyslipidemia	20 (37.7)	-	
Systemic Arterial Hypertension	47 (88.7)	-	
Diabetes Mellitus	7 (13.2)	-	
Cardiac Insufficiency	25 (47.2)	-	
Stroke	10 (18.8)	-	
Renal Disease	7 (13.2)	-	
Valve Disease	24 (45.3)	-	
Coronary Artery Disease	5 (9.4)	-	

All study participants were assessed by STE. As for the echocardiographic parameters (table 2) in the group with AF when compared to the control group, it is noteworthy the alterations in the LA diameter (46.2 ± 9.46 vs. 29.9 ± 3.83 , $p < 0.0001$), left ventricle end-diastolic diameter (LVEDD), (50.82 ± 8.43 vs. 45.87 ± 4.24 , $p = 0.001$), left ventricle end-systolic diameter (LVESD), LA volume (94; P25: 74.5, P75: 129.5 vs. 34.77 ± 10.42 , $p < 0.0001$) volume index to body surface area (53.6; P25: 39.4, P75: 73.3 vs. 20.61 ± 5.27 , $p < 0.0001$), plus PALS (11.05; P25: 7.83, P75: 16.98 vs. 43.94 ± 12.17 , $p < 0.0001$) (Figure 1) and LVGLS values (14.9 ± 3.66 vs. 22.33 ± 2.32 , $p < 0.0001$) (Figure

1). In the multivariate analysis, Age (OR: 5.1, 95% CI: 1.2-21.54, p: 0.027) and BMI (OR: 0.12, 95% CI: 0.024-0.63, p: 0.012) were independently associated with PALS <26.5.

Table 2. Comparative analysis of the left atrium and ventricle deformation, function and volume using echocardiographic strain in patients with atrial fibrillation (n=50) and the control group (n=30).

Variables	AF (n=50) Mean*/median[‡]	Control (n=30) Mean*/median[‡]	Univariate p value
LVEDD	50.82±8.43	45.87±4.24	0.001
LVEDS	35.86±9.59	29±2.93	<0.0001
EF	56.26±13.52	59.73±6.54	0.39
(Teichholz)			
LAD	46.2±9.46	29.9±3.83	<0.0001
LA Vol	95 (74.5-129.5)	34.77±10.42	<0.0001
LA Vol /BSA	53.6 (39.4-73.3)	20.61±5.27	<0.0001
PALS	11.05 (7.83-16.98)	43.94±12.17	<0.0001
LVGLS	14.9±3.66	22.33±2.32	<0.0001
Variables	Multivariate OR, 95%CI	Multivariate P Value	
Age	5.1, 1.2-21.54	0.027	
Body Mass Index (BMI)	0.12, 0.024-0.63	0.012	

RV: Reference Value; LVEDD: Left Ventricle End-Diastolic Diameter (RV: 38-52); LVEDS: Left Ventricle End-Systolic Diameter (RV: 22-35); EF: Ejection Fraction (RV: ≥55); LAD: Left Atrium Diameter (RV: 27-38); LA Vol: Left Atrium Volume (RV: 22-53); LA Vol /BSA: Left Atrium Volume/ Body Surface Area (RV: <34); PALS: Peak Atrial Longitudinal Strain (RV: 38-41); LVGLS: Left Ventricular Global Longitudinal Strain (RV: <18); *mean±standard deviation; [‡]median (P25-P75), CI: Confidence Interval.

Figure 1. Graph of the distribution of the difference between PALS and LVGLS in the AF group and the control group.

Source: author's elaboration, 2021.

ROC curve analysis (figure 2) showed that PALS (<26.5) had a better diagnostic performance than LVGLS (<18.7). PALS presented an area under the curve of 0.98 (IC 95% 0.98-0.99; p<0.0001), with sensitivity and specificity around 96% for the prediction of fibrosis in the LA, whereas LVGLS presented an area under the curve of 0.92 (IC 95% 0.91-0.99; p<0.0001), with sensitivity of 90.6% and specificity of

86.5% for the prediction of fibrosis in the LA. The LR was calculated for both strain measures. For PALS it was LR+ 24 and LR- 0.04, and YI of 0.93. As for LVGLS, LR+ 6.5, LR- 0.1 and YI of 0.76.

Figure 2. Graph of the ROC curve analysis of PALS and LVGLS.

Source: author's elaboration, 2021.

DISCUSSION

Studies using STE as a marker for atrial fibrosis are still scarce in Brazil, as well as studies that have as a target the identification of atrial fibrosis in patients with AF. In our assessment, we demonstrated that the presence of AF is associated to left atrium morphofunctional abnormalities, represented by the diameter, volume, LA volume index to body surface area and PALS. PALS may have diagnostic value in the identification of atrial fibrosis using non-invasive imaging exams such as the echocardiogram.

As for the clinical characterization, according to Magalhães et al. (2016)¹², in the II Brazilian Guidelines of Atrial Fibrillation (II Diretriz Brasileira de Fibrilação Atrial), the disease prevalence is also affected by patient's gender. AF affects males more frequently, in a proportion of 1.2:1 in relation to females. This is in accordance with Hindricks et al. (2021)¹³, in the European Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation, reiterating that AF is more prevalent in males than females in the European population. It differs from the present study with a population predominantly of females (60%). According to the study carried out by Magalhães et al. (2016)¹², females represent most of the AF patients due to longer survival.

Regarding comorbidities, clinical factors are associated to an increased risk of developing AF, with systemic arterial hypertension (SAH), cardiac insufficiency (CI) and heart valve disease being considered the classic factors. Our data showed these diseases had a high prevalence, with 96.3%, 55.8% and 43.6% for SAH, CI and heart valve disease, respectively. It has been suggested that there are new potential risk factors such as obstructive sleep apnea (OSA), obesity¹⁴, family history and genetic factors.¹² In the population described, overweight (42%) followed by obesity (30%) stand out as additional factors.

The strain technique has been used to assess myocardial deformation using echocardiogram. It presents high sensitivity in the detection of subclinical alterations; by introducing the speckle-tracking technique, there is a gain from quantifying myocardial deformation in two dimensions, measuring the speed of myocardial tissue and the ventricle torsion.¹⁵

The association between LA size and clinical outcomes has been mentioned frequently. Size alterations of the LA may be associated with atrial wall deformation. When the deformation is reduced, the atrium reduces its capacity of modifying its size, indicating that the function is altered. LA enlargement is being studied to evaluate its relationship with AF because an atrium with a larger volume is associated to an increased risk of developing the disease, mainly in the elderly.⁴ In our study, LA volume and LA volume indexed by body surface area in AF patients, when compared to the controls, presented a significant increase ($p < 0.0001$).

Leung et al. (2018)¹⁶ used STE to investigate the relationship between the LA reservoir phase and the total atrial conduction time and demonstrated that the remodelling of the atrial system substrate and the increase in fibrosis can reduce the LA compliance ($p < 0.001$). The compliance being compromised in AF, as well as an

increase in the total atrial activation time indicate that those alterations could occur due to atrial fibrosis ($p < 0.001$). According to Pilichowska et al. (2018)⁸, LA volume ($p < 0.002$) correlated with the extension of the fibrosis, which was assessed by an invasive method.

Parameters used to assess the cardiac chambers such as strain, are inversely proportional to the fibrosis degree, that is, the higher the degree of fibrosis, the lower the values measured by the STE.¹⁷ A study published in 2017 showed a significant association between the LA global atrial longitudinal strain and AF progression.¹⁸ Pilichowska et al. (2018)⁸ verified that STE can be useful in the non-invasive assessment of the LA fibrosis ($p < 0.001$). Nielsen et al. (2020)⁹ showed that patients with lower PALS present AF recurrence more frequently and PALS is considered a significant predictor of AF recurrence after radiofrequency ablation. These findings were corroborated by our results, in which PALS ($p < 0.0001$) and LVGLS ($p < 0.0001$) differed significantly between the case and control groups.

The analysis of sensitivity and specificity assessed in the ROC curve showed that the STE is a good predictor of fibrosis in patients with AF. This result is confirmed by the positive and negative LR calculations, as well as by the Youden index. Aksu et al. (2019) reported that the STE of the LA has considerable sensitivity (72%) and specificity (65%) for the prediction of AF and recorded an area under the curve of 0.77 (IC 95% 0.69-0.91; $p < 0.001$).

Therefore, the authors concluded that STE can be used as a marker for atrial fibrosis in patients with AF by assessing parameters such as diameter, PALS and LVGLS. However, more studies should be conducted in order to confirm this finding, besides considering that other parameters can be used in the investigation of atrial fibrosis.

Limitations: The present study has the sample size as a limitation due to the non-routine use of the STE in the clinic. The inclusion of a larger number of patients could provide a broader picture about this subject. The groups were not paired by age because study participants were selected by convenience, provided that the eligibility criteria were observed.

CONCLUSION

Left atrium dysfunction assessed by STE may be directly associated to the development of AF. Measuring parameters such as diameter, volume, index volume by body surface area and LA strain (PALS) can provide useful information about the disease. Evaluation of PALS and LVGLS can help to better understand the emergence and development of atrial fibrosis and provide additional data to improve prognostic and diagnostic assessment of atrial fibrillation.

ACKNOWLEDGMENT

We thank Escola de Ecocardiografia de Pernambuco (ECOPE) for performing the echocardiogram of the study patients.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

MMBMS: Conceptualization, Data Curation, Formal Analysis, Writing – Original Draft. **JVBC:** Data Curation. **ATX:** Data Curation. **LRC:** Data Curation. **JFMJ:** Data Curation. **VSPL:** Data Curation. **JMDC:** Writing – Original Draft, Writing – Review &

Editing. **LRSV:** Writing – Original Draft, Writing – Review & Editing. **DCSF:** Writing – Original Draft, Writing – Review & Editing. **DCO:** Conceptualization, Data Curation, Formal Analysis, Writing – Original Draft.

REFERENCES

1. Lacalzada-Almeida J, García-Niebla J. How to detect atrial fibrosis. *J of Geriatr Cardiol.* 2017; 14: 185-94.
2. Aksu U, Kalkan K, Gulcu O, Aksakal E, Öztürk M, Topcu S. The role of the right atrium in development of postoperative atrial fibrillation: A speckle-tracking echocardiography study. *J Clin Ultrasound.* 2019;1–7.
3. Donal E, Galli E, Lederlin M, Martins R, Schnell F. Multimodality Imaging for Best Dealing With Patients in Atrial Arrhythmias. *JACC: Cardiovasc Imaging.* 2019; 22: 2245.
4. Cameli GEM, Loiacono F, Sparla S, Iardino E, Mondillo S. Left atrial strain: A useful index in atrial fibrillation. *Int J of Cardiol.* 2016; 220: 208–13.
5. Harada M, Nattel S. Implications of Inflammation and Fibrosis in Atrial Fibrillation Pathophysiology. *Card Electrophysiol Clin.* 2021; 13: 25–35.

6. Njoku A, Kannabhiran M, Arora R, et al. Left atrial volume predicts atrial fibrillation recurrence after radiofrequency ablation: a meta-analysis. *Europace*. 2018; 20(1): 33–42.
7. Ogata T, Matsuo R, Kiyuna F, et al. Left atrial size and long-term risk of recurrent stroke after acute ischemic stroke in patients with nonvalvular atrial fibrillation. *J Am Heart Assoc*. 2017; 6(8).
8. Pilichowska-Paszkiel E, Baran J, Sygitowicz G, et al. Noninvasive assessment of left atrial fibrosis. Correlation between echocardiography, biomarkers, and electroanatomical mapping. *Echocardiography*. 2018;0: p.1–9.
9. Nielsen AB, Skaarup KG, Lassen MCH, Djernæs K, Hansen ML, Svendsen JH, et al. Usefulness of left atrial speckle tracking echocardiography in predicting recurrence of atrial fibrillation after radiofrequency ablation: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiovas Imaging*. 2020.
10. Mancuso FJN. Ecocardiografia Tridimensional e Análise do Strain Miocárdico: Prontos para Uso na Prática Clínica. *Arq Bras Cardiol*. 2019; 113(5):946-47.
11. Badano LP, Kolas TJ, Muraru D, et al. Standardization of left atrial, right ventricular, and right atrial deformation imaging using two dimensional speckle-tracking echocardiography: a consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2018;19:591-600.

12. Magalhães LP, Figueiredo MJO, Cintra FD, Saad EB, et al. II Diretriz Brasileira de Fibrilação Atrial. Arq Bras de Cardiol.2016; 106(4).
13. Hindricks G, Potpara T, Dagres N, Arbelo E, Bax JJ, Blomström-Lundqvist C, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. Eur Heart J. 2021; 42(5):373-498.
14. Lubbers ER, Price MV, Mohler PJ. Arrhythmogenic substrates for atrial fibrillation in obesity. Front Physiol. 2018;9:1482.
15. Kupczyńska K, Mandoli GH, Cameli M, Kasprzak JD. Left atrial strain — a current clinical perspective. KARDIOL POL. 2021; 79(9).
16. Leung M, Biostat M, Abou R, Van Rosendaal PJ, van der Bijl P, van Wijngaarden SE, Regeer MV, Podlesnikar T, Marsan NA, Leung DY, Delgado V, Bax JJ. Relation of Echocardiographic Markers of Left Atrial Fibrosis to Atrial Fibrillation Burden, Am J Cardiol. 2018;122(4): 584-91.

17. Medeiros MA, Pedrosa RP, Silveira CAM, Del Castillo JM. Left Atrial Function Using Speckle Tracking: Beyond Volumetric Evaluation. *Arq Bras Cardiol: Imagem cardiovasc.* 2019;32(1):34-42
18. Kılıçgedik A, Efe SÇ, Gürbüz AS, Acar E, Yılmaz MF, Yılmaz F, Yaman A, et al. Galectin-3 in Middle-Aged Patients with First Episode of Non-valvular Atrial Fibrillation: a Speckle-tracking Study. *Koşuyolu Heart J.* 2017;20 (3):224-29.

Table 1. Clinical and sociodemographic variables of patients from the AF group (N=50) and control group (N=30).

Variables	Atrial Fibrillation N (%)	Control N (%)	P value
Gender			
Female	30 (60)	19 (63.3)	0.81
Male	20 (40)	11 (36.7)	
Age (years)	63.7 ($\pm$ 14.5)	42.2 ($\pm$ 15.9)	<0.0001
Body Mass Index			
Normal	13 (26)	18 (60)	0.0025
Overweight/ Obese	37 (74)	12 (40)	
Comorbidities			
Smoking	20 (37.7)	-	
Alcoholism	21 (42)	-	
Dyslipidemia	20 (37.7)	-	
Systemic Arterial Hypertension	47 (88.7)	-	
Diabetes Mellitus	7 (13.2)	-	
Cardiac Insufficiency	25 (47.2)	-	
Stroke	10 (18.8)	-	
Renal Disease	7 (13.2)	-	
Valve Disease	24 (45.3)	-	
Coronary Artery Disease	5 (9.4)	-	

Table 2. Comparative analysis of the left atrium and ventricle deformation, function and volume using echocardiographic strain in patients with atrial fibrillation (n=50) and the control group (n=30).

Variables	AF (n=50) Mean*/median [‡]	Control (n=30) Mean*/median [‡]	Univariate p value
LVEDD	50.82 $\pm$ 8.43	45.87 $\pm$ 4.24	0.001
LVESD	35.86 $\pm$ 9.59	29 $\pm$ 2.93	<0.0001
EF (Teichholz)	56.26 $\pm$ 13.52	59.73 $\pm$ 6.54	0.39
LAD	46.2 $\pm$ 9.46	29.9 $\pm$ 3.83	<0.0001
LA Vol	95 (74.5-129.5)	34.77 $\pm$ 10.42	<0.0001
LA Vol /BSA	53.6 (39.4-73.3)	20.61 $\pm$ 5.27	<0.0001
PALS	11.05 (7.83-16.98)	43.94 $\pm$ 12.17	<0.0001
LVGLS	14.9 $\pm$ 3.66	22.33 $\pm$ 2.32	<0.0001
Variables	Multivariate OR, 95%CI	Multivariate P Value	
Age	5.1, 1.2-21.54	0.027	
Body Mass Index (BMI)	0.12, 0.024-0.63	0.012	

RV: Reference Value; LVEDD: Left Ventricle End-Diastolic Diameter (RV: 38-52); LVESD: Left Ventricle End-Systolic Diameter (RV: 22-35); EF: Ejection Fraction (RV: $\geq$ 55); LAD: Left Atrium Diameter (RV: 27-38); LA Vol: Left Atrium Volume (RV: 22-53); LA Vol /BSA: Left Atrium Volume/ Body Surface Area (RV: $<$ 34); PALS: Peak Atrial Longitudinal Strain (RV: 38-41); LVGLS: Left

Ventricular Global Longitudinal Strain (RV: <18); *mean±standard deviation; †median (P25-P75), CI: Confidence Interval.

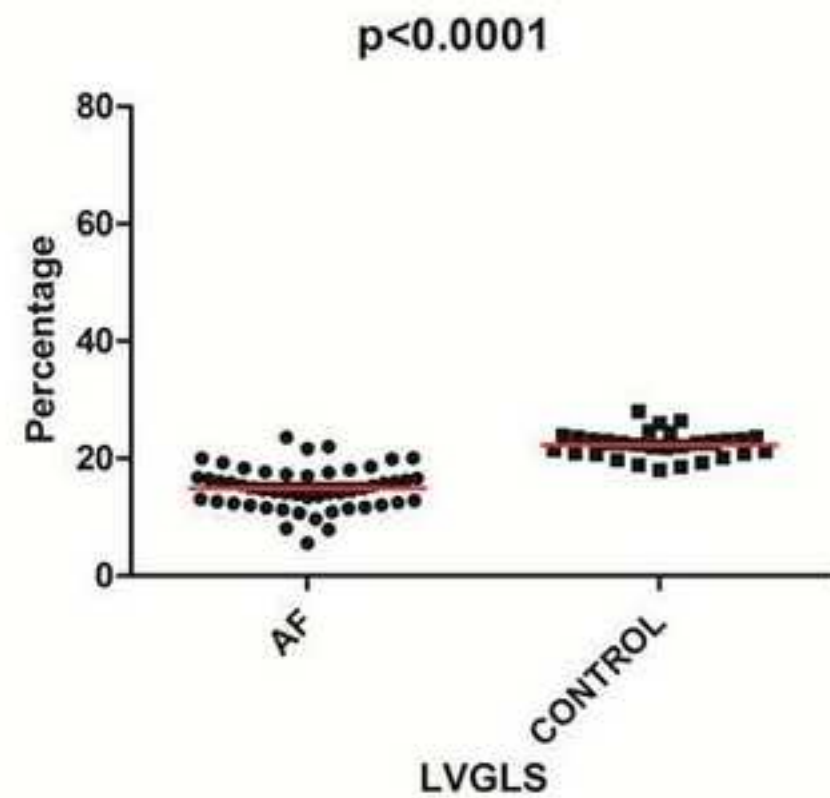
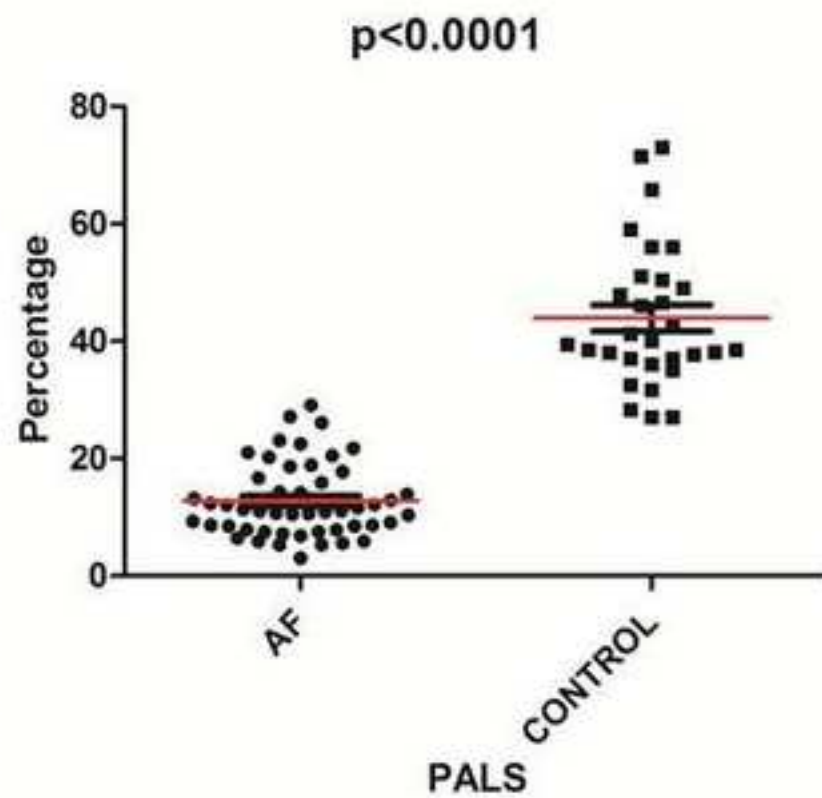
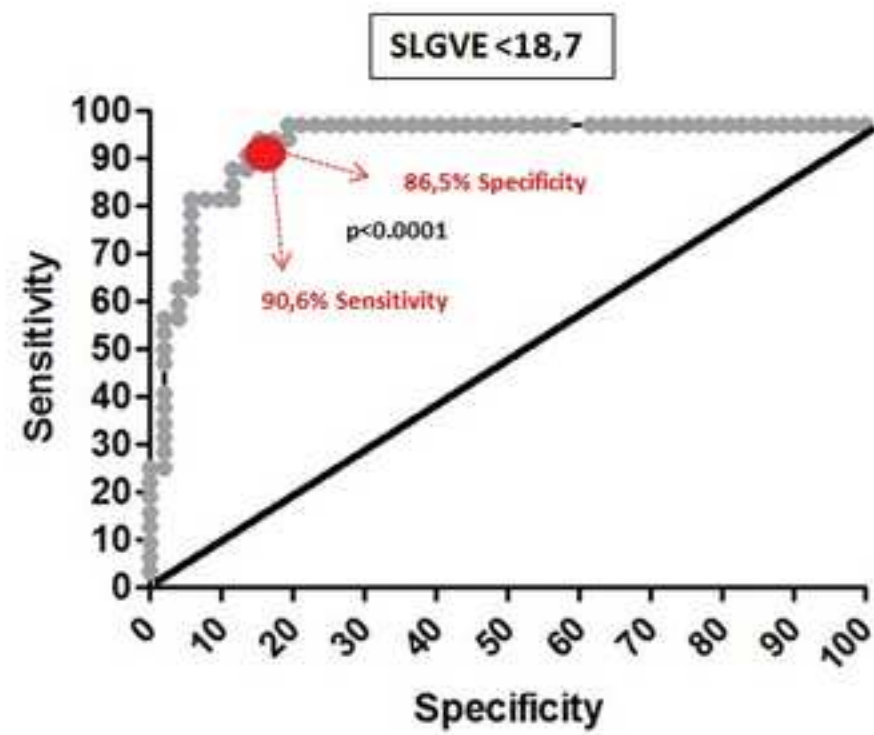
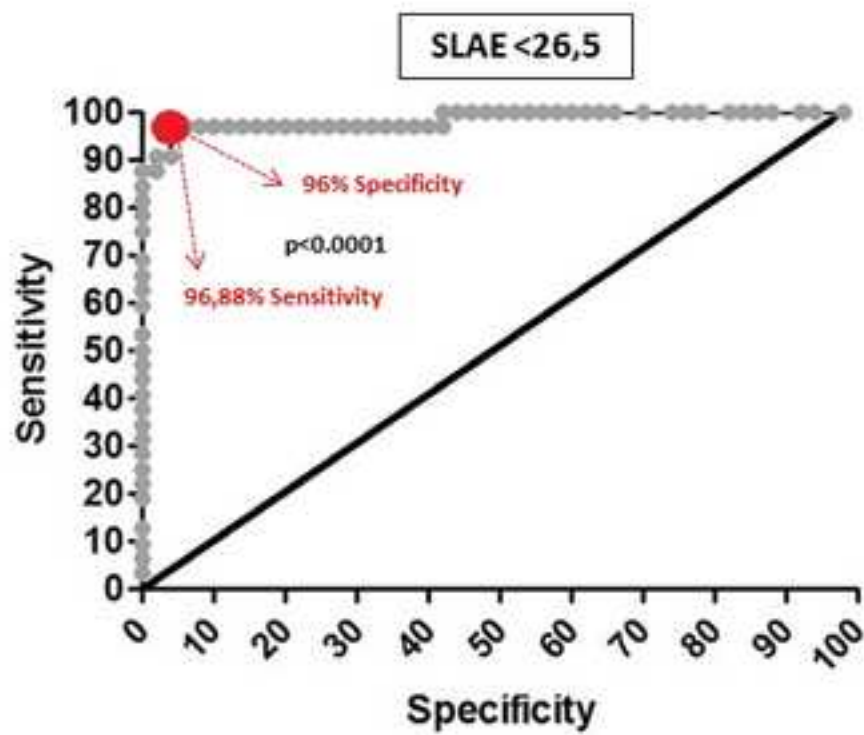


Figure 2

[Click here to access/download;Figure;Figure 2.jpg](#)



Declaration of interests

☒The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

☐The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests:

REFERÊNCIAS

AKOUM, N.; MARROUCHE, N. Assessment and Impact of Cardiac Fibrosis on Atrial Fibrillation. **Current Cardiology Rep.** v. 16, p. 518, 2014.

ALMEIDA, E.D.; GUIMARÃES, R.B.; STEPHAN, L.S., et al. Diferenças Clínicas entre Subtipos de Fibrilação Atrial e Flutter: Registro Transversal de 407 Pacientes. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia.** v. 105, n. 1, p. 3-10, 2015.

BAEZA-HERRERA, L.A.; VELASCO, G.R.; MÁRQUEZ-MURILLO, M.F., et al. Fibrilación auricular em cirugía cardíaca. **Archivos Cardiología de México.** v. 89, 2019.

BARBERATO, S.H.; ROMANO, M.M.D.; BECK, A.L.S., et al. Posicionamento sobre Indicações da Ecocardiografia em Adultos – 2019. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia,** v.113, n.1, p135-181, 2019.

BERGER, W.R.; JAGU, B.; VAN DEN BERG, N.W.E., et al. The change in circulating galectin-3 predicts absence of atrial fibrillation after thoracoscopic surgical ablation. **Europace.** v.0, p.1–8, 2018.

BOER, R.A., CAN VELDHUISEN, D.J.; GANSEVOORT, R.T., et al. The fibrosis marker galectin-3 and outcome in the general population. **Journal of InternMedicine.** v. 272, n. 1, p. 55-64, 2012.

BRASIL. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília (DF): Conselho Nacional de Saúde; 2012.

CALKINS, G.; HINDRICKS, H.; CAPPATO, R.; et al. HRS/EHRA/ECAS/APHRS/SOLAECE expert consensus statement on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation. **Europace,** v.20, n.1, p1–160, 2018.

CAMELI, M.G.E.; LOIACONO, F.; SPARLA, S.; IARDINO, E.; MONDILLO S. Left atrial strain: A useful index in atrial fibrillation. **International Journal of Cardiology.** v.220, p.208–213, 2016.

CHEN, S.; WANG, C.; WANG, X.; XU, C.; WU, M.; WANG, P.; et al. Significant Association Between CAV1 Variant rs3807989 on 7p31 and Atrial Fibrillation in a Chinese Han Population. **Journal American Heart Association.** v.4, n.5, 2015.

CHEN, S.C.; KUO, P.L. The role of galectin-3 in the kidneys. **International Journal of Molecular Sciences**. v.17, n. 565, 2016.

CHEN D.; PROCTER, N.; GOH, V., et al. New onset atrial fibrillation is associated with elevated galectin-3 levels. **International Journal of Cardiology**. v.223, p.48–49, 2016.

CINTRA, F.D.; FIGUEIREDO, M.J.O. Atrial Fibrillation (Part 1): Pathophysiology, Risk Factors, and Therapeutic Basis. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.116, n. 1, p. 129-139, 2021.

CHOW, S.L.; CHOW, S.L.; MAISEL, A.S.; ANAND, I., et al. Role of Biomarkers for the Prevention, Assessment, and Management of Heart Failure: A Scientific Statement From the American Heart Association. **Circulation**. v. 135, p. e1054–e1091, 2017.

CHUGH, S.S.; HAVMOELLER, R.; NARAYANAN, K.; et al. Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 Study. **Circulation**. v. 129, p. 837–47, 2014.

CLEMENTY N., GARCIA B, CLEMENTINE A, BISSON A, BENHENDA N, BERTRAND P, et al. Galectin-3 level predicts response to ablation and outcomes in patients with persistent atrial fibrillation and systolic heart failure. **PLoS ONE**. v. 13, n. 8, p. 1-12, 2018a.

CLEMENTY, N.; PIVER, E.; BISSON, A.; CLÉMENTINE, A. BERNARD, A.; PIERRE, B.; FAUCHIER, L.; BABUTY, D. Galectin-3 in Atrial Fibrillation: Mechanisms and Therapeutic Implications **International Journal of Molecular Sciences**. v. 19, p.976, 2018b.

CLEMENTY N.; BENHENDA, N.; PIVER, E., et al. Serum Galectin-3 Levels Predict Recurrences after Ablation of Atrial Fibrillation. **Scientific Reports**. v. 6: p. 34357, 2016.

CORNEJO-GARCÍA, J. A.; ROMANO, A.; GUÉANT-RODRÍGUEZ, R.M., et al. A non-synonymous polymorphism in galectin-3 lectin domain is associated with allergic reactions to beta-lactam antibiotics. **Pharmacogenomics Journal**, v. 16, n. 1, p. 79–82, 2016.

CORRADI, D. Atrial fibrillation from the pathologist's perspective. **Cardiovascular Pathology**. v. 23, p. 71-84, 2014.

CRUZ G.S.; ANGELO A.L.D.; LAROCCA T.F.; MACEDO C.T.; NOYA-RABELO M.; CORREIA L.C.L., et al. Assessment of Galectin-3 Polymorphism in Subjects with Chronic Chagas Disease. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 105, n. 5, p. 472–8, 2015.

CUNHA, E.G.C.; LIMA, C.A.D.; VILAR, K.M., et al. Genetic variants in LGALS3 are related to lower galectin-3 serum levels and clinical outcomes in systemic sclerosis patients: A case-control study. **Autoimmunity**. v. 54, n. 4, p. 187-194, 2021.

DIFRANCESCO, D. Funny channel gene mutations associated with arrhythmias. **The Journal of Physiology**. n. 591, p. 4117–4124, 2013.

DONAL, E.; GALLI, E.; LEDERLIN, M.; MARTINS, R.; SCHNELL, F. Multimodality Imaging for Best Dealing With Patients in Atrial Arrhythmias. **JACC: Cardiovascular Imaging**. v.22, p.2245, 2019.

DONG, R.; ZHANG M.; HU, Q.; ZHENG, S.; SOH, A.; ZHENG, Y.; YUAN, H. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review). **International Journal of Molecular Medicine**. v. 41, p. 599–614, 2018.

DUHME, N.; SCHWEIZER, P.A.; THOMAS, D.; BECKER, R.; SCHROTER, J.; BARENDT, T.R.; et al. Altered HCN4 channel C-linker interaction is associated with familial tachycardia-bradycardia syndrome and atrial fibrillation. **European Heart Journal**. v. 34, p. 2768–2775, 2013.

DZESHKA, M.S.; LIP, G.Y.H.; SNEZHITSKIY, V.; SHANTSILA, E. Cardiac Fibrosis in Patients with Atrial Fibrillation - Mechanisms and Clinical Implications. **Journal of the American College of Cardiology**. v. 66, n. 8, p. 944-59, 2015

ELLINOR, P.T.; LUNETTA, K.L.; ALBERT, C.M., et al. Meta-analysis identifies six new susceptibility loci for atrial fibrillation. **Nature Genetics**. v. 44, n. 6, p. 670–5, 2012.

GRACE, A.A.; NARAYAN, S.M. Common threads in atrial fibrillation and heart failure. **Heart Failure Clinical [Internet]**. Elsevier Inc; v. 9, n. 4, p. 373–83, 2013.

GONG, M.; CHEUNG, A.; WANG, Q., et al. Galectin-3 and risk of atrial fibrillation: A systematic review and meta-analysis. **J of Clinical Laboratory Analysis**. v, 34, 2020.

GUPTA, R.; TOUFAILY, C.; ANNABI, B. Caveolin and cavin family members: Dualroles in cancer. **Biochimie**. v. 107B, p.188-202, 2014.

GUTIERREZ C.; BLANCHARD D.G. Diagnosis and treatment of Atrial Fibrillation. **American Family Physician**. v. 94, n. 6, 2016.

FASHANU, O.E.; NORBY, F.L.; AGUILAR, D., et al. Galectin-3 and incidence of atrial fibrillation: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. **American Heart Journal**. v.192, p.19-25, 2017.

FIALA, G.J.; MINGUET, S. Caveolin-1: The Unnoticed Player in TCR and BCR Signaling. **Advances in Immunology**. v. 137, p. 83-133, 2018.

FREEMAN, J.V.; SIMON, D.N.; GO, A.S.; et al. Association Between Atrial Fibrillation Symptoms, Quality of Life, and Patient Outcomes Results From the Outcomes Registry for Better Informed Treatment of Atrial Fibrillation (ORBIT-AF). **Circ Cardiovascular Quality and Outcomes**. v.8, p. 393-402, 2015.

FRIDOLFSSON, H.N.; ROTH, D.M.; INSEL, P.A.; PATEL H.H. Regulation of intracellular signaling and function by caveolin. **The FASEB Journal**. v.28, n. 8,p.3823-3831, 2014.

HARADA, M.; NATTEL, S. Implications of Inflammation and Fibrosis in Atrial Fibrillation Pathophysiology. **Cardiac Electrophysiology Clinics**. v. 13, p.25–35,2021.

HAYASHI, K.; TADA, H.; YAMAGISHI, M. The genetics of atrial fibrillation. **Current Opinion Cardiology**. v. 32, n. 1, 2017.

HO, J.E.; YIN X.; LEVY, D., et al. Galectin 3 and incident atrial fibrillation in the community. **American Heart Journal**. v. 167, p. 729–734, 2014.

HU, Y.; YÉLÉHÉ-OKOUMA, M.; HK, E.A.; JOUZEAU, J.Y.; REBOUL, P. Galectin-3: A key player in arthritis. **Joint Bone Spine**. v.84, p.15-20, 2017.

HOU, S.; LU, Y.; HUANG, D.; WANG, Z.; LUO, X.; ZHANG, J., et al. Amiodarone treatment Investigation on the correlation between the drug gene polymorphism. **Cardiology Plus**. v. 1, n. 3, p.15–22, 2016.

JIA, W.; QI, X.; LI, Q. Association Between Rs3807989 Polymorphism in Caveolin-1 (CAV1) Gene and Atrial Fibrillation: A Meta-Analysis. **Medical Science Monitor**. v. 22, p. 3961–6, 2016.

JIANG, Y.Q.; SUN, Q.; TU, H.Y., et al. Characteristics of HCN channels and their participation in neuropathic pain. **Neurochemical Research**. v.33, n.10, p.1979-89, 2008.

KALSTAD, A.A.; MYHRE, P.L.; LAAKE, K.; TRINE, B.; TVEIT, O.A.; HARALD, S.S.A.; et al. Biomarkers of ageing and cardiac remodeling are associated with atrial fibrillation, **Scandinavian Cardiovascular Journal**. v. 55, n. 4, p. 213-219, 2021.

KANG, Q.; LI, X.; YANGA, M.; FERNANDO, T.; WAN Z. Galectin-3 in patients with coronary heart disease and atrial fibrillation. **Clinica Chimica Acta**. v.478, p.166– 170, 2018.

KAO, Y.H.; CHEN, Y.C.; CHUNG, C.C., et al. Heart failure and angiotensin II modulate atrial Pitx2c promoter methylation. **Clinical and Experimental Pharmacology Physiology**. v. 40, n. 6, p. 379–84, 2013.

KAUR, T.K.; THAKUR, J.; SINGH, S.S.; KAUR, M.K. Identification of functional SNPs in human LGALS3 gene by in silico analyses. **Egypt Journal of Medicine Human Genetics**. v. 18, n. 4, p. 321–328, 2018.

KILIÇGEDİK, E.F.E.; GÜRBÜZ, A.S.; ACAR, E.; YILMAZ, M.F.; YILMAZ, F.; YAMAN, A.; KAHVECI, G.; İZGİ, İ.A.; KIRMA, C. Galectin-3 in Middle-Aged Patients with First Episode of Non-valvular Atrial Fibrillation: a Speckle-tracking Study. **Koşuyolu Heart Journal**. v.20, n.3, p. 224-229, 2017.

KOTTKAMP, H. Human atrial fibrillation substrate: towards a specific fibrotic atrial cardiomyopathy. **European Heart Journal**. v. 34, n. 35, p. 2731–8, 2013.

KRIJTHE, B.P.; KUNST, A.; BENJAMIN, E.J.; et al. Projections on the number of individuals with atrial fibrillation in the European Union, from 2000 to 2060. **European Heart Journal**. v. 34, p. 2746–51, 2013.

LACALZADA-ALMEIDA, J.; GARCÍA-NIEBLA, J. How to detect atrial fibrosis. **Journal of Geriatric Cardiology**. v.14, p.185-194, 2017.

LALA, R.I.; PUSCHITA, M.; DARABANTIU, D.P.L. Galectin-3 in heart failure pathology- “another brick in the wall”? **Acta Cardiology**. v. 70, n. 3, p. 323–31, 2015.

LAU, D.H.; LINZ, D.; SANDERS, P. New Findings in Atrial Fibrillation Mechanisms. **Card. Electrophysiol Clin**. v. 11, p. 563-571, 2019.

LAU, D.H.; NATTEL, S.; KALMAN, J.M.; SANDERS P. Modifiable risk factors and atrial fibrillation. **Circulation**, v.136, n.6, p.583–596, 2017.

LEUNG, M.; ABOU, R.; VAN ROSENDAEL P.J., et al. Relation of Echocardiographic Markers of Left Atrial Fibrosis to Atrial Fibrillation Burden. **American Journal of Cardiology**. v. 15, n. 122, p. 584-591, 2018.

LI, S.; ZHANG, C.; LIU, N.; BAI, H.; HOU, C.; PU, J. Clinical implications of sarcomere and nonsarcomere gene variants in patients with left ventricular noncompaction cardiomyopathy. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**. v. 7, p.874, 2019.

LI, X.H.; HU, Y.M.; LI, G.; WU, P. Correlation between HCN4 gene polymorphisms and lone atrial fibrillation risk. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**. v.47, n.1, p. 2989–2993, 2019.

LI N.; CSEPE, T.A.; HANSEN, B.J., et al. Molecular mapping of sinoatrial node HCN channel expression in the human heart. **Circulation Arrhythmia Electrophysiology**. v. 8, p. 1219–1227, 2015.

LI, L.; SHEN, C.; YAO, Z.; LIANG, J.; HUANG, C. Genetic Variants of Potassium Voltage-Gated Channel Genes (*KCNQ1* , *KCNH2* , and *KCNE*)) Affected the Risk of Atrial Fibrillation in Elderly Patients. **Genetic Testing Molecular Biomarkers** [Internet]. v. 19, n. 7, p. 359–65, 2015.

LIN, H.; MUELLER-NURASYID, M.; SMITH, A.V.; BARNARD, J.A.; BARTZ, T.M.; et al. Gene-gene Interaction Analyses for Atrial Fibrillation. **Science Reports**. v. 6, p.1–9, 2016.

LIPPI, G.; CERVELLIN, G.; SANCHIS-GOMAR, F. Galectin-3 in atrial fibrillation: Simple bystander, player or both? **Clinical Biochemistry**. v. 48, p. 818–822, 2015.

LIU, Y.; NI, B.; LIN, Y.; CHEN, X.G.; CHEN, M.; HU, Z.; et al. The rs3807989 G/A Polymorphism in CAV1 is associated with the risk of atrial fibrillation in Chinese Han populations. **PACE - Pacing Clinical Electrophysiology**. v. 38, n. 2, p. 164–170, 2015.

LONGOBARDO, L.; TODARO M.C.; ZITO, C.; PICCIONE, M.C. BELLA, G.D.; ORETO, L.; KHANDHERIA, B.K.; CARERJ, S. Role of imaging in assessment of atrial fibrosis in patients with atrial fibrillation: state-of-the-art review. **European Heart Journal – Cardiovascular Imaging**. v.15, p. 1–5, 2014.

LUO, Z.; YAN, C.; ZHANG, W.; SHEN, X.; ZHENG, W.; CHEN, F. Association between SNP rs13376333 and rs1131820 in the KCNN3 gene and atrial fibrillation in the Chinese Han population. **Clinical Chemistry Laboratory Medicine**. v. 52, n. 12, p. 1867–73, 2014.

MAGALHÃES, L.P.; FIGUEIREDO, M.J.O.; CINTRA, F.D.; S AAD, E.B.; et al. II Diretriz Brasileira de Fibrilação Atrial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 106, n. 4, 2016.

MAHIDA, S.; MILLS, R.W.; TUCKER, N.R.; SIMONSON, B.; MACRI, V.; LEMOINE, M.D., et al. Overexpression of KCNN3 results in sudden cardiac death. **European Society of Cardiology**. v. 101, p. 326–34, 2014.

MANCUSO, F.J.N. Ecocardiografia Tridimensional e Análise do Strain Miocárdico: Prontos para Uso na Prática Clínica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.113,n.5, p.946-947, 2019.

MARROUCHE, N.F., et al. Association of Atrial Tissue Fibrosis Identified by Delayed Enhancement MRI and Atrial Fibrillation Catheter Ablation. The DECAAF Study. **JAMA**. v. 311, n. 5, p. 498-506, 2014.

MARTIN, R.I.R.; BABAEI, M.S.; CHOY, M.K., et al. Genetic variants associated with risk of atrial fibrillation regulate expression of PITX2, CAV1, MYOZ1, C9orf3 and FANCC. **Journal of Molecular Cell Cardiology**. v.85, p.207–214, 2015.

MEDEIROS, M.A.; PEDROSA, R.P.; DEL CASTILLO, J.M. Função Atrial Esquerda pelo Método de Speckle Tracking: Além da Avaliação Volumétrica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia: Imagem cardiovascular**. v.32, n.1, p.34-42, 2019.

MENDONÇA-BELMONT, T.F.; DO Ó, K.P.; SILVA, A.S.; VILAR, K.V.M.; SILVA, F.M.; VASCONCELOS, L.R.S., et al. Single Nucleotide Polymorphisms at +191 and +292 of Galectin-3 Gene (LGALS3) Related to Lower GAL-3 Serum Levels Are Associated with Frequent Respiratory Tract Infection and Vaso-Occlusive Crisis in Children with Sickle Cell Anemia. **PLoS ONE**. v. 11, n. 9, p. 1-13, 2016.

NAKANO, Y.; OCHI, H.; SAIRAKU, A.; ONOHARA, Y.; TOKUYAMA, T.; MOTODA, C.; et al. *HCN4* Gene Polymorphisms Are Associated With Occurrence of Tachycardia-Induced Cardiomyopathy in Patients With Atrial Fibrillation. **Circulation Genomic and Precision Medicine**. v. 11, p.1-7, 2018.

NIELSEN, A.B.; SKAARUP, K.G.; LASSEN, M.C.H., et al. Usefulness of left atrial speckle tracking echocardiography in predicting recurrence of atrial fibrillation after radiofrequency ablation: a systematic review and meta-analysis. **The International Journal of Cardiovascular Imaging**. 2020.

NJOKU, A.; KANNABHIRAN, M.; ARORA, R.; et al. Left atrial volume predicts atrial fibrillation recurrence after radiofrequency ablation: a meta-analysis. **Europace**. v.20, n.1, p.33–42, 2018.

OGATA, T.; MATSUO, R.; KIYUNA, F.; et al. Left atrial size and long-term risk of recurrent stroke after acute ischemic stroke in patients with nonvalvular atrial fibrillation. **Journal of American Heart Association**. v.6, n.8, 2017.

OLIVEIRA, F.L.; GATTO, M.; BASSI, N.; LUISETTO, R.; GHIRARDELLO, A.; PUNZI, L.; DORIA, A. Galectin-3 in autoimmunity and autoimmune diseases. **Experimental Biology and Medicine**. v. 240, p.1019-1028, 2015.

OLTEAN-PÉTER, B.; KORODI, S.; BENEDEK, J.R.I.; LÁZÁR, E.; KÉRI, J.; PAKUCS, A.; KOVÁCS, I.; BORDI, L.; et al. Imaging-derived Biomarkers Associated with Atrial FIBROSis, Structural Remodeling and the Risk of Cardioembolic Events in Patients with Atrial Fibrillation — the FIBROS Study. **Journal of Interdisciplinary Medicine**. v. 2, n.4, p: 31-35, 2017.

ORTEGA, A.; TARAZON, E.; ROSELLO-LLETI, E., et al. Patients with dilated cardiomyopathy and sustained monomorphic ventricular tachycardia show up-regulation of KCNN3 and KCNJ2 genes and CACNG8-linked left ventricular dysfunction. **PLoS One**. v. 10, n. 12, p. 1–11, 2015.

PALUDAN-MÜLLER, C.; SVENDSEN, J.H.; OLESEN, M.S. The role of common genetic variants in atrial fibrillation. **Journal of. Electrocardiology**. v. 49, p. 864–870, 2016.

PATHAN F.; D'ELIA, N.; NOLAN, M.T.; MARWICK, T.H.; NEGISHI, K. Normal ranges of left atrial strain by Speckle-Tracking echocardiography: a systematic review and meta-analysis. **Journal of American Society Echocardiography**. v.30, n.1, p.59-70, 2017.

PILICHOWSKA-PASZKIET, E.; BARAN, J.; SYGITOWICZ, G.; et al. Noninvasive assessment of left atrial fibrosis. Correlation between echocardiography, biomarkers, and electroanatomical mapping. **Echocardiography**. v.0, p.1–9, 2018.

PLATONOV, P.G.; MITROFANOVA, L.B.; ORSHANSKAYA, V.; HO, S.Y. Structural abnormalities in atrial walls are associated with presence and persistency of atrial fibrillation but not with age. **Journal of American College Cardiology**. v. 58, n. 21, p. 2225–32, 2011.

ROBERTS, J.D.; YANG, J.; GLADSTONE, R.A.; LONGORIA, J.; WHITMAN, I.R.; DEWLAND, T.A.; et al. Atrial Fibrillation Associated Genetic Variants and Left Atrial Histology: Evaluation for Molecular Sub-Phenotypes. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**. v. 27, n.11, p.1264–70, 2016.

SACCON, F.; GATTO, M.; GHIRARDELLO, A.; IACCARINO, L.; PUNZI, L.; DORIA, A: Role of galectin-3 in autoimmune and non-autoimmune nephropathies. **Autoimmunity Reviews**. v. 16, p. 34-47, 2017.

SCIACCHITANO, S. Galectin-3: One Molecule for an Alphabet of Diseases, from A to Z. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 19, n. 2, p. E379, 2018.

SEHRAWAT, S.; KAUR, M. Galectin-3 as a modifier of anti-microbial immunity: Unraveling the unknowns. *Glycobiology*. v. 30, nº 7, p. 418-426, 2020.

SIEBERMAIR, J.; KHOLMOVSKI, E.G.; MARROUCHE, N. Assessment of left atrial fibrosis by late gadolinium enhancement magnetic resonance imaging: methodology and clinical implications. **JACC Clinical Electrophysiology**. v.3, n.8, p. 791-802, 2017.

SILVEIRA, M.M.B.M.; CABRAL, J.V.B.; SOUZA, B.M., et al. How can Galectina-3 as a Biomarker of fibrosis improve atrial fibrillation diagnosis and prognosis? **Journal of Clinical Medicine Research**. v.12, n10, p.647-654, 2020.

SLACK, R.J.; MILLS, R.; MACKINNON, A.C. The therapeutic potential of galectin-3 inhibition in fibrotic disease. *The Int J of Bioch & Cell Biol*. v. 130, p. 1-12, 2021.

SOARES, L.C.; AL-DALAHMAH, O.; HILLIS, J.; YOUNG, C.C.; ASBED, I.; SAKAGUCHI, M., et al. Novel galectin-3 roles in neurogenesis, inflammation and neurological diseases. **Cells**. v. 10, n. 3047, p. 1-24, 2021.

STANOJEVIC D.; APOSTOLOVIC, S.; STOKANOVIC, D., et al. Galectin-3 in acute myocardial infarction patients with atrial fibrillation. **Medical Principles Practice**. v.28, n.3, p.284-290, 2019.

SUTHAHAR, N.; WOUTER, C.; HERMAN, H.W.; et al. Galectin-3 Activation and Inhibition in Heart Failure and Cardiovascular Disease: An Update. **Theranostics**. v.8, n.3, p. 593-609, 2018

TARONE, G.; BALLIGAND, J.L.; BAUERSACHS, J., et al. Targeting myocardial remodelling to develop novel therapies for heart failure: a position paper from the Working Group on Myocardial Function of the European Society of Cardiology. **European Journal of Heart Failure**. v. 16, p. 494–508, 2014.

ULUS, T.; DURAL, M.; MESE, P.; YETMIS, F.; MERT, K.U.; GÖRENEK, B.; et al. Genetic variants associated with atrial fibrillation and long-term recurrence after catheter ablation for atrial fibrillation in Turkish patients. **The Anatolian Journal of Cardiology**. v.25, p. 129-38, 2021.

VAN OUWERKERK, A.F.; BOSADA, F.; LIU, J.; ZHANG, J.; VAN DUIJVENBODEN, K.; CHA_N, M.; TUCKER, N.; et al. Identification of Functional Variant Enhancers Associated with Atrial Fibrillation. **Circulation Research**. v. 3; n 127: p. 229-243, 2020.

VERKERK, A.O.; WILDERS, R. Pacemaker activity of the human sinoatrial node: an update on the effects of mutations in HCN4 on the hyperpolarization- activated current. **International Journal of Molecular Sciences**. 2015;v.16, p.3071–3094, 2015.

WAGONER, D.R.; VAN PICCINI, J.P.; ALBERT, C.M.; ANDERSON, M.E.; BENJAMIN, E.J. Progress toward the prevention and treatment of atrial fibrillation: A summary of the Heart Rhythm Society Research Forum on the Treatment and Prevention of Atrial Fibrillation. **Heart Rhythm**. v. 67, n. 3, p. 223–30, 2015.

WAŁEK, P.; GRABOWSKA, U.; CIESLA, E.; SIELSKI, J.; ROSKAL-WAŁEK, J.; WOZAKOWSKA-KAPŁON, B. Analysis of the Correlation of Galectin-3 Concentration with the Measurements of Echocardiographic Parameters Assessing Left Atrial Remodeling and Function in Patients with Persistent Atrial Fibrillation. **Biomolecules**. v. 11, p.1108, 2021.

WIJESURENDRA, R.S.; CASADEI, B. Mechanisms of atrial fibrillation. **Heart**. v. 0, p.1-8, 2019.

WU, X.Y.; LI, S.N.; WEN, S.N., et al. Plasma galectin-3 predicts clinical outcomes after catheter ablation in persistent atrial fibrillation patients without structural heartdisease. **Europace**, v.17, n.10, p.1541-1547, 2015.

XINTARAKOU, A.; TZEIS, S.; PARRAS, S.; ASVESTAS, D.; VARDAS, P. Atrial fibrosis as a dominant factor for the development of atrial fibrillation: facts and gaps. **Europace**. v. 22, p.242-351, 2020.

YAO, J.; ZHOU, Y.; YANG, X.; QIAN, X.; JIANG, W. KCNN3 SNP rs13376333 on Chromosome 1q21 Confers Increased Risk of Atrial Fibrillation. **International Heart Journal**. 2015;v. 56, n. 5, p. 511–5, 2015.

YI, S.L.; LIU, X.J.; ZHONG, J.Q.; ZHANG, Y. Role of caveolin-1 in atrial fibrillation asan anti-fibrotic signaling molecule in human atrial fibroblasts. **PLoS One**. v.9, n.1, 2014.

ZHANG, Y.; WANG, M.; ZHAI, T., et al. Influence of LGALS3 gene polymorphisms on susceptibility and prognosis of dilated cardiomyopathy in a Northern Han Chinese population. **Gene**. v. 642, n. 5, p. 293–298, 2018.

ZHAO X.; GU, T. Dysfunctional Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-gated Ion Channels in Cardiac Diseases. **Brazilian Journal of Cardiovasc Surgery**. v.31, n.2, p.203-206, 2016.