



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA

“ IGNACIO CHAVEZ ”

Análisis y correlación de la expresión del RNA mensajero del gen de fibrilina 1 y el diámetro aórtico en una cohorte de pacientes con Síndrome de Marfan operados de aneurisma y/o disección aórtica.

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

CIRUGÍA CARDIOTORÁCICA

PRESENTA:
DRA. MYRLENE RODRÍGUEZ BRITO

DIRECTOR DE TESIS:
DRA. MARIA ELENA SOTO



CIUDAD UNIVERITARIA, CD. MX. JULIO DE 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Análisis y correlación de la expresión del RNA mensajero del gen de fibrilina 1 y el diámetro aórtico en una cohorte de pacientes con Síndrome de Marfan operados de aneurisma y/o disección aórtica.

Contenido

Antecedentes	4
Justificación y Problema	13
Planteamiento del problema	15
Hipótesis	16
Metodología	
Diseño	16
Lugar de realización	16
Universo de estudio	16
Criterios de Inclusión	17
Criterios de Exclusión	17
Muestra	18
Variables	18
Determinación de mRNA1, TGFBR-1 y TGBR-2	20
Plan de análisis	21
Ética	21
Resultados	22
Discusión	50
Conclusiones	58
Referencias	59

Antecedentes

Mutaciones en el gen de Fibrilina 1 (FBN1), que codifica para la proteína de fibrilina-1 causan el síndrome de Marfan (SM; OMIM #154700), sin embargo también se han relacionado como causa en otros padecimientos del tejido conectivo conocidos como fibrilopatías. [1, 2].

Los diversos fenotipos encontrados en el SM son causados por distintas mutaciones en el gen de FBN1, por lo cual la expresión clínica es muy variada y va desde aquellas que se han considerado como “leves” hasta aquellas que se consideran severas como el síndrome de Marfan neonatal [3, 4]. En general, estos son padecimientos autosómico dominantes con expresión clínica variable [5]. Las principales manifestaciones clínicas expresadas se encuentran en el sistema cardiovascular donde predomina la presencia de aneurismas y disección de la aorta. También la luxación de cristalino y manifestaciones musculo esqueléticas predominan en la gama de manifestaciones clínicas [6]. El gen de FBN1 (NM 000138.4) contiene 65 exones que codifican para la profibrilina 1 que es el principal componente de las microfibrillas de 10 a 12 nm localizadas en la matriz extracelular del tejido conectivo [7]. El gen de FBN1 se conforma como se muestra en figura 1 y los genes del receptor del factor de crecimiento transformante beta 1 (TGFB1) y 2 (TGFB2) se muestran en las figuras 3 y 4.

Figura 1.

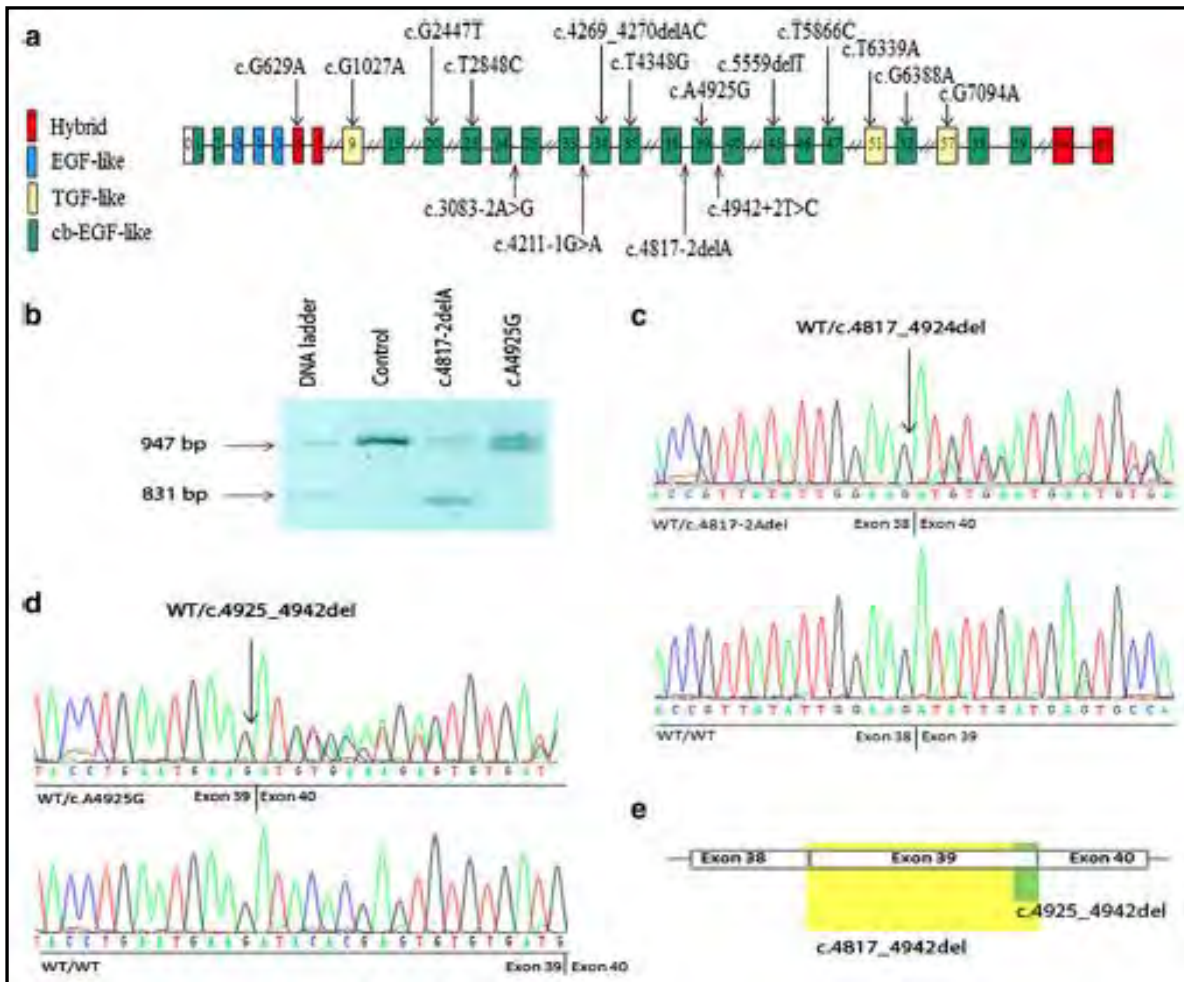


Figura 1. Localización de las mutaciones en FBN1 y resultado del análisis cualitativo. (a) presentación esquemática de FBN1 con la localización de las 16 mutaciones investigadas en este estudio. (b) Analisis de fragmentos de cDNA contenidos en FBN en los axones 36-44 del paciente con c4817-2delA (línea 3). cA4925G (línea 4), y control (línea 2). El marcador del tamaño del fragmento esta en la línea 1. Línea 3 y 4 muestra los fragmentos correspondientes al normal (955bp) y fragmentos truncados de cDNA de 829bp y 937 bp de pacientes con c 4817-2delA y c A4925G, respectivamente. (c) Fragmentos de la secuencia de cDNA del FBN1 en pacientes 4817 + 2 T>C. (d) Fragmento de secuencia de cDNA del FBNq en pacientes con A4925G. (e) Giro aberrante resultado de las mutaciones, c4817-2 delA y cA4925G dando como resultado 2 distinciones en la delección (marco) afectando el exón 39 (presentación esquemática). La omisión del exón 39 o falta del

mismo (amarillo), se confirmó en pacientes con el sitio de empalme de la variante en c.4817-2delA, donde la delección de c.4925-4942 (verde) fue identificado en pacientes con la variante c.A4925G, el cual también introduce un sitio de empalme críptico.

Esta proteína comprende 47 dominios parecidos al factor de crecimiento epidérmico [epidermal growth factor-like (EGF)], unidos a 7 dominios parecidos al factor de crecimiento transformante Beta [transforming growth factor β (TGF- β)] y una proteína rica en prolina [8]. 43 de los 47 dominios del EGF están unidos al calcio (cbEGF), de los cuales cada uno es caracterizado por seis residuos de cisteína, normalmente forman tres uniones disulfuro y una secuencia de consenso de unión a calcio las cuales están involucradas en la estabilización de la estructura de la proteína [9]. En la actualidad se han reportado ya 1847 mutaciones diferentes y se han identificado 1096 variantes de proteínas en el gen de FBN1 de pacientes con SM y en el gran espectro o gama de padecimientos parecidos al SM. La frecuencia de mutaciones sin sentido en el gen de FBN1 es de 55% y afectan típicamente cisteínas altamente conservadas de los dominios cbEGF [10]. Por lo tanto se considera que estas mutaciones pueden estar asociadas con el aumento de la degradación proteolítica de FBN1 [11-13].

Las mutaciones en FBN-1, son mutaciones de cambio o sin sentido que conducen a los codones de terminación prematuros (PTC) [14,15] y potencialmente generan variantes de FBN-1 truncadas que pueden estar montadas en las microfibrillas extracelulares. Las transcripciones truncadas son generalmente degradadas por el mecanismo de decadencia mediada por mutaciones sin sentido del mRNA. Por lo que la pérdida de integridad de las fibras elásticas condiciona debilidad en la pared del vaso y la disminución de resistencia al estrés mecánico [16].

Además, se presenta una remarcada reducción de la contracción aórtica dando como resultado posibles mecanismos candidatos para participar en el desarrollo y

expansión de los aneurismas aórticos en el SM, lo cual podría contribuir al deterioro de las propiedades mecánicas y de la integridad estructural de la pared aórtica. En modelos animales se ha observado que hay disregulación del RNAm de metaloproteinasas 2 y 9 durante la progresión del desarrollo de aneurismas. Aunque el problema en la formación de aneurismas pareciera ser el genético como factor gatillo, hay además otros factores que pueden verse involucrados como el estrés mecánico y mecanismos inflamatorios (figura 2) [17].

Figura 2.

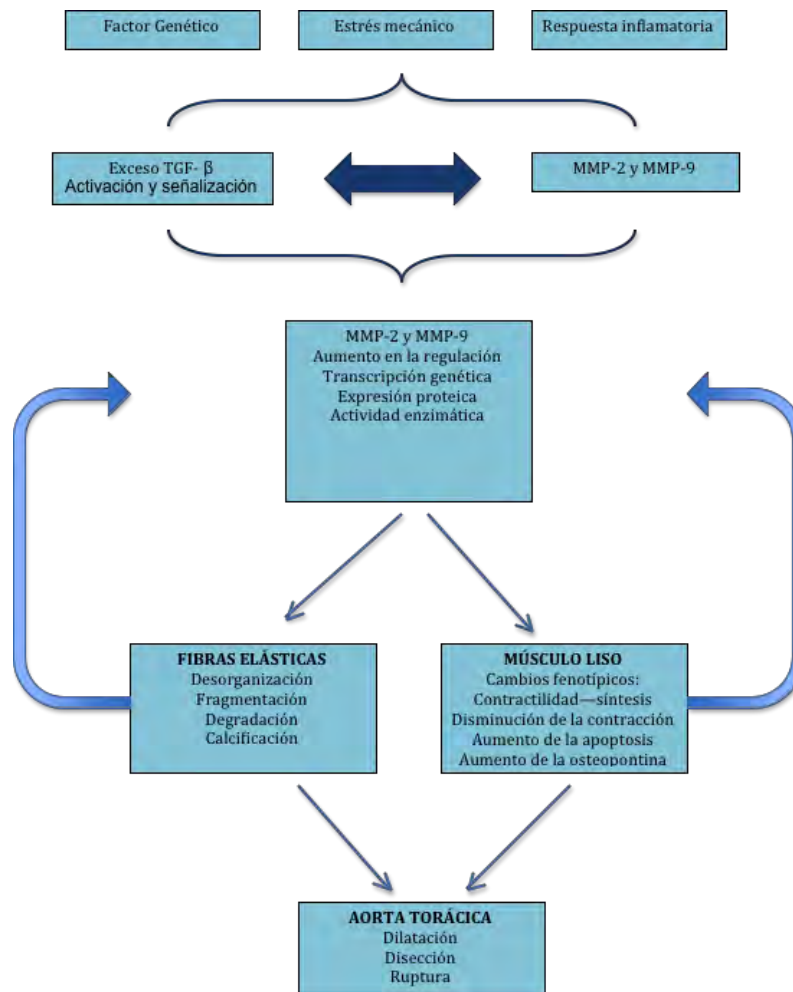
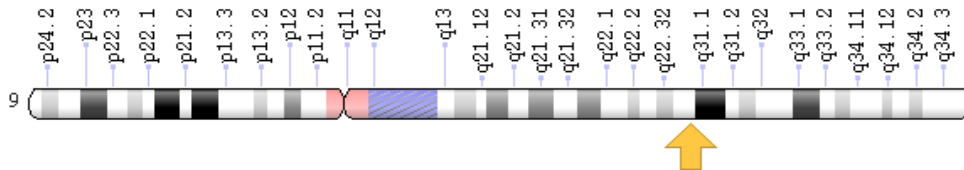


Figura 3 y 4.

TGFBR1

Cytogenetic Location: 9q22, which is the long (q) arm of chromosome 9 at position 22.

Molecular location: base pairs 99,104,038 to 99,154,192 on chromosome 9 (Homo sapiens Annotation Release 107, GRCh38.p2)



TGFBR 2

Cytogenetic Location: 3p22, which is the short (p) arm of chromosome 3 at position 22.

Molecular location: base pairs 30,606,490 a 30,694, 142 on chromosome (Homo sapiens Annotation Release 108, GRCh38.p7).

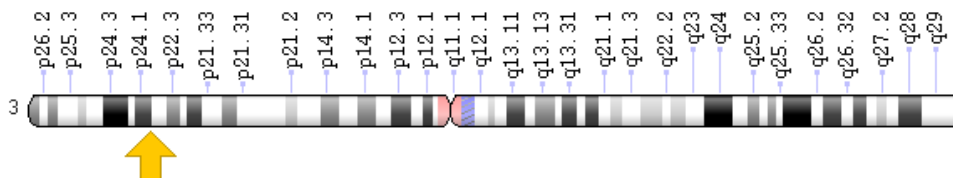


Figura 3 y 4. El gen del receptor del factor de crecimiento transformante beta 1 y beta 2 provee instrucciones para la elaboración de una proteína tipo receptor llamada TGF-B. Este receptor transmite señales de la superficie celular hacia dentro de la misma a través de un proceso llamado transducción. A través de este tipo de señalización, el ambiente fuera de la célula afecta las actividades dentro de la célula como el estímulo de crecimiento celular y la división. Para realizar la función de señalización este receptor elabora un puente a través de la membrana, así que la proteína se proyecta de la superficie externa de la célula (dominio extracelular) y otro se mantiene dentro de la célula (dominio intracelular). Una proteína llamada TGF-B se une al dominio extracelular del receptor TGFB 1 y 2, respectivamente, el cual es activado con esta unión y permite su unión a receptores similares en la superficie celular. Estas tres proteínas forman un complejo, el cual inicia

la señal de transducción con la activación de otras proteínas en la vía de señalización. Es así como esta señal activa diversas respuestas celulares incluyendo el crecimiento y división de células, la maduración de células para realizar funciones específicas (diferenciación), movimiento celular (motilidad), y control de la muerte celular (apoptosis). Debido a que el receptor de TGFB1 controla el crecimiento y división acelerada de la célula o de una forma descontrolada, es tan importante en la supresión de la formación de tumores.

La disección aórtica es una complicación catastrófica dentro de las enfermedades de la aorta. La incidencia anual de aneurismas en la población general se ha calculado en 6/100,000 [18]. Se conoce actualmente que el riesgo de ruptura incrementa a medida que el diámetro progresa y esto se relaciona con el pronóstico (figura 5) [23]. En el síndrome de Marfan el riesgo de aneurismas está incrementado y la dilatación aórtica observada es de más de un 50% de lo que sería el diámetro normal, se ha demostrado que tienen degeneración de la capa media, en donde hay pérdida de la fibra elástica de la capa intermedia, de células musculares lisas y depósitos de proteoglicano (figuras 6, 7 y 8).

El aumento de la actividad de las metaloproteinasas 2 y 9 dentro del TGF, la cual es una citocina reguladora que es expresada en la pared vascular de las células musculares lisas y que modula la actividad de metaloproteinasas. Todo esto ha sido probado a través de modelos animales de Marfan en donde una vez que se realizó una interrupción de la señalización del TGF-B se impidió la formación de aneurismas [19].

Figura 5.

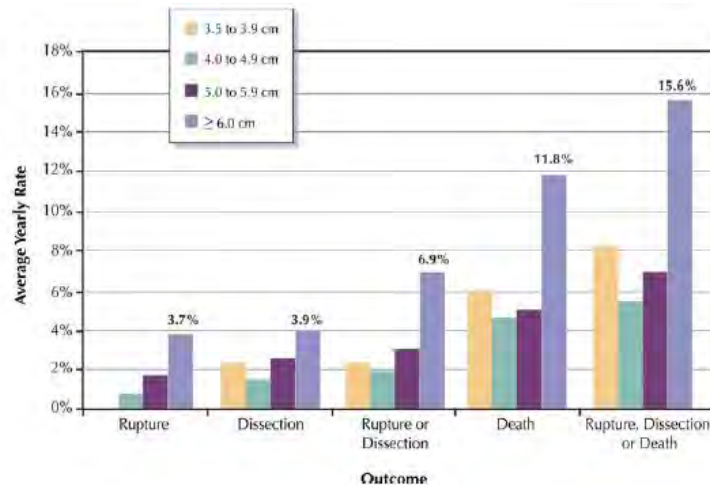


Figura 5. Se observa una predisposición a la ruptura, disección, o muerte una vez que se alcanza un diámetro de 6 cm o más dentro de los años consecutivos. Los datos sugieren que los aneurismas de aorta ascendente necesitan corrección quirúrgica cuando alcanzan diámetros de 5.5 cm para prevenir consecuencias fatales.

Figura 6, 7 y 8.

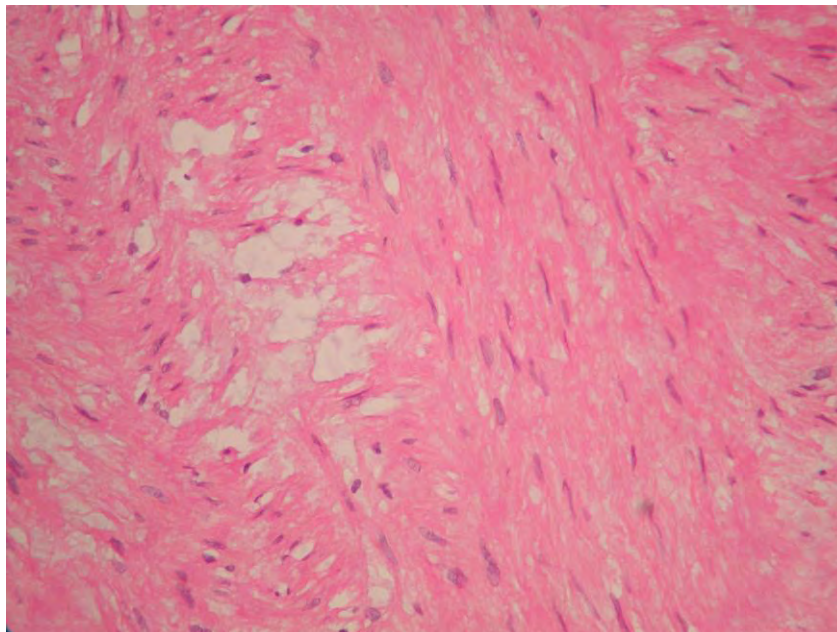


Figura 6. Hombre de 28 años de edad con Idx. De aneurisma gigante de la Aorta ascendente y que muestra ruptura de fibras elásticas en adventicia con poco infiltrado inflamatorio. Tinción PAS-SHIF.

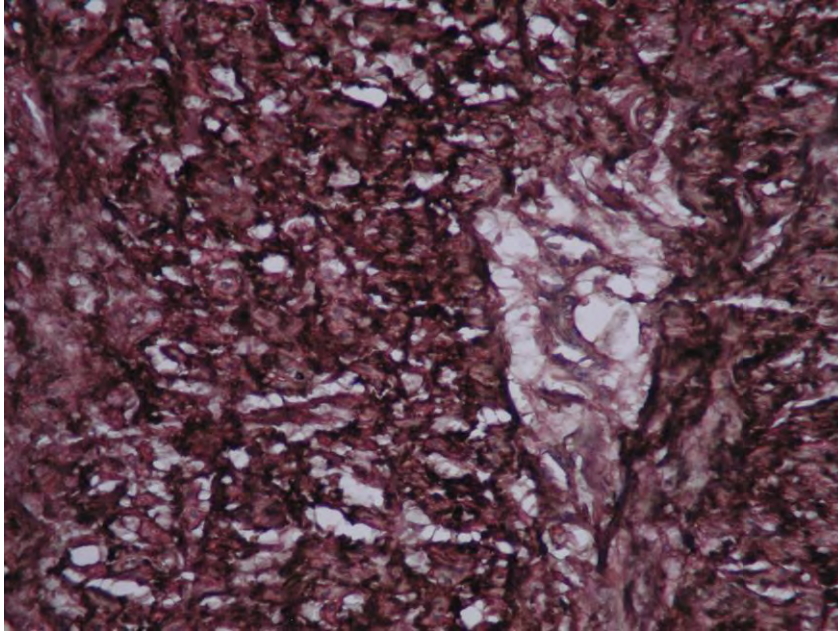


Figura 7. Mujer de 36 años de edad con Idx. Disección aortica Stanford A que se extiende a troncos supraaorticos que muestra la pérdida de continuidad de fibras elásticas y necrosis quística de la media. Datos de cicatrización de la media vascular con disección de la pared y trombosis focal. Tinción de Hierro.

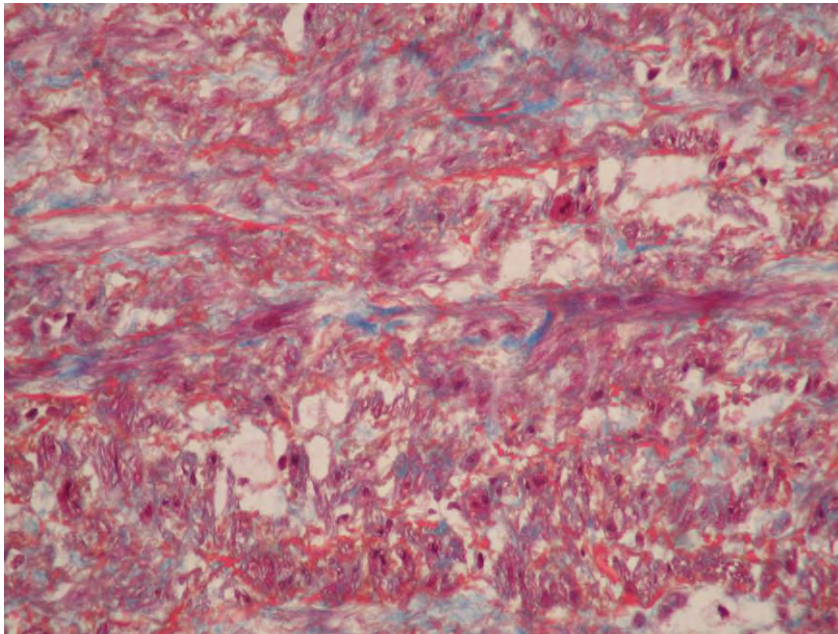


Figura 8. Hombre de 33 años de edad con Idx. De Disección aórtica DeBakey II en el cual el estudio histopatológico mostró destrucción de fibras elasticas con necrosis quística de la media en tinción de Masson. datos de cicatrización de la media vascular con disección de la pared.

La transcripción anormal de FBN1 ha sido observada en los fibroblastos de pacientes con la mutación sin sentido del sitio de empalme de 2delA c.4817 y el c.A4925G mientras que la media de expresión del RNAm de FBN1 en fibroblastos de pacientes con mutaciones en el sitio de empalme se encontró una media de expresión más baja en los pacientes que tenían mutaciones sin sentido que la media de los controles. Sin diferencia en las medias del mRNA entre todo el grupo y los controles sin embargo la media de expresión asociados con una terminación del codón prematura y mutaciones en el sitio de empalme fueron significativamente mas bajas en los pacientes. De acuerdo a otros estudios en modelos animales se ha observado que hay disregulación del RNAm de metaloproteinasas 2 y 9 durante la progresión del desarrollo de aneurismas y en un estudio de fibroblastos de una familia de 4 personas, la media encontrada del mRNA interindividual sugirió que la expresión normal de la transcripción del FBN1 podría también contribuir a explicar la gran variabilidad en el nivel de mRNA de FBN1 y la expresión clínica.[20].

El objetivo de este trabajo fue investigar los efectos cuantitativos de la expresión del RNA mensajero (RNAm) de los genes de FBN1, TGFBR1, y TGFBR2 en el tejido aórtico de pacientes con el SM en comparación con el tejido aórtico de sujetos sin trastorno del tejido conectivo conocido.

Justificación y problema

Magnitud

La prevalencia a nivel mundial de los aneurismas aórticos en el síndrome de Marfan es de 15%. Es conocido que la mortalidad se incrementa cuando hay disección aórtica que requiere de intervención quirúrgica de urgencia, lo cual generalmente ocurre porque el paciente desconocía su diagnóstico. En SM el progreso de la dilatación se ha calculado a 1mm por año, sin embargo no es exactamente una regla ya que en algunos esta dilatación es rápidamente progresiva y ocurre en edades muy tempranas. La reparación quirúrgica de la raíz aórtica o aorta ascendente es eventualmente necesaria en casi todos los pacientes con SM, después de la reparación inicial, es posible que se requiera otra cirugía en el mismo o diferente sitio en la mitad de los pacientes y la reoperación es más frecuente después de que ocurrió una operación de emergencia inicial que cuando inicialmente los procedimientos fueron electivos. La mortalidad cuando se realizó una cirugía cardiovascular electiva es de 16%, cuando el paciente llega con disección aórtica es de 46%, en relación a una cirugía de urgencia es de 33%, muerte súbita en 12%, causa cardíaca crónica 10%, enfermedad pulmonar 10% y endocarditis 1% [18].

Trascendencia

En las últimas dos décadas la incidencia de disección aórtica ha sido mejor controlada de manera exponencial a través de un seguimiento oportuno del diámetro aórtico en estos pacientes y se ha asociado con desenlaces favorables. Por lo que la detección oportuna del diagnóstico adecuado permite tener vigilancia estrecha y la intervención que se requiere en cada caso. Los estudios de investigación encaminados a fortalecer el conocimiento de las vías o mecanismos que participan en el daño del tejido aórtico en pacientes con SM podrían ser la clave para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas. Estudio permitirá nos permitirá conocer comportamiento de los (RNA mensajeros) de genes ya definidos como candidatos para el desarrollo y progresión del daño en una población vulnerable que ha desarrollado aneurismas y disección aortica en una edad muy joven.

Vulnerabilidad

En la actualidad, la piedra angular del manejo terapéutico en los aneurismas aórticos en el SM además de la prevención y soporte de manera temprana a través del uso de antagonistas de Receptor de angiotensina I, incluye la cirugía con el procedimiento de David y el de Bentall y DeBono. Sin embargo a pesar de contar con esta terapia quirúrgica implica riesgos y complicaciones que son bien conocidos. La sobrevida a 5 años es de 89%, a 10 años de 81%, a los 15 años de 76% y a 20 años del 67%. El costo anual de un paciente con SM es de 2496 Euros comparado con un control de paciente individual y los costos anuales ascienden a un exceso de 15728 euros.

Planteamiento del Problema

Pregunta de Investigación

- ¿El análisis cuantitativo del RNA mensajero del gen de Fibrilina-1 podrá determinar el tipo de expresión del gen en sujetos con SM que presentan aneurismas aórticos y podrá tener relevancia o implicación en su pronóstico?

Objetivo General

- Investigar cuantitativamente la expresión del RNA mensajero del gen de FBN-1 en sujetos con síndrome de Marfan que presentaron aneurisma o disección aórtica.

Objetivos Específicos

- Investigar el fenotipo del síndrome de acuerdo a los criterios de Ghent en cuanto a sus antecedentes familiares del síndrome, diámetro aórtico, daño ocular, involucro del score sistémico y la combinación de ellos.
- Determinar el tipo de expresión del RNA mensajero de acuerdo a cada fenotipo.
- Evaluar la correlación de la expresión del RNAm, el diámetro aórtico y la edad.
- Evaluar la capacidad pronóstica de la expresión del RNAm en cuanto al daño estructural encontrado en la aorta de estos pacientes sometidos a cirugía.
- Comparar la expresión del RNAm con sujetos sanos aórticos sometidos a cirugía por otra causa y de la cual se haya contado con tejido aórtico.
- Investigar la relación de la expresión del RNAm y pronóstico postquirúrgico (con variables desenlace de Tiempo de estancia hospitalaria, complicaciones, muerte).

Hipótesis

La cuantificación de la expresión del RNAm del gen de FBN1 en sujetos con SM operados por dilatación o disección aortica podrá ser asociada al tamaño del diámetro aórtico.

Metodología

Diseño

Estudio de cohorte, prospectivo observacional y comparativo.

Lugar y duración

Se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez en el periodo de tiempo comprendido entre Marzo del 2014 a Marzo del 2016.

Universo del estudio

Se reclutaron a enfermos mayores de 18 años que fueron candidatos a ser operados de cirugía de aorta mediante los diversos procedimientos y que ingresaron ya sea al departamento de urgencias o de manera electiva.

Unidades de observación – participantes

Criterios de inclusión

1. Sujetos con SM previamente clasificados por un experto Reumatólogo, mediante los criterios de Ghent de acuerdo al último consenso de 2010 realizado en Bruselas.
2. Pacientes presentados en sesión medico quirúrgica previa para cirugía cardiaca con bomba de circulación extracorporea.
3. Edad mayor o igual a los 18 años de edad.
4. Ambos géneros.
5. Hospitalizados en el departamento de terapia intensiva o en hospitalización para los estudios necesarios preoperatorios.
6. Consentimiento Informado.

Criterios de exclusión

1. Enfermos operados sin bomba de circulación extracorpórea.
2. Enfermos con otro tipo de padecimiento similar a Marfan.
3. Enfermos sin tejido suficiente para el estudio.
4. Enfermos que se nieguen a ser incluidos.

Muestra

Se tomará un tamaño de muestra representativa mediante procedimientos estadísticos.

Variables

Variable	Definición	Tipo de Variable	Valor
Edad	Tiempo que ha transcurrido desde el nacimiento hasta el momento actual en años.	Numérica	Años
Género	Características biológicas que distinguen al hombre de la mujer dentro de un género.	Dicotómica	1) Mujer 2) Hombre
Peso	Peso de cada paciente al momento del estudio.	Numérica	Kg
Talla	Estatura de cada paciente al momento del estudio.	Numérica	Metros
IMC	Medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo (Peso/Talla ²) Normal 20 a 25, sobrepeso 25 a 30, obesidad >30.	Numérica	Kg/m ²
Dilatación aórtica	El diámetro reportado de acuerdo a el estudio de tomografía computada o resonancia magnetica	Numérica	%
Tipo de Cirugía	Si se trata de una cirugía de urgencia o programada	Cualitativa Nominal	1) Electiva 2) Urgencia 3) Emergencia
Cirugía Realizada	Procedimiento quirúrgico que se llevó a cabo	Cualitativa Nominal	1) David 2) Reemplazo valvular 3) Bentall y DeBono 4) Otro tipo
Complicaciones	Si se presentó alguna complicación durante el procedimiento quirúrgico	Cualitativa Nominal	1) Lesiones vasculares 2) Lesión de

			otras estructuras
			3) Sangrado
			4) Choque
			5) Infarto
Clase NYHA	Estadio de la NYHA previo a la cirugía.	Cualitativa Ordinal	1) I 2) II 3) III 4) IV
Tiempo de Circulación Extracorpórea.	Minutos de circulación extracorpórea.	Numérica	Minutos
Tiempo de Pinzamiento Aórtico	Minutos de pinzamiento aórtico durante la CC.	Numérica	Minutos
Sangrado	Mililitros de sangrado durante la cirugía.		Mililitros
FEVI	Fracción de expulsión del ventrículo izquierdo previa a la cirugía medida por ecocardiograma o algún otro método	Numérica	%
Lactato arterial a las 6 horas	Lactato arterial a las 6 horas del ingreso a la UTI.	Numérica	Mmol/L
Péptido Natriurético tipo B	Niveles de péptido natriurético tipo B al ingreso a la UTI	Numérica	pg/ml
Sodio al Ingreso	Niveles de sodio al ingreso de la UTI	Numérica	meq/L
Causa de muerte			
Días de estancia en la UTI	Número de días en la unidad de terapia intensiva	Numérica	Días
Días de estancia hospitalaria	Número de días de estancia en el hospital incluyendo los días de UTI	Numérica	Días
mRNA FBN-1	Determinación	Numérica	
mRNA TGFBR-1	Determinación	Numérica	
mRNA TGFBR-2	Determinación	Numérica	
Defunción	Si el enfermo falleció o no durante su estancia en la UTI	Dicotómica	1) Si 2) No

Determinación de mRNA FBN1, TGFBR-1 y TGFBR-2

Las aortas tomadas de los pacientes se colocaron en recipientes estériles con un reactivo que estabiliza y protege el patrón de expresión de RNAm de las muestras durante el procesamiento y el almacenamiento (RNAlater de Qiagen) y se almacenaron a -80°C durante 5 semanas.

Posteriormente el tejido fue homogenizado, y el RNA total se extrajo utilizando el reactivo Tripure™ (Roche Molecular Biochemicals) y posteriormente se realizó una retrotranscripción con 1µg de RNA total para la síntesis de cDNA siguiendo el protocolo del kit “HighCapacity cDNA Reverse Transcription” (Applied Biosystems), el cDNA se guardó a -20°C.

La expresión génica FBN1 humana (Hs00171191_m1), TGBR1 humano (Hs00610320_m1), TGBR2 humano (Hs00234253_m1) y 18srRNA (eukaryotic endogenous control 4319413E) (gen endógeno) se cuantificaron usando un ensayo comercial “TaqMan Gene Expression” en el equipo 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems). Las condiciones de ciclaje fueron 2min a 50°C y 10min a 95°C seguidos por 40 ciclos de 15s a 95°C y 1min a 60°C. Los niveles de expresión se determinaron por duplicado y se normalizaron por el gen endógeno.

Se evaluaron las muestras de sangre de las primeras 3 horas de estancia en la unidad de terapia intensiva. Se solicitará Creatinina sérica, lactato arterial al ingreso sodio, potasio, cloro, calcio, fósforo y magnesio.

A todos los enfermos se les dio seguimiento durante su estancia en la unidad de cuidados intensivos y durante su estancia en el hospital hasta ser egresados del hospital.

Plan de análisis

- Se realizará estadística descriptiva para describir las variables.
- Los datos se reportaran como mediana y rangos intercuartílicos o media y desviación estándar según sea el caso, frecuencias y porcentajes.
- Para las variables cuantitativas se utilizara *t de Student* o *u de Mann-Whitney* dependiendo si tienen o no distribución normal.
- Para las variables cualitativas se utilizará *Chi cuadrada* o prueba exacta de Fisher.
- Se estimarán intervalos de confianza al 95% tanto para proporciones como para razones de momios.
- Un valor de p menor o igual a 0.05 se considerará estadísticamente significativo.

Ética

- A todos los pacientes se les explicó de manera detallada los objetivos del estudio así como los procedimientos para realizar la medición de las variables.
- Se solicitó consentimiento informado del estudio.
- La información recolectada será utilizada para fines académicos y de investigación, manteniendo datos personales de manera confidencial.
- Se respetará el derecho de no querer participar en el estudio.
- El protocolo será sometido a aprobación por el comité de ética de ambos hospitales.

RESULTADOS

Un total de 14 casos con síndrome de Marfan (SM) y 10 controles (C). La edad promedio de los pacientes con SM fue de 30 ± 6 y de los controles de 58 ± 11 lo cual tuvo diferencias estadísticas $p=0.001$). Sin embargo la edad de hombres y mujeres dentro de los casos con SM fue de 34 ± 5 y 32 ± 7 . Las características demográficas de casos y controles se muestran en Tabla 1.

Tabla 1. Características demográficas.

	Casos con SM N=14	Controles N=10	p
Mujeres	8 (57%)	2 (20 %)	0.06
Hombres	6 (43%)	8 (80%)	0.06
Edad	30 ± 6	58 ± 11	0.001
IMC	23.6 ± 3.6	25.1 ± 2	NS
Colesterol total	146 ± 38	146 ± 61	NS
Colesterol HDL	35 ± 10	37 ± 14	NS
Colesterol LDL	96 ± 25	98 ± 52	NS
Triglicéridos	112 ± 80	107 ± 27	NS
Glucosa	90.5 ± 14	106 ± 24	NS
Hemoglobina	13.4 ± 2.3	14.2 ± 3.2	NS
FEVI			
Mediana (min-Max)	56 (20-66)	55 (18-71)	NS
TCEC			
Mediana (Min-Max)	184 (142-284)	144 (94-440)	NS
TPAo			
Mediana (Min-Max)	149 (110-200)	115 (66-164)	NS

Población estudiada.

En relación a los pacientes con síndrome de Marfan. Todos los pacientes cumplieron con más de dos criterios de Ghent .

Criterios antecedentes familiares del síndrome de Marfan.

Un total de 7 (50%) tuvieron antecedentes de haber tenido familiares con el síndrome.

Criterio cardiovascular.

Todos los pacientes incluidos en el estudio (100%) tenían dilatación aórtica (la mediana del diámetro aórtico.

Criterio ocular.

En 5(37%) se confirmó luxación de cristalino.

Criterio de score sistémico.

Todos los pacientes incluidos en este estudio también tuvieron un score sistémico mayor a 7/20, por lo tanto el 100% tuvieron este criterio positivo. La mediana del score sistémico fue de 9 en el puntaje (Min 7-Max 15. Las principales características clínicas del score sistémico se muestran en tabla 1.

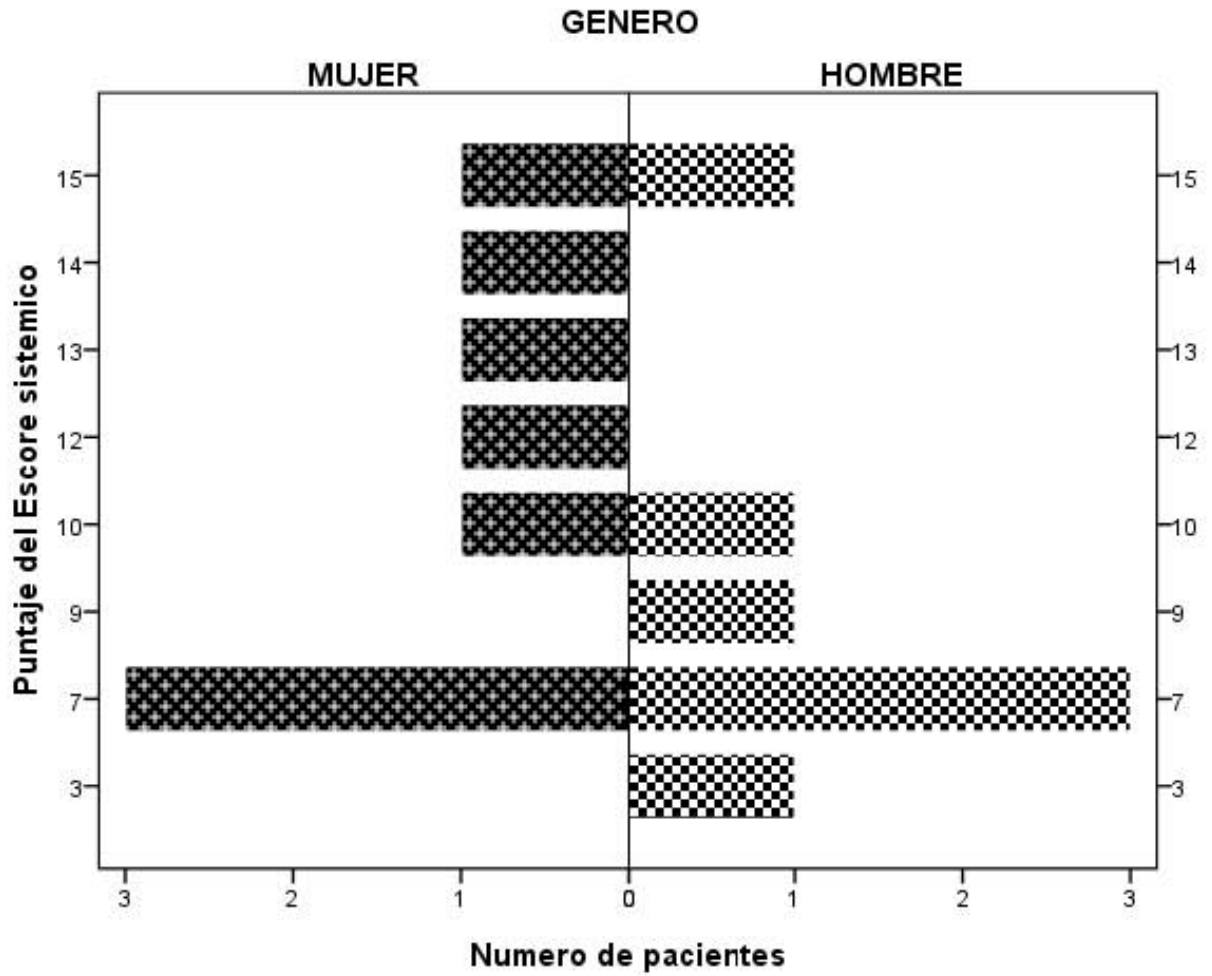
Tabla 2. Frecuencia y porcentaje del tipo de características clínicas del score sistémico en los pacientes con SM.

Características	Numero	(%)
Relación B/T >1.05		
Steinberg	2	(14)
Walker Murdock	9	(64)
Deformidad Torácica Sin deformidad	3	(21)
Pectum excavatum	4	(28)
Pectum carinatum	7	(50)
Neumotórax	1	(7)
Ectasia dural	6	(42)
Protrusio acetabular	0	0
Reducción del SS/SI	9	(64)
Escoliosis	10	(71)
Reducción de extensión del codo	1	(7)
Rasgos faciales	11	(79)

La distribución del total del puntaje del Score sistémico por género (Grafico 1).

GRAFICO 1

Distribucion del puntaje de Score sistemico por genero



En los pacientes con SM, la distribución de las características clínicas en relación al género se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Frecuencias y porcentajes de las principales características sistémicas en pacientes con síndrome de Marfan entre genero.

	Total 14	Mujeres N=8 (%)	Hombres N= 6 (%)	P
Luxación de cristalino	5	2 (25)	3 (50)	NS
Signo de Steinberg	2	1(12)	1 (17)	NS
Signo de Walker Murdock	9	5(63)	4 (67)	NS
Deformidad de torax	11	8 (100)	3 (50)	0.01
Pectum carinatum	7	4 (50)	3 (50)	NS
Pectum excavatum	4	4 (50)	0	0.01
Pie cavo	10	6 (75)	4 (67)	NS
Neumotórax	1	1 (12)	0	NS
Ectasia dural	8	5 (63)	3 (50)	NS
Protrusio acetabular	0	0	0	NS
Reducción del segmento sup/inf	9	4 (50)	5 (83)	NS
Escoliosis	10	6 (75)	4 (67)	NS
Reducción de la extensión del codo	1	1 (12)	0	NS
Rasgos faciales	11	8 (100)	3 (50)	0.03
Estrías	13	7 (88)	6 (100)	NS
Miopía	5	3 (38)	2 (30)	NS
Prolapso valvular	7	4 (50)	3 (50)	NS

Criterio del estudio genómico

En los 14 pacientes se estudiaron los exones 19,30 y 58 del gen de FBN-1 y solo fueron positivos 4 (29%).

Controles

En ninguno se encontró dilatación aórtica confirmado por estudio de ecocardiografía y tomografía computada, fueron intervenidos por otro tipo de cirugía, no tenían antecedentes familiares del síndrome de Marfan y fueron evaluados clínicamente y durante la exploración no se encontró que tuvieran características clínicas del score sistémico ni tenían daño ocular.

Las características del diámetro aórtico y tipo de cirugía se muestran en Tabla 4.

Tabla 4. Número de casos y características del diámetro aórtico y quirúrgico.

No.	Genero	Edad	DAo mm	TCEC	TPAo	Cirugía
1	M	34	82	---	---	Sustitución Ao abdominal y revascularización de troncos viscerales
2	M	25	51	184	160	PO tubo Ao Asc (2007) Sustitución de aorta abdominal + troncos mesentéricos y renales
3	M	36	55	272	197	Sustitución de arco 3 troncos
4	H	23	95	149	113	Bentall y Bono+ CVM INC 30
5	H	35	92	209	154	Bentall y Bono+ Revasc HVSI+CD
6	H	37	55	187	149	Bentall y Bono
7	1	44	34	142	110	Bentall + empaquetamiento
8	1	37	62	284	200	Bentall + CVM INC 34 + plastia tricuspidea INC 28 + redx atrio izq + envoltura de arco con tubo de dacrón.
9	2	35	100	151	122	Bentall y Bono
10	1	33	67	162	118	Bentall y Bono
11	1	21	72	210	115	Bentall y Bono
12	1	28	94	184	159	Bentall + CVM INC 30 + REVAS HVSI-CD
13	2	39	54	179	150	Re suspensión de Válvula aortica tipo David.
14	2	35	75	186	136	Bentall y Bono

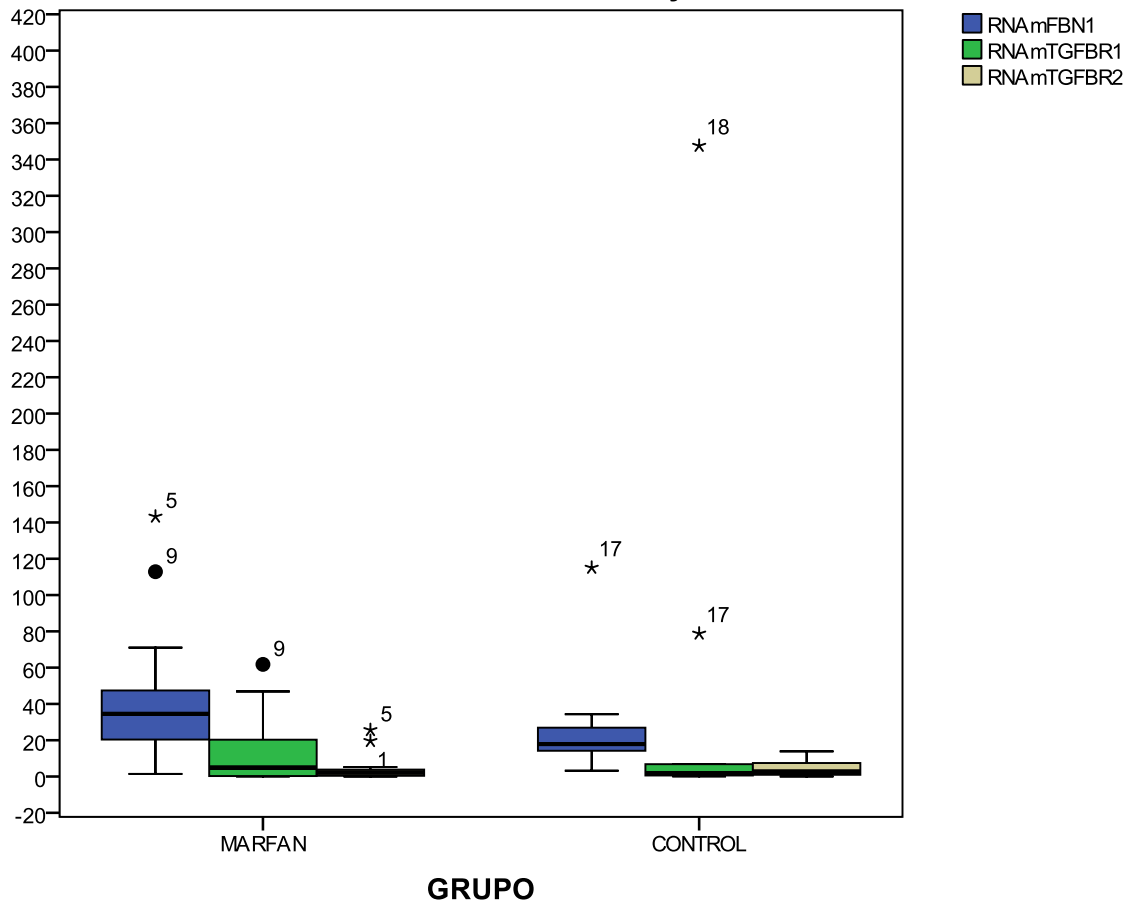
Tabla 5 y Grafico 2 muestran los niveles de RNAm de los genes de FBN1, TGFBR1 y TGFBR2 en los casos y controles.

Tabla 5. Medianas y rangos de los niveles del RNAm de los genes. Entre casos y controles

	RNA _m FBN1	RNA _m TGFBR1	RNA _m TGFBR2
Controles			
Mediana	17.84	0.82	2.2
Rango min-max	(3.20-115.07)	(0.10-6.80)	(0.0-25.6)
Percentil 25	13	0.24	0.39
Percentil 75	29	3.35	4.1
Casos			
Mediana	28.5	4.9	2.7
Rango min-max	(1.43-143.24)	(0.07-61.4)	(0.0-13.9)
Percentil 25	20	0.24	0.76
Percentil 75	53	3.3	8.03
P	P=0.06	P= 0.03	P=NS

Grafico 2

Niveles del RNAm de los genes FBN1, TGFBR1 y TGFBR2 entre sujetos con síndrome de Marfan y controles



La determinación de RNAmFBN1 entre genero **del grupo en general**

Mediana (Min-Max)

Hombres **22.68** (1.4-112) Percentil 25= 14.75 Percentil 75= 54.65

Mujeres **42.9** (11-143) Percentil 25= 29.9 Percentil 75= 65.12

U de Mann Whitney= 0.18

La tabla 6 muestra la misma determinación de los niveles de RNAm de FBN1, TGFBR1 y TGFBR2 de acuerdo al género en los pacientes con síndrome de Marfan y los controles.

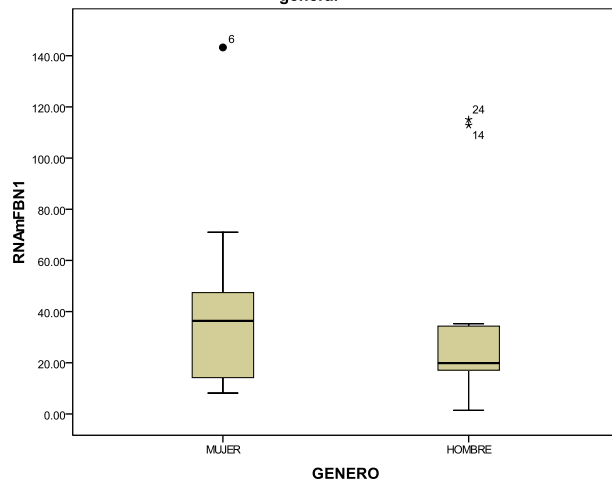
Tabla 6. Mediana, valor mínimo y máximo de los RNAm de FBN1, TGFBR1 TGFBR2 entre casos y controles por genero

	RNAm FBN1 SM	RNAm FBN1 Control	RNAm TGFBR1 SM	RNAm TGFBR1 Control	RNAmTG FBR2 SM	RNAm TGFBR2 Control
Mujeres						
Mediana	42.9	11.17	13.1	3.9	2.8	5.7
min-max	(11-143)	(8.-14)	(.07- 46)	(1-7)	(0.0-26)	(4-7)
Percentil 25	29.9	8.1	0.46	1	0.55	4
Percentil 75	65.1	14	18.7	7	15.65	7
Hombres						
Mediana	22.6	31.2	0.98	0.61	2	2
min-max	(1.4-112)	(3-15)	(.17-1.7)	(0.1-78)	(0.4-5.2)	(0-14)
Percentil 25	14.75	15.7	0.23	.13	0.39	0.39
Percentil 75	54.6	32.4	46.32	3.5	3.6	8
p	p=0.18	p=0.17	p= NS	p=NS	p=NS	p=NS

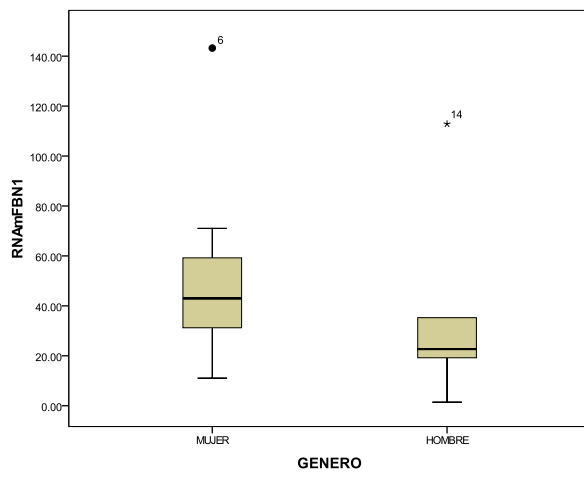
Grafico 3 y 4 muestra por separado los niveles del RNAm FBN1 medianas (Rango mínimo y Máximo) entre genero del grupo en general y evaluado entre casos y controles

GRAFICO 3

Determinación de los niveles de RNAmFBN1 entre el genero del grupo en general



GRUPO: MARFAN



GRUPO: CONTROL

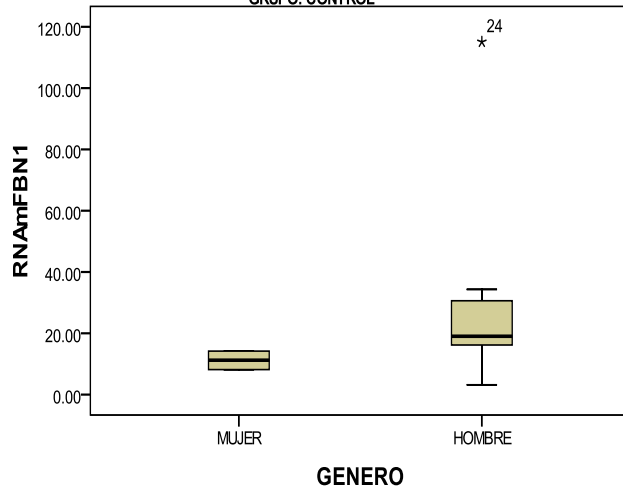
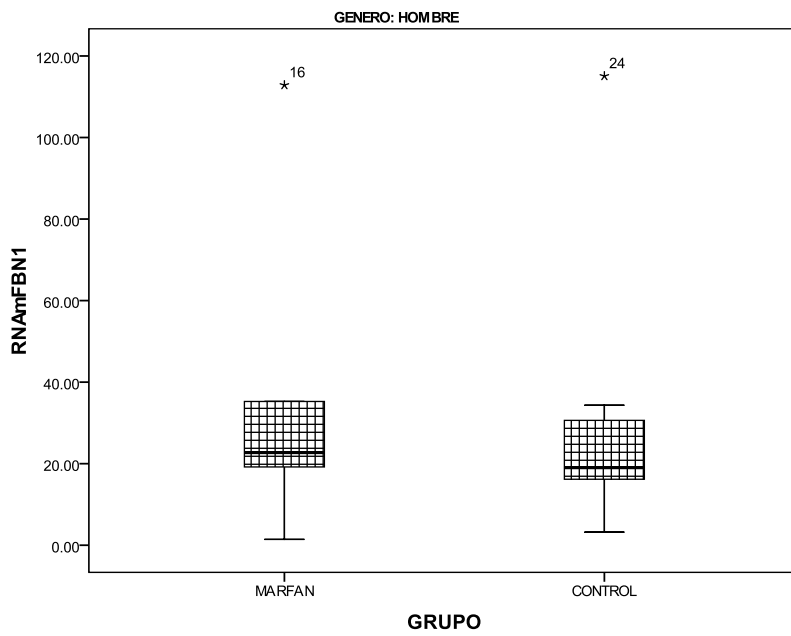
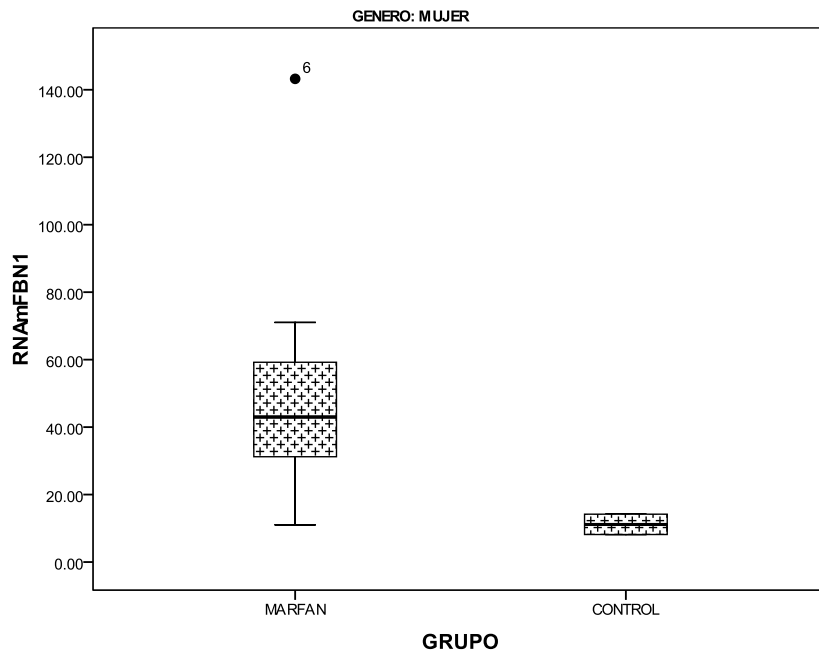


GRAFICO 4



Los grafico 5 Y 6 muestran la determinación de los **RNA^mTGFBR1** medianas (Rango mínimo y Máximo) entre genero del grupo en general.

Hombres 0.61 (0.78.7) Percentil 25=0.21 Percentil 75= 22.3

Mujeres 7.5 (0.7-46) Percentil 25= 0.83 Percentil 75= 15.8

U de Mann Whitney= 0.18

GRAFICO 5

Niveles de TGFBR1 del grupo en general (casos y controles) de acuerdo al genero

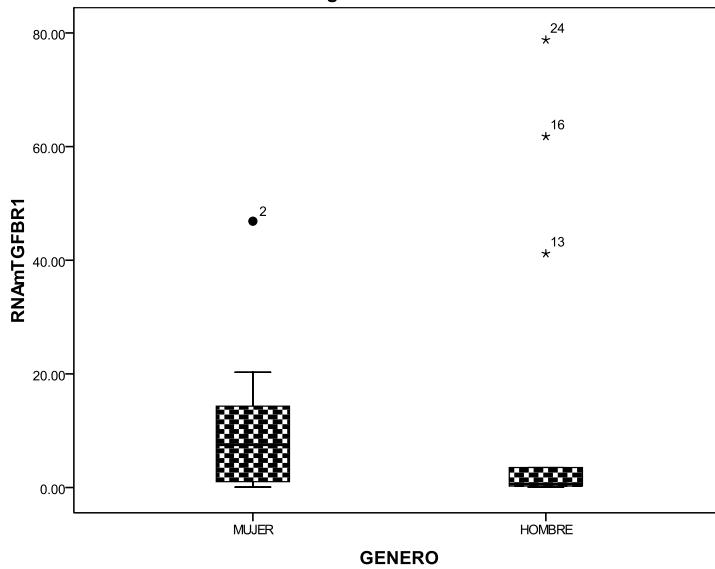
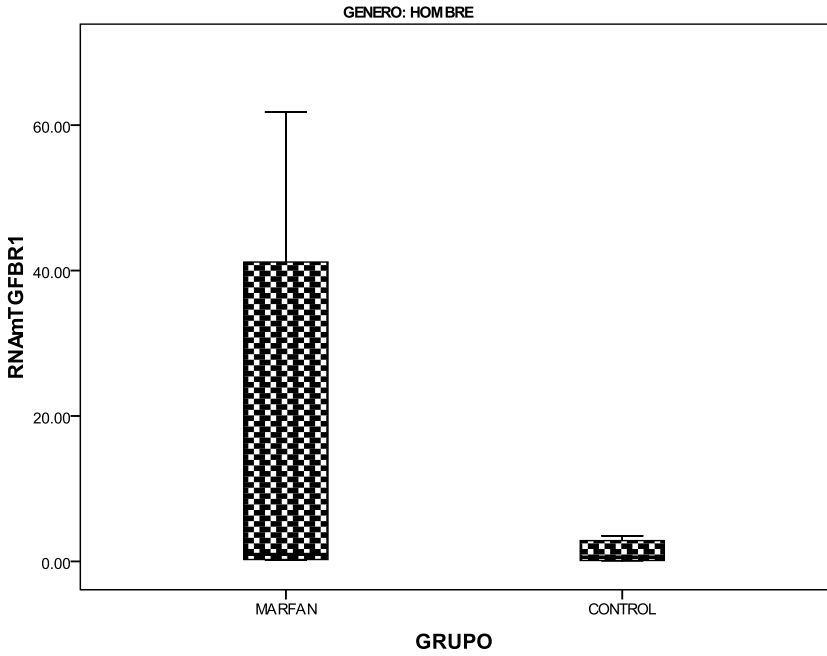
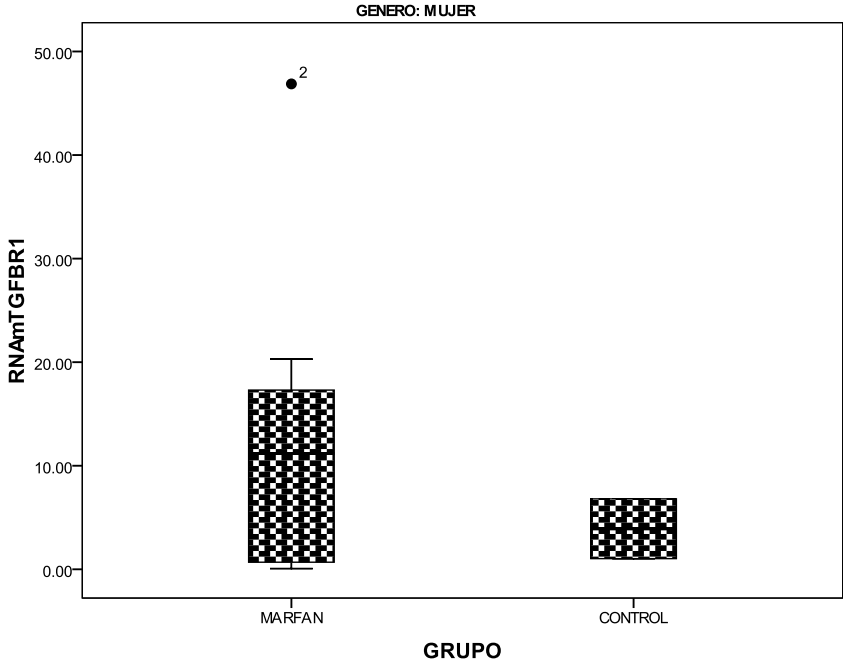
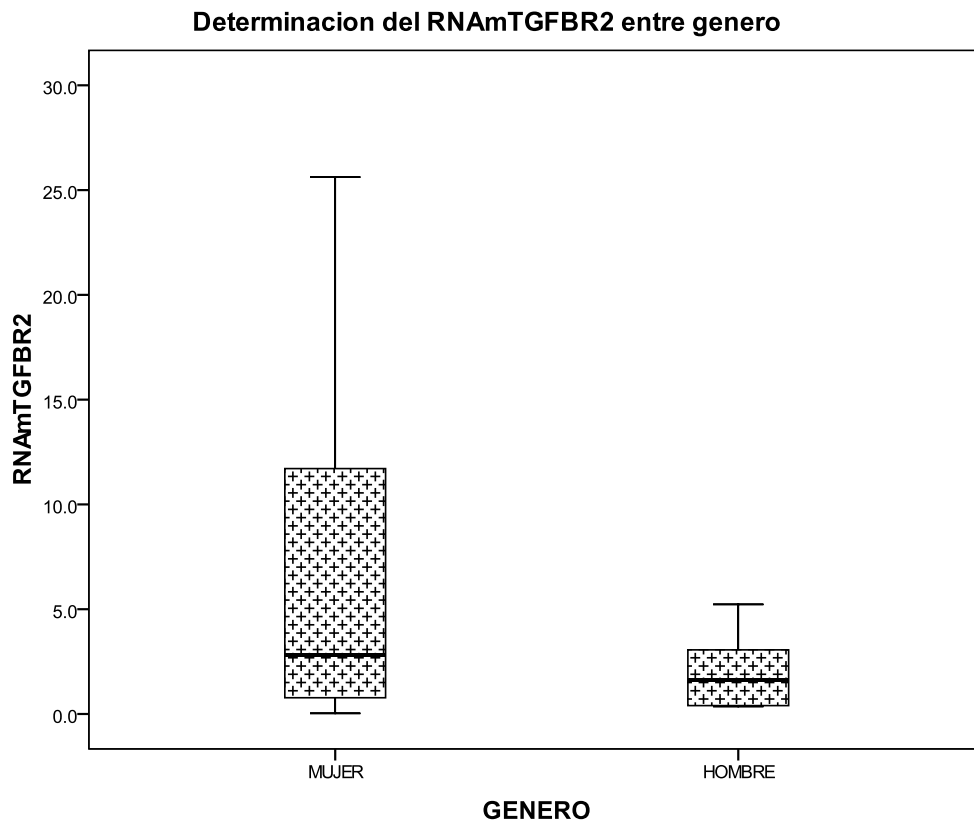


GRAFICO 6



Los gráficos 7 y 8 muestran la determinación de los RNAmTGFB2 medianas (Rango mínimo y Máximo) entre género del grupo.

GRAFICO 7



Determinación de RNAmTGFB2 entre género

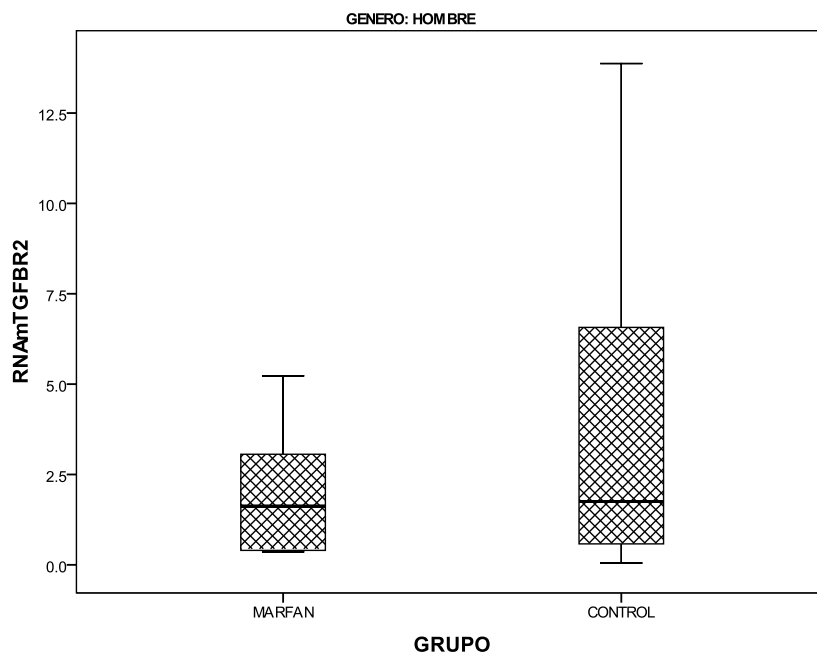
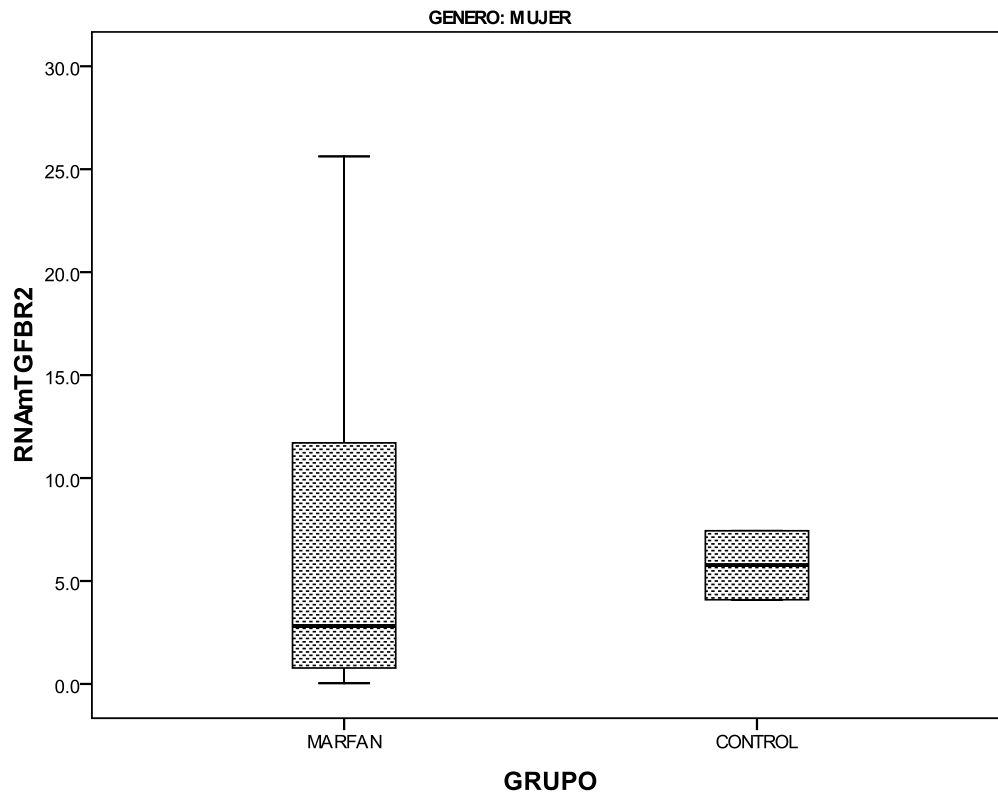
Mediana (Min-Max)

Hombres 1.6 (0.4- 5.2) Percentil 25= 0.39 Percentil 75= 3.6

Mujeres 2.8 (0.0-25.6) Percentil 25= 0.55 Percentil 75= 15.6

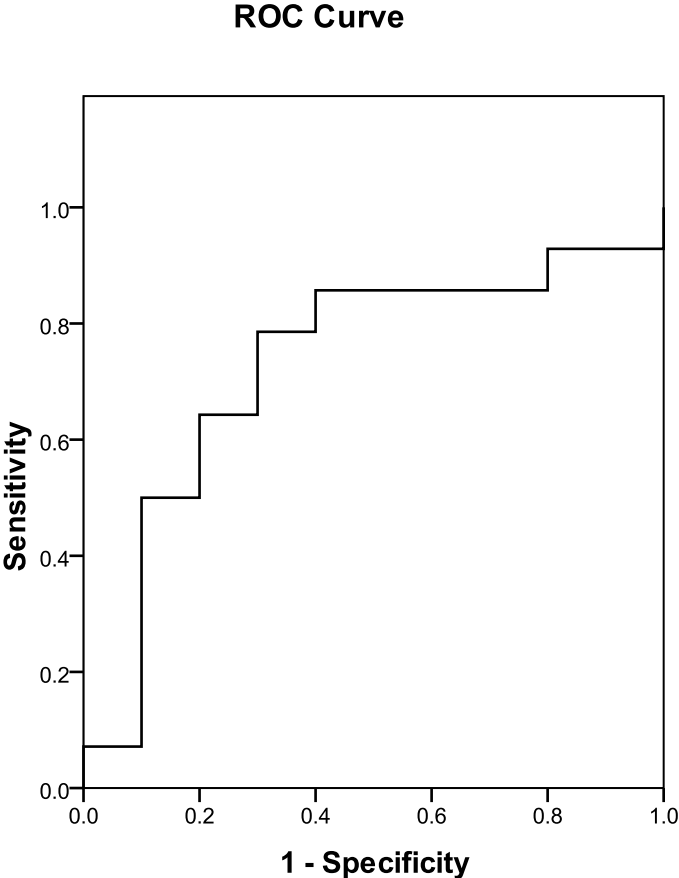
U Mann Wittney NS

GRAFICO 8



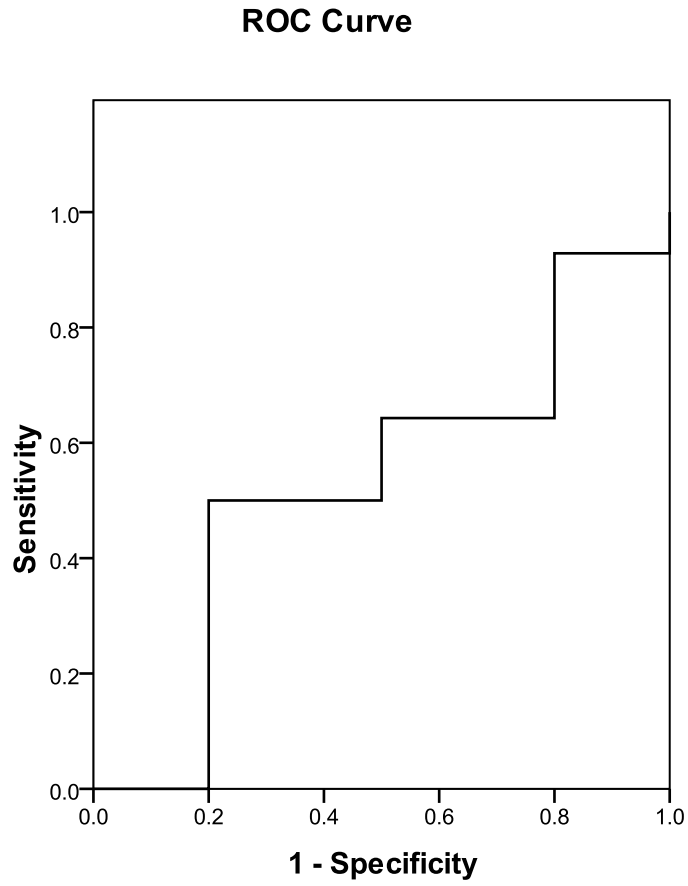
El grafico 9 muestra el mejor punto de corte para RNAm FBN1 que fue de 19.8. Con sensibilidad de 0.60.

GRAFICO 9



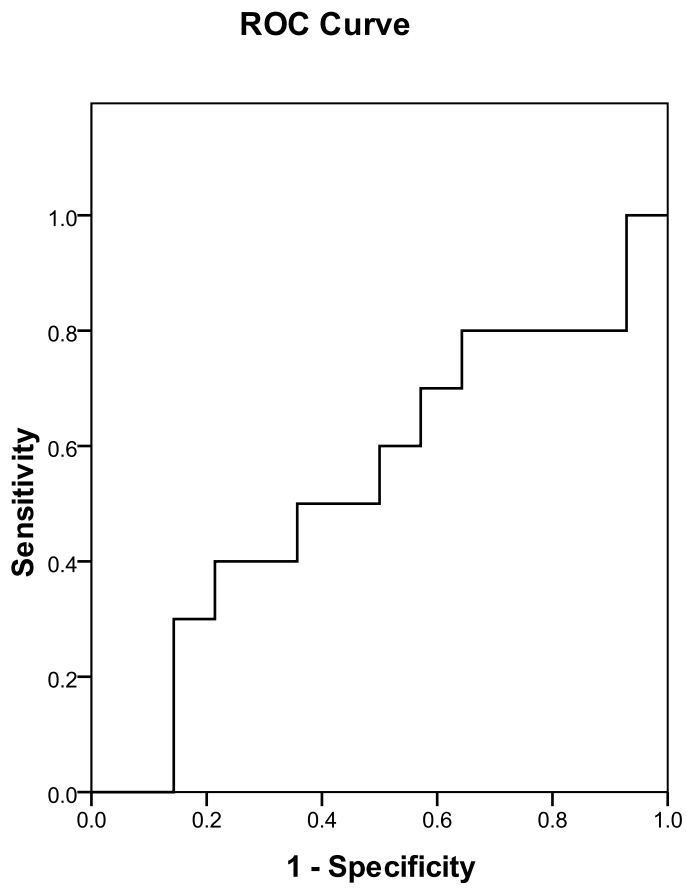
El gráfico 10 muestra el mejor punto de corte para RNAmTGFBR1 fue de 2,2 con sensibilidad de área bajo la curva de 0.52.

GRAFICO 10



El gráfico 11 muestra el mejor punto de corte para RNAmTGFB2 fue de 1.6 con área bajo la curva de 0.54.

GRAFICO 11



En la Tabla 7 se muestran las correlaciones entre los niveles de RNAmFBN1, RNAmTGFB1 y TGFB2 con el total de número de criterios que tuvieron los pacientes. Es decir hay sujetos con SM que tienen más de los dos criterios de Ghent para ser clasificados, también en relación al puntaje sistémico en el cual se requiere únicamente de 7/20 puntos para que sea tomado en cuenta este rubro, sabemos que algunos pacientes tienen más de esos 7 puntos del score. Asimismo se hizo la correlación con algunos parámetros bioquímicos.

Tabla 7. Resultado de las correlaciones entre los RNA mensajeros de los genes de FBN1, TGFB1 y TGFB2 y las variables clínicas y de laboratorio.

	RNAmFBN1		RNAmTGFB1		RNAmTGFB2	
	r	p	r	p	r	P
Edad	-0.03	NS	.23	NS	.25	NS
FEVI	-0.05	NS	-.14	NS	.29	NS
Colesterol total						
HDL	-.12	NS	.30	NS	-.17	NS
LDL	-.16	NS	.25	NS	-.21	NS
LDL	-.09	NS	.16	NS	-.19	NS
Triglicéridos	-.18	NS	.04	NS	-.12	NS
Glucosa	.12	NS	.21	NS	.35	NS
IMC	-.41	0.10	0.04	NS	-.37	0.20

Tabla 8 muestra los mismos parámetros en correlación con el género.

Tabla 8.

	RNAmFBN1		RNAmTGFB1		RNAmTGFB2	
	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre
Edad	.49 (0.20)	-.84 (0.03)	.06 (NS)	-.71 (.11)	.44 (NS)	.32 (NS)
FEVI	.24 (NS)	-.40 (NS)	-.17 (NS)	-.09 (NS)	.27 (NS)	.55 (NS)
CT	-.62 (.10)	.38 (NS)	-.34 (NS)	.62 (.18)	-.30 (NS)	.21 (NS)
HDL	.45 (NS)	.23 (NS)	.11 (NS)	.39 (NS)	-.31 (NS)	0
LDL	-.62 (.09)	.59 (.21)	-.47 (.24)	.63 (.17)	-.29 (NS)	0
TG	-.12 (NS)	-.10 (NS)	.22 (NS)	.42 (NS)	0	.33 (NS)
Glucosa	.83 (.01)	-.35 (NS)	.19 (NS)	.21 (NS)	.69 (0.05)	.35 (NS)
IMC	-.77 (0.02)	.11 (NS)	-.30 (NS)	0	-.38 (NS)	0

Tabla 9 Correlación de los RNA mensajeros de FBN1, TGFB1, TGFB2 y los criterios de Diámetro aórtico y score sistémico.

Tabla 9. Correlación y significancia estadística de dos de los criterios mayores y los RNAm de FBN1, TGFB1 y TGFB2

	RNAmFBN1		RNAmTGFB1		RNAmTGFB2	
	r	p	r	p	r	P
Numero de criterios de Ghent	.18	NS	-.24	NS	.30	NS
Diámetro aórtico	.13	NS	.04	NS	.06	NS
Score sistémico	.59	0.07	.57	0.03	.19	NS

Tabla 10 Muestra la correlación entre el score sistémico y las RNAm de FBN1, TGFB1 y TGFB2 entre género

Tabla 10. Correlación entre RNAm FBN1, RNAmTGFB1 , TGFB2 y el score sistémico entre género.

	RNAmFBN1		RNAmTGFB1		RNAmTGFB2	
	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre
Score sistémico	.26 (NS)	.78 (0.06)	.66 (.07)	.63 (.17)	.22 (NS)	-.44 (NS)
r (p)						

Tabla 11 que muestra mediana y rangos de los niveles de RNAm de FBN1, TGFB1 y TGFB2, en relación a los criterios de Ghent en pacientes con SM

Tabla 11.

Mediana Rango min-Max Percentil 25 Percentil 75	RNAmFBN1	RNAmTGFB1	RNAmTGFB R2
Con antecedente familiar de SM	39 (1-143) 20 71	8.2 (0.26-47) 0.26 0.47	3 (0-25) 0.34 19.6
Sin antecedente familiar de SM	34 (11-113) 20 47	1.6 (0.07-62) 0.17 41	2 (0.4-5.2) 0.86 3.8
Con luxación de cristalino	49.3 (1.43-143.24) 10.3 95.3	8.2 (0.7-61.7) 0.21 44	3 (0.4-25.6) 0.38 14.7
Sin luxación de cristalino	47 (11-112) 22.6 59.6	1.6 (0.26-20.2) 0.29 17.2	2 (0-19.6) 0.6 4.4
Con score sistémico mayor a 7/20	47.4 (19.2-143.2) 38.8	14.3 (0.33-61.7) 8.2	3 (0-25) 0.3

	112.8	46.87	19.6
Con score sistémico 7/20	24.9 (1.43-35.2) 11 33	0.26 (.07-41.1) 0.17 1.63	2 (0.4-5.2) 0.40 3.6
Diámetro aórtico mayor a 50 mm	34.5 (1.43-143) 24 63	4.9 (.17-61.79) .25 25.51	3 (0.4-25.6) 0.74 8.8
Diámetro aórtico hasta 50 mm o menos	29 (11-71) 13 62	7.3 (.07-46.8) .13 38.7	0.77 (0-3.1) .10 2.5

Tabla 12 que muestra los niveles de RNAmFBN1, RNAm TGFBR1 y RNAmTGFBR2 en algunas condiciones clínicas.

Tabla 12.

Steinberg-WM +	47 (1.43-27) 27 91	14.1* (0.26-61.7) 0.98 33.5	0.86 (0-25.6) 0.35 11.7
Steinberg WM neg	23 (11-23) 15 31	0.25 (0.07-41.1) 0.12 21.1	2.3 (1.2-5.2) 1.6 4.4
Con deformidad tórax	38.8 (11-143) 20 71	8.2 (0.07-61.7) 0.25 20.2	3 (0-25.6) 0.86 5.2
Sin deformidad de tórax	24.9 (1.43-35.26) 1.4 35	1.6 (0.26- 41.1) 0.26 41.1	0.40 (0.4-2.4) 0.36 2.3

Gráficos 12 Y 13 muestran la correlación lineal entre el Score sistémico y los niveles de RNAmFBN1 y TGFBR1.

GRAFICO 12

Correlación entre el puntaje sistémico y niveles de RNAmFBN1 en pacientes con síndrome de Marfan.

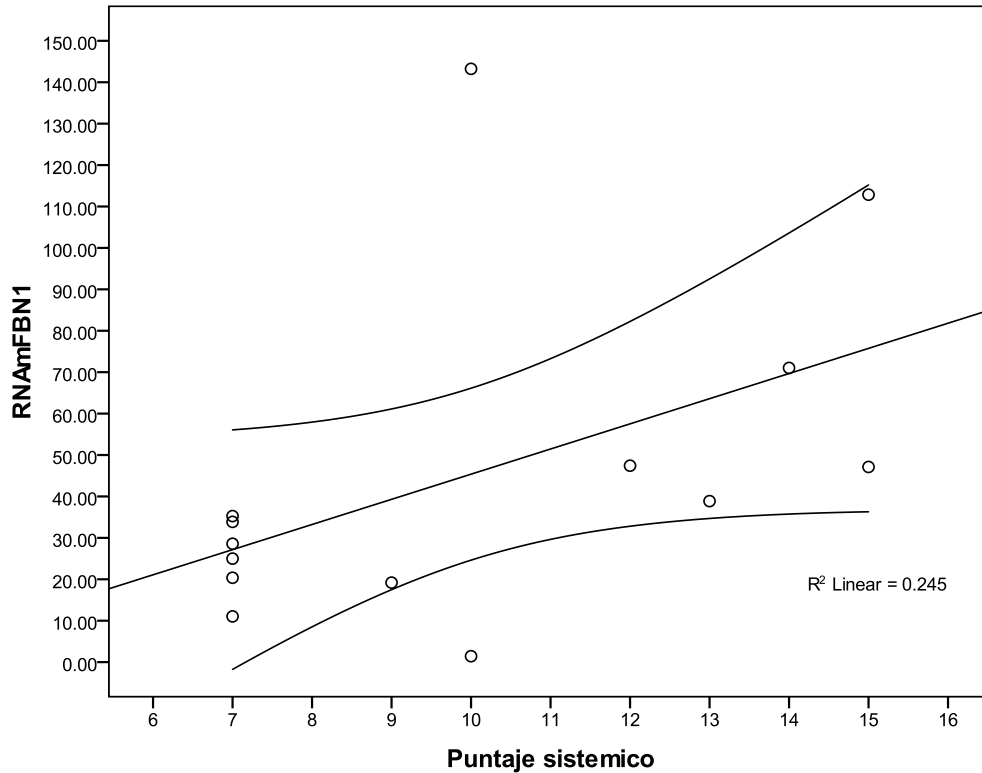


GRAFICO 13

Correlacion entre el puntaje sistematico y los niveles de RNAmTGFB β 1 en pacientes con Sindrome de Marfan

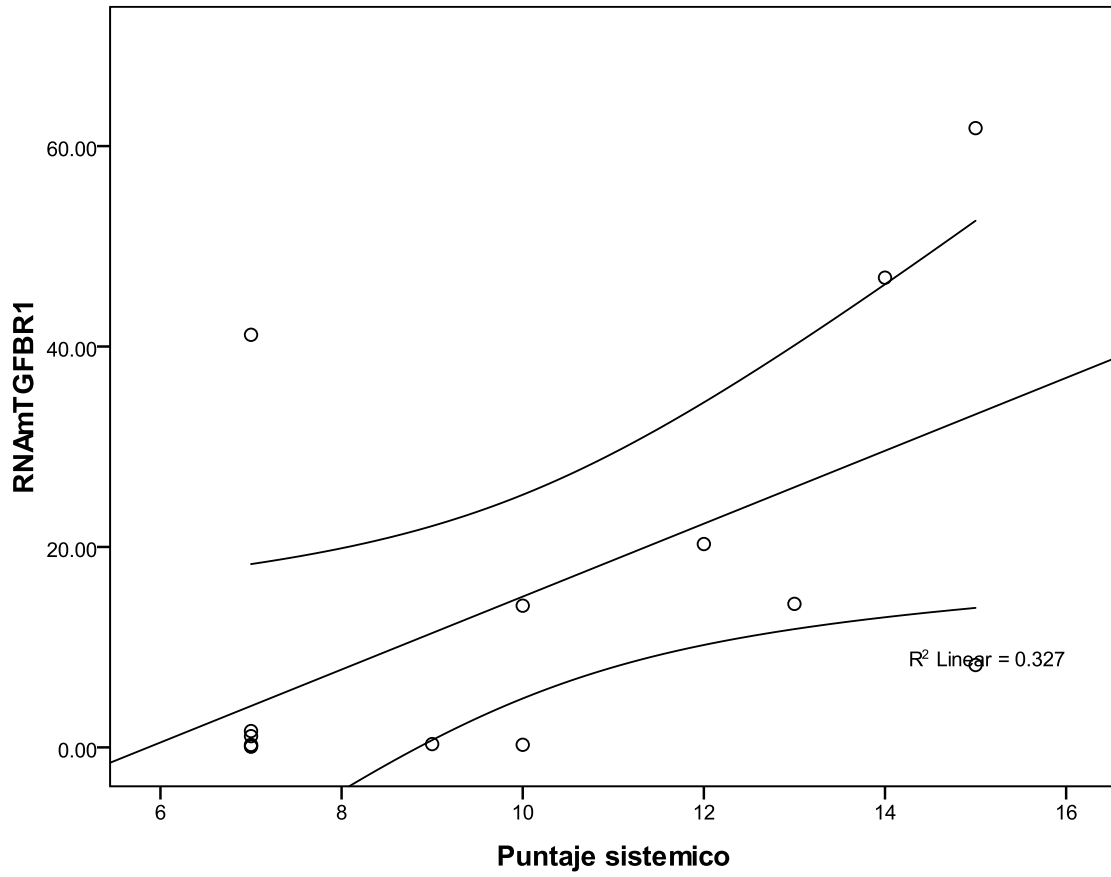
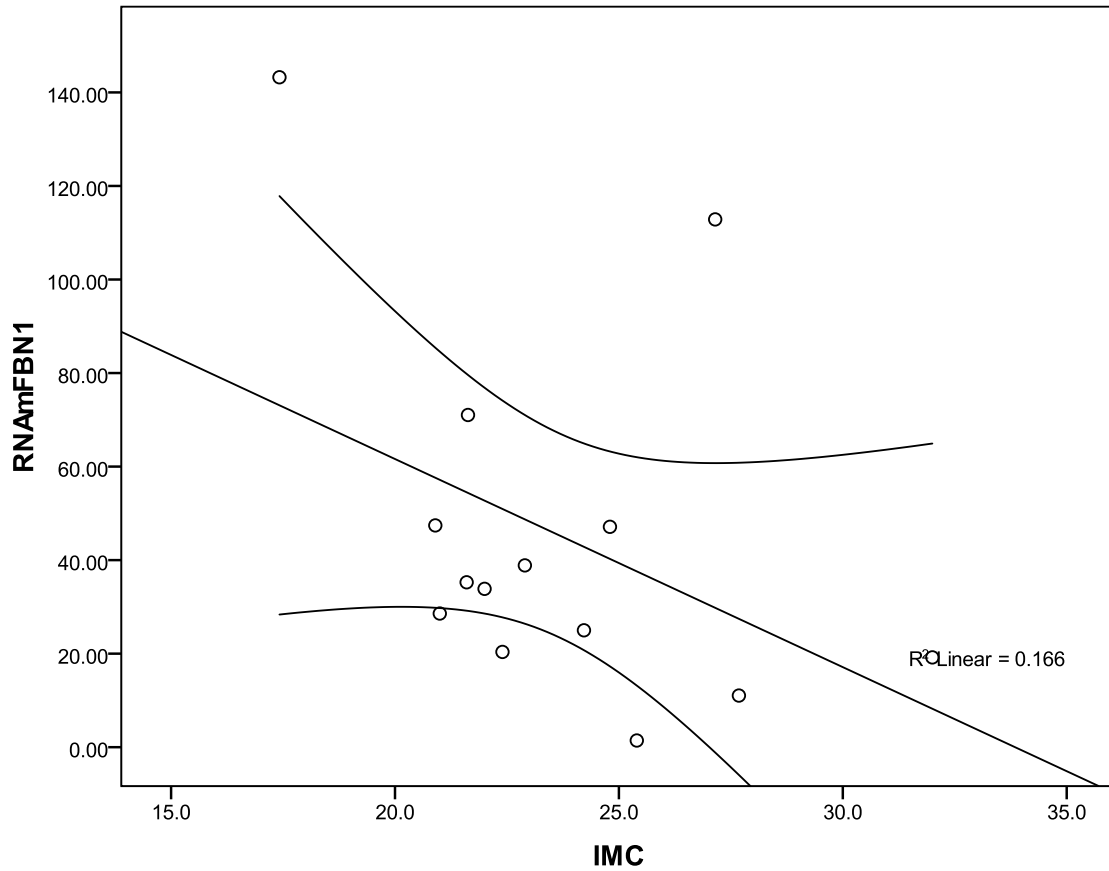


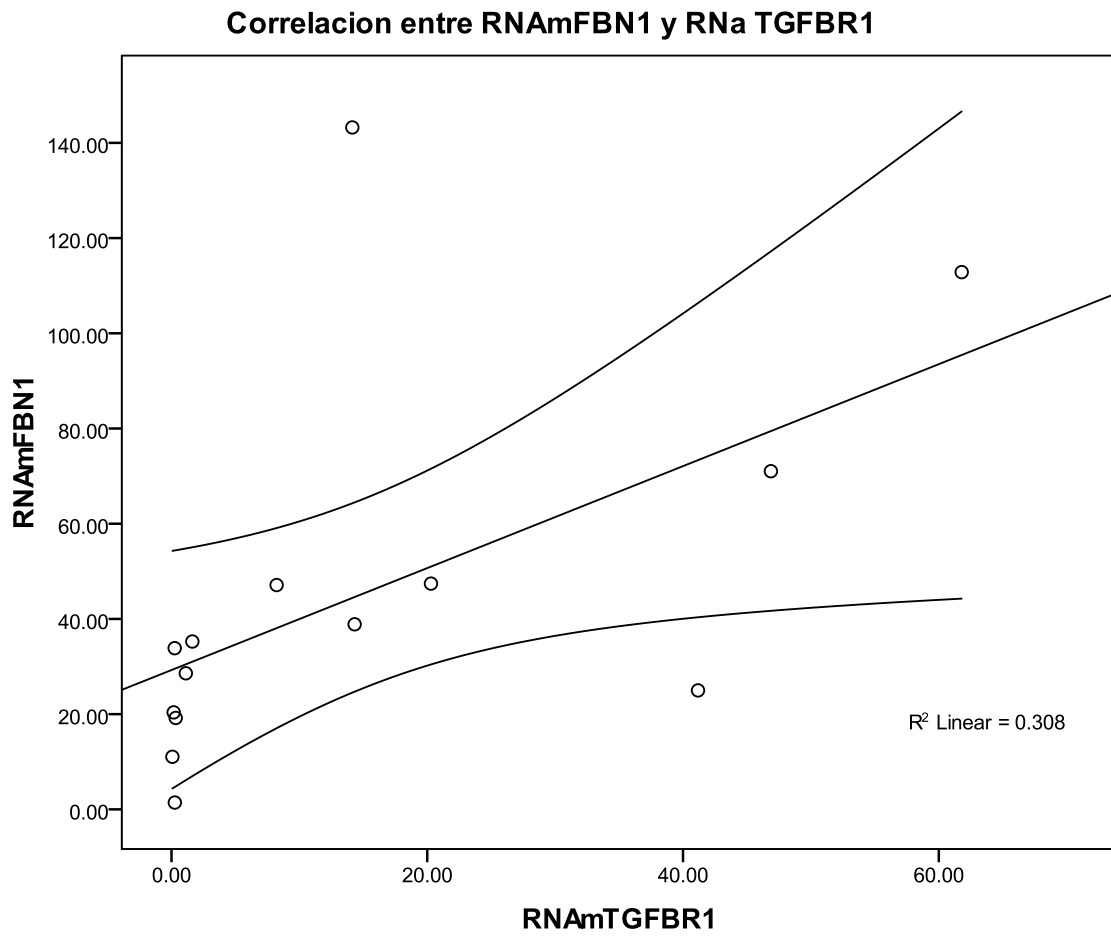
Grafico 14. Muestra la correlación de los niveles de RNAmFBN1 y el índice de masa corporal.

GRAFICO 14

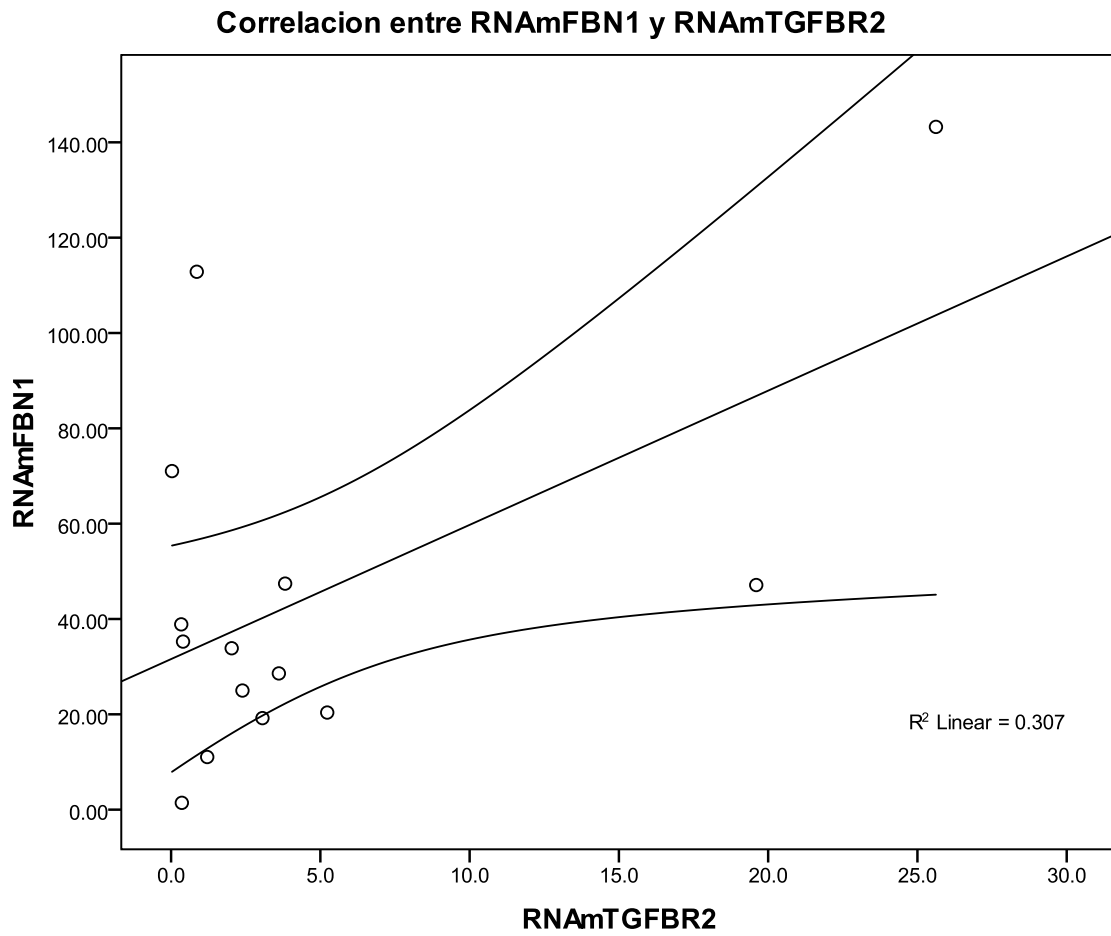
Correlacion entre los niveles de RNAmFBN1 y el indice de Masa corporal en pacientes con Sindrome de Marfan.



La correlación entre RNA-FBN1 y TGFB β -1 fue de 0.55 $p=0.03$



La correlación entre RNA-FBN1 y TGFBR-2 fue de 0.55 p=0.04



DISCUSIÓN.

Hoy en día hay evidencia clara de la asociación entre dos polimorfismos en nucleótidos del gen de la FBN-1 (que codifican la FBN-1), asociados a disección de la aorta torácica, aneurisma no disecado de la aorta y aneurisma o disección de la aorta torácica. El mayor efecto que se observó en un estudio de LeMaire en el estudio Yale fue con la disección aórtica. Los polimorfismos genéticos, en conjunto con los factores de riesgo tradicionales, pueden ubicar a los individuos en un alto riesgo de presentar disección aórtica torácica o identificar un aneurisma aórtico no disecado más que aquellos que presentan solamente los factores de riesgo tradicionales. Esto es especialmente importante para aquellos pacientes en riesgo alto para disección aórtica en los cuales no pueden ser identificados solamente por el tamaño de la aorta. Además los polimorfismos genéticos tienen el potencial de mejorar el cuidado clínico y reducir la mortalidad asociada a disección aórtica y aneurisma [21].

Un estudio reciente relacionado con el genoma (GWAS) encontró dos polimorfismos en nucleótidos en el gene de la FBN-1 que se asocian a patología aórtica como disección aneurisma o ambas. El efecto mayormente observado para la asociación con el polimorfismo rs2118181 se encontró con la disección. El gen de la FBN-1 codifica para la FBN-1, proteína de la matriz extracelular, esencial componente de las fibras elásticas en la pared aórtica. Interesantemente, el que es heterocigoto para mutaciones raras en el mismo gen es causa del síndrome de Marfan, un desorden autosómico dominante en el cual los pacientes presentan aneurismas o disecciones torácicas además de alteraciones oculares y esqueléticas [21]. He aquí la importancia de estudiar estas anomalías y mutaciones en la expresión genética de la FBN-1 pues es de gran ayuda para determinar evolución y pronóstico en esta patología.

En esta serie nosotros estudiamos en los pacientes en el exón 30 la ubicación del gen y c3697T y la ubicación proteica Q1233x, en cuanto a la evaluación en otros exones 19, fue (T1539G - G2258T) y (C513W- G753V), exón 58 (G7133A) y (C2378Y) respectivamente. En el estudio de la población de Yale al igual que en el estudio de LeMaire, se encontró que las variantes en el nucleótido del gen de la FBN-1 rs2118181, se asocia a disección aórtica en un 76% en aquellos que poseen la alteración en comparación con aquellos que no la poseen. El efecto de esta asociación es clara y no se encontró relación con el tamaño de la aorta. Por lo tanto se ha propuesto en múltiples estudios tomar en cuenta el criterio del tamaño de la aorta para realizar tratamiento quirúrgico oportuno en pacientes con aneurisma aórtico. Este criterio ha permitido realizar la resección de la porción anormal de aorta antes de su ruptura o disección. Sin embargo algunos eventos aórticos ocurren antes de conocerse el tamaño de la aorta. En esta serie solo se pudo intervenir de manera oportuna antes de la ruptura hasta en un 36% de los casos y un 64% llegó a cirugía por disección aórtica. El 92% de los casos fue Stanford A.

Si nosotros consideramos añadir el criterio de riesgo de la variante en el gen de la FBN-1 podemos proporcionarle una oportunidad de aumentar el riesgo predictivo de disección en los modelos actuales que incluyen diámetro aórtico y otros factores de riesgo clínico que ya se han mencionado en el presente estudio, identificando entre los pacientes con aneurismas moderados a aquellos con gran riesgo de disección debido a la presencia de alteraciones en el gen de la FBN-1. En el estudio de Yale se informan las limitaciones que presentaron y fue referida en función a que los casos control los tuvieron limitados en cantidad ya que es difícil obtener tejido aórtico sin alteraciones de pacientes sin patología aórtica vivos lo cual no sería ético. La falta de casos control en ese estudio puede tener un impacto negativo en los resultados siendo necesario poseer una muestra mayor para cualquier investigación [21].

Al igual que este autor y quizá el de muchos que han realizado investigaciones de este tipo, resulta imposible obtener muestras de familiares relacionados lo cual sería el control perfecto, y aquellos que se obtienen de controles no relacionados, generalmente de sujetos que deben ser intervenidos quirúrgicamente por lesiones valvulares de los cuales ocasionalmente puede obtenerse un pequeño fragmento de aorta no lesionada.

En pacientes con SM que presentan dilatación aneurismática o disección de la aorta ascendente, se ha encontrado fragmentación de las fibras elásticas, en lo cual puede estar presente producción de fibrosis y colágeno así como apoptosis de las células musculares lisas [16]. Asimismo estudios de modelos animales con SM con deficiencia de FBN-1 han sugerido que el aneurisma no resulta de la falla de elastogénesis [25]. Sin embargo la desintegración de la fibra elástica podría permitir el incremento de la actividad elastolítica de las metaloproteinasas 2 y 9 cuyos mecanismos adyacentes a esta activación de MMP pueden ser multifactoriales.

Se conoce bien que los fragmentos de fibrilina en el tejido aórtico de pacientes con SM podrían sobre regular estas metaloproteinasas, sugiriendo la posibilidad de que exista un círculo vicioso en donde la presencia constante de fragmentos de FBN-1 podrían llevar a incrementada producción de MMP lo cual a su vez generaría más fragmentos de FBN-1. La incrementada fragmentación de las fibras elásticas, en la aorta aneurismática podría estimular la quimiotaxis de macrófagos y contribuir a un infiltrado inflamatorio [26]. Lo cual a su vez incrementaría la actividad local de enzimas proteolíticas.

Recientemente también se ha encontrado que el incremento de la activación y señalización de TGF- β en SM, puede contribuir a la patogénesis de la enfermedad, y la excesiva activación de TGF- β se ha encontrado asociada con sobre regulación de MMP[16]. Y las MMP2 y MMP9 se han identificado como activadores del TGFB latente.

Actualmente se ha logrado caracterizar la genética del Marfan, Se han encontrado mutaciones específicas en el gen de la FBN-1 que resultan en un fenotipo correspondiente a Marfan. Así también se ha estudiado la genética de los aneurismas, identificándose múltiples mutaciones responsables de que esto ocurra en grupos de personas dentro de una familia. Estas mutaciones incluyen la presentación de aneurismas aórticos y disección, aneurismas aórticos familiares, TGF-R2 (5% de los casos) y alteraciones en la cadena pesada de la miosina 11.

Aun así, actualmente, el síndrome de Marfan es diagnosticado basándose en la evaluación clínica, y los aneurismas y disección haciendo uso de herramientas de imagen y laboratorio. El aneurisma torácico es multigenético, consecuentemente, no es fácil comprender la genética de la aorta con la cual contamos hoy en día. Los estudios genéticos en estos pacientes no son sencillos de llevar a cabo. Se ha tratado de identificar aberraciones genéticas que hablen de la transmisión de estas patologías aórticas, en aras de desarrollar mejores herramientas terapéuticas. Se han estudiado 30,000 patrones de expresión de RNA en la sangre de estos pacientes con aneurisma torácico comparados con grupos control. Se han encontrado 41 polimorfismos en nucleótidos simples que se pueden identificar claramente entre los pacientes con y sin aneurisma con una simple muestra de sangre.

Hoy en día ya se cuenta con este tipo de pruebas que pueden ser empleadas en familias enteras para determinar con una simple muestra de sangre si poseen dilatación aneurismática en aorta usándose como screening con una especificidad importante y comparable al antígeno prostático específico.

El conocimiento de las alteraciones genéticas de pacientes con esta patología han avanzado cada vez más y seguirán en investigación, permitiendo entender con mayor facilidad la patofisiología de la enfermedad aneurismática mejorando su diagnóstico y

pronóstico. El entendimiento de las alteraciones genéticas resultantes en pacientes con aneurismas y patología de Marfan, puede sugerir el advenimiento de nuevas terapias farmacológicas (evitando su formación o progresión) o la intervención terapéutica temprana. Además el conocerlas también nos puede permitir una terapia genética en pacientes pequeños y adultos para prevenir la progresión de la enfermedad.

El pobre pronóstico que tienen los pacientes secundario a la disección es crítico y debe tomarse con gran importancia para realizar el diagnóstico en un tiempo oportuno y previo a que ocurra la misma. En los estudios que se han realizado sobre historia natural de la dilatación aórtica se han definido criterios que predicen cuando se presentará la disección y ruptura de la misma cuando ya se presenta la dilatación. Se empieza analizando el riesgo de ruptura o disección Se encuentra evidencia según el tamaño de la aorta y el tiempo Se observa que 6 cm en la aorta ascendente y 7 cm en la descendente son el punto de corte para la ruptura o la presentación de complicaciones. Por lo cual es importante realizar una intervención terapéutica, ya sea quirúrgica o endovascular, previo a la presentación de complicaciones. Esto se observa en mayor proporción en pacientes con aneurismas de aorta ascendente de acuerdo al tamaño. Estos datos han permitido establecer guías de manejo quirúrgico con poder predictivo [23].

En los tejidos de aorta estudiados en esta serie de sujetos con SM, todos tenían dilatación aórtica importante, el RNAmdeFBN1, se encontró incrementado con una tendencia de 7 veces más que el control. También estuvo incrementado RNAmTGFB1 y hubo diferencia estadística $p=0.03$ respecto al control. Sin embargo en cuanto a RNAmTGFB2 los pacientes con SM tuvieron niveles mas bajos que el control pero no hubo diferencia estadística.

En relación al análisis cuantitativo de la expresión del mRNA de FBN1 en pacientes con SM ha sido observado en fibroblastos con una gran variabilidad interindividual en los niveles de expresión de FBN1 [27].

Inicialmente se consideró que por ese método de estudio la expresión de FBN-1 podría estar afectada por las diferentes condiciones de crecimiento de los fibroblastos [29]. Sin embargo en estudios en donde los fibroblastos fueron cultivados en condiciones uniformes, no se observó alguna tendencia con respecto al nivel de expresión nivel en comparación con edad o el sexo de los donantes de la biopsia de piel.

Ha sido sugerido que la variabilidad clínica en el SM podría ser explicada por los diferentes niveles de expresión de mutación o transcripción de FBN1 normal [27]. En consonancia con esto, ha sido demostrada que la reducción de la transcripción total de FBN1 ha sido relacionada en algunos individuos que son portadores de una mutación de terminación de codón prematuro (PTC) en donde fue debido a la variación en la expresión del alelo normal de FBN1 en lugar de las transcripciones truncadas que son generalmente degradadas por mecanismos mutantes o de decaimiento del RNAm mediados sin sentido [30]. Aubert llevó a cabo el análisis de la expresión alélica diferencial que demuestro reducción de los niveles de transcripción de FBN1 en pacientes con terminación de codón prematuro y encontró que más del 90% de la transcripción origina el alelo de tipo salvaje [27]

Hay evidencia de varios estudios en fibroblastos derivados de familias en las que han incluido sujetos afectados y no afectados, de que los niveles del RNAm pueden tener expresión variable en relación a la transcripción de FBN1 normal lo que puede sugerir que dicha variabilidad en la transcripción puede contribuir a explicar la variabilidad encontrada de los niveles de RNAmFBN1 [23]. En este estudio el mismo hallazgo ha sido encontrado en el tejido aórtico, se cuenta con la limitación de que no se pueden incluir familiares no

afectados (de dilatación aórtica) es decir no podemos contar con el estudio de este tejido para comparar los niveles de RNAmFBN1, sin embargo evaluamos comparativamente con controles no relacionados y observamos que hay diferencias y los sujetos con SM ya que estos presentan incremento.

Nosotros encontramos que el RNAmFBN1 muestra correlación positiva con niveles de glucosa y recientemente se conoce que la Interacción de los productos finales de glucosilación avanzada (AGEs) y el receptor (RAGE) así como vías descendentes lo que conduce a disfunción endotelial vascular en diabetes [31].

. En pacientes SM, la disfunción endotelial está presente, y esto ya ha sido probado tanto en modelos animales como en estudios de nuestro grupo [32], por lo que será importante determinar que participación real de esta vía en el daño aórtico, independientemente a que estos pacientes no tuvieron diabetes. a través del análisis de otras vías de interacción con el daño aórtico como la del receptor específico de los productos finales de glucosilación avanzada.

Para evaluar correlación de los niveles de los RNA mensajeros estudiados y su relación con el diámetro aórtico, se requiere del estudio del tejido en sujetos con SM no afectados, lo cual va en el sentido de la metodología pero no de la ética y eso da limitación en nuestro estudio.

Los aneurismas torácicos representan una condición que atenta contra la vida del paciente pues esta en riesgo de que ocurra una ruptura o disección. Sin embargo la patogénesis cada vez es mas entendida. Una predisposición genética a presentar estos aneurismas se ha establecido, el descubrimiento de alteraciones o mutaciones genéticas específicas ya esta establecido. Las mutaciones en la codificación de genes primeramente corresponde a varios componentes del TGF-B y su cascada de

señalización (FBN-1, TGFBR1, TGFBR2, TGFB2, TGFB3, SMAD2, SMAD3 y SKI), estas condiciones se conocen como vasculopatías del TGF-B [24].

Este es el primer estudio realizado en tejido aórtico, en el cual los RNAm de FBN-1 y TGFBR-1 están incrementados, la disminución del TGFBR2 en esta serie requerirá de un estudio con mayor número de muestra y numero de controles similares para determinar si se confirman estos hallazgos y hay reproducibilidad en lo encontrado en otros tejidos de humano.

CONCLUSIONES

En una población mestiza mexicana con síndrome de Marfan y que presentaron dilatación aórtica importante los RNA mensajeros de FBN1 y TGFBR1 se encuentran incrementados. Las mujeres muestran un incremento mayor y mas variabilidad interindividual. El colesterol total y LDL elevados tuvieron correlación inversa con los niveles RNAmFBN1 y correlación positiva con los niveles de glucosa.

El RNAmTGFBR1 mostro correlación inversa solo con LDL y positiva con el nivele de glucosa. El nivel disminuido de RNA mensajero de TGFBR2 se correlaciona positivamente con glucosa. Consideramos que este estudio permite proponer el análisis de otras vías de interacción con el daño aórtico como la del receptor específico de los productos finales de glucosilación avanzada aunado a un estudio prospectivo del tipo de mutación de estos genes en cada sujeto.

REFERENCIAS

Bibliografía.

1. Dietz HC, Pyeritz RE. Mutations in the human gene for fibrillin-1 (FBN1) in the Marfan syndrome and related disorders. *Hum Mol Genet.* 1995;4 Spec No:1799–809.
2. Faivre L, Collod-Beroud G, Loeys BL, Child A, Binquet C, Gautier E, et al. Effect of mutation type and location on clinical outcome in 1,013 probands with Marfan syndrome or related phenotypes and FBN1 mutations: an international study. *Am J Hum Genet.* 2007;81:454–66.
3. Kainulainen K, Karttunen L, Puhakka L, Sakai L, Peltonen L. Mutations in the fibrillin gene responsible for dominant ectopia lentis and neonatal Marfan syndrome. *Nat Genet.* 1994;6:64–9.
4. Milewicz DM, Grossfield J, Cao SN, Kielty C, Covitz W, Jewett T. A mutation in FBN1 disrupts profibrillin processing and results in isolated skeletal features of the Marfan syndrome. *J Clin Invest.* 1995;95:2373–8.
5. Rand-Hendriksen S, Lundby R, Tjeldhorn L, Andersen K, Offstad J, Semb SO, et al. Prevalence data on all Ghent features in a cross-sectional study of 87 adults with proven Marfan syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2009;17:1222–30.
6. Collod-Beroud G, Le BS, Ades L, Ala-Kokko L, Booms P, Boxer M, et al. Update of the UMD-FBN1 mutation database and creation of an FBN1 polymorphism database. *Hum Mutat.* 2003;22:199–208.
7. Sakai LY, Keene DR, Engvall E. Fibrillin, a new 350-kD glycoprotein, is a component of extracellular microfibrils. *J Cell Biol.* 1986;103:2499–509.
8. Corson GM, Chalberg SC, Dietz HC, Charbonneau NL, Sakai LY. Fibrillin binds calcium and is coded by cDNAs that reveal a multidomain structure and alternatively spliced exons at the 5' end. *Genomics.* 1993;17:476–84.
9. Downing AK, Knott V, Werner JM, Cardy CM, Campbell ID, Handford PA. Solution structure of a pair of calcium-binding epidermal growth factor-like domains: implications for the Marfan syndrome and other genetic disorders. *Cell.* 1996;85:597–605.
10. Schrijver I, Liu W, Brenn T, Furthmayr H, Francke U. Cysteine substitutions in epidermal growth factor-like domains of fibrillin-1: distinct effects on biochemical and clinical phenotypes. *Am J Hum Genet.* 1999;65:1007–20.
11. Kirschner R, Hubmacher D, Iyengar G, Kaur J, Fagotto-Kaufmann C, Bromme D, et al. Classical and neonatal Marfan syndrome mutations in fibrillin-1 cause differential protease susceptibilities and protein function. *J Biol Chem.* 2011;286(37):32810–23.
12. Reinhardt DP, Ono RN, Notbohm H, Muller PK, Bachinger HP, Sakai LY. Mutations in calcium-binding epidermal growth factor modules render fibrillin-1 susceptible to proteolysis. A potential disease-causing mechanism in Marfan syndrome. *J Biol Chem.* 2000;275:12339–45.
13. Vollbrandt T, Tiedemann K, El-Hallous E, Lin G, Brinckmann J, John H, et al. Consequences of cysteine mutations in calcium-binding epidermal growth factor modules of fibrillin-1. *J Biol Chem.* 2004;279:32924–31.

14. Caputi M, Kendzior Jr RJ, Beemon KL. A nonsense mutation in the fibrillin-1 gene of a Marfan syndrome patient induces NMD and disrupts an exonic splicing enhancer. *Genes Dev.* 2002;16:1754–9.
15. Schrijver I, Liu W, Odom R, Brenn T, Oefner P, Furthmayr H, et al. Premature termination mutations in FBN1: distinct effects on differential allelic expression and on protein and clinical phenotypes. *Am J Hum Genet.* 2002;71:223–37.
16. Nataatmadja M, West M, West J, Summers K, Walker P, Nagata M, Watanabe T. Abnormal extracellular matrix protein transport associated with increased apoptosis of vascular smooth muscle cells in Marfan syndrome and bicuspid aortic valve thoracic aortic aneurysm. *Circulation.* 2003;108:II-329 –II-334.
17. Ada W.Y. Chung, Karen Au Yeung, George G.S. Sandor, Daniel. Loss of Elastic Fiber Integrity and Reduction of Vascular Smooth Muscle Contraction Resulting From the Upregulated Activities of Matrix Metalloproteinase-2 and -9 in the Thoracic Aortic Aneurysm in Marfan Syndrome. *Circulation Research* is available at <http://circres.ahajournals.org> DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.157776.
18. Howard DP, Banerjee A, Fairhead JF, et al. Population-based study of incidence and outcome of acute aortic dissection and premorbid risk factor control: 10-year results from the Oxford Vascular Study. *Circulation* 2013;127:2031–7.
19. Habashi JP, Judge DP, Holm TM, et al. Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome. *Science* 2006;312:117–21.
20. Lena Tjeldhorn, Silja Svanstrøm Amundsen¹, Tuva Barøy, Svend Rand-Hendriksen, Odd Geiran, Eirik Frengen and Benedicte Paus. Qualitative and quantitative analysis of FBN1 mRNA from 16 patients with Marfan Syndrome *BMC Medical Genetics* (2015) 16:113.
21. Olga A. Iakoubova, Carmen H. Tong, Charles M. Rowland, May M. Luke, Veronica E. Garcia, Joseph J. Catanese et al. Genetic Variants in FBN-1 and Risk for Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection. *PLoS ONE* 2014; 9(4) e91437.
22. Olin JW, Fuster V. Acute aortic dissection: the need for rapid, accurate, and readily available diagnostic strategies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: (2003) 1721–1723.
23. John A. Elefteriades MD, Emily A. Farkas MD. Thoracic Aortic aneurysm Clinical pertinent controversies and uncertainties. *Journal of the American College of Cardiology.* 2010; Vol. 55(9): 841-857.
24. Isselbacher EM, Lino Cardenas CL, Lindsay ME. Hereditary Influence in thoracic aortic aneurysm and dissection. *Circulation* 2016. 133: 2516-28.
25. Marque V, Kieffer P, Gayraud B, Lartaud-Idjouadiene I, Ramirez F, Atkinson J. Aortic wall mechanics and composition in a transgenic mouse model of Marfan syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1184–1189. Pereira L, Lee SY, Gayraud B, Andrikopoulos K, Shapiro SD, Bunton T, Biery NJ, Dietz HC, Sakai LY, Ramirez F. Pathogenetic sequence for aneurysm revealed in mice underexpressing fibrillin-1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:3819 –3823.
26. Guo G, Booms P, Halushka M, Dietz HC, Ney A, Stricker S, Hecht J, Mundlos S, Robinson PN. Induction of macrophage chemotaxis by aortic Chung et al MMP in Thoracic Aortic Aneurysm in Marfan Syndrome 521 extracts of the mgR Marfan mouse model and a GxxPG-containing fibrillin-1 fragment. *Circulation.* 2006;114:1855–1862.

27. Aubart M, Gross MS, Hanna N, Zobot MT, Sznajder M, Detaint D, et al. The clinical presentation of Marfan syndrome is modulated by expression of wildtype FBN1 allele. *Hum Mol Genet.* 2015; 4.
28. Yao Z, Jaeger JC, Ruzzo WL, Morale CZ, Emond M, Francke U, et al. A Marfan syndrome gene expression phenotype in cultured skin fibroblasts. *BMC Genomics.* 2007;8:319. 38, 39.
29. Kielty CM, Shuttleworth CA. Abnormal fibrillin assembly by dermal fibroblasts from two patients with Marfan syndrome. *J Cell Biol.* 1994;124:997–1004. 26.
30. Hutchinson S, Furger A, Halliday D, Judge DP, Jefferson A, Dietz HC, et al. Allelic variation in normal human FBN1 expression in a family with Marfan syndrome: a potential modifier of phenotype? *Hum Mol Genet.* 2003;12:2269–76.
31. Tang ST, Zhang Q, Tang HQ, Wang CJ, Su H, Zhou Q, Wei W, Zhu HQ, Wang Y. Effects of glucagon-like peptide-1 on advanced glycation endproduct-induced aortic endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats: possible roles of Rho kinase- and AMP kinase-mediated nuclear factor κ B signaling pathways. *Endocrine.* 2016 Jul;53(1):107-16.
32. Soto ME, Soria-Castro E, Lans VG, Ontiveros EM, Mejía BI, Hernandez HJ, García RB, Herrera V, Pérez-Torres I. Analysis of oxidative stress enzymes and structural and functional proteins on human aortic tissue from different aortopathies. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:760694. doi: 10.1155/2014/760694. Epub 2014 Jul 1.