



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIO DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA "IGNACIO CHAVEZ"

**PERFIL OXIDANTE / ANTIOXIDANTE EN EL ANEURISMA DE AORTA
TORÁCICA DE PACIENTES CON SÍNDROME DE LOEYS DIETZ**

TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN
CIRUGIA CARDIOTORACICA

PRESENTA

DR. XICOTENCATL VASQUEZ JIMENEZ

ASESORES DE TESIS

DR. ISRAEL PEREZ TORRES

DRA. MARIA ELENA SOTO LOPEZ

CIUDAD DE MEXICO 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



DR. CARLOS RAFAEL SIERRA FERNANDEZ

DIRECTOR DE ENSEÑANZA

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA IGNACIO CHAVEZ

DR. EDGAR SAMUEL RAMIREZ MARROQUIN

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIRUGIA CARDIOTORACICA

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA "DR IGNACIO CHAVEZ"

DR. C.M. ISRAEL PEREZ TORRES

INVESTIGADORES EN CIENCIAS MÉDICAS "C"

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "DR IGNACIO CHÁVEZ"

DRA. C.M. MARIA ELENA SOTO LOPEZ

INVESTIGADORES EN CIENCIAS MÉDICAS "D"

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "DR IGNACIO CHÁVEZ"

DR. XICOTENCATL VASQUEZ JIMENEZ

RESIDENTE DE CIRUGÍA CARDIOTORÁCICA

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "DR IGNACIO CHÁVEZ"

AUTORIZACIONES

DR. CARLOS RAFAEL SIERRA FERNANDEZ

DIRECTOR DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ

DR. EDGAR SAMUEL RAMIREZ MARROQUIN

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA CARDIOTORACICA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA "DR IGNACIO CHAVEZ"

DR. C.M. ISRAEL PEREZ TORRES

BIOLOGO MOLECULAR
INVESTIGADOR EN CIENCIAS MEDICAS "C"
SISTEMA NACIONAL DE INVESTIGADORES SIN-II
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA "DR IGNACIO CHAVEZ.

DRA. C.M. MARIA ELENA SOTO LOPEZ

ASESOR METODOLOGICO Y ESTADISTICO DE TESIS
INVESTIGADORA EN CIENCIAS MEDICAS "D"
SISTEMA NACIONAL DE INVESTIGADORES SIN-II
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA "DR IGNACIO CHAVEZ.

DEDICATORIA

A mis padres... por su apoyo incondicional, por todo su cariño y comprensión durante esta larga carrera.

A mis hermanos... por toda su compañía en este largo camino recorrido, por sus consejos como hermanos y colegas, así como también por ser un ejemplo profesional en mi vida.

A mis maestros... por todas las oportunidades de aprendizaje, todos los conocimientos y enseñanzas transmitidas tanto dentro como fuera de quirófano.

A mis pacientes... por siempre confiar en mí, quienes fueron un libro abierto y parte fundamental en el aprendizaje, todo con el fin de proveerles salud y bienestar siempre.

A mis tutores de tesis quiero agradecerles por su enseñanza y ser parte fundamental de esta tesis.

INDICE

1. AUTORIZACIONES	3
2. DEDICATORIA	4
3. ÍNDICE	5
4. ABREVIATURAS	9
5. RESUMEN	11
6. INTRODUCCION	12
MORFOLOGÍA DE LA AORTA	13
ANEURISMA AORTICO TORACICO	15
INDICACIONES QUIRURGICAS EN PACIENTES ADULTOS	16
INDICACIONES QUIRURGICAS EN PACIENTES PEDIATRICOS	17
7. TECNICAS QUIRURGICAS EN SINDROME DE LOEYS-DIETZ	18
8. EVOLUCION DE LA CIRUGIA DE AORTA	18
LOS PIONEROS DE LA CIRUGÍA DE AORTA	19
TÉCNICA DE WHEAT	19
TÉCNICA DE BENTALL Y DE BONO	20
TÉCNICA DE YACOUB	22
TÉCNICA DE CABROL	25
Modificaciones en la técnica de Cabrol	26
TÉCNICA DE DAVID	28
Modificaciones en la técnica de David	31
TÉCNICA DE FLORIDA SLEEVE	34
DISFUNCIÓN ENDOTELIAL	36
ESTRÉS OXIDANTE	37
ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO	38
RADICALES LIBRES	38
FUENTES DE PRODUCCIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO	40
ESPECIES REACTIVAS DE NITRÓGENO	41
SINTASAS DE ÓXIDO NÍTRICO	41
PAPEL FISIOLÓGICO DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO	42
DAÑO A MOLÉCULAS BIOLÓGICAS	42
<i>Lípidos</i>	42
<i>Proteínas</i>	43
<i>Ácido Desoxirribonucleico</i>	43
SISTEMA ANTIOXIDANTE	44
<i>Glutación</i>	45
ENZIMAS ANTIOXIDANTES	45
<i>Superóxido dismutasa</i>	45
<i>Catalasa</i>	45
<i>Glutación peroxidasa</i>	46
<i>Glutación-S-transferasa</i>	47
<i>Glutación reductasa</i>	47

<i>Antecedentes de Estrés oxidante en Síndrome de Marfan</i>	48
9. JUSTIFICACION	50
10. HIPOTESIS	50
11. OBJETIVOS	51
GENERAL	51
PARTICULAR	51
12. MATERIAL Y METODOS	51
13. CONSIDERACIONES ETICAS	51
14. CRITERIOS DE INCLUSION	51
PACIENTES	51
CONTROLES	52
15. TECNICA QUIRURGICA	52
HOMOGENEIZACION DE AORTA	53
DETECCION DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES SOD MN, SOD CU ZN Y CAT EN GELES NATIVOS DE POLIACRILAMIDA	53
ACTIVIDAD DE LA GLUTATION PEROXIDASA	54
GLUTATION-S-TRANSFERASA	54
GLUTATION REDUCTASA	54
GLUTATION REDUCIDO	55
DETERMINACION DE ENOS, ORX Y NRF2 POR INMUNOTRANSFERENCIA	55
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL	56
ÍNDICE DE LIPOPEROXIDACION	56
HISTOLOGIA	57
16. ANALISIS ESTADISTICO	58
17. SISTEMA ANTIOXIDANTE NO ENZIMATICO	67
18. HISTOLOGIA	71
TINCIÓN HEMATOXILINA-EOSINA	71
TINCIÓN TRICRÓMICA DE MASSON	72
19. DISCUSION	74
20. CONCLUSIONES	79
PERSPECTIVAS	79
21. LIMITACIONES	81
22. REFERENCIAS	82

**PERFIL OXIDANTE / ANTIOXIDANTE EN EL ANEURISMA
TORÁCICO DE PACIENTES CON SÍNDROME DE LOEYS DIETZ**

ABREVIATURAS

OH Hidróxido

¹O₂ Oxígeno singulete

4-HNE 4-Hidroxinonenal

AAA Aneurisma de aorta abdominal

AAT Aneurisma aórtico torácico

ADN Ácido desoxirribonucleico

BHT Butil hidroxitolueno

CAT Catalasa

EC-SOD Superóxido dismutasa extracelular

EDTA Etilendinitrilotetracetato disódico

eNOS Sintasa de óxido nítrico endotelial

ERN Especies reactivas de nitrógeno

ERO Especies reactivas de oxígeno

FAD Flavín adenín dinucleótido

FMN Flavín mono nucleótido

FRAP Poder antioxidante de reducción férrica (siglas en inglés)

GPx Glutación peroxidasa

GSH Glutación

GSSG Disulfito de glutación

GSSG-R Glutación reductasa

GST Glutación-S-transferasa

H₂O₂ Peróxido de hidrógeno

HO₂· Hidroperoxilo

iNOS Sintasa de óxido nítrico inducible

LPO Peroxidación lipídica

MDA Malondialdehído

NADH Nicotinamida adenina dinucleótido

NADPH Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido

NBT Cloruro de nitroblue tetrazolium

nNOS Sintasa de óxido nítrico neuronal

NO Óxido nítrico

NO₂ Dióxido nítrico

O₂ Oxígeno

O₂·- Anion radical superóxido

OCl⁻ Hipoclorito

ONOO⁻ Peroxinitrito

PAGE Electroforesis en gel de poliacrilamida (siglas en inglés)

R-O₂ Peróxilo

R-OOH Hidroperóxido

RL Radical libre

RO· Alcoxi

SDS Dodecilsulfato de sodio

Se Selenio

SLD Síndrome Loeys Dietz

SM Síndrome Marfán

SOD Cu-Zn Superóxido dismutasa cobre-zinc

SOD Mn Superóxido dimutasa manganeso

SOD Superóxido dismutasa

TBARS Sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico

TEMED N,N,N´N´-tetrametiletilendiamina

TGF-β Factor de crecimiento transformante beta

TGFBII Factor de crecimiento transformante beta II

TGFBRI Factor de crecimiento transformante del receptor beta I

TGFBRII Factor de crecimiento transformante del receptor beta II

TROLOX Ácido 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametilcroman-2-carboxílico

TrxR Tiorredoxina reductasa

Zn Zinc

RESUMEN

Introducción

El síndrome Loews-Dietz (SLD), Presenta herencia autosómica dominante de genes TGFBR1, TGFBR2, TGBR y SMADs. Pero poco es lo que se conoce del estado redox en este síndrome a través de la vía no canónica.

Objetivo

Analizar la actividad del sistema antioxidante enzimático y no enzimático en el aneurisma aórtico torácico.

Material y Métodos

En 10 muestras de tejido aórtico de SLD y 11 C sin daño aórtico, se analizaron la actividad de las enzimas GR, GST, GPx, CAT, SOD, iNOS y TrR, además de marcadores de estrés oxidante como LPO, GSH, selenio y carbonilación. Los cambios estructurales se analizaron por histología.

Resultados

Los marcadores del sistema antioxidante no enzimático ($p \leq 0.04$), GPx, GST, CAT, TrxR ($p \leq 0.04$) disminuyeron, la expresión de ORX y Nrf2 aumentaron y disminuyeron respectivamente ($p \leq 0.05$), la carbonilación aumento ($p = 0.02$) además de presentar necrosis quística, fragmentación y engrosamiento de las fibras elásticas en túnica media y adventicia en SLD vs. C.

Conclusiones

En los aneurismas de SLD disminuye la actividad de las enzimas antioxidantes, lo que favorece el aumento del H_2O_2 , que contribuye a disminuir el GSH y favorecer la LPO y carbonilación. Además, la disminución del selenio y Nrf2 impactan sobre la actividad y/o expresión de varias de estas enzimas, ocasionando un trasfondo oxidante de retroalimentación positiva que favorece la formación del aneurisma aórtico.

Palabras Clave

Síndrome de Loews Dietz, Aneurisma de Aorta Torácica, Estrés Oxidativo, Selenio.

INTRODUCCION

El habitus “marfanoide” ha sido descrito en sujetos con semejanza clínica al síndrome de Marfan (SM). Sin embargo, en el síndrome de Loeys-Dietz (SLD) una gran mayoría no cumplen con los criterios de clasificación de Ghent para SM y presentan características clínicas especiales que pueden distinguirlos del SM. Cabe mencionar que dentro de las enfermedades con habitus marfanoide encontramos el fenotipo MASS, (*mitral-valve-aorta-skeleton-skin*), homocistinuria, síndrome de Beals-Hecht, síndrome de Stickler, síndrome de Ehlers- Danlos, síndrome de Shprintzen-Goldberg, síndrome de Achard y síndrome SLD (Aviña, 2011; Soto, 2014). Además de otras de tipo endocrinológico que se distinguen también por características clínicas y de laboratorio que permiten diferenciarlos, además de que debe tenerse alta sospecha diagnóstica de la mayoría de ellos en el momento de realizar el diagnóstico diferencial con el síndrome de Marfan.

El SLD fue descrito por primera vez en 2005 por Bart Loeys y Harry Dietz, (Wellbrock, 2014), es una enfermedad autosómica dominante debida a las mutaciones en los genes que codifican al factor de crecimiento transformante del receptor beta I (TGFB1 por sus siglas en inglés) (Albert *et al.*, 2008; De León, 2008), ubicado en el cromosoma 9q22.33, al factor de crecimiento transformante beta del receptor tipo II (TGFB2) ubicado en el cromosoma 3p24.1, al SMAD3 (cromosoma 15q22.33) y al factor de crecimiento transformante, beta-2; (TGFB2) ubicado en el cromosoma 1q41 (MacCarrick et al. 2014).

Este síndrome se caracteriza por facies inusuales, dolicocefalia, craneosinostosis, hipertelorismo, hipoplasia malar, paladar arqueado, úvula ancha o bífida, retrognatía, deformidad del esternón, que puede ser *excavatum* o *carinatum*, escoliosis, laxitud articular, ectasia dural, dedos largos pero sin sobre crecimiento óseo, contracturas, pie equino, piel translúcida, problemas de aprendizaje (Aviña, 2011), complicaciones durante el embarazo, tal como la ruptura uterina y muerte (Soto, 2014). Los pacientes con SLD tienen fuerte predisposición a la tortuosidad arterial (Maleszewski, 2009), además los aneurismas de aorta son muy frecuentes,

aparecen a edad temprana, se caracterizan por alto riesgo de disección o rotura, incluso con diámetros menores a 5 cm. Hasta el 53% de los pacientes desarrollan aneurismas en otras localizaciones (Ramírez, 2012), otros hallazgos cardiovasculares recurrentes incluyen al conducto arterioso persistente, defectos del tabique ventricular y la válvula aórtica bicúspide. Aunque todos estos hallazgos pueden presentarse en la población general, la incidencia en SLD excede por lo menos cinco veces la observada (Loeys, 2008).

En la primera descripción de SLD, se hicieron hallazgos histológicos similares a los observados en aortas de pacientes con SM, tanto en la pérdida de contenido y desorden de fibras elásticas, como en el aumento de la deposición de colágeno, sin embargo en descripciones más recientes los SLD presentan un grado mayor en los parámetros antes mencionados (Loeys, 2005).

Morfología de la aorta

De acuerdo con las diferencias funcionales, grosor y las características de la túnica media, las arterias pueden clasificarse en tres grandes grupos:

Las arterias elásticas; son de conducción, tienen el mayor grosor y están cercanas al corazón. Las arterias musculares, se encargan de la distribución y por último las arteriolas (Welsch, 2006). Las arterias elásticas son: la aorta, el tronco pulmonar, carótida, subclavia y coronarias (Kassck, 2003), las cuales poseen láminas fenestradas en su pared, el tejido de las arterias se nutre desde la luz por pequeños vasos que entran en la pared, estos últimos irrigan por lo menos la mitad externa de la pared arterial (Welsch, 2006).

La pared de las arterias y venas está constituida por tres capas concéntricas llamadas túnicas: íntima, media y adventicia, (Fortoul y Castell, 2010). La figura 1 muestra las diferentes capas de la aorta.

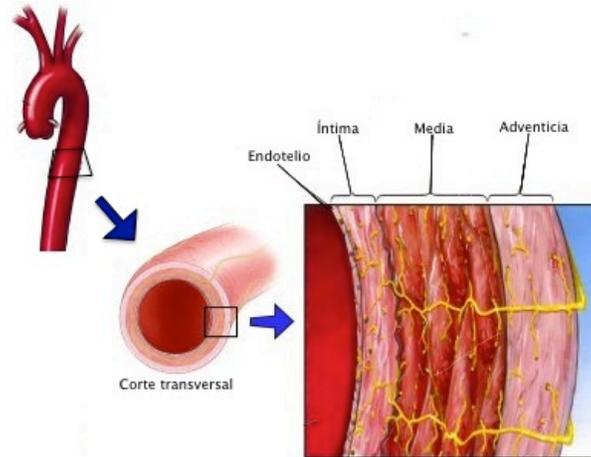


Figura 1. Corte transversal de la aorta torácica.

La túnica íntima, está compuesta por el endotelio, la lámina basal y una capa delgada de tejido conjuntivo laxo, además de algunas células musculares lisas y fibras de colágena finas, así como algunas fibras elásticas con proporción elevada de micro fibrillas. Con frecuencia, la túnica íntima se altera a causa de procesos patológicos y puede contener macrófagos repletos de lípidos. Las células endoteliales están unidas por *zonulae occludentes* y nexos aislados, el remplazo de estas células ocurre con lentitud aproximadamente cada 30 años (Welsch, 2006).

La túnica media, está compuesta por láminas o membranas fenestradas de elastina entre las que se ubican células musculares lisas de disposición más o menos circular, fibrillas de colágena, proteoglicanos y células musculares lisas de curso longitudinal. El sistema de láminas elásticas es complejo, sus fenestraciones y poros son de diámetro variable y las láminas tienen formas diversas, están unidas por fibras elásticas finas, la cantidad de músculo liso es claramente menor que en las arterias de tipo muscular. Las células musculares lisas pueden estar ramificadas y se vinculan tanto con la colágena como con el sistema elástico, no sólo son elementos contráctiles sino que también producen elastina, colágeno y proteoglicanos (Kassack, 2003; Welsch, 2006). Las alteraciones en la estructura de la túnica media pueden producir pérdida de la elasticidad vascular, factor fundamental en la patogenia del aneurisma (Kuzmik, 2012).

Por último, la túnica adventicia es relativamente delgada y está compuesta por fibroblastos, fibras de colágena de trayecto principalmente longitudinal y una red laxa de fibras elásticas (Kassack, 2003; Welsch, 2006).

Aneurisma aórtico torácico

Aunque la prevalencia del aneurisma aórtico torácico (AAT) es probablemente más baja que la del aneurisma de aorta abdominal (AAA), los AAT pueden contribuir como componente importante de la enfermedad vascular debido a su naturaleza particularmente letal (Kuzmik, 2012).

El impresionante descubrimiento de patrones familiares y nuevos loci genéticos para los AAT desafía la idea de que la mayoría sea simplemente esporádica. Aunque la aorta crece de forma indolente, su tasa de crecimiento y su diámetro tienen importantes implicaciones clínicas. Los estudios biomecánicos han apoyado hallazgos clínicos de 6,0 cm como umbral peligroso. Más del 95% de los casos son asintomáticos, es decir, la mayoría de los AAT no se detectan. La extirpación quirúrgica de los AAT es actualmente el pilar del tratamiento eficaz, la reparación endovascular es cada vez más común y la seguridad a largo plazo no se ha comprobado (Kuzmik, 2012).

Series clínicas recientes en los patrones mendelianos en familias de pacientes AAT han revelado que el 21% tienen al menos un miembro de la familia con aneurisma de algún tipo; muchos más miembros de la familia probablemente albergan aneurismas desconocidos no diagnosticados. De estas formas familiares, el 77% se hereda de forma autosómica dominante con expresividad variable (Ramírez, 2012).

Los AAT también pueden ocurrir como parte de síndromes genéticos complejos, incluyendo el SM (el más común), el síndrome de Ehlers-Danlos, SLD y el síndrome de Turner. El promedio de dilatación del aneurisma de aorta ascendente es de 0.10 cm por año, mientras que los AAT descendente crecen alrededor de 0.29 cm (Boileau, 2014).

Las aortas de pacientes con SM crecen a 0.1 cm / año, mientras que los AAT del síndrome SLD especialmente maligno puede crecer más de 1,0 cm / año, lo que les

puede ocasionar la muerte en la edad más productiva de la vida. Se ha descrito que en el desarrollo de los AAT hay presencia de disfunción endotelial y disminución en la síntesis del óxido nítrico (NO por sus siglas en inglés) (Kuzmik, 2012).

Indicaciones quirúrgicas en pacientes adultos

Existen diversas publicaciones y guías acerca de las indicaciones para el manejo quirúrgico de la patología de aorta en forma general, algunas de ellas hacen mención a ciertos escenarios clínicos de pacientes con colagenopatía sobre todo enfocándose a SM, y en menor proporción a SLD. Dejando un panorama sombrío para el cirujano quien tiene que adaptarse a la poca información específica de esta patología y aplicar técnicas quirúrgicas variadas tanto de cirugía de aorta como de cirugía de válvula aortica para ofrecer el manejo quirúrgico que el paciente requiera.

En la edición 2010 de las guías de AHA/ACC para tratamiento de la patología de aorta torácica recomiendan la cirugía profiláctica de la aorta ascendente cuando el diámetro es mayor a 4.2 cm en pacientes adultos con SLD tipo 1, SLD tipo 2 y SLD tipo 3 medido por ecocardiograma transesofágico, o mayor de 4.4 cm y 4.6 cm medido por tomografía y/o resonancia magnética con nivel C de evidencia. Todo esto debido al alto riesgo de presentar disección aortica y ruptura cuando el diámetro aórtico sea mayor de 5 cm., sin embargo, no se menciona ninguna recomendación en SLD tipo 4 ni SLD tipo 5 que aún no era descrito cuando dicha guía se publicó. (Hiratzka, 2010)

Las guías de la asociación europea de cirugía torácica (EACTS) de 2014, recomiendan al igual que las guías americanas (AHA/ACC), el diámetro mayor de 4.2 cm para llevar al paciente a cirugía tanto adultos como niños, sin especificar el tipo de SLD. Ambas hacen hincapié en el rápido crecimiento de los aneurismas de aorta en pacientes con SLD (más 10 mm por año), siendo la tercer década de la vida en la que más incidencia presenta, ameritando controles estrictos con tratamientos profilácticos y agresivos. (Erbel, 2014)

El grupo John Hopkins refiere que SLD tipo 1 y SLD tipo 2 son los subtipos más agresivos en los cuales pueden existir catástrofes aorticas, con rupturas a edades tempranas y con diámetros menores de aorta en comparación con otras

enfermedades dilatantes de aorta. Ellos recomiendan un umbral de cirugía de raíz aórtica de 4.0 cm en SLD tipo 1 y 2, diámetro aórtico de 4.0–4.5 cm para SLD tipo 3, y 4.5 cm para SLD tipo 4 y 5. (Patel, 2017)

El Consorcio aórtico Montalcino recomienda la cirugía de raíz aortica cuando presente 4.5 cm de diámetro en pacientes con mutaciones TGFBR1 y TGFBR2, con la excepción de las mujeres con mutación TGFBR2 y características extra aórticas severas, donde la cirugía podría considerarse a 4.0 cm. (Jondeau, 2016)

Indicaciones quirúrgicas en pacientes pediátricos

A pesar de que ambas guías mencionan como punto de mayor incidencia los 26 años, solo hacen mención parcial de la indicación quirúrgica en pacientes pediátricos.

Donde la guía de AHA/ACC, refiere que para los pacientes pediátricos con presentaciones severas del SLD, específicamente en los que predominan alteraciones craneofaciales están asociados enfermedad aórtica más grave, una vez que el diámetro aórtico excede el percentil 99 para la edad y el anillo valvular aórtico alcanza 1.8 a 2.0 cm, la cirugía profiláctica está indicada y esta permite la colocación de un tubo de dacrón y/o válvula protésica de tamaño suficiente para el crecimiento. (Hiratzka, 2010)

Uno de los primeros artículos reportados acerca de los resultados tempranos en el manejo quirúrgico de pacientes pediátricos y adultos con SLD, menciona como recomendación llevar a los pacientes pediátricos a cirugía cuando: (Williams, 2007)

Paciente pediátrico con alteraciones cráneo-faciales leves:

1. Puntaje Z de la raíz aortica de 4.0 cm o rápido crecimiento (0.5 cm al año)
2. Rápido crecimiento de la aorta descendente u otros vasos. (Krohg-Sorensen, 2017)

Paciente pediátrico con alteraciones cráneo-faciales severas:

1. Puntaje Z de la raíz aortica de 3.0 cm o rápido crecimiento (0.5 cm al año).

2. Retrasar la cirugía hasta que el anillo valvular alcance los 1.8 cm lo cual permitirá la colocación de una válvula de tamaño suficiente para lograr el crecimiento del paciente. (Kroh-Sorensen, 2017)

TECNICAS QUIRURGICAS EN SINDROME DE LOEYS-DIETZ

Evolución de la cirugía de aorta

El manejo de la aorta torácica desde la raíz hasta aorta descendente, incluye múltiples técnicas quirúrgicas, las cuales han evolucionado desde la década de los 50s hasta la actualidad, mismas que han innovado el uso de diversos injertos tubulares en la actualidad sintéticos para la sustitución de aorta (Cooley 1955), así como también han evolucionado en el abordaje pasando de la clásica esternotomía a abordajes mínimamente invasivos.

Los pioneros de la cirugía de aorta

A inicios de 1952, Denton Cooley y Michael E. DeBakey, hacen una excelente mancuerna en Houston y publican su experiencia inicial en el manejo quirúrgico de patología aortica, en 1955 describen el manejo inicial de la patología de aorta, misma que los reto a crear nuevas técnicas quirúrgicas según la porción de aorta a tratar, fue así como nació el uso de homoinjertos de aorta preservados de cadáver y el uso de tubo de dacrón creados de forma artesanal por el mismo Michael DeBakey con una máquina de coser convencional (Figura 2) y usados por primera vez en Houston. (Cooley, 1952) Inicialmente este equipo quirúrgico se aventuró a tratar por porciones la aorta, su primera publicación fue el primer manejo exitoso de aneurisma de aorta abdominal infrarenal en 1953, (DeBakey, 1953) ese mismo año publican el primer manejo exitoso de aneurisma de aorta torácica (descendente) (DeBakey, 1953), en 1954 publican el primer manejo exitoso de aneurisma de arco aórtico distal (DeBakey, 1954), posteriormente en 1955 hace la primer publicación del manejo de aneurisma toracoabdominal (DeBakey 1956), el siguiente año, 1956, publica el primer reporte de manejo exitoso de aneurisma en aorta ascendente (Cooley, 1956) y finalmente en 1957 publica el primer manejo exitoso de aneurisma

de arco aórtico (DeBakey, 1957), convirtiendo a este equipo quirúrgico en los pioneros del tratamiento y las técnicas quirúrgicas en patología de aorta, haciéndolos centro de referencia mundial para el manejo quirúrgico de la aorta.



Figura. 2 A la izquierda Michael DeBakey con una máquina de coser convencional, marca Singer, realiza el prototipo de los tubos de dacrón. 1950s... a la derecha años después los usaría por primera vez en cirugía de aorta en Houston EUA; 1956.

Técnica de Wheat

Posterior a los casos realizados en Houston, por Denton Cooley y Michael E. DeBakey, en 1964, en el hospital de la universidad de Florida en Geinsville, Wheat y colaboradores, publican un artículo en el Journal de la Asociación Médica Americana (JAMA) titulado “reemplazo exitoso de toda la aorta ascendente y la válvula aórtica”, donde describen la técnica quirúrgica utilizada, donde por toracotomía repararon el aneurisma de aorta ascendente de 9 x 11 x 10 cm aproximadamente en un paciente de 57 años.

Mencionan que la pared de la aorta era tan delgada que era translúcida con múltiples placas ateroscleróticas, con insuficiencia aórtica severa por valvas redundantes. Ellos resecaron la válvula aórtica y aorta ascendente, excepto dos porciones de aorta que sostenían los ostium coronarios a la aorta nativa (Figura 3A), luego colocaron una válvula protésica aórtica y se aseguró en su lugar con suturas separadas de poliéster 2-0, por último se colocó un tubo de dacrón de 30 mm, con

sutura continua y separada de poliéster 2-0 tanto en la porción distal como en la porción proximal de la aorta nativa (Figura 3B). (Wheat, 1964)

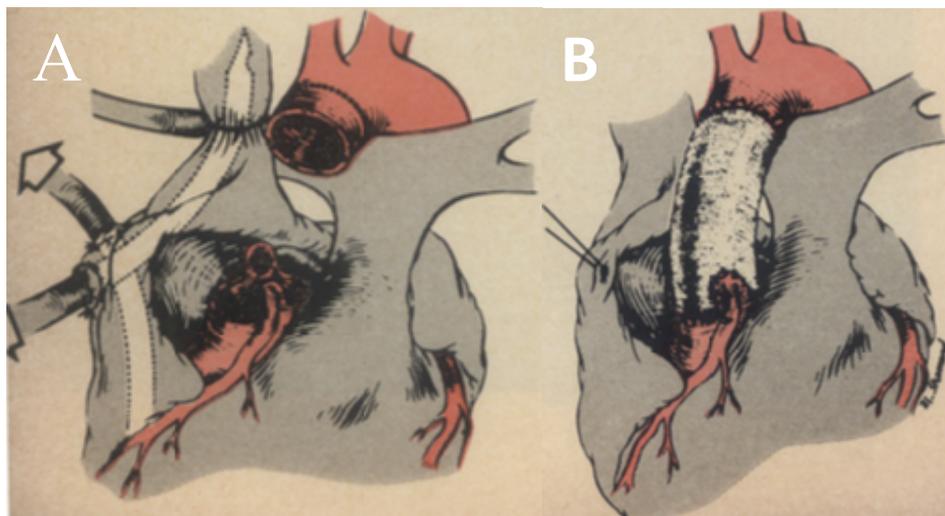


Figura 3A: Resección de Válvula aortica y aorta ascendente, respetando tejido periférico a ostium coronarios.

Figura 3B: Tubo de dacrón anastomosado a borde inferior de aorta nativa y ostium coronarios (posición supra anular).

Obtenida de Wheat MW. Successful Replacement of the Entire Ascending Aorta and Aortic Valve. J Am Med Assoc., 1964;188(8):717-719.

Técnica de Bentall y De Bono

4 años más tarde, en 1968 Hugh Bentall y Antony De Bono de Londres, publican una técnica que cambiaría radicalmente el tratamiento del paciente con colagenopatía que presentan dilatación de raíz y aorta ascendente con insuficiencia valvular aortica, dicha técnica consiste en la sustitución de válvula aortica por una prótesis valvular biológica o mecánica, resección de raíz aortica y aorta ascendente como lo muestra la Figura 4A, misma que será sustituida por un tubo de dacrón al cual se le coloca la prótesis aortica en el extremo inferior del mismo como lo muestra la Figura 4B. Esta porción del tubo valvulado se une al anillo aórtico con puntos separados de poliéster 2-0 con perla de teflón, (Figura 5A) posteriormente se anastomosan los ostium coronarios en las caras laterales del tubo con sutura de

polipropileno 5-0 y finalmente hacer la última anastomosis del tubo de dacrón con súrgete continuo de sutura de polipropileno 3-0 a la aorta nativa justo antes del inicio del arco aórtico (Figura 5B). (Bentall, 1968)

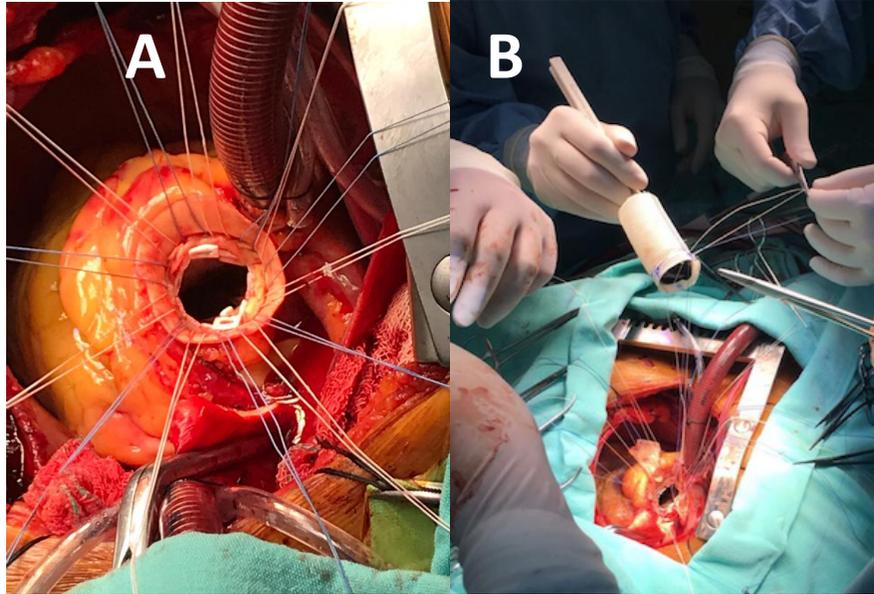


Figura 4A. Sutura separada de poliéster 2-0 en anillo aórtico

Figura 4B. Tubo de dacrón valvulado con prótesis mecánica confeccionado artesanalmente.

Cirugía realizada en Instituto Nacional de Cardiología, Ignacio Chávez, Xicoténcatl Vásquez, 2018.

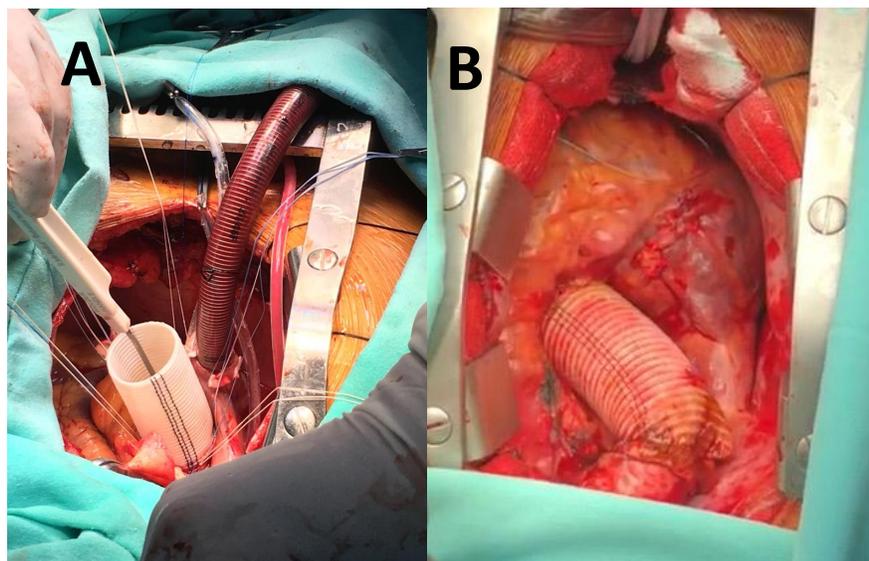


Figura 5A. Tubo de dacrón valvulado con prótesis mecánica anastomosis en anillo aórtico.

Figura 5B. Tubo de dacrón valvulado anastomosado a aorta ascendente, resultado final.

Cirugía realizada en Instituto Nacional de Cardiología, Ignacio Chávez, Xicoténcatl Vásquez, 2018.

Técnica de Yacoub

Magdi Yacoub en 1979, describe una técnica totalmente distinta a las previas, la cual consiste en el reemplazo de la aorta ascendente y los senos de Valsalva por un tubo de dacrón, con la introducción de poder preservar la válvula aórtica nativa. Técnicamente implica el resear la aorta ascendente y senos de Valsalva, dejando, una segmento de 1 mm por encima del anillo aórtico (Figura 6A), respetando las comisuras de la válvula aortica, dichas comisuras se traccionan y miden (Figura 6B), para posteriormente confeccionar el tubo de dacrón con los 3 senos en forma de “U” (Fig. 6C), que darán la morfología de los senos de Valsalva y encajara perfectamente con las comisuras valvulares.

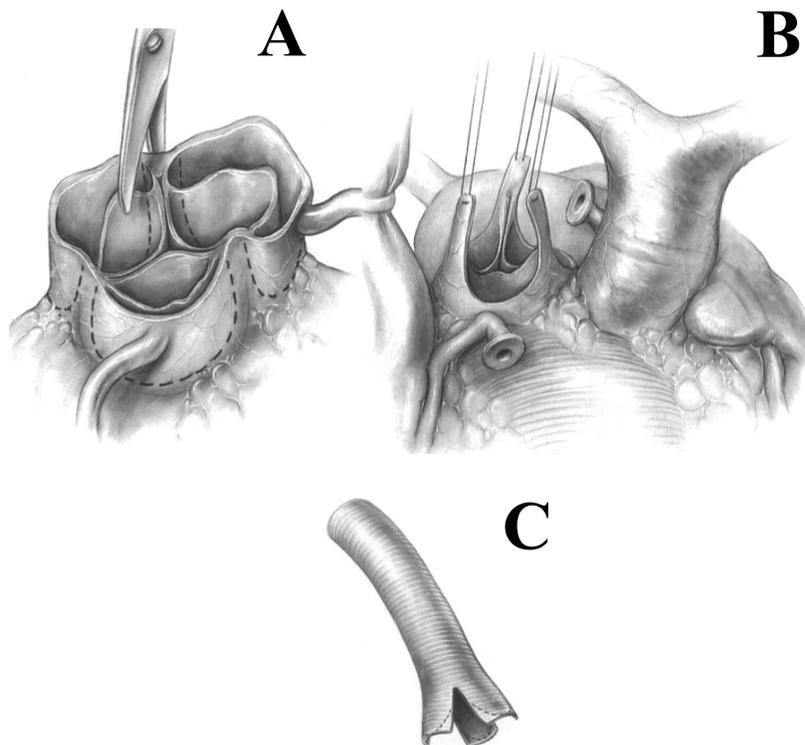


Figura 6A. Se realiza corte de senos de Valsalva dejando 1 mm de borde y respetando las 3 comisuras de la válvula aortica.

Figura 6B. Se resuspenden comisuras de válvula aortica con polipropileno 3-0 y se mide su altura.

Figura 6C. Confección de tubo de dacrón con 3 lenguas en forma de “U”.

Obtenida de Yacoub MH, Valve-conserving Operation for Aortic Root Aneurysm or Dissection Operative Techniques in Cardiac & Thoracic Surgery. 1996;1(1):57-67.

Una vez teniendo el tubo de dacrón la morfología de los nuevos senos de Valsalva, se pasan los puntos que sostenían cada comisura a la región correspondiente en el tubo y se anudan, posteriormente se une el borde del tubo “U” con el borde de aorta nativa con sutura continua de polipropileno 4-0 (Figura 7 A-B).

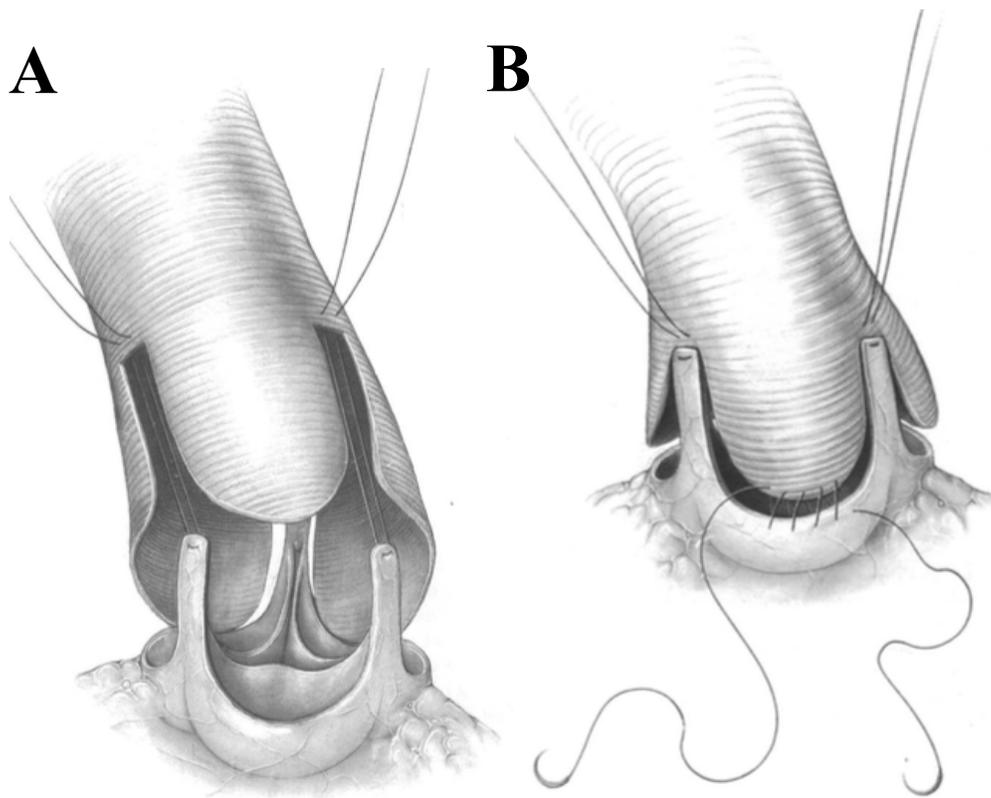


Figura 7A. Muestra la resuspensión de las cúspides y ensamblado entre las cúspides aórticas y las lengüetas en forma de “U” del tubo de dacrón, con sutura simple de polipropileno 3-0.

Figura 7B. Anastomosis de borde aórtico con tubo de dacrón, sutura continua de polipropileno 4-0

Obtenida de Yacoub MH, Valve-conserving Operation for Aortic Root Aneurysm or Dissection. Operative Techniques in Cardiac & Thoracic Surgery. 1996;1(1):57-67

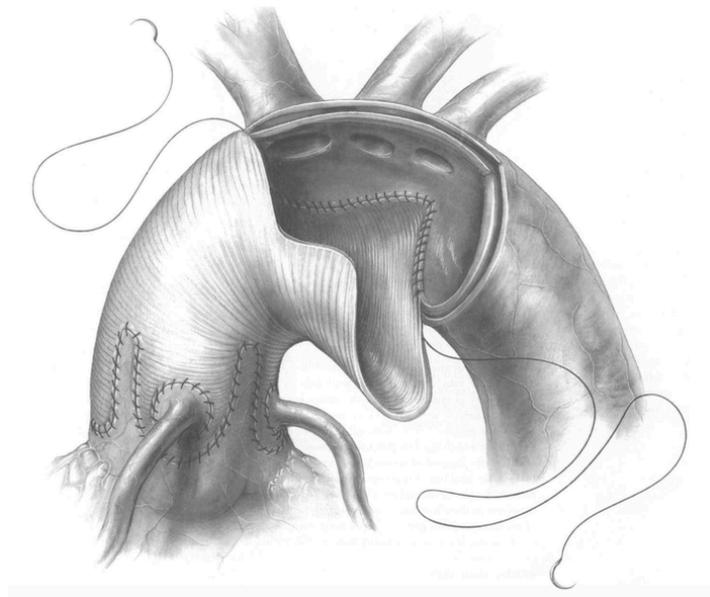


Figura 8. Técnica de Yacoub, anastomosis distal del tubo a aorta nativa.

Obtenida de Yacoub MH, Valve-conserving Operation for Aortic Root Aneurysm or Dissection. Operative Techniques in Cardiac & Thoracic Surgery, 1996;1(1):57-67

Finalmente, se realiza los orificios en el tubo correspondiente al seno de Valsalva derecho e izquierdo para anastomosar los ostium coronarios al tubo con sutura de polipropileno 4-0 y se anastomosa el borde proximal con la aorta nativa en aorta ascendente o hemiarco aórtico según sea necesario (Figura 8). (Fagan, 1983) (Yacoub, 1996)

Técnica de Cabrol

Christian Cabrol en Francia, en 1981 describe una técnica quirúrgica similar a la técnica de Bentall y De Bono, la cual refería como técnicamente más sencilla, menor riesgo de lesión coronario, donde coloca un tubo de Dacrón, recubierto con sangre propia del paciente antes de la heparinización o con una combinación de fibrinógeno y trombina, al cual se le sutura una válvula aórtica Bjork-Shiley unidisco en el interior del tubo dacrón con polipropileno 4-0, aproximadamente a 2 cm del extremo

proximal después de plegarlo 2 cm margen del tubo. Luego, el tubo se desenvuelve a su posición original y el extremo se marca en tres sitios equidistantes que corresponden a la colocación de las tres comisuras aórticas, se reseca la válvula aórtica nativa y se sutura el tubo valvulado al anillo aórtico con una sutura continua de polipropileno 5-0. Los dos ostium coronarios se anastomosan sucesivamente a los extremos del tubo con un segundo tubo de Dacrón de 8 mm de diámetro. La conexión con el ostium coronario izquierdo se establece inicialmente y el tubo Dacrón se conduce circunferencialmente alrededor del flanco derecho de la prótesis aórtica anterior a donde se anastomosó al ostium coronario derecho. El extremo distal de la prótesis aórtica se cose al interior del saco aneurismático, justo debajo del origen del tronco braquiocefálico con una sutura continua de polipropileno 4-0. Al igual que con la anastomosis proximal, la sutura continua se inicia en la pared posterior y continúa alrededor de ambos lados para completarse anteriormente como lo muestra la figura 9. (Cabrol 1981)

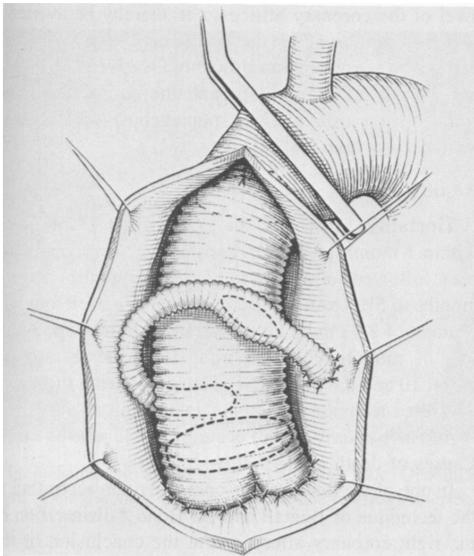


Figura 9. Técnica Original de Cabrol, muestra la anastomosis de ambos ostium coronarios con 1 solo tubo de dacrón de 8 mm, anastomosado en la cara anterior de tubo de “neoaorta”

Obtenida de Cabrol C. Complete replacement of the ascending aorta with reimplantation of the coronary arteries: new surgical approach. J Thorac Cardiovasc Surg, 1981;8(2)1:309–315.

Modificaciones en la técnica de Cabrol

Esta técnica sufriría múltiples modificaciones en los años posteriores, todas dependiente del sitio de anastomosis del tubo proveniente de la coronaria, (Figura

10A) implantación directa de tubos de dacrón cortos por separado en ambas caras lateral del tubo valvulado, (Figura 10B) similar a (Figura 10A) pero con anastomosis directa de tubo de coronaria derecha y separado de la anastomosis del tubo de la coronaria izquierda más largo al tubo valvulado; (Figura 10C) el tubo de la coronaria izquierda más largo se anastomosa al tubo de la coronaria derecha en "T", y (Figura 10D) dos tubos largos de 10 mm se anastomosan a un tubo valvulado con una prótesis en posición supraanular.

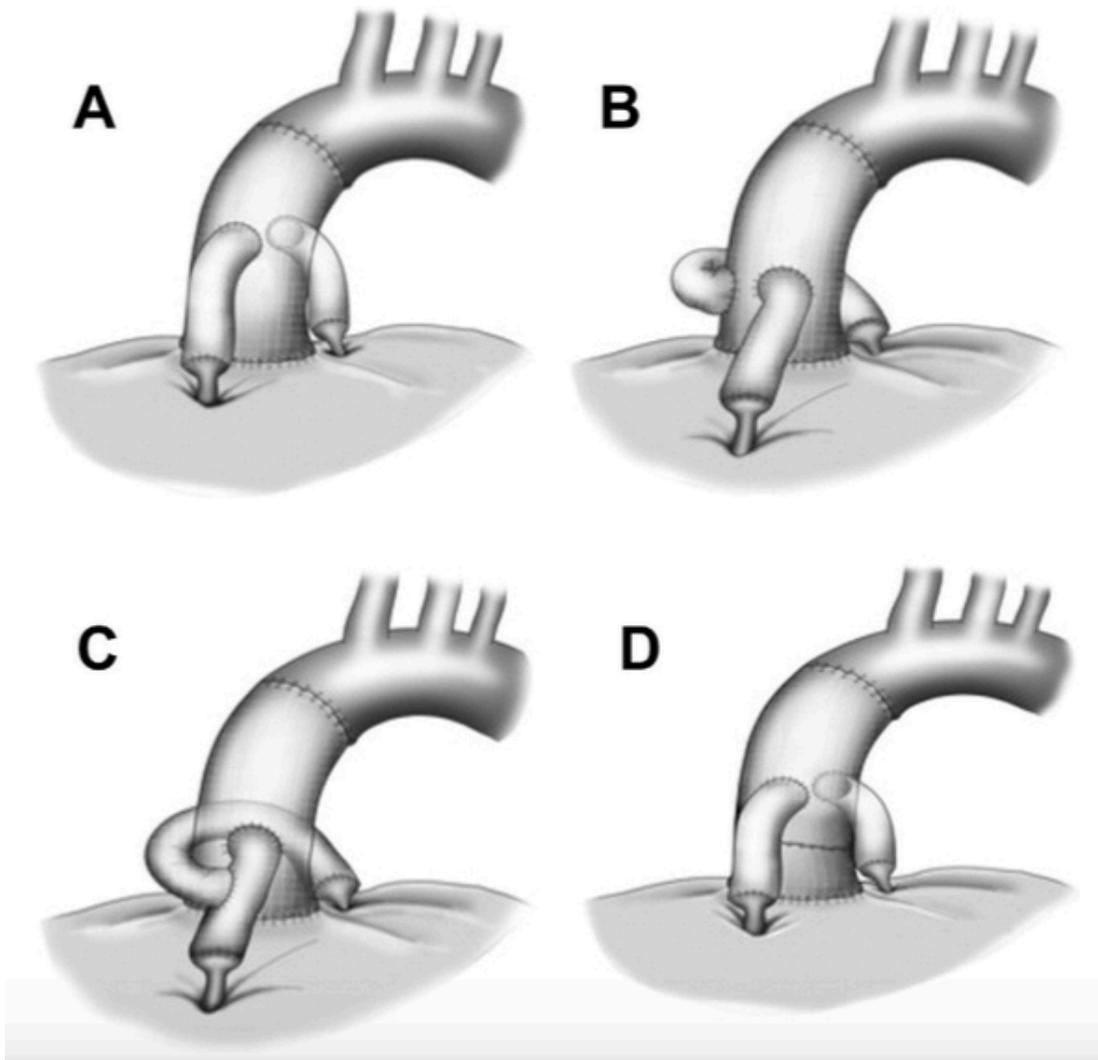


Figura 10 A-B-C-D. Modificaciones en la Técnica de Cabrol.

Obtenida de Kourliouros A, et al. *Evolution and current applications of the Cabrol procedure and its modifications.* *Ann Thorac Surg.* 2011;91(5):1636-1641.

En la actualidad la técnica de Cabrol tiene un uso limitado, básicamente en condiciones que comprometen una anastomosis libre de tensión entre los ostium coronarios y el tubo valvulado, como en reoperaciones donde el bajo origen de los ostium coronarios (1,5 cm del plano anular), la aorta fuertemente calcificada, disecciones y/o aneurismas grandes con amplia separación de las coronarias que limiten la movilidad de la coronaria al tubo. Además, otra aplicación de esta técnica puede ser cuando la disección del ostium sea difícil o con una coronaria desgarrada que no se puede implantar en el método de botón convencional puede requerir el uso de la anastomosis aortocoronaria de Cabrol. (Kourliouros, 2011)

Técnica de David

Tirone David en Toronto Canadá en el año 1992, hace la primera publican de su técnica quirúrgica, donde describe que la aorta ascendente se corta más allá de la dilatación aneurismática. La aorta proximal se disecciona circunferencialmente debajo de la válvula aórtica. Se resecan los tres senos de Valsalva, dejando 5 a 7 mm de pared arterial unida a la válvula aórtica y un pequeño botón de pared arterial alrededor de las arterias coronarias izquierda y derecha. (Figura 11)



Figura 11. Técnica de David Original. Muestra el aneurisma y la resección del mismo respetando la válvula aórtica y sus comisuras.

Obtenida de David TE, Feindel CM. An aortic valve-sparing operation for patients with aortic incompetence and aneurysm of the ascending aorta. J Thorac Cardiovasc Surg 1992;103(4):617-621.

Se pasaron múltiples suturas de poliéster 4-0 desde adentro hacia afuera del tracto de salida del ventrículo izquierdo inmediatamente debajo de la válvula aórtica (Figura 12).

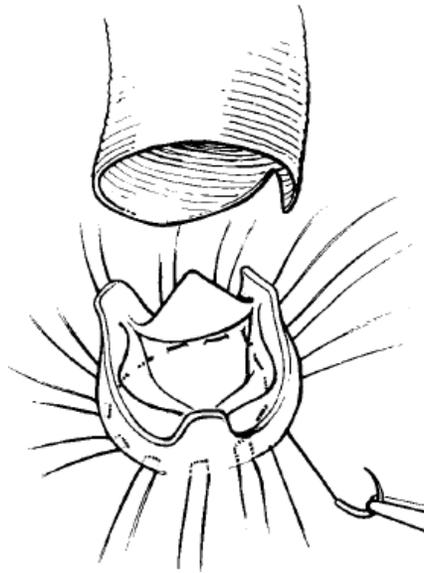


Figura 12. Válvula aórtica nativa con cúspides y puntos separados de poliéster 2-0 en posición subanular.

Obtenida de David TE, Feindel CM. An aortic valve-sparing operation for patients with aortic incompetence and aneurysm of the ascending aorta. J Thorac Cardiovasc Surg 1992;103(4):617-621.

A continuación, se mide la altura de las comisuras, y se promedia el radio interno de la unión ventrículo-aórtica, que corresponde a dos tercios de la altura de la valva, donde el diámetro interno en el nivel más bajo de las valvas de la válvula aórtica es el doble de este número. El diámetro externo se obtuvo mediante la adición de 4 a 6 mm (el grosor de la pared arterial). (Ejemplo, si la altura de la valva fue de 18 mm, el radio interno se calculó como dos tercios de 18 mm, lo que equivale a 12 mm. El

diámetro interno es de 24 mm y el diámetro externo de 28 a 30 mm adicionando los 4-6 cm del grosor de la pared).

Se elige el tubo dacrón, cuyo diámetro era igual al diámetro externo calculado de la unión ventriculoaórtica. Se hacen tres marcas equidistantes en el tubo, y se hace un orificio en uno de estos tercios correspondientes a la comisura de los ostium coronarios derecho e izquierdo. Las suturas de poliéster previamente colocadas se pasan a través del tubo de dacrón. La válvula aórtica se coloca dentro del tubo de dacrón y todas las suturas se anudan.

Luego, comenzando en el nivel más bajo de las valvas, el remanente de la pared arterial se une al tubo de dacrón con sutura continua de polipropileno 4-0, quedando la válvula nativa reimplantada en este. (Figura 13)

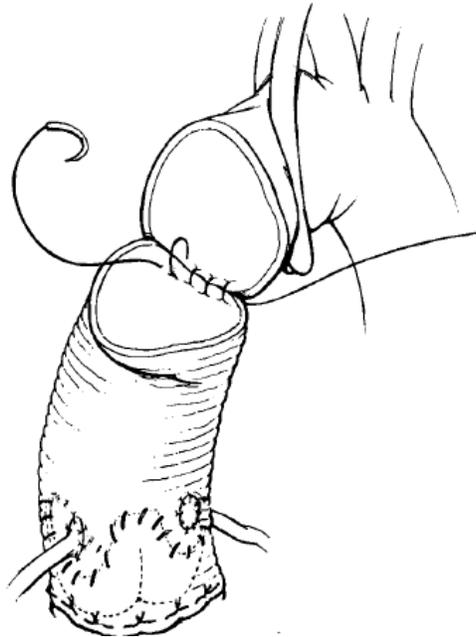


Figura 13. Válvula aórtica nativa con cúspides y puntos separados de poliéster 2-0 en posición subanular.

Obtenida de David TE, Feindel CM. An aortic valve-sparing operation for patients with aortic incompetence and aneurysm of the ascending aorta. J Thorac Cardiovasc Surg 1992;103(4):617-621.

Se realiza prueba hidráulica para verificar la competencia de la válvula aórtica. Las arterias coronarias se anastomosan en el tubo de dacrón con una sutura continua de polipropileno 5-0. Luego se anastomosó el extremo superior del tubo de dacrón a la aorta ascendente con sutura continua de polipropileno 4-0 como lo muestra la figura 13. Figura 14 A-B Es un ejemplo de procedimiento de David V realizado en el Instituto Nacional de Cardiología, año 2019. (David, 1992)

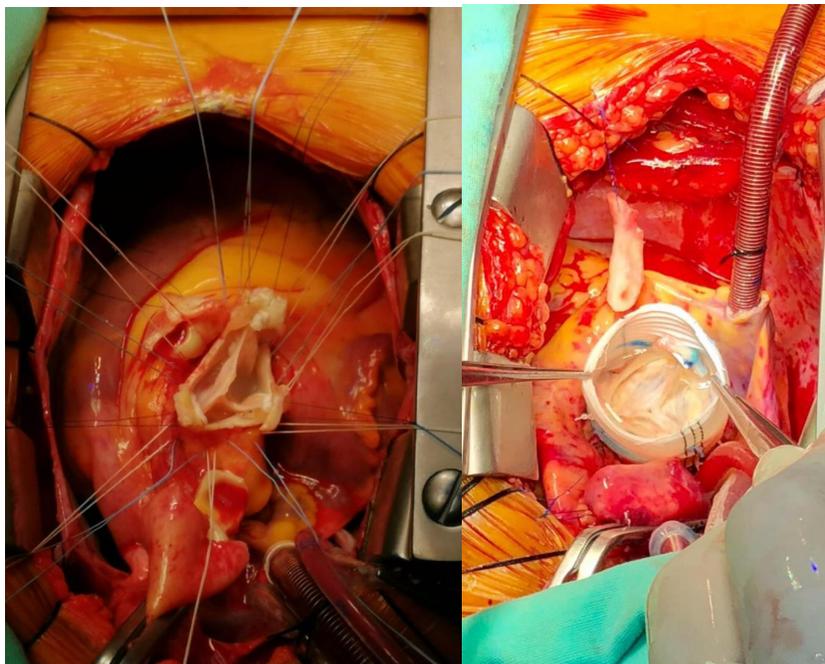


Figura 14. Técnica de David V. Resuspensión de válvula aórtica, uniendo cúspides valvulares a tubo de dacrón.

Cirugía realizada en Instituto Nacional de Cardiología, 2019, Xicoténcatl Vásquez.

Modificaciones en la técnica de David

La técnica de David en 28 años ha sufrido alrededor de 5 modificaciones, pasando de la técnica de David original descrita previamente y también llamada David I, al David V usado en la actualidad. Todas estas modificaciones han sido en base a mejorar la hemodinamia del complejo válvula aortica-raíz aortica-aorta ascendente, haciéndola más anatómica y fisiológica. (Amer, 2019)



Figura 15 A. David I

David I, técnica de reimplante valvular con tubo de dacrón, descrita previamente. (Fig. 15 A)



Figura 15 B. David II o Yacoub

David II, realizado por Yacoub, es una técnica de remodelado valvular, respetado la válvula aortica y comisuras, reemplazando los senos de Valsalva con un tubo dacrón con tres velos. (Fig. 15 B)

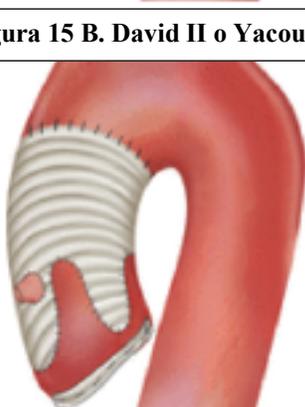


Figura 15 C. David III

David III, es una técnica de remodelado valvular que incorpora una tira de politetrafluoroetileno que se coloca externamente en unión ventrículo-aorta, para minimizar la dilatación anular posterior. (Fig. 15 C)

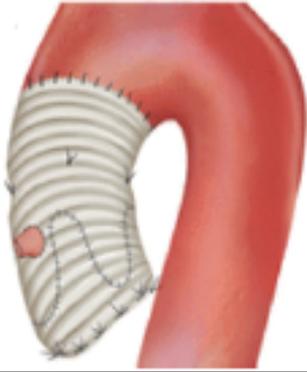


Figura 15 D. David IV

David IV, es una técnica de reemplazo valvular que utiliza un tubo de dacrón más grande (4 mm más grande que el predicho por la fórmula Feindel-David), con la posterior plicatura del tubo en la unión sinotubular por encima de las comisuras. Con el fin de simular la raíz aortica con senos de Valsalva. (Fig. 15 D)



Figura 15 E. David V

David V, la más utilizada actualmente, es una técnica de reemplazo valvular, en la cual se usa un tubo de dacrón aún más grande (6–8 mm más grande que el predicho por la fórmula Feindel-David) al cual también se le realiza una plicatura para recrear la raíz aortica con senos de Valsalva. (Fig. 15 E)



Figura 15 F. David V modificada por Stanford

La modificación de Stanford es un procedimiento simplificado de David V que usa 2 tubos de dacrón separados, el proximal que es más grande, así como uno distal que se une a aorta ascendente más chico, con el fin de crear una “neoraíz aortica”

Así como también utiliza de 10 a 12 suturas en el plano subanular aórtico para fijar el tubo de dacrón. (Fig. 15 F)

Obtenidas de Amer H, et al, Valve sparing aortic root surgery: from revolution to evolution? J Vis Surg, 2019;5(14):1-15.

Técnica de Florida Sleeve

La técnica de Florida sleeve, una de las últimas técnicas quirúrgicas diseñada para el manejo del aneurisma de raíz aórtica y aorta ascendente nace en 2005 en Geinsville, en el hospital de la universidad de florida.

La cirugía se inicia cortando de forma circular la aorta ascendente a nivel de la unión sinotubular, respetando raíz aórtica, posteriormente se disecciona la aorta hasta la unión ventrículo-aorta, incluyendo la exposición por debajo de las arterias coronarias. El anillo se mide utilizando dilatadores Hegar o medidores de válvulas, sin dañar las valvas. Se colocan 6 suturas de poliéster trenzado 2-0 en "U" algunos milímetros por debajo del anillo aórtico (Figura 16 A). Estas sirven para anclar el tubo de dacrón al plano válvula. Mismo que se coloca cuidadosamente como una manga sobre la raíz aórtica, donde previamente fueron medidos de la unión aortoventricular a las arterias coronarias, para confeccionar los orificios con forma de "cerradura" los niveles correspondientes, aproximadamente a 1 cm.

Se coloca un dilatador Hegar del tamaño del anillo deseado se coloca a través del anillo, se anudan las suturas. Luego se retira el dilatador Hegar y se suturan las hendiduras en el tubo de dacrón debajo de las arterias coronarias para asegurar la envoltura y estabilización completa de la raíz aórtica. Las valvas se inspeccionan para detectar coaptación, y la manga se corta al nivel de la unión sinotubular, para posteriormente la unión sinotubular y la parte superior del dacrón se suturan juntas usando una sutura continua de polipropileno 4-0 (Figura 16B). Luego se sutura el tubo de dacrón y la aorta en la unión sinotubular o aorta ascendente usando una sutura de polipropileno 3-0. (Hess, 2005)

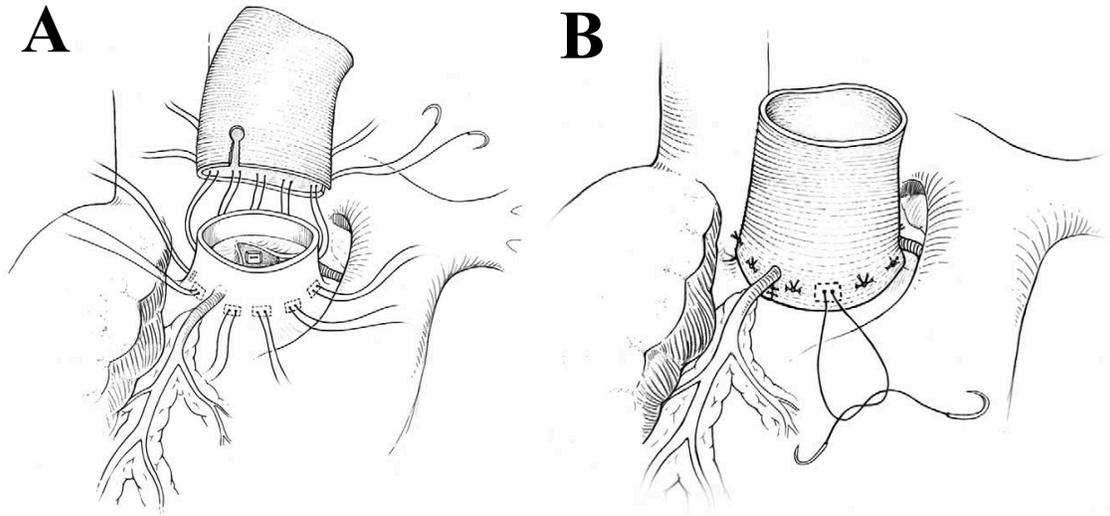


Figura 16 A-B. Técnica de Florida Sleeve.

Obtenida de Hess PJ Jr, Klodell CT, Beaver TM, Martin TD, The Florida sleeve: a new technique for aortic root remodeling with preservation of the aortic valve and sinuses. Ann Thorac Surg, 2005;80(2):748-750.

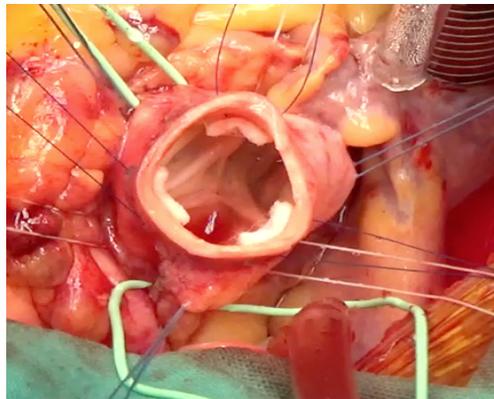


Figura 17. Técnica de Florida Sleeve. Preservando válvula aortica, con puntos de poliéster en subanulares.

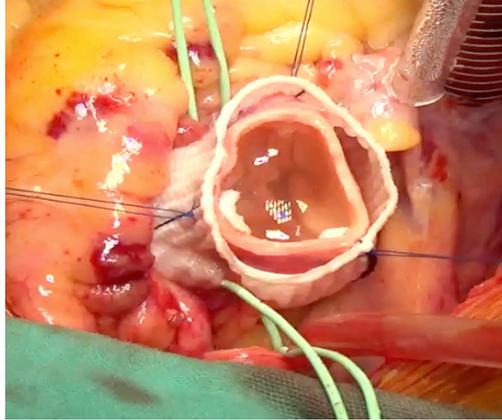


Figura 18. Tubo de dacrón con senos de Valsalva, confeccionado artesanalmente con hendiduras para ambas coronarias.



Figura 19. Tubo de dacrón unido a unión ventrículo-aorta, envolviendo raíz aortica.

Cirugía realizada en Instituto Nacional de Cardiología, Ignacio Chávez, 2018, Xicoténcatl Vásquez.

Disfunción endotelial

En el sistema vascular de los mamíferos, el endotelio es la única estructura anatómica que responde de forma directa a las fuerzas físicas del flujo sanguíneo. Entre las principales funciones del endotelio puede mencionarse su participación en el balance de mediadores inflamatorios y anti-inflamatorios, así como en la regulación del tono vascular. Uno de los principales factores para la pérdida de este equilibrio regulador es la alteración en la producción de NO que caracteriza la disfunción endotelial (Torres, 2009).

La producción basal de NO en la célula endotelial es principalmente a través de la

activación de la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS), la cual depende de gradientes de Ca^{2+} intracelular, una vez activada, cataliza la oxidación enzimática del aminoácido *L*-arginina a *L*-citrulina, teniendo como subproducto de reacción al NO. En este proceso catalítico, participan cofactores como el NADPH y la tetrahidrobiopterina (Torres, 2009).

Cuando el sustrato de la síntesis de NO, es insuficiente, la transferencia de electrones se desvía al O_2 , y se forman aniones superóxido (O_2^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), las cuales son altamente reactivas y dañan a la membrana celular (Meaney, 1999). Además el desacoplamiento de la eNOS, produce O_2^- y NO simultáneamente, bajo esta circunstancia, la eNOS puede convertirse en generadora de peroxinitrito, (ONOO^-) (Cai, 2000).

Estrés Oxidante

Una vez superados los mecanismos antioxidantes del organismo, es imposible inactivar la reactividad química de las especies reactivas de oxígeno (ERO) presentándose el estado metabólico de estrés oxidante (EOx), el cual se define como el desequilibrio entre los sistemas oxidantes y los antioxidantes. Con el fin de considerar la intensidad y el grado de afectación en la salud, el proceso de EOx puede dividirse en tres etapas o niveles de progresión o intensidad (adaptación, agudo y crónico), tomando en consideración las características del daño estructural y funcional ejercido como consecuencia de la reactividad de las diferentes ERO, así como el tiempo de exposición a las mismas y las evidencias de modificaciones en los procesos biológicos (Hicks, 2006).

El deterioro celular producido por el EOx es responsable de diversas enfermedades crónicas degenerativas, como el Alzheimer, Parkinson, enfermedad de Huntington, lesión cerebral hipertensiva, distrofia muscular, esclerosis múltiple, cáncer, degeneración de la retina, enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide, diabetes, síndrome metabólico, anomalías cardiovasculares, hipertensión, trastornos nefrológicos, enfisema pulmonar, infarto, anemia, hepatitis, pancreatitis, envejecimiento prematuro, disfunción endotelial y dermatitis, entre otras (Martínez, 2005; Delgado, 2010; Pisoschi, 2015).

Especies Reactivas de Oxígeno

Las ERO pueden oxidar de manera directa y dañar al ADN, proteínas, lípidos de membrana e inactivar a las enzimas antioxidantes, además de aumentar la expresión de genes proinflamatorios e inducir daño celular y apoptosis (Fletcher, 2015).

Si bien el oxígeno es imprescindible para el metabolismo y las funciones del organismo, no se deben olvidar los muchos efectos tóxicos que posee (Venero, 2002).

El término ERO se aplica colectivamente a las moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes (Avello, 2006). Las ERO son moléculas químicamente reactivas derivadas del oxígeno, englobando también a los radicales libres (RL) y a otras especies no radicales que pueden participar en reacciones que llevan a la elevación de agentes pro oxidantes, entre ellas se encuentran:

- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
- Oxígeno singlete (1O_2)
- Peróxilo (R-OO)
- Semiquinona (Q)
- Hipoclorito (OCl-) (Venero, 2002; Chirino, 2006; Hernández, 2009; Cai, 2010; Rahal, 2014).

Radicales Libres

La mayor parte de los compuestos químicos de importancia biológica están formados por átomos unidos por enlaces covalentes, en estos enlaces dos átomos comparten un par de electrones en el último orbital molecular y cada electrón muestra rotación o giro opuesto a su par. En las células se llevan a cabo reacciones químicas que rompen estos enlaces de manera heterolítica, haciendo que una de las partes conserve dos electrones y la otra tenga deficiencia de dos electrones, lo cual genera compuestos estables nucleofílicos o electrofílicos respectivamente, que son los aniones y cationes. Sin embargo, algunas reacciones químicas, la radiación electromagnética y otros factores, pueden romper estos enlaces de forma homolítica, proceso después del cual cada parte conserva un solo electrón que estará desapareado, generándose así los RL (Quintanar, 2009).

En sentido estricto los RL representan cualquier especie química de existencia independiente que posee un electrón desapareado, girando en su orbital atómico externo. Esta configuración electroquímicamente inestable, les confiere la propiedad de ser una especie química altamente agresiva y de vida corta, por lo que actúan cercano al sitio en que se forman (Pérez, 2000; Chihuilaf, 2002; Venero, 2002).

Diversos autores han clasificado a los RL de acuerdo con el grupo funcional presente. El tipo más frecuente es el RL de oxígeno, en cuya estructura está presente como centro funcional. De menor preponderancia son los radicales tioles, que se caracterizan por contener azufre como grupo reactivo, otros RL descritos contienen nitrógeno, carbono, fósforo.

El grupo de RL de oxígeno está constituido por anión radical O_2^- , hidróxido ($\cdot OH$), radical hidroperoxilo ($HO_2\cdot$), RO_2 y radical alcoxi ($RO\cdot$), especies radicales que son de interés biológico (Chihuilaf, 2002; Martínez, 2005). Estos radicales se generan en las células fundamentalmente por reacciones con transferencia de electrones, estos pueden ser mediados por la acción enzimática o producirse sin la intervención de enzimas, a menudo con la colaboración de iones metálicos de transición como hierro, cobre reducidos (reacciones de Fenton y Haber Weiss, respectivamente) (Martínez, 2005).

La vida media biológica de los RL es de microsegundos, a pesar de esto, pueden reaccionar rápidamente con todo lo que esté a su alrededor, provocando daño a macromoléculas y a estructuras celulares como las membranas. Los RL tienen diferente vida media, siendo siempre bajas pero suficientes para difundir y actuar en organelos o células vecinas (Quintanar, 2009).

Fuentes de Producción de Especies Reactivas de Oxígeno

Estas especies se generan continuamente en las células aerobias a través de múltiples vías y procesos entre ellos están:

- Mitocondria: Durante el metabolismo aeróbico normal, las mitocondrias son importante fuente de ERO, consumen oxígeno molecular y lo reducen secuencialmente hasta producir agua. Una pequeña fracción del oxígeno se

metaboliza vía reducción univalente y los inevitables productos intermedios de esta son; O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$, (Rahal, 2014) y a través del desacoplamiento o fuga de electrones provenientes de los complejos I y II mitocondriales de la cadena respiratoria (Hernández, 2009).

- NAD(P)H oxidasas: Neutrófilos, monocitos, macrófagos, fibroblastos de la túnica adventicia, células de músculo liso vascular y endoteliales contienen NADPH oxidasas asociadas a la membrana plasmática, estas enzimas utilizan NADH o NAD(P)H como donadores de electrones para generar O_2^- (Ceballos, 2006)
- eNOS: Es un homodímero, cada monómero está constituido por un dominio de reductasa (con sitios de enlace para NADPH, FAD Y FMN,) y por un dominio oxigenasa (conteniendo Zn, tetrahidrobiopterina, hemo y L-arginina) que están unidas por una región a la que se enlaza la tetrahidrobiopterina, la eNOS puede desacoplarse y reducir O_2 en lugar de transferir electrones a la arginina, generando O_2^- (Ceballos, 2006), esta enzima tiene un papel dominante en las enfermedades cardiovasculares (Yang, 2010).
- Peroxisomas: Contienen acil-coA oxidasa, dopamina- β -hidroxilasa, urato oxidasa y otras, generan H_2O_2 como producto intermedio.
- El citocromo P-450: Constituye una defensa primaria contra varios xenobióticos y sustancias endógenas que aumentan la producción de RL (Rahal, 2014).
- Xenobióticos: el paracetamol, el tetracloruro de carbono, la furosemida, el humo de cigarrillos y la radiación solar, producen RL (Venero, 2002).
- Metales de transición: El Fe^{2+} y Cu^+ son catalizadores fuertes para reacciones de oxidación en la presencia de hidroperóxidos.
- Otros oxidantes: A los radicales lipoperoxilo se les propone como los principales mediadores de la peroxidación lipídica (Ceballos, 2006).

Especies reactivas de nitrógeno

Las especies reactivas de nitrógeno (ERN) se producen principalmente en reacciones metabólicas en el citosol, especialmente en las células endoteliales de

los vasos sanguíneos y como producto de la acción de la familia de las sintasas del óxido nítrico.

Las ERN, fueron inicialmente descritas como responsables del proceso de contracción de las células del músculo liso en los vasos sanguíneos y actualmente han sido involucradas en los procesos de regulación del metabolismo de las neuronas (Gutiérrez, 2006).

Entre las ERN se encuentran; el NO y el dióxido nítrico (NO_2). El NO radical de importancia fisiológica esencial en funciones biológicas complejas como la neurotransmisión y neuroregulación del sistema nervioso, así como en procesos de agregación plaquetaria y coagulación sanguínea, con el oxígeno genera NO_2 y con el O_2 forma ONOO^- (Quintanar, 2009), el cual puede oxidar diversas moléculas. El ONOO^- puede descomponerse en radicales OH independientemente de la presencia de metales de transición. La forma protonada del peroxinitrito (ONOOH) es un fuerte agente oxidante, el cual consume a los grupos sulfhidrilos, ocasiona daño oxidativo en varias biomoléculas, actuando de forma similar al OH. También es responsable de rupturas de ADN, oxidación de proteínas y nitración de aminoácidos aromáticos (Pisoschi, 2015).

Sintasas de óxido nítrico

La familia de las sintasas de NO está formada por tres isoformas; Neuronal (nNOS), NOS inducible (iNOS) y NOS endotelial (eNOS). El gen *NOS1* codifica a la nNOS, cuya importancia cardiovascular es menor, pues la enzima se produce en el músculo estriado pero no en los miocitos cardiovasculares. También se encuentra en las terminaciones nerviosas de las fibras colinérgicas y adrenérgicas, en epitelios y en el sistema de conducción cardiaco. Por su parte, el gen *NOS2* codifica la iNOS, se localiza en macrófagos, fibroblastos, endotelio, miocitos vasculares y cardiacos. Se le llama sintasa inducible porque solo se expresa en las células que han sido activadas previamente por diferentes citocinas (Meaney, 1999). La iNOS genera altos niveles de NO que promueven el EOX (Starke, 2013).

Finalmente el gen *NOS3* codifica a la eNOS, que es producida en el endotelio. A diferencia de la iNOS, la eNOS es expresada en forma constitutiva, es decir sin que

las células que la producen tengan que ser activadas por citocinas. Por ello, la eNOS realiza las funciones normales del endotelio. Las ERO reaccionan con el NO, lo que tiene primordial importancia para comprender los procesos oxidativos que se lleva a cabo en la pared vascular y las acciones contra reguladoras de los antioxidantes (Meaney, 1999).

Papel Fisiológico de las Especies Reactivas de Oxígeno

Ha sido descrito que en bajas concentraciones las ERO se relacionan con algunas respuestas celulares a agentes patógenos (bacterias, protozoos, virus), además de la función de numerosos sistemas de señalización celular así como respuesta mitogénica, síntesis de colágeno, síntesis de prostaglandinas, disminución de la síntesis de catecolaminas, modificaciones de las biomembranas y favorecen la quimio taxis (Venero, 2002; Echeverri, 2010).

Daño a Moléculas Biológicas

Por otra parte, las ERO a altas concentraciones ocasionan daño a los ácidos nucleicos, proteínas y a los fosfolípidos de la membrana celular. La interacción de las ERO con estas moléculas producirá en ellas modificación estructural, que se traducirá en alteración funcional de importancia biológica con consecuencias irremediables a corto, mediano o largo plazo (Paredes y Roca, 2002; Echeverri, 2010; Cruz, 2011).

Lípidos

La peroxidación lipídica (LPO) es la oxidación en cadena de los lípidos poliinsaturados originada por RL, esta reacción forma un radical lipídico que después, puede reaccionar con el oxígeno para originar el R-OO. Este a su vez puede reaccionar con otros ácidos grasos de la membrana, formando otros radicales lipídicos, transformándose el mismo en hidroperóxido (R-OOH). El R-OOH, en presencia de varios complejos metálicos, se puede descomponer en más radicales, incluyendo entre ellos al OH, lo que provoca un fenómeno de expansión del daño y propagación de la peroxidación.

En ausencia de iones metálicos los R-OOH se pueden acumular en la membrana y con esto alterar su función. También se pueden transformar en hidrocarburos volátiles, alcoholes o aldehídos como el 4-hidroxinonanal (4-HNE) y

malondialdehído (MDA) entre otros (Chihuailaf, 2002), los cuales se difunden lejos del lugar donde se originaron, ocasionando daños a otras macromoléculas. Dentro del proceso de la LPO, los RL que se forman pueden causar también daño a las proteínas de la membrana celular (Quintanar, 2009).

Proteínas

Las proteínas, péptidos y aminoácidos también constituyen un blanco para las ERO, su acción es menos dramática en comparación de los lípidos, debido al lento progreso de las reacciones. La acción de las ERO sobre las proteínas se ejerce sobre los enlaces insaturados, los anillos aromáticos de los aminoácidos y los grupos tiol. De esta forma, proteínas ricas en determinados aminoácidos (triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína) pueden sufrir modificaciones estructurales y funcionales. Los grupos sulfhidrilo pueden ser transformados en puentes disulfuro, lo que produce inactivación enzimática (Zorrilla, 2002). Los productos del daño oxidativo de proteínas son la formación de H_2O_2 y carbonilos (Chihuailaf, 2002).

Ácido Desoxirribonucleico

Los daños en el ADN pueden provocar la detención del ciclo celular (arresto celular), inducción de la transcripción, estímulo de vías de señalización, errores en la replicación e inestabilidad genómica, procesos asociados con la carcinogénesis y oxidación del genoma. Se sabe que el daño oxidativo sobre el ADN producido específicamente por el OH, conduce a diversas modificaciones, principalmente en la desoxirribosa, provocando liberación de las bases nitrogenadas que se encuentran unidas a este azúcar, (Delgado, 2010) esto produce la fragmentación de una o ambas cadenas ocasionando deleciones que dan como resultado mutaciones, reordenamientos cromosómicos, activación o inactivación de genes, fragmentación de cadena sencilla y en el momento de la replicación esta fragmentación influye en la erosión telomérica acelerando el acortamiento (Venero, 2002; Echeverri, 2010). Además, si los sistemas de reparación del ADN son superados, por el EOX se puede inducir el proceso de apoptosis, cuando la

reparación es imposible o el daño fue extensivo, estas modificaciones pueden conducir a la mutagénesis y carcinogénesis (Lee, 2004; Quintanar, 2009).

Sistema antioxidante

Para aminorar el daño producido por las ERO, las células tienen un sistema antioxidante capaz de estabilizar a los RL y neutralizar sus efectos, entre las enzimas antioxidantes están; la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión-S-transferasa (GST), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR), Tiorredoxina reductasa (TrxR) entre otras. Además de un complejo de moléculas antioxidantes como la vitamina C, vitamina E, polifenoles y el glutatión (GSH).

Glutatión

Por otra parte, una de las moléculas antioxidantes es el GSH que consiste del tripéptido formado por los aminoácidos: ácido glutámico, glicina y cisteína (Glu-Gly-Cys), tiene un enlace γ -glutamilo y un grupo tiol libre. El primer enlace impide que el GSH sea hidrolizado por las α -peptidasas. El segundo hace que el GSH sea extraordinariamente reactivo con otras sustancias (Cisneros, 2011). Tiene importantes funciones como antioxidante, es parte de la detoxificación de xenobióticos, cofactor para las reacciones de isomerización, almacenamiento y transporte de cisteína, proliferación celular y participa en la apoptosis, ya que la disminución de la cantidad de GSH es permisiva para la activación de caspasas. Una función muy importante del GSH es mantener el potencial de óxido-reducción de la célula, ya que mantiene en estado reducido los grupos tiol de las proteínas y así permite la generación de diversas cascadas de señalización intracelular. (Martínez, 2006).

Durante la detoxificación de las ERO, el GSH está involucrado en dos tipos de reacciones: la interacción no enzimática con radicales como el anión O_2^- , $NO\cdot$, y radical OH. Otra forma es proporcionando un electrón para la reducción de H_2O_2 en la reacción catalizada por la GPx. El producto final de la oxidación de GSH es el disulfuro de glutatión (GSSG, constituido por dos moléculas de GSH unidas por un puente disulfuro) el cual es regenerado por la GR enzima que transfiere electrones del NADPH al GSSG, reduciendo esta molécula. Durante las reacciones catalizadas

por la GPx y la GR el GSH no es consumido, pero es reciclado y así puede de nuevo ser utilizado cuando se requiera. Por otro lado, durante la generación de conjugados S-GSH por la GST o por la liberación de GSH, el nivel total de GSH disminuye dentro de la célula. Por lo tanto, el GSH utilizado para esos procesos tiene que ser reemplazado por síntesis de novo (Martínez-Samano, 2011).

Enzimas antioxidantes

Superóxido dismutasa

La SOD, tiene importantes funciones antioxidantes en la conversión de radicales O_2^- en H_2O_2 y O_2 seguida de degradación adicional del H_2O_2 el cual es fácilmente metabolizado a agua mediante CAT y GPx. Se han descrito tres isoformas de SOD en humanos, que incluyen a la SOD1: SOD cobre-zinc (SOD Cu-Zn), la SOD2: SOD Manganeso (SOD-Mn) y la SOD3: SOD Extracelular (EC-SOD) (Vargas, 2009).

La SOD Cu-Zn es un homodímero encontrado en el citosol del medio intracelular, la SOD-Mn se sintetiza en el citosol antes de transportarse a las mitocondrias, donde el homotetrámero activo es para neutralizar los RL producidos durante el metabolismo aerobio su expresión es inducida por estímulos mecánicos, químicos y biológicos como el choque térmico, radiaciones ultravioleta, metales pesados y EOx, por último la EC-SOD es un tetrámero encontrado de modo exclusivo en dominios extracelulares (Cota, 2014).

Catalasa

La CAT, es una enzima antioxidante en la defensa del organismo contra el EOx, se encuentra dentro de los peroxisomas de las células y el citoplasma de los eritrocitos. Se expresa en todos los tejidos, mayormente en el hígado y los riñones. La CAT consiste en cuatro subunidades idénticas que contienen en el sitio catalítico un grupo hemo (Peraza-Reyes 2008), a diferencia de otras enzimas que requieren de sustrato reducido, las catalasas dismutan el H_2O_2 en agua y di oxígeno evitando que se forme el radical OH y 1O_2 (Díaz, 2003)

La CAT contiene moléculas de NADPH y se caracteriza por su alta capacidad de reacción pero poca afinidad al sustrato. Tiene dos funciones, catalítica y peroxidativa. En la reacción catalítica utiliza como donadores a otras moléculas de

H₂O₂ (Cota, 2014), en la reacción peroxidativa utiliza como donadores de hidrógeno al metanol, etanol, ácido fórmico, fenol y formaldehído. La primera reacción tanto del mecanismo catalítico como peroxidativo es heterólisis o rompimiento de los enlaces oxígeno-oxígeno, en la reacción catalítica se transfieren dos electrones de la enzima a un oxígeno para formar agua (Peraza-Reyes 2008).

Glutación peroxidasa

La GPx es el nombre genérico de un grupo de isoenzimas dependientes de selenio que poseen una triada catalítica compuesta de selenio-cisteína, glutamina y triptófano; se conocen cuatro enzimas mayoritarias en los tejidos de los mamíferos, son dependientes de selenio, catalizan la reducción de H₂O₂ y también la reducción de lipoperóxido, utilizando GSH como agente reductor (Lubos, 2011; Cota, 2014). Tres de ellas son tetraméricas (GPx-1, -2 y -3) y una monomérica (GPx-4), GPx-1 es citosólica, GPx-2 gastrointestinal, GPx-3 plasmática y GPx-4 de hidroperóxidos de fosfolípidos (Cota, 2014).

La capacidad reductora de las GPx se basa en altas concentraciones de GSH. Durante el mecanismo catalítico de la GPx el selenol reacciona con el peróxido para dar ácido selénico, aquí es donde se une el primer GSH formando agua y la conjugación de proteína Se-SG, se enlaza a un segundo GSH produciendo Se-GH mas H⁺ y el GSSG. El GSSG formado durante la reacción es reducido por la enzima GR utilizando NADPH como cofactor, (Cárdenas- Rodríguez *et al.*, 2008).

Todas las isoformas de GPx pueden reducir el H₂O₂, peróxidos de alquilo, hidroperóxidos de ácidos grasos. Sin embargo, GPx-4 también reduce hidroperóxidos en lipoproteínas y lípidos complejos tales como los derivados de ésteres de colesterol, colesterol y fosfolípidos (Zuluaga, 2012).

Tiorredoxinas

La tiorredoxina reductasa (TrxR) es una seleno proteína que actúa como enzima antioxidante, facilitando la reducción de otras proteínas a través de un intercambio tiol-disulfuro por las dos seleno-cisteínas vecinas que posee. Estas seleno-cisteínas son la clave para la capacidad de la tiorredoxina de reducir a otras proteínas.

Glutación-S-transferasa

La familia de las GST son multifuncionales localizadas en el citosol, las mitocondrias y la membrana celular. Son enzimas de desintoxicación fase II que mediante conjugación con el GSH, metabolizan xenobióticos, contaminantes, y los subproductos del EOX, (Galleguillos, 2012). Esta enzima cataliza la conjugación del grupo sulfhidrilo entre el grupo tiol del GSH y gran número de especies electrofilicas en sustratos hidrofóbicos. Esta conjugación aumenta la solubilidad del producto facilitando su excreción de la célula (Vararattanavech, 2003).

Glutación reductasa

La GR es homodimérica compuesta por dos unidades idénticas entre sí unidas por un puente disulfuro. El sistema antioxidante GPx y GR está relacionado con otros sistemas antioxidantes como la SOD/CAT. Se ha observado que ambos sistemas no actúan a la par, la CAT actúa en presencia de altas concentraciones de H₂O₂ y a bajas concentraciones actúa la GPx. La actividad de la CAT y de la GPx esta inversamente correlacionada, mientras que la CAT y GR presentan correlación positiva. La GR permite mantener concentraciones de GSH en la célula no solo para ser utilizado por la GPx en la eliminación del H₂O₂, este GSH es de utilidad en la recuperación de las vitaminas C y E luego de participar en la eliminación de RL generados *in situ* o a distancia.

Selenio

El selenio (Se) es un micronutriente, se encuentra en el pan, los cereales, el pescado, las carnes, las lentejas, la cáscara de las patatas y los huevos. Está presente en el aminoácido selenocisteína y también se puede encontrar como selenometionina, reemplazando al azufre de la cisteína y la metionina respectivamente. Forma parte de la GPx, yodotironina deiodinasa y TrxR.

El Se, ayuda a neutralizar los ERO, Las investigaciones realizadas sugieren la existencia de correlación entre el consumo de suplementos de Se y el aumento de la capacidad antioxidante. La deficiencia de Se es relativamente rara, pero puede darse en pacientes con disfunciones intestinales severas o con nutrición exclusivamente parenteral, así como en poblaciones que dependan de alimentos

cultivados en suelos pobres en selenio. La ingesta diaria recomendada para adultos es de 55-70 μg ; más de 400 μg puede provocar efectos tóxicos.

Antecedentes de Estrés oxidante en Síndrome de Marfan

La incidencia del SM es de 1-3 casos por cada 10,000 habitantes, es una enfermedad compleja causada por múltiples factores, por lo tanto, es posible que el exceso de la producción de las ERO sea factor que contribuya a la degeneración de la pared arterial, disfunción endotelial y formación de aneurisma aórtico (Ramírez, 2012).

Por otro lado, las ERO activan a las metaloproteasas de la matriz, esto implica extensa degradación de la matriz extracelular (Fiorillo, 2010) que se caracteriza por el debilitamiento y dilatación localizada de la pared aórtica lo que sugiere su participación en la patogénesis de los aneurismas aórticos (Ejiri, 2003).

Por otra parte, resultados obtenidos recientemente en nuestro laboratorio indican que en pacientes con SM la actividad de la expresión de las enzimas que utilizan GSH están disminuidas al igual que el FRAP (poder antioxidante de reducción férrico) y el índice de LPO incrementado, mientras que en suero se encontró que el FRAP está disminuido y la carbonilación incrementada. Por otro lado, el mecanismo por el cual se producen las ERO que contribuyen al daño aórtico en el SM no está bien definido. Sin embargo, se ha observado que la expresión de la enzima iNOS esta incrementada al igual que los nitratos y nitritos, lo que indica que parte del daño oxidativo de estos individuos también es causado por ERN (Soto, 2014). Así mismo, en modelos animales se ha observado que la expresión de las enzimas precursoras del O_2^- , xantina oxidasa (ORX) y NADPH oxidasa están incrementadas al igual que la expresión de la iNOS que es precursora del NO en el proceso de inflamación. La tasa de reacción existente entre el NO y el O_2^- es tres veces mayor que la tasa de reacción entre el O_2^- y la SOD, esto promueve la formación del ONOO^- y su acumulación dentro de la célula, lo que incrementa el daño celular por oxidación (Yang, 2010).

Además, recientemente surgieron evidencias sobre el papel del TGF- β , el cual altera la vía de señalización y participa en la patogénesis del SM. Se conoce que la matriz extracelular regula la activación y disponibilidad del TGF- β debido a que existe defecto o deficiencia de fibrilina-1, la matriz extracelular produce mayor liberación y activación de TGF- β y se ha descrito que el Smad-dependiente y el ERK dependiente no canónico de la vía de señalización de TGF- β contribuyen al desarrollo del aneurisma de la raíz aórtica en modelos de ratón con SM (Wilton, 2007).

JUSTIFICACION

En el SLD, variante del SM, las características principales son: la presencia de aneurismas cerebrales, de aorta torácica y abdominal, siendo esta la principal causa de muerte. Publicaciones anteriores en los aneurismas del SM, indican que el EOX participa en la patogenia del tejido aórtico. Sin embargo, en el síndrome SLD no se ha descrito la participación del EOX, en la formación del aneurisma.

Las actividades de las enzimas antioxidantes, incluidas las de las isoformas de SOD, CAT, TrxR y GST disminuyen en los AAT de pacientes con SLD. Estas disminuciones en las actividades enzimáticas favorecen la acumulación de ERO que contribuye a disminuir el GSH y favorece la LPO y la carbonilación. La disminución de Se y Nrf2 también afecta la actividad y / o expresión de algunas de estas enzimas antioxidantes. El aumento de GR no restablece completamente la concentración de GSH, que se refleja en la disminución del TAC y en las enzimas que lo utilizan como cofactor, lo que contribuye y favorece la producción de ERO. Esto conduce a un fondo oxidante de retroalimentación positiva que contribuye a la formación de AAT.

HIPÓTESIS

- Hipótesis alterna
 - ¿En el tejido aórtico de sujetos con SLD la alteración en la homeostasis redox participa en la progresión del aneurisma aórtico torácico?
- Hipótesis nula
 - ¿En el tejido aórtico de sujetos con SLD la alteración en la homeostasis redox no participa en la progresión del aneurisma aórtico torácico?

OBJETIVOS

General

- Analizar la actividad del sistema antioxidante enzimático y no enzimático en el aneurisma aórtico torácico.

Particular

- Identificar el daño de la pared aortica.
- Determinar la actividad de las enzimas: GPx, GR, GST, TrxR, CAT y SOD.
- Cuantificar el índice de LPO, FRAP y GSH.
- Medir la expresión de las enzimas eNOS, ORX y Nrf2.
- Cuantificar la concentración de Se.

MATERIAL Y MÉTODOS

Consideraciones éticas

El protocolo de investigación fue aprobado por el comité de investigación y ética del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” (protocolo institucional numero 09654).

Para cada uno de los pacientes e individuos control se presentó el consentimiento informado de acuerdo con la declaración de Helsinki, modificada en el Congreso de Tokio, Japón (WMA, 2002).

Criterios de inclusión

Pacientes

Hombres y mujeres que ingresaron al Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Los pacientes involucrados en el estudio fueron diagnosticados con SLD por el médico especialista y cumplieron con el criterio de dilatación aneurismática de aorta para ser sometidos a cirugía.

Un total de 10 con el diagnóstico de SLD fueron reclutados entre marzo de 2011 a marzo de 2019.

Controles

Hombres y mujeres que ingresaron al Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, que fueron diagnosticados sin SM o alguna de sus variantes y que se hayan sometido a cirugía.

El total de pacientes que fueron utilizados como control son 11.

Técnica Quirúrgica

La técnica utilizada por nuestro servicio de cirugía cardiotorácica, fue con el paciente en posición decúbito supino, anestesia general balanceada con intubación oro-traqueal, se inició el acto quirúrgico con incisión en el sitio de canulación, ya sea torácica media para canulación arterial central directamente en aorta, o canulación arterial periférica, ya sea subclavicular o femoral, donde se disecciona hasta llegar al paquete vascular y se colocan jareta polipropileno 5-0. Posteriormente, se realiza incisión torácica media, se disecciona por planos hasta esternón, se realiza esternotomía longitudinal total con sierra oscilante, se realiza pericardiotomía, se colocan jaretas con polipropileno polipropileno 3-0 en orejuela derecha y en vena pulmonar superior izquierda para vent de cavidades izquierdas, para canulación venosa central, o en vena femoral se coloca jareta de polipropileno 5-0, para canulación venosa periférica. Heparinización y canulación arterial y venosa, con circulación extracorpórea e hipotermia moderada entre 28°C y 32°C e hipotermia profunda a 18°C para cirugía de arco aórtico. Se realizó pinzamiento aórtico, cardioplejía a 4°C tipo solución de Bretschneider-histidina-triptófano-cetoglutarato (HTK o Custodiol). Con posterior aortotomía y según sea el caso se realiza la técnica quirúrgica necesaria (Resección más sustitución por tubo de dacrón supracoronario como técnica de Wheat, técnicas de sustitución valvular y de aorta ascendente con reimplante de ostium coronario como Bentall o Cabrol o resección aortica con preservación y reimplante valvular tipo David, todas previamente descritas), se obtuvieron muestras de pared de aorta nativa resecada, con un tamaño de entre 1-2 cm², mismos que fueron puestos en solución fisiológica, para posteriormente ser almacenados a -30°C hasta su utilización.

Si bien ninguna de las técnicas quirúrgicas descritas previamente fue planeada para pacientes con aneurismas de aorta y SLD, estas fueron aplicadas en estos pacientes, donde las más usadas en el mundo y también así en nuestro servicio de cirugía cardiotorácica, son el procedimiento de Bentall y el procedimiento de David V. Donde la técnica de Bentall consiste en el reemplazo de la raíz de la válvula aórtica y la aorta ascendente con un tubo de dacrón, al que se anastomosan ambas arterias coronarias en las caras laterales y en uno de sus extremos a una prótesis valvular. (Bentall, 1968) La diferencia entre la técnica de Bentall y la técnica de David tipo 5 es que en esta última, la válvula aórtica nativa y las comisuras valvulares se conservan y se vuelven a implantar dentro del tubo de dacrón. (David, 1992)

Homogeneización de aorta

Las muestras de aorta fueron homogeneizadas con nitrógeno líquido, y politronadas en solución de sacarosa [0.25mM sacarosa, 10mM Tris, 1mM de etilendinitrilotetracetato disódico (EDTA) a pH 7.35], en presencia de inhibidores de proteasas (1 mM PMSF, 2 μ M pepstatina A, 2 μ M leupeptina y 0.1% de aprotinina) después se centrifugó a 2500 rpm durante 10 minutos a 4°C. El sobrenadante fue separado y almacenado a -30°C. La determinación de proteína fue realizada por el método Bradford (Bradford, 1976).

Detección de las enzimas antioxidantes SOD Mn, SOD Cu Zn y CAT en geles nativos de poliacrilamida

La determinación de la actividad de las enzimas antioxidantes se realizó después de haberlas separado mediante geles nativos de poliacrilamida, siguiendo la técnica descrita por Laemmli (1979). El gel concentrador al 4% contenía 2.28 mL de agua des ionizada y destilada, 1 mL de buffer pH 6.7, 0.66 mL de solución de acrilamida/ bisacrilamida 30%, persulfato de amonio a 0.010% y TEMED 0.01% el gel resolvidor al 8% se elaboró con 4.73 mL de agua des ionizada y destilada, 2.53 mL de amortiguador pH 8.9, 2.43 mL de solución de acrilamida/bis-acrilamida 30%, 0.008% de persulfato de amonio y 0.02% de TEMED. Los geles fueron cargados con 100 ng de CAT (Sigma C-40), 100 ng de SOD de hígado de bovino (Sigma S-2515) como estándar y 100 μ g de proteína proveniente de los homogenados de

aorta. La electroforesis se corrió con amortiguador de tris-glicina pH 8.3 a 15- 25 mA.

Al término de la electroforesis y para determinar la actividad de la CAT el gel se lavó con agua destilada por 10 min tres veces, e incubó con H₂O₂ por 10 min, pasado este tiempo se decantó el H₂O₂ y se incubó con una mezcla al 1% de K₃Fe (CN)₆ y 1% FeCl₃·6H₂O por 10 min en la oscuridad y después se lavó con agua destilada.

Para determinar la actividad de la SOD, el gel se incubó con 2.45 mM de NBT (Sigma) por 20 min, después se lavó con una solución que contenía EDTA 28 mM, riboflavina 0.028 mM, en amortiguador de fosfatos 36 mM, pH 7.8, durante 15 min, posteriormente se expuso a una lámpara de luz UV durante 10 min y se enjuagó con agua destilada. Los geles CAT y SOD se analizaron por imagen (píxeles) con el programa Kodak versión image 3.5.

Actividad de la Glutación Peroxidasa

A 100 µg de proteína de homogeneizado de aorta se le agregaron 1.6 mL de amortiguador de fosfatos 50 mM pH 7.0 que contenía N₃Na 6.5 mg, EDTA 1 mM, NADPH 0.2 mM, GSH 1 mM y glutación reductasa 1 U/L, y a 37°C por 5 min se midió la absorbencia a 340 nm, se monitoreo la absorbencia a 340 nm (Flohé, 1984).

Glutación-S-transferasa

La actividad de la enzima GST se midió por espectrofotometría. A 100 µg de proteína del homogeneizado de aorta se le agregó 1.6 mL de buffer fosfato 50 mM, pH 7.3, más 300 µL de CDNB (1-cloro-2,4-dinitrobenzina) 10mM y 300 µL de GSH 10mM. La mezcla se incubó por 10 minutos a 37°C, posteriormente se leyó la absorbencia a 340 nm.

Los valores de la actividad de la GST se expresa en unidades de GST por minuto, una unidad de actividad de GST se define como un µmol de GS-DNB por minuto a 37°C (Vararattanavach, 2003).

Glutación reductasa

A 100 µg de proteína del homogeneizado de aorta se le agregaron 800 µL de buffer fosfato 0.2 mM, pH 7.3, más 0.5 mM de EDTA, 100 µL de NADPH 0.1 mM, y 100

μL de GSSG 1mM, se incubó a 37°C por 10 minutos, la absorbencia se leyó a 340 nm. La actividad de la GR se expresa en μmol de GSSG reducido por minuto por mg de proteína (Deponte, 2013).

Glutación reducido

100 μg de proteína del homogenizado de aorta se desproteinizó con ácido tricloroacético al 20%, se centrifugó a 5000 rpm por 5 min, después se recuperó el sobrenadante al cual se le agregaron 900 μl de buffer fosfato (KH_2PO_4) 50mM, pH 7.3, más 100 μL de reactivo de Ellman (5,5' dithiobis 2-nitrobenzoico) 1M, se incubó a temperatura ambiente por 5 min, la absorbencia se leyó a 412 nm. La curva de calibración se realizó con GSH a una concentración de 5 a 25 $\mu\text{mol/mL}$ (Ellman, 1959).

Determinación de eNOS, ORX y Nrf2 por inmunotransferencia

100 μg de proteína de homogeneizado de aorta se mezcló con amortiguador de carga (glicerol 59% vol/vol; tris HCl, pH 6.5; SDS 1%, azul de bromofenol 0.1%, 2-mercaptoetanol 0.05%). La mezcla se calentó a 100° C por 1 min. Las proteínas fueron separadas en gel de SDS/PAGE al 8% bajo condiciones reductoras, al término de la electroforesis, el gel fue transferido a una membrana de nitrocelulosa 45 μm Hybond-P. La membrana fue bloqueada durante 3 horas con TBS (buffer de Tris-Glicina pH 7.4) que contenía 5% de leche deshidratada desgrasada y Tween-20 al 0.05%.

Después la membrana se incubó con una dilución 1/500 a concentración final de 400 ng/mL de anticuerpo primario policlonal de conejo y monoclonal de ratón contra eNOS, ORX y Nrf2 respectivamente, se dejó agitar toda la noche a 4°C, posteriormente la membrana se enjuagó tres veces con TBS e incubó con una dilución 1/1250 a concentración de 320 ng/ml de anticuerpo secundario policlonal de cabra anti IgG de conejo por 3 h a temperatura ambiente, el revelado se hizo con 3'3'diaminobenzidina. Después de identificar la proteína problema, la membrana se lavó con amortiguador de 1% de TRIS, 1% de SDS y 100mM de β - mercaptoetanol pH 2 por 2 horas, pasado el tiempo se lavó con TBS, después se bloqueó por 3 horas e incubó durante la noche con una dilución 1/1000 con una concentración de

100 ng/mL de anticuerpo monoclonal de ratón anti β -actina biotinilados, y se reveló con 3´3´diaminobenzidina. La membrana se analizó por imagen (píxeles) mediante el programa Kodak versión image 3.5 (Pérez *et al.*, 2009).

Capacidad antioxidante total

La evaluación de la capacidad antioxidante del sistema no enzimático por el método FRAP. Se basa en la reacción de los antioxidantes presentes en la muestra y el cloruro de hierro (FeIII) en un medio ácido, formándose ion ferroso (FeII), el cual es capaz de unirse al 2,4,6,-Tris(2-pyridil-s-triazine) para generar un compuesto color azul. A 1 mg de proteína del homogeneizado de aorta se le agregaron 1.5 mL de mezcla de reacción; la cual consistió de 300mM de amortiguador de acetatos pH 3.6, 20mM de hexahidrato de cloruro férrico, 10mM de 2,4,6,-Tris(2-pyridil-s-triazine) disuelto en 40mM de HCl en relación 10:1:1 v/v respectivamente; se mezcló vigorosamente en vortex por 5 segundos y se incubó a 37°C por 15 min en oscuridad, finalmente se centrifugó a 5000rpm. La absorbencia se midió a 593nm en un espectrofotómetro (UNICO UV 2100). Para la curva de calibración se utilizó 1.5 mL de la mezcla de reacción y 50 μ L de la dilución de TROLOX (ácido 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (Zuñiga *et al.*, 2013).

Índice de lipoperoxidación

En el homogeneizado de aorta, se midió el índice de LPO, un marcador de daño causado por los RL a los lípidos insaturados de la membrana celular, con el método convencional de TBARs (Thiobarbituric acid reactive substances, por sus siglas en inglés). El ensayo de TBARs se fundamenta en la reacción del MDA con dos moléculas de ácido tiobarbitúrico en medio ácido y a temperatura aproximada de 100°C, formando un complejo colorido.

A 100 μ g de proteína, se le agregaron 50 μ L de metanol con BHT al 4% y 1 mL buffer de fosfatos a pH 7.4, se mezcló vigorosamente en vortex durante 5 segundos, e incubó 30 min en baño maría a 37°C. Al finalizar de la incubación, se agregó 1.5 mL de ácido tiobarbitúrico a 0.8 M volviendo a incubar durante 1 h en baño maría a 100°C, después de ese tiempo y para detener la reacción, las muestras fueron colocadas en hielo, adicionando 1 mL de KCl al 5% más 5 mL de n-butanol, se

mezcló vigorosamente con vortex durante 30 s y posteriormente se centrifugó durante 5 min a 376 g a temperatura ambiente. Después de la centrifugación se extrajo la fase de n-butanol y se midió la absorbencia a 532 nm. La curva de calibración se realizó utilizando tetraepoxipropano (Sigma) (Pérez, 2009).

Selenio

A 250 µg de proteína del homogeneizado de aorta, se le agrego 500 µl de mezcla acida (4:1 vol/vol de HNO₃+HCl) más 500 µl de H₂O₂ al 10%, se incubaron en baño de arena a 110°C por 4 horas, después de la incubación se les agregó 100 µl de H₂O destilada, 150 µl de NaOH 0.5N, 200 µl formaldehido 30%, 200 µl de una mezcla que contenía (sulfuro sódico 0.5N y sulfito sódico 0.5N), 250 µl EDTA 0.01M y 300 µl de azul de toluidina, se dejó incubar 15 min a 25°C, al finalizar el la incubación se centrifugó a 3500 rpm por 2 min y se leyó la absorbencia a 600 nm. La curva de calibración se realizó con selenito de sodio.

Tiorredoxina reductasa

La actividad de la enzima TrxR se determinó indirectamente por la cantidad de DTNB en presencia de NAD(P)H para formar 2 moles de TNB, la oxidación del DTNB se monitorea mediante el uso de espectrofotometría a 412 nm a 37°C. Para medir la actividad de la TrxR, se utilizaron 100 µg de proteína del homogenizado de aorta suspendidos en 3 ml de amortiguador de fosfatos (KH₂PO₄) 0.1mM (pH 7.0), adicionado con NAD(P)H 0.2 mM, EDTA 1mM, albumina sérica bovina 0.1mg/ml, la muestra se leyó de manera pareada como sigue; la muestra se leyó en presencia de 20 µl del inhibidor específico para TrxR, auronafin 10µM y el duplicado de la muestra sin el inhibidor. La mezcla se monitoreo en un espectrofotómetro a 412 nm por 6 min.

Histología

Para la histología, 2 mm de segmentos de aorta fueron lavados con 0.9% de NaCl por 30 segundos. La solución fue decantada, después se añadió amortiguador de fosfatos con 10% de formalina por 24 horas, posteriormente se hicieron tinciones de hematoxilina-eosina, Masson, y Weigert según los protocolos estándar del

laboratorio (Lee, 1999), las secciones histológicas fueron analizadas usando microscopio de luz Carl Zeiss modelo 63300 equipado con cámara digital Tucsen de 9 megapíxeles con software TSview 7.1, con magnificación de 40X. Las microfotografías fueron analizadas usando el programa Sigma Scan Pro5 Image Análisis Software. Los valores fueron expresados en unidades por píxel.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se presentan como la media \pm error estándar. La diferencia estadística se determinó por la prueba Mann-Whitney Rank Sum Test y se normalizó con la prueba de Shapiro-Wilk. Una $P \leq 0.05$ se consideró como significativa. Las gráficas y el análisis estadístico se hicieron con el programa SigmaPlot 14 (Systat Software Inc., Richmond, California, USA).

RESULTADOS

Las características de los pacientes se muestran en la tabla 1.

Características clínicas que distinguieron a los pacientes y que se han relacionado con el síndrome de Loeys Dietz.

Paciente de 16 años de edad el cual fue intervenido de Comunicación Interventricular a la edad de 2 años, 13 años después, fue evaluado por el Cardióloga y encuentra dilatación aortica, razón por la cual fue enviado a evaluación por Reumatología dado que encontraba algunas características clínicas sugerentes de síndrome de Marfan. Al evaluar este paciente tenía características clínicas distintivas del síndrome de Loeys-Dietz, tales como úvula bífida, pectum carinatum y el llamado Club del Pie. El paciente no cumplía datos para ser clasificado como SM, ya que solo cumplía con algunas características del Score sistémico, no tenía luxación del cristalino, tenía hipertelorismo, úvula bífida, pectum carinatum, y tortuosidad arterial. La determinación genómica. Fue positiva para el receptor del gen de crecimiento transformante B2, en el exón 5. En la foto podemos apreciar la úvula bífida (Figura 20A), y tenía sobre posición dentaria. En el mismo paciente observamos que el paciente tiene una cicatriz en torax de la cirugía de CIV, el paciente tiene pectum carinatum importante y pie plano. (Figura 20 B-C)



Figura 20 A. Paciente con Síndrome de Loeys-Dietz donde se observa úvula bífida.

Figura 20 B. Misma paciente con pectus carinatum.

Figura 20 C. Misma paciente con pie plano.

En la Figura 21 mostramos a una paciente de 20 años de edad con hipertelorismo, los antecedentes relevantes de la paciente fue que el padre murió a los 26 años por disección aórtica, un hermano de la paciente falleció a la edad de 17 años por disección aórtica y una hermana a la edad de 18 años. La paciente fue intervenida de con cirugía selectiva, mediante procedimiento de David, con lo cual ella ha evolucionado satisfactoriamente. Ella tenía además millita en la piel y úvula ensanchada, no tiene luxación de cristalino, fue positiva para el gen de TGFBR2. En la figura 22 Se muestra el tipo de lesiones que pueden observarse en estos pacientes a nivel de paladar y de la posición dentaria, esta foto corresponde al hombre de 46 años de edad.



Figura 21. Paciente con Síndrome de Loeys-Dietz, donde se observa hipertelorismo.



Figura 22. En esta foto, se muestra el tipo de pliegues que se pueden presentar en el paladar de un paciente de 46 años con el SLD, tiene una forma ojival importante con sobre posición dentaria y úvula bífida, (tenía además escoliosis importante sin luxación de cristalino y dilatación aortica con tortuosidad arterial)

Resultados de la actividad enzimática

La actividad de la SOD-Mn y de la SOD Cu/Zn presentaron aumento significativo en comparación con el grupo C ($p=0.04$ y $p=0.03$, respectivamente) (Figura 23).

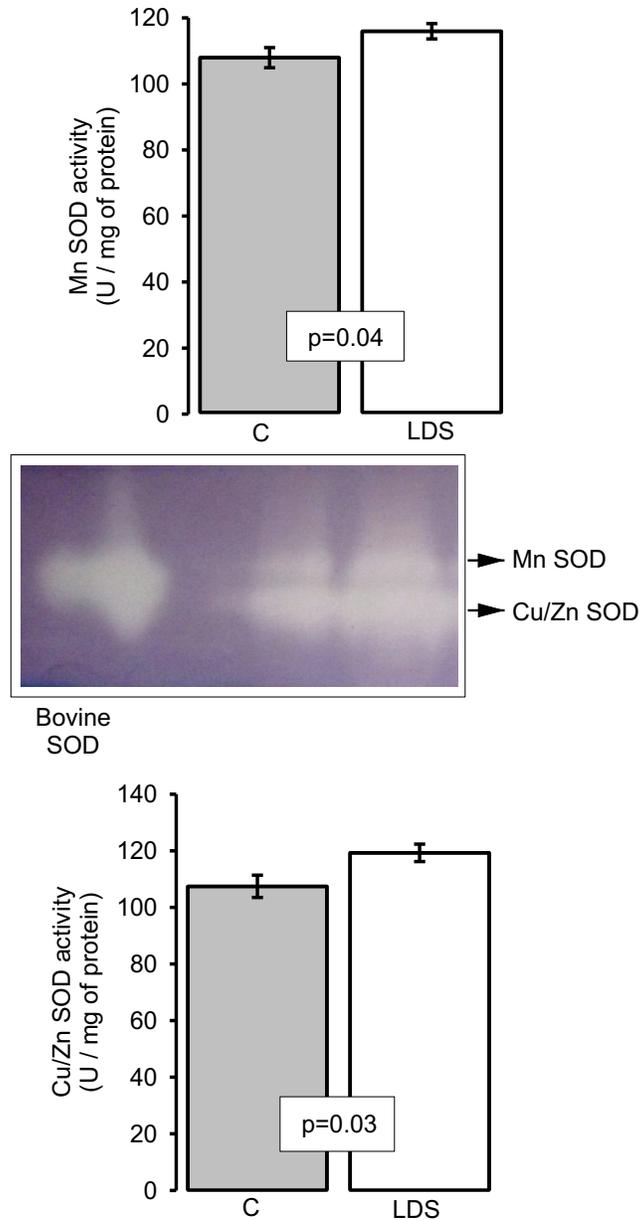


Figura 23. Actividad del promedio de la enzima SOD-Mn y Cu/Zn en los pacientes con SLD los resultados expresan la media \pm error estándar. La imagen del centro es un gel representativo de la electroforesis de las isoformas de SOD.

La expresión de la SOD Cu/Zn no mostro cambios significativos entre los pacientes con SLD y el grupo C, (figura 24).

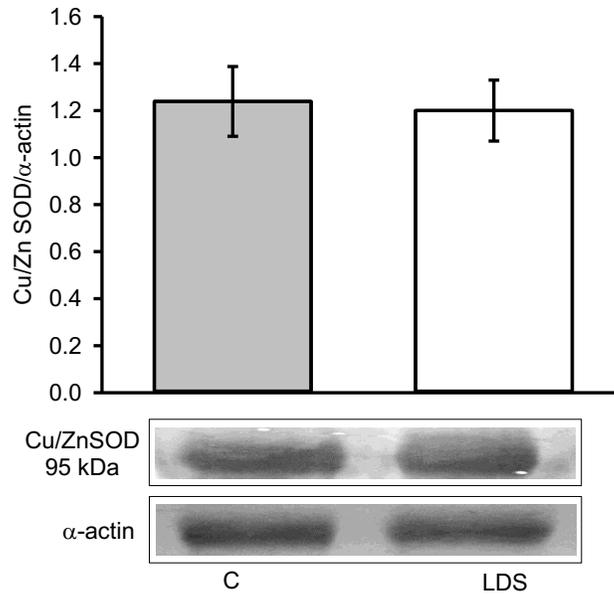


Figura 24. Expresión de la enzima Cu/Zn en los pacientes con SLD. Los resultados se expresan como la media \pm error estándar. La imagen inferior representa una transferencia representativa de la electroforesis de la expresión de la SOD Cu/Zn.

La actividad de la CAT en los pacientes con SLD disminuyó significativamente en comparación con el grupo C ($p=0.01$), (figura 25).

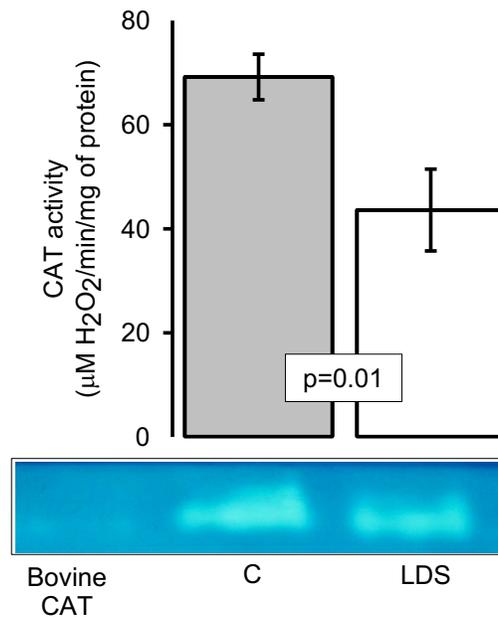


Figura 25. Actividad de la enzima CAT. Los resultados se expresan como la media \pm error estándar. La imagen del centro es un gel representativo de la actividad de la CAT.

La actividad de la GPx disminuyó significativamente en el grupo de pacientes con SLD en comparación con el grupo C ($p=0.02$) (figura 26).

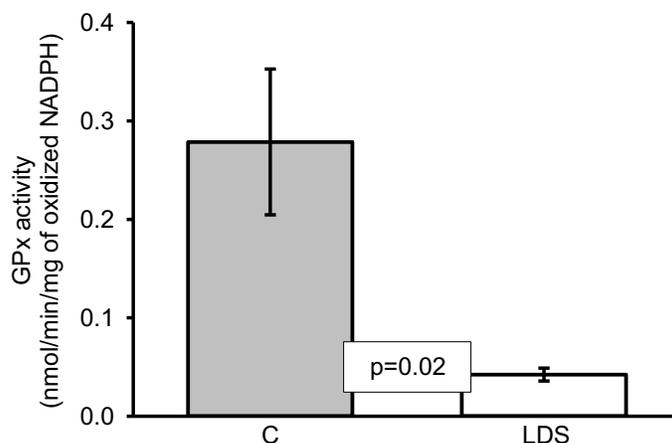


Figura 26. Actividad de la enzima glutatión peroxidasa en los pacientes con SLD en comparación con el grupo C, los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

Los resultados de la actividad de la GST mostraron disminución significativa ($p=0.04$) en el grupo de pacientes con SLD en comparación con el grupo C (figura 27).

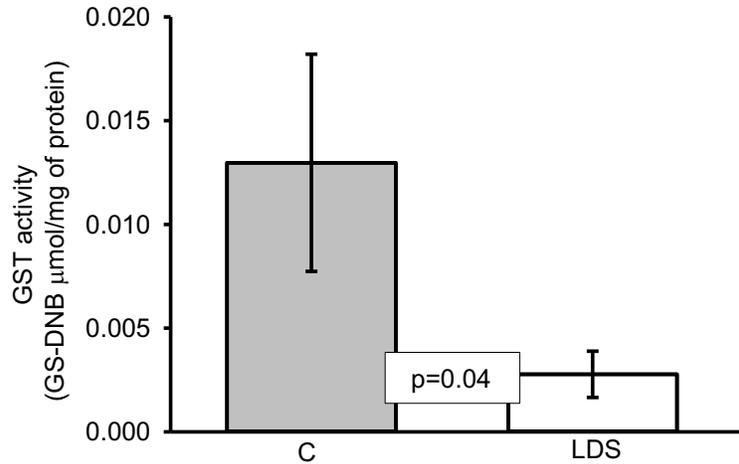


Figura 27. Actividad de la enzima Glutación-S-transferasa en el grupo de pacientes con SLD en comparación con el grupo C, los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

La GR se encontró aumentada significativamente ($p=0.006$) en el grupo de pacientes con SLD en comparación con el grupo C (figura 28).

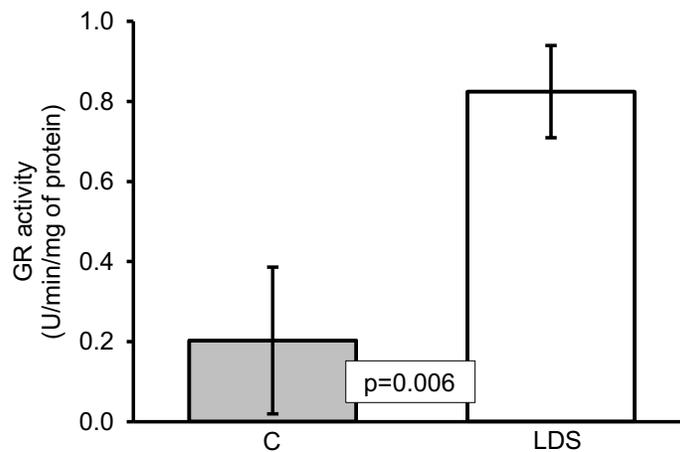


Figura 28. Actividad de la enzima Glutación reductasa en el grupo de pacientes con SLD en comparación del grupo C, los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

La actividad de la TrxR presento disminución significativa ($p=0.01$) entre los pacientes con SLD, en comparación con el grupo C (figura 29).

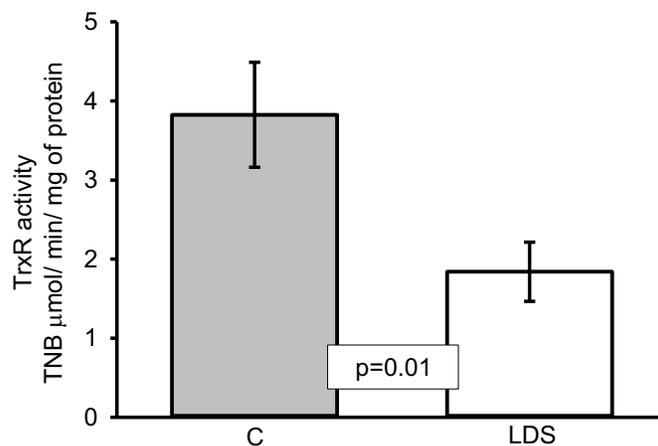


Figura 29. Actividad de la TrxR en los grupos experimentales, Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

La expresión de la eNOS presentó tendencia a disminuir sin alcanzar diferencia significativa en el grupo de pacientes SLD, en comparación con el grupo C (figura 30).

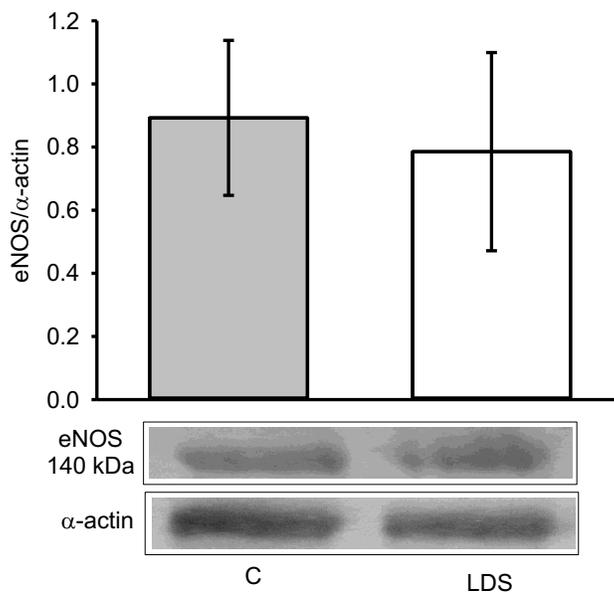


Figura 30. Expresión de la sintasa de óxido nítrico endotelial. Los resultados se expresan como la media \pm error estándar. La imagen de debajo del histograma representa la inmunotransferencia representativa de la expresión de la eNOS.

La expresión de la xantina-oxidasa presento en los pacientes con SLD en comparación con los pacientes C un incremento significativo ($p=0.05$, figura 31).

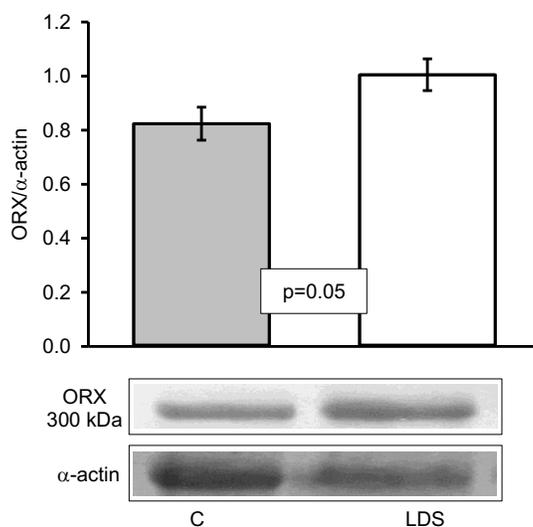


Figura 31. Expresión de la xantina-oxidasa en los grupos experimentales, Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

La expresión del Nrf2 presento en los pacientes con SLD en comparación con el grupo C una disminución estadísticamente significativa ($p=0.02$, figura 32).

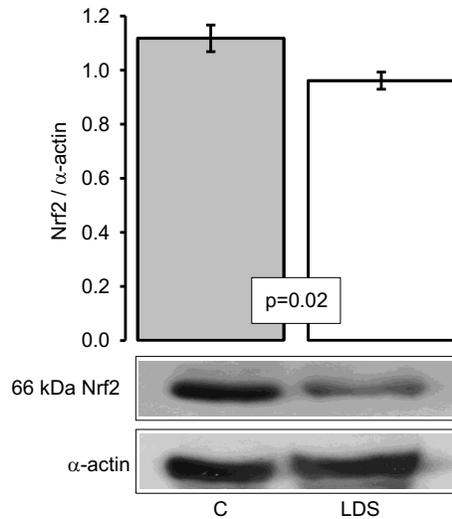


Figura 32. Expresión del Nrf2 en los grupos experimentales, Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

Sistema antioxidante no enzimático

La capacidad antioxidante no enzimática total (TAC por sus siglas en ingles), se encontró disminuida significativamente ($p=0.01$) en los pacientes SLD en comparación con el grupo C (figura 33).

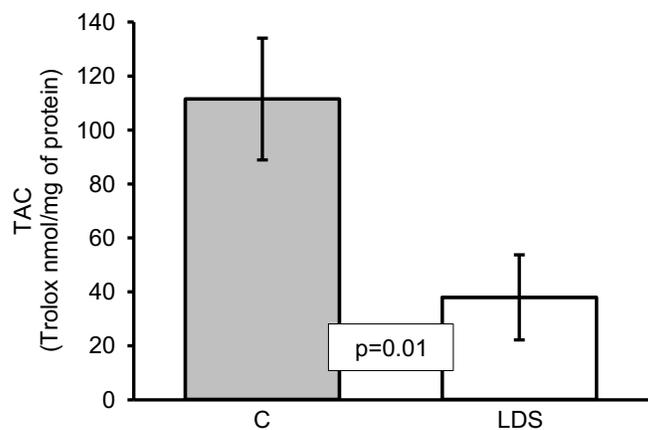


Figura 33. Capacidad antioxidante del sistema no enzimático en el grupo con SLD en comparación con el grupo C. Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

El índice de LPO tendió a elevarse sin alcanzar significancia en el grupo de pacientes con SLD en comparación del grupo control (figura 34).

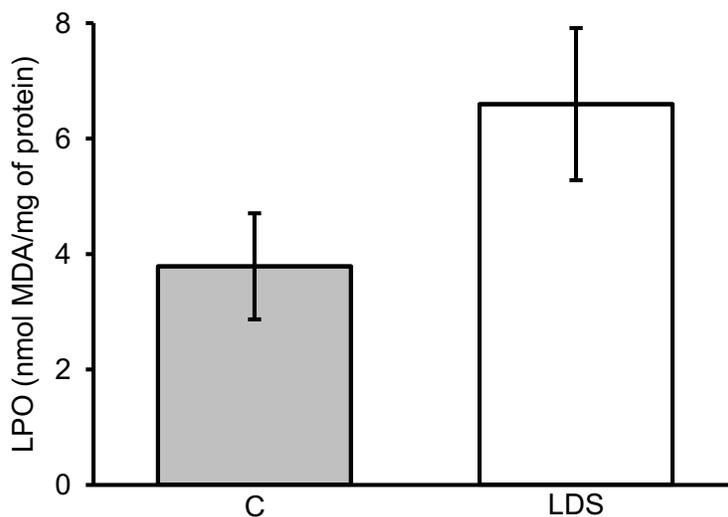


Figura 34. Índice de lipoperoxidación. Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

La concentración del GSH disminuyó significativamente ($p=0.04$) en el grupo de pacientes con SLD en comparación del grupo control (figura 35).

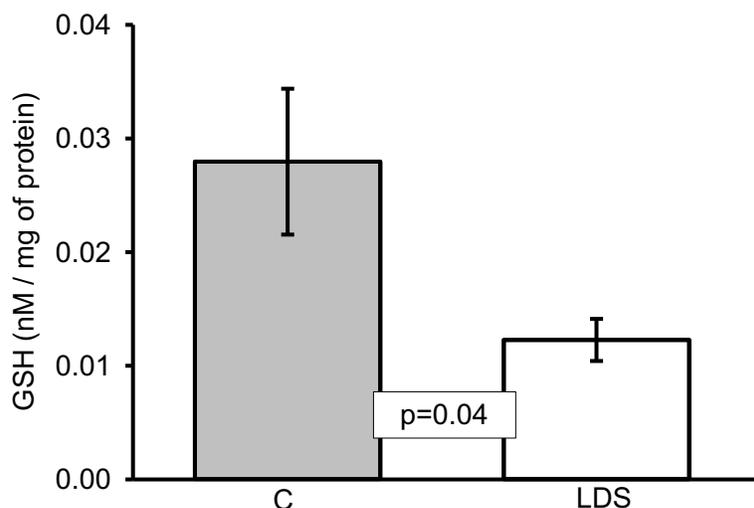


Figura 35. Niveles del GSH en los grupos experimentales, Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

La proporción de NO_3^- y NO_2^- mostro tendencia a aumentar sin alcanzar diferencia significativa en el grupo de pacientes con SLD en comparación del grupo control (figura 36).

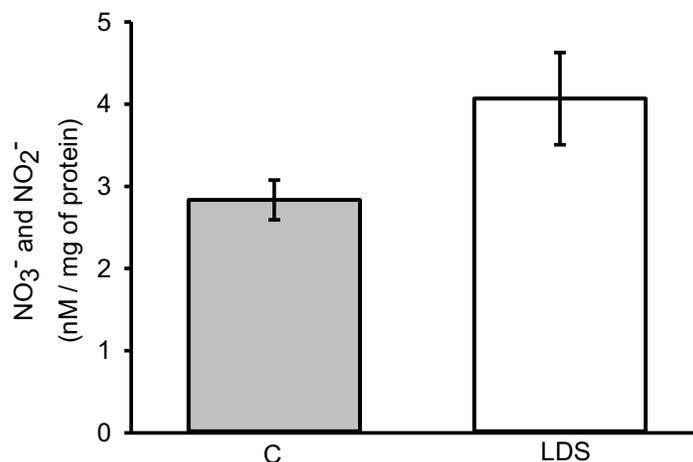


Figura 36. Proporción de NO_3^- y NO_2^- en los grupos experimentales, Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

La concentración de vitamina C mostro disminución con diferencia significativa ($p=0.02$) en el grupo de pacientes con SLD en comparación del grupo C (figura 37).

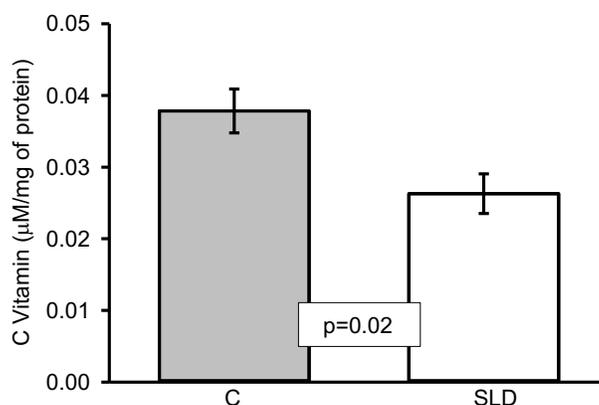


Figura 37. Niveles de vitamina C en los grupos experimentales, Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

La carbonilación de las proteínas en los pacientes con SLD mostro incremento significativo ($p=0.02$, figura 38) en comparación con el grupo C.

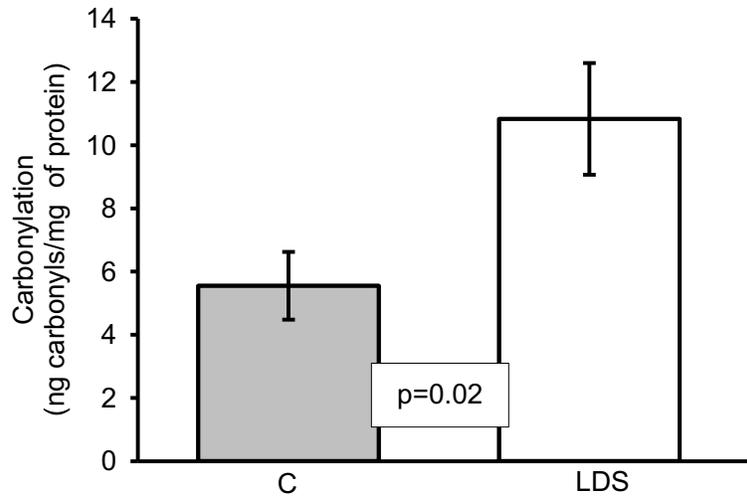


Figura 38. Concentración de carbonilos en las proteínas en los grupos experimentales, Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

La concentración del Se en el homogeneizado del aneurisma aórtico en los pacientes con SLD disminuyó significativamente ($p=0.02$, figura 39) en comparación con el grupo C.

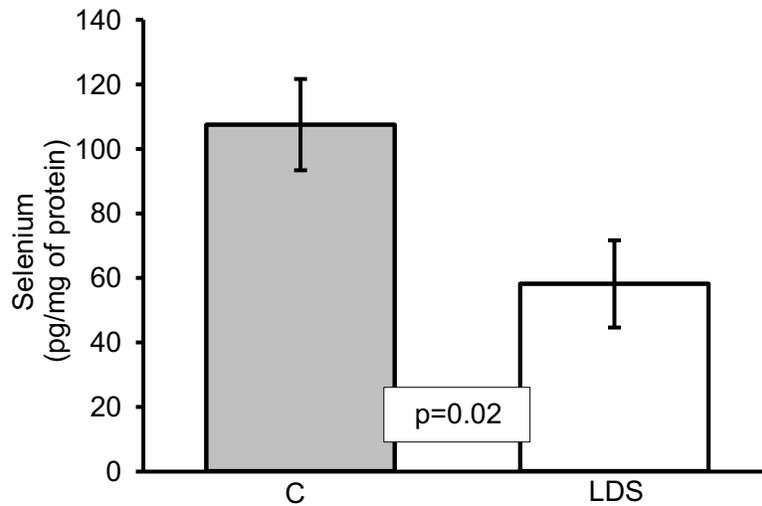


Figura 39. Niveles de selenio en los grupos experimentales, Los resultados se expresan como la media \pm error estándar.

Histología

Tinción Hematoxilina-Eosina

En la figura 40 A, se observa la fotomicrografía representativa de la pared media aortica de un sujeto control, mostrando en color negro núcleos de fibrocitos dispuestos en fascículos, en rojo fibras elásticas, en color rosa fibras de colágena, sin presencia de necrosis quística. En la figura 40 B, se observa la fotomicrografía representativa de la pared media aortica de un paciente con SLD, mostrando en color azul núcleos de fibrocitos dispuestos en fascículos, en rojo fibras elásticas y en rosa fibras de colágena, en color blanco, se observa la presencia de necrosis quística.

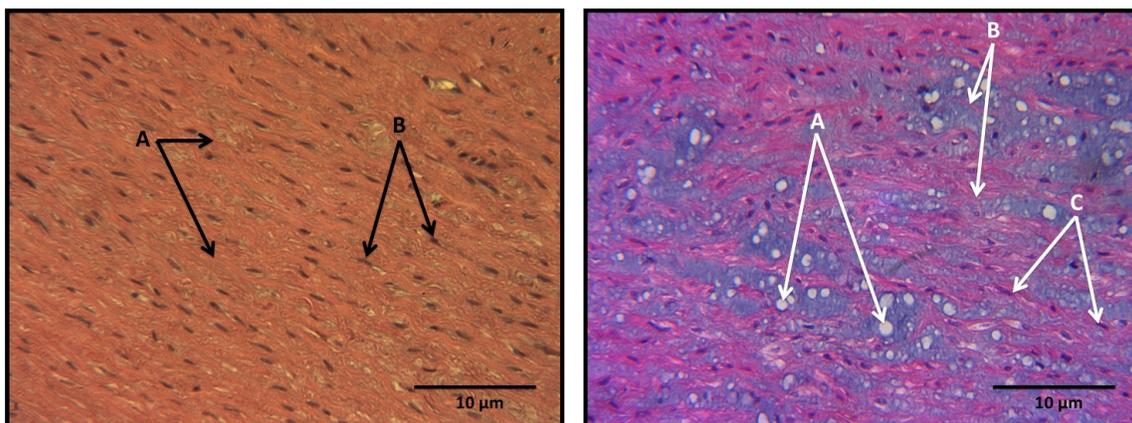


Figura 40 A) fotomicrografía representativa de la pared media aortica de un individuo Control, tinción hematoxilina-eosina 40X. A) Fibras elásticas en color rosa intenso. B) Núcleos de fibrocitos en color oscuro. **40 B)** Fotomicrografía representativa de la pared media aortica de un paciente con SLD, tinción hematoxilina-eosina 40X. A) Necrosis quística, con acumulación de material amorfo. B) Fibras elásticas y de colágena en color rojizo y rosa intenso. C) núcleos de fibrocitos teñidos en color azul.

Tinción Tricrómica de Masson

La figura 41 A muestra la fotomicrografía representativa de la pared media aortica de un sujeto control, se observan fibras elásticas en color rojo, en azul fibras de colágena y no se observa presencia necrosis quística. La figura 41 B muestra la fotomicrografía representativa de la pared media aortica de un paciente con SLD, se observan fibras elásticas en color rojo, en azul fibras de colágena y en blanco se observa necrosis quística con presencia de material amorfo en azul tenue.

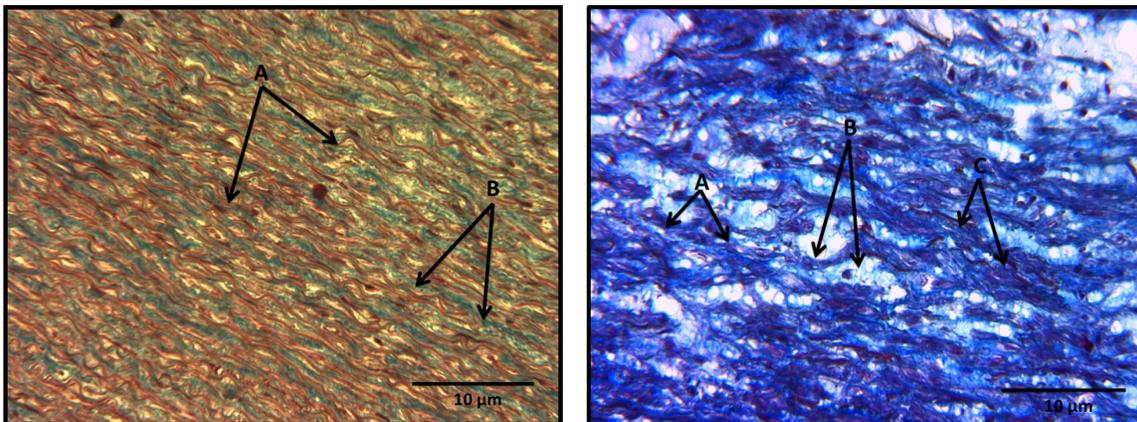


Figura 41 A) Fotomicrografía representativa de la pared media aortica de un individuo Control, tinción tricrómica de Masson 40X. A) Fibras elásticas en color rojo B) Fibras de colágena en color azul. **41 B)** fotomicrografía representativa de la pared media aortica de un paciente con SLD, tinción tricrómica de Masson 40X. A) Fibras de colágena en color azul intenso. B) Necrosis quística con presencia de material amorfo en color azul tenue C) Fibras elásticas en color rojo

Tinción Weigert

La figura 42 A muestra la fotomicrografía representativa de pared media aortica de un sujeto control, en color negro se observan las fibras elásticas, en café-amarillo fibras de colágena, no se distingue necrosis quística. La figura 42 B muestra la fotomicrografía representativa de la pared media aortica de un paciente con SLD, en color negro se observa las fibras elásticas fragmentadas, en café-amarillo fibras de colágena y en color blanco se distingue necrosis quística.

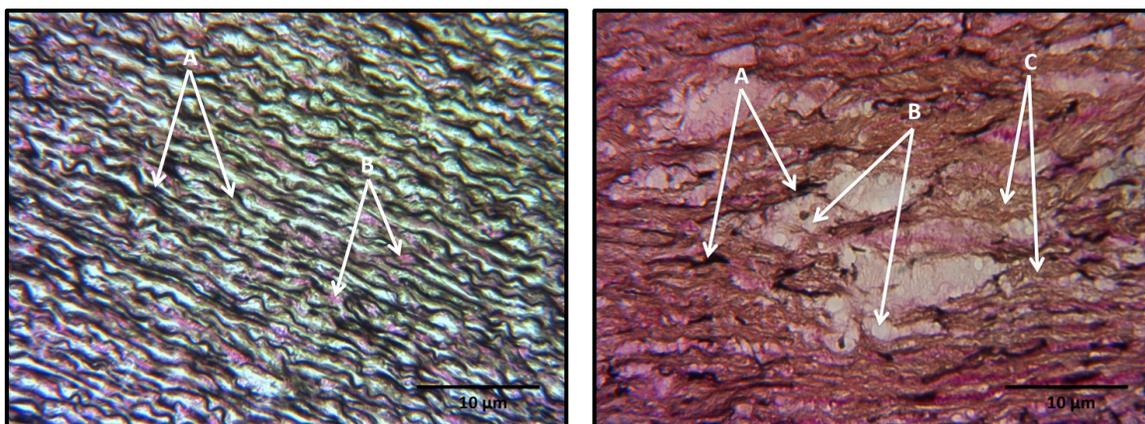


Figura 42 A) Corte histológico de la aorta de un individuo Control. Tinción Weigert 40X. A) Fibras elásticas en color negro B) Fibras de colágena y elastina en color rosa y color pardo claro. **Figura 42 B)** Corte histológico de la aorta, de un paciente con SLD, tinción Weigert 40X. A) Fibras elásticas B) Necrosis quística C) Fibras de colágena.

DISCUSIÓN

El SLD, es una variante del SM, como toda enfermedad genética compleja presenta daños en diferentes órganos y sistemas, la característica principal del SLD es la presencia de AAT de progresión rápida, diferentes trabajos han mostrado que la sobreproducción de ERO puede contribuir a la degeneración de la pared arterial (Xiong, 2000). La participación de las ERO en la progresión del daño aórtico ha sido descrita en modelos animales y en diferentes patologías incluyendo al SM. En el SLD hasta el momento no ha sido reportado el desequilibrio de la homeostasis redox que conlleva a la alteración en el estado redox de las células (Yang, 2010) y la participación en la progresión del AAT. Por tal motivo el objetivo del presente trabajo fue analizar la participación del Se, el Nfr2 y la actividad de las enzimas antioxidantes en tejido aórtico de pacientes con SLD.

Diversos estudios en modelos de ratón con SM describen disfunción vasomotora en la aorta torácica asociada a ERO, lo cual ha sido ya reportado en nuestro grupo de trabajo (Soto, 2014). También, se ha demostrado que en estos pacientes hay alteración en las enzimas antioxidantes como las isoformas de SOD. En (Soto, 2013) describió aumento en la actividad de las enzimas SOD Cu/Zn y -Mn en aortas de pacientes con SM, Turner, hipertensión arterial y algunas variantes de Marfan. Sin embargo, en 2010 Yang había reportado disminución de las isoformas de SOD debido al aumento de O_2^- en la aorta torácica en un modelo de ratón con SM, lo cual relaciono con el deterioro de la función aortica, en este mismo estudio mostró que el tratamiento con SOD revirtió la hipersensibilidad de las arterias. La diferencia de los resultados entre estos dos estudios podría ser el modelo utilizado, ya que uno es en modelo murino y en el otro en pacientes con SM.

En esta investigación, los resultados de la actividad de las enzimas SOD Cu/Zn y -Mn aumentaron, esto sugiere que la sobreproducción de O_2^- , por ORX en el tejido aórtico puede incrementar la actividad de las isoformas de SOD. En 2003 Ejiri describió que el tejido del aneurisma de aorta torácica presenta sobreexpresión de NAD/NADPH oxidasa, esto se asoció con el aumento en la producción de O_2^- , los resultados muestra aumento en la expresión de ORX lo que podría aumentar la

concentración del O_2^- y estimular a la SOD Cu/Zn y -Mn, aumentando la concentración de H_2O_2 , esta ERO es más dañina por la capacidad de difusión en la membrana celular (Dröge, 2002). Por otra parte, la expresión de la SOD Cu/Zn no mostró cambios significativos estos resultados se pueden explicar tomando en cuenta que expresión no es sinónimo de actividad y viceversa. Sin embargo, una de las enzimas encargadas de la eliminación de H_2O_2 es la CAT, la cual usa dos moléculas de H_2O_2 para convertirlas en H_2O y O_2 . La sobre expresión de la CAT previene la estimulación de EOX (Díaz, 2003). Soto, en 2013 describió que en aortas de pacientes con SM estaba alterada la actividad de la CAT, esto atribuido en parte a la exposición continua de H_2O_2 . Nuestros resultados muestran que la actividad de la CAT presentó disminución significativa. Esto se puede deber a la sobre producción de H_2O_2 ya que se ha descrito que excesivas concentraciones de sustrato resultan en la inhibición de CAT (Díaz, 2003). También la excesiva concentración de O_2^- puede causar inhibición de la glucosa-6-fosfato que cataliza la formación del NADPH, que sirve como donador de electrones a la CAT (Siwik, 2001).

Por otro lado, otra de las enzimas encargadas de la detoxificación de H_2O_2 es la GPx, esta se encuentra en el citosol y en la mitocondria de las células de los mamíferos y se ha descrito que es más eficiente que la CAT al remover el H_2O_2 intracelular bajo varias condiciones fisiológicas (Ye, 2015). Los resultados muestran que la actividad de la GPx mostró disminución en los pacientes con SLD en comparación a los sujetos C, esto puede ser debido a la baja disponibilidad de GSH, además la GPx posee Se en su sitio catalítico y se ha descrito al Se como factor limitante de la defensa antioxidante (Deponete, 2013). Además, una dieta rica en Se causa serios daños inclusive la muerte. Sin embargo, a concentraciones bajas interfiere en la síntesis de aproximadamente 25 proteínas que usan selenocisteína, así mismo la deficiencia de Se ha sido descrito en patologías cardiovasculares (Nuñez, 2013) y se ha especulado que en el SM puede haber disminución de Se que podría comprometer la actividad de la GPx (Dariush, 2009) y como consecuencia decrementar su actividad, Los resultados obtenidos muestran que las

concentraciones de Se están disminuidas en los pacientes con SLD y esto impacta tanto a la actividad de la GPx como de la TrxR enzimas seleno-dependientes.

Por otro lado, la GST, es la enzima que se encarga de conjugarse al GSH con xenobioticos, lípidos peroxidados, hidroperóxidos entre otras moléculas, para su posterior eliminación de la célula. Los sustratos utilizados por la GST son formados como consecuencia de la modificación de macromoléculas por ERO. Por lo tanto, esta enzima está considerada como antioxidante (Serratt, 2001). En 2013 Nuñez describe la disminución de la GST en aortas de pacientes con SM. Además en otras patologías que afectan el sistema cardiovascular en humanos y modelos murinos asociadas al ERO, se ha observado disminución en la expresión de la GST aunada al incremento de la LPO (Soto, 2014). Nuestros resultados muestran que la actividad de la GST disminuyó en los pacientes con SLD en comparación al grupo C, esto indica que la actividad decremada de la enzima está comprometida por la baja disponibilidad del GSH lo cual contribuye a la tendencia a incrementar la LPO y la carbonilación. Además el aumento en la carbonilación puede ser dependiente de la disminución en la actividad de la TrxR, lo que se reflejaría en una menor reducción de los grupos tioles en las proteínas por la TrxR.

Por otro lado, el GSH es el principal compuesto tiol intracelular, es un triptido (γ -l-glutamil-l-cisteinil-glicina) producido por las células de los mamíferos, siendo el mecanismo de defensa antioxidante por excelencia contra las ERO y electrófilos (Ribas, 2014). El control de la homeostasis del GSH es a través del proceso de consumo y suministro (Circu, 2012). La función antioxidante del GSH está determinada por el grupo tiol de la cisteína, este grupo se oxida cuando el GSH reduce moléculas diana, electrófilos o ERO, posteriormente el GSH se oxida a GSSG (Ribas, 2014) y también el GSH es oxidado por la GPx y regenerado a GSH por la enzima GR, en este proceso se requiere del consumo de NADPH, este equivalente reductor se produce en la vía de las pentosas fosfato, donde la oxidación alternativa de glucosa no genera ATP, ya que su finalidad es proporcionar ribosa-5-fosfato y NADPH para la síntesis de ácidos grasos, esteroides y cofactor

de GR (Dröge, 2009). Por lo tanto, la alteración de la actividad de la GR provocará disminución en las concentraciones de GSH dando lugar a aumento en los niveles de ERO. La alteración de la actividad de la GR y de los niveles de GSH por esta consecuencia se ha reportado en varios procesos patológicos asociada con aumento del riesgo al EOx (Cisneros, 2014).

Los resultados muestran que la actividad de la GR aumentó en el grupo con SLD, a pesar de esto los valores de GSH no se restablecieron, eso podría limitar la actividad de las enzimas GPx y GST. Estos resultados coinciden con lo descrito por Soto en 2014, en pacientes con SM, además sugiere que el EOx crónico en el SLD sea el encargado de oxidar al GSH interviniendo en el balance redox. Otras de las causas de la disminución del GSH pueden ser la alteración de la enzima γ -glutamyl-cisteina sintasa, encargada de la síntesis de GSH y la deficiencia de los aminoácidos que constituyen el GSH, lo cual podría predisponer el aumento de ERO y como consecuencia EOx (Soto, 2015). Los resultados del TAC en donde el GSH participa muestran que en el grupo con SLD disminuyó, lo cual confirma la presencia de EOx en el tejido aórtico. Así mismo, la LPO mostró tendencia a aumentar en el grupo con SLD, esto indica la oxidación de lípidos de la membrana celular, al mismo tiempo que aumenta la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados, se incrementa la producción de compuestos pro oxidantes como el 4-hidroxinonal y el malondialdehído, derivados de esta oxidación, los cuales potencializan el EOx (Marotte, 2013).

Por otra parte, el factor de transcripción Nrf2 regula la expresión inducible de numerosos genes de enzimas antioxidantes como la GPx, isoformas de SOD, GST y TrxR mediante su unión a secuencias específicas del ADN conocida como ARE los cuales pueden ser activadas en la homeostasis del control redox. La disminución en la expresión del Nrf2 en los pacientes con SLD sugiere que este factor nuclear puede ser en parte el responsable de la disminución en la actividad de las enzimas antioxidantes ocasionando en consecuencia el ambiente oxidativo en el SLD que contribuye a la progresión del aneurisma aórtico. También, los resultados mostraron

que la eNOS presento tendencia a disminuir sin presentar diferencia significativa en los pacientes con SLD en comparación con los sujetos C, resultados similares fueron descritos en 2015 por Soto, quien mostró que la actividad de la iNOS y eNOS presentó aumento y disminución respectivamente en el homogenado de aortas de pacientes con SM, sugiriendo que la producción de NO basal en estos pacientes proviene de la vía de iNOS y en menor medida de la eNOS, lo que contribuye a la formación del aneurisma, además de la supresión parcial de la vía de la eNOS. Por otro lado, en modelos animales de SM se ha descrito sobreproducción de O_2^- por parte de NADPH oxidasa, ORX y el aumento en la producción de NO por parte de la iNOS en procesos inflamatorios (Soto, 2015), lo cual promueve la formación de $ONOO^-$, la acumulación de esta ERO aumenta el daño oxidativo (Chirino, 2006). Además, las altas concentraciones de $ONOO^-$ pueden favorecer la apoptosis en células endoteliales y la activación de metaloproteasas de la matriz (MMP) 1 y 2 en las células musculares lisas vasculares, esto promueve la degradación de los diversos componentes de la matriz extracelular tales como la colágena y la elastina (Shen, 2015).

En cuanto a los resultados de los cortes histológicos hechos en los segmentos aórticos de pacientes con SLD estos mostraron necrosis quística, con acumulación de material amorfo, esto sugiere el aumento de la concentración de ERO que participa en la fibrosis apoptótica sub-endotelial (Circu, 2012). Además en 2009 Xiong determinó en un modelo murino la participación de las ERO en la formación del aneurisma aórtico abdominal, y la activación de las MMP 2 y 9, las cuales degradan la matriz extracelular y promueven la formación del aneurisma. En la tinción de Weigert, los resultados mostraron fragmentación, engrosamiento y menor número de las fibras elásticas en el grupo SLD esto se podría relacionar con la rigidez aortica. Se ha reportado que la fragmentación de fibras elásticas de la aorta es relacionada con la interacción entre ERO, MMP y la desregulación del TGF- β (Wheeler, 2014). Además, se sabe que la señalización de TGF- β contribuye a procesos fisiológicos y también como modulador de las proteínas que participan en la estructura y composición de la matriz extracelular, como la colágena. En nuestros

resultados se logró observar en las fotomicrografías el aumento de colágena, esto se describe en SM (Maleszewski, 2009). Sin embargo, es más pronunciado en el SLD, probablemente esto se debe a la desregulación en la señalización del TGF- β que promueve mayor síntesis de colágena lo que conduce a la progresión rápida en la formación del aneurisma.

CONCLUSIONES

Las actividades de las enzimas antioxidantes, incluidas las de las isoformas de SOD, CAT, TrxR y GST disminuyen en los AAT de pacientes con SLD. Estas disminuciones en las actividades enzimáticas favorecen la acumulación de ERO que contribuye a disminuir el GSH y favorece la LPO y la carbonilación. La disminución de Se y Nrf2 también afecta la actividad y / o expresión de algunas de estas enzimas antioxidantes. El aumento de GR no restablece completamente la concentración de GSH, que se refleja en la disminución del TAC y en las enzimas que lo utilizan como cofactor, lo que contribuye y favorece la producción de ERO. Esto conduce a un fondo oxidante de retroalimentación positiva que contribuye a la formación de AAT.

Perspectivas

El objetivo del tratamiento médico en pacientes con SLD es retrasar la progresión de la dilatación aórtica y evitar complicaciones catastróficas. Este estudio propone que el uso de antioxidantes junto con los tratamientos actuales podría ayudar a los pacientes con SLD. El uso de bloqueadores β , así como el uso de antagonistas de angiotensina-1, constituyen la terapia de primera línea hasta el día de hoy. Se han sugerido estos medicamentos para prevenir la dilatación aórtica en el SM (Habashi, 2006). Sin embargo, la evidencia científica que respalda estas terapias es limitada ya que los estudios respecto a este han sido ensayos aleatorios simples con un número de muestra restringido (Shores, 1994). En 2007, un metaanálisis de 6 estudios que incluyó a 802 pacientes con SM, no se encontraron diferencias en los resultados de la terapia con bloqueadores β en relación con la mortalidad y la

morbilidad (Gersony, 2007). Por otro lado, el daño aórtico se caracteriza por una deposición excesiva de elementos de la matriz, como los proteoglicanos y el colágeno, que se organizan de manera aleatoria, y una deposición excesiva de MMP. Estas características están asociadas con la fragmentación de las fibras elásticas. Esta actividad excesiva de las MMP en la pared aórtica es similar a la observada en las placas ateromatosas. Se ha propuesto que las estatinas como la pravastatina a una dosis de 40 mg / día podrían ser útiles para reducir la inflamación, la actividad de MMP y la presencia de infiltrados de macrófagos en las placas carótidas humanas. Por lo tanto, estos medicamentos se han propuesto como una opción lógica para una terapia potencial para el SM. Las estatinas son inhibidores de la HMG-CoA reductasa y se usan como agentes reductores de CT con eficacia comprobada para reducir la morbilidad. En este sentido, un estudio concluyó que las estatinas podrían tener un efecto similar al de losartán en su capacidad para atenuar la dilatación de la raíz aórtica en un modelo de ratón con SM. Estos medicamentos parecían reducir la producción excesiva de proteínas por las células del músculo liso vascular (McLoughlin, 2011). Sin embargo, la inhibición de las MMP por estos medicamentos puede alterar la fibrilina-1, que es el componente de las micro fibrilinas que proporciona una conexión entre las fibras de elastina y las células vasculares del músculo liso para promover la homeostasis dentro de la pared aórtica (Ramírez, 2007). La homología estructural entre las fibrilinas y las proteínas de unión latentes a TGF- β sugiere un papel adicional para que FBN-1 dirija el TGF- β a la matriz extracelular y lo mantenga en un estado inactivo. Por lo tanto, una deficiencia de FBN-1 conduciría a una señalización excesiva de TGF- β (Ramírez, 2007) que no sería beneficiosa para los pacientes. Se ha observado que la desregulación de la señalización de TGF- β contribuye a la patología de la válvula aórtica y mitral en modelos de ratón con SM (Neptune, 2003). Esto también está respaldado por la observación de un fenotipo de Marfan en humanos con mutaciones en el receptor de TGF- β (Neptune, 2003). La deficiencia de fibrilinas-1 que conduce a la desregulación de la señalización de TGF- β hace que las células del músculo liso vascular intenten remodelar la matriz extracelular a través de la vía

SMAD (Neptune, 2003). Sin embargo, de acuerdo con nuestros hallazgos, podemos confirmar que la participación genética no solo conduce a la expansión de AAT en SLD, sino que también participan otros mecanismos como el estado redox. Por lo tanto, se debe evaluar la terapéutica a este respecto.

Es muy importante tener en cuenta que durante la evolución y progresión de los aneurismas, los pacientes suelen ser asintomáticos. No es hasta que ocurre la disección aórtica, que genera dolor intenso, que el médico sospecha el diagnóstico. En esa etapa de la enfermedad, es demasiado tarde para muchas intervenciones terapéuticas y puede ocurrir la muerte súbita en hasta el 50% de los pacientes. Está claro que el EOX desempeña un papel importante en el desarrollo de aneurismas en los tejidos aórticos de pacientes con SLD. Por lo tanto, el EOX debe ser monitoreado en la práctica clínica y objetivo durante tratamiento. En la realización de ensayos clínicos aleatorios también debe ser abordada. Finalmente, es posible que el uso de una combinación de antioxidantes, o antioxidantes junto con inhibidores de AT-1 y estatinas, pueda tener un impacto en el control de la dilatación aórtica. Su efecto benéfico podría ser monitoreado por varios estudios de imágenes de vanguardia. En este modo, el tratamiento con un suplemento antioxidante como la N-acetilcisteína, un donante de GSH, vitaminas C y E o la combinación de estos u otros antioxidantes podría contribuir a desacelerar en parte el desarrollo agresivo y letal del AAT y aumentar la calidad de vida y supervivencia en pacientes con SLD.

LIMITACIONES

La principal limitación de este estudio fue la obtención de fragmentos de AAT de pacientes con SLD. Como se describió anteriormente; Esta enfermedad es una variante del SM con incidencia desconocida que puede ser de alrededor de 1/10000. Solo se pudieron obtener 10 muestras de pacientes en un período de aproximadamente 9 años. Otra limitación fue la improbabilidad de haber emparejado a sujetos controles por género y edad. Aunque puede haber una correlación de capacidad antioxidante total con la edad (Maciejczyk, 2019), no es

posible obtener tejido aórtico de sujetos sanos a edades específicas. La única forma de obtener la muestra es de sujetos que tienen una indicación quirúrgica, donde existe la posibilidad de extraer éticamente una muestra pequeña. Esto depende del tratamiento aplicado o la técnica quirúrgica empleada en los controles y el consentimiento informado de los pacientes con SLD y controles. Sin embargo, incluso si hay diferencias de edad en los controles y en los pacientes con SLD, existe la certeza de que no hubo comorbilidades ni daños aórticos, como se muestra en las microfotografías de los controles.

REFERENCIAS

- Alberts JJJ, Van Den Berg MP, Bergman J, Du Marchie GJ, Post JG, Van Unen H, Pals G, Boonatra PW, Van Tintelen JP. The many faces of aggressive aortic pathology: Loeys-Dietz syndrome. *Neth Heart Jour.* 2008;16(9):299-304.
- Amer H, Athanasios A, Callum H, Lara R, Mohammad UA, Mohamad B, Valve sparing aortic root surgery: from revolution to evolution?, *J Vis Surg,* 2019;5(14):1-15.
- Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea.* 2006; 494(2):161-172.
- Aviña F, Hernández A. Síndrome con hábitos marfanoides. *Rev Mex Ped.* 2011;78(6):236-241.
- Bentall H, De Bono A. A technique for complete replacement of the ascending aorta. *Thorax.* 1968;23(4):338-339.
- Boileau C, Guo Dong, Hanna N, Regalado E, Detain D, Gong L, Varret M, Prakash S, Li A, d'Indy H, Braverman A, Grandchamp B, Kwartler C, Gouya L, Lyn R, Santos-Cortez P, Abifadel M, Leal S, Muti C, Shendure J, Gross M, Rieder M, Vahanian A, Nickerson D, Michel JB, Jondeau G, Milewicz D. TGFB2 Loss of function mutations cause familial thoracic aortic aneurysms

and acute aortic dissections associated with mild systemic features of the Marfan syndrome. *Nat Genet.* 2014;44(8):916-921.

- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;7(72):248-254.
- Cabrol C, Pavie A, Gandjbakhch I. Complete replacement of the ascending aorta with reimplantation of the coronary arteries: new surgical approach. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1981;81:309-315.
- Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: The role of oxidant stress. *Circ Res.* 2000;10(87):840-844.
- Cardenas N, Medina ON. Glutathión peroxidasa: una familia de enzimas. Radicales libres y estrés oxidativo, aplicaciones médica. 2008, Manual Moderno. Cap 13:201-217. México DF.
- Ceballos R, Ramírez S, Calzada M, Olivares C. Disfunción endotelial y estrés oxidativo. *Rev Endo Nut.* 2006;14(4):233-236.
- Chihuailaf R, Contreras P, Wittwer F. Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. *Vet Méx.* 2002;33(3):265-283.
- Chirino YI, Orozco IM, Pedraza Ch. Evidencias de la participación del peroxinitrito en diversas enfermedades. *Rev de Inv Clin.* 2006;58(4): 350-358.
- Cisneros R, Oré R, Arnao I, Suárez S. Relación de glutathión reducido/oxidado (gsh/gssg) en ratas diabéticas tratadas con maca (*Lepidium meyenii* walp). *An Fac Med.* 2011;72(2):107-111.
- Cooley DA, DeBakey ME. Resection of the Thoracic Aorta with Replacement by Homograft for Aneurysms and Constrictive Lesions. *T Thor Surg.* 1955;29(1):66-100.
- Cooley DA, DeBakey ME. Surgical considerations of intra thoracic aneurysms of the aorta and great vessels. *Ann Surg.* 1952;135(5):660-680.
- Cooley DA, DeBakey ME. Resection of entire ascending aorta in fusiform aneurysm using cardiac bypass. *J Am Med Assoc.* 1956;162(12):1158-1159.

- Cota I. Actividad de las enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, en el espermatozoide y líquido seminal de conejo Nueva Zelanda y su relación con el sobrepeso. Tesis de Maestría, 2014, UAM-I. México DF.
- Cruz J, Licea ME, Hernández P. Marcel EA. Yanes. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *Rev Mex Patol Clin.* 2011;58(1):4-15.
- Mozaffarian D. Fish, Mercury, Selenium and Cardiovascular Risk: Current Evidence and Unanswered Questions. *Int J Environ Res Public Health.* 2009;6(6):1894-1916.
- David TE, Feindel CM. An aortic valve-sparing operation for patients with aortic incompetence and aneurysm of the ascending aorta. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1992;103(4):617-621.
- DeBakey ME, Cooley DA. Surgical treatment of aneurysm of abdominal aorta by resection and restoration of continuity with homograft. *Surg Gynecol Obstet.* 1953;97(3):257-266.
- DeBakey ME, Cooley DA. Successful resection of aneurysm of thoracic aorta and replacement by graft, *J Am Med Assoc.* 1953;152(8):673-676.
- DeBakey ME, Cooley DA. Successful resection of aneurysm of distal aortic arch and replacement by graft. *J Am Med Assoc.* 1954;155(16):1398-1403.
- DeBakey ME, Creech O jr, Morris GC jr. Aneurysm of Thoracoabdominal Aorta Involving the Celiac, Superior Mesenteric, and Renal Arteries. Report of Four Cases Treated by Resection and Homograft Replacement, *Ann Surg.* 1956;144(4):549-572.
- DeBakey ME, Crawford ES, Cooley DA, Morris GC jr, Resection of fusiform aneurysm of aortic arch with replacement by homograft. *Surg Gynecol Obstet.* 1957;105(6):657-664.
- De León O, García G. Síndrome de Loeys Dietz. Presentación de una familia. *Rev Cub Genet Comunit.* 2008;2(3):61-64.

- Delgado O, Betanzos C, Sumaya M. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Invest y Cien*, 2010;1(50):10-15.
- Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanism of glutathione-dependent enzymes. *Biochim Biophys Acta*. 2013;830(5):3217-3266.
- Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control and Cell Function. *Am Physiol Soc*. 2002;82(1):47-95.
- Echeverri R, Mockus S. Mecanismos celulares en respuesta al estrés: sirtuinas. *Rev Fac Med*. 2010;58(3):221-231.
- Ejiri J, Inoue N, Tsukube T, Menezane T. Oxidative stress in the pathogenesis of thoracic aortic aneurysm: Protective role of statin and angiotensin II type receptor blocker. *Card Res*. 2003;59(4):988-996.
- Ellman G. Tissue sulfhydryl groups. *Archi of Biochem and Bioph*. 1959;82(1):70-77.
- Erbel R, Aboyans V, Boileau C, 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases: document covering acute and chronic aortic diseases of the thoracic and abdominal aorta of the adult: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Aortic Diseases of the European. *Eur Heart J*. 2014;35(41):2873-2926.
- Fagan A, Pillai R, Radley R, Yacoub MH. Results of new valve conserving operation for treatment of aneurysms or acute dissection of aortic root, *Br Heart J*. 1983;49:302
- Fortoul T, Castell A. Histología y biología celular. 2010, 1er ed, Editorial Mc Graw Hill, China.
- Flohé L, Günzler W. Assays of glutathione peroxidase. *Meth Enzym*. 1984;105(12):114-121.
- Galleguillos M, Plaza R, Kessi E, González E, Letelier E, Valdivia G, Adarmes H. Actividad glutatión s transferasa en la membrana sinovial de la articulación metacarpofalangica equina normal y alterada. *Arch Med Vet*. 2012;1(44):179-183.

- Hayes JD, Flanagan J, Jowsey IR. Glutathione transferases. *An Rev Pharma Toxic.* 2005;45(1):51-93.
- Hernandez LD. Participación del estrés oxidativo en la muerte celular programada. Tesis de Doctorado. Instituto de Biotecnología UNAM. 2009, México DF.
- Hess PJ Jr, Klodell CT, Beaver TM, Martin TD, The Florida sleeve: a new technique for aortic root remodeling with preservation of the aortic valve and sinuses. *Ann Thorac Surg.* 2005;80(2):748-750.
- Hicks JJ, Torres YD, Sierra MD. Estrés oxidante conceptos y clasificación. *Rev Endo Nut.* 2006;14(4):223-226.
- Hiratzka LF, Bakris GL, Beckman J, 2010 ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM Guidelines for the Diagnosis and Management of Patients With Thoracic Aortic Disease: Executive Summary. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(14):1509-1544.
- Jondeau G, Ropers J, Regalado E, Braverman A, Evangelista A, Teixedo G et al. International registry of patients carrying TGFBR1 or TGFBR2 mutations. Results of the MAC (Montalcio Aortic Consortium). *Circ Cardiovasc Genet.* 2016;9(6),548-558.
- Kazzack. Manuales Departamentales. La práctica Histológica. 2003, 2da Edición. Editorial McGraw Hill. México DF.
- Kourliouros A, Soni M, Rasoli S. Evolution and current applications of the cabrol procedure and its modifications. *Ann Thorac Surg.* 2011;91:1636-1641.
- Krohg-Sorensen K. Lingaas P.S. Lundblad R. Seem E. Paus B. Geiran OR. Cardiovascular surgery in Loeys-Dietz syndrome types 1-4. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2017;52(6):1125-1131.
- Kuzmik G, Sang A, Elefteriandes J. Natural history of thoracic aortic aneurysms. *Jour Vasc Surg.* 2012;56(2):561-575.
- Lee G, Luna. 1999 Histopathologic Laboratories Armed Forces. Institute of Pathology. Washington DC 20305 3ª edición. EUA.

- Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Compr Rev Food Sc Food Saf.* 2004;1(3):21-33.
- Loeys BL, Chen J, Neptune ER, Judge DP, Podowski M, Holm T, Meyers J, Leitch CC, Katsanis N, Sharifi N, Xu LF, Myers LA, Spevak PJ, Cameron DE, Backer J, Hellemans J, Chen Y, Davis EC, Webb CL, Kress W, Coucke P, Rifkin DB, De Paepe AM, Dietz HC. A síndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFB2. *Nat Gen.* 2005;37(3):275-281.
- Maleszewski JJ, Miller DV, Lu J, Dietz HC, Halushka MK. Histopathologic findings in ascending aorta from individuals with Loeys-Dietz Syndrome. *Am J Surg Pathol.* 2009;33(2):194-201.
- Martínez J, Torres PV, Juárez MA. El glutatión y sus asociación con las enfermedades neurodegenerativas, la esquizofrenia, el envejecimiento y la isquemia cerebral. *Rev Edu Bioqui.* 2011;30(2):56-67.
- Martínez S. Especies reactivas de oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos y principales especies reactivas de oxígeno. *Rev Cubana Farm.* 2005;39(3):3-14.
- Martínez S M, Barrado D A, Subillaga M, Hager A, De Paoli T, Boccio J. Conceptos actuales del metabolismo del glutatión: utilización de los isótopos estables para la evaluación de su homeostasis. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2006;40(1):45-51.
- McCarrick G, Black III J, Browdin S. 2014.Loeys–Dietz syndrome: A primer for diagnosis andmanagement. *Gen Med.* 2014;16(8):576-587.
- Meaney E. El papel del endotelio en las enfermedades cardiovasculares. Fundación interamericana del corazón. 1999, México DF.
- Nuñez GH. Alteraciones de las enzimas que emplean el Glutatión en el tejido aórtico de pacientes con síndrome de Marfan. Tesis de especialidad. 2013, INCICH. México DF.

- Patel ND, Crawford T, Magruder JT, Alejo DE, Hibino N, Black J. Cardiovascular operations for Loey's-Dietz syndrome: intermediate-term results. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2017;153(2):406-412.
- Peraza L. Catalasa: Radicales libres y estrés oxidativo, aplicaciones médicas. 2008. Manual Moderno, Cap 13:183-199, México DF.
- Pérez G, Pérez A. Métodos para medir el daño oxidativo. *Rev Cub Med Milit.* 2000;29(3):192-198.
- Pérez T, Roque P, Hafidi M, Díaz D, Baños G. 2009. Association of renal damage and oxidative stress in a rat model of metabolic syndrome. Influence of gender. *Free Rad Res.* 2009;43(8):761-771.
- Piemonte A, Pastore A, Tozzi G, Tagliacozzi D, Santorelli FM. Glutathione in blood of patients with Friedreich's ataxia. *Eur J Clin Invest.* 2001;31(11):1007-1011.
- Pisoschi AM, Pop A. The role of oxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur Jour Med Chem.* 2015;97:55-74.
- Quintanar E, Calderón S. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Rev Edu Bioq.* 2009;28(3):89-101.
- Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants the: interplay. *BioMed Res Int.* 2014;761264:1-19.
- Ramírez MA. Afectación cardiovascular del síndrome de Marfan, 2012. Bubok Publishing, Madrid, España.
- Romero E, Figueroa M, Morales S, Rojas R. El estrés oxidativo en la pared vascular y su potencialidad de manipulación terapéutica. *Rev Cubana Invest Biom,* 2009;28(3):112-129.
- Siwik D, Pagano PJ, Colucci WS. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblast. *Am J Physiol Cell,* 2001;280(1):53-60.
- Soto M, Soria E, Guarner LV, Muruato OE, Hernández MBI, Martínez HJ, Barragán R, Herrera V, Pérez I. Analysis of oxidative stress enzymes and

structural and functional proteins on human aortic tissue from aortopathies. *Oxid Med and Cell Longev*. 2014;760694:1-13.

- Torres J, Del Valle L, Pérez I, Varela E. Participación de la sintasa del óxido nítrico (NO) inducible en la liberación de NO en un modelo de sepsis en rata. Papel de la vía guanilato ciclasa. *Rev Mex Cien farma*, 2009;40(4):12-21.
- Vargas A. Respuesta antioxidante inducida por quercetina en linfocitos humanos circundantes. Tesis de maestría, 2009, ENMH IPN.
- Vararattanavech A, Ketterman A, Multiple roles of glutathione binding- site residues of glutathione S transferase. *Protein Pept Lett*, 2003;10(5):441-448.
- Venereo JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit*, 2003;31(2):126-33.
- Wellbrock J, Sheikhzadeh S, Oliveira L, Stam H. Over expression of gremlin-1 in patients with Loeys-Dietz syndrome: Implications on pathophysiology and early disease detection. *PLoS ONE*, 2014;9(8):1-8.
- Welsch S. Histología. 2006, 2da edición, Editorial Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Wheat MW, Wilson JR, Bartley TD. Successful Replacement of the Entire Ascending Aorta and Aortic Valve. *J Am Med Assoc.*, 1964;188(8):717-719.
- Wheeler JB, Ikonomidis JS, Jones JA. 2014. Connective tissue disorders and cardiovascular complications: the indomitable role of transforming growth factor-beta signaling. *Adv Exp Med Biol*. 2014;802(1):107-127.
- Wilton E, Bland M, Thompson M. Matrix metalloproteinase expression in the ascending aorta and aortic valve. *Int Cardvasc Tor Surg*. 2007;7(1):37-41.
- Williams JA, Loeys BL, Nwakanma LU. Early surgical experience with Loeys–Dietz: a new syndrome of aggressive thoracic aortic aneurysm disease. *Ann Thorac Surg*. 2007;83,757-763.
- World Medical Association. Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. *Nur Ethics*. 2002;7(1):105-109.

- Xiong W, Mactaggat J, Knispel R, Worth J. Inhibition of reactive oxygen species attenuates aneurysm formation in a murine model. *Atheros.* 2009;202(1):128-134.
- Yacoub MH, Valve-conserving Operation for Aortic Root Aneurysm or Dissection, *Operative Techniques in Cardiac & Thoracic Surgery.* 1996;1(1):57-67.
- Yang HH, Van Breemen C, Chung AW. Vasomotor dysfunction in the thoracic aorta of Marfan syndrom is associated with accumulation of oxidative stress. *Vasc Pharma.* 2010;52(1-2):37-45.
- Zorrilla A. El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Rev Cubana Invest Biomed.* 2002;21(3):178-185.
- Zuñiga M, Guarner V, Díaz C, Díaz D, Nava C, Beltran R, Pérez T. Modulation of oxidative stress in fatty liver of rat with metabolic syndrome by *hibiscus sabdariffa*. *Inmuno Endoc Metab Agents Med Chem.* 2013;13(3):196-205.

Tabla 1. Características demográficas de los pacientes.

Sexo	Edad	Antecedente familiar	Características clínicas del paciente	Gen	DAo mm	Z score	Tipo de cirugía	Evolución
H	15	Padre falleció 26 años mismo diagnóstico	Dolicocefalia, hipoplasia malar retrognatia, paladar ojival, úvula ensanchada, hipertelorismo implantación baja de pabellón auricular, úvula ensanchada, millia en región malar, Relación brazada talla >1.06. Estrías. pectum carinatum, escoliosis, pie equino varo. Steinberg y Walker Murdock positivos no ectopia lentis	No se hizo prueba genómica	29	4.07	Procedimiento David V. 06/09/2013	Falleció un año después del postoperatorio cardiovascular, por una complicación de colecistitis aguda
M	22	El padre y una hermana fallecieron a los 27 y 17 años con diagnóstico (Loez-Dietz)	Hipertelorismo, paladar ojival sobre posición dentaria, Úvula ensanchada, Millia. Pectum carinatum, Escoliosis, Steinberg Walker Murdock, positivos pie plano y valgo. Relación brazada/ talla 1.04 Sin ectopia lentis	FBN-1 Exón 15 y TGFB2 exón 6	48	5.2	Procedimiento de David V 02/07/2013	Evolución satisfactoria clase funcional 1 (NYHA) acude a consulta hasta 2019
H	13	Madre con diagnóstico de LD, falleció a los 22 por ruptura aortica Una hermana con LD	Dolicocefalia, hipertelorismo, paladar ojival, úvula bifida. Micrognatia, implantación baja de pabellón auricular, pectum carinatum de hemitorax derecho (asimétrico), estrías, Steinberg Walker Murdock, positivos, pie plano. Contracturas en ortijos. Escoliosis. ECO prolapso valvular mitral	TGFB2 exon 6 y COL3A1	24	2.98	Procedimiento de David V y anulo plastia mitral 01/11/2013	El 11/11/2013 fue evaluado por Neurología por síndrome disquinético, y balismo que mejoro con anticonvulsivantes la TC no demostró aneurismas, Hemodinamicamente estable y el estado neurológico integro Acude hasta 2019
M	18	No antecedentes de Marfan o Loeys Dietz	Dolicocefalia, hipertelorismo, micrognatia, paladar ojival y sobre posición dentaria úvula bifida, Relación brazada ta. a >1.06 hiperelasticidad. Pectum carinatum aracnodactilia contractural en pies y manos, pie plano y varo steinberg y Walker Murdock positivo escoliosis ectasia dural. Tortuosidad arterial	No se hizo prueba genómica	46	9.5	Procedimiento de David V. 04/10/2012	Acude a consulta hasta 2019 Evolución estable, Clase funcional 1. Hemodinamicamente estable asintomática
H	38	Madre y un hermano y 7 primos con SM 1 primo c/LD	Talla 1.90 brazada 1.98, hipertelorismo paladar ojival, sobre posición dentaria, úvula bifida, no pectum, escoliosis, estrías. Sin luxación de cristalino	FBN1 exón 60 + TGFB2 exon 6	48	NA	Procedimiento de David V 20/01/2014	Acude a consulta hasta 2019 Estable hemodinamicamente asintomático Clase funcional 1
M	14	Padre con LD	Talla 1.58 brazada, hipertelorismo úvula bifida, escoliosis pectum carinatum	En proceso	54	4.30	Bentall y Bono más ECMO 17/12/2018	Sobrevive última consulta 2019
M	21	Sin antecedente conocido	Talla 1.60 peso 45 Hipertelorismo, paladar ojival úvula ancha pectum carinatum pie valgo, sin luxación de cristalino. Arterias tortuosas	TGFB2 Exon 6	25	3.47	Procedimiento de David V 07/09/2015	Satisfactoria última consulta 2009, Se encuentra estable
H	46	Desconoce antecedentes	Talla 1-72 peso 78 Hipertelorismo úvula bifida, escoliosis pie plano.	No dio muestra para estudio	63	NA	Bentall y Bono 09/09/2015	Estable acudió a consulta hasta 2018
M	25	Padre diagnóstico de Marfan falleció por disección aortica aguda a los 24 años	Talla 1.70 peso 70 Hipertelorismo, millia pectum carinatum, úvula normal pie plano cavo. Arterias tortuosas	FBN-1 Exón 42 y TGFB2 exón 6	46	NA	Bentall y Bono 18/12/2015	Acude a consulta en 2019
M	35	Desconoce antecedentes	Talla 1.59 peso 64 hipertelorismo pectum carinatum pie planto arterias tortuosas	No dio muestra para estudio	58	NA	Bentall y Bono 06/04/2017	Acude a consulta hasta 2019

H= hombre, M= mujer, PVA= plano valvular aórtico, SV= Seno de Valsalva. INC Instituto Nacional de Cardiología, MCD= miocardiopatía dilatada NYHA = New York Health Association, FINC = (Fuera del Instituto Nacional de Cardiología, otra Institución y otra Ciudad. IM= Insuficiencia mitral. Io= Insuficiencia aortica, IT= Insuficiencia tricúspidea