

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA "IGNACIO CHAVEZ"

SERVICIO DE CIRUGIA CARDIOTORACICA



**MINERALIZACIÓN VALVULAR COMO CAUSA DE
ESTENOSIS EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA
DE REEMPLAZO AÓRTICO Y MITRAL EN EL INSTITUTO
NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ**

TESIS DE POSGRADO

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE LA ESPECIALIDAD EN CIRUGIA
CARDIOTORACICA PRESENTA:**

DR. JOSE OCTAVIO FAJARDO MEJIA

ASESORES

**DRA. AURORA DE LA PEÑA DIAZ
DR. VALENTIN HERRERA ALARCON**

MEXICO, D.F.

AGOSTO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

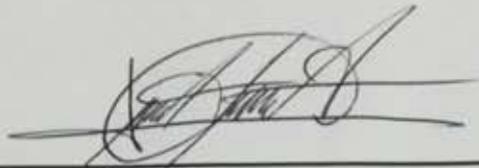


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

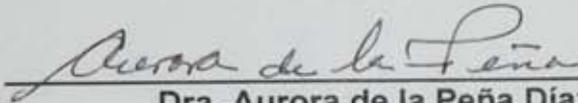
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Dr. Valentín Herrera Alarcón
Asesor de Tesis
*Profesor Titular del Curso Universitario
de Especialización en Cirugía Cardiorácica
Jefe del Departamento de Cirugía Cardiorácica
Instituto Nacional de Cardiología
"Ignacio Chávez"*



Dra. Aurora de la Peña Díaz
Asesor de Tesis
*Profesor Titular B Departamento de Farmacología
Universidad Nacional Autónoma de México
Investigadora en Ciencias Médicas SNI II
Instituto Nacional de Cardiología
"Ignacio Chávez"*



Dr. José Fernando Guadalajara Boo
Director de Enseñanza
*Instituto Nacional de Cardiología
"Ignacio Chávez"*



AGRADECIMIENTO

A Dios, el Ser Supremo, a quien todo le debo, por ser mi fuerza, mi paz y mi guía.

A mis padres, Francisco y Laura Isabel, por su confianza, apoyo y amor, y por inculcarme siempre el deseo de superación y de constancia

A mi Esposa Kelly, por su apoyo incondicional, comprensión y tolerancia.

A mi hija Mia Isabelle, es el motivo de mi vida, mi realización.

A mis hermanos Frank, Walter y Ronald, por ser ejemplo de profesionalismo y humanidad, y por ser mis mejores amigos.

A mis compañeros Julius Ageo, Alejandra Valeria y Mar Lisette, por ser mis aliados en esta noble tarea de salvar vidas. Gracias por su amistad.

A mis maestros cirujanos cardiotorácicos, por su tiempo, dedicación y entrega en todo este tiempo que compartimos, por influir positivamente en mi formación.

Al Ing. Carlos Linares de Geofísica UNAM y a los Dres. Pablo Rodríguez y Leonel Mendoza por su valiosa colaboración para culminar este trabajo de investigación.

A los pacientes cardiacos de esta noble Institución, por colaborar en pro de la investigación con el fin de mejorar el estilo de vida de la humanidad.

A mis asesores de tesis, Dra. Aurora de la Peña y Dr. Valentín Herrera Alarcón, gracias por permitirme formar parte de este trabajo de investigación, y por darme la oportunidad de alcanzar mi sueño de convertirme en cirujano cardiotorácico.

“La única forma de hacer un gran trabajo es amar lo que haces. Si no lo has encontrado aún, sigue buscando. No te conformes. Como con todos los asuntos del corazón, lo sabrás cuando lo encuentres. Y como cualquier gran relación, solo se pone mejor y mejor cuando los años pasan.”

Steve Jobs (1955 – 2011)

INDICE

I. Resumen.....	6
II. Introducción.....	7
a. Antecedentes.....	8
b. El Calcio.....	8
c. Cardiopatía Valvular.....	8
d. Valvulopatía Aortica.....	10
e. Valvulopatía Mitral.....	16
f. Insuficiencia Cardiaca.....	17
g. Microscopio Electrónico de Barrido.....	18
III. Justificación.....	20
IV. Planteamiento del Problema.....	21
V. Objetivos.....	22
VI. Material y métodos.....	22
a. Diseño del estudio.....	22
b. Universo de trabajo.....	22
c. Tamaño de la muestra.....	22
d. Población del estudio.....	22
e. Descripción de las variables.....	23
f. Criterios de inclusión.....	25
g. Criterios de exclusión.....	25
h. Muestra de tejido valvular.....	26
VII. Procedimientos.....	27
VIII. Análisis estadístico.....	27
IX. Consideraciones Éticas.....	27
X. Recursos para el estudio.....	28
XI. Resultados.....	28
XII. Discusión.....	35
XIII. Conclusiones.....	37
XIV. Anexos.....	38
XV. Bibliografía.....	42

I.RESUMEN

MINERALIZACIÓN VALVULAR COMO CAUSA DE ESTENOSIS EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA DE REEMPLAZO AÓRTICO Y MITRAL EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ.

AUTOR: Dr. José Octavio Fajardo Mejía

INTRODUCCION: Muchos depósitos de minerales fisiológicos y patológicos están presentes en el cuerpo humano. Los productos mayormente mineralizados son formados por un proceso controlado de mineralización. Otros como ser: cálculos urinarios, cartílago artrítico, cálculos dentales y calcificación de válvulas cardiacas son formados por procesos patológicos de mineralización. La estenosis valvular aortica calcificada es un problema mayor de salud pública en la sociedad actual y que después de la hipertensión arterial y la enfermedad arterial coronaria, es la tercera causa más común de trastorno cardiovascular y la indicación más común para cambio valvular en los Estados Unidos. (10)

OBJETIVO: Identificar el grado y composición de minerales en las válvulas aortica y mitral mediante el microscopio electrónico de barrido con detector de rayos X en el laboratorio de Geofísica de la UNAM, de enfermos que acuden al Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” para someterse a cirugía de cambio valvular aórtico y mitral.

MATERIAL Y METODOS: se realizó un estudio transversal y descriptivo. Se revisaron los expedientes clínicos de pacientes operados de cambio valvular aórtico y mitral en el Servicio de Cirugía Cardiovascular del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” de mayo de 2013 a mayo de 2015.

RESULTADOS: los minerales que más se encontraron en los tejidos valvulares estudiados al microscopio electrónico de barrido fueron calcio, azufre, hierro y fosforo, y se encontraron en mayor proporción en pacientes con antecedentes de diabetes mellitus, dislipidemia, obesidad y tabaquismo.

CONCLUSIONES: este estudio marca solo el inicio de una serie de proyectos, encaminados a determinar el origen de la mineralización valvular, formas de controlar su avance, y decidir el momento óptimo para intervenir estos pacientes, con el objetivo primordial de evitar llegar a la insuficiencia cardiaca, y mejorar la calidad de vida de la población.

PALABRAS CLAVE: mineralización valvular cardiaca, insuficiencia cardiaca, estenosis aortica, estenosis mitral, microscopio electrónico de barrido.

MINERALIZACIÓN VALVULAR COMO CAUSA DE ESTENOSIS EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA DE REEMPLAZO AÓRTICO Y MITRAL EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ

II. INTRODUCCION

A pesar del hecho de que se ha investigado intensamente los depósitos de calcio en las válvulas cardiacas, aún es incierto el mecanismo de su formación y se sabe que no existe tratamiento médico capaz de detener la progresión de la enfermedad. Los depósitos de calcio están compuestos de minerales y componentes orgánicos, y representan fases inorgánicas producidas por la actividad de organismos vivos conocidos como biominerales.(8)

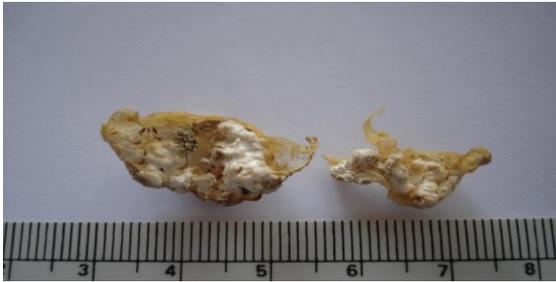
La cristalización se define como el proceso por el cual se generan solidos cristalinos y cuando estos solidos son sales cálcicas hablamos de calcificación. En el organismo, bajo condiciones fisiológicas y controladas tiene lugar el proceso de cristalización en huesos, cartílagos y dientes en forma de fosfato cálcico. A este tipo de cristalización se le denomina calcificación fisiológica. (12)

II.a ANTECEDENTES

El primer reporte detallado de calcificación valvular aortica fue publicado por Moenckeburg en 1904, quien propuso dos posibles mecanismos para explicar este fenómeno: 1) degeneración del tejido de las valvas que se origina en los senos de valsalva y se propaga a los bordes de las cúspides; 2) proceso esclerótico de la pared aortica que involucra las cúspides. (10).

La formación y composición de depósitos de calcio en organismos vivientes ha sido investigado con diferentes métodos en estudios in vivo e in vitro.

El principal obstáculo está en la imposibilidad de identificar el comienzo de la formación de depósitos de calcio y el consecuente desarrollo. (7)



III.b EL CALCIO

El calcio es el catión más abundante del organismo humano e interviene en todas las cristalizaciones fisiológicas y en una gran cantidad de cristalizaciones patológicas. El 99% del calcio corporal, se encuentra en el esqueleto formando cristales de hidroxapatita y el 1% restante en la sangre, donde se encuentra en un 50% como calcio iónico libre, en 10% ligado a iones y en 40% ligado a proteínas.

Calcificaciones Cardiovasculares: patología caracterizada por la deposición de fosfato cálcico (hidroxapatita) en tejidos cardiovasculares: vasos sanguíneos, miocardio y válvulas cardíacas. (12)

III.c CARDIOPATIA VALVULAR

El corazón es un órgano complejo que consta de cuatro válvulas principales que ayudan a asegurar el flujo sanguíneo adecuado a través del corazón. Sin embargo, cuando estas válvulas se comprometen, ocurre el flujo sanguíneo inadecuado. Hay muchas condiciones que pueden causar que una válvula deje de funcionar correctamente. Una de estas condiciones se conoce como enfermedad de la válvula aórtica calcificada. Se caracteriza por la deposición de nódulos de

calcio en la válvula que puede causar engrosamiento y estrechamiento de la estructura valvular. Si esta enfermedad no se trata, puede conducir a la mortalidad de los pacientes. (14) Debido a la incertidumbre de la relación causal exacta de la enfermedad valvular aortica calcificada y que no hay tratamientos farmacológicos para detener o revertir la enfermedad, el estándar de oro actual del tratamiento es el cambio de la válvula aórtica. En un esfuerzo por comprender mejor y tratar esta enfermedad, la investigación de los aspectos biológicos de la válvula aórtica, tanto en un ambiente sano y estado de enfermedad es de suma importancia. (2, 4,5)

La cardiopatía valvular es responsable del 10 al 20% de todas las intervenciones quirúrgicas cardiacas en EE.UU. Las causas primarias de valvulopatía son la calcificación valvular del envejecimiento y los trastornos hereditarios o congénitos. La prevalencia de valvulopatía reumática es ahora muy baja en EE.UU. y Europa debido a la prevención primaria de la fiebre reumática, aunque la valvulopatía reumática sigue siendo frecuente en el mundo en desarrollo. Alrededor de dos tercios de todas las operaciones en válvulas cardiacas son para la sustitución de la válvula aortica, sobre todo por una estenosis aortica. La operación quirúrgica de la válvula mitral suele realizarse por una insuficiencia mitral porque a la mayoría de los pacientes con estenosis mitral se les trata por un abordaje percutáneo. (5) Además de los pacientes con valvulopatía grave que finalmente precisan una intervención mecánica, hay un grupo mayor de pacientes con enfermedad leve a moderada que necesitan un diagnóstico y tratamiento médico adecuado. (1,2)

III.d VALVULOPATIA AORTICA

La estenosis aórtica es actualmente la principal enfermedad valvular en el mundo. La calcificación valvular es la etiología más frecuente, seguido por enfermedades congénitas y afección reumática. Esta última aún tiene una prevalencia importante en países en vías de desarrollo aunque, en forma general, se ha reportado una disminución en su incidencia.(3) La calcificación valvular aórtica se considera una enfermedad compleja, de etiología probablemente sistémica, con fenómenos de inflamación local, calcificación y acumulación de lípidos, muy parecida a la fisiopatología de la aterosclerosis.(6,10,15) La incidencia de la estenosis aórtica tiene un incremento exponencial relacionado con la edad, así como con otros factores de riesgo, como la hipertensión arterial sistémica o la diabetes mellitus, por lo que se ha considerado a la calcificación aórtica como una manifestación de enfermedad cardiovascular, la cual, debido a su afectación en el sistema nervioso central, el sistema vascular periférico, renal y cardiaco, es la principal causa de muerte en el mundo.(3,8) Si bien se tienen conocimientos amplios sobre la historia natural de esta enfermedad, aún hay puntos a discusión; por ejemplo: en qué momento se debe tratar a un paciente con estenosis aórtica, si es que no da síntomas de gravedad y cuál es el tratamiento de elección en este grupo de pacientes (médico, quirúrgico o, recientemente, el tratamiento intervencionista con la colocación de endoprótesis valvulares). El incremento paulatino y constante en la incidencia de tal enfermedad nos hace reevaluar el manejo de este grupo de pacientes de alto riesgo, desde el diagnóstico, seguimiento y tratamiento, buscando mejorar el pronóstico y la sobrevida del paciente. (2, 3,4)

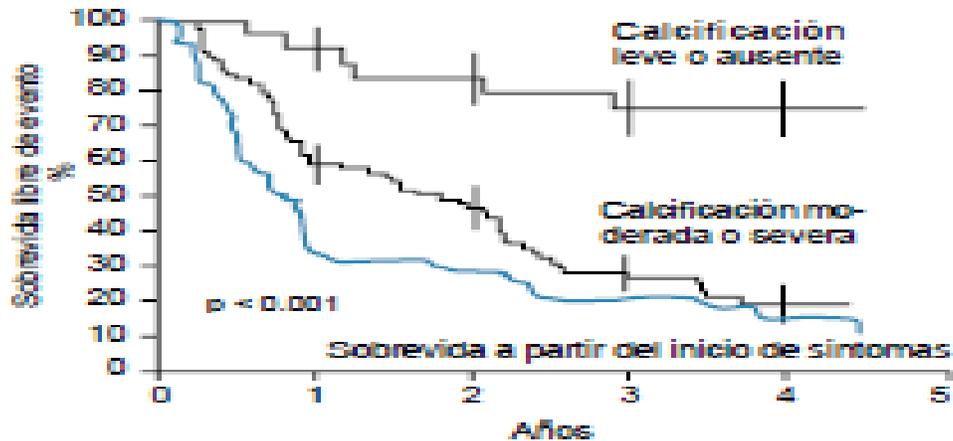


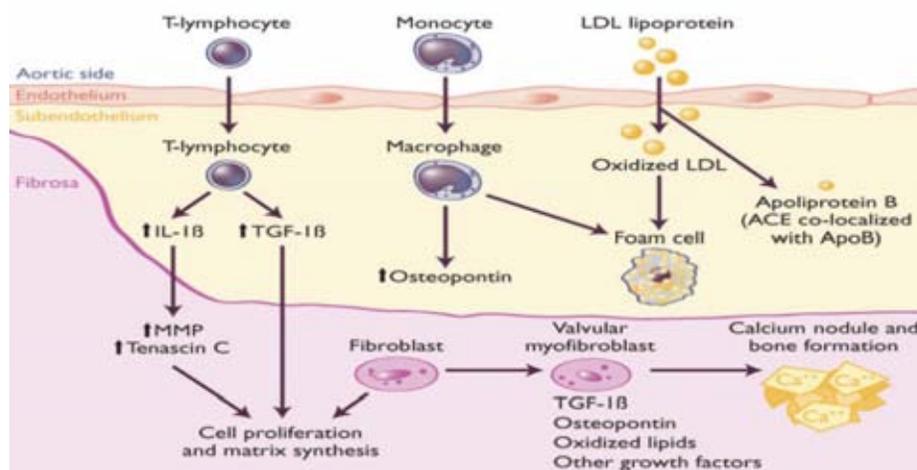
Figura 1. Comparación de los eventos adversos a cinco años en pacientes con o sin calcificación, observando un claro incremento en los pacientes con calcificación severa. Sobrevivida a cinco años a partir del inicio de síntomas. Modificado de Otto CM, Burwash IG, Legget ME et al.⁷

La estenosis valvular aortica tiene tres causas principales: una válvula bicúspide congénita con calcificación superpuesta, una calcificación de una válvula normal de tres valvas y las enfermedades reumáticas. (2)

La estenosis aortica calcificada es ahora la causa más frecuente de estenosis aortica en los adultos. La esclerosis aortica es el primer estadio de la valvulopatía calcificada e, incluso sin una obstrucción valvular, se asocia a un aumento del 50% del riesgo de muerte cardiovascular e infarto de miocardio. (16, 17). Los depósitos de hidroxapatita han sido identificados como una de las causas principales en la pérdida de elasticidad de la válvula aortica. (13).

Aunque en algún momento se considera que era el resultado de años de estrés mecánico normal sobre una válvula por lo demás normal, la idea actual es que el proceso morbosus representa cambios proliferativos e inflamatorios, con acumulación de lípidos, aumento de la actividad de la enzima convertidora de la angiotensina, aumento del estrés oxidativo e infiltración de macrófagos y linfocitos

T lo que conduce, finalmente, a la formación de hueso de una forma similar, pero no idéntica, a la calcificación vascular.(6,8,11) La calcificación progresiva, al principio a lo largo de las líneas de flexión en sus bases, lleva a la inmovilización de las cúspides.(13) La estenosis aortica calcificada comparte factores de riesgo comunes con la calcificación del anillo mitral, y los dos trastornos coexisten a menudo (12,16)



Los factores de riesgo para el desarrollo de la estenosis aortica calcificada son análogos a los de la aterosclerosis vascular: aumento de la concentración sérica de colesterol de lipoproteína de densidad baja, diabetes, tabaco e hipertensión.(6,8) La estenosis aortica calcificada también se ha asociado a marcadores inflamatorios y componentes del síndrome metabólico.(9) Los estudios retrospectivos han ligado el tratamiento con 3 hidroxil 3 metilglutaril coenzima A reductasa (estatina) a una menor progresión de la estenosis aortica calcificada, y este efecto se ha demostrado en modelos animales de hipercolesterolemia.(11,13) Por esa razón, hay un consenso creciente en que la estenosis aortica degenerativa comparte muchas características fisiopatológicas

con la aterosclerosis y que podrían tratarse vías específicas para evitar o retrasar la progresión de la enfermedad.(9) La disminución del área valvular aórtica a partir de un punto crítico genera una incapacidad para incrementar el gasto cardíaco y en determinadas condiciones, una caída neta del volumen minuto. Estas situaciones guardan generalmente buena correlación con signos y síntomas característicos. (6, 7)

La válvula aórtica bicúspide (afecta a aproximadamente el 2% de la población general) es la más frecuente de todas las cardiopatías congénitas.(17) No suele ser estenótica en forma temprana; la estrechez valvular se desarrolla entre la cuarta y la sexta décadas de la vida y representa más del 50% de los casos de estenosis aórtica en menores de 70 años. (15) De las formas adquiridas, en nuestro medio la secuela del compromiso valvular por fiebre reumática representa el 25% de las estenosis aórticas y la forma senil, el 50% de los casos en los mayores de 70 años. Esta última modalidad de afección valvular aórtica se ha asociado con algunos de los factores de riesgo clásicos de enfermedad coronaria aterosclerótica, como la dislipidemia, la diabetes mellitus o la hipertensión arterial.(8) Esto ha permitido especular sobre una base celular y fisiopatológica común entre estas dos entidades, lo cual podría tener implicaciones desde el punto de vista terapéutico.(12) A pesar de esta hipótesis, al presente no existen evidencias para recomendar estrategias de tratamiento capaces de modificar el curso evolutivo de esta enfermedad. Se requiere al menos algún grado de lesión del endotelio valvular para generar cambios histopatológicos que lleven a la fibrosis, fusión comisural y calcificación, y que éstos, con el tiempo, sean capaces

de reducir el área valvular lo suficiente como para alterar la hemodinámica. (9) La estenosis se considera severa cuando el área valvular es $< 1 \text{ cm}^2$ o $< 0,6 \text{ cm}^2 / \text{m}^2$ de superficie corporal. El jet sistólico ejerce un efecto traumático mecánico constante sobre las valvas, el que es aún mayor a medida que progresa la estrechez. (2, 17)

La gravedad de la estenosis no siempre guarda correlación con la presencia de síntomas. El paciente puede permanecer asintomático por varios años aun con gradientes superiores a 150 mmHg. La velocidad de progresión de la lesión valvular es difícil de estimar y en este sentido existe gran variabilidad individual. A pesar de esto, en promedio, se observan un incremento de 0,3 m/seg por año en la velocidad del jet transvalvular aórtico y un aumento de 7 mm Hg del gradiente de presión. Se describe cierta tendencia a una progresión más rápida en la población de pacientes con estenosis aórtica calcificada senil que en aquellos con enfermedad congénita o reumática. Cuando aparecen angina o síncope, la supervivencia promedio sólo alcanza 2 o 3 años y es menor si se desarrolla insuficiencia cardíaca (1,5-2 años). El síncope se atribuye a hipoflujo cerebral desencadenado por el esfuerzo, a la presencia de arritmias o a trastornos de conducción, sobre todo en las formas severamente calcificadas. La muerte súbita se presenta en $< 1\%$ por año en los pacientes asintomáticos con estenosis severas, lo cual no supera la actual mortalidad operatoria. (1, 2, 4,5)

La angina de pecho está presente en dos tercios de los pacientes con estenosis aórtica y la mitad de ellos tienen enfermedad coronaria asociada. La disnea, en un principio, obedece a incremento de la presión capilar pulmonar por disfunción

diastólica, debido a disminución de la distensibilidad en presencia de un ventrículo izquierdo hipertrófico y con cámara pequeña. La fibrilación auricular, la hipertensión pulmonar y la congestión venosa sistémica son de aparición tardía y de pronóstico ominoso. (2, 4,5)

Alrededor de la mitad de los pacientes con estenosis aórtica presentan síntomas de insuficiencia cardíaca, que pueden ser consecuencia tanto de la falla sistólica como de la falla diastólica del ventrículo izquierdo. No hay tratamiento médico efectivo una vez que se ha desarrollado la insuficiencia cardíaca. La supervivencia promedio estimada luego de la presentación de los síntomas es de 2 años sin corrección quirúrgica. (3,15)

Desafortunadamente al tener esta enfermedad una historia natural tan variable, aún no tenemos la respuesta correcta respecto a cuál es el momento adecuado de intervenir a un paciente con estenosis aórtica severa asintomática. Diversos estudios han identificado algunos marcadores de mal pronóstico en la historia natural de la enfermedad, de éstos han considerado el grado de calcificación valvular como un predictor independiente de mal pronóstico, así como la velocidad de progresión en el incremento del gradiente transvalvular, considerando relevante y de mal pronóstico el incremento en los primeros 12 a 24 meses a partir del diagnóstico. (4) Finalmente hay una hipótesis en relación a mineralización de válvulas cardíacas debido a la ingesta excesiva de flúor y fluoruro, los cuales ingresan al organismo humano por el consumo de drogas conteniendo flúor y además por el ambiente, por ejemplo por la fluorización artificial del agua, alimentos, pastas dentales, así como productos agrícolas para fertilización

mineral. De esta forma el flúor en alimentos ingresa al organismo y se eleva su concentración gradualmente. (13)

III.e VALVULOPATIA MITRAL

La estenosis mitral se refiere a la disminución del área de apertura del aparato valvular mitral. Como consecuencia, la fase de llenado ventricular se encuentra comprometida y la auricular izquierda esta hipertensa. En el adulto es casi invariablemente producto de un proceso inflamatorio que por lo general ocurrió muchos años antes como la fiebre reumática, y en la edad avanzada ocurre por calcificación del aparato valvular. (10,11)

La estenosis mitral se caracteriza por el engrosamiento de las valvas, fusión de sus comisuras, y tanto engrosamiento como acortamiento del aparato subvalvar. El proceso inflamatorio induce granulación y fibrosis en las valvas, que quedan fusionadas en una o ambas comisuras. La estenosis mitral no es una alteración exclusiva de las valvas sino de todo el aparato valvular. La estenosis mitral tiene un comportamiento progresivo debido a que la constante tensión sobre las valvas y sus comisuras perpetúa el proceso de granulación y fibrosis. (14)

El área valvular mitral normal es de aproximadamente 4 a 5 cms, ofrece una resistencia mínima al flujo de sangre desde la auricular izquierda, y por lo tanto, la diferencia de presión es muy baja. La mayor parte del volumen de llenado del ventrículo izquierdo fluye durante la fase de llenado rápido ventricular y llega a contribuir hasta con 80% del volumen latido. En la estenosis mitral el área valvular reducida ofrece resistencia al libre flujo de sangre hacia el ventrículo izquierdo, lo

cual necesariamente induce una diferencia de presión entre la auricular izquierda y el ventrículo izquierdo. A menor área valvular, mayor resistencia y diferencia de presión. (4,5)

La auricular izquierda se torna hipertensa y se dilata, en tanto que la presión se transmite de manera retrograda hacia la vasculatura pulmonar, en donde se provoca la hipertensión venocapilar pulmonar e hipertensión arterial pulmonar. Esta hipertensión en la aurícula izquierda es la fuerza que mantiene el llenado ventricular a través de la válvula estrecha. El ventrículo derecho mantiene el sentido del flujo sanguíneo elevando cada vez más la presión a medida que la impedancia pulmonar aumenta. La hipertensión venocapilar y el edema agudo pulmonar son los responsables de los síntomas más comunes en estos enfermos. Generalmente cuando el área valvular mitral es menor de 2 cms, el aumento del gasto cardiaco, de la frecuencia cardiaca o del volumen circulante provocan disnea por aumento de la hipertensión venocapilar o el edema agudo de pulmón. Finalmente la sobrecarga al ventrículo derecho induce dilatación del mismo, que a su vez lleva a insuficiencia tricúspidea. Desde el punto de vista hemodinámico de la estenosis mitral, la insuficiencia tricúspidea “alivia” la hipertensión pulmonar al disminuir el gasto anterógrado del ventrículo derecho. (1,2)

III.f INSUFICIENCIA CARDIACA

La función cardiaca es vital para el organismo; el corazón es una bomba hidráulica que alimenta de oxígeno a todos los órganos de la economía a través de la sangre y esta, a su vez, se oxigena en los pulmones para ser reutilizada; al no requerir

ningún recambio, el costo metabólico y energético de la función es mínimo. Así, todas las estructuras que conforman el corazón están biológica, ontogénica y filogenéticamente diseñadas por la naturaleza para culminar en la expulsión de sangre a todo el cuerpo, lo cual se obtiene con la contracción y relajación secuencial y sinérgica de las miofibrillas con una ubicación estratégica del aparato de oxigenación celular a través del sistema mitocondrial y del sistema electroenergetico para la estimulación eléctrica rítmica a fin de activar la función de bomba muscular hidráulica a través del retículo sarcoplasmico.(2,5) El corazón es la bomba hidráulica más perfecta de la creación, cuya labor portentosa perdura toda la vida de los seres que tienen circulación sanguínea; así, en la vida de un hombre sano que vive 75 años se contrae aproximadamente 583 mil 200 millones de veces. Ningún artefacto creado por el hombre ha sido capaz de realizar una función comparable a la del corazón, sin falla y por tanto tiempo. (4)

La insuficiencia cardíaca aparece cuando se lesionan las miofibrillas por cardiopatía hipertensiva, necrosis extensa debido a isquemia miocárdica, sustancias cardiotoxicas, inflamación o enfermedades hereditarias. Sin embargo, no siempre se debe a daño miocárdico intrínseco primario, sino que en ocasiones las sobrecargas hemodinámicas llegan a vencer a la hipertrofia compensadora y el corazón se torna insuficiente. (1.2, 4)

III.g MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO CON ESPECTROMETRO DE ENERGIA DISPERSADA DE RAYOS X

El contenido de minerales en tejido valvular cardíaco se ha analizado mediante diferentes métodos bioquímicos como de imagen, tanto in vivo como ex vivo.

El ultrasonido (no invasivo), el ultrasonido intracoronario (invasivo), la tomografía computarizada y el estudio de imágenes por resonancia magnética se ha utilizado para el análisis in vivo como métodos de evaluación y también de diagnóstico.

El análisis ex vivo se ha realizado mediante microtomografía, resonancia magnética, espectroscopia por resonancia magnética y espectroscopia de absorción atómica. El microscopio electrónico es un sistema óptico que hace uso de un rayo de electrones para formar imágenes magnificadas de muestras pequeñas. (Flagler et al. 1993). La microscopia electrónica de barrido con un espectrómetro de energía dispersada de rayos X permite observar las características topográficas y proporciona información de la composición química de materiales inorgánicos presentes en material orgánico. El principal uso de este equipo es el análisis cuantitativo que permite conocer con exactitud la concentración de elementos. Los límites de detección están en el rango de 50 ppm; el equipo cuenta con modos de obtención de imágenes topográficas y obtención de la composición del material estudiado.



III. JUSTIFICACION

Las enfermedades cardiovasculares representan la primera causa de muerte en el mundo, de estas los trastornos valvulares ocupan el 60%, de no ser atendidos oportunamente, el desarrollo de la estenosis valvular predispone inevitablemente a la insuficiencia cardiaca, que es una situación grave, progresiva e irreversible a la que potencialmente pueden abocar la mayoría de estos pacientes. La insuficiencia cardiaca es un problema socioeconómico de magnitud creciente, supone un 3.7% de las hospitalizaciones en individuos mayores de 45 años y el 71% por encima de los 65 años, lo que la convierte en la patología cardiovascular más costosa. En Estados Unidos su incidencia anual es de 400,000 nuevos casos y su prevalencia es de 2 millones de personas.

En el Instituto Nacional de Cardiología se llevaron a cabo aproximadamente unas 6,000 cirugías cardíacas en la última década, 600 casos al año, de las cuales el 50% aproximadamente corresponden a cirugía de reemplazo valvular aórtico y mitral.

Los motivos más importantes que conducen a la necesidad de una cirugía valvular son: estenosis por calcificación de las valvas, degeneración mixomatosa, congénita, fiebre reumática, infeccioso, inflamatorio, cardiopatía isquémica y de etiología indeterminada; de los cuales la calcificación es un punto sobresaliente sobre todo si se compara con el número reportado en la Sociedad Española de Cirugía Cardiovascular de 8,000 casos al año, afectando a población de la tercera edad, y consiste en el envejecimiento, endurecimiento y calcificación de las

válvulas, lo que limita su movilidad y afecta a su funcionamiento, consumiendo una cantidad importante de recursos para la salud.

La formación y composición de depósitos de calcio en organismos vivos ha sido investigado intensamente con diferentes métodos in vivo e in vitro. Este fenómeno permanece sin comprenderse adecuadamente, a pesar del esfuerzo que se invierte para resolverlo. El principal obstáculo para dilucidar este tema está en la imposibilidad de observar el inicio de formación de los depósitos de calcio y su desarrollo subsecuente en organismos vivos. Esto marca la importancia de hacer estudios profundos en este tema y conocer tanto las causas como las consecuencias de esta condición.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dejando a un lado la etiología, cuando las válvulas cardiacas son afectadas por un proceso patológico, este es generalmente progresivo e incapacitante y el enfermo llegara a la insuficiencia cardiaca y morirá, o sufrirá fenómenos embolicos y/o endocarditis, pudiendo quedar con secuelas permanentes o morir de estas complicaciones.

En base a lo anterior, cuál es la proporción de minerales encontrados en las válvulas cardiacas aortica y mitral estenoticas, y las características sociodemográficas así como clínico quirúrgicas de los pacientes sometidos a reemplazo valvular en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez?

V. OBJETIVOS

Objetivo General:

Identificar el grado y composición de minerales en las válvulas aórtica y mitral mediante el microscopio electrónico de barrido con detector de rayos X en el laboratorio de Geofísica de la UNAM, de enfermos que acuden al Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” para someterse a cirugía de reemplazo valvular aórtico y mitral.

Objetivos Específicos:

1. Descripción de los minerales presentes y su concentración por cm² de tejido en las válvulas cardiacas enviadas al laboratorio de Trombosis y Fibrinólisis.
2. Determinar las características antropométricas, sociodemográficas y clínicas, así como quirúrgicas, de los pacientes incluidos en este estudio.

VI. MATERIAL Y METODOS

a) Diseño del estudio:

El estudio realizado es transversal y descriptivo.

b) Universo de trabajo:

Se revisaron expedientes clínicos de pacientes operados de cambio valvular aórtico y mitral en el Servicio de Cirugía Cardiovascular del Instituto Nacional de Cardiología de mayo de 2013 a mayo de 2015.

c) Tamaño muestra: La muestra será constituida por el cien por ciento de los pacientes que consientan someterse a la cirugía de reemplazo valvular aórtico y mitral en el periodo comprendido de Mayo de 2013 a Mayo de 2015, y que dicho tejido valvular sea accesible al Laboratorio de Trombosis y Fibrinólisis del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” para su respectivo procesamiento.

d) Población del estudio: se analizarán las válvulas de todos los pacientes que consientan someterse a la cirugía de reemplazo valvular en el periodo comprendido de Marzo de 2013 a Mayo de 2015, y que dicho tejido valvular sea accesible al Laboratorio de Trombosis y Fibrinólisis del Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez” para su respectivo procesamiento.

d) Descripción de las variables: las variables descritas en el estudio de los pacientes incluyeron sexo, edad, procedencia, ocupación, antecedentes personales patológicos (DM2, HAS, dislipidemia, obesidad, tabaquismo, fiebre reumática, infarto miocardio), clasificación de la NYHA, si se realizó cirugía electiva o urgente, eventos adversos en la cirugía.

e) Definición de variables:

Variables independientes:

- Edad: el diccionario de la lengua española la define como el tiempo que una persona ha vivido, a contar desde que nació. Indicadores: número de años. Escala de medición: cuantitativa discreta.
- Sexo: condición orgánica que distingue a ciertos individuos de la misma especie con relación a su forma de intervenir en los procesos reproductivos, diferencia que permite clasificarlos como hombre o

mujer. Indicadores: fenotipo masculino o femenino. Escala de medición: cualitativa o dicotómica.

- Diabetes mellitus tipo 2: pacientes con diagnóstico previo de diabetes mellitus 2 o que estuvieran recibiendo tratamiento con hipoglucemiantes orales y/o insulina, y pacientes con glicemia en ayuno de 126 mg/dl en 2 o más ocasiones. Tipo de variable: dicotómica. Manera de calificarla: 1. SI 2. NO
- Hipertensión arterial sistémica: pacientes con diagnóstico previo o con tratamiento antihipertensivo establecido. Tipo de variable: dicotómica. Manera de clasificarla: 1. SI 2. NO
- Dislipidemia: pacientes con diagnóstico previo, niveles de colesterol total igual o mayor de 240 mg/dl, LDL igual o mayor de 160 mg/dl o colesterol HDL menor de 40 mg/dl, triglicéridos séricos igual o mayor de 150 mg/dl
- Tabaquismo: antecedentes de consumo de 5 o más cigarros al día al momento del estudio, o suspendido en un tiempo menos a 1 año.
- Obesidad: cuando el índice de masa corporal peso en Kg / talla en metros fue igual o mayor de 30.

Variables dependientes:

- Clase funcional preoperatoria. Tipo: ordinal. Valor: clase I, II, III, IV. Estatus funcional en que se encontraban los pacientes en el preoperatorio de acuerdo a la clasificación de la NYHA.
Clase I: paciente con cardiopatía sin limitaciones de la actividad física, la cual no provoca fatiga, disnea ni dolor anginoso.

Clase II: pacientes con cardiopatía que provoca limitación discreta de la actividad física, que provoca, disnea o angina.

Clase III: pacientes con cardiopatía que limita mucho la actividad física, sin molestias durante el reposo, provoca, disnea y angina.

Clase IV: paciente con cardiopatía que provoca incapacidad para efectuar cualquier actividad física sin malestar, puede haber síntomas de insuficiencia cardiaca o angina en reposo.

- Mortalidad hospitalaria: suceso fatal o defunción intrahospitalaria de todo aquel paciente al que se le haya realizado reemplazo valvular aórtico y mitral. Tipo: cualitativa.

f) Criterios de Inclusión:

- Pacientes de ambos géneros con diagnóstico de estenosis valvular o doble lesión valvular, con criterios de corrección quirúrgica según las Guías para el manejo del paciente con enfermedad valvular cardiaca del 2014 de la American Heart Association(18) sometidos a cirugía de reemplazo valvular aórtico y mitral en el periodo de mayo de 2013 a mayo de 2015 en el Instituto Nacional de Cardiología.
- Pacientes que acepten participar en el estudio y firmen consentimiento informado.

g) Criterios de Exclusión:

- pacientes sometidos a reemplazo valvular en los que se cambió además la válvula tricúspide y/o pulmonar.
- Pacientes que no tenían el expediente clínico completo.

h) Muestra de Tejido: las muestras de válvula aortica y mitral obtenidas durante la cirugía de reemplazo valvular, se fijan en 1 ml de formaldehído al 10%, se refrigera la muestra a -20C en su respectiva caja en el laboratorio de Trombosis y Fibrinólisis, Departamento de Farmacología, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Previo a su traslado al laboratorio de Geofísica en la UNAM, se descongelan las muestras, se colocan en capsulas para tejidos y se dejan secar por 24 horas a temperatura ambiente. Ya secas, se seccionan en forma horizontal, con corte fino de 3 mm de ancho. Se colocan las muestras en portaobjetos circulares cubiertos con cinta de grafito y se guardan en su capsula. Se llevan a Geofísica UNAM en los próximos dos días. Se recubren con grafito. Para el análisis en el microscopio, por cada ciclo, se colocan 9 portaobjetos en orden, ya que así se irán analizando, y se introducen en la cámara de alto vacío de este microscopio. (Anexo 5) Primero se visualiza la muestra en general, se toma fotografía y se observa donde hay puntos brillantes (minerales). (Anexo 3) Se escoge una superficie lisa y regular, se hace un acercamiento a 230x para el análisis cualitativo de que minerales está presente y con ello se obtiene un espectro que nos señala que mineral está presente en mayor proporción. (Anexo 4). Despues se obtiene una hoja impresa de cada muestra la cual informa semicuantitativamente la presencia de cada mineral y por ultimo toma una fotografía de la superficie a 230x. (Anexo 3).

VII. PROCEDIMIENTOS

Los datos se obtuvieron de los expedientes clínicos de los pacientes que reunían los criterios de inclusión, los cuales se encontraron en el archivo clínico del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. Toda captura de información se realizó en computadoras personales con el programa Microsoft Excel 2010, en tablas que se anexaron en este trabajo. (Anexo 1).

VIII. ANALISIS ESTADISTICO

Los indicadores se introducirán en el programa estadístico Microsoft Office Excel 2010 mediante Histogramas de Frecuencia y Tablas de Contingencia para poder obtener el resultado de las variables socio- demográfico y clínico, de los pacientes en estudio y así determinar el grado, composición y concentración de minerales en válvulas cardiacas.

IX. CONSIDERACIONES ETICAS

El estudio realizado cumplió con las normas éticas internacionales y con la Ley General de Salud en materia de experimentación en seres humanos, así como con la declaración de Helsinki, modificada en el Congreso de Tokio, Japón en 1983.

De igual manera, se ajustó a las normas e instructivos institucionales en materia de investigación científica, por lo que se solicitó su aprobación por el comité local de investigación.

X. RECURSOS PARA EL ESTUDIO

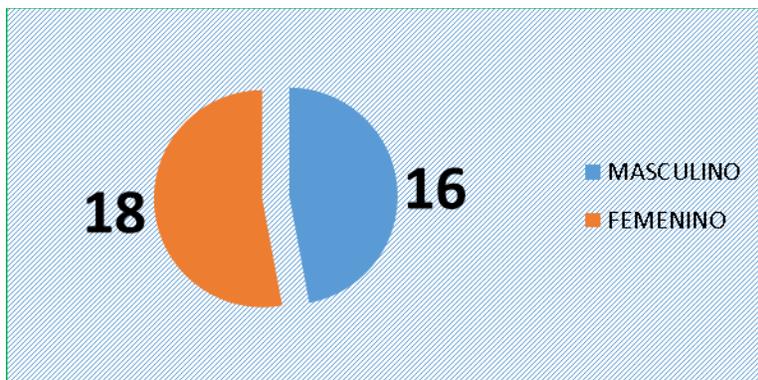
- a) Recursos humanos: El estudio lo realizó el autor del presente trabajo, en conjunto con el asesor de tesis, médicos en servicio social y residentes de cirugía cardiovascular, del Instituto Nacional de Cardiología.
- b) Recursos materiales: Expedientes clínicos, hojas de papel bond, computadora personal con Office Excel 2010, microscopio electrónico de barrido Geofísica UNAM.
- c) Recursos financieros: No ameritó recursos económicos, ya que el estudio se realizó con recursos disponibles en la Institución.

XI. RESULTADOS

En el presente estudio se estudiaron a 34 pacientes, de los cuales 18 eran del sexo femenino y 16 masculino; la mayoría de mujeres tenían afectación de la válvula mitral y la mayoría de hombres de la válvula aortica.

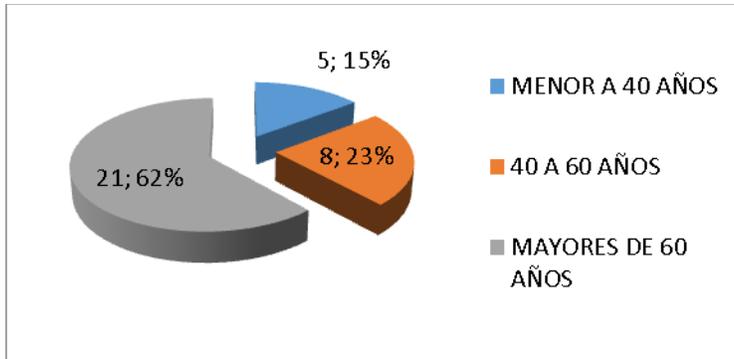
Grafica I. Género:

- ❖ Masculino: 47%
- ❖ Femenino: 53%



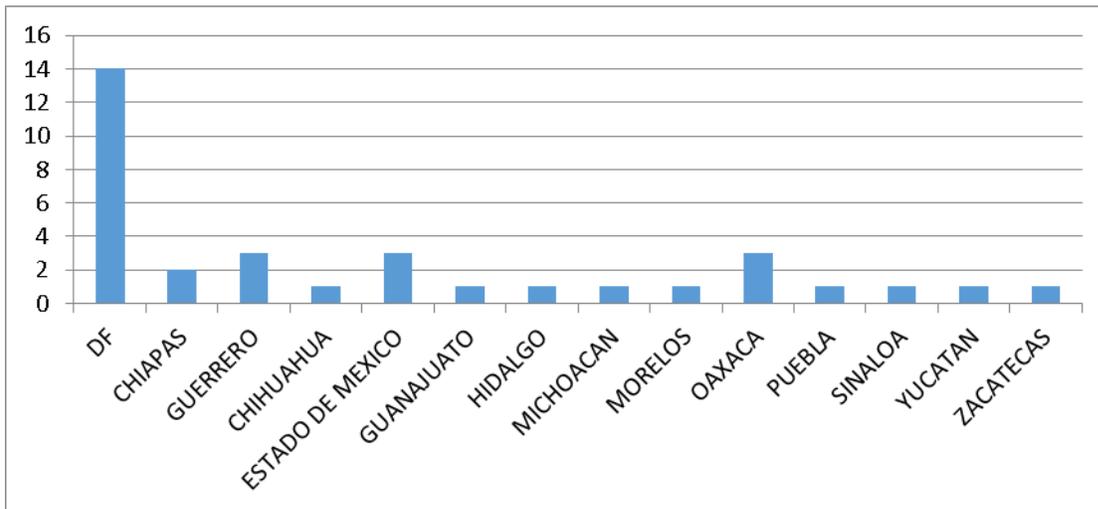
Grafica II. Edad:

- ❖ < 40 años: 14.7%
- ❖ 40 a 60 años: 23.5%
- ❖ >60 años: 61.7%



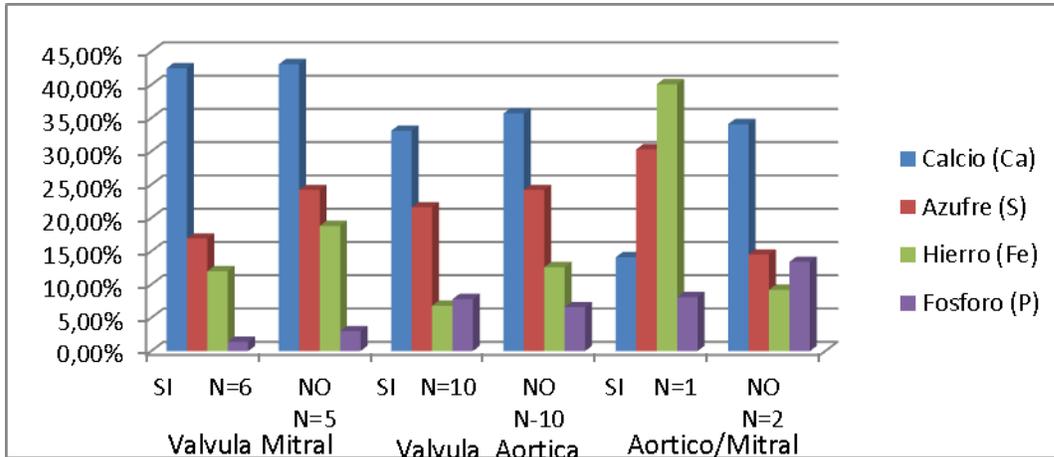
El 50% de los pacientes provienen del DF, seguido por los estados de Guerrero y Oaxaca. La ocupación que decían tener la mayor parte de la población estudiada es la de ama de casa. La mayoría de los enfermos presento fracturas como antecedente quirúrgico de importancia.

Grafica III. Estado Mexicano de Procedencia



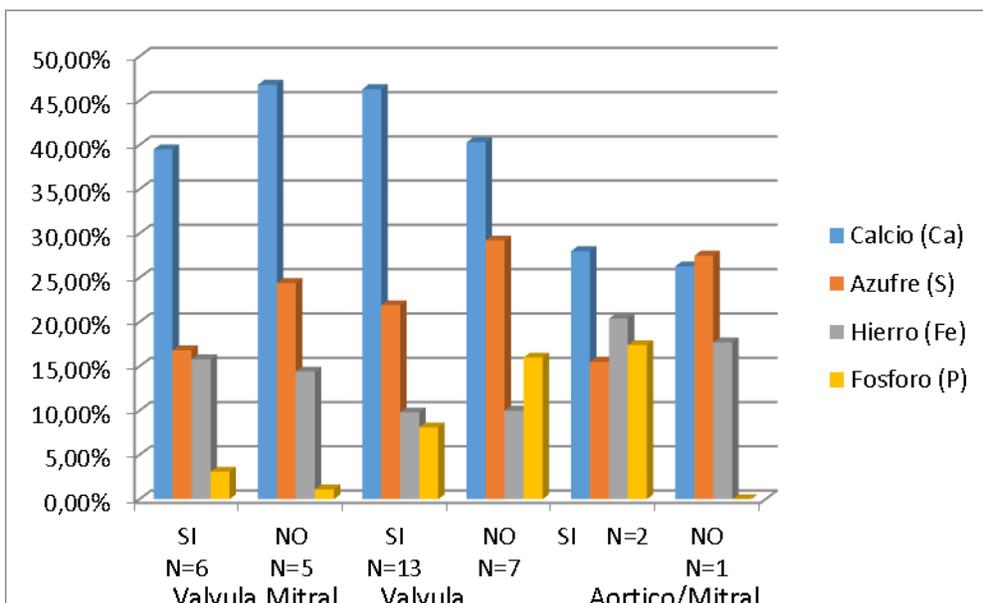
6 de los pacientes tenía fiebre reumática como antecedente patológico. El 50% de los enfermos presento hipertensión arterial como antecedente, de los cuales el

Grafica 5. Presencia de Minerales en pacientes con o sin antecedentes de Hipertensión Arterial.



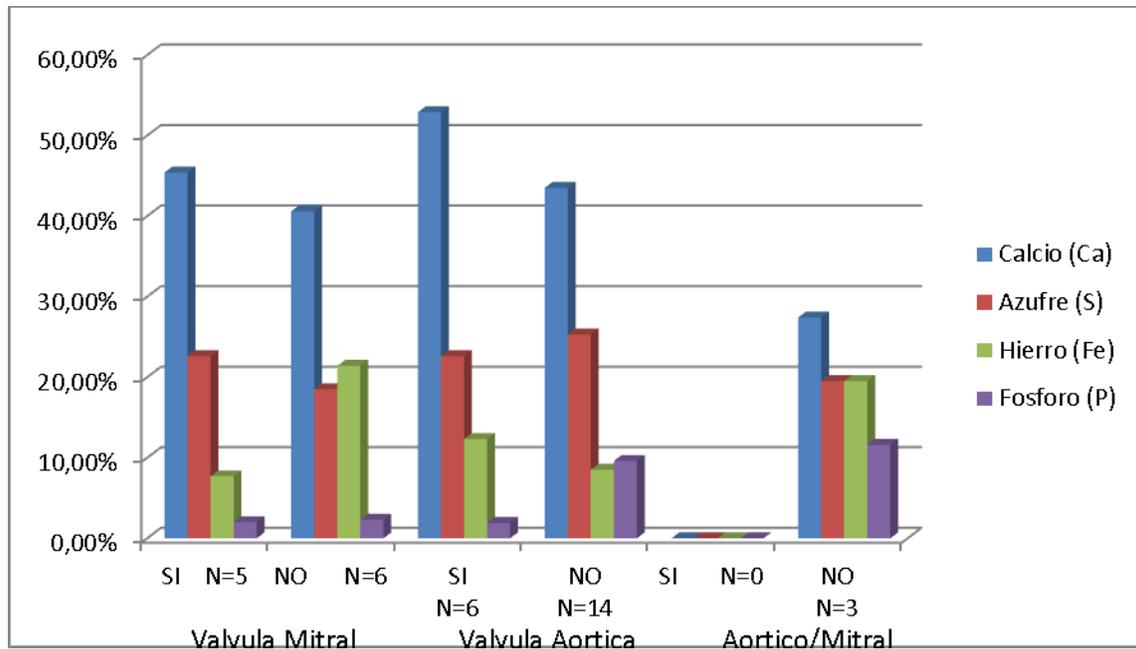
Se encontró mayor proporción de los minerales hierro y fosforo en pacientes hipertensos con afectación de la válvula aortica. En pacientes hipertensos no fue relevante el hallazgo de minerales con afectación de la válvula mitral.

Grafica 6. Presencia de Minerales en pacientes con o sin antecedentes de Obesidad.



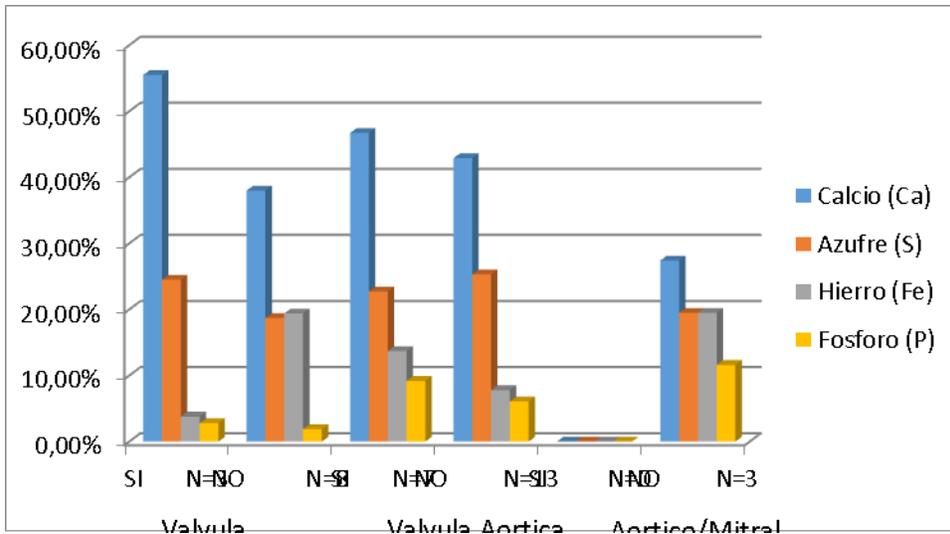
En pacientes obesos fue evidente la presencia de minerales hierro y fosforo en muestras de válvula mitral, y de calcio en la válvula aortica.

Grafica 7. Presencia de Minerales en pacientes con o sin antecedentes de Diabetes Mellitus



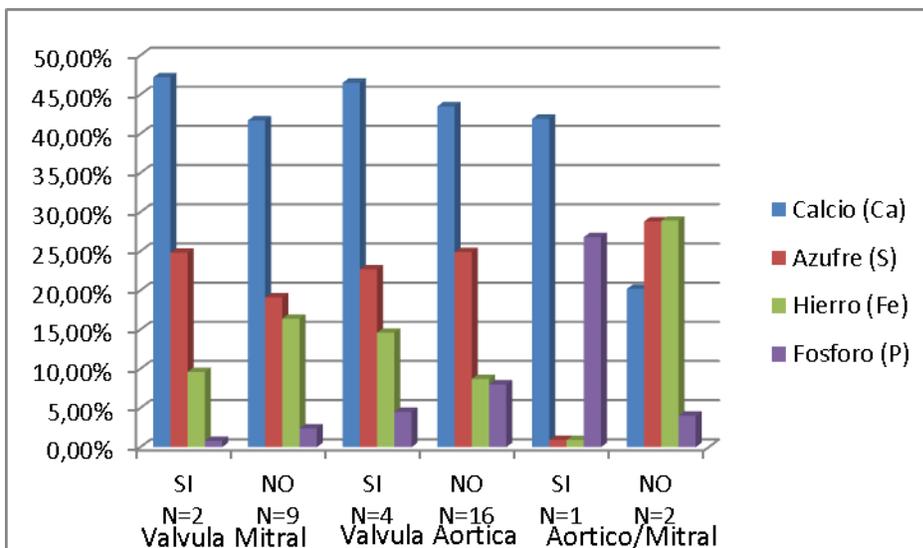
En los pacientes diabéticos, fue notable la proporción de calcio y azufre en muestras de válvula mitral, y de calcio y hierro en la válvula aortica en relación con los no diabéticos.

Grafica 8. Presencia de Minerales en pacientes con o sin antecedentes de Dislipidemia.



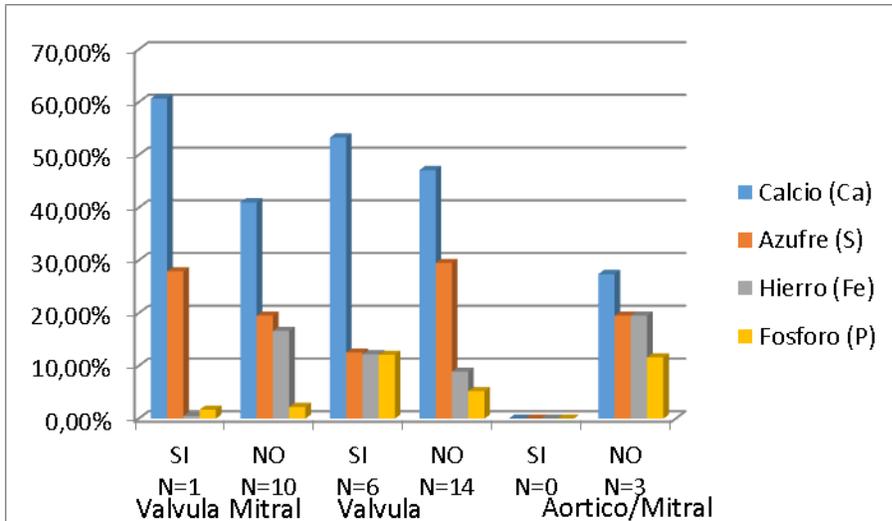
En los pacientes con dislipidemia, encontramos mayor prevalencia de calcio, azufre y fosforo en las muestras de válvula mitral, y de calcio hierro y fosforo en los de válvula aortica.

Grafica 9. Presencia de Minerales en pacientes con o sin antecedentes de Tabaquismo.



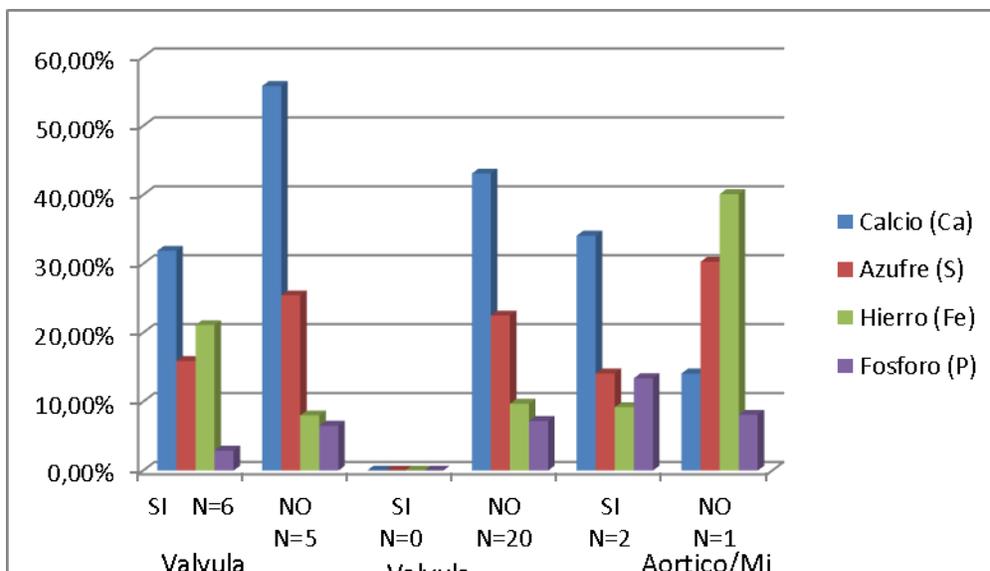
En los pacientes fumadores es en los que se encontró la mayor cantidad de minerales en las muestras de válvula aortica y mitral, en especial calcio y azufre.

Grafica 10. Presencia de Minerales en pacientes con o sin antecedentes de Infarto de Miocardio.



El calcio fue el mineral predominante en los pacientes con cardiopatía isquémica.

Grafica 11. Presencia de Minerales en pacientes con o sin antecedentes de Fiebre Reumática.



El hierro y el calcio fueron los minerales predominantes en los pacientes con antecedentes de FR, con exclusividad en las muestras de válvula mitral.

XII. DISCUSION

Las cristalizaciones patológicas son aquellas que se producen en otros tejidos que no sean hueso, cartílago y diente, como ser: litiasis renal, sialolitiasis, formación de sarro, condrocalcinosis, gota, cálculos biliares y calcificaciones cardiovasculares. (12). Es motivo del presente estudio la caracterización de los pacientes con afectación valvular mitral y aortica, para poder en años posteriores y en base a la comprensión profunda de los mecanismos de mineralización valvular, desarrollar técnicas a nivel molecular e inmunológicas que regulen la formación de dichos minerales, y así ofrecer alternativas de tratamiento para esta epidemia.

En relación a las variables, se demuestra que la obesidad, la dislipidemia y la diabetes mellitus tienen relación estrecha con la mineralización de las válvulas aortica y mitral, tal y como se reporta en la literatura a nivel mundial (19), haciendo

énfasis en que estos estudios son desarrollados en ratas de experimentación, y nuestro estudio es desarrollado exclusivamente en válvulas humanas.

No se halló relación significativa en cuanto a mineralización valvular con la hipertensión arterial., al igual que lo reporta la literatura internacional (11)

El interés en el tema de la calcificación ectópica en la enfermedad vascular diabética está creciendo rápidamente, sobre todo sus mecanismos y consecuencias. (20) Destacamos que las nuevas terapéuticas están surgiendo, lo que implica oportunidades futuras para modular la calcificación vascular y valvular para la protección cardiovascular.

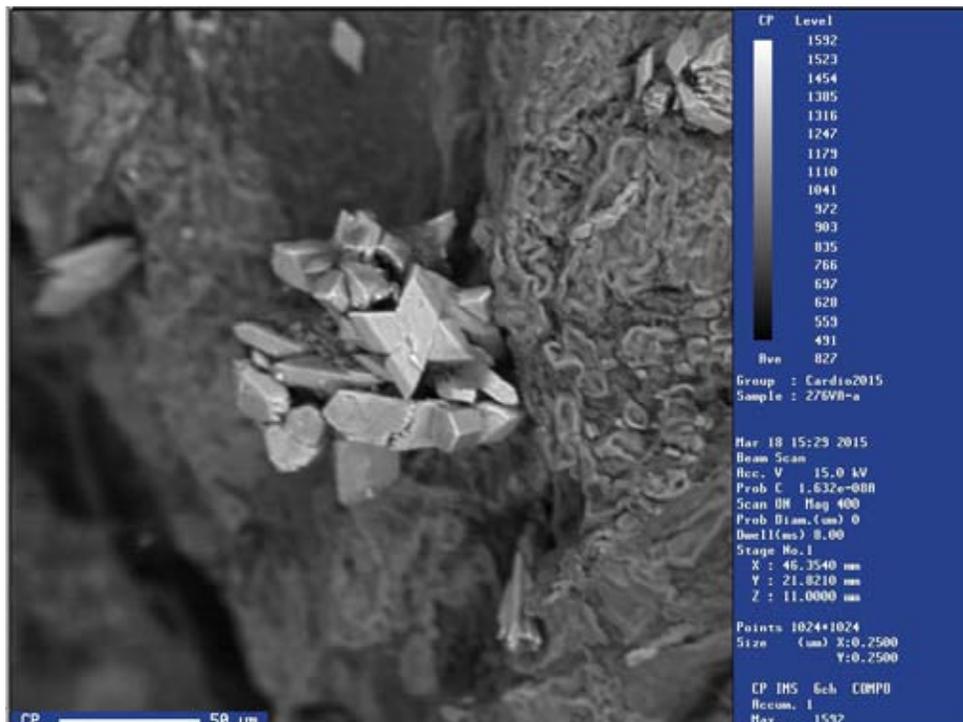
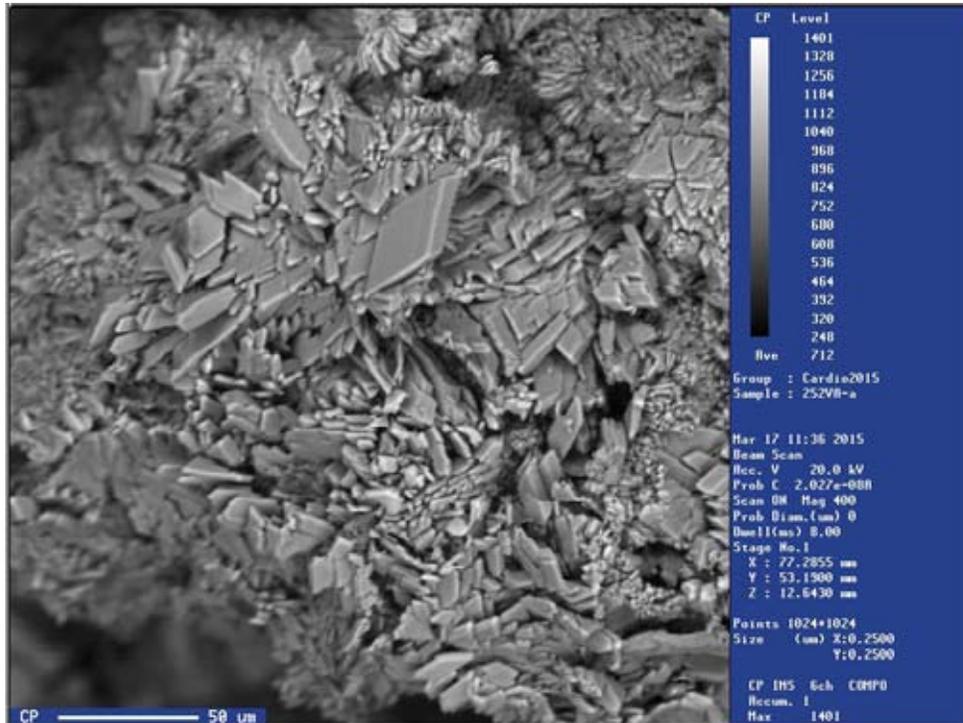
XIII. CONCLUSIONES

1. En nuestra revisión de la literatura mundial y nacional, existen pocos estudios publicados en donde se describa la mineralización en válvulas cardíacas humanas en pacientes vivos. El estudio de la mineralización valvular cardíaca permitirá en un futuro poder hacer un análisis de la evolución natural de la enfermedad valvular degenerativa según la presencia y cantidad de diferentes minerales, y marcar así el momento óptimo para su tratamiento.
2. Los minerales que en mayor proporción se encontraron en las muestras de válvulas aórtica y mitral fueron: calcio, azufre, hierro y fósforo; es de capital importancia que estos y muchos otros minerales forman parte de la

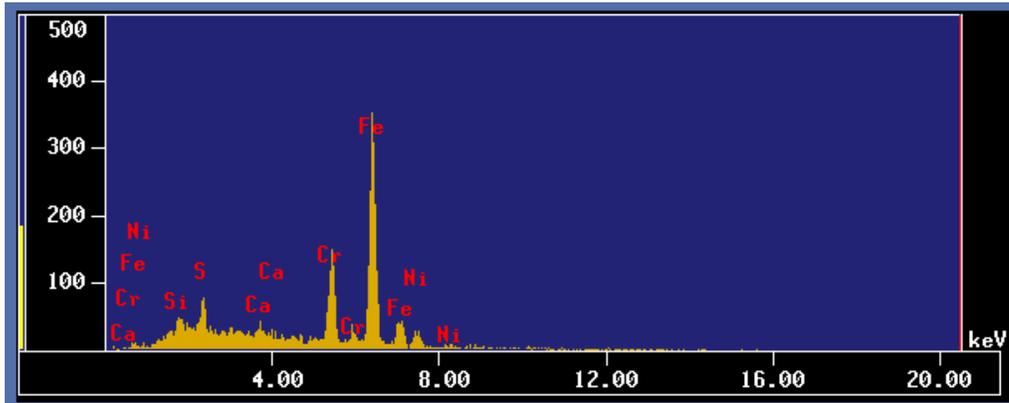
etiología de la estenosis valvular, y su control en cierta forma reducirá la incidencia de esta epidemia.

3. El estudio de la mineralización de las válvulas cardíacas aórtica y mitral a nivel molecular contribuirá a comprender este proceso, lo cual consecuentemente orientara a una prevención efectiva mostrando nuevas formas de tratamiento para esta grave enfermedad.
4. Comprender las características de la mineralización patológica de las válvulas cardíacas es importante para dilucidar una nueva visión en los mecanismos que envuelven la calcificación valvular. Esto es fundamental para el desarrollo de terapias que orienten el proceso de biomineralización con el objetivo de mejorar la durabilidad de válvulas bioprotésicas inclusive.
5. Es importante hacer notar, que este es el primer estudio de detección de minerales en válvulas cardíacas humanas en nuestro medio.
6. Estudios que comparan datos de análisis ultraestructural, marcadores inflamatorios y datos biomoléculas están en marcha, y serán objeto de futuras publicaciones.

Anexo 3: Minerales en Válvulas Cardiacas Humanas vistas en microscopio electrónico de barrido.



Anexo 4: Proporción de Minerales encontrados en las Válvulas Cardiacas



Anexo 5: Microscopio electrónico de barrido con espectrómetro de energía dispersada de rayos X. Laboratorio de Geofísica, UNAM.



Anexo 6: Base de Datos que relaciona los minerales más frecuentemente encontrados en las válvulas con las características clínicas de los pacientes.

	VALVULA MITRAL N=11		VALVULA AORTICA N=20		AORTICO/MITRAL N=3	
HTA	SI N=6	NO N=5	SI N=10	NO N=10	SI N=1	NO N=2
Calcio (Ca)	42.50%	43.10%	33.10%	35.70%	14.10%	34.10%
Azufre (S)	16.90%	24.20%	21.60%	24.20%	30.30%	14.50%
Hierro (Fe)	12.00%	18.80%	6.80%	12.60%	40.10%	9.20%
Fosforo (P)	1.40%	3.00%	7.80%	6.60%	8.10%	13.40%
Obesidad	SI N=6	NO N=5	SI N=13	NO N=7	SI N=2	NO N=1
Calcio (Ca)	39.50%	46.80%	46.30%	40.30%	28%	26.30%
Azufre (S)	16.80%	24.40%	21.90%	29.20%	15.50%	27.50%
Hierro (Fe)	15.80%	14.40%	9.80%	10.00%	20.40%	17.70%
Fosforo (P)	3.11%	1.10%	8.10%	16.00%	17.40%	0.00%
DM	SI N=5	NO N=6	SI N=6	NO N=14	SI N=0	NO N=3
Calcio (Ca)	45.40%	40.60%	52.90%	43.50%	0.00%	27.40%
Azufre (S)	22.60%	18.50%	22.60%	25.30%	0.00%	19.50%
Hierro (Fe)	7.70%	21.40%	12.30%	8.50%	0.00%	19.50%
Fosforo (P)	2.00%	2.30%	1.90%	9.60%	0.00%	11.60%
DISLIPIDEMIA	SI N=3	NO N=8	SI N=7	NO N=13	SI N=0	NO N=3
Calcio (Ca)	55.50%	38.00%	46.70%	42.90%	0.00%	27.40%
Azufre (S)	24.50%	18.70%	22.70%	25.30%	0.00%	19.50%
Hierro (Fe)	3.80%	19.40%	13.70%	7.80%	0.00%	19.50%
Fosforo (P)	2.80%	1.90%	9.20%	6.10%	0.00%	11.60%
TABAQUISMO	SI N=2	NO N=9	SI N=4	NO N=16	SI N=1	NO N=2
Calcio (Ca)	47.20%	41.70%	46.50%	43.50%	41.90%	20.20%
Azufre (S)	24.80%	19.10%	22.70%	24.90%	0.90%	28.80%
Hierro (Fe)	9.60%	16.40%	14.60%	8.70%	0.90%	28.90%
Fosforo (P)	0.80%	2.40%	4.50%	8.00%	26.80%	4.00%
IAM	SI N=1	NO N=10	SI N=6	NO N=14	SI N=0	NO N=3
Calcio (Ca)	60.70%	41.00%	53.30%	47.10%	0.00%	27.40%
Azufre (S)	27.90%	19.50%	12.50%	29.50%	0.00%	19.50%
Hierro (Fe)	0.50%	16.60%	12.20%	8.90%	0.00%	19.50%
Fosforo (P)	1.70%	2.20%	12.10%	5.20%	0.00%	11.60%
FR	SI N=6	NO N=5	SI N=0	NO N=20	SI N=2	NO N=1
Calcio (Ca)	31.90%	55.80%	0.00%	43.10%	34.10%	14.10%
Azufre (S)	15.90%	25.40%	0.00%	22.50%	14.10%	30.30%
Hierro (Fe)	21.10%	8.00%	0.00%	9.70%	9.20%	40.10%
Fosforo (P)	2.90%	6.50%	0.00%	7.20%	13.40%	8.10%

XV. BIBLIOGRAFIA

1. Braunwald. 2013. Tratado de Cardiología, 9 Ed, Elsevier. Vol I y II, capítulo 25 y 66
2. Tratado de Cardiología del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, 2012. Capítulo 3
3. Historia natural de la estenosis aortica. Diagnóstico y tratamiento. www.medigraphic.org.mx. Acta medica grupo Ángeles, volumen 10, #4, octubre-diciembre, 2012
4. Lawrence H Cohn, Cardiac Surgery in the Adult, 2008, 3er Ed, Capitulo 32 y Capitulo 41
5. Kirklin Barrat Boyes, 3er Ed, 2008, Capítulo 11, 12 y 49.
6. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. Journal of the American Heart Association. Paradoxical Effects of Statins on Aortic Valve Myofibroblasts and Osteoblasts: Implications for End Stage Valvular Heart Disease. 2005;25:592-597
7. Study on the structure and composition of aortic valve calcific deposits: Etiological aspects. Journal of Biophysical Chemistry. University Institute of Health Sciences Research, Palma de Mallorca, Spain. 25 Noviembre 2011
8. Calcification of aortic human valves studied in situ by Raman microimaging: following mineralization from small grains to big deposits. Research article. Wiley online library. 15 Agosto 2013
9. A Biomechanical and Biochemical synergy study of Heart Valve Tissue. Proceedings of the ASME 2012 International Mechanical Engineering Congress and Exposition IMECE 2012, Houston, Texas.

10. Morphological and Chemical Study of Pathological Deposits in Human Aortic and Mitral Valve Stenosis: A Biomineralogical Contribution. Hindawi Publishing Corporation. Pathology Research International. Division of Cardiac Surgery, San Bartolo Hospital, Vicenza, Italia. Volume 2015
11. Differential Aortic and Mitral Valve Interstitial Cell Mineralization and the Induction of Mineralization by Lysophosphatidylcholine In Vitro. Department of Bioengineering, Rice University, Houston, Texas. Cardiovascular Engineering and Technology, Vol 5, No 4, December 2014
12. Estudio de los procesos patológicos de cristalización: litiasis renal, calcificaciones cardiovasculares y osteoporosis. Departamento de química, instituto universitario de investigación en ciencias de la salud. Febrero 2008
13. Innovative technique for the direct determinations of proteins in calcified aortic valves. Research Paper. Anal Bioanal Chemistry (2013) 405: 8781 – 8787
14. A Multifaceted Approach to Enhance the Current Understanding and Treatment of Calcific Aortic Valve Disease. Rice University. Houston Texas, Diciembre 2013
15. Aortic Stenosis: Changing Disease Concepts. Korean Society of Echocardiography. Journal of Cardiovascular Ultrasound, 2015; 23(2):59-69.
16. Cowell SJ, Newby DE, White A, Borton G, Reid J, Northridge DB, et al. Intensive lipidlowering therapy does not halt the progression of calcific aortic stenosis. Circulation 2004.
17. Chambers J. Aortic stenosis. BMJ 2005; 330: 801-802

18. Nishimura, RA et al. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients with Valvular Heart Disease.
19. Le Quang, Bouchareb, Lachance, Laplante, El Hussein. Early Development of Calcific Aortic Valve disease and left ventricular hypertrophy in a mouse model of combined dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *Arteriosclerosis Thrombosis vascular biology*. 2014 Oct;34(10):2283-91
20. Avogaro A, Ratazzi M, Fadini GP. Ectopic calcification in diabetic vascular disease. 2014, *Mayo*;18(5): 595-609