



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

**“ESTUDIO DE COHORTE CON SEGUIMIENTO A CORTO Y MEDIANO PLAZO
DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN PACIENTES CON DAÑO VALVULAR
AORTICO TRATADOS CON DIVERSOS TIPOS DE PROTESIS VALVULAR”**

MODALIDAD DE GRADUACIÓN

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRIA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:

JOSÉ LUIS SALAS PACHECO

TUTORA:

DRA. MARÍA ELENA SOTO LÓPEZ

INVESTIGADORA EN CIENCIAS MEDICAS “D” SIN II

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA “IGNACIO CHAVEZ”



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.

MARÍA ELENA SOTO LÓPEZ

NOMBRE Y FIRMA DEL TUTOR

PEDRO ANTONIO REYES LÓPEZ

*NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE
DE LA ENTIDAD ACADEMICA*

JOSÉ LUIS SALAS PACHECO

NOMBRE Y FIRMA DEL ALUMNO

DEDICATORIA

A mi amada esposa Nubia Lara Martínez, mujer de entereza y confianza.

Gracias por todo tu apoyo.

A mi hermosa hija Valentina, por enseñarme a ponderar las cosas importantes en la vida.

A mi tutora, la Dra. María Elena Soto, por su enseñanza, paciencia y ejemplo de vida.

INDICE TEMATICO

RESUMEN	1
1. MARCO TEORICO	4
2. JUSATIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
3. PREGUENTA DE INVESTIGACION	15
4. OBJETIVOS	16
5. MATERIAL Y METODOS	17
5.1. Características del estudio	17
5.2. Diseño general del estudio	17
5.3. Población de estudio	17
5.4. Criterios de inclusión	18
5.5. Criterios de exclusión	18
5.6. Criterios de eliminación	18
5.7. Calculo del tamaño de muestra	19
5.8. Formación de grupos de estudio	19
5.9. Recolección de datos	20
5.10. Determinaciones	21
5.11. Variables de estudio	23
5.12. Aspectos éticos	26
6. ANALISIS ESTADISTICO	27
7. RESULTADOS	28

8. DISCUSION	35
9. CONCLUSIONES	39
10. REFERENCIAS	40
11. ANEXOS	44
Autorización por el Comité de Investigación Institucional	44
Autorización por el Comité de Ética Institucional	45
Formato de Consentimiento Informado	46

RESUMEN

Introducción: La estenosis aortica (EA) es una enfermedad con actividad inflamatoria local y sistémica elevada cuya fisiopatogenia tiene gran similitud con el proceso de aterosclerosis. Se ha encontrado en paciente con EA niveles dramáticamente elevados de moléculas de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y citocinas proinflamatorias como factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), interleucina-6(IL-6) e interleucina-1 (IL-1). Cuando la EA alcanza criterios clínicos y ecocardiográficos de gravedad la única opción terapéutica es el cambio valvular aórtico. Después de la cirugía hay persistencia del estado inflamatorio en casi la mitad de los pacientes independiente de factores demográficos, clínicos y hemodinámicos.

Justificación: El estudio de la patogénesis del daño inflamatorio persistente en estenosis aórtica en relación con el tipo de prótesis conducirá a futuro a evaluar si es un factor que participa en el daño recurrente en la estenosis, calcificación y/o deterioro. Proponer cambios en su fabricación de biomateriales con la finalidad de incrementar su duración y mejorar el tratamiento para obtener un mejor pronóstico a largo plazo.

Objetivo: Determinar los niveles de diversos marcadores de inflamación en pacientes con estenosis aórtica antes y después de cirugía de cambio valvular aórtico con implante de una prótesis biológica o mecánica.

Material y métodos: Se trata de estudio un de cohorte dinámico, observacional, descriptivo, longitudinal, prolectivo. Se incluyeron pacientes con estenosis aórtica grave candidatos a cambio valvular aórtico. Previo a la cirugía se determinaron diversas moléculas inflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, ICAM) y parámetros ecocardiográficos basales. A los siete días y a los seis meses después de la cirugía se cuantificó la concentración de moléculas de

inflamación y se realizó ecocardiograma transtorácico. Las variables continuas se expresan como media con desviación estándar, las variables categóricas se expresan como frecuencias y porcentajes. Las variables con distribución normal se analizaron con pruebas paramétricas; pruebas no paramétricas fueron usadas para contrastar variables sin distribución Gaussiana. Se incluyó un grupo control de individuos sanos pareados por edad y género a los que se les efectuó ecocardiograma transtorácico y determinación de mediadores inflamatorios.

Resultados: La población final fue de 79 pacientes, 57% fueron hombres, la media de edad fue de 59(\pm 11.4) años. El área valvular fue de 0.67 (\pm 0.2) cm² con gradiente medio de 59(\pm 16) mmHg y velocidad máxima de 4.8 (\pm 0.6) m/s. Se observaron concentraciones elevadas de TNF α en 30 (38%), de IL-1 en 26 (33%) y de IL-6 en 30 (38%); todos los pacientes tuvieron cifras elevadas de ICAM-1. En 61%(n=48) se implantó una válvula biológica y en 39%(n=31) una mecánica. El ecocardiograma a los 7 días y seis meses mostró incremento en el área valvular aortica y disminución en el gradiente transprotésico. Alrededor de la mitad de los pacientes permaneció con concentraciones elevadas de citocinas. El grupo control consistió de 40 individuos en los cuales los parámetros ecocardiográficos resultaron dentro de la normalidad y la concentración de citocinas fue inferior a la de los pacientes con EA.

Conclusión: La respuesta inflamatoria causada por prótesis biológicas después de seis meses de haber sido implantadas es similar a la producida en prótesis mecánicas. Adicionalmente, la similitud en los perfiles hemodinámicos registrados con ecocardiograma Doppler en pacientes que recibieron cualquier tipo de prótesis nos permite concluir que

ambos tipos de prótesis son recomendados. La decisión sobre qué tipo de prótesis valvular implantar está relacionada más a factores demográficos o el uso de anticoagulantes.

1. MARCO TEORICO

A medida que la población envejece la incidencia de estenosis de la válvula aortica se incrementa. La EA aproximadamente afecta del 2 al 9% de la población anciana. La esclerosis aortica es un precursor de estenosis y se presenta en alrededor del 29% de la población mayor de 65 años. La etiología de la estenosis aortica es variada, siendo más frecuente la fibrocálcica, seguida de la de origen congénito y finalmente por secuelas fiebre reumática¹ (Figura 1). Los factores de riesgo para desarrollo de estenosis aortica fibrocálcica son similares a los de la aterosclerosis, siendo los principales la hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus, hiperlipidemia, tabaquismo y el envejecimiento. Cada uno de estos factores de riesgo contribuye mediante múltiples mecanismos al desarrollo de la enfermedad.

Durante años se consideró a la estenosis valvular aortica como una enfermedad pasiva resultado del proceso normal de envejecimiento; sin embargo, evidencia actual sugiere que es un fenómeno inflamatorio sumamente activo donde intervienen factores individuales, genéticos y ambientales².

La válvula aortica normal está constituida por tres capas, la fibrosa, esponjosa y ventricularis. Cada capa contiene células del intersticio valvular las cuales tienen un papel crítico en la producción, mantenimiento y reparación de cada capa³. La superficie valvular en la cara aórtica y ventricular está cubierta por una monocapa de endotelio. Uno de los cambios fisiopatológicos más tempranos que contribuyen al inicio de la enfermedad valvular aortica fibrocálcica en humanos y en modelos experimentales es la disrupción del endotelio valvular ocasionado por el estrés biomecánico al que se somete la válvula. El

estrés es más elevado sobre la superficie aortica de la válvula. Esta lesión inicial promueve acumulo subendotelial de linfocitos T y macrófagos con subsecuente síntesis de citocinas profibróticas e inflamatorias que provocan un incremento en la producción y recambio de matriz extracelular, resultando finalmente en engrosamiento y fibrosis de la matriz extracelular⁴⁻⁶. La lesión valvular temprana se caracteriza también por acumulo de lípidos que son fagocitados por macrófagos que se convertirán en células espumosas en un fenómeno similar al que ocurre en la aterosclerosis (Figura 3); esto perpetuara la respuesta inflamatoria local mediante la síntesis de citocinas⁷. En etapas avanzadas de la enfermedad hay acumulo masivo de lípidos e infiltrado de células inflamatorias, así como un incremento en la producción de matriz extracelular desorganizada y rígida⁸.



Figura 1. Válvula aortica vista desde su superficie arterial en donde se muestran las tres principales etiologías de las estenosis aortica. **Izquierda:** Estenosis aortica debido a fiebre reumática, se observa engrosamiento de las valvas y fusión de las comisuras. **Centro:** Aortica bivalva con cambios degenerativos. **Derecha:** Estenosis aortica degenerativa con múltiples depósitos de calcio. En todas las situaciones la apertura valvular esta reducida.

Osteogénesis en la estenosis aortica fibrocálcica

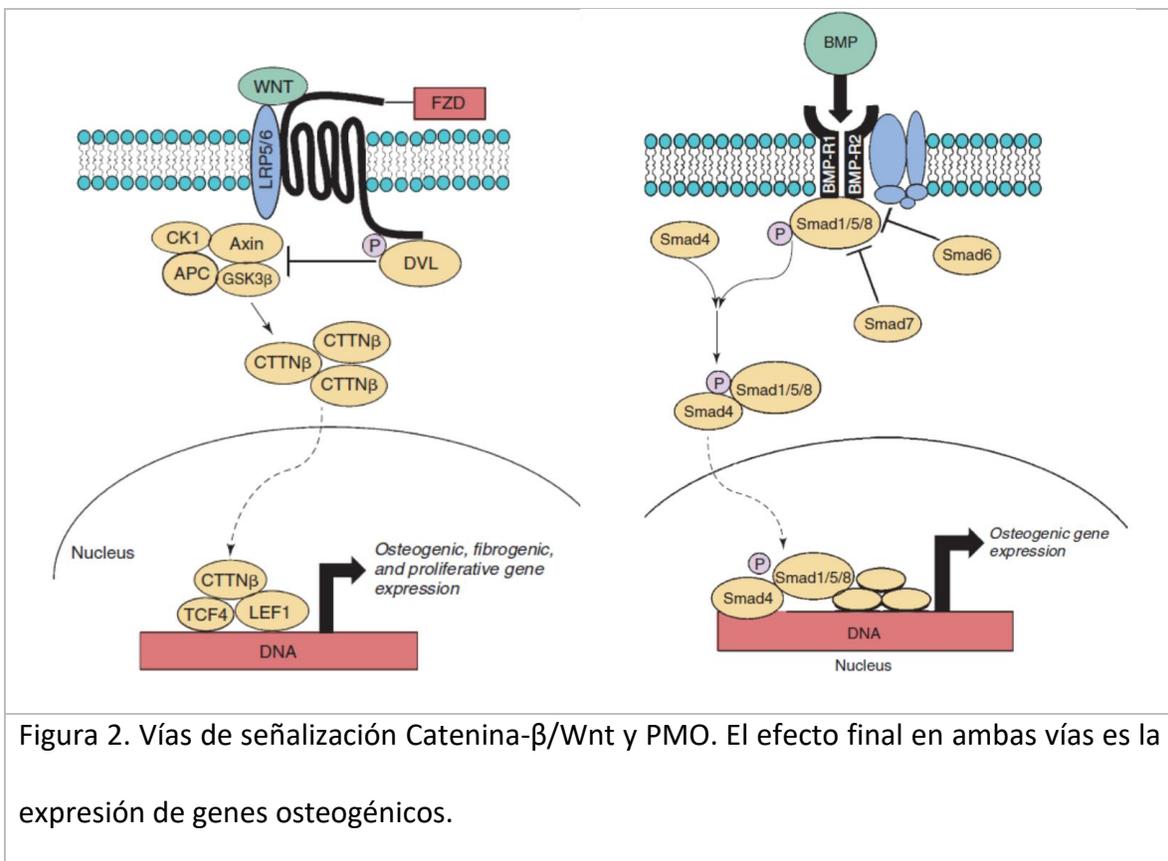
El proceso osteogénico es una respuesta patogénica clave en el desarrollo y progresión de la enfermedad valvular aortica fibrocálcica y está sustentado por la observación de matriz ósea en válvulas aorticas de pacientes con estenosis aortica, inducción de múltiples cascadas de señalización osteogénicas y por la rediferenciación de células del intersticio valvular aórtico en células similares a osteoblastos⁹⁻¹⁰. Este proceso resulta en acumulo extenso de calcio en las cúspides valvulares y se asocia en etapas avanzadas con estenosis aortica hemodinámicamente significativa.

La observación de células similares a osteoblastos y osteoclastos en estenosis aortica fibrocálcica dio lugar a múltiples estudios que lograron la caracterización de las vías moleculares de señalización que contribuyen a la diferenciación osteogénica de las células del intersticio valvular aórtico, siendo las principales vías¹¹⁻¹²:

1. Proteína morfogénica ósea (PMO). Se ha demostrado producción incrementada de diversas isoformas de las PMO principalmente los tipos 2, 4 y 6. Las PMO se sintetizan en el endotelio valvular, en la superficie aortica que está más expuesta a estrés. Las PMO se unen sus receptores en el las células del intersticio valvular aórtico que resulta en fosforilación Smad1/8/5 y translocación del complejo Smad al núcleo celular donde conduce la expresión de genes pro-osteogénicos.
2. Catenina- β /Wnt. La unión de ligandos Wnt a su complejo receptor resulta en la activación y translocación nuclear de Catenina- β la cual promueve la expresión de genes pro-osteogénicos.
3. Factor- β transformante de crecimiento (TGF- β). Al igual que las PMO, la vía de señalización del TGF- β involucra la fosforilación de proteínas Smad y la translocación

de los complejos Smad activados al núcleo. Hay datos controversiales sobre el papel de TGF- β en la osteogénesis en la estenosis aortica fibrocalcica. Sin embargo, hay evidencia de que la activación de vías de señalización canónicas de TGF- β puede transactivar la señalización de Catenina- β /Wnt, el cual tiene un papel bien establecido en la osteogénesis.

En resumen, la activación de estas vías de señalización ocasiona la translocación de diversos complejos moleculares al núcleo de la célula del intersticio valvular aórtico y promueve la expresión de genes pro-osteogénicos (Figura 2).



Los eventos primarios que activan las cascadas de señalización previas son múltiples, entre los principales se encuentran la reducción en la expresión de los inhibidores de la señal osteogénica, angiotensina II, infiltrado de células inflamatorias y citocinas proinflamatorias, estrés oxidativo, regulación al alta de metaloproteinasas de matriz, entre otros¹³⁻¹⁴. Con respecto al infiltrado de células inflamatorias y citocinas proinflamatorias se ha observado que la infiltración por macrófagos, neutrófilos y linfocitos T son hallazgos universales en estenosis fibrocálcica aortica. Consistente con este fenómeno, hay concentraciones dramáticamente incrementadas de factor de necrosis tumoral alfa, interleucina-1 e interleucina-6. Se ha observado que el TNF- α juega un papel central en el inicio y la progresión de la enfermedad¹⁵.

Papel de las citocinas proinflamatorias en la estenosis aortica fibrocálcica

Las células inflamatorias liberan citocinas como factor transformante de crecimiento β 1, interleucina 1β (IL- 1β) y demás citocinas proinflamatorias que conducen a producción de metaloproteinasas de matriz con formación de matriz extracelular y remodelado local¹⁶. A medida que la enfermedad progresa se observa osteogénesis originada por miofibroblastos valvulares que adquieren un fenotipo de osteoblastos¹⁷. La activación de estas células se da por su interacción con lipoproteínas de baja densidad oxidadas y factores promotores de osteogénesis como interleucina 4 (IL-4), osteoprogeretina y proteína morfogénica de hueso subtipos 2 y 45. Finalmente los procesos de reparación también intervienen en la degeneración valvular¹⁸⁻¹⁹.

Se ha demostrado que citocinas como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e IL-1 β participan en el desarrollo de estenosis aortica. Se encontró que TNF- α acelera el proceso degenerativo valvular por su efecto en células intersticiales de válvula aórtica humana obtenidas de pacientes con estenosis aortica degenerativa. Además, hay múltiples estudios que describen la elevación de TNF- α en pacientes con estenosis aortica. En modelos de ratón con deficiencia del antagonista del receptor de IL-1 se indujo enfermedad valvular aórtica, con lo que se evidencia la importancia de esta citocina en la patogénesis de la enfermedad²⁰.

En estudios recientes se encontró que la interleucina 17 (IL-17) es aterogénica. Se produce por un subtipo específico de linfocito T cooperador. Hasta el momento se conocen 6 isoformas de IL-17 pero la mejor estudiada es la IL-17²¹⁻²². Esta última de manera sinérgica con TNF induce una respuesta proinflamatoria en células de músculo liso vascular en lesiones aterosclerosas de arterias coronarias humanas. IL-17 también se encuentra elevada en disfunción endotelial y en pacientes con síndrome coronario agudo. En estudios experimentales la inhibición del receptor de IL-17A reduce las lesiones ateroscleróticas y la vulnerabilidad de las placas²³. Por el momento no encontramos estudios clínicos que investiguen el papel de IL-17 en la estenosis aórtica.

La interleucina 4 es una citocina con efectos pleiotrópicos que afecta los procesos de aterogénesis y calcificación al regular la actividad de osteoblastos y osteoclastos. En algunos estudios in vitro se evaluó el papel de esta molécula en la calcificación tisular²⁴⁻²⁵. En otros se ha relacionado el nivel de marcadores de osificación con el grado de calcificación de la

válvula aórtica cuantificado con tomografía computarizada multicorte mediante puntaje de calcio de dicha válvula²⁶.

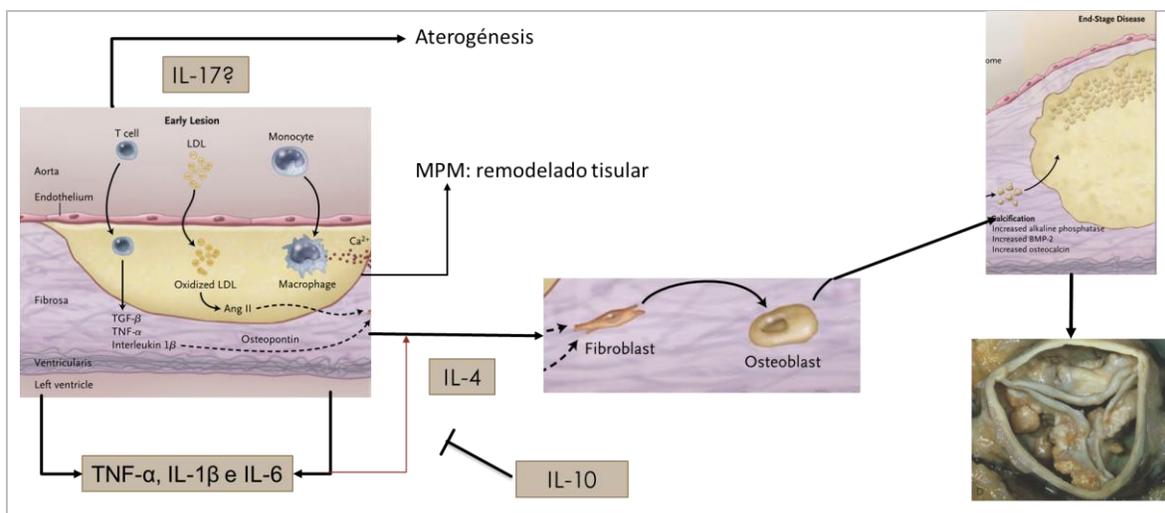


Figura 3. Fisiopatología de la estenosis aórtica fibrocálcica. En las etapas tempranas la estenosis aórtica tiene grandes similitudes con el proceso de aterosclerosis. El primer evento está dado por trauma endotelial debido al flujo sanguíneo turbulento. Esto promueve el paso de moléculas de lípidos hacia la región subendotelial de la válvula y el subsecuente acumulo. Los macrófagos fagocitan y almacenan las moléculas de LDL. Se promueve la activación del linfocito T el cual inicia producción de citocinas y factores quimiotácticos. Los fibroblastos subendoteliales y células del intersticio valvular aórtico se transforman en osteoblastos e inician la síntesis de material óseo. Finalmente, la calcificación extensa de la válvula ocasiona estenosis.

Por otro lado, niveles elevados de proteína C reactiva ultrasensible (PCRus), moléculas de adhesión como ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular) y VCAM-1 (molécula de adhesión del endotelio vascular) también están elevados en pacientes con estenosis aórtica. El primero como un marcador general de proceso inflamatorio y los últimos dos como participantes en la patogénesis de la enfermedad al favorecer la adhesión de células inflamatorias al endotelio valvular²⁷⁻²⁸.

En algunos estudios de pacientes con estenosis aórtica se evaluaron marcadores como PCRus, proteína quimiorreactante del monocito 1 y TNF-α antes y después de la cirugía de

cambio valvular (a los diez días, tres y seis meses) y se asociaron con la masa ventricular izquierda y género. Se encontró que después de la cirugía disminuyeron los niveles de los marcadores inflamatorios pero no hubo correlación con el género o la regresión de la hipertrofia ventricular³⁰.

Diagnóstico de estenosis aortica

El método de elección para diagnóstico, clasificación y seguimiento de pacientes con estenosis aortica es el ecocardiograma transtorácico. Existen otras modalidades como la resonancia magnética cardiaca, la tomografía computarizada o el cateterismo cardiaco; sin embargo, el ecocardiograma por su enorme versatilidad lo convierte en el estudio de primera elección. Este último nos permite evaluar primeramente las alteraciones estructurales de la válvula aortica, a inferir la gravedad de la calcificación y finalmente a determinar la repercusión funcional de la enfermedad.

Ecocardiograficamente el grado de afección estructural y calcificación de la válvula aortica son mejor evaluados desde la aproximación paraesternal eje corto a nivel de los grandes vasos. El grado de calcificación puede ser cualitativamente calificado como leve (nódulos pequeños y aislados), moderado (múltiples nódulos de mayor tamaño) y grave (engrosamiento y calcificación extenso de toda la cúspide). A medida que las válvulas se vuelven más escleróticas, hay incremento gradual en la rigidez y disminución en su movilidad e inicia la obstrucción al flujo sanguíneo. La calcificación no solo se limita a la válvula aortica, sino que se extiende a la base de la valva anterior de la válvula mitral a través de la continuidad mitro-aórtica. La calcificación también se extiende hacia el septum

interventricular y puede originar alteraciones en la conducción eléctrica. En los casos graves, la raíz aortica se observa llena de ecos amorfos y densos con mínima o nula movilidad.

Desde el punto de vista funcional se clasifica a la estenosis aortica como ligera, moderada o grave en base a mediciones del gradiente transvalvular máximo, gradiente transvalvular medio, velocidad aortica máxima y área valvular aortica (Figura 4). Cuando la estenosis es grave el área valvular es menor a 1cm^2 o $0.6\text{cm}^2/\text{m}^2$ de ASC, velocidad aortica máxima mayor a 4m/s y gradiente medio transvalvular mayor a 40mmHg ²⁹.



Figura 4. A la izquierda se observa la proyección ecocardiográfica paraesternal eje largo en donde se aprecia engrosamiento y calcificación importante de la válvula aortica (flecha), asimismo hay hipertrofia ventricular izquierda debido al incremento en la postcarga dado por la estenosis aortica. A la derecha se observa el espectro obtenido con Doppler continuo a través de la válvula aortica donde se aprecia una velocidad máxima de 4.21m/s y gradiente medio de 77.7mmHg ; esto integrado a la ecuación de continuidad que incluye además el área del tracto de salida del ventrículo izquierdo y su integral de velocidad tiempo, calcula un área valvular aortica de 0.8cm^2 .

Tratamiento de la estenosis aórtica

Finalmente, cuando la estenosis aórtica es grave el tratamiento definitivo es quirúrgico con implante de una prótesis valvular. Actualmente hay varios modelos de prótesis valvulares con distintas características morfológicas y perfiles hemodinámicos. De acuerdo con el material de fabrican se dividen en mecánicas y biológicas. Las primeras constan de una estructura metálica, un disco de titanio y carbón pirolítico y tejido de fibra artificial. Las biológicas derivan de homoinjertos o haloinjertos de válvula aortica o pulmonar de cadáveres humanos o xenoinjertos de válvulas porcinas o pericardio bovino.

Después del implante en tejido vivo de biomateriales como prótesis valvulares cardiacas, hay una respuesta inflamatoria local y sistémica debida de manera inicial al procedimiento quirúrgico y posteriormente a cicatrización, reacciones de cuerpo extraño y endotelización³¹.

La cirugía cardiaca con o sin empleo de circulación extracorpórea ocasiona una respuesta inflamatoria extensa y compleja (Figura 5). Algunos estudios han evaluado la concentración de IL-1 β , IL-6, IL-10 y TNF- α en diferentes momentos del periodo postoperatorio. Se encontró que durante la primera semana la elevación de marcadores proinflamatorios es importante; a partir de ese momento hay disminución gradual de los mismos para llegar a un valor basal alrededor de la tercera semana. Aproximadamente una cuarta parte de los pacientes tiene predominio de una respuesta antiinflamatoria con concentraciones elevadas de interleucina 10 (IL-10). Se ha visto que estos pacientes tienen mayor riesgo de complicaciones infecciosas. Hasta el momento no se ha caracterizado el comportamiento

de la respuesta antiinflamatoria a corto y mediano plazo después de cirugía valvular. Tampoco se conoce si después de alcanzar el nadir de la respuesta antiinflamatoria debido a daño tisular inducido por la cirugía hay actividad proinflamatoria relacionada al implante de biomateriales^{32,33}.

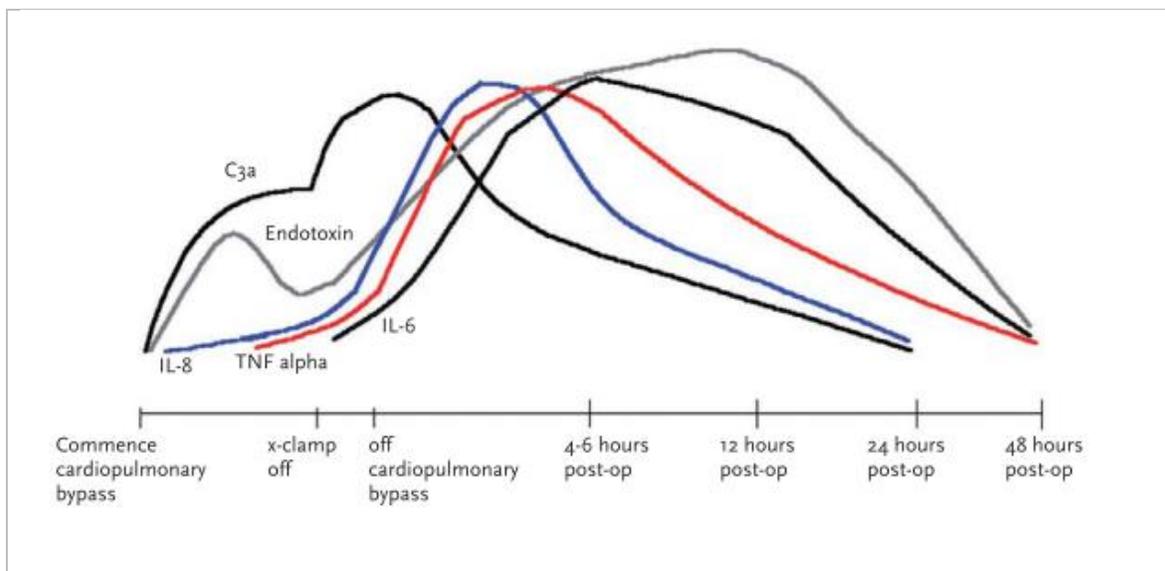


Figura 5. Comportamiento de los mediadores inflamatorios en el postoperatorio mediato de cirugía cardíaca. Hay un pico en las primeras 24hrs después de a cirugía con un subsecuente descenso gradual.

Con respecto a otros biomarcadores, en un ensayo clínico del 2003 se evaluó la concentración de PCRus en pacientes con estenosis aórtica antes y seis meses después del cambio valvular. Se encontró que los pacientes con estenosis aortica tenían niveles superiores al grupo control en la muestra inicial. En el seguimiento a seis meses la cifra de PCRus disminuyó en todos los pacientes operados; en la mitad de ellos la concentración fue similar a la del grupo control, pero en el resto fue superior, con una reducción en promedio del 38% con respecto al valor prequirúrgico. La PCRus tuvo una pobre correlación con los

parámetros ecocardiográficos postquirúrgicos (velocidad aortica máxima, área valvular aortica y fracción de expulsión del ventrículo izquierdo) y los resultados fueron similares después de ajustar el análisis para edad y género. En este estudio no se identificó porque la mitad de los individuos mantuvo concentraciones persistentemente elevadas de PCRus después del cambio valvular. No se hicieron correlaciones con respecto al tipo de válvula implantada³⁴.

En el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” la cuarta parte de las prótesis valvulares implantadas son válvulas biológicas. Estas válvulas se manufacturan a partir de pericardio bovino. Las válvulas biológicas xenoinjertos porcinos, pericardio bovino y aloinjertos se someten a tratamiento bioquímico con glutaraldehído para aumentar la estabilidad del tejido colágeno y minimizar el potencial antigénico. Estudios tempranos encontraron que pese al tratamiento con glutaraldehído el tejido de las bioprótesis permanece inmunogénico; esto sugiere que la modificación química de los implantes abole, pero no elimina algunos epítomos y hace que el tejido no sea inmunológicamente inerte³⁵. Recientemente se encontró que pese a los protocolos de descelularización hay xenoantígenos en la matriz de las prótesis valvulares biológicas³⁶. Entre otros materiales, algunas válvulas biológicas poseen un soporte de titanio. Se ha caracterizado la inmunogenicidad de biomateriales a base de titanio; se ha encontrado que el dióxido de titanio conduce a concentraciones elevadas de citocinas proinflamatorias (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN γ y TNF α) además de aumentar la maduración y niveles de moléculas coestimuladoras de células dendríticas³⁵. Los componentes de las prótesis valvulares mecánicas tienen también materiales de titanio. Hasta ahora se desconocen los efectos

proinflamatorios o de otro tipo a largo plazo en aquellas que contienen carbón pirolítico y tejido de fibra artificial.

Después del implante de una prótesis valvular el proceso de cicatrización, reacción de cuerpo extraño y endotelización en conjunto tiene una duración promedio de cuatro a cinco meses³⁰ (Figura 6). Aunque no se ha evaluado la respuesta inflamatoria en este lapso, desde el punto de vista teórico puede haber aun actividad proinflamatoria en el cual los factores desencadenantes pudieran estar relacionados además de la respuesta propia del huésped con el tipo de material implicado en la fabricación de las válvulas protésicas.

Este trabajo pretende evaluar la respuesta inflamatoria en pacientes con estenosis aortica y su comportamiento después del cambio valvular en relación con el tipo de prótesis implantada, ya sea biológica o mecánica.

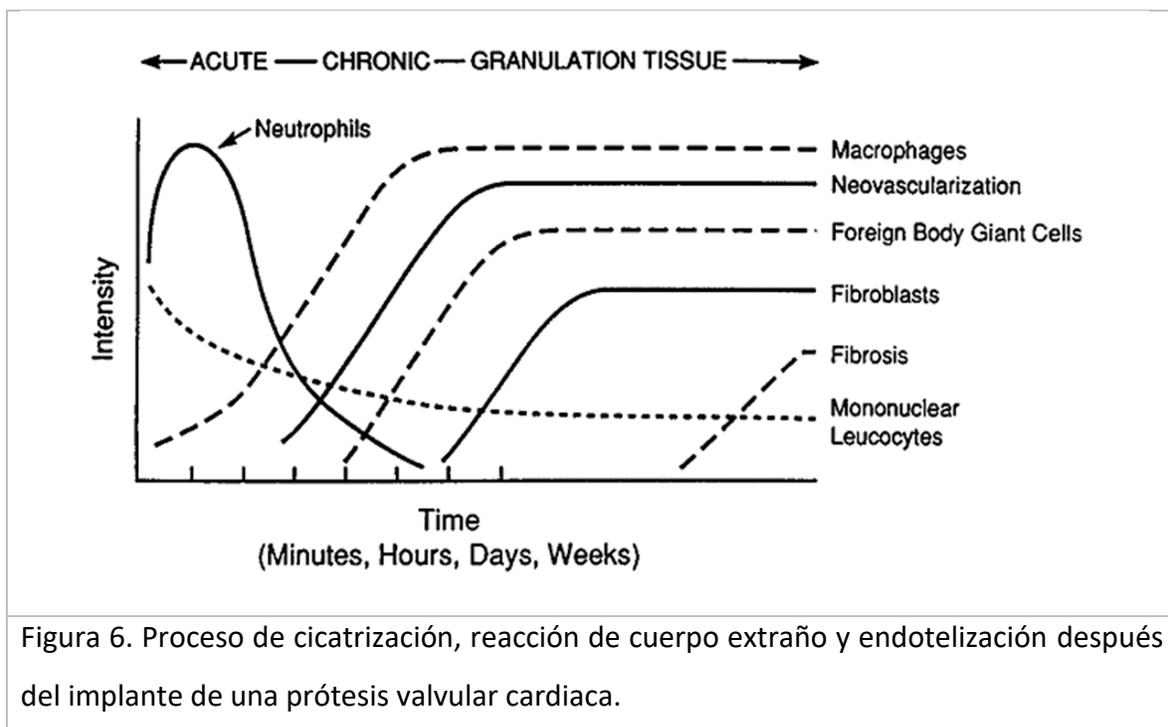


Figura 6. Proceso de cicatrización, reacción de cuerpo extraño y endotelización después del implante de una prótesis valvular cardiaca.

2. JUSTIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las últimas décadas en México la transición demográfica incrementó el número de personas mayores de 65 años. Actualmente es el grupo poblacional de mayor expansión y se espera que para el año 2030 se triplique. Esto elevará la prevalencia de estenosis aórtica y por ende más pacientes requerirán cirugía de cambio valvular. Nuestro Instituto es un Hospital de referencia a nivel Nacional el cual atiende entre otros un importante número de pacientes con valvulopatía aórtica. De las válvulas que se implantan, una cuarta parte se fabrican en el mismo Instituto (válvulas Biológicas INC). Estas se manufacturan a partir de pericardio bovino. En general las prótesis valvulares biológicas (xenoinjertos porcinos, pericardio bovino y aloinjertos), poseen otros materiales, como un soporte de titanio. En relación con este último, se ha caracterizado en estudios previos su inmunogenicidad, misma que conduce a concentraciones elevadas de citocinas pro inflamatorias que a su vez aumentan niveles de moléculas coestimuladoras de células dendríticas. En la fabricación de válvulas mecánicas uno de los materiales utilizados es el titanio, en otros el carbón pirolítico y la fibra artificial, los cuales finalmente condicionan un cuerpo extraño, mismo que puede desencadenar una respuesta inflamatoria específica.

Hasta ahora se ha informado que la re-estenosis de la prótesis biológica está condicionada por calcificación de la válvula, pero no se conoce con certeza qué condiciones favorecen estos cambios. Aunque es claro que el problema puede estar relacionado a múltiples factores, uno de ellos podría estar asociado al tipo de material con que se han elaborado, y esto no ha sido investigado por completo.

Creemos que es necesario evaluar si la respuesta inflamatoria únicamente se presenta en relación con la enfermedad valvular o existe participación de los compuestos químicos del material que se utiliza en la fabricación de las válvulas después del implante de la prótesis, específicamente el resultado que podríamos obtener de cada una de las prótesis valvulares utilizadas.

En Estados Unidos se implantan alrededor de 300mil prótesis valvulares por año. La industria de estos biomateriales tiene un crecimiento anual de 5%. En nuestro país no existen datos al respecto. Los costos de la cirugía cardíaca son elevados aun a nivel institucional y se incrementan en un recambio valvular debido a la mayor tasa de complicaciones. Es necesario identificar cuáles son los posibles mecanismos implicados en la estenosis aortica y si persisten después del cambio valvular; por lo que es factible y relevante iniciar un estudio de investigación enfocado a este problema de salud pública.

Los mecanismos implicados en daño valvular aórtico con progresión a estenosis no son aun bien conocidos. Se ha informado que en el desarrollo de la enfermedad hay participación inflamatoria crónica; sin embargo, una vez que se hace el recambio valvular, hay casos con deterioro del material de reemplazo y reincidencia del problema, lo cual hace necesario un nuevo cambio valvular. Después de 10 años alrededor de 30% de los pacientes con una prótesis biológica experimentan una nueva cirugía de cambio valvular debido a degeneración, calcificación y disfunción de la bioprótesis. Una cirugía de recambio valvular incrementa la dificultad técnica del procedimiento y la morbimortalidad.

El estudio de la patogénesis del daño inflamatorio persistente en estenosis aórtica en relación al tipo de bioprótesis conducirá a futuro a evaluar si es un factor que participa en el daño recurrente en la estenosis, calcificación y/o deterioro, proponer cambios en su fabricación con la finalidad de incrementar su duración y finalmente a mejorar el tratamiento para obtener un mejor pronóstico a largo plazo.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Existe alguna relación entre el tipo de prótesis valvular implantada y la respuesta inflamatoria sostenida después del cambio valvular aórtico?

Hipótesis Nula

Los pacientes con prótesis valvulares aórticas biológicas presentan concentraciones de citocinas inflamatorias similares a las prótesis valvulares mecánicas.

Hipótesis alterna

El nivel de citocinas inflamatorias y antiinflamatorias es diferente en pacientes con estenosis aórtica tratados mediante prótesis de diversa fabricación.

4. OBJETIVOS

General:

Determinar los niveles de diversos marcadores de inflamación en pacientes con estenosis aórtica antes y después de cirugía de cambio valvular aórtico con implante de prótesis biológica o prótesis mecánicas.

Específicos:

Comparar la concentración de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e ICAM entre pacientes portadores de prótesis valvular aórtica biológica y en aquellos con prótesis aórticas mecánicas.

Secundarios:

Determinar el área valvular y la delta del gradiente transvalvular después del implante de la prótesis y su relación con los niveles de marcadores de inflamación.

5. MATERIAL Y METODOS

5.1. Características del estudio

Se trata de estudio un de cohorte dinámico, observacional, descriptivo, longitudinal, prolectivo.

5.2. Diseño general del estudio

Se incluirán pacientes con estenosis aórtica grave por criterios clínicos y ecocardiográficos que sean candidatos a cambio valvular aórtico. Previo a la cirugía se determinarán en cada paciente varias moléculas inflamatorias y parámetros ecocardiográficos basales. A los siete días y a los seis meses después de la cirugía se cuantificará nuevamente la concentración de moléculas de inflamación y se realizará ecocardiograma transtorácico. Se incluye un grupo control de individuos sanos pareados por edad y género en el que se determinaran mediadores inflamatorios y se realizará ecocardiograma transtorácico.

5.3. Población de estudio

Muestra: La población objetivo serán los pacientes del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. La población elegible estará constituida por pacientes de dicho Instituto que cuenten con el diagnóstico de estenosis aortica grave que se encuentren internados en los sectores de hospitalización y en los que se planee efectuar cambio valvular aórtico por una prótesis mecánica o biológica. La recolección de pacientes inició el 02 de enero de 2014 y concluyó en noviembre del 2015.

Muestreo: Con técnica no probabilística secuencial (consecutivo).

5.4. Criterios de Inclusión:

- a. Pacientes de ambos géneros.
- b. Mayores de 40 años.
- c. Pacientes que por criterios clínicos y ecocardiográficos cuenten con el diagnóstico de estenosis valvular aórtica grave con requerimiento de cambio valvular.
- d. Individuos cuya valvulopatía sea debida a enfermedad valvular degenerativa o por aorta bivalva.

5.5. Criterios de exclusión:

- a. Pacientes que no cumplan con uno o más de los criterios de inclusión.
- b. Pacientes a quienes se realice otra cirugía cardiaca diferente al cambio valvular aórtico (revascularización coronaria o cambio de una válvula diferente a la aórtica).
- c. Pacientes en los que la etiología de la estenosis valvular sea debido a una alteración congénita (excluyendo aorta bivalva) o cardiopatía reumática.

5.6. Criterios de eliminación:

- a. Pacientes que en el periodo postquirúrgico mediato desarrollen mediastinitis o algún otro tipo de infección intrahospitalaria a cualquier nivel.
- b. Pacientes en los que se pierda el seguimiento.

5.7. Cálculo del tamaño de la muestra:

Estimación de tamaño de muestra.

Con una confianza de 95% y poder de 90% se estimó una muestra de 35 pacientes por grupo mediante diferencia de proporciones en base a la concentración de TNF α obtenida en estudios previos.⁹

$$n = \frac{2S^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{\Delta^2}$$

$$n = \frac{2(85.5)^2 (1.28 + 1.645)^2}{91^2}$$

$$n = \frac{29241 (8.55)}{8281}$$

n= 30 pacientes

Se calculó que se requieren 30 pacientes por grupo de estudio. Tomando pérdidas en el seguimiento de 10%, se estima un número de 35 pacientes por grupo. En total 70 pacientes.

5.8. Formación de grupos de estudio:

Después de la cirugía se formarán dos grupos de estudio en relación con el tipo de prótesis que se implantó:

- a. Pacientes con válvula protésica mecánica
- b. Pacientes con válvula protésica biológica

La decisión sobre el tipo de prótesis a implantar fue del equipo médico tratante.

5.9. Recolección de datos

La recolección de datos se dividirá en tres etapas:

5.9.1. Prequirúrgica:

5.9.1.1. Una vez identificada la población de estudio, se realizará entrevista personal, se explicará al paciente el objetivo del estudio y se obtendrá consentimiento informado. Se realizará exploración física dirigida con la finalidad de descartar focos infecciosos. Se extraerán de cada paciente de 8mL de sangre mediante venopunción periférica para la obtención de suero y determinación de las variables de estudio.

5.9.1.2. Se recolectarán para cada paciente diversos parámetros ecocardiográficos (ecocardiograma basal) mediante revisión del expediente clínico del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. Cuando no se cuente con ecocardiograma reciente (en los últimos 3 meses), se realizará un nuevo estudio.

5.9.2. Postquirúrgica temprana (7 días después de la cirugía).

5.9.2.1. Mediante entrevista personal y exploración física se descartará algún foco infeccioso. Se extraerán de 8mL de sangre mediante venopunción periférica para la obtención de suero y determinación de las variables de estudio.

5.9.2.2. Se realizará ecocardiograma transtorácico a cada paciente con la determinación de diversas variables de estudio.

5.9.3. Postquirúrgica tardía (6 meses después de la cirugía).

5.9.3.1. Mediante entrevista personal y exploración física se descartará algún foco infeccioso. Se extraerán de 8mL de sangre mediante venopunción periférica para la obtención de suero y determinación de las variables de estudio.

5.9.3.2. Se realizará ecocardiograma transtorácico a cada paciente con la determinación de diversas variables de estudio.

El vaciado de los datos se realizó en hojas de cálculo de Excel, Windows 8.

La obtención de la muestra sanguínea se realizó mediante venopunción periférica con técnica habitual y con empleo de sistema de vacío marca Vacutainer. La primera venopunción previo a la cirugía y la segunda siete días después de la cirugía se realizaron en la cama del paciente mientras permanecía hospitalizado. La subsecuente a los 6 meses, se llevó a cabo en el departamento de Inmunología del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. La muestra se centrifugo a 2500 rpm durante 10 min a 4°C, posteriormente se realizaron alícuotas de 500 µl de suero y fueron almacenadas a -75°C hasta la determinación de citocinas.

5.10. Se realizaron las siguientes determinaciones:

Fueron determinados TNF α , IL-1, IL-6 e ICAM-1 mediante enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) en sándwich, usando sistemas comerciales duoSet (R&D Systems; Minneapolis, MN) respetando las instrucciones proporcionadas por el fabricante con los pasos descritos a continuación^{14,15}:

1. Se utilizarán microplacas para ELISA de 96 micropozos con alta capacidad de unión de proteínas.
2. Se colocarán 100µL por micropozo del anticuerpo de captura diluido en agua destilada en una concentración de 2 µg/ml y se incubará durante la noche a temperatura ambiente.
3. Al día siguiente se aspira el contenido de los micropozos y se lavan colocando 300µL de solución buffer de fosfatos con 0.05% de Tween 20. Este procedimiento se repetirá 3 veces asegurándose de no formar burbujas en el fondo de los pozos.
4. Para evitar pegados inespecíficos se colocan en cada pozo 300µL de PBS con 1% de albumina sérica bovina. La placa se incubará dos horas a temperatura ambiente y se lavará como se describe en el paso 3.
5. Se adicionarán 100µL de estándar asegurándose de establecer la curva de referencia iniciando de la concentración más alta y realizando diluciones 1:2 hasta acercarse a cero (2000-0 pg/mL); en el resto de la placa se colocará el mismo volumen con la muestra concentrada o diluida, la placa se incubará dos horas a temperatura ambiente y después se lavará como en el paso 3.
6. Se adicionarán 100µL por pozo del anticuerpo de detección diluido en PBS en una concentración de 4 µg/ml y la placa se incubará 2hrs a temperatura ambiente, después se lavará como se describe en el paso 3.
7. Se agregarán 100µL de estreptoavidina de rábano a cada pozo y la placa se incubará durante 30 minutos a temperatura ambiente, después se lavará como se describe en el paso 3.

8. Se agregarán 100µL por pozo de TMB como cromógeno y se vigilará la reacción por 10 min.
9. Se adicionarán 50µL por pozo de solución de paro (H₂SO₄ 2N).
10. La placa se leerá en un lector de ELISA a 450nm.

Por otra parte, la determinación de PCR se realizó mediante nefelometría.

El estudio ecocardiográfico fue realizado por dos ecocardiografistas expertos siguiendo las recomendaciones actuales.¹⁶ Se usó un sistema de ultrasonido Philips iE33 xMATRIX (Philips, Andover Massachusetts) con transductor X5-1. Las dimensiones del ventrículo izquierdo se cuantificaron en el eje paraesternal largo; los volúmenes de la aurícula izquierda y ventrículo izquierdo se calcularon con el método de Simpson. El área valvular aortica se estimó con la ecuación de la continuidad. La masa del VI se estimó con el método de Devereaux.¹⁷ Los gradientes transvalvular aórtico medio y máximo se adquirieron en la proyección apical de tres o cinco cámaras, donde se obtuviera un espectro de Doppler continuo adecuado y la mayor velocidad transaórtica. La presión sistólica de la arteria pulmonar se estimó con la adición de la presión auricular derecha al gradiente de insuficiencia tricuspídea.

5.11. Variables de estudio (definiciones y unidades de medición)

Variables independientes:

Variables demográficas

1. Edad. Medida en años a partir de la fecha de nacimiento proporcionada por el paciente.
2. Género. Hombre o mujer, en base a caracteres fenotípicos.
3. Peso. Medido en Kilogramos (Kg).
4. Talla. Medida en metros(mts)
5. Índice de masa corporal (IMC). Resultará de la división de peso sobre el cuadrado de la talla, medido en Kg/m²
6. Diabetes. Pacientes que cuenten con hiperglucemia: glucosa en ayuno superior a 126mg, Hemoglobina glucosilada superior a 6.5%, glucosa casual superior a 200mg/dL.
7. Hipertensión arterial sistémica. Presión arterial sistémica superior a 140/90mmHg.
8. Tipo de lesión valvular aortica. Estenosis, insuficiencia o doble lesión aortica.
9. Insuficiencia cardiaca. Síntomas de insuficiencia cardiaca asociados a fracción de expulsión menor a 50% mediante ecocardiografía bidimensional.

Variables ecocardiográficas:

1. Fracción de expulsión del ventrículo izquierdo. Cantidad de sangre expulsada por el ventrículo izquierdo en relación al total del volumen telediastólico. Calculado por el método de Simpson.
2. Anillo aórtico. Sitio de unión entre la aorta torácica ascendente y las valvas de la válvula aórtica. Medido en milímetros.
3. Tracto de salida del ventrículo izquierdo (TSVI). Estructura anatómica delimitada por el septum interventricular y la valva anterior de la mitral. Se mide con ecocardiografía

bidimensional en la ventana paraesternal eje largo, un centímetro por debajo del anillo aórtico.

4. Integral velocidad-tiempo (ITV) del TSVI. Es la integral de la media de las velocidades instantáneas en un momento determinado. Se obtiene al colocar la muestra de volumen del Doppler pulsado en el TSVI en la ventana apical cinco cámaras.

5. Integral velocidad-tiempo (ITV) de la válvula aórtica. Es la integral de la media de las velocidades instantáneas en un lapso de tiempo. Se obtiene al colocar la muestra de volumen del Doppler continuo en la válvula aórtica en la ventana apical cuatro cámaras.

6. Área valvular aórtica. Máximo diámetro del orificio del orificio valvular aórtico medido en la telesístole, expresado en cm².

7. Gradiente transvalvular aórtico máximo. Máximo gradiente de presión medido a través de la válvula aórtica durante la sístole.

8. Gradiente transvalvular aórtico medio. Resultado del promedio de los gradientes instantáneos de la válvula aórtica durante la sístole.

9. Insuficiencia aórtica. Lesión valvular que ocasiona retorno de sangre durante la diástole de la aorta hacia el ventrículo izquierdo.

Variables dependientes:

Variables de laboratorio:

1. IL-1 β . Es una citocina codificada por un gen que lleva el mismo nombre, es importante mediador de la respuesta inflamatoria, la producen los macrófagos.

2. IL-6. Glucoproteína producida por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos, localizado en el cromosoma 7, tiene actividad en procesos inflamatorios. Medida en pg/mL.
3. TNF- α . Citocina pleiotrópica, con actividad proinflamatoria, secretada principalmente por macrófagos, se ha detectado en válvulas aórticas calcificadas de humanos.
4. ICAM-1. Molécula de adhesión intercelular.

5.12. Aspectos Éticos.

El estudio incluyó consentimiento informado en acuerdo con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité científico y de bioética institucional.

6. ANALISIS ESTADISTICO

Las variables categóricas se expresaron en proporciones, las continuas en media con desviación estándar o mediana con rango intercuartil de acuerdo con la distribución. Las comparaciones fueron hechas para variables categóricas con Chi cuadrada o prueba exacta de Fisher y para variables dimensionales con t de Student o U de Mann-Whitney. Las correlaciones fueron hechas con r de Pearson para variables cuantitativas o rho de Spearman para variables cualitativas. Muestras relacionadas se analizaron con ANOVA para medidas repetidas o prueba de Friedman de acuerdo con la distribución, con análisis post-hoc para identificar diferencias entre grupos. El valor de p de significancia estadística se estableció menor a 0.05 a dos colas. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS versión 22 (SPSS Inc. Chicago, Illinois).

7. RESULTADOS

Estudiamos 150 pacientes consecutivos con estenosis aórtica, de los cuales 90 cumplieron criterios de inclusión, once fueron eliminados quedando una población final de 79 casos (Figura 5). Se incluyeron 40 individuos control, sanos, pareados por edad y género.

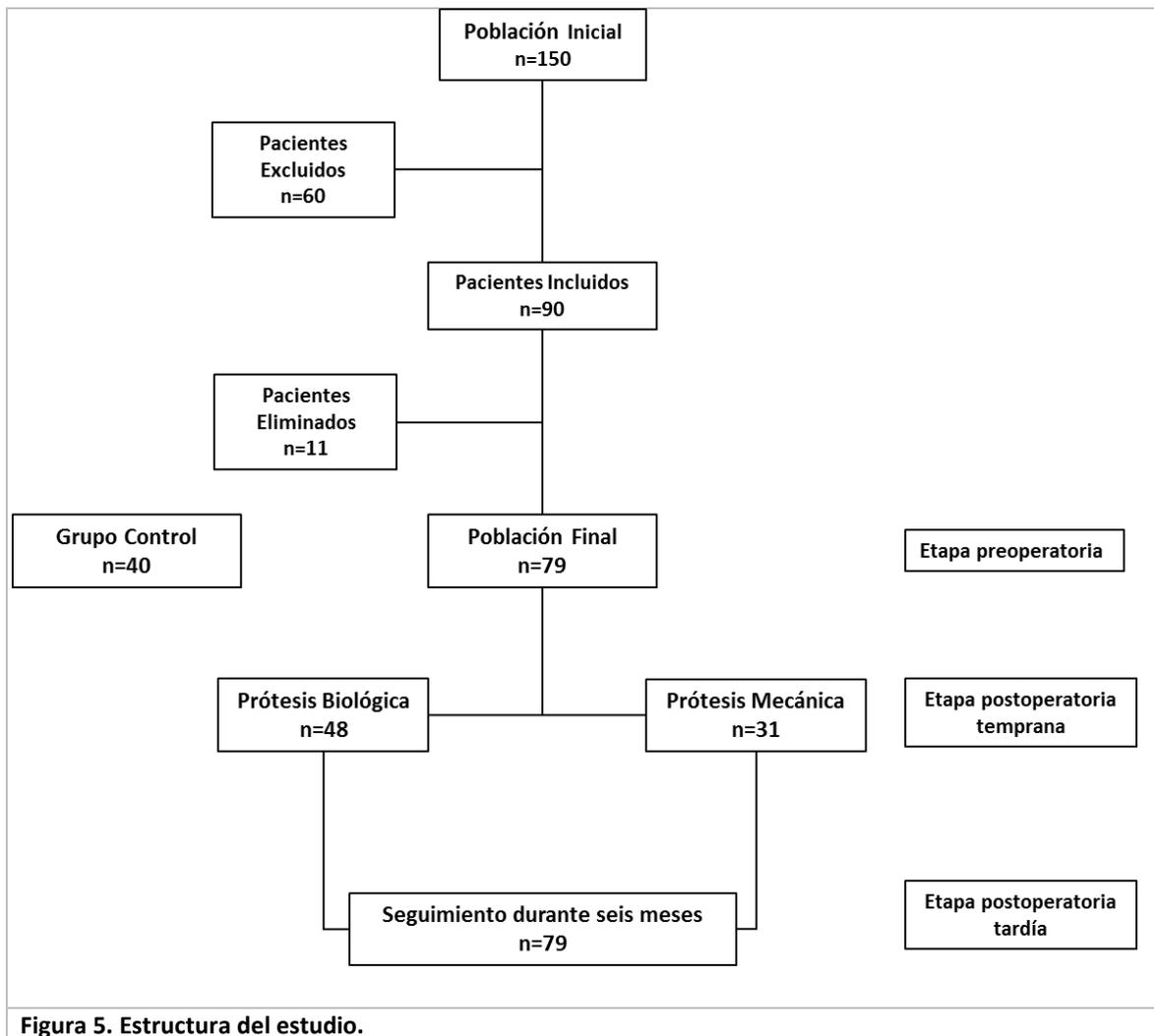


Figura 5. Estructura del estudio.

Las características demográficas de los casos y del grupo control no mostraron diferencias.

Del total de casos, 45 (57%) fueron hombres con edad promedio de 59(\pm 11.4) años (Tabla 1).

Tabla 1. Características demográficas de los pacientes con EA y el grupo CONTROL			
	EA n=79	CONTROL n=40	
Variable	media(\pmSD)/ n(%)	media(\pmSD)/ n(%)	p
Edad (años)	59 (11)	58 (11)	0.25
Hombres	45 (57)	23 (57)	0.68
Mujeres	34 (43)	17 (43)	0.72
Peso(Kg)	69 (11.2)	65 (10)	0.36
Estatura (cm)	161 (8.8)	165 (9)	0.58
ASC (m²)	1.71 (0.17)	1.74 (0.2)	0.87
*Diabetes	10 (12.5)	0	
Válvula biológica	4 (13)		
Válvula mecánica	6 (12)		
**Hipertensión	29 (36)	0	
Válvula biológica	18 (37)		
Válvula mecánica	11 (35)		
***Tabaquismo	7 (8.8)	0	
Válvula biológica	4 (6)		
Válvula mecánica	3 (9.6)		
EA: estenosis aortica, ASC: área de superficie corporal Valor de P para diferencia de proporciones * p= 0.99, ** p= 0.98, *** p= 0.95			

En el ecocardiograma basal se encontró que todos los pacientes tuvieron estenosis aórtica grave con área valvular de 0.67 (\pm 0.2) cm², gradiente aórtico medio de 59(\pm 16) mmHg y velocidad máxima de 4.8 (\pm 0.6) m/s. La media de FEVI fue 53%(\pm 17). Se observaron concentraciones elevadas de TNF α en 30 (38%), de IL-1 en 26 (33%) y de IL-6 en 30 (38%); todos los pacientes tuvieron cifras elevadas de ICAM-1. Al comparar al grupo de pacientes que tuvieron niveles elevados de citocinas con los que tuvieron una cifra normal no

encontramos diferencias significativas en edad, género o parámetros ecocardiográficos de estenosis aórtica. Comparando entre los grupos los valores de mediadores inflamatorios se encontró una tendencia al incremento de TNF- α , IL-1, IL-6 e ICAM-1 en los pacientes con EA versus controles, con valores de p=0.08, p=0.09, p=0.10 y p= 0.07 respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Variables ecocardiográficas y concentración de interleucinas en estenosis aortica y controles			
	EA n=79	CONTROL n=40	
Variable	media(\pmSD)/n(%)	media(\pmSD)/n(%)	p
Prótesis			
Biológica	48 (61)		
Mecánica	31 (39)		
AI Vol (cc/m² ASC)	48 (10)	23 (4)	0.001
GPR	0.59 (0.14)	0.38 (2)	0.001
Masa VI(gr/m²ASC)	144 (45)	73 (8)	0.001
Área Ao V (cm²)	0.67 (0.2)	2.9 (0.4)	0.001
Gr medio Ao(mmHg)	59 (16)	2 (0.4)	0.001
Vel Max Ao (m/s)	4.8 (0.6)	0.9 (0.2)	0.001
Anillo Ao (mm)	21 (2.6)	22 (3)	0.001
FEVI (%)	52 (13)	67 (4.2)	0.001
Función Diastólica			
Normal	0	40 (100)	
Relajación lenta	48 (61)		
Pseudonormal	26 (33)		
Restrictivo	5 (6)		
TAPSE (mm)	20 (4)	20 (2.3)	0.6
PSAP(mmHg)	36 (13)	22 (2.5)	0.001
TNFα (pg/cc)	0 (0-65)*	0 (0-30)*	0.08
IL-1(pg/cc)	0 (0-36)*	0 (0-15.7)*	0.09
IL-6(pg/cc)	0 (0-30)*	0 (0-10.7)*	0.1
ICAM-1 (pg/cc)	3610 (3060-6854)*	3555 (3199-3849)*	0.07
*mediana (IQR 25-75).			
EA: estenosis aortica, GPR: grosor parietal relativo, VI: ventrículo izquierdo, Ao: aortica, V: válvula, Gr: gradiente, Max: máximo, Vel: velocidad, Vol: volumen, FEVI: fracción de expulsión del VI, TAPSE: excursión sistólica del plano anular tricuspídeo, PSAP: presión sistólica de la arteria pulmonar, IQR: rango intercuartilar.			

En sujetos con EA se encontró que la media de edad en hombres (57 ± 12) fue menor que en mujeres (62 ± 8.6), $p=0.025$. No hubo diferencia significativa en la concentración de citocinas en relación al género (TNF α : $p= 0.071$, IL-1: $p= 0.31$, IL-6: 0.76 e ICAM-1: $p=0.5$). Tampoco se encontró diferencia entre los mayores y menores de 60 años (TNF α : $p= 0.15$, IL-1: $p= 0.3$, IL-6: 0.2 e ICAM-1: $p=0.9$).

Etapa postquirúrgica temprana. En 61%($n=48$) se implantó una válvula biológica y en 39%($n=31$) una mecánica. A las mujeres se les implantó con mayor frecuencia una prótesis biológica que a los hombres (73% vs 51%), $p=0.043$. En general se encontró mejoría significativa en los parámetros ecocardiográficos con aumento en el área valvular aórtica, disminución del gradiente medio transvalvular aórtico y velocidad aórtica máxima.

En la geometría ventricular, hubo disminución en la masa del VI ($p=0.001$). Se encontró un incremento significativo en la concentración de citocinas en comparación la etapa preoperatoria (Tabla 3) y con el grupo control (TNF α : $p= 0.015$, IL-1: $p= 0.01$, IL-6: 0.001 e ICAM-1: $p=0.001$).

Tabla 3. Comparación entre las etapas				
Variable	Prequirúrgica mean(\pm SD)/n(%)	PostQx temprana mean(\pm SD)/n(%)	PostQx Tardía mean(\pm SD)/n(%)	p
AI Vol(cc/m ² ASC)	48 (10)	45 (9)	43 (8)	0.001
GPR	0.59 (0.14)	0.6 (0.16)	0.57 (0.13)	0.001
Masa VI(gr/m ² ASC)	144 (45)	131 (38)	115 (28)	0.001
Área Ao V (cm ²)	0.67 (0.2)	1.5 (0.25)	1.7 (0.15)	0.001
Gr medio Ao(mmHg)	59 (16)	18 (8)	15 (5.5)	0.001
Vel Max Ao (m/s)	4.8 (0.6)	2.6 (0.6)	2.3 (0.4)	0.001
AI Vol (cc/m ² ASC)	52 (13)	52 (12)	56 (9)	0.001
TAPSE (mm)	20 (45)	15 (3.1)	17 (1.4)	0.001
PASP(mmHg)	36 (13)	34 (9)	28 (5.4)	0.001
TNF α (pg/cc)	0 (0-65)*	0 (0-269)*	60 (0-204)*	0.001
IL-1(pg/cc)	0 (0-36)*	0 (0-90)*	0 (0-65)*	0.01
IL-6(pg/cc)	0 (0-30)*	18 (0-98)*	16 (0-80)*	0.048
ICAM-1(pg/cc)	3610 (3060-6854)*	6306 (4984-7058)*	3782 (3138-6460)*	0.001

*mediana (IQR 25-75). EA: estenosis aortica, GPR: grosor parietal relativo, VI: ventrículo izquierdo, Ao: aortica, V: válvula, Gr: gradiente, Max: máximo, Vel: velocidad, Vol: volumen, FEVI: fracción de expulsión del VI, TAPSE: excursión sistólica del plano anular tricuspídeo, PSAP: presión sistólica de la arteria pulmonar, IQR: rango intercuartil.

Etapla postquirúrgica tardía. En el seguimiento a seis meses encontramos disminución adicional en el gradiente medio aórtico y velocidad máxima, con aumento en el área valvular aórtica. También disminuyó la masa ventricular izquierda (Tabla 3). Alrededor de la mitad de los pacientes permaneció con concentraciones elevadas de citocinas en esta etapa, TNF α : 60%(n=47), IL-1: 42% (n=33) e IL-6: 53% (n=42); sin embargo, todos los pacientes mantuvieron cifras elevadas de ICAM-1. En comparación con el grupo control hubo mayor concentración de citocinas inflamatorias (TNF α : p= 0.001, IL-1: p= 0.05, IL-6: 0.003 e ICAM-1: p=0.039). El análisis post-hoc del test de Friedman encontró que en la etapa postquirúrgica tardía la concentración de citocinas fue más elevada que en el preoperatorio (TNF α : p= 0.001, IL-1: p= 0.001, IL-6: 0.034 e ICAM-1: p=0.001). Al comparar la etapa

postquirúrgica tardía con la postquirúrgica temprana no se observó disminución significativa en las concentraciones de TNF α (p=0.62) y de IL-6 (p=0.24), pero si una tendencia a la baja en IL-1 (p=0.08) y disminución significativa en ICAM-1 (0.016). Al comparar al grupo de pacientes que tuvieron niveles elevados de citocinas con los que tuvieron una cifra normal, encontramos que aquellos con elevación de TNF α tuvieron mayor volumen de la aurícula izquierda (p=0.09, 5cc IC95%: 1.2-8.6). Se observó también que a mayor concentración de ICAM-1 el volumen de la aurícula izquierda fue mayor (r=0.35, p=0.002). Además, la correlación fue inversa entre ICAM-1 con la Velocidad aórtica máxima (r= -0.22, p=0.05) y con el gradiente medio aórtico (r=0.25, p=0.02).

Al dividir a la población de acuerdo con el tipo de válvula implantada (biológica o mecánica) en las etapas postquirúrgica temprana y tardía no se encontraron diferencias significativas en los parámetros ecocardiográficos y tampoco en la concentración de mediadores inflamatorios (tabla 4).

Tabla 4. Comparación de acuerdo con el tipo de prótesis valvular aortica implantada

VARIABLE	Postquirúrgica temprana			Postquirúrgica tardía		
	Biológica media (±SD) n=48	Mecánica media (±SD) n=31	p	Biológica media (±SD) n=48	Mecánica media (±SD) n=31	p
LA Vol (cc/m ² BSA)	45 (8)	44(10)	0.52	44(8)	42(9)	0.53
RWT	0.6 (0.13)	0.62(0.2)	0.6	0.57(0.1)	0.58(0.1)	0.6
LV mass (gr/m ² BSA)	132 (39)	129(37)	0.75	117(30)	112(27)	0.45
AoV area (cm ²)	1.5 (0.24)	1.5(0.26)	0.41	1.7(0.14)	1.7(0.16)	0.2
Ao Mean Gr (mmHg)	17 (7.9)	19(8.2)	0.33	15(5)	17(6)	0.09
Ao Max Vel(m/s)	2.5 (0.62)	2.7(0.59)	0.32	2.2(0.46)	2.4(0.44)	0.17
LVEF (%)	53 (11)	51 (14)	0.57	56(8)	56(11)	0.8
TAPSE (mm)	15 (3)	15 (3)	0.78	17(2)	17(2)	0.7
PASP(mmHg)	35 (8)	33 (9)	0.37	29(5)	28 (6)	0.6
TNFα (pg/cc)	16(0-264)*	0(0-387)*	0.61	0(60-252)*	0(62-150)*	0.41
IL-1 (pg/cc)	9(0-84)*	0(0-146)*	0.7	0(0-66)*	0(0-65)*	0.64
IL-6 (pg/cc)	17(0-106)*	44(0-92)*	0.91	18(0-78)*	0(0-82)*	0.41
ICAM- 1(pg/cc)	6336(5041- 41060)*	6066(4534- 6822)*	0.46	4287(3161- 43985)*	3632(3052- 5986)*	0.24

*mediana (IQR 25-75). EA: estenosis aortica, GPR: grosor parietal relativo, VI: ventrículo izquierdo, Ao: aortica, V: válvula, Gr: gradiente, Max: máximo, Vel: velocidad, Vol: volumen, FEVI: fracción de expulsión del VI, TAPSE: excursión sistólica del plano anular tricuspídeo, PSAP: presión sistólica de la arteria pulmonar, IQR: rango intercuartilar.

8. DISCUSION

Después de la cirugía de cambio valvular aórtico aproximadamente 50% de los pacientes continuaron con un estado inflamatorio activo que fue aún mayor que el presente en el estado preoperatorio. Nuestros datos son consistentes con estudios previos donde una significativa proporción de sujetos permaneció con niveles elevados de mediadores inflamatorios. No encontramos diferencias significativas en la concentración de citocinas en nuestra población de acuerdo con el tipo de válvula implantada aun cuando las prótesis valvulares son manufacturadas con distintos materiales. Al igual que otros estudios, cuando se realizó el ajuste para edad, genero, comorbilidades previas o geometría del ventrículo izquierdo no se encontró una diferencia significativa entre aquellos que persistieron con niveles elevados de mediadores inflamatorios y los que no²⁰⁻²¹.

Se ha encontrado que la estenosis aortica fibrocálcica y la aterosclerosis tienen similares factores de riesgo tradicionales como la hipertensión, diabetes, obesidad, dislipidemia y edad. A su vez, se ha visto que los individuos de la población general con estos factores de riesgo tienen concentraciones elevadas de citocinas proinflamatorias³⁶.

En un estudio se observó que los pacientes con aterosclerosis coronaria tienen mayor prevalencia de calcificación aortica que aquellos sin lesiones coronarias. Por otro lado, de todos los individuos con estenosis aortica grave sometidos a cirugía de cambio valvular, al menos el 30% requerirán cirugía de revascularización coronaria concomitante debido a lesiones significativas³⁷⁻³⁸. En nuestro estudio excluimos a individuos a quienes se les efectuara cirugía de revascularización coronaria por estenosis significativa. Sin embargo,

incluimos individuos con lesiones coronarias aterosclerosas incipientes que no ameritaron revascularización. Dado que la aterosclerosis está relacionada de manera directa con la concentración sérica de mediadores inflamatorios, esto puede explicar parcialmente la mayor concentración de citocinas en algunos pacientes y su persistencia después del cambio valvular aórtico, aunque las lesiones coronarias aterosclerosas no fueran significativas. También la presencia de aterosclerosis fuera del territorio coronario, como en las arterias carótidas, aorta o miembros inferiores es un factor que considerar.

En algunos pacientes con estenosis aortica los fenómenos inflamatorios y osteogénicos no se limitan al tejido valvular aórtico, sino que se extienden hacia la válvula mitral por medio de la continuidad mitroaórtica y hacia el septum interventricular. Durante la cirugía de cambio valvular aórtico se remueven solamente las cúspides aorticas y se implanta una nueva válvula. No se retira el tejido perivalvular adyacente ya que parte de este formara el anillo al que se fija la protesis³⁹. Dependiendo de la extensión preoperatoria de la osteogénesis a tejidos circundantes, será la suma de tejido afectado residual postoperatorio. Este tejido con actividad inflamatoria y osteogénica puede ser uno de los perpetuadores del estado inflamatorio en algunos pacientes.

Tenemos que tomar en cuenta la influencia de factores ambientales y epigenéticos en la persistencia del estado inflamatorio. Se ha observado que las células del intersticio valvular aórtico de pacientes con estenosis aortica fibrocálcica tienen sensibilidad incrementada a los efectos inducidos por TNF- α . Cuando estas células se exponen a los efectos de citocinas

proinflamatorias hay un incremento en la expresión genética de marcadores de calcigenesis comparada con células de pacientes normales. Esto favorece la aparición de cambios estructurales en la valva aortica y la perpetuación del estado inflamatorio⁴⁰. Los cambios en la expresión genética de estas células pueden persistir en el tejido residual después del evento quirúrgico y contribuir a concentraciones elevadas de citocinas.

Papel del tipo de prótesis valvular en la persistencia del estado inflamatorio

Las prótesis biológicas son fabricadas con tejido animal que está sujeto a un proceso de descelularización y fijación con glutaraldehído con la finalidad de reducir su inmunogenicidad. Las válvulas mecánicas se fabrican con diversos materiales sintéticos incluyendo grafito, carbón pirolítico y titanio. Se ha reportado que los fosfolípidos residuales en prótesis biológicas pueden provocar una respuesta inflamatoria que puede explicar la concentración elevada de citocinas en sujetos que reciben este tipo de prótesis. También se sabe que algunos tipos de prótesis manufacturadas con titanio pueden provocar una respuesta inflamatoria crónica, la cual no es necesariamente aguda y donde el mecanismo puede ser mediado por receptores tipo Toll⁴¹.

El titanio tiene alta resistencia a la corrosión en ambientes biológicos y es por esta razón que es el biomaterial de elección para fabricar dispositivos implantables en varios sitios en el cuerpo. El contacto entre el tejido biológico y el metal promueve la formación de una capa estable de dióxido de titanio en la superficie del implante. En tejidos rodeando el biomaterial y en ganglios linfáticos regionales se pueden encontrar iones de titanio. A pesar

de su biocompatibilidad hay excelentes estudios que muestran que el titanio es un alérgeno capaz de desencadenar una respuesta inmune.

En modelos experimentales de ratón se ha encontrado diseminación de nanopartículas de titanio desde un sitio de inyección intraarticular al resto del cuerpo⁴². De manera similar, se ha descrito neuroinflamación inducida por titanio en modelos de ratón. Otros estudios han encontrado toxicidad en células de tejido cardíaco por exposición a dióxido de titanio. En odontología y ortopedia son bien conocidas las reacciones de hipersensibilidad al titanio después del implante de materiales. También hay reportes de inflamación sistémica por nanopartículas de titanio y activación del sistema inmune con reacciones de hipersensibilidad retardada⁴³⁻⁴⁵. Lo anterior nos sugiere que la respuesta inflamatoria sostenida después del cambio valvular aórtico puede deberse a una respuesta inmunitaria ante los componentes de titanio de las prótesis implantadas, sean biológicas o mecánicas. En nuestros hallazgos sobresale que el incremento de las interleucinas evaluadas no mostró diferencia entre prótesis biológicas y mecánicas. Por lo tanto, consideramos que puede ser conveniente estudiar la respuesta inflamatoria en otros tipos de prótesis valvulares que contengan aleaciones metálicas como cromo-níquel.

Los resultados de este estudio son consistentes con la experiencia previamente publicada⁴⁴. Hay estudios sobre inflamación en prótesis aórticas biológicas y mecánicas en los que no se encontraron diferencias significativas entre ambos materiales con tiempo de implante entre seis meses y dos años. Problemas asociados con la durabilidad de la prótesis y la aparición de disfunción ocurre a una tasa similar en prótesis biológicas y mecánicas; el

requerimiento de otra intervención es necesario hasta en 60% de los implantes para ambos tipos de prótesis⁴⁶⁻⁴⁷.

El depósito de matriz extracelular y la formación de pannus conduce a la disfunción de las prótesis mecánicas. Por otro lado, en la disfunción de las prótesis biológicas calcificación e inflamación juegan un papel importante⁴⁸. Estudios recientes en modelos animales e in vitro han mostrado que la calcificación patológica en estas prótesis puede ser regulado por factores inductores e inhibidores similares a aquellos que regulan la mineralización ósea⁴⁹. Para una mejor comprensión, varios aspectos tienen que ser analizados tales como los determinantes de la mineralización y sus mecanismos reguladores. Entre estos determinantes el metabolismo del huésped juega un papel importante. Otros factores incluyen la estructura y química del implante. Con respecto a la regulación, el pretratamiento de estas válvulas con altas dosis de glutaraldehído debe ser considerado⁵⁰⁻⁵¹. En estudios previos se encontró que sin tomar en cuenta el tipo de prótesis, los marcadores de inflamación no mostraron una correlación directa con alteración en los parámetros ecocardiográficos de severidad de la estenosis aortica ni con la función ventricular, ya que niveles elevados de citocinas se encontraron en pacientes con prótesis normofuncionantes y hubo niveles normales en prótesis disfuncionales. Estos hallazgos también se observaron en esta serie de pacientes.

La diversidad de los mecanismos de daño en cada tipo de prótesis ha sido ampliamente discutida y es importante cuando se decide el mejor enfoque terapéutico. La decisión debe tomar en cuenta la actividad inflamatoria, degenerativa y potencial de calcificación de cada tipo de prótesis. La determinación de cual tipo de válvula debe ser usada para cada paciente

debe tomar en cuenta condiciones médicas y no médicas, el conocimiento de los mecanismos asociados con el material a ser implantado y la relación riesgo beneficio.

9. CONCLUSIONES

La respuesta inflamatoria causada por prótesis biológicas después de seis meses de haber sido implantadas es similar a la producida en prótesis mecánicas. Adicionalmente, la similitud en los perfiles hemodinámicos registrados con ecocardiograma Doppler en pacientes que recibieron cualquier tipo de prótesis nos permite concluir que ambos tipos de prótesis son recomendados. La decisión sobre qué tipo de prótesis valvular implantar está relacionada más a factores demográficos o el uso de anticoagulantes.

Evidentemente no existe una explicación única que pueda dar lugar a la persistencia del estado inflamatorio en algunos pacientes con estenosis aortica después del cambio valvular aórtico. La estenosis aortica fibrocálcica es una enfermedad altamente compleja que está determinada por factores genéticos, ambientales y propios del huésped; en cuyo desarrollo intervienen múltiples factores desencadenantes que actúan sobre diversas vías moleculares que originaran cambios en la expresión genética y rediferenciación celular. Ante un escenario tan complejo, es improbable que podamos atribuir a un solo factor la actividad inmunológica persistente. El observar la globalidad del fenómeno nos permitirá identificar los puntos clave en el desarrollo y progresión de la enfermedad y enfocar en esa dirección los esfuerzos terapéuticos; ya que hasta el momento somos solo espectadores de la evolución natural de la enfermedad, y cuando esta ha alcanzado su punto de mayor gravedad la única opción de tratamiento es altamente invasiva.

10. REFERENCIAS

1. Otto CM, Kuusisto J, Reichenback DD, Gown AM, O'Brien KD. Characterization of the early lesion of "degenerative" valvular aortic stenosis. Histological and immunohistochemical studies. *Circulation* 1994; 90:844–853.
2. Olsson M, Dalsgaard CJ, Haegerstrand A, Rosenqvist M, Ryden L, Nilsson J. Accumulation of T lymphocytes and expression of interleukin-2 receptors in nonrheumatic stenotic aortic valves. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23:1162–1170.
3. Mohler 3rd ER, Chawla MK, Chang AW, et al. Identification and characterization of calcifying valve cells from human and canine aortic valves. *J Heart Valve Dis* 1999;8:254–60.
4. Leopold JA. Cellular mechanisms of aortic valve calcification. *Circ Cardiovasc Interv* 2012;5:605–14.
5. Freeman RV, Otto CM. Spectrum of calcific aortic valve disease: pathogenesis, disease progression, and treatment strategies. *Circulation* 2005;111:3316–26.
6. Miller JD, Weiss RM, Heistad DD. Calcific aortic valve stenosis: methods, models, and mechanisms. *Circ Res* 2011;108:1392–412.
7. Otto CM, Kuusisto J, Reichenbach DD, et al. Characterization of the early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. histological and immunohistochemical studies. *Circulation* 1994;90:844–53.
8. Chen JH, Simmons CA. Cell-matrix interactions in the pathobiology of calcific aortic valve disease: critical roles for matricellular, matricrine, and matrix mechanics cues. *Circ Res* 2011;108:1510–24.
9. Mohler 3rd ER, Gannon F, Reynolds C, et al. Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation* 2001;103:1522–8.
10. Messika-Zeitoun D, Bielak LF, Peyser PA, et al. Aortic valve calcification: determinants and progression in the population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27: 642–8.
11. Ankeny RF, Thourani VH, Weiss D, et al. Preferential activation of SMAD1/5/8 on the fibrosa endothelium in calcified human aortic valves—association with low bmp antagonists and SMAD6. *PLoS One* 2011;6:e20969.

12. Seya K, Yu Z, Kanemaru K, et al. Contribution of bone morphogenetic protein-2 to aortic valve calcification in aged rat. *J Pharmacol Sci* 2011;115:8–14.
13. Durante A, Peretto G, Laricchia A, et al. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in the pathogenesis of atherosclerosis. *Curr Pharm Des* 2012;18:981–1004.
14. Cote N, Mahmut A, Bosse Y, et al. Inflammation is associated with the remodeling of calcific aortic valve disease. *Inflammation* 2013;36(3):573–81.
15. Kapadia SR, Yakoob K, Nader S, et al. Elevated circulating levels of serum tumor necrosis factor-alpha in patients with hemodynamically significant pressure and volume overload. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:208–12.
16. Mohler ER III, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS. Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation* 2001; 103:1522–1528.
17. Shavelle DM, Katz R, Takasu J, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and aortic valve calcification in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *J Heart Valve Dis.* 2008 Jul;17(4):388-95.
18. Galeone A, Brunetti G, Oranger A, et al. Aortic valvular interstitial cells apoptosis and calcification are mediated by TNF-related apoptosis-inducing ligand. *Int J Cardiol.* 2013; 169(4):296-30.
19. Kaden JJ, Dempfle CE, Grobholz R, et al. Interleukin-1 beta promotes matrix metalloproteinase expression and cell proliferation in calcific aortic valve stenosis. *Atherosclerosis.* 2003 ; 170:205-11.
20. Gerber I, Stewart R, Hammett C, et al. Effect of aortic valve replacement on C - reactive protein in nonrheumatic aortic stenosis. *Am J Cardiol* 2003; 92: 1129-1132.
21. Erdoes G, Lippuner C, Kocsis I, et al. Technical approach determines inflammatory response after Surgical and Trans catheter aortic valve replacement. *PLoS ONE* PLoS One. 2015; 10 :e0143089.
22. Agmon YI, Khandheria BK, Jamil Tajik A, et al. Inflammation, infection, and aortic valve sclerosis; Insights from the Olmsted County (Minnesota) population. *Atherosclerosis.* 2004; 174:337-42.

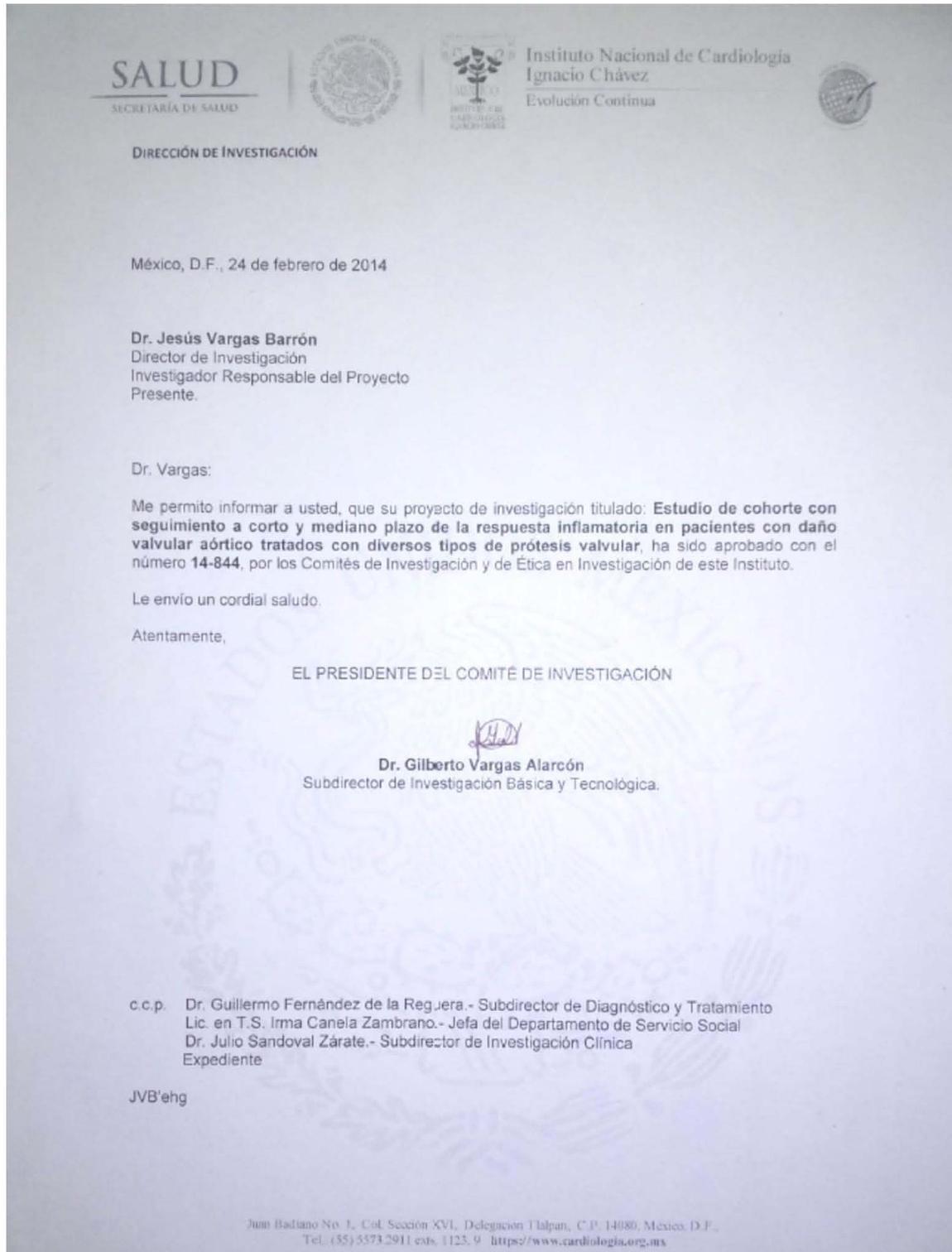
23. Kastellanos SS, Toumpoulis IK, Aggeli C, et al. The role of sex and biochemical markers of inflammation in left ventricular remodeling, before and after surgery, in elderly patients with aortic valve stenosis. *Hellenic J Cardiol.* 2009; 50:26-36
24. Ramamurthi A, Pandian NG, Gangadharamurthy D, et al. The syndrome of degenerative calcific aortic stenosis: prevalence of multiple pathophysiologic disorders in association with valvular stenosis and their implications. *Echocardiography.* 2013; 30:1-7
25. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol.* 2008; 20:86-100.
26. Barone A, Benktander J, Teneberg S, Breimer ME. Characterization of acid and non-acid glycosphingolipids of porcine heart valve cusps as potential immune targets in biological heart valve grafts. *Xenotransplantation.* 2014; 21:510-22.
27. Vesely I. Heart valve tissue engineering. *Circ Res.* 2005; 97: 743-755.
28. Schanen B, Karakoti A, Drake D, et al. Exposure to Titanium Dioxide Nanomaterials Provokes Inflammation of an in Vitro Human Immune Construct. *ACS Nano.* 2009; 3: 2523–2532.
29. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, et al. Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2014; 63:e57-185.
29. Crowther, J. R. ELISA. Theory and Practice. *Methods Mol. Biol.* 1995; 42:1-223.
30. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging *Am Soc Echocardiogr.* 2015; 28:1-39.
31. Lim HG, Kim SH, Choi SY, Kim YJ. Anticalcification effects of decellularization, solvent, and detoxification treatment for genipin and glutaraldehyde fixation of bovine pericardium. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2012; 41:383-90.

32. Lim HG, Kim GB, Jeong S, Kim YJ. Development of a next-generation tissue valve using a glutaraldehyde-fixed porcine aortic valve treated with decellularization, α -galactosidase, space filler, organic solvent and detoxification. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2015; 48:104-13.
33. Elizondo DR, Boland ED, Ambrus JR, Kurk JL. Mechanical cardiac valve prostheses: wear characteristics and magnitudes in three bileaflet valves. *J Heart Valve Dis*. 1996; 1:S115-23.
34. Pathak CP, Adams AK, Simpson T, Phillips RE Jr, Moore MA. Treatment of bioprosthetic heart valve tissue with long chain alcohol solution to lower calcification potential. *J Biomed Mater Res A*. 2004; 69:140-4.
35. Takagi M, Tamaki Y, Hasegawa H, et al. Toll-like receptors in the interface membrane around loosening total hip replacement implants. *J Biomed Mater Res A*. 2007; 81:1017-26.
36. N Mahalle, MK Garg, et al. Association of Inflammatory Cytokines with Traditional and Nontraditional Cardiovascular Risk Factors in Indians with known Coronary Artery Disease. *Ann Med Health Sci Res*. 2014 Sep-Oct; 4(5): 706-712.
37. Tomas A. Salerno, et al. Coronary revascularization in the setting of surgical aortic valve replacement: Do we need extra icing on the cake? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2015;149:460-1.
38. Qian J, Chen Z, Ge J. Relationship between aortic valve calcification and the severity of coronary atherosclerotic disease. *J Heart Valve Dis*. 2010 Jul;19(4):466-70.
39. Thierry Carrel, Lars Englberger, Mario Stalder. Recent developments for surgical aortic valve replacement: The concept of sutureless valve technology. *Open Journal of Cardiology*, 2013, 4-1.
40. Yu Z, Seya K, Daitoku K. Tumor necrosis factor- α accelerates the calcification of human aortic valve interstitial cells obtained from patients with calcific aortic valve stenosis via the BMP2-Dlx5 pathway. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011 Apr;337(1):16-23.

41. Kim YS, Shin SY, Moon SK, Yang SM. Surface properties correlated with the human gingival fibroblasts attachment on various materials for implantabutments: a multiple regression analysis. *Acta Odontol Scand.* 2015; 73:38-47.
42. Weingart D, Steinemann S, Schilli W, et al. Titanium deposition in regional lymph nodes after insertion of titanium screw implants in maxillofacial region. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1994; 23:450-2.
43. Wang JX, Fan YB, Gao Y, Hu QH, Wang TC. TiO₂ nanoparticles translocation and potential toxicological effect in rats after intraarticular injection. *Biomaterials.* 2009; 30:4590-600
44. Ze Y, Sheng L, Zhao X, et al. TiO₂ nanoparticles induced hippocampal neuroinflammation in mice. *PLoS One.* 2014; 9:e92230.
45. Rodriguez Bacci M, Murad N, Breda JR, et al. Inflammatory biomarker kinetic after mechanical and bioprosthetic valve replacement. *Rev Assoc Med Bras* 2015; 61:58-60
46. Wang J, Ma J, Dong L, Hou Y, Jia X, Niu X, Fan Y. Effect of anatase TiO₂ nanoparticles on the growth of RSC-364 rat synovial cell . *J Nanosci Nanotechnol.* 2013; 13:3874-9.
47. Schoen FJ, Golomb Levy RJ. Calcification of bio prosthetic heart valves: a perspective on models. *J Heart Valve Dis* 1992; 1:110-4.
48. Bernacca GM, Tobsanick G, Wheatley DJ. Dynamic in-vitro calcification of porcine valve casps. *J Heart Valve Dis* 1994; 3:684-7.
49. Walley VM, Keon WJ, Patterns of failure in Ionescu-Shiley bovine pericardial bioprosthetic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 93:925-33.
50. Zilla P, Weissenstein C, Human P, Dower T, von Opell UO. High glutaraldehyde concentrations mitigate bioprosthetic root calcification in the sheep model. *Ann Thorac Sur* 2000; 70:2091-5.
51. Hammermeister KE, Sethi GK, Henderson WG, et al. Outcomes 15 years after valve replacement with a mechanical versus a bioprosthetic valve: Final report of the Veterans Affairs. Randomized Trial *J Am. Coll. Cardiol* 2000; 36:1152-8.
52. Schoen FJ, Hobson CE. Anatomic analysis of removed prosthetic heart valves: causes of failure of 33 mechanical valves and 58 bioprostheses. 1980 to 1983. *Hum Pathol* 1985; 16:549

11. ANEXOS

11.1. Autorización por el Comité de Investigación



11.2. Autorización por el Comité de Ética



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

DICTAMEN

Enero 21, 2014. **Protocolo institucional: 14-844**

El proyecto: **Estudio de cohorte con seguimiento a corto y mediano plazo de la respuesta inflamatoria en pacientes con daño valvular aórtico tratados con diversos tipos de prótesis valvular**, fue aprobado en sus aspectos técnicos por la Comisión de Investigación con fecha 10 de diciembre de 2013, para su ejecución en el Instituto, por sus investigadores.

Investigador principal (responsable): Dr. Jesús Vargas Barrón.

Patrocinado por: INC

El Comité de Ética en Investigación revisó y aprobó los siguientes documentos:

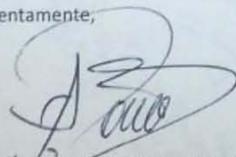
- Propuesta de Proyecto de Investigación.
- Consentimiento Informado para participar en un estudio de Investigación Médica.

Comentario:

Se aprueba, por unanimidad, vigencia por un año. Se recomienda al investigador buscar con el patrocinador que se aplique la Declaración de Helsinki (Edimburgo 2000), Sección C, Inciso 30, para alcanzar el máximo beneficio de los participantes. Asimismo, debe señalar si el testigo *bona fide* tiene o no relación con el participante o los investigadores.

Cubre los principios bioéticos fundamentales: autonomía beneficencia, no maleficencia y justicia. Buenas prácticas clínicas e ICH.

Atentamente,



Dr. Ángel Buenaventura Romero Cárdenas
Presidente del Comité de Ética en Investigación.

11.3. Formato de Consentimiento Informado

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ
CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO CLÍNICO

México, D. F. Fecha ____/____/____

Nombre del paciente: _____ Registro _____

Nombre del estudio:
"ESTUDIO DE COHORTE CON SEGUIMIENTO A CORTO Y MEDIANO PLAZO DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN PACIENTES CON DAÑO VALVULAR AORTICO TRATADOS CON DIVERSOS TIPOS DE PROTESIS VALVULAR".

Descripción del estudio:
Durante años se catalogó a la estenosis de la válvula aortica como una enfermedad pasiva resultado del proceso normal de envejecimiento; sin embargo, la evidencia actual sugiere que es un fenómeno sumamente activo que resulta de la interacción de múltiples factores. Una vez que se ha desarrollado estenosis aortica grave, el tratamiento definitivo es el remplazo valvular aórtico por una prótesis. Actualmente hay una cantidad muy variada de modelos de prótesis valvulares con distintas características. Las prótesis se dividen en mecánicas y biológicas.
Se ha demostrado en estudios previos que algunos pacientes con prótesis valvulares cardiacas persisten con un estado inflamatorio similar al que existía antes de la cirugía. La meta de este estudio es comprender si existe alguna relación entre la inflamación persistente y el tipo de prótesis que se implantó. El objetivo final será tratar de mejorar el diseño y materiales con que las prótesis se fabrican.
El estudio se llevará a cabo en el Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". A cada paciente que participe en el estudio se le realizará un ecocardiograma previo a la cirugía de cambio valvular aórtico, otro en la primera semana después de la cirugía y finalmente otro a los seis meses. También de cada paciente se extraerán 8ml. de sangre venosa ya sea por punción venosa o de catéter previo a la cirugía de cambio valvular aórtico, en la primera semana después de la cirugía y finalmente otro a los seis meses. En la muestra de sangre se analizarán diferentes moléculas inflamatorias. Ninguno de los estudios tendrá un costo para los pacientes.
Los procedimientos llevados a cabo en este ensayo clínico no ponen en riesgo la vida del paciente ni conllevan efectos adversos.

Autorizo y doy mi consentimiento al Dr. Dr. Jesús Vargas Barrón para participar en el ensayo clínico.

NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE O REPRESENTANTE LEGAL _____

TESTIGO _____
Calle: _____ Colonia: _____
Delegación o municipio: _____ Ciudad: _____ CP: _____

TESTIGO _____
Calle: _____ Colonia: _____
Delegación o municipio: _____ Ciudad: _____ CP: _____

El médico que suscribe declara haber entrevistado y explicado al paciente y/o su representante los procedimientos y finalidad de este estudio clínico, lo cual ha sido comprendido.

Dr. Jesús Vargas Barrón
Investigador Responsable
NOMBRE Y FIRMA DEL MEDICO _____

APROBADO
COMISION DE BIOETICA
Instituto Nacional de Cardiología
Ignacio Chávez
Protocolo 14-844
Aprobado
Unanimidad
Mayoría
Fecha 21-Enero-2014