



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD FARMACOLOGÍA CLÍNICA

FARMACOLOGÍA CLÍNICA

INCREMENTO EN LA MINERALIZACIÓN VALVULAR AÓRTICA EN PACIENTES CON  
DIABETES MELLITUS II

## TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA EXPERIMENTAL EN SALUD

PRESENTA:

JOSÉ ROBERTO GARRIDO ARGUETA

DIRECTOR DE TESIS

DRA. AURORA DE LA PEÑA DÍAZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX

FEBRERO 2020



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	4
2. INCREMENTO EN LA MINERALIZACION VALVULAR AORTICA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2.....	6
2.1 BASES TEÓRICAS.....	6
2.1.1 Válvula Aórtica.....	6
2.1.2 Diabetes Mellitus.....	8
2.2 ETIOLOGÍA DE LA MINERALIZACIÓN VALVULAR .....	9
2.3 EPIDEMIOLOGIA DE LOS PADECIMIENTOS .....	13
2.4 FISIOPATOLOGÍA.....	14
2.5 MANIFESTACIONES CLINICAS .....	16
2.6 DIAGNÓSTICO .....	18
2.6.1 Evaluación Física.....	18
2.6.2 Estudios de gabinete .....	19
2.7 TRATAMIENTO .....	20
2.7.1 Tratamiento quirúrgico.....	20
2.7.2 Tratamiento médico conservador.....	21
2.8 PRONÓSTICO.....	23
2.9 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO CON ESPECTROMETRO DE ENERGÍA DISPERSADA DE RAYOS X.....	24
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	25
4. JUSTIFICACION .....	25
5. OBJETIVOS .....	26
5.1 Objetivo general.....	26
5.2 Objetivos específicos .....	26

6. MATERIALES Y METODOS.....	27
6.1 Diseño del estudio.....	27
6.2 Universo de estudio .....	27
6.3 Población de estudio.....	27
6.4 Tamaño de la muestra .....	28
6.5 Descripción de las variables .....	28
6.6 Definición de las variables .....	28
6.6.1 Variables independientes.....	28
6.6.2 Variables dependientes .....	29
6.7 Criterios de inclusión.....	30
6.8 Criterios de exclusión.....	30
6.9 Procesamiento de las muestras.....	31
6.9.1 Muestras de tejido y conservación.....	31
6.9.2 Análisis de imágenes y procesamiento de datos .....	32
6.10 Procedencia de la información.....	39
6.11 Análisis estadístico.....	39
6.12 Aspectos éticos de la tesis.....	40
6.13 Recursos utilizados en el estudio.....	40
7. RESULTADOS .....	40
8. DISCUSIÓN .....	62
9. CONCLUSIONES.....	66
10. ANEXOS .....	67
11. BIBLIOGRAFÍA .....	72

# 1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad por mineralización de la válvula aórtica es en la actualidad un padecimiento que va en aumento en la población general. El aumento del riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular del tipo estenosis valvular por mineralización, está ligado al estilo de vida de la sociedad actual, el sedentarismo y una alimentación con alto contenido en carbohidratos y lípidos favorece el desarrollo de esta y otras enfermedades cardiovasculares, así como también el desarrollo y diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2 a temprana edad, hecho que incrementa aún más el riesgo de desarrollar una cardiopatía. Hasta hace 2 años en 2014 ya había más de 422 millones de personas diagnosticadas con Diabetes Mellitus en el mundo y esta cifra continúa en aumento. Considerando que el diagnóstico de esta enfermedad se realiza cuando el paciente ya ha tenido un tiempo de evolución considerable, que ya presentan algún grado de descontrol, que presentan complicaciones leves a graves y que en pocas personas se diagnostica de manera temprana por un monitoreo de la salud constante, se puede pensar en el riesgo de que estas personas agreguen el desarrollo subyacente de una cardiopatía valvular por mineralización (1).

La válvula aórtica es una estructura vascular compuesta por tejido conectivo revestido por endocardio que conserva un flujo sanguíneo unidireccional desde el ventrículo izquierdo hacia la arteria aorta. La capacidad de la válvula para permitir el flujo anterógrado sin obstrucción depende de la movilidad y la flexibilidad de sus valvas. Esta flexibilidad es indispensable para el buen funcionamiento de la válvula. En el desarrollo de la enfermedad de la válvula aórtica mineralizada, esta

elasticidad se pierde, hecho que conlleva un fallo en el cierre apropiado de las valvas, propiciando una circulación retrógrada que culmina con una sobrecarga cardiaca y fallo subsecuente (2).

Durante el descontrol glucémico presente en muchos pacientes con Diabetes Mellitus se desencadena una reacción inflamatoria crónica que de no resolverse propicia la acumulación de minerales en varios tejidos corporales siendo uno de ellos las válvulas cardiacas, que en esta tesis abordaremos específicamente sobre la válvula aórtica (3).

Debido al aumento significativo en el número de personas diagnosticadas con Diabetes Mellitus se destaca la importancia de realizar campañas de prevención de esta enfermedad, realizar diagnósticos tempranos y mediante esto evitar el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares por mineralización (4).

En este estudio nos centraremos en el análisis del incremento en el depósito de minerales sobre la válvula aórtica cardiaca provocado por el estado inflamatorio crónico no controlado presente en la Diabetes Mellitus tipo 2.

## 2. INCREMENTO EN LA MINERALIZACION VALVULAR AORTICA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2

### 2.1 BASES TEÓRICAS

#### 2.1.1 Válvula Aórtica

La válvula aórtica es una estructura vascular compuesta por tejido conectivo revestido por endocardio que conserva un flujo sanguíneo unidireccional desde el ventrículo izquierdo hacia la arteria aorta. La capacidad de la válvula para permitir el flujo anterógrado sin obstrucción depende de la movilidad y la flexibilidad de sus valvas, que aparecen finas y translúcidas a la inspección macroscópica. La competencia (capacidad de evitar el flujo retrogrado) de las válvulas semilunares (aórtica y pulmonar) depende del estiramiento y el moldeado de sus tres valvas (llamadas también cúspides) para ocluir el orificio durante la diástole (fase cerrada), cuando existe presión retrograda desde la sangre en la aorta. Este cierre exige que las cúspides se estiren hasta aumentar su área entre un 40 y 50%, en comparación con la sístole (fase abierta), cuando están relajadas. Durante la fase de cierre, las cúspides se superponen en un área (la lúnula) debajo del borde libre. Solo la porción de las cúspides debajo del borde del cierre separa la sangre aortica de la cavidad ventricular izquierda; así pues, los defectos o las fenestraciones de la cúspide en la lúnula no suelen comprometer la competencia de la válvula, mientras que los situados debajo de ella inducirán regurgitación. La función de las válvulas semilunares también depende de la integridad de los movimientos coordinados de las inserciones de las cúspides. Así, la dilatación de la raíz aortica puede impedir el cierre adecuado de las cúspides de la válvula aortica durante la sístole, y con ello permitir la regurgitación sanguínea. Cada cúspide aórtica tiene un nódulo pequeño (nódulo de Arantius) en el centro del borde libre, que facilita el cierre (2).

De esta forma la elasticidad valvular (propiedad mecánica de ciertos materiales de sufrir deformaciones reversibles cuando se encuentran sujetos a la acción de fuerzas exteriores y de recuperar la forma original si estas fuerzas exteriores se eliminan) cobra importancia al permitir a esta estructura modificar su forma sin sufrir cambios permanentes permitiendo su correcto funcionamiento.

Histológicamente la válvula aortica está compuesta por tres capas:

- La **fibrosa**, que forma el centro de cada valva y contiene extensiones fibrosas del tejido conjuntivo denso no modelado de los anillos fibrosos del esqueleto cardiaco.
- La **esponjosa**, que está formada por el tejido conjuntivo laxo ubicado en el lado auricular o vascular de cada valva. Consiste en fibras de colágeno y elásticas de disposición laxa separadas por una gran cantidad de proteoglicanos. La esponjosa actúa como un amortiguador porque reduce las vibraciones asociadas con un cierre de la válvula. También confiere flexibilidad y plasticidad a las valvas. En la valvular aórtica la esponjosa ubicada del lado del vaso sanguíneo se califica como *arterial* (en latín: sponjiosa arterialis).
- La **ventricular**, que está justo al lado de la superficie ventricular de cada valva y tiene revestimiento endotelial. Contiene tejido conjuntivo denso con muchas capas de fibras elásticas (2,5).

Las valvas o cúspides de las válvulas son normalmente avasculares. Solo en la base de la valva hay vasos sanguíneos pequeños y musculo liso. Las superficies valvulares están expuestas a la sangre y las valvas son lo suficientemente delgadas como para permitir que las sustancias nutritivas y el oxígeno se difundan desde la sangre (5).

Varias enfermedades afectan a la válvula aórtica produciendo su degeneración ya sea por el envejecimiento o debido a enfermedades inflamatorias crónicas como la diabetes mellitus tipo II (p. ej. Calcificación y fibrosis), causando un mal funcionamiento cardiaco por sobre esfuerzo del ventrículo izquierdo, causando insuficiencia cardiaca o por estenosis de los orificios valvulares (1,2).



### 2.1.2 Diabetes Mellitus

La Diabetes Mellitus tipo II es una enfermedad crónica, degenerativa, sistémica, proinflamatoria, de causas múltiples, de carácter heterogéneo, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales. Esta enfermedad se caracteriza por llevar al paciente a hiperglucemia (aumento de la glucosa sanguínea) crónica, debido a la deficiencia en la producción, producción defectuosa de insulina o resistencia de los tejidos a la captación adecuada de la misma, que afecta al metabolismo intermedio de los hidratos de carbono, proteínas y grasas. La hiperglucemia crónica presente en la diabetes se asocia significativamente con la disfunción a largo plazo de riñones, ojos, nervios, corazón y vasos sanguíneos. En su etapa inicial no produce síntomas, sin embargo, cuando se detecta de forma tardía y no se trata adecuadamente, ocasiona complicaciones de salud graves como múltiples afecciones cardíacas, aterosclerosis, ceguera, falla renal, amputación de las extremidades inferiores y muerte prematura<sup>66</sup>. Se ha estimado que la esperanza de vida de individuos con diabetes se reduce entre 5 y 10 años. En México, la edad promedio de las personas que murieron por diabetes en 2010 fue de 66.7 años, lo que sugiere una reducción de 10 años en la esperanza de vida (6).

En la actualidad los estilos de vida poco saludables se encuentran altamente prevalentes entre niños, adolescentes y adultos mexicanos, propiciando un aumento importante de la obesidad y sobrepeso, principal factor de riesgo modificable de la diabetes. Así, la prevalencia de la diabetes en esta población se ha incrementado sustancialmente en las últimas décadas: en 1993 la prevalencia de los diabéticos con diagnóstico conocido en población mayor de 20 años fue de 4.0%, mientras que en 2000 y 2007 se describió una prevalencia del 5.8 y 7%, respectivamente (4,7).

Durante las últimas décadas el número de personas que padecen diabetes en México se ha incrementado y actualmente es la segunda causa de muerte en el país. Los datos de la ENSANUT 2018 contrastados con la ENSANUT 2012 identifican un crecimiento en el diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 de 6.4 a 8.6

millones de adultos mexicanos de 20 años en adelante, es decir, actualmente 10.3% de los adultos en México padecen esta enfermedad (7,8).

## 2.2 ETIOLOGÍA DE LA MINERALIZACIÓN VALVULAR

La etiología de la mineralización valvular aórtica era poco conocida hasta la actualidad en que se han descubierto varias teorías que explican el depósito de los minerales sobre el tejido conectivo valvular (9).

Las observaciones sobre el desarrollo de la mineralización sugieren que esto es mediado a través de células diferenciadas de tipo osteoblastos (son células del hueso encargadas de sintetizar la matriz ósea, por lo que están involucradas en el desarrollo y el crecimiento de los huesos) a partir de las células valvulares intersticiales (10). Se han propuesto tres etapas de desarrollo de la válvula mineralizada (11): Durante la fase de iniciación inflamatoria, **los factores pro-osteogénicos**, que son liberados por los macrófagos activados, inducen la transformación de los miofibroblastos valvulares intersticiales en células similares a los osteoblastos (12,13). Aparte de los macrófagos, las células inmunes, incluyendo las células T CD4 y CD8, y la proteína proinflamatoria S100A9, que es predominantemente expresada por los macrófagos activados, indican la existencia de procesos inflamatorios. En la fase de propagación, una etapa temprana de la calcificación valvular, las condiciones proinflamatorias existentes promueven la formación de microcalcificación consistente en la acumulación de hidroxapatita en una matriz ósea de colágeno y proteínas de matriz ósea, dando lugar a depósitos de calcio. En la fase tardía, existe una regulación de la osteogénesis valvular que ocurre a través de la activación de factores de transcripción específicos, incluyendo el **Factor de transcripción 2 relacionado con Runt** (Runx2) (14), que es también denominada CBFA1, un factor de transcripción clave asociado con la diferenciación de osteoblastos, que es necesario para la diferenciación y maduración de osteoblastos y osteocitos, así como su fosfatasa alcalina objetivo (ALP por sus siglas en inglés), que también

sirve como un marcador temprano de la diferenciación de osteoblastos. **Estos marcadores se han encontrado incrementados en modelos experimentales murinos alimentados con dietas de alto contenido en grasas y carbohidratos, llevándolos al desarrollo de mineralización valvular (9).**

Las anexinas son proteínas de unión a la membrana reguladas por calcio, descritas para desempeñar un papel en la mineralización de la matriz en el hueso hipertrófico y el cartílago, posiblemente a través de la modulación de la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  en las vesículas de la matriz extracelular durante la formación de hidroxiapatita. Dado que las anexinas están implicadas en diversos procesos, incluyendo microcalcificación, apoptosis y liberación de vesículas extracelulares, se investigó su expresión en valvas aórticas. En contraste con la calcificación irreversible de la etapa tardía, las etapas más tempranas pueden ser dirigidas por terapias médicas que apunten a la atenuación de los cambios osteogénicos y proinflamatorios, mientras que la etapa tardía avanzada se caracteriza por una inflamación reducida y una calcificación excesiva que progresa hasta el punto sin retorno del daño valvular (15).

Pasando a los modelos del mecanismo hiperglucémico de mineralización aórtica podemos observar que recientemente encontrado la naturaleza del daño valvular causado por un estado de hiperglucemia constante(16,17), el cual es principalmente propiciado por la acumulación de radicales libres, es decir, anión superóxido, que es capaz de activar una serie de vías celulares las cuales incluyen: flujo de polirol y hexosamina, productos finales de glicación avanzada (AGEs), Proteína Cinasa C (PKC- $\zeta$ ) e inflamación vascular mediada por Factor Nuclear  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ )(18). Los niveles incrementados de glucosa y otros azúcares reductores tales como galactosa y fructosa reaccionan con grupos amino de proteínas para formar bases de Schiff para producir AGE (19). La interacción de AGEs con receptores para la producción final de glicación avanzada (RAGEs) activa PKC- $\zeta$  para la activación descendente de la señalización a través de PK activado por mitógeno p38 y factor de crecimiento transformador- $\beta$  (TGF-  $\beta$ ) (20); el cual es un fuerte estimulador de la síntesis y depósito de proteínas de matriz extracelular (MEC) por parte de fibroblastos, osteoblastos y células

endoteliales, además de aumentar la expresión de integrinas y receptores que median las interacciones celulares con proteínas de MEC, así como el factor nuclear- $\kappa$ B. Datos significativos apoyan a que las células del músculo liso vascular tratadas con productos finales de glicación avanzada (AGEs) promueven la calcificación a través de múltiples mecanismos, incluyendo niveles crecientes de fosfatasa alcalina (ALP), proteína de la matriz ósea, disminución de la expresión de marcadores de células musculares lisas vasculares y aumento de la expresión del factor de transcripción 2 relacionado con Runt (Runx2), **lo que sugiere que los receptores de los productos finales de la glicación avanzada promueven la transformación de células musculares vasculares en células fenotípicamente osteoblásticas capaces de mineralizar (19,21)**. Esto aparentemente apoya al hecho de que los diversos mecanismos de mineralización y/o calcificación terminan en la transformación de diferentes tipos celulares como músculo liso, neutrófilos y macrófagos en células osteoblásticas que mineralizan el tejido (22).

La hiperglucemia misma, también aumenta el estrés oxidativo al aumentar la oxidación de la glucosa en el ciclo del ácido cítrico (Ciclo de Krebs) (23). La generación de especies de oxígeno reactivo mitocondrial es un importante factor contribuyente, ya que el tratamiento con un desacoplador mitocondrial previene la regulación positiva de las especies reactivas del oxígeno (24). Cuando los niveles de glucosa están elevados, la vía del poliol convierte la glucosa en sorbitol usando nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH+) como un cofactor (25,26). Como resultado, el antioxidante glutatión, que también utiliza NADPH como cofactor, se convierte en disfuncional y determina una disminución en la resistencia celular al estrés oxidativo. Muchos grupos han demostrado que el estrés oxidativo regula positivamente a Runx2 y promueve la calcificación celular (27).

La hiperglucemia también puede activar la vía de la PKC aumentando la síntesis de diacilglicerol que desempeña un papel crítico en la activación de PKC, PKC $\beta$ , PKC $\delta$  y PKC $\alpha$  (28,29). Se ha demostrado que de manera vascular los cristales básicos de fosfato de calcio se depositan en lesiones ateroscleróticas y se

localizan con macrófagos inflamatorios (30). Nadra y cols. demostraron que la ingestión de fosfato de calcio básico por parte de los macrófagos desencadena una respuesta proinflamatoria, incluyendo la secreción de las citocinas inflamatorias factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , interleucina-1 e interleucina-8 en el que la PKC $\alpha$  fue un mediador clave de estos efectos (31). Otros han sugerido que el factor nuclear  $\kappa$ B inducido por el factor de necrosis tumoral (TNF) puede promover la calcificación inducida por fosfato inorgánico de las células lisas aórticas (SMC) en humanos, mientras suprimen el pirofosfato (inhibidor de la calcificación) (31,32).

El metabolismo de la glucosa a través de la vía biosintética de hexosamina produce UDP- $\beta$ -d-N-acetilglucosamina, un donante de azúcar activo para la modificación de  $\beta$ -N-acetilglucosamina ligada a O-GlcNAcetilación (19,33). Esta O-GlcNAcetilación es el proceso de glicosilación a través del cual se añade N-acetilglucosamina (O-GlcNAc) a residuos de serina y treonina de proteínas. Se ha demostrado que la O-GlcNAcetilación estimula la condrogénesis y la osteogénesis y se correlaciona con la actividad transcripcional del regulador de la osteogénesis, Runx2. Estudios anteriores han demostrado la elevación de O-GlcNAcetilación en placas de carótida diabética humana. Heath y cols. identificaron la O-GlcNAcetilación de AKT en aminoácidos T430 y T479 como un regulador potencial de la calcificación inducida por diabetes mellitus (34).

Los mecanismos mediante los cuales la hiperglucemia induce la activación de diversas vías (DAG, PKC y hexosamina) del metabolismo de la glucosa y la producción de estrés oxidativo, la formación de AGE, etc., también se aplican a las células endoteliales y valvulares (35). Impulsado por la hiperglucemia y el estrés oxidativo, la apoptosis de las células endoteliales y valvulares puede promover la permeabilidad, exponiendo las células musculares lisas cardiacas a la hiperglucemia y otros factores circulantes proinflamatorios conocidos para promover la calcificación como ALP y el ligando activador del receptor del factor nuclear  $\kappa$ B (RANKL) (36,37). Además, la producción de factor de necrosis tumoral- $\alpha$  tanto de células endoteliales como de células musculares lisas induce la producción de BMP-2, un potente factor de diferenciación osteoblástica, que

promueve la osteogénesis activando las vías de señalización de homólogos homeobox (Msx2) y Wnt aumentando también la mineralización del tejido valvular (38,39).

Otra de las teorías de mineralización valvular es la genética, sin embargo, debido a que esta es una enfermedad presente en personas principalmente adultas no existen estudios concretos sobre el factor heredable de la enfermedad. Estudios recientes han identificado defectos de la vía de señalización *Notch* (22,40), con mutaciones específicas del gen *Notch1*, las cuales son la causa principal de enfermedad valvular aortica con mineralización. Se sabe que el factor transcripcional *Notch1* regula la diferenciación osteogénica al reprimir a Runx2 (regulador crítico del desarrollo de osteoblastos) es uno de los causantes principales de la vía genética para el desarrollo de mineralización valvular aórtica (41, 42).

### 2.3 EPIDEMIOLOGIA DE LOS PADECIMIENTOS

La estenosis aórtica por mineralización es una de las valvulopatías cada vez con mayor prevalencia a nivel mundial, se calcula que la enfermedad de la válvula aórtica mineralizada es una afección prevalente en el 30% de las personas mayores de 65 años (43). En Estados Unidos, uno de los países con mayor desarrollo económico, esta enfermedad ocasiona alrededor de 50 mil cambios valvulares al año, siendo la indicación más habitual de cirugía cardiotorácica (32). También se ha visto que esta enfermedad es más prevalente en personas de género femenino, sin encontrar diferencias significativas entre población de etnicidad hispana, afroamericana o caucásica. En el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” en la Ciudad de México, se realizan aproximadamente 20 cirugías de cambio valvular aórtico cada mes por este tipo de afección, con un total aproximado de entre 150 y 230 cirugías al año, cifra que ha ido en aumento. Así mismo de esta cifra de cirugías realizadas cerca del 30 % de estos pacientes tienen como antecedente personal patológico Diabetes

Mellitus tipo 2, hecho que nos orienta a pensar nuevamente en que debido a la naturaleza proinflamatoria propia de esta afección los pacientes han desarrollado este tipo de valvulopatía (44).

## 2.4 FISIOPATOLOGÍA

La mineralización valvular aórtica es una enfermedad de un avance lento, debido a que la apertura de la válvula aórtica es de entre 3 a 4 cm<sup>2</sup> los individuos con un pequeño porcentaje de mineralización pueden permanecer sin presentar sintomatología en la mayor parte del desarrollo de la afección (45). La mineralización de la válvula aórtica sin un gradiente de velocidad de eyección anterógrada es una de las características de la esclerosis valvular inicial. Cuando la estenosis valvular aórtica se hace significativa hemodinámicamente termina con la obstrucción de la eyección ventricular izquierda, lo cual condiciona un gradiente de presión durante la sístole en el cual se aumenta la presión del ventrículo izquierdo (46). Esta sobrecarga ventricular lleva al desarrollo de hipertrofia concéntrica, incrementando el grosor de la pared ventricular, mecanismo compensatorio que lleva a cardiomegalia. Esta remodelación ventricular tiene la finalidad de conseguir durante un periodo más o menos prolongado un gasto cardiaco con un volumen telediastólico relativamente normales, a pesar de que se ha creado ya este gradiente de presión a través de la válvula aórtica. No obstante, a pesar de que se logra mantener el gasto cardiaco por un tiempo, las consecuencias del aumento del grosor cardiaco por cardiomegalia concéntrica resultan en un compromiso severo de la reserva coronaria, lo cual aumenta el riesgo de isquemia cardiaca e infarto por insuficiencia en la perfusión del tejido. A medida que progresa la estenosis aórtica y la hipertrofia ventricular disminuye la distensibilidad del ventrículo izquierdo, también se reduce el llenado diastólico aumentando la presión telediastólica, esto incluso aun cuando el ventrículo no ha presentado hipertrofia considerable. Esto repercute a su vez de manera retrógrada en la aurícula izquierda, cuyo trabajo es el llenado ventricular al final de la sístole

auricular. El aumento en la presión ventricular conlleva una dilatación auricular la cual desencadena una pérdida de contracción auricular efectiva, pudiendo esto precipitar un deterioro clínico súbito en algunos pacientes (2).

La alteración en la función diastólica de estos pacientes contribuye en la génesis de la sintomatología que puede perdurar incluso posterior a la liberación de la presión de la estenosis, debido a que se ha establecido fibrosis intersticial. Esto impacta con mayor severidad a los pacientes de la tercera edad que a pacientes más jóvenes, teniendo un empeoramiento clínico mucho más evidente incluso desde fases iniciales, sobre todo en pacientes de género femenino (1,2).

De mantenerse la hipertrofia del ventrículo izquierdo con su dilatación subsecuente se reduce la fracción de eyección como lo hemos comentado anteriormente, lo que finalmente lleva a insuficiencia cardíaca congestiva. Al disminuir el volumen por latido y el gasto cardíaco aumenta la presión auricular izquierda y la presión capilar pulmonar, esto favorece la aparición de hipertensión pulmonar.

Otro de los factores que apoya al deterioro de la función ventricular es una contracción descoordinada, que resulta de la existencia de disquinesias, fibrosis o isquemia subendocárdica.

Sin embargo, pese a este análisis, cerca de un 70% de los pacientes de la tercera edad con estenosis aórtica por mineralización presenta una fracción de eyección normal. El pronóstico de los pacientes que presentan disfunción diastólica es en general mejor que los pacientes que presentan disfunción sistólica.

Así mismo la sintomatología de los pacientes con estenosis aórtica y función sistólica ventricular normal no suelen presentarse hasta que el área valvular es menor a  $1\text{cm}^2$ , con un gradiente medio transvalvular mayor a 40 mmHg. Sin embargo, existe gran variabilidad entre cada paciente, pues muchos no desarrollan síntomas hasta que la estenosis valvular se hace aún más grave, y en otros en cambio el debut sintomático aparece con estenosis menos importantes si coexiste insuficiencia aórtica (2,47).



## 2.5 MANIFESTACIONES CLINICAS

Como se ha comentado previamente, los pacientes con estenosis aórtica por mineralización pueden permanecer asintomáticos durante un periodo de tiempo prolongado a pesar de la obstrucción y del aumento de presión en el ventrículo izquierdo. Hay una gran variabilidad entre los pacientes en lo referente al grado de obstrucción al flujo de salida del ventrículo izquierdo que causa la sintomatología. La aparición de síntomas depende en parte del nivel de actividad física que desarrolla cada paciente. El inicio de los síntomas es a menudo difícil de determinar en los pacientes de la tercera edad, ya que con frecuencia en esta edad se reduce la actividad física de manera significativa, o a consecuencia de enfermedades concomitantes, o como mecanismo de adaptación para evitar su aparición. Por tanto, se debe investigar de manera específica cualquier disminución en la capacidad de ejercicio. El deterioro cognitivo también puede dificultar una correcta valoración de la sintomatología (47).

Hay tres síntomas clásicos relacionados con la estenosis aórtica, que típicamente ocurren durante los esfuerzos:

- Disnea
- Sincope
- Mareos
- Angor pectoris

En estudios realizados en pacientes de la tercera edad con algún grado de estenosis aórtica, divididos en grupos según su gravedad, se observó que al menos uno de estos síntomas clásicos aparecía en el 90% de los pacientes con estenosis severa, en el 69% con estenosis moderada y en el 27% con estenosis leve.

La muerte súbita es una causa frecuente de fallecimiento en pacientes con sintomatología establecida, e incluso también en aproximadamente el 1% de los pacientes asintomáticos. El síntoma más común fue la disnea, generalmente de esfuerzo. No se debe perder de vista al momento de realizar un diagnóstico diferencial, que a este síntoma pueden contribuir también otras patologías

concomitantes muy frecuentes en la ancianidad, como las enfermedades pulmonares crónicas o la obesidad. En la aparición de la disnea y la insuficiencia cardiaca pueden contribuir dos factores: la disfunción diastólica, y una incapacidad del ventrículo izquierdo para aumentar el gasto cardiaco durante el ejercicio porque la rigidez de la válvula aortica obstruye el flujo como se comentó en el apartado de fisiopatología. Cabe mencionar que la disfunción sistólica del ventrículo izquierdo no es lo más frecuente. Una vez que se establece insuficiencia cardiaca franca, el paciente puede quejarse de fatigabilidad con mínimos esfuerzos, debilidad y otros signos y síntomas de bajo gasto cardiaco. En pacientes con una actividad física reducida, el cansancio, más que la disnea, puede ser, el indicador de mala tolerancia al esfuerzo. La fibrilación auricular puede presentarse llegando a ser amenazante para la vida en estenosis grave debido a que la pérdida de la contracción auricular y la taquicardia limitan el llenado diastólico ventricular. Los síntomas de mareo y sincope se relacionan con una perfusión cerebral insuficiente que podría explicarse por los siguientes mecanismos:

- La vasodilatación inducida con el ejercicio, en presencia de una obstrucción con gasto cardiaco fijo puede provocar hipotensión.
- La disminución del gasto cardiaco, en los casos de disfunción sistólica del ventrículo izquierdo.
- Durante los esfuerzos, o inmediatamente después de ellos, puede aparecer una bradiarritmia transitoria.
- Fallos en la respuesta barorreceptora, que impiden un aumento apropiado de la presión arterial en determinadas circunstancias.
- Aparición de arritmias, como la fibrilación auricular, siendo las arritmias ventriculares poco frecuentes.

La isquemia cerebral transitoria, en ancianos con enfermedad cerebrovascular concomitante, puede contribuir también a la aparición de estos síntomas.

El angor pectoris, o también conocido como angina de pecho de esfuerzo, ocurre aproximadamente en dos tercios de los pacientes con estenosis grave. La mitad de estos pacientes tienen enfermedad coronaria subyacente. En el resto de estos

pacientes la angina se debe a la hipertrofia del ventrículo izquierdo, que puede causar isquemia miocárdica por otros mecanismos (2,47):

- Incremento de la demanda de oxígeno por el ventrículo izquierdo, debido al aumento de la masa ventricular.
- Compresión de las arterias coronarias por la contracción prolongada y por la relajación miocárdica alterada.
- Reducción del tiempo de perfusión coronaria diastólica en caso de taquicardia.
- Reducción de la reserva de flujo coronario.

## 2.6 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de estenosis aórtica calcificada generalmente se sospecha si se detecta un soplo cardíaco de eyección sistólica; sin embargo, la evaluación clínicamente importante es generalmente si la estenosis aórtica es grave. La severidad de la estenosis aórtica se evalúa mediante evidencia de evaluación clínica, ecocardiografía, estudios Doppler y cateterismo cardíaco (2,47).

### 2.6.1 Evaluación Física

En pacientes de 60 años o mayores, muchos de los signos clínicos de estenosis aórtica, como el sonido de galope S4 y el parvo y pulsos tardíos son menos útiles para el diagnóstico debido a hallazgos asociados como hipertensión y rigidez arterial, que son comunes para este grupo de edad. Los tres signos que son más útiles en el diagnóstico de la estenosis aórtica severa son: soplo sistólico de pico tardío, causado por la apertura lenta de la válvula aórtica estenótica y que está completamente abierta en la sístole tardía; componente aórtico del segundo sonido cardíaco (A2) que aparece más tarde en la sístole, lo que da como resultado un único segundo sonido cardíaco o una división paradójica de S2 (esto puede ser muy suave y no oírse en absoluto); y un típico soplo de "arrullo" que,

aunque no es común, pero altamente específico (como dato curioso, este soplo es notablemente similar al canto de una golondrina y se describe como un sonido "musical" o tipo "gaviota"). El soplo de estenosis aórtica puede irradiarse al ápice del corazón (el fenómeno de Gallavardin) o en algunos casos solo puede oírse en el ápice y, por lo tanto, puede confundirse con el soplo de regurgitación mitral. Este diagnóstico erróneo es común en pacientes con insuficiencia cardíaca que representan aproximadamente el 20-25% de los pacientes de 60 años o mayores con estenosis aórtica por mineralización, ya que sus murmullos pueden ser muy suaves y solo se escuchan en el ápex cardiaco. El diagnóstico puede ser difícil en aproximadamente el 25% de los pacientes mayores de 60 años con estenosis aórtica con algún grado de insuficiencia cardíaca, también, debido a que muchos de este grupo de edad también tienen comorbilidades como hipertensión arterial sistémica y/o presentan fibrilación auricular. La mejor y más fácil prueba es la ecocardiografía para buscar mineralización valvular aórtica, ya que todos los pacientes con estenosis aórtica severa generalmente presentan mineralización valvular aórtica (47,48).

### 2.6.2 Estudios de gabinete

La ecocardiografía es la prueba de elección no invasiva que debe realizarse en todos los pacientes con sospecha de estenosis aórtica. Esta prueba no mide las presiones directamente; el gradiente es un valor derivado. El gradiente máximo generalmente ocurre en la sístole temprana cuando la válvula aórtica no está completamente abierta, que contrasta con el gradiente pico durante el cateterismo cardíaco, que generalmente ocurre en la sístole tardía cuando la estenosis aórtica está completamente abierta. Por lo tanto, el gradiente medio es más confiable. El gradiente durante el examen Doppler se mide a nivel de la válvula aórtica, mientras que durante el cateterismo cardíaco se mide alrededor de 2-3 cm por encima de la válvula aórtica después de que se ha producido la recuperación de la presión. Debe reconocerse, sin embargo, que no importa cómo se determine, el gradiente de la válvula aórtica depende del volumen sistólico (y no directamente del gasto cardíaco porque es una función por latido) y del tiempo de eyección

sistólica, que dependen de la precarga ventricular izquierda y poscarga, contractilidad miocárdica y presión sistólica aórtica. Por lo tanto, el gradiente de la válvula aórtica puede cambiar rápidamente. Los estudios de ecocardiografía y Doppler también proporcionan otra información muy útil, como el tamaño y la función del ventrículo izquierdo, si hay hipertensión pulmonar y la gravedad de otras valvulopatías medidas por la ecuación de continuidad. Algunos médicos consideran que, en la mayoría de los pacientes, la gravedad de la estenosis aórtica puede evaluarse de manera fiable mediante ecocardiografía Doppler y que las mediciones hemodinámicas directas solo son necesarias en situaciones en las que los hallazgos ecocardiográficos son inciertos o discordantes con la evaluación clínica.

Finalmente, en pacientes asintomáticos las guías de práctica clínica recomiendan que se debe realizar una ecocardiografía anualmente para los pacientes con estenosis grave, cada 1 o 2 años en pacientes con estenosis moderada, y de 3 a 5 años en pacientes con estenosis leve. El cateterismo cardiaco para medición del gradiente transvalvular se reserva para los raros casos en que la ecocardiografía no es diagnóstica, o cuando los datos clínicos y ecocardiográficos son discrepantes (49,50).

## 2.7 TRATAMIENTO

El tratamiento para los pacientes que presentan estenosis valvular aórtica de un grado clínico significativo se divide en dos:

- Tratamiento quirúrgico
- Tratamiento médico conservador.

### 2.7.1 Tratamiento quirúrgico

El tratamiento quirúrgico más convencionalmente utilizado es el reemplazo valvular aórtico por una válvula mecánica o una válvula de tejido porcino (51). Actualmente es un procedimiento relativamente frecuente que puede realizarse

en pacientes tanto jóvenes como de la tercera edad bajo indicaciones precisas como:

- Pacientes con estenosis aórtica grave con sintomatología marcada.
- Pacientes con Estenosis grave en los que se requiera un bypass coronario.
- Pacientes con estenosis aórtica grave que requieran una cirugía arterial aórtica o de alguna otra válvula.
- Pacientes con estenosis aórtica grave y con disfunción sistólica del ventrículo izquierdo (52).

### 2.7.2 Tratamiento médico conservador

De acuerdo con lo observado previamente en el que se analizaron las posibles causas que influyen en el desarrollo de la mineralización valvular aórtica, la fisiopatología de la enfermedad y el impacto de comorbilidades es posible deducir que algunos medicamentos que intervienen modulando negativamente la inflamación o las vías de diferenciación osteoblástica podrían ayudar a detener la progresión de la enfermedad y retrasar la aparición de estenosis o sintomatología relacionada (53). Algunos de esos medicamentos son:

- Estatinas: Debido a la relación estrecha entre el aumento de colesterol con el desarrollo de estenosis aórtica por mineralización, así como un estado inflamatorio crónico causado por la diabetes mellitus descontrolada, se ha observado que las estatinas pueden disminuir la progresión de la mineralización valvular y vascular, sin embargo, los mecanismos por los que esto sucede aún no están bien estudiados y su uso se reserva en pacientes con hipercolesterolemia y estenosis valvular (54).
- Medicamentos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA): Estudios recientes han implicado alteraciones del sistema renina-angiotensina-aldosterona, en particular de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), de la angiotensina II y del receptor de la angiotensina I, en la patogenia de la mineralización de la válvula aórtica, no presentes en las válvulas aórticas normales. La angiotensina II tiene numerosas

acciones, entre las que destacan el aumento de la expresión del factor quimiotáctico de los monocitos, la generación de un estado proinflamatorio, el acumulo de colesterol en los macrófagos, la reducción de la eficacia de la vía intrínseca fibrinolítica al disminuir la síntesis del inhibidor del activador del plasminógeno, el aumento del estrés oxidativo y el estímulo de la síntesis de proteoglucanos por parte de los fibroblastos (55). La concentración de angiotensina II está aumentada en las lesiones de la estenosis valvular aórtica por mineralización, y se discute si la ECA proviene de los macrófagos del núcleo de la lesión aórtica o bien la transportan las LDL (posible asociación con el uso de estatinas para este tratamiento) y se libera en las lesiones aórticas. La presencia de ECA en las LDL plasmáticas y la estrecha correlación entre su contenido de Apo B y de ECA apoya la hipótesis, al menos en parte, del transporte de esta por parte de las LDL. Las células cebadas también están implicadas en este proceso, ya que la cimasa contenida en sus gránulos es otro precursor de la angiotensina II. En resumen, las potenciales fuentes de angiotensina II en la lesión de la enfermedad de la válvula aórtica mineralizada son los macrófagos, las LDL y las células cebadas. Las células musculares lisas expresan constitutivamente receptores para angiotensina I, mientras que en las lesiones de la estenosis aórtica por mineralización solo los fibroblastos expresan receptores para angiotensina. Así, a diferencia de la aterosclerosis, donde la angiotensina II puede afectar a las células musculares lisas normales no implicadas en la placa, los fibroblastos de las lesiones valvulares en la estenosis aórtica por mineralización pueden estar protegidos de la acción de la angiotensina II hasta que expresan receptores de angiotensina I en los estadios precoces de la lesión. Se ha referido una fuerte asociación entre la administración de ECA y la disminución de la progresión de la calcificación (no de la reducción de calcio en las lesiones aórticas) y de la esclerosis aórtica (56).

## 2.8 PRONÓSTICO

El pronóstico de los pacientes postoperados de reemplazo valvular aórtico depende en gran medida de su edad, gravedad de la estenosis, comorbilidades, así como de la situación cardiológica previa a la cirugía (57).

Además de los modificadores mencionados anteriormente existen algunos otros factores de mal pronóstico que mencionaremos a continuación:

- Edad avanzada (Mayores de 65 años) (58).
- Presencia de 2 o más comorbilidades.
- Daño miocárdico irreversible.
- Hipertrofia severa del ventrículo izquierdo.
- Presencia de arritmia ventricular.
- Enfermedad coronaria sin tratamiento adecuado.
- Estenosis aórtica severa.

La expectativa de vida de pacientes mayores de 65 años que han sido sometidos a una cirugía de reemplazo valvular según estudios es de alrededor de 7 a 8 años, siendo las causas de muerte más frecuentes (59):

- Infarto agudo de miocardio.
- Accidente vascular cerebral.
- Cáncer.
- Falla pulmonar.
- Otras.

Habiendo analizado el panorama completo, observando los resultados de una intervención quirúrgica en una etapa temprana de la enfermedad y considerando que el resultado de las opciones no quirúrgicas es muy pobre, el reemplazo valvular aórtico es el tratamiento más eficaz para todos los grupos de edad para la estenosis aórtica. Entendiendo que la cirugía no debe negarse para adultos mayores solo influido por el factor de la vejez, ya que el reemplazo valvular aórtico convencional proporciona una excelente calidad de vida y mejora la esperanza de vida en pacientes jóvenes y adultos mayores. Así mismo, la implantación de la



válvula percutánea debe considerarse en los casos de pacientes no operables o de alto riesgo, sin embargo, hasta la fecha, la cirugía a corazón abierto sigue siendo el tratamiento de elección para la estenosis aórtica en la gran mayoría de los pacientes (60).

## 2.9 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO CON ESPECTROMETRO DE ENERGÍA DISPERSADA DE RAYOS X

La microscopía es una de las herramientas más útiles y aprovechables para realizar la observación de materiales diminutos que, de otra manera, no podrían ser analizados (61). Como lo hemos visto en el apartado de diagnóstico de esta tesis, la condición de estenosis valvular del paciente puede analizarse mediante la ecocardiografía, sin embargo, aunque es un método no invasivo y eficaz, no nos permite conocer el grado de mineralización de una válvula dañada y está mucho más enfocado en el estado funcional al momento de realizar el análisis de dichas estructuras, entre otras. Por lo antes mencionado es fundamental la obtención de una muestra de tejido valvular extraído mediante cirugía de reemplazo valvular para ser estudiada ex vivo, mediante microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés “Scanning Electron microscope”), y a que este al ser un método cuantitativo nos permite realizar una determinación de los componentes biológicos acumulados en las válvulas (62). Las imágenes obtenidas mediante SEM son generadas a partir de un haz de electrones (sonda) orientados hacia el objeto de estudio, el cual al ser impactado generará electrones secundarios, electrones elásticos, Rayos X y catodoluminiscencia, los cuales serán recibidos por un detector y posteriormente analizados para determinar las estructuras impactadas, teniendo una capacidad de visualización de hasta 1 $\mu$ m, obteniendo también un análisis cuantitativo de la composición química de los materiales inorgánicos depositados en la válvula aórtica analizada en un rango de hasta 50 ppm (63).

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hemos observado que las enfermedades que predisponen a un estado constante de inflamación generalizada, tal como la Diabetes Mellitus Tipo II se han incrementado considerablemente en los últimos años, tras analizar las estadísticas nacionales (8,64). Así mismo, tenemos ampliamente documentado que este padecimiento con algún grado de descontrol predispone al aumento en la mineralización de las válvulas aórticas nativas de la población internacional que se ha sometido a estudios de esta índole (16,65). Por lo que, sería importante analizar si en el contexto de la población mexicana, dadas las costumbres, modos de vida, genética poblacional, migración y multiculturalidad presentes en el país, existe una tendencia hacia el desarrollo de mineralización valvular aórtica similar al que se observa en los resultados obtenidos de protocolos internacionales sobre este tema (38).

### 4. JUSTIFICACION

La importancia del entendimiento de la enfermedad de la válvula aórtica mineralizada (EVAM), parte del hecho de que las enfermedades cardiovasculares ocupan el primer lugar de causas de defunción en el país, de acuerdo con los datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), el 23.5 % de las defunciones fueron registradas por esta causa. Así mismo, el 15.7 % del total fueron ocasionadas por diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y alguna de sus complicaciones (66). Tomando en cuenta que diversas enfermedades cardiovasculares son complicaciones de la DM2, debemos pensar en que el riesgo de muerte al padecer ambas aumenta en estos pacientes de no ser atendidos de manera correcta y adecuada (67,68).

De acuerdo con los estudios previos, actualmente resulta innegable que la inflamación crónica es una causa franca de depósito de minerales en el tejido

valvular cardíaco, por lo que, en presencia de DM2, los pacientes mayormente en descontrol son una población vulnerable para el desarrollo de mineralización valvular de algún grado, lo que conlleva al desarrollo de EVAM, estenosis aórtica, insuficiencia cardíaca y muerte, en último término.

El Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” es un hospital de concentración de tercer nivel en el que se registran al menos 200 cirugías de reemplazo valvular al año por estenosis a causa de mineralización, siendo cerca del 60% de estos, pacientes con DM2 y algunos en descontrol, de acuerdo con los censos hospitalarios de 2015 a 2017.

La importancia de este estudio recae en la necesidad de una mayor comprensión sobre la existencia de una tendencia hacia la mineralización valvular aórtica de pacientes mexicanos con DM2 en descontrol, ya que esto podría desarrollar a futuro estudios sobre cultura de prevención, detección y diagnóstico oportuno, así como tratamientos menos agresivos, beneficiando a pacientes y médicos mexicanos.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Identificar el grado de tendencia al desarrollo de mineralización valvular aórtica en pacientes con y sin diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2, con y sin descontrol glucémico, basándonos en el porcentaje de calcio y mineralización total presente en muestras de este tejido nativo, recolectadas durante cirugía de reemplazo valvular en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”.

### 5.2 Objetivos específicos

1. Determinar con el uso de microscopía electrónica de barrido las características y concentraciones de minerales presentes en las

válvulas aórticas de los pacientes con y sin diagnóstico de DM2 en control y descontrol glucémico.

2. Desarrollar una técnica para la determinación del porcentaje de área valvular mineralizada obtenida de las imágenes de microscopía electrónica de barrido utilizando el software ImageJ v1.5b.
3. Determinar el porcentaje de área valvular mineralizada utilizando software ImageJ v1.5b para convertir la imagen en datos cuantificables.
4. Determinar si existe una tendencia al desarrollo de mineralización valvular aórtica de los pacientes evaluados en este estudio.

## 6. MATERIALES Y METODOS.

### 6.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio transversal, observacional, analítico y descriptivo.

### 6.2 Universo de estudio

El universo de este estudio se refiere a todos aquellos pacientes valorados y con expediente relacionado a estenosis valvular aórtica, los cuales fueron sometidos a cirugía de reemplazo valvular en el servicio de Cirugía Cardiovascular del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” de 2015 a 2017.

### 6.3 Población de estudio

Se realizó el análisis de tejido valvular aórtico de pacientes que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión del universo de estudio en el periodo de 2015 a 2017. Dicho tejido fue recabado del servicio de Cirugía Cardiovascular del Instituto

Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” y llevado al laboratorio de trombólisis y fibrinólisis del departamento de investigación para su procesamiento y análisis.

#### 6.4 Tamaño de la muestra

Se eligió al cien por ciento de la población incluíble del periodo de 2015 a 2017, de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Se realizó un estudio piloto, debido a que para completarse evitando sesgos, en tiempo y forma, se debió excluir casi al 90% de los pacientes con estenosis aórtica que fueron sometidos a cirugía de reemplazo valvular en el periodo antes mencionado, ya que la mayoría de los casos cumplía alguno de los criterios de exclusión. La mayor problemática al determinar el tamaño de la muestra fue evitar un sesgo en el análisis, producido por causas francas de mineralización que no fueran la inflamación crónica producida por la DM2.

#### 6.5 Descripción de las variables

Las variables que se utilizaron para el análisis de esta tesis fueron las siguientes: características demográficas del paciente, edad y género, antecedentes personales patológicos de diagnóstico de DM2 en control y descontrol (parámetros definidos de acuerdo con los criterios establecidos por la Asociación Americana de Diabetes [ADA]), porcentaje de mineralización valvular y concentración de calcio valvular (69).

#### 6.6 Definición de las variables

##### 6.6.1 Variables independientes

Edad: Edad registrada en el expediente del paciente en años cumplidos a la fecha de este estudio. Escala de medición cuantitativa discreta.

Género: El género de los pacientes será dividido en masculino y femenino y analizado para determinar factores de riesgo. Escala de medición cualitativa dicotómica.

Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2): Anteriormente conocida como "diabetes no dependiente de insulina" o "diabetes de inicio en la edad adulta", representa del 90 al 95% de todos los casos de diabetes. Esta forma incluye a los individuos que tienen una deficiencia de insulina relativa (en lugar de absoluta) y que tienen resistencia a la insulina periférica. Al menos inicialmente, y a menudo a lo largo de su vida, es posible que estas personas no necesiten tratamiento con insulina para sobrevivir (texto tomado de ADA, "Diabetes Care" Volumen 43, Suplemento 1, enero 2020). El diagnóstico y control de la DM2 se realiza de acuerdo con los parámetros de la ADA, considerando como diagnóstico una cifra de glucosa capilar en ayuno  $\geq 126$  mg/dL, tomando toda cifra por encima de esta como descontrol glucémico (69,70). Esta variable será medida como:

- Diagnóstico de DM2: Escala de medición cualitativa dicotómica (Si, No)
- Descontrol glucémico: Escala de medición cualitativa dicotómica (Si, No)
- Glucosa en ayuno: Escala de medición cuantitativa continua.

### 6.6.2 Variables dependientes

Mineralización valvular aórtica: porcentaje de acumulación de minerales diversos en la válvula, los cuales serán observados por medio de microscopía electrónica de barrido por espectrometría dispersada de rayos X y posteriormente determinando el área valvular completa y el área de mineralización mediante el análisis con el software imageJ (71). Escala de medición cuantitativa continua.

Concentración de Calcio valvular: Cantidad de mineral calcio depositado en la válvula aórtica detectado mediante microscopía electrónica de barrido por

espectrometría dispersada de rayos X (71). Escala de medición cuantitativa continua

### 6.7 Criterios de inclusión

Se incluyó a todos los pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y sin diabetes mellitus con factores de riesgo para mineralización valvular que sean programados para realización de reemplazo valvular aórtico en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” en el periodo de 2015 a 2017. Todos los pacientes debieron aceptar el consentimiento informado para participar en el estudio y la inclusión de sus datos tomados del expediente clínico.

### 6.8 Criterios de exclusión

De los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión no fueron contemplados en este estudio aquellos pacientes que cumplieran con alguno de los siguientes criterios de exclusión:

- Pacientes con insuficiencia renal crónica.
- Pacientes con valvulopatías congénitas.
- Pacientes sometidos a reemplazo valvular aórtico por cardiopatía reumática.
- Pacientes con diagnóstico de enfermedad infectocontagiosa o de transmisión sexual al momento del estudio.
- Pacientes con historia de enfermedad tiroidea o paratiroidea al momento del estudio.
- Pacientes con consumo de drogas o estupefacientes que propicien reacciones inflamatorias al momento del estudio.
- Pacientes con historia previa de cáncer.
- Pacientes embarazadas al momento del estudio.
- Pacientes con trastornos psiquiátricos.

- Ningún paciente será excluido por algún tratamiento

## 6.9 Procesamiento de las muestras

### 6.9.1 Muestras de tejido y conservación.

Las muestras de válvulas aórticas que se obtuvieron de cirugía se procesan lavándose con agua inyectable para retirar los restos de sangre y partículas externas a la válvula, conservándose en 1ml de formol al 10% y en congelación a -20 °C en el laboratorio de Trombosis y Fibrinólisis del Departamento de investigación del Instituto Nacional De Cardiología “Ignacio Chávez”. Posteriormente para trasladar las muestras al Instituto de Geofísica de la UNAM, se procede a descongelarlas durante 24 horas a temperatura ambiente y se realiza una sección usando una hoja de bisturí del #20. Las muestras se recubren con grafito para poder visualizar el tipo de minerales depositados y la morfología de la válvula, todo esto haciendo uso del microscopio electrónico de barrido marca Zeiss, modelo EVO MA10 del Instituto de Geofísica. Los resultados se entregan en un archivo grabado en un disco CD donde se contiene la información de la presencia cuantitativa de cada mineral y la morfología observada a 230X de cada válvula (72). Como se muestra en la Imagen 1.



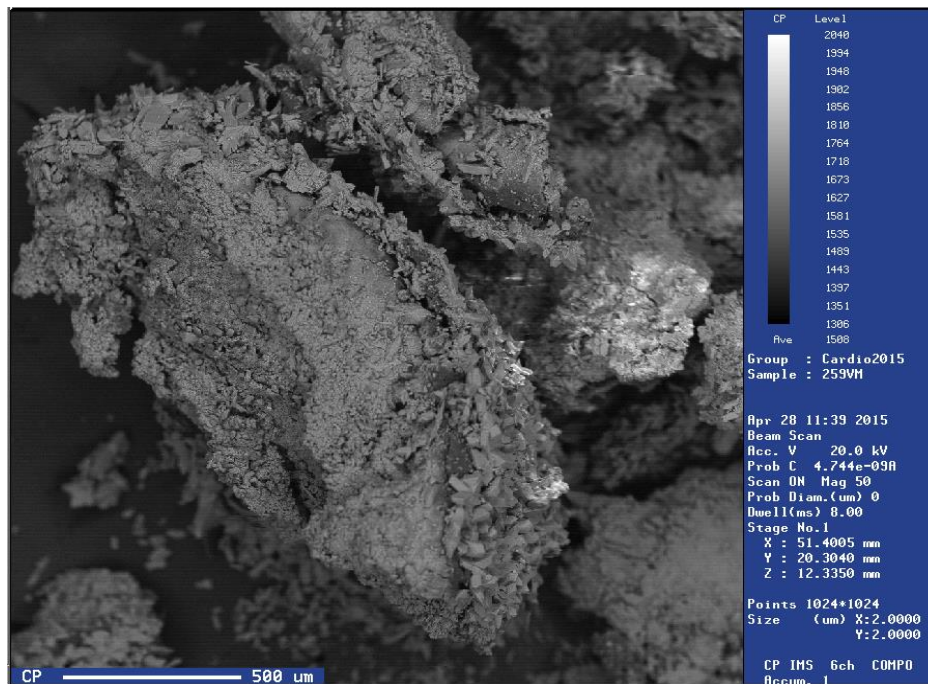


Imagen 1: Resultado de la visualización de una válvula aórtica en microscopía electrónica de barrido.

### 6.9.2 Análisis de imágenes y procesamiento de datos

Las imágenes que fueron obtenidas de la observación por microscopía de barrido se analizaron al 100% haciendo uso del software "Image J", en el que el autor de este estudio desarrolló la siguiente técnica específica:

1. Se abre la imagen (file-open, o con el comando ctrl+O).
2. Se selecciona el formato de imagen en RGB (Image-Type-RGB Color)
3. Se Ajusta la escala de medición (Analyze-set scale), usando la herramienta "straight" (línea recta) seleccionando la línea de escala incluida en la imagen de la válvula, introduciendo el valor de distancia de la escala en la opción "know distance" (distancia conocida) y establecer las unidades de medición (ej.  $\mu\text{m}$ ) (imagen 2).

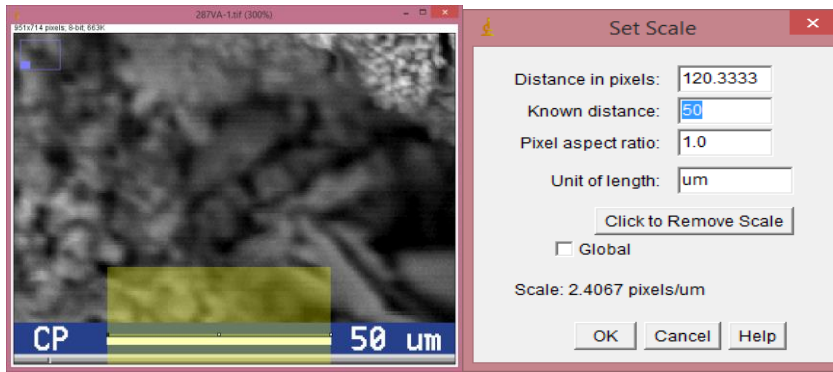


Imagen 2. Ajuste de escala de medición.

4. Se corta la imagen de la válvula para analizar al 100% descartando la barra de escala y los datos de fecha y escala de grises en la imagen, descartar también las imágenes borrosas de segundo plano. Usar la herramienta de selección rectangular para las escalas y usar la opción "crop" (cortar) (image-crop, o usar el comando ctrl+mayus+X). posteriormente usar la herramienta de "free hand selection" (selección libre) o "polygon" (polígono) para seleccionar las áreas de segundo plano a descartar y usar la tecla "back space" (borrar) para eliminar en negro los espacios que no serán analizados por el programa (Imagen 3).

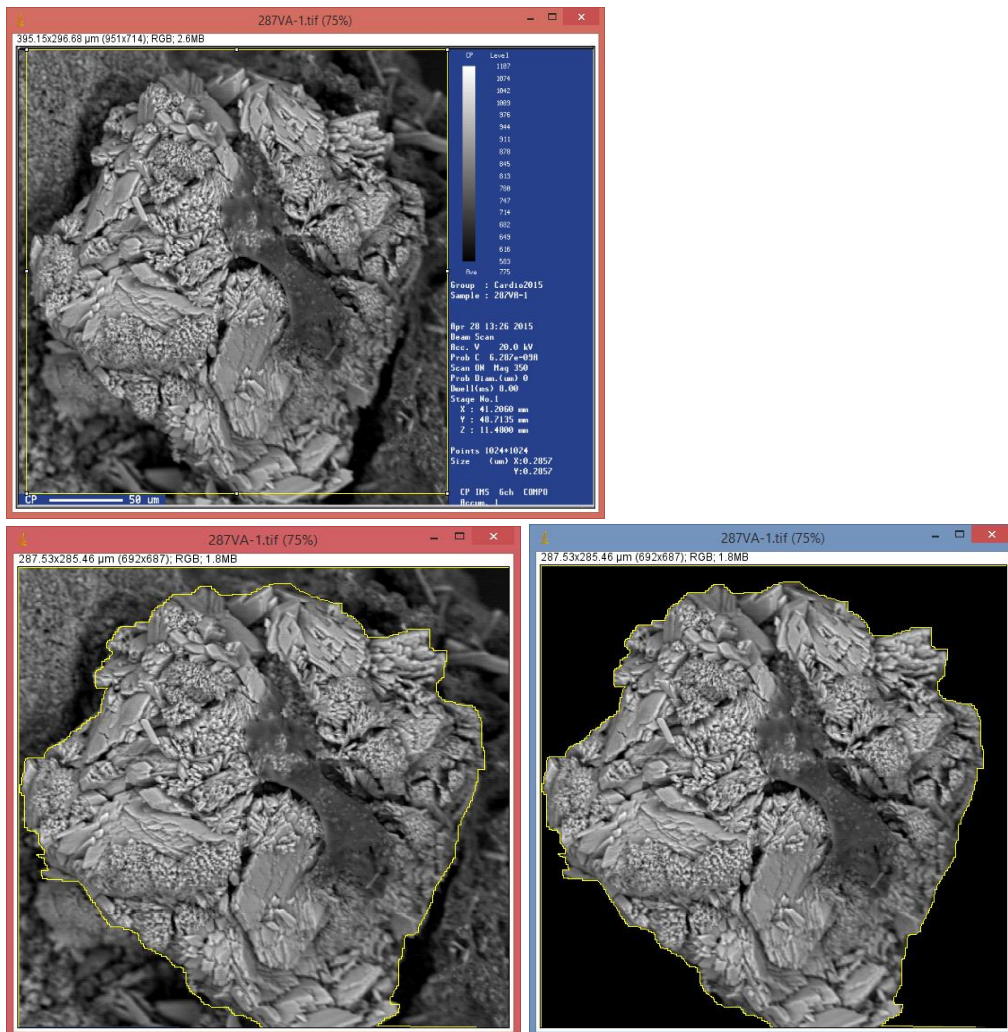


Imagen 3. Recorte y selección de la imagen a utilizar.

5. Abrir la herramienta de “treshold color” (umbral de color) (image-adjust-color treshold) y seleccionar la opción “default” (opciones por defecto) en la barra de “tresholding method”, luego en treshold color seleccionar “red” (rojo) y por ultimo en color space la opción “HSB”. Debe estar seleccionada automaticamente la casilla de “dark background” (fondo oscuro). Cuidando que esta ventana no se cierre (Imagen 4).

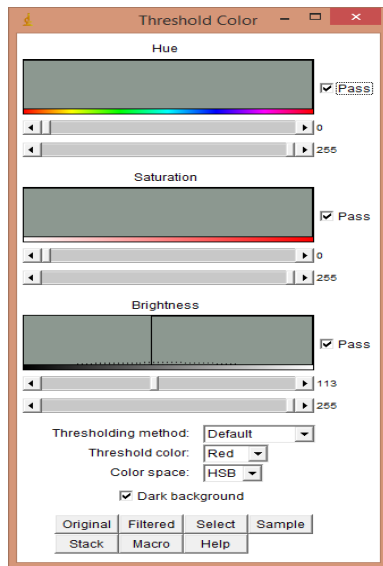


Imagen 4. Ajuste del umbral del color.

6. Ajustar la barra “brightness” (brillo) al mínimo o hacia la izquierda alrededor del valor “5” en la barra superior de tal manera que la imagen valvular completa se torne roja para determinar el área total valvular y seleccionar la opción “select” (selección) para determinar el área. Posteriormente se usa la herramienta “measure” (medir) (analyze-measure, o el comando ctrl+M), esto abrirá una ventana donde se mostrará el área de la válvula seleccionada como 100%.

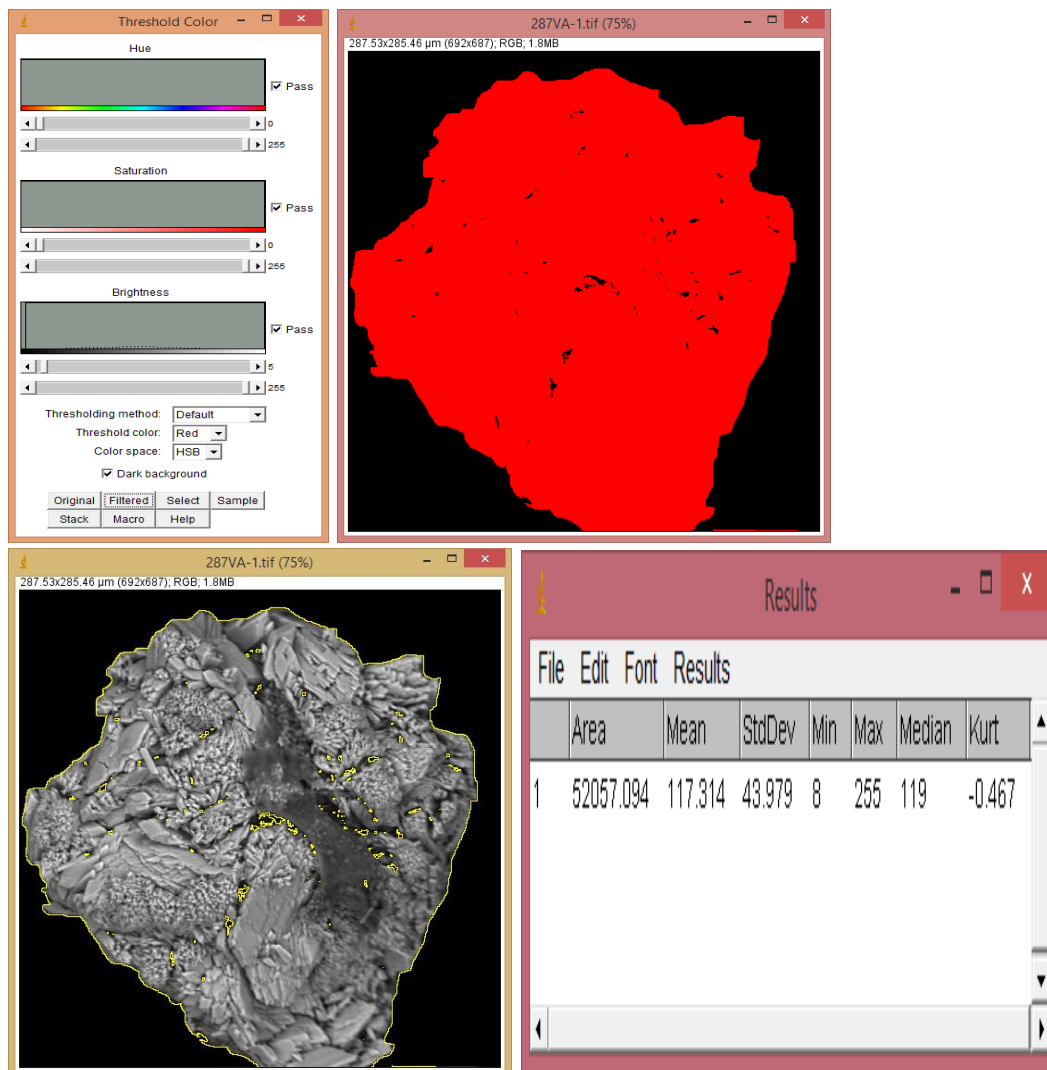


Imagen 5. Ajuste del brillo y medida del área seleccionada.

- Usando nuevamente la ventana de “color treshold” se ajusta el color rojo moviendo la barra superior de tal manera que se seleccione el area mineralizada visualmente. Se puede comparar el area filtrada en rojo con la imagen original con la opcion de “filtered” (filtrada) en la parte inferior de la ventana de “color treshold” (Imagen 6). Una vez seleccionada el área mineralizada usando la opcion de “select” al igual que en el total del área mineralizada, se abre la herramienta “analyze particles” (análisis de partículas) (analyze-analyze particles), la cual abrirá una ventana con 12 opciones en la que se incluye la opcion “size ( $\mu\text{m}^2$ )” con la que podremos establecer un tamaño mínimo para el area de selección de cada partícula a seleccionar (generalmente esta opcion deberá permanecer en cero, sin embargo, si aparecen miles de partículas diminutas que no representen area mineralizada podrá establecerse un tamaño mínimo para la selección desde 100 a 500  $\mu\text{m}$ -infinity, con lo que generalmente basta para eliminar

automaticamente partículas diminutas) (Imagen 7), se selecciona “OK” y se abrirá una nueva ventana de título ROI Manager, se seleccionan todas las mediciones y se oprime la opción “measure” (medir) en la misma ventana, esto arrojará las medidas de cada área mineralizada seleccionada (Imagen 8).

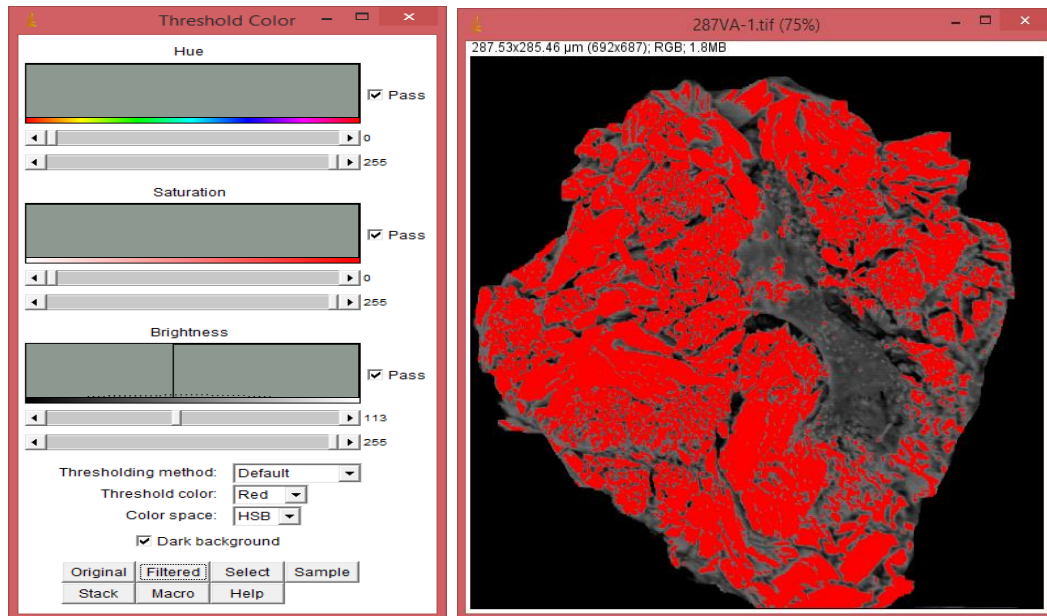


Imagen 6. Ajuste del contorno del área mineralizada.



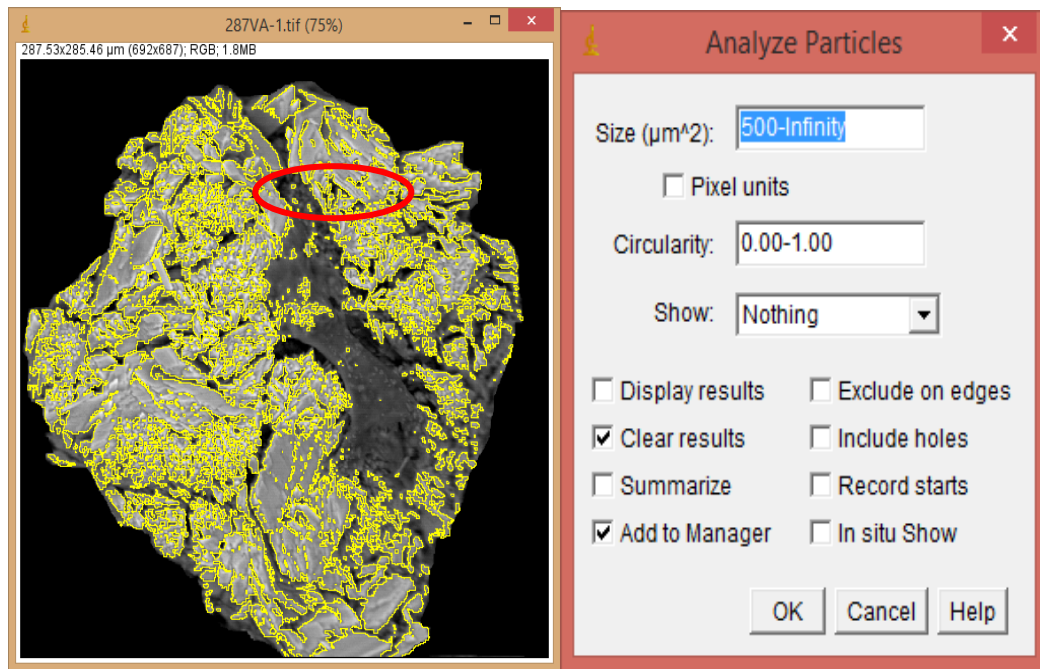


Imagen 7. Determinación del área mínima de las selecciones a medir.

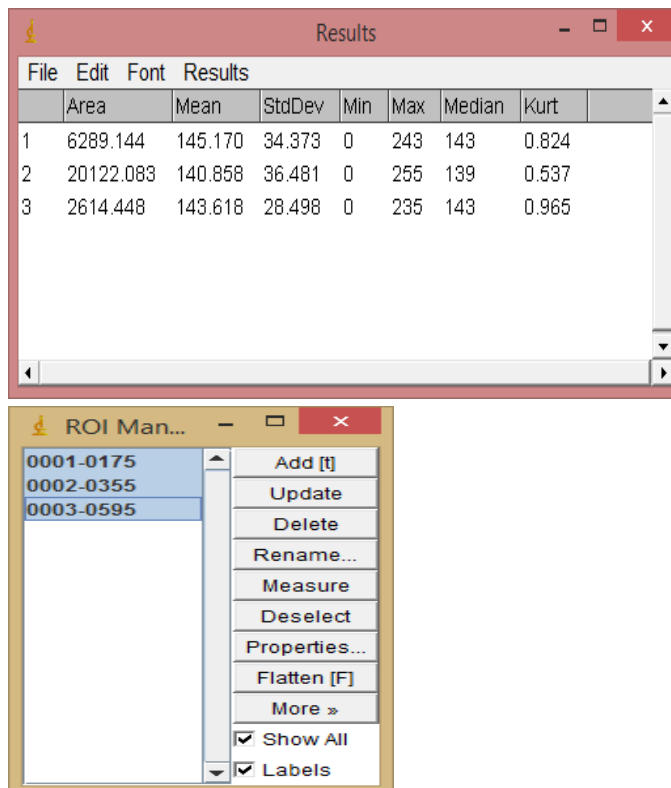


Imagen 8. Análisis y medición del área mineralizada seleccionada.

## 6.10 Procedencia de la información

Toda la información de la población incluida en el estudio fue obtenida de los expedientes clínicos electrónicos del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” y procesada en las computadoras del laboratorio de Trombosis y Fibrinólisis de este haciendo uso del Software SPSS. La información del análisis de microscopía de las muestras de válvulas aórticas obtenidas de cirugía fue proporcionada por el Instituto de Geofísica de la UNAM.

## 6.11 Análisis estadístico

Los datos se expresaron como mediana y rangos intercuartílicos (IQR) como medidas de tendencia central y dispersión para los datos con libre distribución; y como media y distribución estándar (DE) para los datos con distribución normal. Se realizó la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la conformidad con una distribución normal de las variables cuantitativas, la prueba de Levene para determinar homogeneidad de varianzas, mientras que las variables cualitativas se expresaron en porcentajes.

Se realizó la determinación de correlación de las variables dependientes de porcentaje de mineralización y calcio valvular con relación a las independientes cuantitativas edad y glucosa en ayuno, utilizando los coeficientes de correlación de Pearson o Spearman, según la distribución de los datos, graficando los resultados obtenidos. Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $P < 0,05$  en los resultados.

Se utilizó la prueba T de Student para comparar las medias de las variables con distribución normal entre dos grupos y la prueba de U de Mann-Whitney para comparar las medianas de las variables con libre distribución entre dos grupos, considerando como las variables dependientes el porcentaje de mineralización valvular y el porcentaje de calcio valvular; y como variables independientes el género, los pacientes con diabetes mellitus tipo 2, diabetes mellitus tipo 2



controlada y descontrolada, considerando como estadísticamente significativo un valor de  $P < 0.05$ . Los datos comparados también fueron graficados.

Se utilizó para el análisis estadístico el programa SPSS, versión 25 para Windows.

### 6.12 Aspectos éticos de la tesis

El presente estudio cumplió con la evaluación realizada por el Comité Científico de la Facultad de Medicina, UNAM, paralelamente con el Comité Científico del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” quienes determinaron que el estudio cumple con las normas éticas establecidas por la Ley General de Salud, la Declaración de Helsinki, la Declaración Universal sobre el Genoma y los Derechos Humanos y el Reglamento de la Ley General en Salud en materia de la Investigación para la Salud.

### 6.13 Recursos utilizados en el estudio

El presente estudio no requirió apoyo económico externo ya que se realizó con los recursos proporcionados por el laboratorio de Trombosis y Fibrinólisis, tales como recipientes para las muestras, agua inyectable, formol al 10%, hojas de bisturí del #20, refrigerador, computadora con el software necesario, discos CD, impresora y hojas blancas. Los recursos humanos estuvieron constituidos por el autor del presente trabajo, en conjunto con médicos pasantes del servicio social y residentes de cirugía cardiovascular del Instituto Nacional de Cardiología.

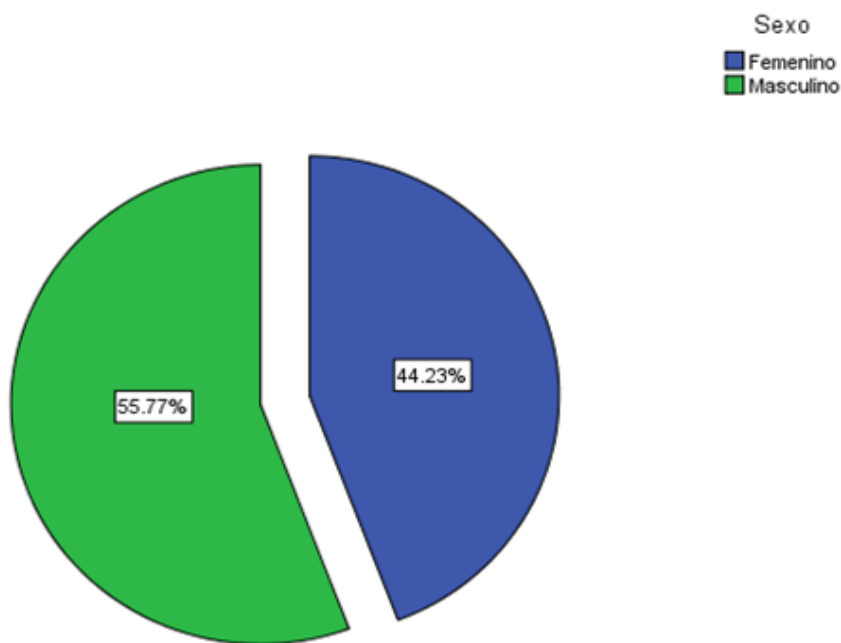
## 7. RESULTADOS

Se ingresaron a este estudio un total de 52 pacientes de los cuales 29 pacientes fueron de género masculino y 23 de género femenino. Un total de 48 pacientes

reclutados se consideraron dentro de un grupo etario menor de 70 años, mientras que 7 se consideraron dentro del grupo etario de 70 y más años. 15 pacientes se encontraban con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 al momento del estudio, de los cuales el análisis demostró que, 23 pacientes tuvieron niveles de glucosa en ayuno considerados dentro del grupo en descontrol, mientras que 29 pacientes se clasificaron dentro del grupo con glucosas en ayuno en control. Las características basales de los pacientes agrupados con DM y no DM se muestran en la tabla 1.

Se determinó que un 55.7 % de la población pertenece al género masculino y el 44.2 al femenino tal como se puede visualizar en la gráfica 1.

**Gráfica 1. Distribución de género**

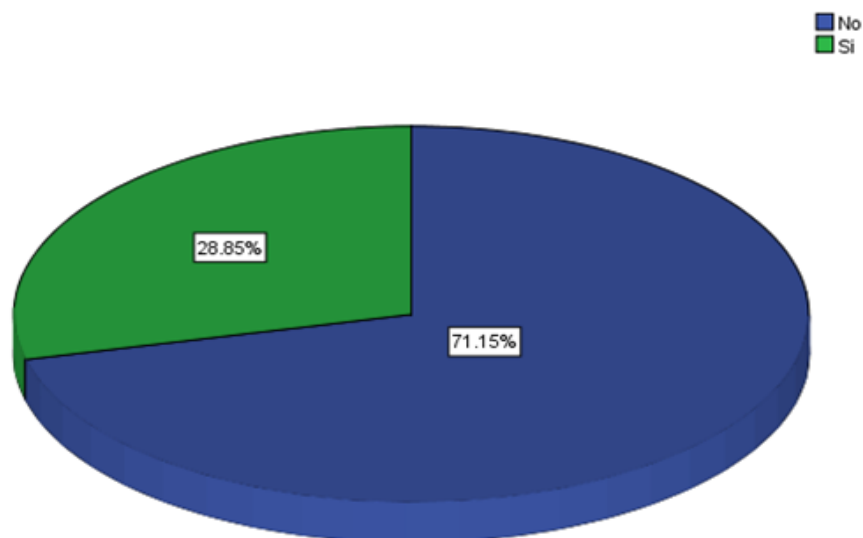


*La gráfica indica la distribución en porcentaje del género de los pacientes.*

Se determinó que solamente el 28.8 % de los pacientes contaban con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 al momento del estudio, mientras que el 71.1 % no contaban con este diagnóstico, es decir, la mayoría de los pacientes no estaban

diagnosticados y por este motivo no contaban con tratamiento específico para diabetes al momento del estudio. Tal como se muestra en la gráfica 2.

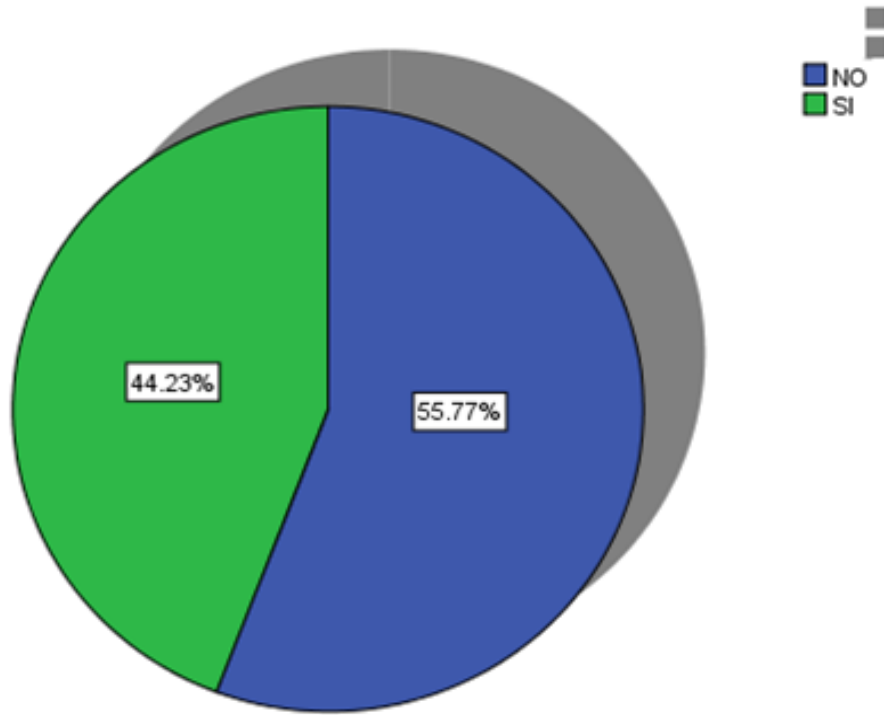
**Diabetes**  
**Gráfica 2. Pacientes con diagnóstico de DM2**



*La gráfica muestra los pacientes diagnosticados con DM2*

Se encontró que 44.2 % de los pacientes cursaban con descontrol glucémico al momento del estudio. Este hallazgo no estuvo relacionado al diagnóstico de DM2, por lo que cerca del 50 % de los pacientes contaban con algún grado de descontrol glucémico en el transcurso de este estudio, lo que indica que el mayor porcentaje de esta población desconoce su estado glucémico a expensas de un diagnóstico no realizado. Tal como se muestra en la gráfica 3.

**Gráfica 3. Pacientes con descontrol glucémico**



*La gráfica muestra los pacientes con descontrol glucémico con y sin DM2*

<b>Tabla 1. Características basales de los pacientes con (DM) y sin (no DM) Diabetes Mellitus</b>			
	DM2 (n=15)	No DM2 (n=37)	Valor P
<b>Edad (años)</b>	63.6±4.68	48.78±18.74	NS
<b>Género Masculino n (%)</b>	6 (55.8)	23 (62.17)	NS
<b>Género Femenino n (%)</b>	9 (44.2)	14 (37.83)	NS
<b>IMC (kgm<sup>2</sup>)</b>	27.54 (5.95)	26.7 (4.37)	0.02
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	146.94 (102.34)	105.9 (64.77)	0.01
<b>Descontrol diabético n (%)</b>	9 (60)	14 (37.83)	NS
<b>Tratamiento con insulina n (%)</b>	8 (53.33)	0 (0)	NS

<b>MVAo (%)</b>	45.28 (47.87)	3.68 (46.83)	0.02
<b>Ca Valvular (%)</b>	41.37±20.85	32.42±20.95	NS

Los datos se presentan como media ± DE, mediana (IQR) o número (porcentaje).  
MVAo: mineralización valvular aórtica.

Al realizar el análisis de normalidad utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov se concluye que los parámetros de índice de masa corporal (MC), glucosa y porcentaje de mineralización valvular aórtica cuentan con significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ), por lo que se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que los datos se consideran con libre distribución, el resto de los parámetros no cuentan con significancia estadística, lo que cumple la hipótesis nula y los datos se consideran con distribución normal. Los resultados de la prueba se pueden observar en la tabla 2.

<b>Tabla 2. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar normalidad</b>						
		<b>Edad</b>	<b>IMC</b>	<b>Glucosa</b>	<b>Ca</b>	<b>% MVAo</b>
<b>N</b>		52	52	52	52	52
<b>Parámetros normales</b>	<b>Media</b>	53.06	25.64	140.15	34.61	28.47
	<b>DE</b>	17.16	5.96	62.16	21.14	28.32
<b>Z de Kolmogorov-Smirnov</b>		1.14	1.45	1.53	0.66	1.49
<b>Significancia asintótica. (bilateral)</b>		<b>0.14</b>	<b>0.02</b>	<b>0.01</b>	<b>0.77</b>	<b>0.02</b>

Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$

IMC: índice de masa corporal, Ca: porcentaje de calcio valvular aórtico, %MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica, DE: desviación estándar.

Al realizar la prueba de Levene para determinar la homogeneidad de varianzas podemos observar que solamente la variable de edad cuenta con significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ), por lo que podemos determinar que sus varianzas son

heterogéneas, habiendo en el resto de las variables una homocedasticidad, tal como se muestra en la tabla 3.

<b>Tabla 3. Prueba de Levene para determinar homocedasticidad</b>		
	Estadístico de Levene	Sig.
%MVAo	2.60	<b>0.11</b>
Edad	7.54	<b>0.00</b>
%CaVAo	1.24	<b>0.27</b>
Glucosa	0.01	<b>0.90</b>
Género	0.03	<b>0.84</b>
Descontrol glucémico	1.24	<b>0.26</b>
Diabetes	24.06	<b>0.61</b>

*Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$   
 %MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica.  
 %CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico*

### **Mineralización valvular aórtica**

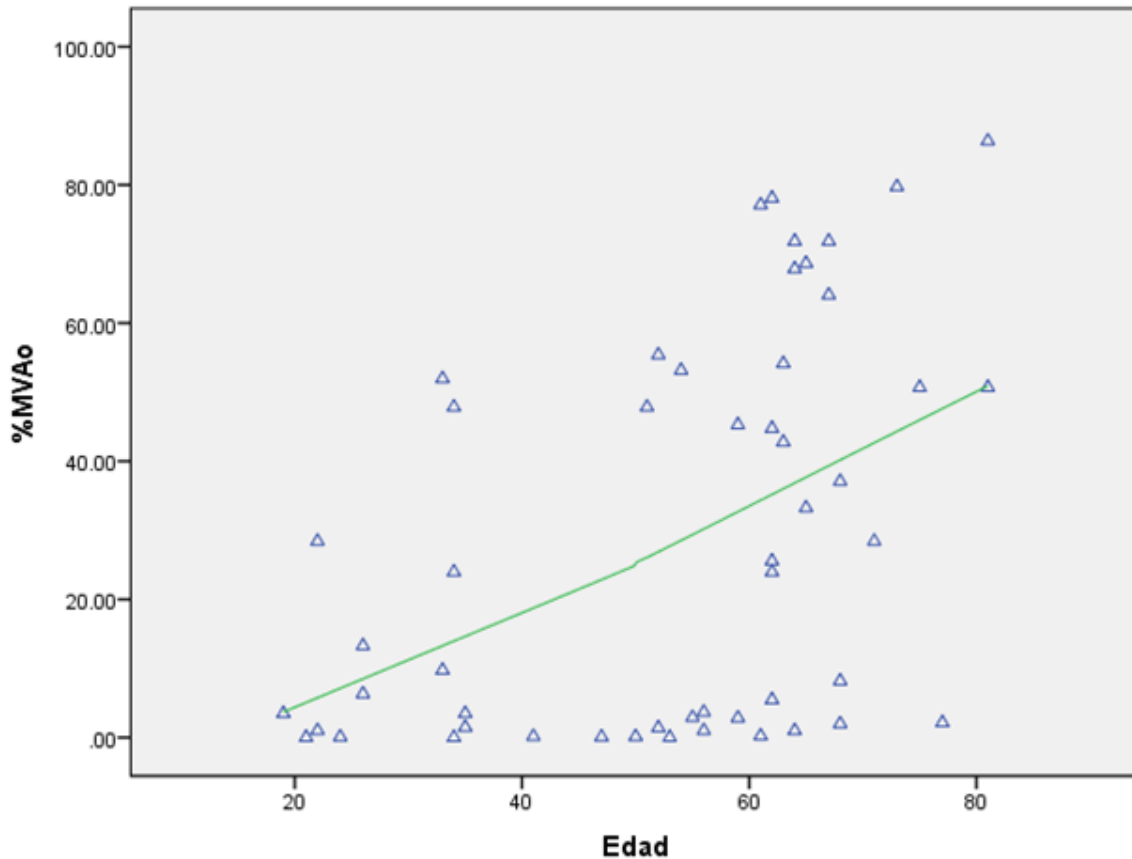
Se realizó la correlación entre la mineralización valvular aórtica por edad de los pacientes incluidos en el estudio, obteniendo una significancia estadística positiva ( $P=0.00$ ) con un coeficiente de correlación de fuerza media ( $CC=0.47$ ) de acuerdo con la ecuación de Spearman, ya que los datos se encuentran en libre distribución. Por lo que se determinó que existe una correlación positiva entre el incremento en la mineralización valvular aórtica y una edad avanzada tal como lo podemos ver en la tabla 4. Así mismo podemos observar en el gráfico de dispersión que los pacientes con mayor edad tienen una tendencia al desarrollo de mayor porcentaje de mineralización en la válvula aórtica, como se puede observar en el gráfico 4.

<b>Tabla 4. Correlación entre %MVAo y la edad de los pacientes</b>				
			%MVAo	Edad
Rho de Spearman	%MVAo	Coeficiente de correlación	1.00	0.47

		Sig. (bilateral)	0.00	0.00
		N	52	52
	Edad	Coeficiente de correlación	0.47	1.00
		Sig. (bilateral)	0.00	0.00
		N	52	52

Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$   
 %MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica

**Gráfica 4. Diagrama de dispersión de %MVAo y edad**



%MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica  
 La línea señala la tendencia del ajuste total de los valores

De igual manera se realizó la correlación entre la mineralización valvular aórtica por la determinación de glucometría en ayuno de los pacientes, obteniendo una significancia estadística positiva ( $P=0.02$ ) con un coeficiente de correlación de fuerza media ( $CC=0.31$ ) de acuerdo con la ecuación de Spearman, ya que los datos también se encuentran en libre distribución. Por lo que se determinó que

existe una correlación positiva entre el incremento en la mineralización valvular aórtica y una mayor concentración de glucosa sanguínea, tal como lo podemos ver en la tabla 5. Así mismo podemos observar en el gráfico de dispersión que los pacientes con una medición más alta de glucosa en ayuno tienen una tendencia al desarrollo de mayor porcentaje de mineralización en la válvula aórtica, como se puede observar en el gráfico 5.

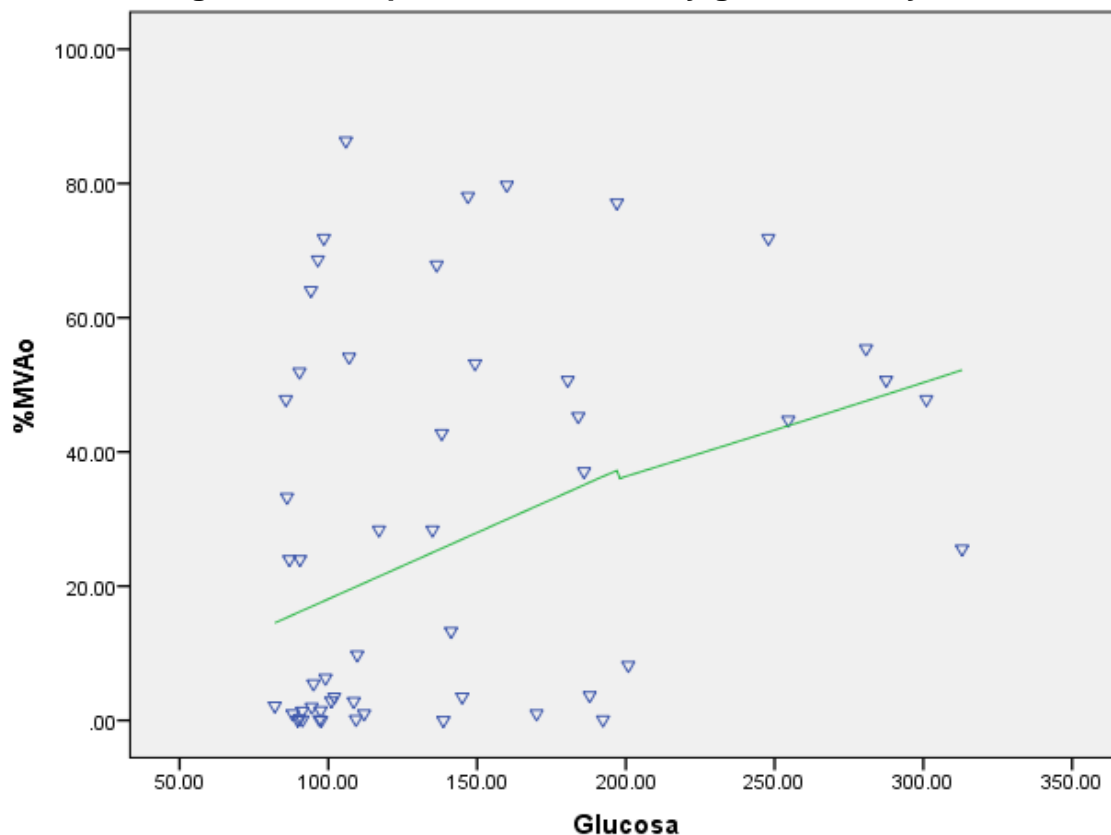
<b>Tabla 5. Correlación entre %MVAo y glucosa en ayuno de los pacientes</b>				
			%MVAo	Glu
Rho de Spearman	%MVAo	Coeficiente de correlación	1.00	0.31
		Sig. (bilateral)	0.00	0.02
		N	52	52
	Glu	Coeficiente de correlación	0.31	1.00
		Sig. (bilateral)	0.02	0.00
		N	52	52

*Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$*

*%MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica, Glu: glucosa en ayuno.*



**Gráfica 5. Diagrama de dispersión de %MVAo y glucosa en ayuno**



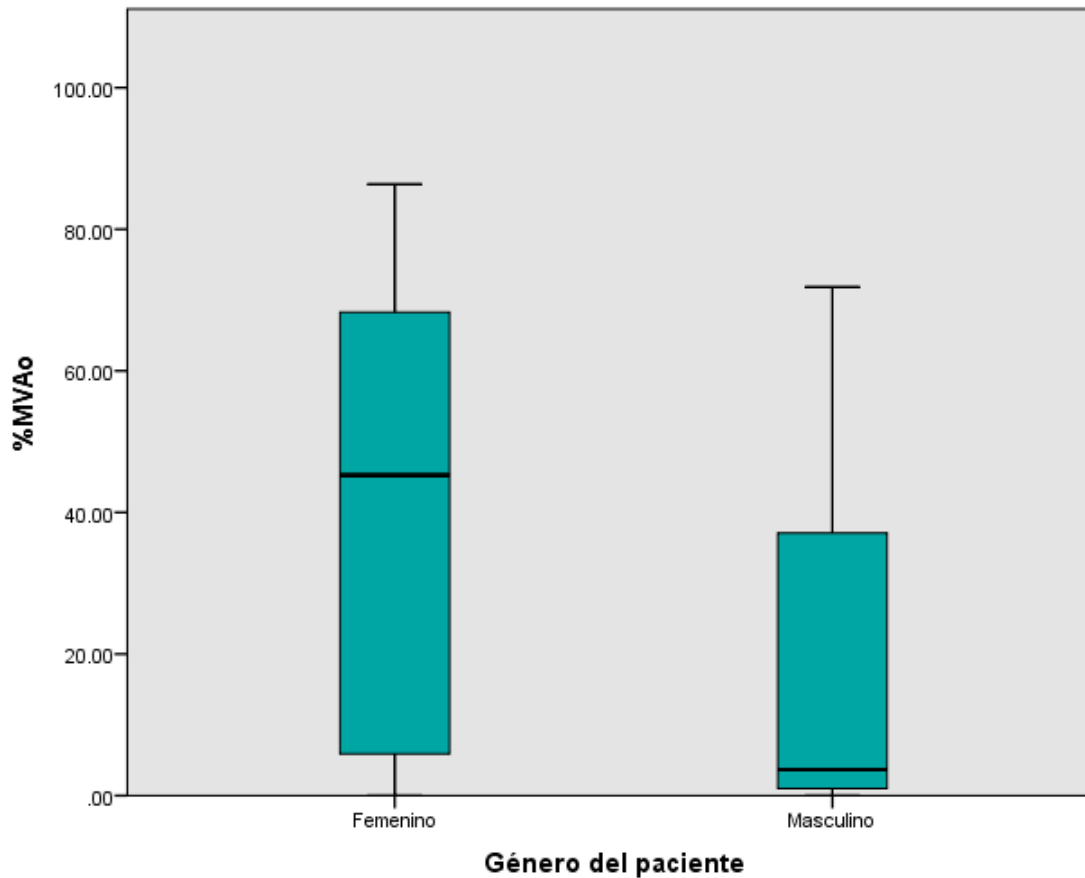
*%MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica*  
*La línea señala la tendencia del ajuste total de los valores*

Se valoró si existía una diferencia entre el desarrollo de mineralización valvular aórtica por género de los pacientes incluidos en el estudio, encontrando que existió una diferencia estadísticamente significativa en la comparación de medias utilizando el estadístico de U de Mann-Whitney ( $P=0.02$ ), ya que los datos se encuentran en libre distribución. Los resultados determinaron que la media de mineralización valvular del género femenino de las pacientes incluidas fue estadísticamente mayor con un rango promedio de 31.98 al de los hombres, que fue de 22.16, tal como se muestra en la tabla 6. Esto lo podemos comprobar de manera gráfica al analizar en un diagrama de cajas las medianas de la mineralización valvular en cada uno de estos grupos, haciéndose notorio un mayor grado de mineralización en las mujeres evaluadas, tal como se puede apreciar en el gráfico 6.

<b>Tabla 6. Comparación de medias entre %MVAo por Género</b>			
	Género	N	Rango promedio
%MVAo	Femenino	23	31.98
	Masculino	29	22.16
	Total	52	
<b>Estadísticos de contraste</b>			
	%MVAo		
U de Mann-Whitney	207.50		
Significancia asintótica. (bilateral)	0.02		

*Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$   
 %MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica*

**Gráfica 6. Diferencia de medianas entre %MVAo por género de los pacientes.**



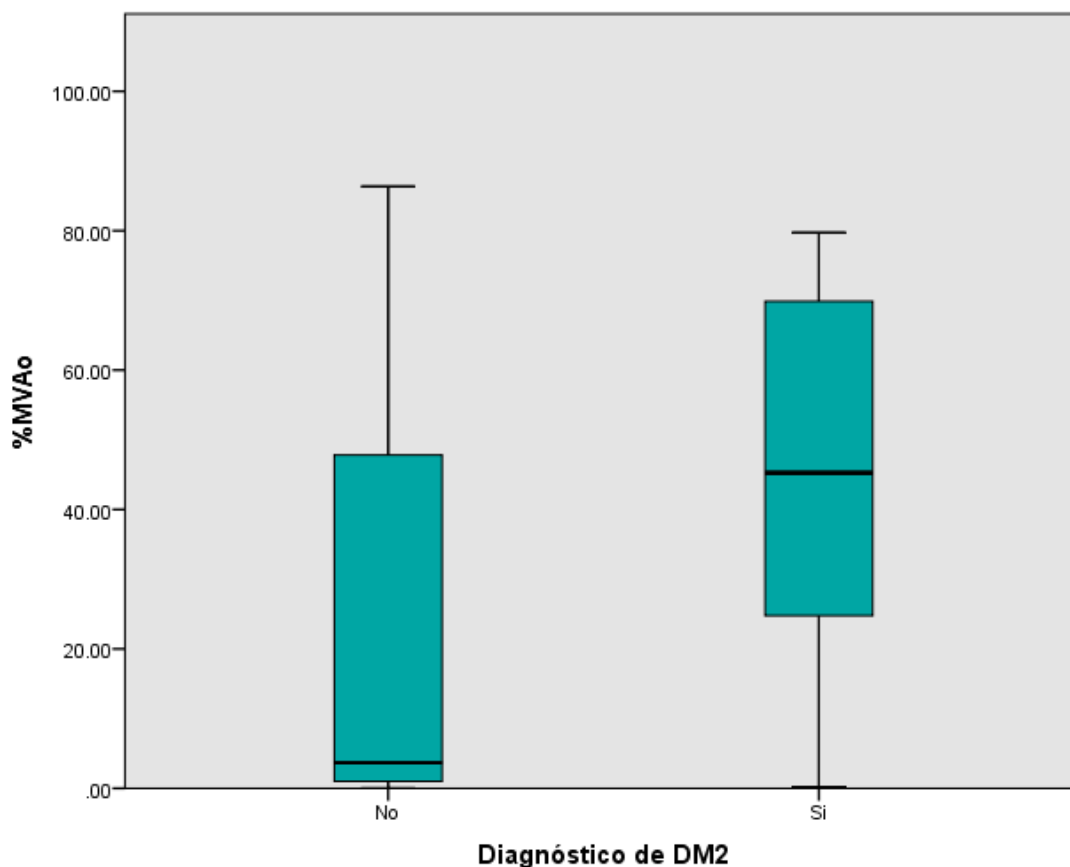
*%MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica.*

Así mismo se determinó que había una diferencia significativa entre el desarrollo de mineralización valvular aórtica entre los pacientes que se encontraban con diagnóstico de DM2 que los que no tenían este diagnóstico al momento del estudio. Pudimos observar una diferencia estadísticamente significativa en la comparación de medias utilizando el estadístico de U de Mann-Whitney ( $P=0.00$ ), ya que estos datos también se encuentran en libre distribución. Los resultados determinaron que la media de mineralización valvular de los pacientes diagnosticados con diabetes al momento del estudio fue estadísticamente superior con un rango promedio de 35.27 al de los pacientes que no contaban con este diagnóstico, el cual fue de 22.95, tal como se muestra en la tabla 7. De la misma manera podemos comprobar visualmente estos resultados al analizar el diagrama de cajas las medianas de la mineralización valvular en cada uno de estos grupos, haciéndose notorio un mayor grado de mineralización en los pacientes diabéticos, tal como se puede apreciar en el gráfico 7.

<b>Tabla 7. Comparación de medias entre %MVAo por diagnóstico de DM2</b>			
	DM2	N	Rango promedio
%MVAo	No	37	22.95
	Si	15	35.27
	Total	52	
<b>Estadísticos de contraste</b>			
	%MVAo		
U de Mann-Whitney	146.00		
Significancia asintótica. (bilateral)	0.00		

*Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$   
 %MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica, DM2: diabetes mellitus tipo 2*

**Gráfica 7. Diferencia de medianas entre %MVAo por diagnóstico de DM2.**



*%MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica, DM2: diabetes mellitus tipo 2*

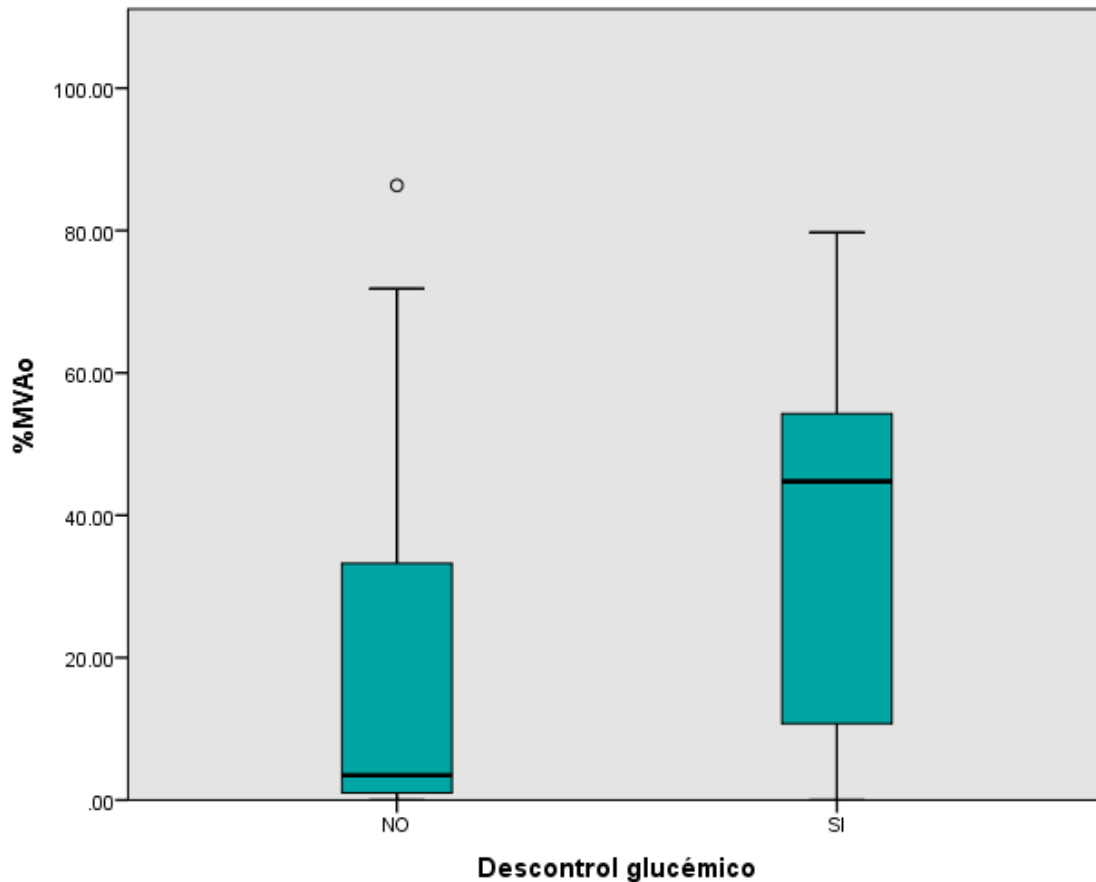
Finalmente se determinó que había una diferencia significativa entre el desarrollo de mineralización valvular aórtica entre los pacientes que presentaban algún grado de descontrol glucémico, (tomando en cuenta la definición de descontrol glucémico presentada en el marco teórico y en la definición de las variables de esta tesis) que los que no se encontraban con algún grado de descontrol glucémico al momento del estudio. Pudimos comprobar que existe una diferencia estadísticamente significativa en la comparación de medias utilizando el estadístico de U de Mann-Whitney ( $P=0.02$ ), ya que estos datos también se encuentran en libre distribución. Los resultados determinaron que la media de mineralización valvular de los pacientes que al momento del estudio presentaban descontrol glucémico fue estadísticamente sobresaliente, con un rango promedio

de 31.89 al de los pacientes que no presentaban descontrol glucémico, el cual fue de 22.22, tal como se muestra en la tabla 8. Ahora, pasando a los resultados gráficos podemos observar en el diagrama de cajas que las medianas de mineralización valvular son más altas en el grupo de pacientes con descontrol glucémico que en el grupo contrario, tal como se puede evaluar en el gráfico 8.

<b>Tabla 8. Comparación de medias entre %MVAo por descontrol glucémico</b>			
	Descontrol glucémico	N	Rango promedio
%MVAo	NO	29	22.22
	SI	23	31.89
	Total	52	
<b>Estadísticos de contraste</b>			
	%MVAo		
U de Mann-Whitney	209.50		
Significancia asintótica. (bilateral)	0.02		

*Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$   
%MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica*

**Gráfica 8. Diferencia de medianas entre %MVAo por descontrol glucémico.**



*%MVAo: porcentaje de mineralización valvular aórtica.*

**Porcentaje de calcio acumulado en la válvula aórtica.**

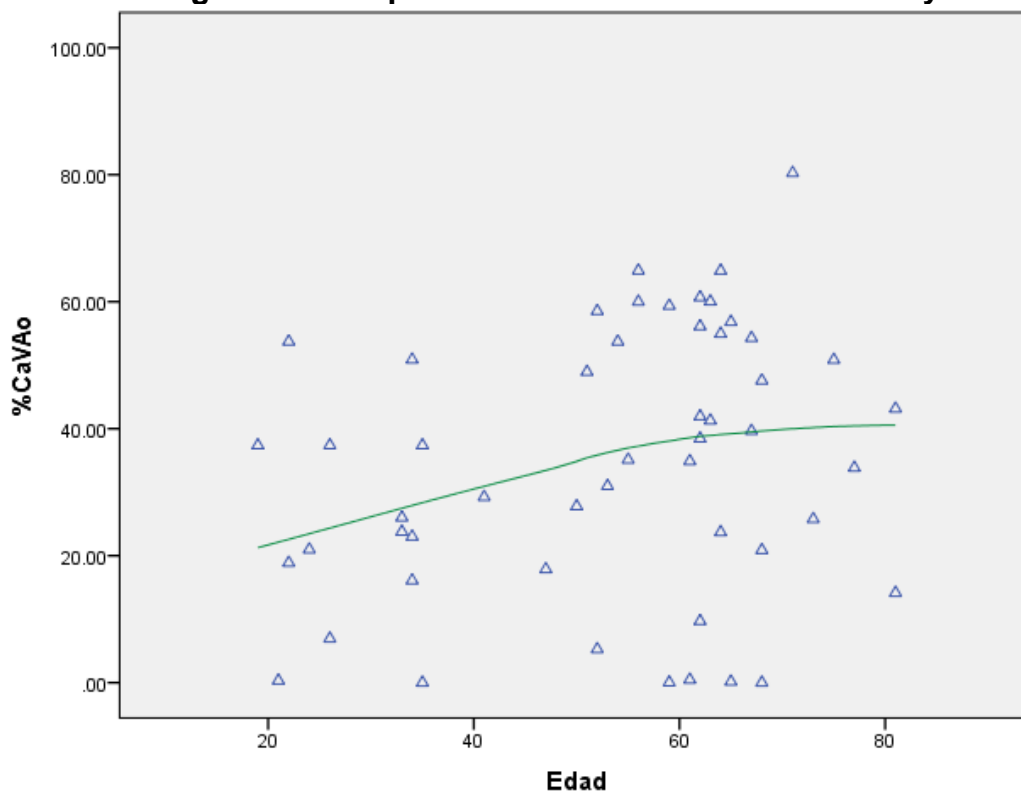
Se realizó la determinación de una correlación entre el incremento en el porcentaje de calcio acumulado en la válvula aórtica nativa de los pacientes y la edad de ellos al momento del estudio, en la que no se obtuvo una significancia estadística positiva ( $P=0.07$ ), de igual manera, en este cálculo aunque sin relación estadística se obtuvo un coeficiente de correlación de fuerza débil ( $CC=0.25$ ) de acuerdo con la ecuación de Pearson, ya que en este caso los datos se encuentran con distribución normal. Por lo que se determinó que estadísticamente no existe una correlación entre el incremento en el porcentaje de calcio acumulado en la válvula aórtica y una edad avanzada, pudiendo observar dichos resultados en la tabla 9.

Aunque, por otra parte, al realizar la analítica gráfica en el diagrama de dispersión, podemos observar que los pacientes con mayor edad si tienen una tendencia al desarrollo de mayor porcentaje de acumulación de calcio en la válvula aórtica, pero con una agrupación menos lineal de los datos, como se puede observar en el gráfico 9.

<b>Tabla 9. Correlación entre %CaVAo y la edad de los pacientes</b>			
		%CaVAo	Edad
%CaVAo	Correlación de Pearson	1	0.25
	Sig. (bilateral)		0.07
	N	52	52
Edad	Correlación de Pearson	0.25	1
	Sig. (bilateral)	0.07	
	N	52	52

*Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$   
 %CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico*

**Gráfica 9. Diagrama de dispersión de los valores de %CaVAo y edad**



*%CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico.  
 La línea señala la tendencia del ajuste total de los valores*

De igual manera se determinó la existencia de correlación entre el incremento en el porcentaje de calcio acumulado en la válvula aórtica nativa de los pacientes y la concentración de glucosa en ayuno, en la que no se obtuvo una significancia estadística ( $P=0.37$ ), por lo que no es posible realizar una correlación entre el aumento de la concentración de calcio valvular y una mayor glucosa en ayuno de acuerdo con la ecuación de Spearman, ya que en este caso los datos se encuentran con libre distribución. Estos resultados se pueden observar en la tabla 10. Podemos darnos cuenta de que no existe una agrupación lineal de los datos en el diagrama de dispersión, sin embargo, al trazar una línea de ajuste total de los valores observamos que, aunque es casi plana, visualmente existe una correlación positiva, aunque no estadísticamente significativa al desarrollo de mayor porcentaje de acumulación de calcio en la válvula aórtica en los pacientes con mayor glucosa en ayuno, como se puede observar en el gráfico 10.

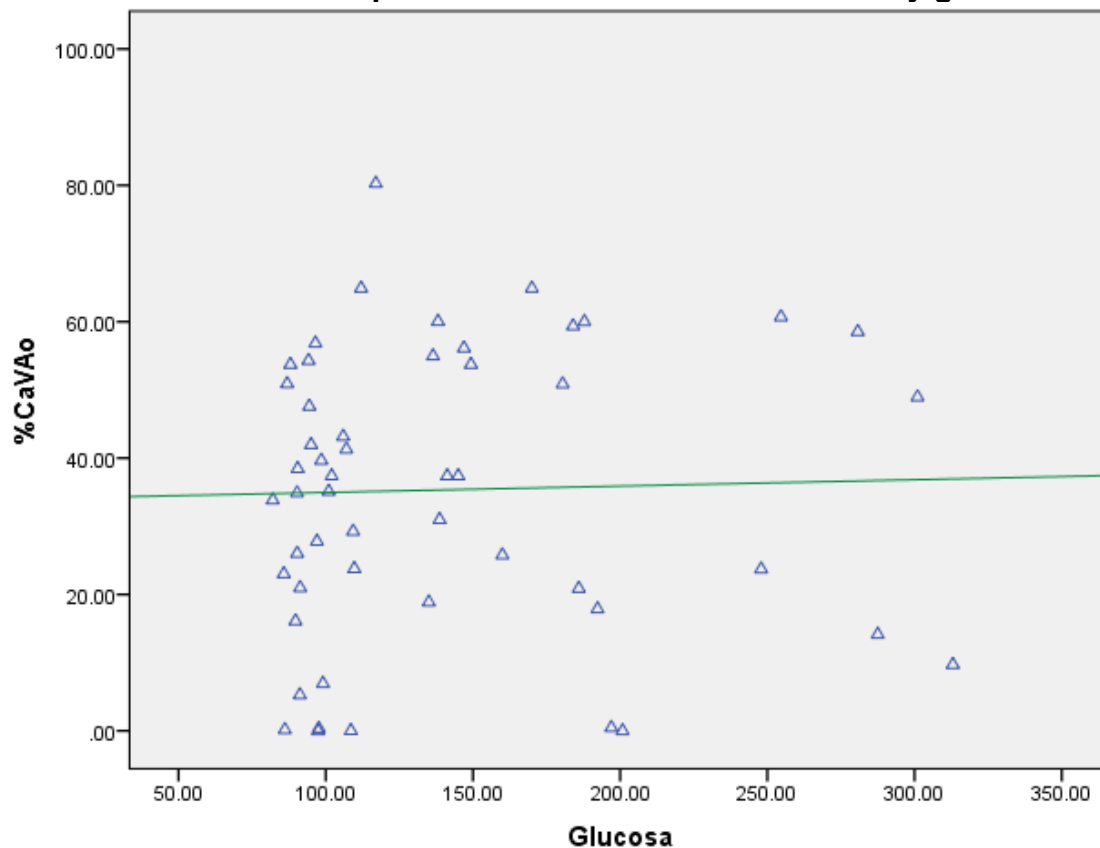
<b>Tabla 10. Correlación entre %CaVAo y glucosa en ayuno</b>				
			<b>%CaVAo</b>	<b>Glucosa</b>
<b>Rho de Spearman</b>	<b>%CaVAo</b>	Coeficiente de correlación	1.00	0.12
		Sig. (bilateral)	0.00	0.37
		N	52	52
	<b>Glu</b>	Coeficiente de correlación	0.12	1.00
		Sig. (bilateral)	0.37	0.00
		N	52	52

*Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$*

*%CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico, Glu: glucosa en ayuno*



**Gráfica 10. Gráfico de dispersión de los valores de %CaVAo y glucometría**



*%CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico.  
La línea señala la tendencia del ajuste total de los valores.*

A continuación, se realizó la evaluación de la variable cualitativa de género con relación al porcentaje de acumulación de calcio en las válvulas aórticas de los pacientes, en las que se obtuvo que no existió una diferencia estadísticamente significativa en la comparación de medias utilizando el estadístico de T de Student ( $P=0.61$ ), ya que los datos se encuentran con distribución normal y homocedasticidad de varianzas. Los resultados determinaron que la media de porcentaje de acumulación de calcio en las válvulas aórticas del género femenino no fue estadísticamente mayor con una media de 32.93 y una desviación estándar de  $\pm 21.51$  al de los hombres, cuya media fue de 35.92 con una desviación estándar de  $\pm 20.74$ , tal como se analiza en la tabla 11. Esto lo podemos comprobar de manera gráfica al analizar en un diagrama de cajas las medias del porcentaje de acumulación de calcio valvular en cada uno de estos grupos, en el

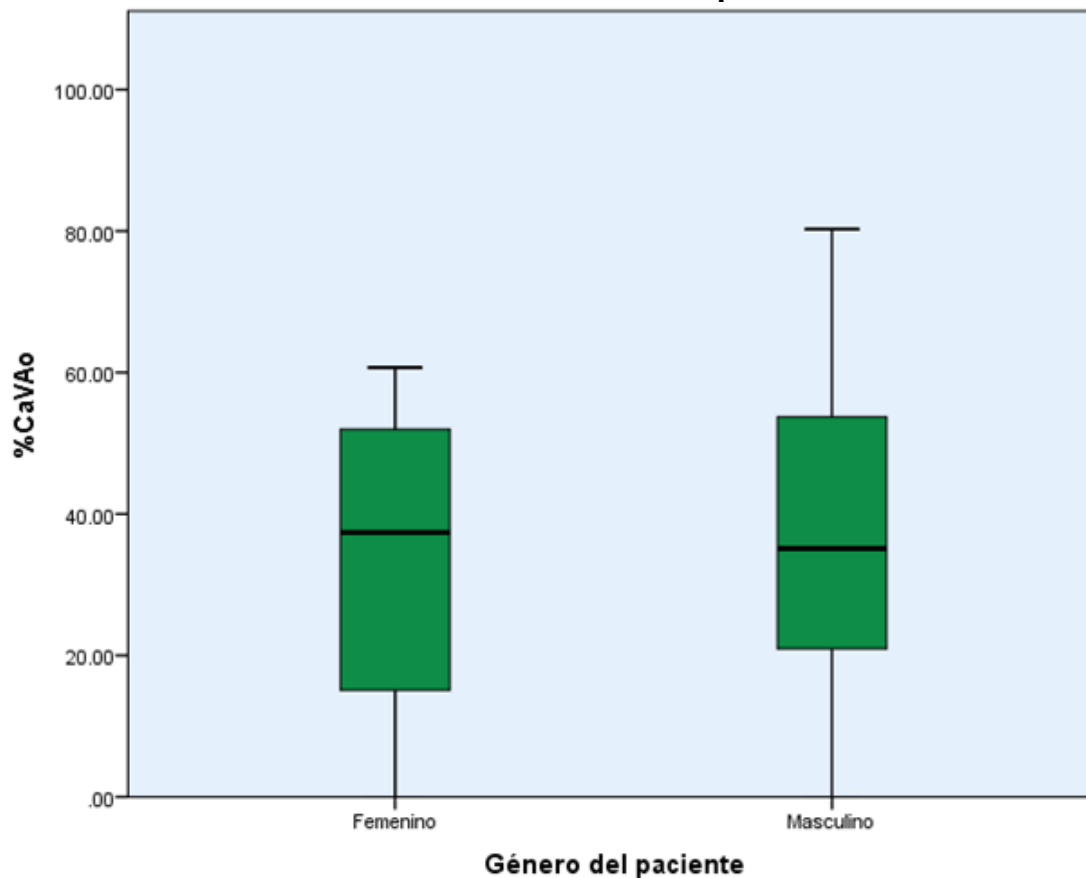
que podemos observar que ambas medias se encuentran casi al mismo nivel en hombres y mujeres, tal como se puede observar en el gráfico 11.

<b>Tabla 11. Comparación de medias entre %CaVAo por Género</b>				
	Sexo	N	Media	DE
%CaVAo	Femenino	23	32.93	21.51
	Masculino	29	35.92	20.74
<b>Prueba de muestras independientes</b>				
		Prueba T para la igualdad de medias		
		Sig. (bilateral)	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
			Inferior	superior
%CaVAo	Se han asumido varianzas iguales	0.61	-14.81	8.83

*Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$*

*%CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico, DE: desviación estándar*

**Gráfica 11. Diferencia de medias entre %CaVAo por Género**



%CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico.

Se determinó la relación que existía entre el porcentaje de acumulación de calcio en las válvulas aórticas de los pacientes con y sin diagnóstico de diabetes mellitus 2, al determinar la comparación de sus medias utilizando el estadístico de T de Student, ya que los datos se encuentran con distribución normal y homocedasticidad de varianzas, en el que no se obtuvo un resultado estadísticamente significativo ( $P=0.13$ ). Los resultados determinaron que la media de acumulación de calcio en las válvulas aórticas de los pacientes diagnosticados con diabetes al momento del estudio no fue estadísticamente superior al de los pacientes sin diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2, obteniendo una media de 31.85 y una desviación estándar de  $\pm 20.60$  en el grupo sin diagnóstico y una media de 41.37 con una desviación estándar de  $\pm 20.85$  en el grupo con diagnóstico, tal como se analiza en la tabla 12. De la misma manera podemos comprobar de manera gráfica este resultado al analizar en un diagrama de cajas

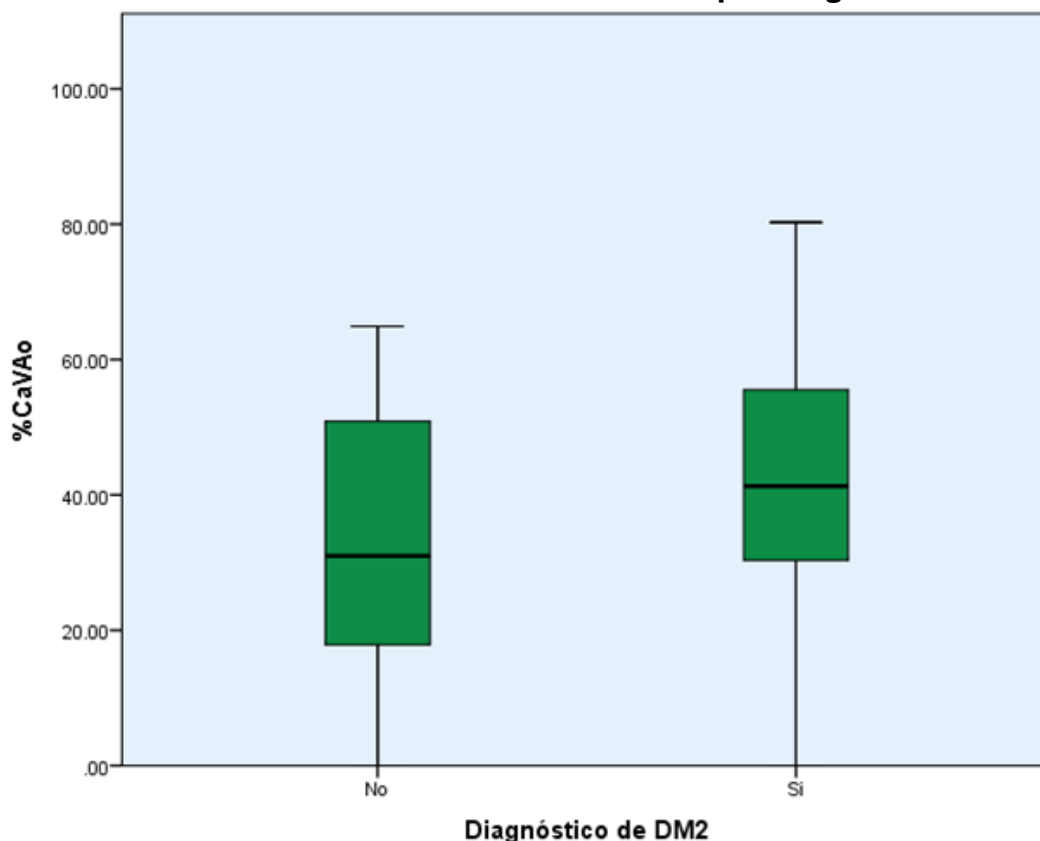
las medias del porcentaje de acumulación de calcio valvular en cada uno de estos grupos, en el que podemos observar que ambas medias se encuentran casi al mismo nivel en ambos grupos, aunque es notable que en el grupo con diagnóstico de diabetes mellitus es mayor la cifra de concentración de calcio, tal como se puede observar en el gráfico 12.

<b>Tabla 12. Comparación de medias entre %CaVAo y diagnóstico de DM2</b>				
	Diabetes	N	Media	DE
Ca	No	37	31.85	20.60
	Si	15	41.37	20.85
<b>Prueba de muestras independientes</b>				
		Prueba T para la igualdad de medias		
		Sig. (bilateral)	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
			Inferior	Superior
Ca	Se han asumido varianzas iguales	0.13	-22.23	3.19

*Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$*

*%CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico, DE: desviación estándar*

**Gráfica 12. Diferencia de medias entre %CaVAo por diagnóstico de DM2**



*%CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico.*

Finalmente, se determinó si existía relación entre el porcentaje de acumulación de calcio en las válvulas aórticas de los pacientes con y sin descontrol glucémico (tomando en cuenta nuevamente la definición de descontrol glucémico presentada en el marco teórico y en la definición de las variables de esta tesis), siendo esto analizado utilizando el estadístico de T de Student, ya que los datos se encuentran con distribución normal y homocedasticidad de varianzas, obteniendo resultados estadísticamente no significativos ( $P=0.35$ ). Los resultados determinaron que la media de acumulación de calcio en las válvulas aórticas de los pacientes con y sin descontrol glucémico al momento del estudio no fue estadísticamente diferente, obteniendo una media de 32.20 y una desviación estándar de  $\pm 20.74$  en el grupo sin descontrol glucémico y una media de 37.62 con una desviación estándar de  $\pm 21.24$  en el grupo con descontrol glucémico, tal como se analiza en la tabla 13. De la misma manera realizada con los análisis anteriores, podemos comprobar de forma gráfica este resultado mediante un diagrama de cajas que las

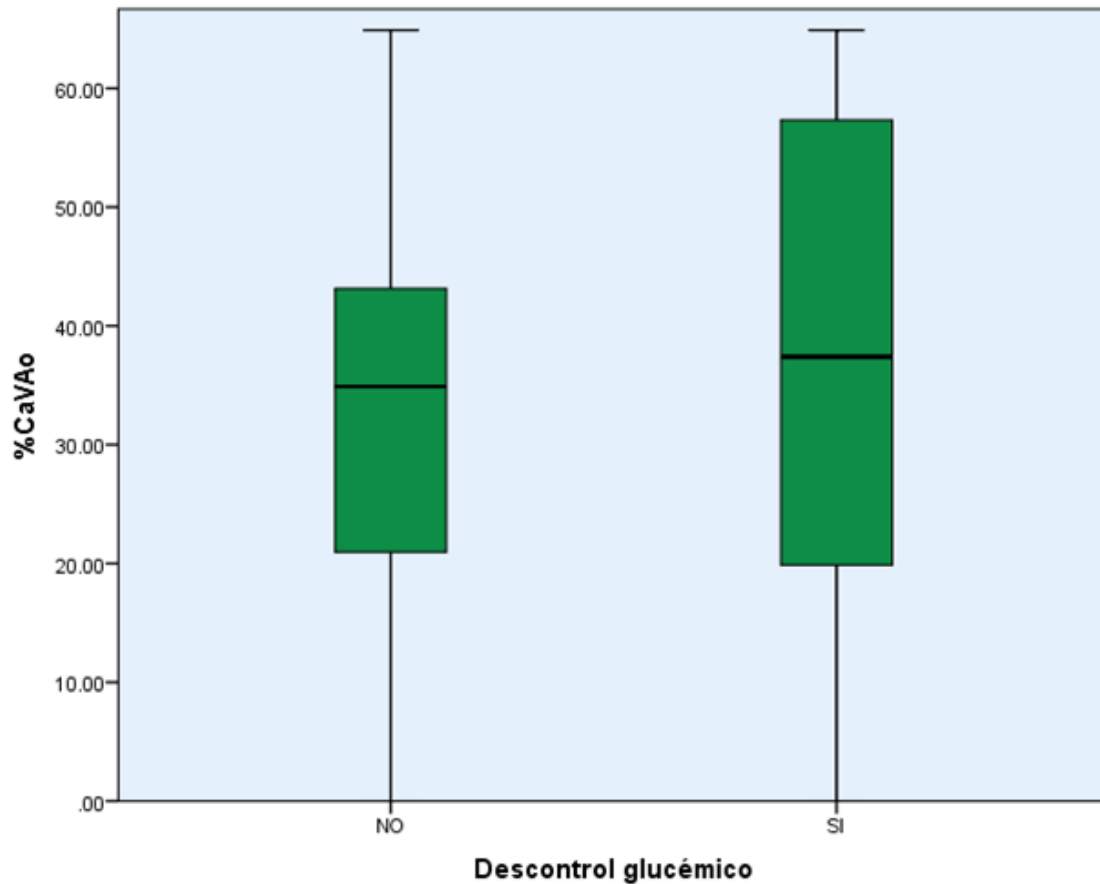
medias del porcentaje de acumulación de calcio valvular en cada uno de estos grupos no es significativamente diferente y se encuentran casi al mismo nivel, haciendo notar nuevamente que, aunque estadísticamente no significativo el grupo en descontrol cuenta con la mayor media de acumulación de calcio. Gráfica 13.

<b>Tabla 13. Comparación de medias entre %CaVAo por descontrol glucémico</b>				
	Descontrol glucémico	N	Media	DE
%CaVAo	NO	29	32.20	20.74
	SI	23	37.62	21.24
<b>Prueba de muestras independientes</b>				
		Prueba T para la igualdad de medias		
		Sig. (bilateral)	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
			Inferior	Superior
%CaVAo	Se han asumido varianzas iguales	0.35	-17.17	6.33

*Se considera como significativo un valor de  $P \leq 0.05$*

*%CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico, DE: desviación estándar*

**Gráfica 13. Comparación de medias %CaVAo por descontrol glucémico**



*%CaVAo: porcentaje de calcio valvular aórtico.*

## 8. DISCUSIÓN

En México las enfermedades cardiovasculares se consideran dentro de las primeras causas de mortalidad (66), por lo que resulta importante estudiar los detalles de la etiología de las principales patologías cardíacas. Hoy en día al enfrentarnos con múltiples factores que propician el desarrollo de afecciones cardíacas resulta de vital importancia el estudio del origen e historia natural de cada enfermedad con la finalidad de evitarlas, aminorar los riesgos, mejorar la atención primaria, prevención y brindar herramientas a los médicos cardiólogos que se enfrentan a pacientes con estas afecciones y las complicaciones que

conlleva el diagnóstico y tratamiento tardíos. Por estadística poblacional en las últimas dos décadas se ha visto una correlación positiva entre el desarrollo de afecciones cardíacas como la estenosis aórtica y enfermedades crónicas como la diabetes mellitus tipo 2 (8), es por ello por lo que este tema empieza a tomar auge en la comunidad de cardiología, resolviendo en el hecho de que una de las causas que explica esta condición es la enfermedad de la válvula aórtica mineralizada, cuyos mecanismos de desarrollo específicos aún no están dilucidados en su totalidad. Hoy en día se ha demostrado que las enfermedades que se asocian con inflamación sistémica crónica son un factor predisponente para este padecimiento, que en la mayor parte de los casos es de difícil diagnóstico, debido a que se deben emplear técnicas de microscopía electrónica para ello, sin contar la parte del diagnóstico cardiológico mediante ecocardiograma y determinación de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. Por esto, debido a que la diabetes mellitus tipo 2 es un problema muy común de salud pública en este país, ya que los pacientes por su estilo de vida y alimentación son difíciles de controlar, y en muchos casos existe abandono por parte del paciente al médico, este padecimiento se vuelve una de las causas más frecuentes de inflamación sistémica que predispone entre otras comorbilidades al desarrollo de enfermedad de la válvula aórtica mineralizada, consecuentemente al desarrollo de estenosis aórtica severa y si el diagnóstico y tratamiento se prolonga lo suficiente puede concluir con la vida de los pacientes. Es por eso por lo que la presente tesis se dedica al estudio de la relación que existe entre el desarrollo de mineralización valvular aórtica, la calcificación valvular aórtica y la diabetes mellitus tipo 2.

### **Mineralización valvular aórtica de pacientes con DM2**

Nos encontramos con una correlación estadísticamente significativa, positiva entre el incremento de la mineralización valvular aórtica y una mayor edad, de igual manera que con una mayor concentración de glucosa en ayuno. Los pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2, con descontrol glucémico y las pacientes de género femenino tienen una media de mineralización estadísticamente significativa, superior a los del grupo contrario, por lo que resulta



evidente al análisis, que los resultados demuestran que este padecimiento incrementa el riesgo de presentar estenosis valvular aórtica con mayor prontitud, contrario a la población sin este factor de riesgo. Así mismo debemos considerar que el descontrol glucémico de la población, incluso en quienes aún no se encuentran diagnosticados (evidentemente sin tratamiento) influirá negativamente en la mineralización valvular aórtica, tal y como se comenta dentro del estudio del Dr. Ferreira y cols. (16)

Por lo anterior, derivado del análisis realizado durante este estudio se puede concluir que es posible evitar la progresión de la enfermedad de la válvula aórtica mineralizada llevando un adecuado control de la glucosa, en el caso de las personas sin diagnóstico previo de diabetes, y considerando un control más riguroso de pacientes diagnosticados, sobre todo los de difícil apego a los tratamientos hipoglucemiantes, un hecho que por sí mismo evitaría el desarrollo de otras enfermedades como insuficiencia renal, neuropatía diabética, hipertensión arterial, aterosclerosis e infartos provocados por lo mismo.

### **Porcentaje de calcificación valvular aórtica de los pacientes con DM2**

Por otra parte, hemos visto que no existe una correlación estadísticamente significativa entre el incremento del mineral calcio acumulado en las válvulas aórticas de los pacientes con mayor edad y concentración de glucosa sanguínea. Como también podemos observar que la media de porcentaje de concentración del mineral calcio en las válvulas aórticas de pacientes dependiendo del género, del diagnóstico de DM2 así como del descontrol glucémico, no fueron estadísticamente diferentes, sin embargo, al realizar el análisis gráfico de los resultados, podemos percatarnos que existe una ligera tendencia hacia el incremento en el porcentaje de acumulación del mineral calcio en las válvulas aórticas de pacientes con mayor edad, el incremento de glucosa medida en ayuno y el descontrol glucémico. La explicación que encontramos en este estudio sobre este hecho es que, ante el incremento significativo de la mineralización, pero no de la acumulación del mineral calcio, hace evidente que existen otros minerales

que se acumulan en las válvulas aórticas, por lo que poner únicamente atención a la calcificación valvular aórtica podría llevarnos a conclusiones inespecíficas sobre el desarrollo de esta enfermedad. También es debido mencionar que hace falta estudiar mucho más a fondo los mecanismos de mineralización ya que lo más común en la bibliografía actual se centra en la fijación de calcio por células tipo osteoblásticas, dejando de lado importantes mecanismos de fijación de otros minerales (16,37).

### **Limitaciones del estudio**

Tenemos varias limitaciones que podemos observar dentro de este estudio. En primer lugar, está el hecho del limitado número de muestra, ya que como se ha comentado previamente para que el estudio pudiera ser realizado evitando un sesgo sistemático y de selección, se ha excluido a la mayor parte de los pacientes elegibles, por lo que se requerirá un mayor tiempo de estudio (más allá de 2 años) para incluir una población con el tamaño suficiente para obtener una muestra representativa con una potencia estadística mayor al momento del análisis. En segundo lugar, debemos considerar que a pesar de que el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” es un hospital de tercer nivel de atención, siendo un instituto de concentración de pacientes a nivel nacional, sería necesario considerar un estudio multicéntrico para abarcar a los pacientes que no fueran referidos a este nivel de atención.

Finalmente es debido mencionar que resulta necesario continuar estudiando este padecimiento, ya que, en este estudio solamente fueron incluidas válvulas aórticas, haciendo necesario obtener datos sobre válvulas mitrales y pulmonares, como también considerar que, debido a que los pacientes con este problema no solamente poseen una comorbilidad, el seleccionar una muestra representativa que evite introducir los sesgos antes mencionados resultaría en un mejor entendimiento de la mineralización valvular en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2.

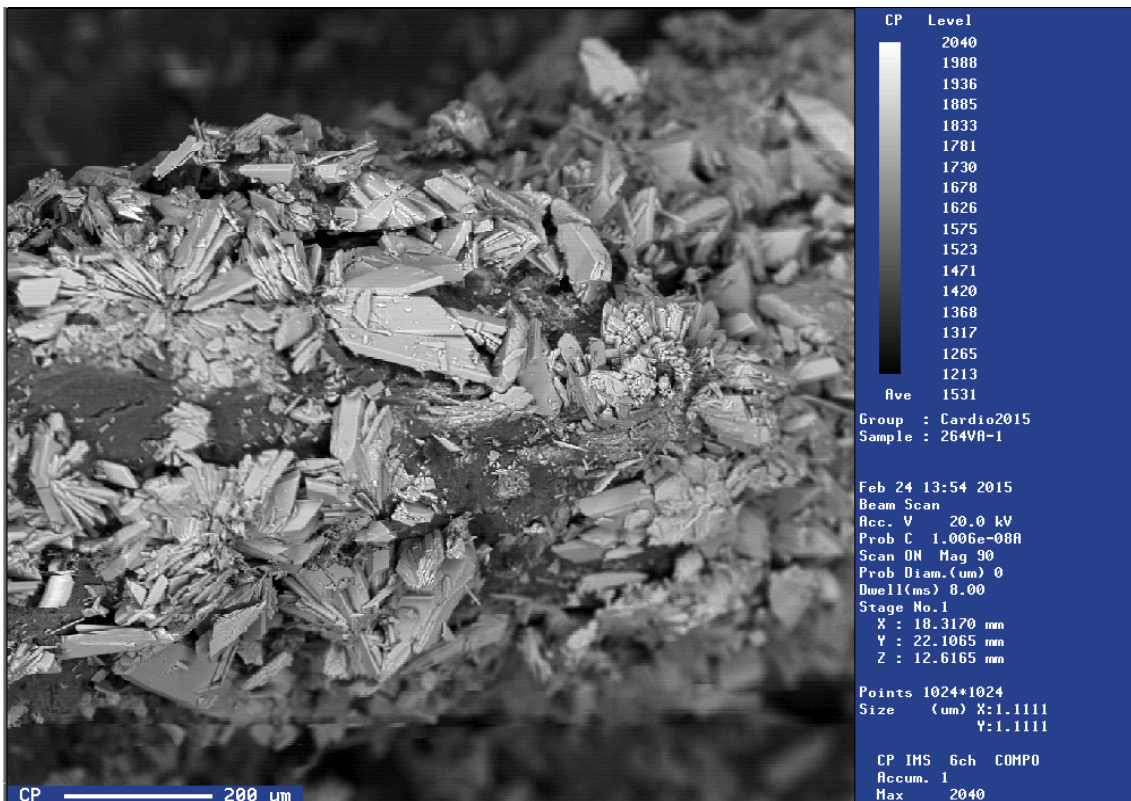
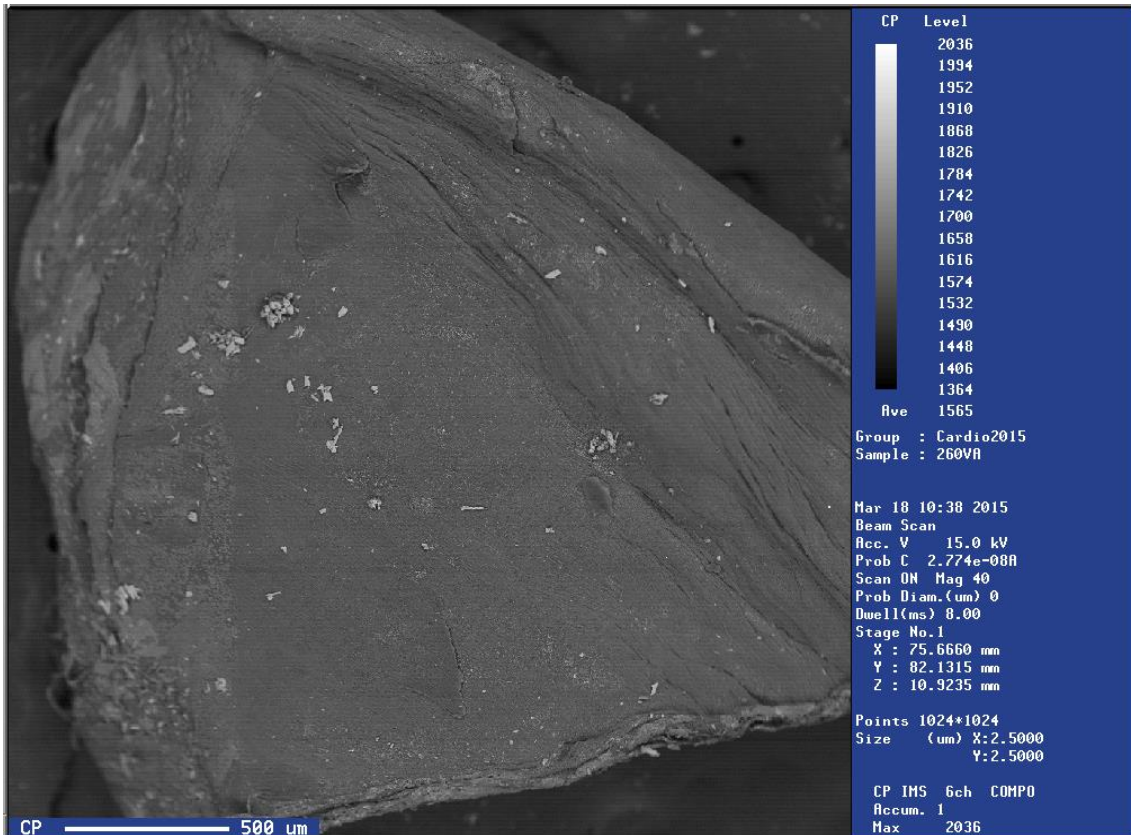
## 9. CONCLUSIONES

En el presente estudio observacional, analítico y descriptivo de pacientes ingresados en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, con antecedentes de estenosis o insuficiencia valvular aórtica, en control y descontrol glucémico, quienes fueron sometidos a una cirugía de reemplazo valvular, se concluye que existe una clara tendencia y correlación al desarrollo de mineralización valvular aórtica de pacientes con diabetes mellitus tipo 2, con mayor énfasis en aquellos pacientes que se encuentran en descontrol glucémico, entendiendo esta definición como una cifra de glucosa en ayuno mayor a 126 mg/dL. Así mismo, al no obtener una correlación estadísticamente significativa del incremento en el calcio valvular aórtico de los pacientes incluidos, resalta la necesidad de un mejor entendimiento y mayor estudio de los mecanismos celulares de mineralización valvular.

Este hecho que, a pesar de las limitaciones propias del estudio nos da la pauta para continuar estudiando el desarrollo de la enfermedad de la válvula aórtica mineralizada y abre las puertas a estudios multicéntricos, en los que se incluya población mexicana de otras entidades del país, así como la inclusión de otro tipo de tejidos valvulares. Esto, con la finalidad de prevenir la aparición de la enfermedad por mineralización, el desarrollo de estenosis o insuficiencia valvulares, desarrollar mejores y más oportunos tratamientos que a su vez, mejoren la calidad de vida de las personas con y sin diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2, en favor de combatir una enfermedad que cada año cobra vidas importantes.



## Anexo 2. Imágenes valvulares obtenidas por microscopía electrónica de barrido



## Anexo 3. Consentimiento informado

“2015, Año de Generalísimo José María Morelos y Pavón”

### **CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA**

Título del Protocolo: Incremento de la mineralización valvular aórtica en pacientes con diabetes mellitus tipo II.

Investigador principal: Dra. Aurora de la Peña Díaz

Sede donde se realizará el estudio: Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento.

Justificación del estudio: A nivel mundial los síndromes coronarios agudos son una causa importante de morbilidad y mortalidad. Datos epidemiológicos de México, establecen a la cardiopatía isquémica como primera causa de mortalidad en mayores de 60 años, la segunda causa en la población en general y contribuyó aproximadamente al 10% de todas las causas de mortalidad.

Objetivo del estudio: A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivos determinar la concentración de minerales presentes en válvulas aórticas que ocasionan infartos y otras enfermedades del corazón.

Beneficios del estudio: El contar con esta información favorecerá el desarrollo de nuevas alternativas para diagnóstico y tratamiento de los enfermos; por lo que en un futuro otros pacientes podrán beneficiarse del conocimiento obtenido.

#### **Aclaraciones**

- ❖ Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- ❖ No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- ❖ Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- ❖ No recibirá pago por su participación.
- ❖ La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- ❖ Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de consentimiento informado anexa a éste documento.

“2015, Año de Generalísimo José María Morelos y Pavón”

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_  
**Firma Paciente**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

\_\_\_\_\_  
**Testigo**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

\_\_\_\_\_  
**Testigo**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

He explicado al Sr(a).\_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apegó a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

\_\_\_\_\_  
**Firma del Investigador (o su representante)**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**



Anexo 4. Microscopio Electrónico de Barrido del ING – UNAM





## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. Rajamannan, N. M., Evans, F. J., Aikawa, E., Grande-Allen, K. J., Demer, L. L., Heistad, D. D., ... & Otto, C. M. (2011). Calcific aortic valve disease: Not simply a degenerative process a review and agenda for research from the National Heart and Lung and Blood Institute Aortic Stenosis Working Group. *Circulation*, 124(16), 1783.
2. Zipes, D. P., Libby, P., Bonow, R. O., Mann, D. L., & Tomaselli, G. F. (Eds.). (2019). Braunwald. Tratado de cardiología: Texto de medicina cardiovascular. Elsevier Health Sciences.
3. Kamalesh, M., Ng, C., El Masry, H., Eckert, G., & Sawada, S. (2009). Does diabetes accelerate progression of calcific aortic stenosis?. *European Journal of Echocardiography*, 10(6), 723-725.
4. Hernández-Ávila, M., Gutiérrez, J. P., & Reynoso-Noverón, N. (2013). Diabetes mellitus en México: El estado de la epidemia. *Salud pública de México*, 55, s129-s136.
5. Wojciech, P Y; Ross, M. (2020). Ross Histología texto y atlas, Barcelona, España, Wolters Kluer
6. Informe Mundial Sobre La Diabetes. (2016). Organización Mundial de la salud.
7. Secretaría de Salud. (2017). Boletín Epidemiológico. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Sistema Único de Información, volumen 34(semana 1).
8. Shamah-Levy, T., Vielma-Orozco, E., Heredia-Hernández, O., Romero-Martínez, M., Mojica-Cuevas, J., Cuevas-Nasu, L., ... & Rivera-Dommarco, J. (2020). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19: Resultados Nacionales. *Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública*.
9. Cheek, J. D., Wirrig, E. E., Alfieri, C. M., James, J. F., & Yutzey, K. E. (2012). Differential activation of valvulogenic, chondrogenic, and osteogenic pathways in mouse models of myxomatous and calcific aortic valve disease. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 52(3), 689-700.
10. Yung, L. M., Sánchez-Duffhues, G., Ten Dijke, P., & Yu, P. B. (2015). Bone morphogenetic protein 6 and oxidized low-density lipoprotein synergistically recruit osteogenic differentiation in endothelial cells. *Cardiovascular research*, 108(2), 278-287.

11. Miller, J. D., Weiss, R. M., & Heistad, D. D. (2011). Calcific aortic valve stenosis: methods, models, and mechanisms. *Circulation research*, 108(11), 1392-1412.
12. Bertazzo, S., & Gentleman, E. (2017). Aortic valve calcification: a bone of contention. *European heart journal*, 38(16), 1189-1193.
13. Mosch, J., Gleissner, C. A., Body, S., & Aikawa, E. (2017). Histopathological assessment of calcification and inflammation of calcific aortic valves from patients with and without diabetes mellitus. *Histology and histopathology*, 32(3), 293.
14. Boström, K. I., Rajamannan, N. M., & Towler, D. A. (2011). The regulation of valvular and vascular sclerosis by osteogenic morphogens. *Circulation research*, 109(5), 564-577.
15. Albanese, I., Yu, B., Al-Kindi, H., Barratt, B., Ott, L., Al-Refai, M., ... & Schwertani, A. (2017). Role of noncanonical Wnt signaling pathway in human aortic valve calcification. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 37(3), 543-552.
16. Ferreira, M. T., Leite, N. C., Cardoso, C. R., & Salles, G. F. (2015). Correlates of aortic stiffness progression in patients with type 2 diabetes: importance of glycemic control: the Rio de Janeiro type 2 diabetes cohort study. *Diabetes Care*, 38(5), 897-904.
17. Mathieu, P., & Boulanger, M. C. (2014). Basic mechanisms of calcific aortic valve disease. *Canadian Journal of Cardiology*, 30(9), 982-993.
18. Brown, J. D., Lin, C. Y., Duan, Q., Griffin, G., Federation, A. J., Paranal, R. M., ... & Plutzky, J. (2014). NF- $\kappa$ B directs dynamic super enhancer formation in inflammation and atherogenesis. *Molecular cell*, 56(2), 219-231.
19. Yahagi, K., Kolodgie, F. D., Lutter, C., Mori, H., Romero, M. E., Finn, A. V., & Virmani, R. (2017). Pathology of human coronary and carotid artery atherosclerosis and vascular calcification in diabetes mellitus. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 37(2), 191-204.
20. Peralta-Zaragoza, O., Lagunas-Martínez, A., & Madrid-Marina, V. (2001). Factor de crecimiento transformante beta-1: estructura, función y mecanismos de regulación en cáncer. *salud pública de méxico*, 43, 340-351.
21. Otto, C. (2008). Calcific aortic stenosis-time to look more closely at the valve. *N Engl J Med.*, 359, 1395-1398.
22. Chen, J., Ryzhova, L. M., Sewell-Loftin, M. K., Brown, C. B., Huppert, S. S., Baldwin, H. S., & Merryman, W. D. (2015). Notch1 mutation leads to valvular calcification through enhanced myofibroblast mechanotransduction. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 35(7), 1597-1605.
23. Le Quang, K., Bouchareb, R., Lachance, D., Laplante, M. A., Husseini, D. E., Boulanger, M. C., ... & Marette, A. (2014). 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, and vascular biology*, 34(10), 2283-2291.
24. Méndez, J. D. (2003). Productos finales de glicación avanzada y complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. *Gac Med Mex*, 139(1), 49-55.
  25. Gleissner, C. A., Galkina, E., Nadler, J. L., & Ley, K. (2007). Mechanisms by which diabetes increases cardiovascular disease. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 4(3), 131-140.
  26. Cruz Hernández, J., & Licea Puig, M. E. (2010). Glucosilación no enzimática y complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. *Revista Cubana de Endocrinología*, 21(2), 223-255.
  27. Raaz, U., Schellinger, I. N., Chernogubova, E., Warnecke, C., Kayama, Y., Penov, K., ... & Tsao, P. S. (2015). Transcription factor Runx2 promotes aortic fibrosis and stiffness in type 2 diabetes mellitus. *Circulation research*, 117(6), 513-524.
  28. Lontchi-Yimagou, E., Sobngwi, E., Matsha, T. E., & Kengne, A. P. (2013). Diabetes mellitus and inflammation. *Current diabetes reports*, 13(3), 435-444.
  29. Towler, D. A. (2013). Molecular and cellular aspects of calcific aortic valve disease. *Circulation research*, 113(2), 198-208.
  30. Coté, N., Mahmut, A., Bosse, Y., Couture, C., Pagé, S., Trahan, S., ... & Mathieu, P. (2013). Inflammation is associated with the remodeling of calcific aortic valve disease. *Inflammation*, 36(3), 573-581.
  31. Hjortnaes, J., Goettsch, C., Hutcheson, J. D., Camci-Unal, G., Lax, L., Scherer, K., ... & Aikawa, E. (2016). Simulation of early calcific aortic valve disease in a 3D platform: A role for myofibroblast differentiation. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 94, 13-20.
  32. Rajamannan, N. M. (2009). Calcific aortic stenosis: lessons learned from experimental and clinical studies. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 29(2), 162-168.
  33. Sun, L., Rajamannan, N. M., & Sucusky, P. (2013). Defining the role of fluid shear stress in the expression of early signaling markers for calcific aortic valve disease. *PloS one*, 8(12), e84433.
  34. Barzilay, J. I., Abraham, L., Heckbert, S. R., Cushman, M., Kuller, L. H., Resnick, H. E., & Tracy, R. P. (2001). The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Diabetes*, 50(10), 2384-2389.
  35. Mohler, E. R. (2004). Mechanisms of aortic valve calcification. *American Journal of Cardiology*, 94(11), 1396-1402.
  36. Esser, N., Legrand-Poels, S., Piette, J., Scheen, A. J., & Paquot, N. (2014). Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*, 105(2), 141-150.
  37. Natorska, J., Wypasek, E., Grudzień, G., Sobczyk, D., Marek, G., Filip, G., ... & Undas, A. (2012). Does diabetes accelerate the progression of aortic

- stenosis through enhanced inflammatory response within aortic valves?. *Inflammation*, 35(3), 834-840.
38. Katz, R., Budoff, M. J., Takasu, J., Shavelle, D. M., Bertoni, A., Blumenthal, R. S., ... & O'Brien, K. D. (2009). Relationship of metabolic syndrome with incident aortic valve calcium and aortic valve calcium progression: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetes*, 58(4), 813-819.
  39. Rodriguez, K. J., & Masters, K. S. (2009). Regulation of valvular interstitial cell calcification by components of the extracellular matrix. *Journal of Biomedical Materials research. Part A*, 90(4), 1043-1053.
  40. Orimo, H. (2010). The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in health and disease. *Journal of Nippon Medical School*, 77(1), 4-12.
  41. Rajamannan, N. M., Evans, F. J., Aikawa, E., Grande-Allen, K. J., Demer, L. L., Heistad, D. D., ... & Otto, C. M. (2011). Calcific aortic valve disease: Not simply a degenerative process a review and agenda for research from the National Heart and Lung and Blood Institute Aortic Stenosis Working Group. *Circulation*, 124(16), 1783.
  42. Srivatsa, S. S., Harrity, P. J., Maercklein, P. B., Kleppe, L., Veinot, J., Edwards, W. D., ... & Fitzpatrick, L. A. (1997). Increased cellular expression of matrix proteins that regulate mineralization is associated with calcification of native human and porcine xenograft bioprosthetic heart valves. *The Journal of clinical investigation*, 99(5), 996-1009.
  43. Toro, R., Mangas, A., & Gomez, F. (2010). Calcified aortic valve disease: association with atherosclerosis. *Medicina clinica*, 136(13), 588-593.
  44. Rajamannan, N. M. (2011). Calcific aortic valve disease: cellular origins of valve calcification. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(12), 2777-2778.
  45. Rajamannan, N. M., Bonow, R. O., & Rahimtoola, S. H. (2007). Calcific aortic stenosis: an update. *Nature clinical practice Cardiovascular medicine*, 4(5), 254-262.
  46. Roberts, S., Kosanke, S., Dunn, S. T., Jankelow, D., Duran, C. M., & Cunningham, M. W. (2001). Pathogenic mechanisms in rheumatic carditis: focus on valvular endothelium. *The Journal of infectious diseases*, 183(3), 507-511.
  47. Abbas, A., Ananthasubramaniam, K., Asinger, R., Badhwar, N., Crawford, M., Rivera Muñoz, B. and Alkhouli, M., n.d. (2016). *Diagnóstico y tratamiento en cardiología*. McGraw-Hill.
  48. Wasilewski, J., Mirota, K., Wilczek, K., Głowacki, J., & Poloński, L. (2012). Calcific aortic valve damage as a risk factor for cardiovascular events. *Polish journal of radiology*, 77(4), 30.
  49. Lu, M. L. R., Gupta, S., Romero-Corral, A., Matejková, M., De Venecia, T., Obasare, E., ... & Pressman, G. S. (2016). Cardiac calcifications on

- echocardiography are associated with mortality and stroke. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 29(12), 1171-1178.
50. Aikawa, E., & Otto, C. M. (2011). Look more closely at the valve: imaging calcific aortic valve disease. *Circulation*, 125(1), 9-11.
  51. Langanay, T., Rouzé, S., Tomasi, J., Aymami, M., Rehman, S. M., Anselmi, A., ... & Verhoye, J. P. (2018). Conventional aortic valve replacement in 2005 elderly patients: a 32-year experience. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 54(3), 446-452.
  52. Lis, G., Czubek, U., Jasek-Gajda, E., Łoboda, A., Dulak, J., Nessler, J., ... & Litwin, J. (2016). Influence of osteoclasts and osteoprotegerin on the mode of calcific degeneration of aortic valves. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej= Polish Archives of Internal Medicine*, 126(3).
  53. Johansen, N. B., Charles, M., Vistisen, D., Rasmussen, S. S., Wiinberg, N., Borch-Johnsen, K., ... & Witte, D. R. (2012). Effect of intensive multifactorial treatment compared with routine care on aortic stiffness and central blood pressure among individuals with screen-detected type 2 diabetes: the ADDITION-Denmark study. *Diabetes care*, 35(11), 2207-2214.
  54. Demer, L. L. (2001). Cholesterol in vascular and valvular calcification. *Circulation*, 104(16), 1881-1883.
  55. Tintut, Y., & Demer, L. (2011). The hemosteoblast: friend or foe?. *Circulation research*, 108(9), 1038-1039.
  56. Katz, R., Wong, N. D., Kronmal, R., Takasu, J., Shavelle, D. M., Probstfield, J. L., ... & D O'Brien, K. (2006). Features of the Metabolic Syndrome and Diabetes Mellitus as Predictors of Aortic Valve Calcification in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circulation*, 113(17), 2113-2119.
  57. Mohler III, E. R., Gannon, F., Reynolds, C., Zimmerman, R., Keane, M. G., & Kaplan, F. S. (2001). Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation*, 103(11), 1522-1528.
  58. Balaoing, L. R., Post, A. D., Liu, H., Minn, K. T., & Grande-Allen, K. J. (2014). Age-related changes in aortic valve hemostatic protein regulation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 34(1), 72-80.
  59. Esser, N., Paquot, N., & Scheen, A. J. (2015). Inflammatory markers and cardiometabolic diseases. *Acta Clinica Belgica*, 70(3), 193-199.
  60. Ladich, E., Nakano, M., Carter-Monroe, N., & Virmani, R. (2011). Pathology of calcific aortic stenosis. *Future cardiology*, 7(5), 629-642.
  61. Gago, J. M. (1997). La microscopía para el estudio de materiales y láminas delgadas. *Capítulo*, 19, 519-540.
  62. Vernon-Parry, K. D. (2000). Scanning electron microscopy: an introduction. *III-Vs Review*, 13(4), 40-44.
  63. Newbury\*, D. E., & Ritchie, N. W. (2013). Is scanning electron microscopy/energy dispersive X-ray spectrometry (SEM/EDS) quantitative?. *Scanning*, 35(3), 141-168.
  64. del Rocío, S. D. M., Mario, C. R., Abril, M. T., & Darío, A. C. Sistema de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria de Diabetes Tipo 2/Cierre anual

- 2015 de la Secretaría de Salud, Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud, Dirección General de Epidemiología.
65. Rajamannan, N. M. (2003). Subramaniam M, Rickard D, Stock SR, Donovan J, Springett M, Orszulak T, Fullerton DA, Tajik AJ, Bonow RO, Spelsberg T. Human aortic valve calcification is associated with an osteoblast phenotype. *Circulation*, *107*, 2181-2184.
  66. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2020). Características de las defunciones registradas en México durante 2019 (Comunicado de prensa núm. 480/20). [consultado el 05 Ene 2021]. Recuperado de <https://www.inegi.org.mx/contenidos/sala1deprensa/boletines/2020/EstSoCiodemo/DefuncionesRegistradas2019.pdf>
  67. Hjortnaes, J., New, S. E., & Aikawa, E. (2013). Visualizing novel concepts of cardiovascular calcification. *Trends in cardiovascular medicine*, *23*(3), 71-79.
  68. Jian, B., Jones, P. L., Li, Q., Mohler III, E. R., Schoen, F. J., & Levy, R. J. (2001). Matrix metalloproteinase-2 is associated with tenascin-C in calcific aortic stenosis. *The American journal of pathology*, *159*(1), 321-327.
  69. AD Association. (2018). 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2018. *Diabetes Care*, *41*(Supplement 1), S13-S27.
  70. de la Federación, D. O. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. *México: DOF*.
  71. Yutzey, K. E., Demer, L. L., Body, S. C., Huggins, G. S., Towler, D. A., Giachelli, C. M., ... & Aikawa, E. (2014). Calcific aortic valve disease: a consensus summary from the Alliance of Investigators on Calcific Aortic Valve Disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, *34*(11), 2387-2393.
  72. Fajardo Mejía, J. O. (2015). 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. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". Universidad Nacional Autónoma de México. México. CDMX. México.