



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**HALLAZGOS PRELIMINARES DEL EFECTO DEL AJO
DESODORIZADO SOBRE LA MODULACIÓN DEL ESTRÉS
OXIDANTE EN PLASMA DE PACIENTES CON SÍNDROME DE
MARFAN**

TESIS DE POSGRADO

Que para obtener el título de:
ESPECIALISTA EN CARDIOLOGÍA

Presenta:

Dr. Nicholas Guillermo Flores Flores

Tutores de Tesis:

Dr. Israel Pérez Torres

Investigador en Ciencias Médicas D

SNI II

Dra. María Elena Soto

Investigador en Ciencias Médicas E

SNI II

Ciudad de México, Octubre del 2021



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.

**HALLAZGOS PRELIMINARES DEL EFECTO DEL AJO
DESODORIZADO SOBRE LA MODULACIÓN DEL ESTRÉS
OXIDANTE EN PLASMA DE PACIENTES CON SÍNDROME DE
MARFAN**

AUTORIZACIONES





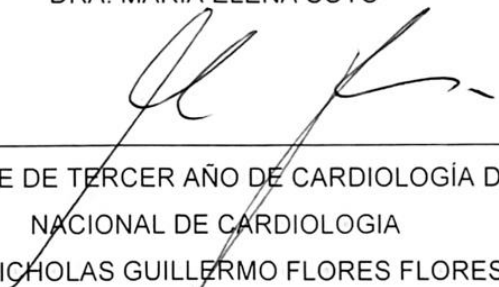
DIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
DR. CARLOS SIERRA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHAVEZ



TUTOR DE TESIS
DR. ISRAEL PÉREZ TORRES



TUTOR DE TESIS
DRA. MARÍA ELENA SOTO



MÉDICO RESIDENTE DE TERCER AÑO DE CARDIOLOGÍA DEL INSTITUTO
NACIONAL DE CARDIOLOGIA
DR. NICHOLAS GUILLERMO FLORES FLORES

Índice

1. Introducción	6
2. Marco Teórico	10
3. Planteamiento del Problema	11
4. Justificación.	12
5. Hipótesis	13
6. Objetivos	14
7. Metodología de la investigación	15
8. Consideraciones Éticas	29
9. Resultados	30
10. Discusión	39
11. Conclusión	46
12. Limitaciones del estudio	47
13. Bibliografía	48

Glosario

AHF: Antecedente heredofamiliar

CDNB: Dinitrobenzeno

CrS: Creatinina sérica

CT: Colesterol total

CVD: Enfermedad cardiovascular

MFS: Síndrome de Marfán.

DAS: Dialil sulfuro

DADS: Dialil disulfuro

DATS: Dialil trisulfuro

DG: Ajo deodorizado

EcSOD: Superóxido dismutasa

OS: Estrés oxidante

FBN-1: Fibrilina-1

GPx: Glutación peroxidasa

GST: Glutación S transferasa

GSH: Glutación

HDL: Lipoproteína de alta densidad

HS: Sujetos sanos

IMC: Índice de masa corporal,

iN02: Oxido nítrico sintasa inducible

LDL: Lipoproteína de baja densidad,

LPO: Lipoperoxidacion

ROS: Especies reactivas de oxígeno

SAC: S-alil-cisteína

SAMC: S-alilmercaptocisteína

SOD: superóxido dismutasa

SO₂: Dióxido de azufre

TG: Triglicéridos

Trx: tioredoxina

TrxR: Tioiredoxina reductasa

Relación de tablas y figuras

Tabla 1: Características Demográficas	31
Tabla 2: Química sanguínea en sujetos sanos.	32
Tabla 3: Biomarcadores redox del sistema no enzimático en plasma	37
Figura 1: Comparación de la actividad EcSOD entre grupos experimentales.	33
Figura 2: Actividad de las peroxidases evaluadas por análisis densitofotométrico.	34
Figura 3: Actividad de Gpx (panel A), GST (panel B) and TrxR (panel C) en HS	36

1. Introducción

El síndrome de Marfan (MFS) es un trastorno de origen genético con carácter autosómico dominante que afecta al gen que codifica la proteína fibrilina-1 (FBN-1); por tanto, alterando el tejido conectivo. Se asocia con deformidad y disfunción de las fibras elásticas, lo que da como resultado un daño estructural y funcional de la aorta que causa micro disección de la capa media y degeneración [1]. En el MFS, hay una transformación de las propiedades mecánicas de las arterias que conduce a la destrucción, obstrucción y / o formación de pseudoaneurismas o aneurismas. El daño al tejido aórtico se acompaña de disfunción vascular que se caracteriza por pérdida de la función contráctil y relajación dependiente del endotelio con estrés oxidante (OE) [1]. Además, el daño aórtico, la estenosis, los aneurismas o pseudoaneurismas y la disfunción endotelial podrían ser independientes de otros antecedentes genéticos específicos como la edad, el sexo y la exposición al medio ambiente, infecciones o traumatismos [2].

Actualmente ninguna terapia medica a logrado prevenir las complicaciones fatales asociadas a MFS, por lo que actualmente existe gran interés en el desarrollo de terapias experimentales, dirigidas a diversos objetivos dentro de los complejos mecanismos fisiopatologicos asociados a esta entidad, entro los cuales podemos resaltar el uso de inhibidores de metaloproteinasas como doxiciclina, bloqueadores de los receptores de andrógenos y oxytocina, hidralazina como inhibidor de la proteína cinasa C, entre otros. [3]

Además se ha observado que la administración de la infusión de hisbiscus sabdariffa L tiene propiedades antioxidantes que permite el incremento de la capacidad oxidativa de tanto sistemas enzimáticos como no enzimáticos en el plasma de pacientes con MFS [4]

2. Marco teórico

El estrés oxidante (OE) es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad de desintoxicar rápidamente sus agentes intermedios o de reparar el daño empleando el sistema antioxidante biológico. Esto da como resultado un desequilibrio en el proceso esencial del equilibrio redox celular [5]. La inestabilidad química de los ROS los hace ávidos por capturar electrones de otros átomos o moléculas de su entorno, provocando inestabilidad en las estructuras de los compuestos con los que reaccionan y estableciendo reacciones en cadena con moléculas vecinas. Las macromoléculas biológicas como lípidos, carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos son susceptibles de sufrir alteraciones debido a estas reacciones [6]. Sin embargo, los ROS son esenciales en los organismos vivos, ya que desempeñan un papel vital como moléculas de señalización para mantener la homeostasis celular en tejidos sanos. Permiten diversos procesos fisiológicos como la fecundación del óvulo por los espermatozoides, la activación de genes y participan en los mecanismos de defensa frente a infecciones [7]. El exceso de ROS está implicado en la enfermedad cardiovascular (CVD). En estas enfermedades, los ROS y las especies de nitrógeno reactivo son producidas por varias vías que incluyen mitocondrias, xantina oxidasa, NADPH oxidasa y óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) [8].

Se ha descrito la participación del OE en la progresión del daño aórtico en el SMF [9]. Hay un aumento de peroxidación lipídica (LPO) en modelos de ratón y pacientes con SMF. Existe una disfunción vasomotora en la aorta torácica asociada con el EO, que se relaciona con una disminución de la eNOS y un aumento de las vías de la iNOS, y una disminución de la actividad de las isoformas de superóxido dismutasa (SOD) [4]. Asimismo, los pacientes con SMF muestran un cuadro compatible con el EO, que define tanto los estadios iniciales de la enfermedad como su transición a estadios más avanzados. De ahí que sea

importante buscar estrategias para mejorar la capacidad antioxidante en esta enfermedad. En este sentido, existe una asociación inversa entre el consumo de frutas y verduras y el riesgo de enfermedades degenerativas donde con frecuencia se encuentra un aumento del EO. Por tanto, la ingesta de antioxidantes a través de los alimentos podría contribuir a reducir la oxidación a nivel endógeno, disminuyendo así las consecuencias negativas derivadas del OE [6]. Trabajos recientes indican que *Allium sativum* (ajo) tiene propiedades antioxidantes y reduce el EO presente en diversas CVD, protegiendo así los componentes celulares del daño oxidante [10]. Además, la suplementación con ajo crudo también tiene efectos preventivos sobre las alteraciones metabólicas inducidas por una dieta rica en grasas. Disminuye el nivel sérico de LDL, nivel sérico de triglicéridos, resistencia a la insulina, daño hepático y concentración de ácidos orgánicos totales en el ciego [11]. Los extractos de ajo desodorizado (DG) contienen fitoquímicos y compuestos orgánicos de azufre solubles en lípidos, como dialil-tiosulfonato (alicina) y selenio que protegen contra el OS [12]. El DG en tabletas tiene menos efectos secundarios dañinos que el ajo crudo, incluida la reducción de eritrocitos y el aumento de reticulocitos [12]. Además, el DG tiene efectos beneficiosos para el tratamiento de las CVD mediadas por ROS [13].

El DG estabiliza compuestos con propiedades antioxidantes como la alicina, S-alil-cisteína (SAC) y S-alilmercaptocisteína (SAMC) [10]. Estos compuestos estables ejercen una acción antioxidante al eliminar ROS, aumentando la actividad de enzimas antioxidantes celulares como las isoformas SOD, catalasa y GPx, y los niveles de GSH. Además, el DG reduce la LPO, reduce el daño por isquemia / reperfusión al miocardio e inhibe la modificación oxidativa de LDL, protegiendo así las células endoteliales del daño debido a moléculas oxidadas [14]. En una revisión en la que se analizó la suplementación con ajo y que incluyó cuatro metanálisis, el ajo redujo la presión arterial sistólica en 7-16 mmHg y la presión arterial diastólica en 5-9 mmHg. En otro estudio que utilizó suplementos de ajo, hubo una reducción del colesterol total en 27,4-29,8 mg / dL en 8 metanálisis [15]. Además, el DG tuvo beneficios más consistentes que el ajo crudo y se

documentaron reacciones adversas raras con una causalidad limitada establecida [16].

3. Planteamiento del Problema

El síndrome de Marfan es una enfermedad, infradiagnosticada, poco frecuente, heredable que afecta al tejido conectivo y muchas veces fatal sin tratamiento. Las anormalidades estructurales cardiovasculares se presentan en la mayoría de pacientes, predominando como dilatación y disección aórtica en pacientes adultos. Dentro de los mecanismos fisiopatológicos observados se encuentra el desequilibrio redox celular, con aumento del estrés oxidante. Hasta la fecha ninguna de las terapias medicas utilizadas se dirigen a este probable objetivo terapéutico.

4. Justificación.

El pronóstico de los pacientes diagnosticados con síndrome de marfan, determinado en la mayor parte por las manifestaciones cardiovasculares de dilatación aórtica, es malo, con evolución progresiva hasta el desarrollo de complicaciones como insuficiencia aórtica, disección o rotura, estando las dos últimas asociadas a gran mortalidad.

Dentro de las opciones terapéuticas se encuentra en tratamiento quirúrgico profiláctico con cambio de la raíz aórtica por injerto cuando cumple parámetros establecidos de dilatación y factores de riesgo asociado a una peor evolución.

Por otro lado, las terapias médicas más utilizadas no han demostrado prevenir los principales desenlaces adversos, por lo que existe actualmente creciente interés en terapias alternativas que se dirigen hacia varios objetivos dentro de la amplia fisiopatología de las manifestaciones cardiovasculares del síndrome de Marfan.

El aumento de estrés oxidante y el desequilibrio redox celular se encuentra claramente involucrado en el proceso fisiopatológico de dilatación aórtica. Estudios observacionales han indicado un efecto beneficioso de la suplementación de ajo sobre estas alteraciones, que puede constituir una ventana terapéutica con capacidad de modificar la historia natural de esta enfermedad. Este hecho justifica la realización del presente trabajo con el fin de observar objetivamente los efectos de la suplementación con ajo desodorizado sobre el sistema redox.

5. Hipótesis

La suplementación con ajo desodorizado tiene efecto antioxidante en los pacientes diagnosticados con síndrome de Marfan.

6. Objetivos

6.1. Objetivo General

Demostrar el efecto antioxidante de la suplementación con ajo desodorizado en el plasma de pacientes con síndrome de Marfan

6.2. Objetivos específicos

- Describir las características demográficas, clínicas y bioquímicas de los pacientes con síndrome de Marfan
- Evidenciar el efecto de la suplementación con ajo desodorizado sobre la actividad extracelular de superóxido dismutasa y peroxidasas
- Determinar la consecuencia de la suplementación sobre la actividad de la glutatión peroxidasa, glutatión transferasa y tioredoxina reductasa.
- Analizar el resultado de la administración de ajo desodorizado sobre los marcadores no enzimáticos del sistema antioxidante.

7. Metodología de la investigación

7.1. Diseño y tipo de estudio

Se trata de un estudio quasi-experimental controlado, abierto, analítico, prospectivo y longitudinal

7.2. Población de estudio

Se incluyó a 13 pacientes de ambos sexos, 6 hombres y 7 mujeres, que ingresaron en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez de forma consecutiva con dilatación de la raíz aórtica (> 50 mm). La dilatación se demostró mediante angiografía por resonancia magnética.

Los casos incluyeron pacientes con SMF, clasificados según los criterios de Ghent en 1996. Una vez que los pacientes cumplieron los criterios de inclusión, se analizó una investigación cardiológica de la situación clínica de cada paciente, incluyendo diversas indicaciones clínicas de su patología cardíaca.

Se obtuvieron estudios que incluyeron tiempos de coagulación, radiografías, electrocardiografía, evaluación anestésica, tratamiento médico actual y se tuvo cuidado de que los casos no estuvieran en tratamiento con antioxidantes, alopurinol o inhibidores de las probables vías involucradas en la producción de ROS. Los criterios de exclusión tomados en cuenta fueron un diagnóstico dudoso y / o la falta de acuerdo para firmar el consentimiento informado para el estudio de investigación.

A cada paciente se le explicó y solicitó su aprobación para incluir su plasma en este proyecto, se aclararon dudas y se obtuvo un consentimiento informado para tomar una muestra de sangre (basal) y otra posterior a los dos meses de iniciar el tratamiento con DG cuando se realizó la intervención. concluido.

7.3. Sujetos sanos

El grupo de control estuvo conformado por 13 hombres y / o mujeres sanos, quienes fueron evaluados previamente por un cardiólogo experto y reumatólogo para verificar que no tenían SMF. Se realizaron pruebas de laboratorio de rutina para determinar triglicéridos y HDL, LDL, glucosa, creatinina sérica y colesterol. Además, se realizó ecocardiografía, tomografía computarizada o resonancia magnética para descartar daño aórtico. Los sujetos sanos (HS) no tomaban antiinflamatorios, antioxidantes, DG ni estatinas. Medicamentos que pueden interferir con el resultado del estudio, como los AINE, los fármacos hipolipemiantes y los suplementos antioxidantes se suspendieron.

7.4. Tiempo de ejecución

Duración total de 2 meses

7.5. Criterios de selección

7.5.1. Criterios de inclusión

- Pacientes ingresados en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez con dilatación de la aorta demostrada por resonancia magnética.
- Clasificados según los criterios de Ghent en 1996, como pacientes con síndrome de Marián
- Cualquier género.
- Cualquier edad

7.5.2. Criterios de exclusión

- Diagnóstico dudoso
- Falta de acuerdo para firmar el consentimiento informado para el estudio de investigación.

- Tratamiento previo con antioxidantes, alopurinol o inhibidores de las probables vías involucradas en la producción de ROS

7.5.3. Criterios de eliminación

Interrupción o abandono del tratamiento

Negativa o impedimento para la toma de muestras de palmas

7.6. Tipo de muestreo

Se realizó muestreo por conveniencia a los criterios de inclusión y exclusión (no probabilístico).

7.7. Cálculo del tamaño de la muestra

El muestreo es por conveniencia. La muestra fueron 13 pacientes de ambos sexos, 6 hombres y 7 mujeres, con dilatación de la aorta demostrada por resonancia magnética, clasificados según los criterios de Ghent en 1996, como pacientes con síndrome de Marián, que cumplieron con los criterios de inclusión, sin encontrarse ninguno criterio de exclusión ni eliminación

7.8. Descripción operacional de las variables

Edad

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: tiempo transcurrido desde el nacimiento del paciente hasta el inicio del estudio.

Definición operacional: tiempo transcurrido en años desde el nacimiento del paciente, obtenido mediante revisión del expediente.

Nivel de medición: años.

Índice de masa corporal

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: relación entre peso medido en kilogramos y talla medida en metros elevado al cuadrado

Definición operacional: relación entre peso medido en kilogramos y talla medida en metros elevado al cuadrado, obtenido mediante medición directa al paciente.

Nivel de medición: kg/m^2

Sexo

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Definición conceptual: grupo al que pertenecen los seres humanos de cada sexo.

Definición operacional: se considera femenino o masculino de acuerdo con las características fenotípicas del paciente, obtenido mediante revisión del expediente.

Nivel de medición: masculino/femenino.

Criterios de Ghent

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Definición conceptual: características relacionadas con los antecedentes familiares, dilatación de aorta, ectopia lentís y score sistémico que en un conjunto integran la definición de Síndrome de Marfan

Definición operacional: características relacionadas con los antecedentes familiares, dilatación de aorta, ectopia lentís y score sistémico que en un conjunto integran la definición de Síndrome de Marfan obtenidas del expediente clínico, examen clínico y resonancia magnética.

Nivel de medición: Síndrome de Marfan / No síndrome de Marfan.

Score Sistémico

Tipo de variable: cuantitativa discreta

Definición conceptual: puntaje asignado de acuerdo a cada característica clínica presente relacionada con el síndrome de Marfan.

Definición operacional: puntaje asignado de acuerdo a cada característica clínica presente relacionada con el síndrome de Marfan obtenidas mediante inspección directa.

Nivel de medición: 0 a 20

Glucosa

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la concentración de plasmática de glucosa

Definición operacional: concentración de glucosa obtenida mediante determinación en plasma

Nivel de medición: mg/dl.

Creatinina

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la concentración de plasmática de creatinina

Definición operacional: concentración de creatinina obtenida mediante determinación en plasma

Nivel de medición: mg/dl.

Colesterol total

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la concentración de plasmática de colesterol total

Definición operacional: concentración de colesterol total obtenida mediante determinación en plasma

Nivel de medición: mg/dl.

Lipoproteína de Alta densidad

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la concentración de plasmática de HDL

Definición operacional: concentración de HDL obtenida mediante determinación en plasma

Nivel de medición: mg/dl.

Lipoproteína de baja densidad

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la concentración de plasmática de LDL

Definición operacional: concentración de LDL obtenida mediante determinación en plasma

Nivel de medición: mg/dl.

Triglicéridos

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la concentración de plasmática de triglicéridos

Definición operacional: concentración de triglicéridos obtenida mediante determinación en plasma

Nivel de medición: mg/dl.

Dilatación aórtica

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Definición conceptual: diámetro mayor de la raíz aórtica medido por resonancia magnética

Definición operacional: se considera como dilatación aórtica de acuerdo a las medidas establecidas en cada segmento aórtico medido por resonancia magnética

Nivel de medición: presente/ausente.

Ectopia Lentis

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Definición conceptual: dislocación del cristalino bilateral.

Definición operacional: se considera como ectopia lentis a la dislocación del cristalino bilateral documentada por exploración física

Nivel de medición: presente/ausente.

Actividad de EcSOD

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la actividad extracelular de EcSOD

Definición operacional: nivel de actividad extracelular EsSOD obtenido mediante determinación en plasma de

Nivel de medición: U/ml.

Actividad de Glutación peroxidasa

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la actividad plasmática de glutación peroxidasa

Definición operacional: nivel de actividad de glutación peroxidasa obtenido mediante determinación en plasma

Nivel de medición: U/ml.

Actividad de Glutation-S-Transferasa

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la actividad plasmática de glutacion-S-transferasa

Definición operacional: nivel de actividad de glutatión-S-transferasa obtenido mediante determinación en plasma

Nivel de medición: U/ml.

Actividad de Thioredoxin reductasa

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la actividad plasmática de Thioredoxin reductasa

Definición operacional: nivel de actividad de Thioredoxin reductasa obtenido mediante determinación en plasma

Nivel de medición: U/ml.

Concentración de GSH

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la concentración de plasmática de GSH

Definición operacional: concentración de GSH obtenida mediante determinación en plasma

Nivel de medición: U/ml.

Vitamina C

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la concentración de plasmática de vitamina C

Definición operacional: concentración de vitamina C obtenida mediante determinación en plasma

Nivel de medición: uM/ml.

Relación NO₃-/NO₂-

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la relación plasmática de NO₃-/NO₂-

Definición operacional: relación de NO₃-/NO₂- obtenida mediante determinación en plasma

Nivel de medición: nM/ml.

Carbonilación

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Definición conceptual: es la medida de la concentración de carbonilación

Definición operacional: concentración de carbonilación obtenida mediante determinación en plasma

Nivel de medición: nmol MDA LPO/ml.

7.9. Técnicas y procedimientos

7.9.1. Tratamiento

Se administraron tabletas de ajo chino *Allium Sativum* (Ajolín Forte® plus, Ajo desodorizado) de 500 mg por vía oral con agua, cada 12 horas durante 2 meses en pacientes con MFS. La información nutricional de las tabletas mostró un total de grasa de 750 mg, 600 µg de sodio, 20 g de carbohidratos y 0 g de proteína.

7.9.2. Recolección de muestras de sangre

Se recogieron cinco ml de sangre por paciente y se centrifugaron durante 20 min a 936 g a 4 ° C. El sedimento de glóbulos rojos se desechó y el plasma se recogió en alícuotas de 400 µl y se almacenó a -30 ° C hasta su uso. Se obtuvieron muestras de sangre de cada paciente antes del tratamiento y después de los dos meses de tratamiento con el DG.

7.9.3. Actividades de EcSOD y peroxidasas

La actividad extracelular de la superóxido dismutasa (EcSOD) se determinó en plasma mediante electroforesis en gel no desnaturizante y tinción con azul nitro de tetrazolio (NBT) como describen Pérez-Torres et al. Se aplicaron 25 µl de plasma directamente, sin hervir, a un gel de poliacrilamida al 10% no desnaturizante. La electroforesis se realizó a 120 voltios durante 4 horas. Posteriormente, se incubó el gel en una solución de NBT 2,45 mM durante 20 min, luego se desechó el líquido y se incubó el gel en una solución de EDTA 28 mM, que contenía fosfato de potasio 36 mM (pH 7,8) y riboflavina 0,028 mM. Después de 10 min de incubación en condiciones de oscuridad, la tinción de nitro azul tetrazolio para O₂⁻ se observó mediante exposición a luz ultravioleta durante otros 10 min. Como control positivo se utilizó SOD purificada de eritrocitos bovinos con una actividad específica de 112 U / mg de proteína (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.).

Para las actividades de las peroxidasas, se cargaron 35 μ l de peroxidasa de rábano picante a una concentración final de 178,5 μ g como estándar y se corrieron 25 μ l de plasma en las mismas condiciones del gel nativo como se describió previamente. Para observar la actividad de las peroxidasas, el gel se lavó con agua destilada tres veces, durante 5 min, y luego se incubó con una mezcla de 0,003 mg / mL de 3,3,5,5-tetrametilbencidina disuelta en una solución de etanol : ácido acético: agua (1: 1: 1) con H₂O₂ durante 10 min en la oscuridad [41]. En estas condiciones, donde hay peroxidasas, el gel permanece transparente y la 3, 3, 5, 5-tetrametilbencidina se oxida mostrando una coloración verde. Los geles para las actividades de EcSOD y peroxidasa se analizaron por densitometría con un sistema Kodak Image® 3.5.

7.9.4. Peróxido de glutathion

Para la actividad de la glutathion peroxidasa (GPx), se suspendieron 100 μ l de plasma en 1,6 ml de tampón fosfato 50 mM (pH 7,3), con NADPH 0,2 mM, GSH 1 mM y 1 UI / ml de glutathion reductasa añadidos. La mezcla se incubó durante 1 min a 37 ° C, luego se agregaron 100 μ l de H₂O₂ 0.25 mM para iniciar la reacción, y la absorbancia se controló durante 6 min a 340 nm. La actividad se expresa en nmol de plasma oxidado con NADPH / min / ml con un coeficiente de extinción de 6220 M – 1 cm – 1 a 340 nm para NADPH.

7.9.5. Glutathion-S-transferasa

Para la actividad de glutathion-S-transferasa (GST), se añadieron 700 μ l de tampón fosfato (0,1 M, pH 6,5) suplementado con 100 μ l de GSH 0,1 mM y 100 μ l de 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) 0,1 mM a 100 μ l de plasma. La muestra se incubó y se controló durante 10 min a 37 ° C a 340 nm. Los valores de actividad de GST se expresaron en U / min / ml de plasma. La actividad de GST se expresa como unidades de GS-DNB μ mol / min / ml de plasma con un coeficiente de extinción de 14150 M – 1 cm – 1.

7.9.6. Tiorredoxina reductasa

Para la actividad de la tiorredoxina reductasa (TrxR), se añadieron 100 µl de plasma suspendido en 3 ml de tampón fosfato 0,1 mM (KH₂PO₄, pH 7,0) a NADPH 0,2 mM, EDTA 1 mM y 0,1 mg / ml de albúmina de suero bovino. La muestra se leyó en presencia de 20 µl del inhibidor específico de TrxR (auranofina 10 µM) y junto con un duplicado de la muestra sin el inhibidor se determinó indirectamente por la cantidad de DTNB en presencia de NADPH para formar 2 moles de TNB . La oxidación de DTNB se controla a 412 nm a 37 ° C durante 6 min con un coeficiente de extinción de 13600 M⁻¹ cm⁻¹.

7.9.7. Peroxidación lipídica

Se añadieron 50 µl de CH₃-OH con BHT al 4% más tampón fosfato pH 7,4 a 100 µl de plasma. La mezcla se agitó vigorosamente en vórtice durante 5 segundos y luego se incubó en baño de agua a 37 ° C durante 30 min. Luego se agregaron 1,5 ml de ácido tiobarbitúrico 0,8 M y la muestra se incubó en un baño de agua a temperatura de ebullición durante 1 hora. Pasado este tiempo y para detener la reacción, las muestras se colocaron en hielo; Se añadió 1 ml de KCl al 5% a cada muestra, así como 4 ml de n-butanol; se agitaron en vórtice durante 30 segundos y se centrifugaron a 4000 rpm a temperatura ambiente durante 2 minutos. Luego se extrajo la fase de n-butanol y se midió la absorbancia a 532 nm. La curva de calibración se obtuvo utilizando tetraetoxipropano como estándar.

7.9.8. Carbonilación

Se agregaron 100 µl de plasma a 500 µl de HCl 2.5 N. Otra muestra con 500 µl de 2,4-dinitrofenilhidrazina y se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante una hora, agitando con un vórtice cada 15 min en paralelo. Al final del período de incubación, se agregaron 500 µl de ácido tricloroacético al 20% y la

muestra se centrifugó a 15.000 x g durante 5 min. Se descartó el sobrenadante. Se realizaron dos lavados, primero retirando el precipitado con un tubo capilar sellado agregando 1 ml de etanol / acetato de etilo. Se incubó durante 10 min y se centrifugó a 15.000 x g durante 10 min. Finalmente, se añadió 1 ml de clorhidrato de guanidina 6 M en KH₂PO₄ 20 mM pH 2,3. La mezcla se incubó nuevamente a 37 ° C durante 30 min. La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro a 370 nm, utilizando agua bidestilada como blanco y un coeficiente de absorción molar de 22.000 M – 1 cm – 1.

7.9.9. Relación NO₃⁻ / NO₂⁻

El NO₃⁻ se redujo a NO₂⁻ mediante la reacción de la enzima nitrato reductasa. Se mezclaron 100 µl de plasma previamente desproteinizado con 0,5 N, NaOH y ZnSO₄ al 10%, y se incubó el sobrenadante durante 30 min a 37 ° C en presencia de nitrato reductasa (5 unidades). Al final del período de incubación, 200 µl de sulfanilamida al 1% y se añadieron 200 µl de N-naftil-etildiamina al 0,1% y el volumen total se ajustó a 1 ml. La absorbancia se midió a 540 nm.

7.9.10. Concentración de GSH

Se añadieron 100 µl de plasma previamente desproteinizado con ácido tricloroacético al 20% (vol / vol) y centrifugado a 10.000 xg durante 5 min, a 800 µl de tampón fosfato 50 mM, pH 7,3, más 100 µl de reactivo de Ellman (5, 5' -ácido ditiobis-2-nitrobenzoico) 1M. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 5 min y se leyó la absorbancia a 412 nm.

7.9.10. Vitamina C

Se añadió ácido tricloroacético al 20% a 100 µl de plasma. Después de agitar vigorosamente, las muestras se mantuvieron en un baño de hielo durante 5 min y se centrifugaron a 5000 rpm durante 5 min; Se añadieron 200 µl de reactivo de

Folin-Ciocalteu 0,20 mM al sobrenadante. La mezcla se agitó vigorosamente en un vórtice durante 5 segundos y se incubó durante 10 min. La absorbancia se midió a 760 nm. La curva de calibración se obtuvo utilizando una solución estándar de ácido ascórbico.

7.10. Análisis estadístico

Se utilizó el programa Sigma Plot 14 para generar las gráficas y realizar los análisis estadísticos (Systat Software Inc. 2107, San José, CA95131 EE.UU. North First Street, Suite 360). La significación estadística entre los pacientes con MFS se determinó mediante la prueba de suma de rangos de Mann-Whitney seguida de la prueba de normalidad (Shapiro-Wilk). Los datos se presentan como la media \pm DS. La significación estadística se determinó mediante la prueba ANOVA de una vía, seguida de la prueba post hoc de Tukey. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p \leq 0.05$.

8. Consideraciones éticas

El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética de nuestra Institución (número de protocolo institucional: PT-18-101). El estudio se realizó de acuerdo con las normas éticas internacionales y la Ley General de Salud, así como de acuerdo con la declaración de Helsinki, modificada en el Congreso de Tokio, Japón y con consentimiento informado de pacientes y controles.

8.1. Conflicto de Intereses

Los autores declararon que no hay conflicto de interés en el presente estudio.

9. Resultados

9.1. Características generales

Se estudiaron un total de 13 pacientes con MFS y 13 sujetos sanos (HS). La edad en pacientes con MFS tuvo una mediana de 26 años con un mínimo de 14 y un máximo de 51. El índice de masa corporal en pacientes con MFS tuvo un valor mediano de 24 con un mínimo de 12 y un máximo de 30.

Los pacientes que tenían un familiar con MFS dilatación aórtica, tenían un diámetro medio en el anillo aórtico de 27 ± 4 , de 39 ± 7 senos de Valsalva, de 29 ± 5 unión tubular sinusal y de 28 ± 7 daño aórtico ascendente. El score sistémico tuvo una mediana de 10 con rangos de 8-12, de los cuales el número total de pacientes con deformidad torácica fue 12 (92%) de los cuales 6 (46%) tenían pectus excavatum y 6 (46%) tenían pectus carinatum. El HS mostró valores normales de glucosa, creatinina sérica, colesterol, HDL, LDL y triglicéridos.

Tabla 1 Características Demográficas

	Total	Hombres (n=6)	Mujeres (n=7)	P
Mediana (min-max)				
Edad	26 (14-51)	26 (14-51)	30 (16-42)	
IMC	24 (12-30)	23 (12-25)	24 (18-30)	
(mg/dL)				
Glucosa	90 ± 7	92 ± 9	88 ± 5	NS
CrS	0.67 ± 0.17	0.78 ± 0.20	0.58 ± 0.09	NS
CT	166 ± 40	154 ± 24	176 ± 50	NS
HDL	50 ± 13	47 ± 12	53 ± 15	NS
LDL	96 ± 28	93 ± 30	99 ± 29	NS
TG	119 ± 59	122 ± 85	117 ± 32	NS
		Score		
Criterios de Ghent	8 (62)	4 (66.6)	4 (57)	NS
Ectopia lentis	4 (31)	1 (17)	3 (43)	NS
Dilatación aórtica	9 (69)	5 (83)	4 (57)	NS
Score sistémico	13 (100)	6 (100)	7 (100)	NS
AHF	9 (69)	5 (83)	4 (57)	NS
<p>Abreviaciones: IMC= Índice de masa corporal, CT= Colesterol total, CrS= Creatinina serica, HDL= Lipoproteina de alta densidad, LDL= Lipoproteina de baja densidad, AHF= Antecedente heredofamiliar, TG= Triglicéridos</p>				

Tabla 2 Química sanguínea en sujetos sanos.

Glucosa (mg/dL)	85.84 ± 5.49
CrS (mg/dL)	0.77 ± 0.02
CT (mg/dL)	174.38 ± 5.56
HDL (mg/dL)	41.23 ± 1.81
LDL (mg/dL)	97.23 ± 4.46
TG (mg/dL)	109.23 ± 15.62

Abreviaciones: CT= Colesterol total, CrS= Creatinina serica, HDL= Lipoproteina de alta densidad, LDL= Lipoproteina de baja densidad, TG= Triglicéridos

9.2. Actividades extracelulares de superóxido dismutasa y peroxidasas

Nuestros resultados muestran que la actividad de EcSOD aumentó significativamente en pacientes con HS y MFS + DG ($p < 0,001$), en comparación con los pacientes con MFS. (Figura 1)

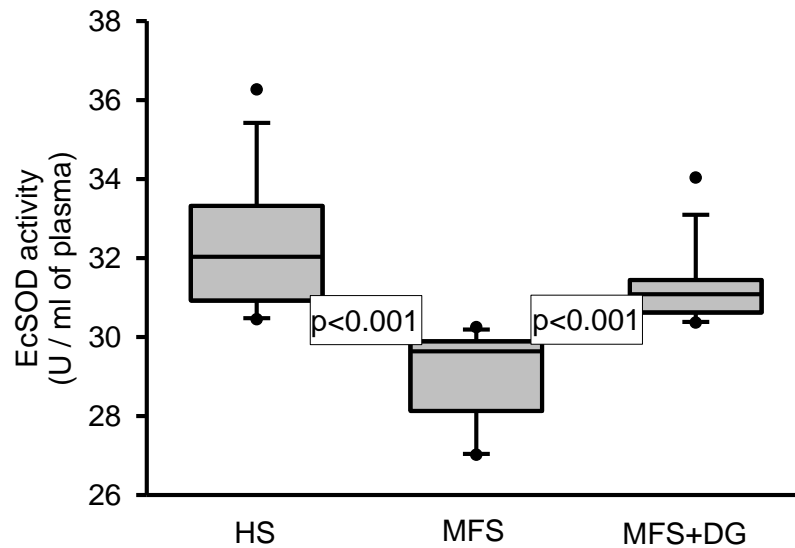


Figura 1. Comparación de la actividad EcSOD entre grupos experimentales. Abreviaciones: HS= Sujeto sano, MFS= Síndrome de Marfan, and MFS+DG= Síndrome de Marfan mas ajo deodorizado.

La actividad de las peroxidases se incrementó significativamente en los pacientes con HS y MFS + DG en comparación con los pacientes con MFS ($p < 0,001$) (Figura 2).

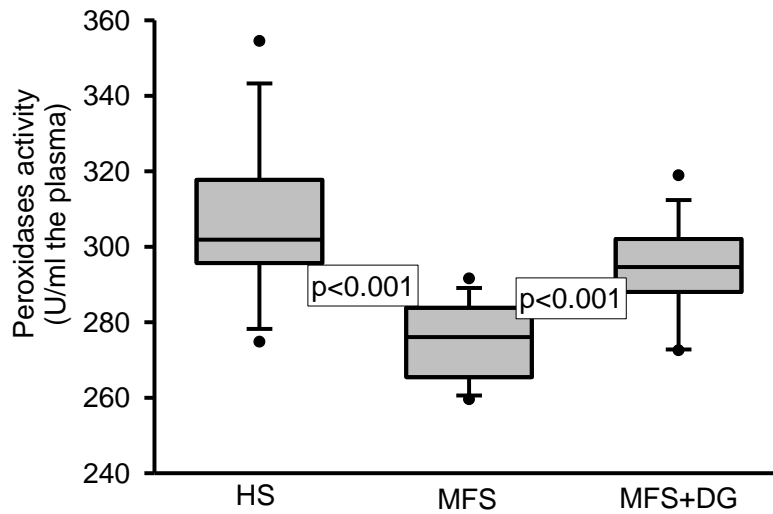


Figura 2 Actividad de las peroxidases evaluadas por análisis densitofotometrico. Abreviaciones: HS= Sujeto sano, MFS= Síndrome de Marfan, and MFS+DG= Síndrome de Marfan mas ajo deodorizado.

9.3. Actividades GPx, GST y TrxR

Los resultados de la actividad de GPx mostraron una disminución significativa en los pacientes con MFS en comparación con HS ($p = 0,001$). Sin embargo, el tratamiento con DG en pacientes con SMF solo mostró una tendencia al aumento ($p = 0,08$) sin alcanzar un valor significativo (Figura 3A)

Nuestros resultados muestran que la actividad de GST se redujo significativamente en los pacientes con MFS en comparación con los HS y los pacientes con MFS + DG ($p = 0,02$ y $p = 0,05$ respectivamente 3B). El TrxR en pacientes con MFS disminuyó significativamente en comparación con el de HS y MFS + DG ($p < 0,001$ y $p = 0,03$ respectivamente, Figuras 3C).

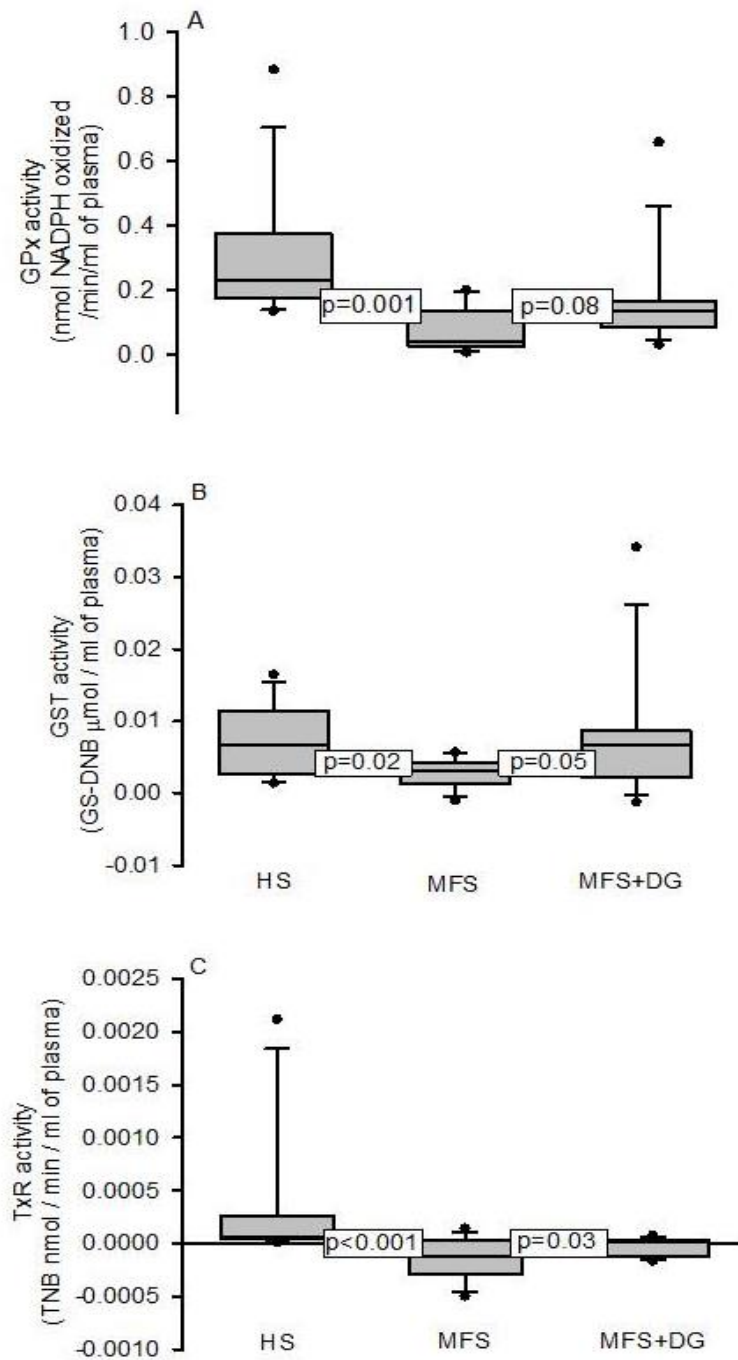


Figura 3 Actividad de Gpx (panel A), GST (panel B) and TrxR (panel C) en HS (n=13), MFS (n=13) y MFS después de tratamiento con DG. Abreviaciones: HS= Sujeto sano, MFS= Síndrome de Marfan, and MFS+DG= Síndrome de Marfan mas ajo deodorizado.

9.4. Marcadores no enzimáticos del sistema antioxidante; Peroxidación y carbonilación de lípidos

Hubo un aumento significativo en los niveles de LPO ($p \leq 0,001$ $yp = 0,01$), carbonilación ($p \leq 0,001$) y relación NO_3^- / NO_2^- en el grupo MFS en comparación con los grupos HS y MFS + DG ($p \leq 0,001$ $yp = 0,01$ respectivamente). Sin embargo, los niveles de GSH mostraron una disminución en los pacientes con MFS con una diferencia significativa en comparación con los grupos HS y MFS + DG respectivamente ($p \leq 0,001$ $yp = 0,01$). Los niveles de vitamina C no mostraron cambios significativos en los distintos grupos.

Tabla 3 Biomarcadores redox del sistema no enzimático en plasma

Parametros (ml de plasma)	HS	MFS basal	MFS + DG
LPO (nmol MDA)	5.25 ± 0.56	11.06 ± 0.69**	8.33 ± 0.45*
Carbonilacion (nmol carbor	0.08 ± 3.57x10 ⁻³	0.11 ± 3.30x10⁻³	0.09 ± 3.08x10⁻³
NO₃⁻/NO₂⁻ (nM)	1.45 ± 0.12	2.46 ± 0.19**	1.63 ± 0.19[†]
GSH (nM)	0.06 ± 2.42x10 ⁻³	0.05 ± 1.76x10⁻³	0.06 ± 4.17x10⁻³
Vitamina C (µM)	0.20 ± 0.01	0.18 ± 6.70x10 ⁻³	0.19 ± 7.08x10 ⁻³

**HS vs. MFS basal $p \leq 0.001$, [†]MFS vs. MFS+DG $p \leq 0.001$ and *HS and MFS+DG vs. MFS $p = 0.01$. Abreviaciones: DG= ajo desodorizado, HS= sujetos sanos, MFS= síndrome de marfan, LPO= peroxidacion lipídica, NO_3^- / NO_2^- = relación nitrato y nitrito GSH= Glutati6n

10. Discusión

El uso medicinal del ajo en la práctica popular es extremadamente antiguo en muchas culturas y miles de investigaciones en el mundo han demostrado el efecto beneficioso en diferentes patologías como hipertensión, dislipidemia, resistencia a la insulina, por mencionar algunas. Los efectos beneficiosos del ajo se deben a compuestos organosulfúricos, como la alicina, E / Z-ajoeno, SAC, S-alil-cisteína sulfóxido (aliína), SAMC, dialil sulfuro (DAS), dialil disulfuro (DADS), dialil trisulfuro (DATS), gamma-glutamyl tripéptidos y dióxido de azufre (SO₂) entre otros [6].

Por otro lado, en modelos animales y humanos con MFS existe formación de aneurismas y pseudoaneurismas aórticos que se acompañan de disfunción endotelial, inflamación crónica, aumento de la expresión y actividad de metaloproteinasas y disminución de las enzimas antioxidantes y SG. Estas alteraciones se deben a la mutación genética del gen de la fibrilina-1 (FBN-1) [16].

EL OS es un desequilibrio entre un aumento de las ROS y una disminución de los sistemas enzimáticos y no enzimáticos, lo que conduce a la pérdida de la homeostasis redox celular que causa daño a órganos y sistemas.

10.1. Actividad de EcSOD

Para contrarrestar el OS existen sistemas antioxidantes, de los cuales las isoformas SOD participan como primera línea de desintoxicación frente al anión O₂⁻ reduciéndolo a H₂O₂. El EcSOD es una isoforma con un centro catalítico constituido por un núcleo de cobre-zinc. Esta enzima se expresa en los vasos sanguíneos, principalmente en la superficie de las células del músculo liso vascular y el espacio subendotelial. Contiene un dominio de unión que lo une a proteoglicanos y heparán sulfatos que se expresan en la superficie celular. Esta enzima puede secretarse en el espacio extracelular y se encuentra en el plasma [17]. Los resultados de este estudio sugieren que la disminución de la actividad de EcSOD podría contribuir al SG en pacientes con MFS. Esto podría estar asociado

con la mutación genética de fondo FBN-1 presente en estos pacientes que contribuye a la disfunción vascular y a la formación de aneurismas [18]. La mutación de FBN-1 también se asocia con una disminución de heparina / heparán sulfato y la EcSOD tiene un dominio de unión que se une a este complejo. Por lo tanto, la expresión o actividad de EcSOD puede alterarse en respuesta a una variedad de estímulos, incluidos factores genéticos como polimorfismos en el dominio de unión a heparina [19]. Además, una disminución de la actividad de EcSOD aumenta el riesgo de enfermedades relacionadas con el OS como la lesión pulmonar aguda, la cardiopatía isquémica y la insuficiencia renal [18]. Los estudios experimentales en modelos animales muestran que la manipulación genética con delección o sobreexpresión del gen EcSOD, exacerba o previene estados de enfermedad crónica, proporcionando evidencia de un papel causal de la expresión reducida de EcSOD ectópica en estas patologías [20]. Por ejemplo, los ratones knockout para EcSOD desarrollan fibrosis cardíaca e hipertrofia ventricular y esto se asocia con daño oxidante [21]. Esto sugiere que la expresión o actividad de EcSOD es muy importante en el desarrollo de CVD [22]. Otro estudio demostró que la actividad de EcSOD en el plasma de pacientes con MFS disminuyó y que una infusión de Hibiscus sabdariffa al 2% aumentó la actividad de esta enzima [4]. Nuestros resultados muestran que el tratamiento con DG aumenta la actividad de EcSOD en pacientes con MFS. El efecto beneficioso del ajo se debe a los compuestos orgánicos sulfúricos como SAC y SAMC responsables de la transcripción de algunas enzimas antioxidantes como las isoformas SOD a través de la vía Nrf2 [23]. Además, este resultado sugiere que la concentración del anión O_2^- disminuye pero el H_2O_2 aumenta.

10.2. Actividad GPx

Para eliminar el H_2O_2 , el sistema antioxidante celular cuenta con otras enzimas que emplean esta molécula como sustrato, y el 12% de las funciones de EcSOD están relacionadas con la actividad de algunas de las isoformas GPx [9]. Las isoformas de GPx catalizan la reacción de oxidación del glutatión (GSH) a

disulfuro de glutatión utilizando H₂O₂. Además, cataliza la inactivación de estas moléculas incluso a concentraciones fisiológicas normales [24]. La actividad de esta enzima representa la respuesta protectora inicial necesaria para ajustar la concentración de H₂O₂ en condiciones fisiológicas normales después de una agresión oxidativa [25]. Sin embargo, la actividad de GPx se reduce por condiciones prooxidativas tales como estados inflamatorios que pueden inducir una mayor acumulación de ROS [26]. Por lo tanto, la actividad de GPx es esencial para mantener la homeostasis redox celular [9]. Nuestros resultados muestran que la actividad de GPx en el plasma de los pacientes con MFS disminuyó como se había informado previamente [26], y que el tratamiento con DG tendió a aumentarla. Esto sugiere que el DG puede favorecer la actividad de GPx en estos pacientes favoreciendo una disminución de la SG. Varios estudios han informado que los compuestos orgánicos sulfúricos del ajo pueden inducir la expresión del gen GPx [27]. Otro estudio mostró que la administración de ajo activó la fosforilación del factor Nrf2 en la corteza cerebral, lo que se asoció a un aumento en la transcripción de los genes GPx [28]. El tratamiento con DG también puede aportar selenio, un micronutriente esencial para el centro catalítico de varias enzimas antioxidantes como GPx y TrxR, favoreciendo así un aumento de su actividad. En pacientes con síndrome de Loeys-Dietz, una variante grave del MFS, hay una disminución en la expresión de GPx, GST, TrxR, selenio y Nrf2 en el aneurisma de la aorta torácica [29]. Sin embargo, en los pacientes con MFS, la participación del selenio requiere más estudios.

10.3. Actividad de TrxR

TrxR es otra proteína dependiente de selenio que posee una selenocisteína en su sitio catalítico [30]. La SG moderada puede inducir un aumento compensatorio de la actividad TrxR y reducir la modificación oxidativa de las proteínas presentes en varias patologías [31]. Sin embargo, TrxR está disminuido en patologías crónicas con EO grave y alteraciones metabólicas [32]. En la disfunción endotelial, TrxR disminuye y esto se asocia con un estado protrombótico y proinflamatorio [33]. El

sistema de tiorredoxina en los mamíferos consta de dos componentes antioxidantes; la tiorredoxina (Trx) y TrxR. La enzima TrxR cataliza la reducción de disulfuro en el sitio activo de Trx en presencia de NADPH. Facilita la reducción de proteínas que contienen tiol a través del intercambio de cisteína tiol-disulfuro que es oxidado por ROS. Por tanto, mejora el mal funcionamiento de las proteínas, receptores celulares y / o enzimas [34]. La transferencia de electrones ocurre por medio de un mecanismo específico de oxidación reversible de los dos grupos sulfhidrilo de la proteína vecina que involucran un puente disulfuro. Además, el sistema de tiorredoxina también es capaz de degradar el H₂O₂ [35]. Los resultados de este estudio sugieren que la disminución en la actividad de TrxR en pacientes con MFS podría estar asociada a la SG de fondo vinculada a la mutación genética. Estos cambios están asociados a la falta de enlaces disulfuro formados entre microfibrillas donde el sistema tiorredoxina es esencial para la reducción de estos puentes [36]. Sin embargo, el tratamiento con DG favorece un aumento de la actividad de esta enzima, lo que podría contribuir a disminuir la SG y aumentar la reducción entre los enlaces disulfuro de las microfibrillas. Entonces podría contribuir a ralentizar la formación o ruptura del aneurisma. Sin embargo, el mecanismo exacto en esta vía no se ha descrito con precisión y son necesarios más estudios para dilucidar la participación del sistema Trx / TrxR en este síndrome. A pesar de lo anterior, el efecto beneficioso del ajo se ha asociado a compuestos orgánicos de azufre como el DATS, que modula la expresión y actividad del sistema Trx / TrxR [37]. Estos conjugados de azufre pueden favorecer un aumento en la producción de H₂S en presencia de Trx reducida. [38]. El H₂S es una molécula lipofílica que controla funciones importantes en la célula, incluida la regulación de la vía Keap1-Nrf2 [6]. Además, otras enzimas antioxidantes que son necesarias en el proceso de reducción del H₂O₂ son las peroxidasas. Estas enzimas juegan un papel importante en la inmunidad innata y en una serie de procesos fisiológicamente importantes como la apoptosis y la señalización celular [39].

10.4. Actividad de las peroxidasas

Nuestros resultados muestran que la actividad de las peroxidasas disminuye en pacientes con MFS. Esto puede deberse a la mutación FBN-1 ya que las fibrilinas constituyen la columna vertebral de las microfibrillas en la matriz extracelular de tejidos elásticos y no elásticos. Las mutaciones en las fibrilinas se asocian con una amplia gama de trastornos del tejido conectivo y la formación de aneurismas y regulan las vías de la inmunidad innata, la inflamación, la disfunción endotelial y la homeostasis tisular [40]. Además, la baja actividad de estas enzimas puede contribuir a la oxidación de fondo que se ve favorecida, en parte, por el aumento del H₂O₂ en pacientes con MFS. Además, otros estudios han demostrado que la actividad de las peroxidasas disminuye en el suero humano con síndrome metabólico y daño endotelial [41], y en el riñón de ratas con síndrome metabólico [4]. Sin embargo, el tratamiento con DG aumentó la actividad de estas enzimas, lo que podría ayudar a reducir el EO en estos pacientes. En las células HepG2, la incubación de 24 horas con 0,25 a 1,0 mM de DAS aumenta tanto el ARNm como la expresión de hemo oxigenasa-1 (HO-1), que es un tipo de peroxidasa, de 1,8 a 6,6 veces [43]. Además, el tratamiento con DAS aumentó la expresión de HO-1 en ratas con daño hepático [44].

10.5. Actividad de GST

Otra enzima que mostró una disminución en su actividad en pacientes con MFS fue GST. Esta es una enzima metabolizadora de fármacos de fase II que pertenece a una familia de proteínas multifuncionales que desintoxican una amplia variedad de xenobióticos electrofílicos al catalizar su conjugación con GSH. También reduce muchos hidroperóxidos orgánicos en alcoholes [45]. La disminución de la actividad de esta enzima podría favorecer la acumulación de los productos LPO, incluido el 4-hidroxi-2-trans-nonenal [46]. El 60% del 4-hidroxi-2-trans-nonenal es metabolizado por la GST en las células vasculares mediante conjugación con GSH [47]. Las altas concentraciones de este producto de LPO favorecen la apoptosis en las células endoteliales. En ratones sin GSTA4, se ha

informado de un aumento del nivel de 4-hidroxi-2-trans-nonenal [48]. Sin embargo, el tratamiento con DG pudo favorecer un aumento de esta enzima contribuyendo así a la reducción de la SG. Diferentes compuestos del ajo están relacionados con el aumento de la actividad de esta enzima, incluidos DADS y DATS, que aumentaron significativamente las actividades de GST en el daño hepático por tetracloruro de carbono en ratas [49]. Otro estudio demostró que los compuestos orgánicos de azufre aumentaron la actividad y el ARNm de GST en el hígado de rata, y este efecto se asoció con DAS, DADS y DATS [50]. Además, la reducción de las actividades de GST y GPx también puede ser causada por el agotamiento de GSH, ya que ambas enzimas dependen de él [51].

10.6. Biomarcadores redox del sistema no enzimático

GSH es el antioxidante intracelular endógeno más abundante presente en las células. Este tripéptido tiene la capacidad de inactivar el anión O_2^- y el hidroxilo radical y juega un papel central en las defensas antioxidantes. El daño celular irreversible ocurre cuando la célula no puede mantener su concentración intracelular de GSH [52]. Nuestros resultados muestran que la concentración de GSH se redujo significativamente en los pacientes con MFS. Por lo tanto, podría haber una deficiencia de las moléculas precursoras como cisteína, glutamato y glicina o una disminución en la actividad de las enzimas que sintetizan el GSH como la γ -glutamil-cisteína sintetasa y GSH sintetasa. Sin embargo, el tratamiento con DG aumentó la concentración de GSH favoreciendo la reducción del EO a través del aporte de una mayor cantidad de esta molécula antioxidante que también actúa como sustrato de GPx y GST [53]. El GSH se puede obtener a través de la dieta al consumir alimentos como el ajo, que contiene compuestos de tioalilo como el DAS DADS y DATS. Estos compuestos mantienen el nivel de GSH intracelular modulando su aumento y previniendo su agotamiento probablemente a través de las enzimas que participan en la síntesis de GSH [54].

Por otro lado, existe una disfunción endotelial que está asociada a la mutación del gen FBN-1 en pacientes con MFS [55], esta disfunción puede inactivar la eNOS y

aumentar la expresión / actividad de la iNOS, lo que conduce a una mayor producción de NO que contribuye a la inflamación. En estudios previos en pacientes con SMF hemos demostrado que el ácido oleico aumenta [56]. Este ácido puede aumentar NF- κ B que participa en la sobreproducción de iNOS y en la disminución de la expresión de eNOS fosforilada. Estos cambios conducen a un aumento de NO que se asocia con la formación de aneurismas y disfunción endotelial [55]. Nuestros resultados muestran un aumento de la relación NO $_3^-$ / NO $_2^-$. Los metabolitos NO pueden participar en la inflamación crónica presente en este síndrome. Además, la pérdida del redox, la homeostasis junto con la inducción de la expresión / actividad de iNOS y con la posterior exacerbación del NO a través de la activación de NF- κ B, podría conducir a la formación de peroxinitritos (ONOO $^-$). ONOO $^-$ afecta las funciones de las proteínas modificando los grupos tiol reactivos esenciales y / o residuos de tirosina, lo que conduce a la formación de grupos tiol oxidados o la formación de 3-nitrotirosina en proteínas que pueden inducir la S-nitrosilación [56]. La S-nitrosilación también puede regular la expresión de genes proinflamatorios. Además, la S-nitrosilación altera la relajación tanto dependiente como independiente del endotelio y estos efectos van acompañados de una inactivación irreversible de las enzimas antioxidantes [57]. Sin embargo, el tratamiento con DG puede favorecer la inhibición de iNOS [58]. Un estudio reciente demostró que la administración de SAC en ratas disminuyó significativamente la expresión de NF- κ B, TNF- α e iNOS, ejerciendo un efecto protector contra la toxicidad inducida por cromo [53]. Por otro lado, tanto la LPO como la carbonilación son el resultado de la pérdida de homeostasis redox en estos pacientes. En este sentido, la LPO es un marcador de daño a las membranas celulares por ROS y la carbonilación es un marcador de daño proteico por ROS. El NO es también un intermediario importante tanto en la LPO como en la iniciación de la carbonilación a través de la formación de ONOO $^-$ [59]. El tratamiento con DG logró reducir ambos índices a través de sus componentes de azufre modulando las enzimas antioxidantes.

11. Conclusión

El tratamiento con DG contribuye a reducir el umbral de estrés oxidante al aumentar las enzimas antioxidantes en el plasma en pacientes con MFS. La aplicación de terapias alternativas como el ajo que tiene propiedades antioxidantes podría ayudar en la prevención y mitigación del estrés oxidante adverso en los pacientes con MFS y por lo tanto tener un impacto beneficioso en la supervivencia del paciente. Estos hallazgos relevantes sugieren la necesidad de realizar estudios multicéntricos o estudios sistemáticos que brinden este tipo de terapias que puedan mejorar el estado redox de estos pacientes y que puedan ser adecuadas al contexto clínico de cada sujeto en particular.

12. Limitaciones del estudio

La principal limitación de nuestro estudio es el pequeño tamaño de la muestra de pacientes con SMF. La patología ocurre con una incidencia de 2-3 por 10000 individuos; por tanto, el seguimiento del proyecto experimental fue complejo. Además, no se evaluaron las determinaciones de las características demográficas de los pacientes con MFS después del tratamiento con DG. Los sujetos sanos incluidos fueron perfectamente estudiados para determinar que eran los mejores controles posibles y no hubo grupo control con tratamiento con ajo.

13. Bibliografía

1. Du, Q.; Zhang, D.; Zhuang, Y.; Xia, Q.; Wen, T.; Jia, H. [The molecular genetics of Marfan syndrome.](#) *Int. J. Med. Sci.* **2021**, *18*, 2752–2766. doi: 10.7150/ijms.60685.
2. Sy Yong, H.T.; Chung, [A.W.Y.](#); Yang [H.H.C.](#); van Breemen, [C.](#) [Dysfunction of endothelial and smooth muscle cells in small arteries of a mouse model of Marfan syndrome.](#) *Br. J. Pharmacol.* **2009**, *58*, 1597–608. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00439.x.
3. Deleeuw Violette,; De Clercq A.; De Backer J.; Spis P.; An overview of investigational and experimental drug treatment strategies for Marfan Syndrome. *Journal of Experimental Pharmacology* 2021:13 755-799. doi: **10.1517/13543784.2015.1059421.**
4. Soto, [M.E.](#); [Zuñiga-Muñoz, A.](#); [Guarner-Lans, V.](#); [Duran-Hernández, E.J.](#); [Pérez-Torres, I.](#) Infusion of hibiscus sabdariffa L. modulates oxidative stress in patients with Marfan syndrome. *Mediators. Inflamm.* **2016**, *2016*, 8625203. doi: 10.1155/2016/8625203.
5. Portelli, S.S.; Hambly, B.D.; Jeremy, R.W.; Robertson, E.N. [Oxidative stress in genetically triggered thoracic aortic aneurysm: role in pathogenesis and therapeutic opportunities.](#) *Redox. Rep.* **2021**, *26*, 45–52. doi: 10.1080/13510002.2021.1899473.
6. Pérez-Torres, I.; Castrejón-Téllez. V.; Soto, M.E.; Rubio-Ruiz, M.E.; Manzano-Pech, L.; Guarner-Lans, V. [Oxidative stress, plant natural antioxidants, and obesity.](#) *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 1786. doi: 10.3390/ijms22041786.

7. Dröge, W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* **2002**, *82*, 47–95. doi: 10.1152/physrev.00018.2001.
8. Donia, T.; Khamis, A. [Management of oxidative stress and inflammation in cardiovascular diseases: mechanisms and challenges.](#) *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2021**, *28*, 34121–34153. doi: 10.1007/s11356-021-14109-9.
9. van Andel, M.M.; Groenink, M.; Zwinderman, A.H.; Mulder, B.J.M.; de Waard, V. [The potential beneficial effects of resveratrol on cardiovascular complications in Marfan syndrome patients-insights from rodent-based animal studies.](#) *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 1122. doi: 10.3390/ijms20051122.
10. Mirondo, R.; Barringer, S. [Deodorization of garlic breath by foods, and the role of polyphenol oxidase and phenolic compounds.](#) *J. Food. Sci.* **2016**, *81*, C2425–C2430. doi: 10.1111/1750-3841.13439.
11. Turnbaugh, P.J.; Ley, R.E.; Mahowald, M.A.; Magrini, V.; Mardis, E.R.; Gordon, J.I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, **2006**, *444*, 1027–1031. doi: 10.1038/nature05414.
12. Harauma, A.; Moriguchi, Toru. Aged garlic extract improves blood pressure in spontaneously hypertensive rats more safely than raw Garlic. *J. Nutr.* **2006**, *136*, 769S–773S. doi: 10.1093/jn/136.3.769S.
13. Munch, R.; Barringer, S.A. [Deodorization of garlic breath volatiles by food and food components.](#) *J. Food. Sci.* **2014**, *79*, C526–C533. doi: 10.1111/1750-3841.12394.
14. Varshney, R.; Budoff, M.J. Garlic and heart disease. *J. Nutr.* **2016**, *146*, 416S–421S. doi: 10.3945/jn.114.202333.

15. Kwak, J.S.; Kim, J.Y.; Paek, J.E.; Lee, Y.J.; Kim, H.R.; Park, D.S.; Kwon, O. [Garlic powder intake and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials](#). *Nutr. Res. Pract.* **2014**, *8*, 644–654. doi: 10.4162/nrp.2014.8.6.644.
16. [Robinson](#), P.N.; [Arteaga-Solis](#), E.; [Baldock](#), C.; [Collod-Bérout](#), G.; [Booms](#), P.; [De Paepe](#), A.; [Dietz](#), H.C. [Guo](#), G.; [Handford](#), P.A.; [Judge](#), D.P.; [Kielty](#), C.M.; [Loeys](#), B.; [Milewicz](#), D.M.; [Ney](#), A.; [Ramirez](#), F.; [Reinhardt](#), D.P.; [Tiedemann](#), K.; [Whiteman](#), P.; [Godfrey](#), M. The molecular genetics of Marfan syndrome and related disorders. *J. Med. Genet.* **2006**, *43*, 769–787. doi: 10.1136/jmg.2005.039669.
17. Pech, L.G.M.; Caballero-Chacón, S.; Guarner-Lans, V.; Díaz-Díaz, E.; Gómez A.M.; Pérez-Torres, I. Effect of oophorosalingo-hysterectomy on serum antioxidant enzymes in female dogs. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 9674. doi: 10.1038/s41598-019-46204-w.
18. Yan, [Z.](#); [Spaulding](#), H.R. Extracellular superoxide dismutase, a molecular transducer of health benefits of exercise. *Redox. Biol.* **2020**, *32*, 101508. doi: 10.1016/j.redox.2020.101508.
19. Karlsson, K.; Marklund, S.L. Heparin-induced release of extracellular superoxide dismutase to human blood plasma. *Biochem. J.* **1987**, *242*, 55–59. doi: 10.1042/bj2420055.
20. Hartney, J.M.; Stidham, T.; Goldstrohm, D.A.; Oberley-Deegan, R.E.; Weaver, M.R.; Valnickova-Hansen, Z.; Scavenius, C.; Benninger, R.K.; Leahy, K.F.; Johnson, R.; Gally, F.; Kosmider, B.; Zimmermann, A.K.; Enghild, J.J.; Nozik-Grayck, E.; Bowler, R.P. [A common polymorphism in extracellular superoxide](#)

[dismutase affects cardiopulmonary disease risk by altering protein distribution.](#)

Circ. Cardiovasc. Genet. **2014**, 7, 659–666. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000504.

21. Yao, H.; Arunachalam, G.; Hwang, J.W.; Chung, S.; Sundar, I.K.; Kinnula, V.L.; Crapo, J.D.; Rahman, I. Extracellular superoxide dismutase protects against pulmonary emphysema by attenuating oxidative fragmentation of ECM. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, 107, 15571–15576. doi: 10.1073/pnas.1007625107.

22. van Deel, E.D.; Lu, Z.; Xu, X.; Zhu, G.; Hu, X.; Oury, T.D.; Bache, R.J.; Duncker, D.J.; Chen, Y. Extracellular superoxide dismutase protects the heart against oxidative stress and hypertrophy after myocardial infarction. *Free. Radic. Biol. Med.* **2008**, 44, 1305–1313. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.12.007.

23. Yang, J.; Song, X.; Feng, Y.; Liu, N.; Fu, Z.; Wu, J.; Li, T.; Chen, H.; Chen, J.; Chen, C.; Yang, L. [Natural ingredients-derived antioxidants attenuate H₂O₂-induced oxidative stress and have chondroprotective effects on human osteoarthritic chondrocytes via Keap1/Nrf2 pathway.](#) *Free. Radic. Biol. Med.* **2020**, 152, 854–864. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.01.185.

24. Whitin, J.C.; Bhamre, S.; Tham, D.M.; Cohen, H.J. Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* **2002**, 283, F20–F28. doi: 10.1152/ajprenal.00014.2001.

25. Lee, Y.S.; Kim, A.Y.; Choi, J.W.; [Kim, M.](#); [Yasue, S.](#); [Son, H.J.](#); Hiroaki, [M.](#); [Park, K.S.](#); [Kim, J.B.](#) Dysregulation of adipose glutathione peroxidase 3 in obesity contributes to local and systemic oxidative stress. *Mol. Endocrinol.* **2008**, 22, 2176–2189. doi: 10.1210/me.2008-0023.

26. Zúñiga-Muñoz, A.M.; Pérez-Torres, I.; Guarner-Lans, V.; Núñez-Garrido, E.; Velázquez-Espejel, R.; Huesca-Gómez, C.; Gamboa-Ávila, R.; Soto, M.E. [Glutathione system participation in thoracic aneurysms from patients with Marfan syndrome](#). *Vasa*. **2017**, 46, 177–186. doi: 10.1024/0301-1526/a000609.
27. El-Barbary, M.I. [Detoxification and antioxidant effects of garlic and curcumin in Oreochromis niloticus injected with aflatoxin B1 with reference to gene expression of glutathione peroxidase \(GPx\) by RT-PCR](#). *Fish. Physiol. Biochem.* **2016**, 42, 617–629. doi: 10.1007/s10695-015-0164-4.
28. [Franco-Enzástiga](#), U.; [Santana-Martínez](#), R.A. [Silva-Islas](#), C.A. [Barrera-Oviedo](#), D. [Cháñez-Cárdenas](#), M.E. [Maldonado](#), P.D. Chronic administration of S-allylcysteine activates Nrf2 factor and enhances the activity of antioxidant enzymes in the striatum, frontal cortex and hippocampus. *Neurochem. Res.* **2017**, 42, 3041–3051. doi: 10.1007/s11064-017-2337-2.
29. Soto, M.E.; Manzano-Pech, L.G.; Guarner-Lans, V.; Díaz-Galindo, J.A.; Vásquez, X.; Castrejón-Tellez, V.; Gamboa, R.; Huesca, C.; Fuentesvilla-Alvárez, G.; Pérez-Torres, I. [Oxidant/antioxidant profile in the thoracic aneurysm of patients with the Loey-Dietz syndrome](#). *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2020**, 2020, 5392454.
30. Lu, J.; Holmgren, A. The thioredoxin antioxidant system. *Free. Rad. Biol. Med.* **2014**, 66, 75–87. doi: 10.1155/2020/5392454.
31. Arnér, E.S.J. [Effects of mammalian thioredoxin reductase inhibitors](#). *Handb, Exp, Pharmacol.* **2021**, 264, 289–309. doi: 10.1007/164_2020_393.
32. Tinkov, A.A.; Bjørklund, G.; Skalny, A.V.; Holmgren, A.; Skalnaya, M.G.; Chirumbolo, S.; Aaseth, J. The role of the thioredoxin/thioredoxin reductase system

- in the metabolic syndrome: towards a possible prognostic marker? *Cell. Mol. Life. Sci.* **2018**, 75, 1567–1586. doi: 10.1007/s00018-018-2745-8.
33. Kirsch, J.; Schneider, H.; Pagel, J.I.; Rehberg, M.; Singer, M.; Hellfritsch, J.; Chillo, O.; Schubert, K.M.; Qiu, J.; Pogoda, K.; Kameritsch, P.; Uhl, B.; Pircher, J.; Deindl, E.; Müller, S.; Kirchner, T.; Pohl, U.; Conrad, M.; Beck, H. [Endothelial dysfunction, and a prothrombotic, proinflammatory phenotype is caused by loss of mitochondrial thioredoxin reductase in endothelium.](#) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2016**, 36, 1891–1899. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.307843.
34. Chupakhin, E.; Krasavin, M. [Thioredoxin reductase inhibitors: updated patent review \(2017-present\).](#) *Expert. Opin. Ther. Pat.* **2021**, 31, 745–758. doi: 10.1080/13543776.2021.1899160.
35. Wayne, T.F.; Parinandi, N.; Maulik, N. [Thioredoxins in cardiovascular disease.](#) *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **2015**, 93, 903–911. doi: 10.1139/cjpp-2015-0105.
36. Schrenk, S.; Cenzi, C.; Bertalot, T.; Conconi, M.T.; Di Liddo, R. [Structural and functional failure of fibrillin-1 in human diseases \(Review\).](#) *Int. J. Mol. Med.* **2018**, 41, 1213–1223. doi: 10.3892/ijmm.2017.3343.
37. Liu, Y.; Zhao, Y.; Wei, Z.; Tao, L.; Sheng, X.; Wang, S.; Chen, J.; Ruan, J.; Liu, Z.; Cao, Y.; Shan, Y.; Wang, A.; Chen, W.; Lu, Y. [Targeting thioredoxin system with an organosulfur compound, diallyl trisulfide \(DATS\), attenuates progression and metastasis of triple-negative breast cancer \(TNBC\).](#) *Cell. Physiol. Biochem.* **2018**, 50, 1945–1963. doi: 10.1159/000494874.
38. Bhuiyan, A.I.; Papajani, V.T.; Paci, M.; Melino, S. [Glutathione-garlic sulfur conjugates: slow hydrogen sulfide releasing agents for therapeutic applications.](#) *Molecules.* **2015**, 20, 1731–1750. doi: 10.3390/molecules20011731.

39. [Vlasova, I.I.](#) Peroxidase activity of human hemoproteins: Keeping the fire under control. *Molecules*. **2018**, 23, 2561. doi: 10.3390/molecules23102561.
40. Zeyer, K.A.; Reinhardt, D.P. [Fibrillin-containing microfibrils are key signal relay stations for cell function.](#) *J. Cell. Commun. Signal.* **2015**, 9, 309–325. doi: 10.1007/s12079-015-0307-5.
41. Dahl, T.B.; Yndestad, A.; Skjelland, M.; Oie, E.; Dahl, A.; Michelsen, A.; [Damas, J.K.](#); [Tunheim, S.H.](#); [Ueland, T.](#); [Smith, C.](#); [Bendz, B.](#); [Tonstad, S.](#); [Gullestad, L.](#); [S Frøland, S.](#); [Krohg-Sørensen, K.](#); [Russell, D.](#); [Aukrust, P.](#); [Halvorsen, B.](#) Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization. *Circulation*. **2007**, 115, 972–980. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.665893.
42. Rodríguez-Fierros, F.L.; Guarner-Lans, V.; Soto, M.E.; Manzano-Pech, L.; Díaz-Díaz, E.; Soria-Castro, E.; Rubio-Ruiz, M.E.; Jiménez-Trejo, F.; Pérez-Torres, I. [Modulation of renal function in a metabolic syndrome rat model by antioxidants in *Hibiscus sabdariffa* L.](#) *Molecules*. **2021**, 26, 2074. doi: 10.3390/molecules26072074.
43. Gong, P.; Hu, B.; Cederbaum, A.I. Diallyl sulfide induces heme oxygenase-1 through MAPK pathway. *Arch. Biochem. Biophys.* **2004**, 432, 252–260. doi: 10.1016/j.abb.2004.09.024.
44. [Shaik, I.H.](#); [George, J.M.](#); [Thekkumkara, T.J.](#); [Mehvar, R.](#) Protective effects of diallyl sulfide, a garlic constituent, on the warm hepatic ischemia-reperfusion injury in a rat model. *Pharm. Res.* **2008**, 25, 2231–2242. doi: 10.1007/s11095-008-9601-8.

45. [Chih-Chung, W.](#); [Lee-Yan, S.](#); [Haw-Wen, C.](#); [Wei-Wen, K.](#); [Shun-Jen, T.](#); [Chong-Kuei, L.](#) Differential effects of garlic oil and its three major organosulfur components on the hepatic detoxification system in rats. *J. Agric. Food. Chem.* **2002**, *50*, 378–383. doi: 10.1021/jf010937z.
46. Rahal, A.; Kumar, A.; Singh, V., [Yadav, B.](#); [Tiwari, R.](#); [Chakraborty, S.](#); [Dhama K.](#) Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed. Res. Int.* **2014**, *2014*, 761264. doi: 10.1155/2014/761264.
47. Engle, M.R.; Singh, S.P.; Czernik, P.J., Gaddy, D.; Montague, D.C. Ceci, J.D.; Yang, Y.; Awasthi, S.; Awasthi, Y.C.; Zimniak, P. Physiological role of mGSTA4-4, a glutathione S-transferase metabolizing 4-hydroxynonenal: generation and analysis of *mGsta4* null mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2004**, *194*, 296–308. doi: 10.1016/j.taap.2003.10.001.
48. Fukao, T.; Hosono, T.; Misawa, S.; Seki, T.; Ariga, T. The effects of allyl sulfides on the induction of phase II detoxification enzymes and liver injury by carbon tetrachloride, *Food. Chem. Toxicol.* **2004**, *42*, 743–749. doi: 10.1016/j.fct.2003.12.010.
49. Wu, C.C.; Sheen, L.Y.; Chen, H.W.; Kuo, W.W.; Tsai, S.J.; Lii, C.K. Differential effects of garlic oil and its three major organosulfur components on the hepatic detoxification system in rats. *J. Agric. Food. Chem.* **2002**, *50*, 378–383. doi: 10.1021/jf010937z
50. Rybka, J.; Kupczyk, D.; Kędziora-Kornatowska, K.; [Motyl, J.](#); [Czuczejko, J.](#); [Szewczyk-Golec, K.](#); [Kozakiewicz, M.](#); [Pawluk, H.](#); [Carvalho, L.A.](#); [Kędziora J.](#) Glutathione-related antioxidant defense system in elderly patients treated for

hypertension. *Cardiovasc. Toxicol.* **2011**, *11*, 1–9. doi: 10.1007/s12012-010-9096-5.

51. Sekhar, R.V., Patel, S.G., Guthikonda, A.P., [Reid, M.](#); [Balasubramanyam, A.](#); [Taffet, G.E.](#); [Jahoor, F.](#) Deficient synthesis of glutathione underlies oxidative stress in aging and can be corrected by dietary cysteine and glycine supplementation. *Am. J. Clin.Nutr.* **2011**, *94*, 847–853. doi: 10.3945/ajcn.110.003483.

52. Borlinghaus, J.; Albrecht, F.; Gruhlke, M.C.; Nwachukwu, I.D.; Slusarenko, A.J. [Allicin: chemistry and biological properties.](#) *Molecules.* **2014**, *19*, 12591–12618.

53. [Atmaca, G.](#) Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. *Yonsei. Med. J.* **2004**, *45*, 776–788. doi: 10.3390/molecules190812591.

54. Rodrigues, C.; Percival, S.S. Immunomodulatory effects of glutathione, garlic derivatives, and hydrogen sulfide. *Nutrients.* **2019**, *11*, 295. doi: 10.3390/nu11020295.

55. Soto, M.E.; Iturriaga-Hernández, A.V.; Guarner-Lans, V.; Zuñiga-Muñoz, A.; Aranda-Fraustro, A.; Velázquez-Espejel, R.; Pérez-Torres, I. [Participation of oleic acid in the formation of the aortic aneurysm in Marfan syndrome patients.](#) *Prostaglandins. Other. Lipid. Mediat.* **2016**, *123*, 46–55. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2016.05.001.

56. Dairou, J.; Pluvinage, B.; Noiran, J.; Petit, E.; Vinh, J.; Haddad, I.; Rodrigues-Lima, F. *Nitration of a critical tyrosine residue in the allosteric inhibitor site of muscle glycogen phosphorylase impairs its catalytic activity.* *J. Mol. Biol.* **2007**, *372*, 1009–1021. doi: 10.1016/j.jmb.2007.07.011.

57. Choi, H.; Allahdadi, K.J.; Tostes, R.C.; Webb, R.C. [Augmented S-nitrosylation contributes to impaired relaxation in angiotensin II hypertensive mouse aorta: role](#)

[of thioredoxin reductase](#). *J. Hypertens.* **2011**, 29, 2359–2368. doi: 10.1097/HJH.0b013e32834d2554.

58. [Kim](#), K.M.; [Chun](#), S.B.; [Koo](#), M.S.; [Choi](#), W.J.; [Kim](#), T.W.; [Kwon](#), Y.G.; [Chung](#), H.T.; [Billiar](#), T.R.; [Kim](#), Y.M. Differential regulation of NO availability from macrophages and endothelial cells by the garlic component S-allyl cysteine. *Free. Radic. Biol. Med.* **2001**, 30, 747–756. doi: 10.1016/s0891-5849(01)00460-9.

[59.](#) [Turowski](#), S.G.; [Jank](#), K.E.; [Fung](#), H.L. [Inactivation of hepatic enzymes by inhaled nitrite--in vivo and in vitro studies](#). *AAPS. J.* **2007**, 9, E298–E305

59. [Faivre](#), L.; [Collod-Beroud](#), G.; [Adès](#), L.; [Child](#), A.; [Callewaert](#), B.L.; [Loeys](#), B.; [Binguet](#), C.; [Gautier](#), E.; [Mayer](#), K.; [Arslan-Kirchner](#), M.; [Grasso](#), M.; [Beroud](#), C.; [Hamroun](#), D.; [Bonithon-Kopp](#), C.; [Plauchu](#), H.; [Robinson](#), P.N.; [De Backer](#), J.; [Coucke](#), P.; [Francke](#), U.; [Bouchot](#), O.; [Wolf](#), J.E.; [Stheneur](#), C.; [Hanna](#), N.; [Detaint](#), D.; [De Paepe](#), A.; [Boileau](#), C.; [Jondeau](#) G. The new Ghent criteria for Marfan syndrome: what do they change? *Clin. Genet.* **2012**, 81, 433–442. doi: 10.1111/j.1399-0004.2011.01703.x.

60. *World Medical Association. Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects.* *JAMA.* **2013**, 310, 2191–2194.

61. [Pérez-Torres](#), I.; [Roque](#), P.; [El Hafidi](#), M.; [Diaz-Diaz](#), E.; [Baños](#), G. Association of renal damage and oxidative stress in a rat model of metabolic syndrome. Influence of gender. *Free. Rad. Res.* **2009**, 43, 761–771. doi: 10.1080/10715760903045296.

62. [Flohé](#), L.; [Günzler](#), W.A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology.* **1984**, 105, 114–121. doi: 10.1016/s0076-6879(84)05015-1.

63. Holmgren A., Björnstedt M. Thioredoxin and thioredoxin reductase. *Methods in Enzymology*. **1995**, 252, 199–208. doi: 10.1016/0076-6879(95)52023-6.