



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

AVANCES EN LA FISIOPATOLOGÍA DE LOS ANEURISMAS AÓRTICOS EN EL SÍNDROME DE MARFAN

Advances in the pathophysiology of aortic
aneurysms in Marfan syndrome

Autor: Dña. Andrea Martínez Pérez

Director: Prof. Dr. J. Francisco Nistal Herrera

Co-director: Dra. Raquel García López

Santander, Junio 2018

ÍNDICE

1. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA	6
2. INTRODUCCIÓN	7
2.1. SÍNDROME DE MARFAN	7
2.1.1. <i>Definición</i>	7
2.1.2. <i>Manifestaciones clínicas</i>	7
2.1.3. <i>Aneurismas aórticos y disección aórtica</i>	10
2.1.3.1. <i>Definición y epidemiología</i>	10
2.1.3.2. <i>Fisiopatología</i>	12
2.1.4. <i>Diagnóstico</i>	13
2.1.5. <i>Diagnóstico diferencial</i>	15
2.1.6. <i>Morbilidad y mortalidad</i>	19
2.1.7. <i>Prevención y tratamiento cardiovascular de la Enfermedad de Marfan</i>	19
3. MODELOS ANIMALES DE AORTOPATÍAS	21
4. BASES MOLECULARES DE LA FISIOPATOLOGÍA EN EL SÍNDROME DE MARFAN	22
4.1. FIBRILINA	22
4.1.1. <i>Historia de la fibrilina-1</i>	22
4.1.2. <i>Descripción y estado actual</i>	23
4.1.3. <i>Gen de la fibrilina-1</i>	23
4.1.4. <i>FBN1 mutaciones en el Síndrome de Marfan</i>	25
4.1.5. <i>Relación genotipo-fenotipo en el Síndrome de Marfan</i>	27
4.1.6. <i>Nueva visión de la fibrilina-1</i>	27
4.2. FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE (TGF- β).....	28
4.2.1. <i>Familia de Factores de Crecimiento Transformante β</i>	28
4.2.2. <i>Citoquina TGF-β</i>	29
4.2.2.1. <i>Estructura y activación</i>	29
4.2.2.2. <i>Receptores de TGF-β</i>	30
4.2.2.3. <i>Cascada de señalización</i>	30
4.2.3. <i>Papel de TGF-β en el desarrollo de los aneurismas aórticos</i>	33
4.2.4. <i>Mutaciones en proteínas de la matriz extracelular que producen una alteración de la señalización de TGF-β</i>	34
4.2.4.1. <i>Proteínas LTBP</i>	34
4.2.4.2. <i>Fibulinas</i>	35

4.2.4.3. ADAMTS	35
4.2.4.4. Otros	36
4.3. RECEPTOR DE ANGIOTENSINA II TIPO I (ATR-1).....	36
5. FISIOPATOLOGÍA DEL SÍNDROME DE MARFAN	38
6. NUEVAS PERSPECTIVAS	39
6.1. TECNOLOGÍA CRISPER/CAS.....	39
6.2. EDICIÓN DE BASES	40
7. CONCLUSIONES	41
8. BIBLIOGRAFIA.....	42

RESUMEN

El síndrome de Marfan forma parte de los denominados trastornos aórticos torácicos hereditarios sindrómicos con una prevalencia estimada de 2-3 casos cada 10.000 habitantes. Las principales manifestaciones clínicas afectan a los sistemas cardiovascular, ocular y esquelético, siendo las primeras las de mayor relevancia por ser las condicionantes de la supervivencia en la evolución natural de la enfermedad. Entre las entidades de afectación cardiovascular destacan la dilatación de la aorta ascendente y el prolapso de la válvula mitral. El diagnóstico actual de la enfermedad se lleva a cabo mediante los criterios del grupo de expertos de Gante, revisados en 2010. El hallazgo de la asociación de este síndrome a mutaciones en el gen *FBN1*, codificante de una proteína microfibrilar de la matriz extracelular de la media aórtica, la fibrilina-1, motivó una teoría etiopatogénica basada en la debilidad estructural a pesar de que no lograba explicar el conjunto de las manifestaciones clínicas. Estudios posteriores vincularon el exceso de señalización en la vía de activación de la citoquina TGF- β como causante de la aortopatía. Sin embargo los datos experimentales contradictorios obtenidos en los últimos años, junto con el resultado negativo observado en ensayos clínicos aleatorizados dirigidos a prevenir la dilatación aórtica mediante la administración de fármacos bloqueantes de la producción y señalización de TGF- β , cuestionan esta hipótesis. Las líneas de trabajo actuales tienen su origen en la identificación de una concentración disminuida de la metaloproteinasa ADAMTS-1 y elevada de la enzima NOS-2 en la pared aórtica de ratones y pacientes con síndrome de Marfan, por lo que la inhibición de esta última plantea una diana terapéutica prometedora.

Palabras clave: Síndrome de Marfan, *FBN1*, fibrilina-1, aneurismas aórticos torácicos, factor de crecimiento transformante β (TGF- β), LTBP, AT1R, ADAMTS-1, NOS-2.

ABSTRACT

The Marfan syndrome is part of the so-called syndromic hereditary thoracic aortic disorders with an estimated prevalence of 2-3 cases per 10,000 inhabitants. The main clinical expression features of the disorder involve the cardiovascular, ocular and skeletal systems, the former being the most clinically because it is the main limiting factor of patients survival. The most frequent forms of cardiovascular involvement include the dilation of the ascending aorta and the prolapse of the mitral valve. Currently, the diagnosis is carried out through the consensus Ghent criteria, revised in 2010. The earliest investigations trying to explain Marfan patients phenotype associated this syndrome with mutations in the gene *FBN1*, coding for a microfibrillar structural protein of the extracellular matrix in the aortic medial layer, fibrillin-1. The finding of a defective structural protein gave rise to a pathogenetic theory that could explain several of the features of the disease based on tissue weakness alone. However, there were quite a

few other abnormalities (long bone elongation, craniofacial features, skeletal muscular changes) that seemed more related to an abnormal cell behaviour and could not be easily explained by the tissue weakness theory. Subsequent studies in fibrillin-KO mice, related the Marfan aortopathy with an excess of activation in the cytokyne Transforming Growth Factor- β (TGF- β) signalling pathway and paved the way for clinical trials aimed at the blunting of aortic dilation with TGF- β blocking drugs. The negative results of the latter trials, together with newer experimental evidence challenging the TGF- β theory, set the scene for novel mechanistic paradigms. Recent observations point to a decreased availability of the metalloproteinase ADAMTS-1 and subsequent overexpression of the enzyme NOS-2 in the aortic media of mice and human patients with SMF, as one of the main mechanisms initiating the disease. Palliation, or reversal, of aortic dilation by NOS-2 specific blockage is thus warranted.

Keywords: Marfan síndrome, FBN1, fibrillin-1, thoracic aortic aneurysm, TGF- β Tranforming Growth Factor, LTBP, AT1R, ADAMTS-1, NOS-2.

1. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

En el presente trabajo se lleva a cabo una revisión exhaustiva sobre los avances que han tenido lugar en el conocimiento de la fisiopatología de los aneurismas aórticos en el Síndrome de Marfan, desde la década de los 80 del pasado siglo hasta la actualidad. En este sentido, la metodología propuesta ha consistido en una búsqueda bibliográfica en la literatura electrónica utilizando como base de datos de referencia el archivo PubMed Central® (PMC) de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Institutos Nacionales de la Salud de los Estados Unidos de Norteamérica (NIH/NLM) a través del uso de campos descriptores como: *Matriz extracelular (Extracellular matrix)*; *Aneurisma aórtico (Aortic aneurysm)*; *Fibrilina-1 (Fibrilin-1)*, *Factor de crecimiento transformante-beta (TGF- β)*, *Vía de señalización TGF- β (TGF- β signaling pathway)*; *Small mothers against decapentaplegic (SMAD)*; *Receptor tipo 1 de Angiotensina (AT1R)* y *Síndrome de Marfan (Marfan Syndrome)*. Además, con objeto de describir la evolución en el conocimiento de esta patología, se analizan las líneas históricas del progreso llevado a cabo por los autores más relevantes hasta la actualidad. Asimismo, se han utilizado las referencias de los artículos identificados para ampliar la base bibliográfica y obtener información complementaria sobre todos los aspectos relevantes que tienen influencia en el Síndrome de Marfan, con la consiguiente mayor cobertura de la revisión propuesta.

Con todo ello, el objetivo general de este trabajo es ofrecer una visión conjunta de los avances en el conocimiento de la fisiopatología de los aneurismas en el Síndrome de Marfan, con interés específico en los mecanismos moleculares que operan en esta patología.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Síndrome de Marfan

2.1.1. Definición

El síndrome de Marfan (SMF), descrito por primera vez por Antoine Bernard Marfan en 1896 [1], constituye un trastorno hereditario autosómico dominante del tejido conectivo, con una prevalencia estimada de 2-3 casos por cada 10.000 habitantes [2] [3], causado por mutaciones en el gen de la fibrilina 1 (FBN1), proteína estructural componente de las microfibrillas de la matriz extracelular [4]. En un 75% de los pacientes la enfermedad tiene carácter familiar pero, hasta en una cuarta parte, se debe a mutaciones esporádicas [5].

2.1.2. Manifestaciones clínicas

El síndrome de Marfan se caracteriza por presentar una gran variabilidad tanto a nivel interfamiliar como intrafamiliar. Entre los factores que permiten explicar dicha variabilidad clínica se incluyen el nivel de expresión del alelo normal de FBN1 [6] y el papel de la hiperhomocisteinemia. Con todo ello, el espectro clínico de presentación del Síndrome de Marfan puede ir desde un carácter leve (síndrome de Marfan "incompleto") a grave (síndrome de Marfan letal neonatal) [3].

Las manifestaciones más importantes del síndrome de Marfan desde el punto de vista diagnóstico afectan al aparato cardiovascular, al esqueleto y al sistema ocular. Sin embargo, de forma más variable se observa una afectación en otros órganos como el pulmón, el músculo esquelético, el saco dural, la piel y la configuración craneofacial. La afectación cardiovascular constituye el mayor condicionante de la esperanza de vida de estos pacientes.

Se describen a continuación las principales características de dichas manifestaciones:

1. **Ocular.** La principal patología en pacientes con síndrome de Marfan desde el punto de vista oftalmológico es la ectopia lentis, con una prevalencia de hasta el 50-80%, siendo recomendable la realización de revisiones oftalmológicas anuales [7]. Asimismo, pueden presentar córnea plana, iris hipoplásico, músculo ciliar hipoplásico, desprendimiento de retina, glaucoma o la formación temprana de cataratas [8].
2. **Esqueléticas.** Los pacientes con SMF presentan una altura superior al promedio establecido, con extremidades desproporcionadamente largas en comparación con la longitud del tronco (conocido como dolicoostenomelia),

además de una laxitud articular. Las manifestaciones principales en el sistema óseo son las siguientes [7]:

- Aracnodactilia. Presente generalmente con signos positivos de pulgar y la muñeca. La hiper movilidad articular tiene un valor diagnóstico limitado pues puede justificarse por el síndrome de hiper movilidad articular benigno que es mucho más prevalente.
 - Pectus carinatum. Se trata de una manifestación característica de este síndrome y más específica que el *pectus excavatum*.
 - Escoliosis y cifosis.
3. **Faciales**. Pueden presentar dolicocefalia, es decir, índice cefálico reducido (o relación ancho/largo de la cabeza), enoftalmos, fisuras palpebrales en recesión, hipoplasia malar y retrognatia, como se puede ver en [7].
 4. **Pulmonares**. Algunos pacientes pueden desarrollar bullas pulmonares, preferentemente en los lóbulos superiores, que pueden predisponer al neumotórax espontáneo. La fundamentación del proceso fisiopatológico es descrita en [4].
 5. **Dérmicas**. Estrías de distensión.
 6. **Ectasia dural**. Ensanchamiento que se produce en el canal espinal por una dilatación progresiva de la duramadre y de los agujeros neurales, así como por la erosión del hueso vertebral. Esta anomalía ha sido identificada en un 63-92 % de los pacientes con síndrome de Marfan.
 7. **Cardiovasculares (Tabla 1)**.
 - Dilatación de la aorta ascendente: constituye la manifestación cardiovascular más importante del SMF y se manifiesta como dilatación progresiva de la aorta ascendente que, eventualmente, ocasiona una disección o rotura aórticas. Desde el punto de vista epidemiológico se justifica su importancia dado que está presente en más de un 80% de los pacientes adultos con SMF [9]. En la histología normal, el contenido parietal de fibras elásticas es mayor en la aorta ascendente lo que explica que se vea más afectada en el SMF.
 - Disección aguda de la aorta ascendente o descendente
 - Prolapso de la válvula mitral: se produce en el MSF por las siguientes causas: cambios fibromixomatosos en las cuerdas tendinosas,

distensibilidad anular anormal y posiblemente aumento en superficie de los velos valvulares [10].

– Dilatación de la arteria pulmonar

<u>LESIÓN / FUNCIÓN</u>	<u>SÍNTOMAS</u>	<u>FRECUENCIA</u>	<u>COMPLICACIONES</u>	<u>COMENTARIOS</u>
Dilatación de la raíz aórtica	Ninguno	60-80%	Disección aórtica	Disección rara en niños menores de diez años de edad
Dilatación de la arteria pulmonar	Ninguno	76%	Disección rara	Característica de diagnóstico en aquellos menores de 40 años de edad
Regurgitación mitral / prolapso / calcificación anular	Palpitaciones	52-68%	Arritmias	La regurgitación puede ser intermitente
Dilatación de la aorta descendente	Ninguno	---	Disección de la aorta	Rara en la infancia
Disfunción endotelial / elasticidad anormal de la aorta	Ninguno	80-100%	Incremento de la rigidez vascular	Alta contribución al riesgo de disección
Prolapso de la válvula tricúspide	Ninguno a menos que sea grave	4%	Puede progresar requiriendo reparación	Enfermedad grave poco común excepto en el tipo infantil
Disfunción ventricular izquierda	Disnea	36% en tipo infantil Hasta 100%	Diastólica. Puede ser progresivo a la disfunción sistólica	Puede ocurrir en presencia de válvulas normales
Arritmias	Baja tolerancia al ejercicio Palpitaciones	La severidad varía, hasta el 20 – 30%	Puede causar muerte súbita	Asociado con dilatación ventricular
Aneurisma de la arteria coronaria	Colapso con dolor en el pecho Infarto de miocardio	<1%	Solo descrito en adultos	---
Comunicación interauricular	Ninguno	4%	Puede necesitar reparación quirúrgica	Más común que en la población normal

Tabla 1. Manifestaciones cardiovasculares en el Síndrome de Marfan (Reproducido de [11]).

- Calcificación de la válvula mitral en menores de 40 años
- Dilatación o disección aguda de la aorta torácica descendente o abdominal en menores de 50 años.

2.1.3. Aneurismas aórticos y disección aórtica

2.1.3.1. Definición y epidemiología

Un aneurisma aórtico es un ensanchamiento o dilatación de la pared aórtica con una tendencia a la expansión progresiva. Por convención se habla de aneurisma cuando el aumento de diámetro iguala o supera al 50% del diámetro del segmento aórtico normal sub- o suprayacente. La Ley de Laplace permite predecir el comportamiento evolutivo de los aneurismas ya que, si la aorta se dilata, la tensión intraparietal aumenta linealmente hasta un punto en el que, si se supera la resistencia estructural de la pared de la aorta, ésta se diseca o se rompe. Los aneurismas aórticos torácicos pueden afectar a la aorta ascendente, al arco transversal o a la aorta descendente. Por su parte, los aneurismas aórticos abdominales afectan en su gran mayoría a la aorta infrarrenal, mientras que los aneurismas tóracoabdominales involucran segmentos variables de la aorta torácica descendente y de la abdominal [2]

Desde el punto de vista epidemiológico, los aneurismas aórticos constituyen una importante causa de morbilidad cardiovascular y condicionan una tasa de mortalidad de 2,49 eventos por cada 100.000 habitantes [12].

La disección aórtica se define por la irrupción súbita de sangre en el espesor de la pared de la aorta a través de una solución de continuidad de la íntima y de las capas internas de la media (puerta de entrada) (Figura 1). La entrada de sangre a presión separa las capas de la pared, creando una doble luz [13]. En la mayor parte de los casos la falsa luz se talla entre los dos tercios internos del espesor de la capa media y la íntima, internamente, y el tercio externo de la media y la adventicia, por fuera. Ello provoca que, en los segmentos aórticos disecados, el espesor de pared vascular que soporta la presión arterial se vea reducido a una tercera parte lo que, de acuerdo con la relación de Laplace, la tensión intraparietal se triplica de forma brusca, lo que contribuye al riesgo de rotura [14].



Figura 1. Corte axial de angiotomografía computarizada para la valoración de la aorta torácica. Disección aórtica aguda de tipo A que se extiende hasta la aorta torácica descendente, con luz falsa (1) y luz verdadera (2). Obsérvese el desplazamiento hacia el centro de la luz aórtica de las calcificaciones miointimales en el tabique de la disección (punta de flecha). (Reproducido de [14]).

Para la clasificación de las disecciones aórticas se suele emplear la clasificación de Stanford que categoriza dos tipos de disecciones aórticas con un criterio orientado al tratamiento quirúrgico [13] (Figura 2):

1. **Disección tipo A:** La aorta ascendente intrapericárdica está afectada, independientemente de la localización de la rotura miointimal.
2. **Disección aórtica tipo B:** La aorta ascendente intrapericárdica no está afectada.

La clasificación de De Bakey utiliza un criterio topográfico y en ella se distinguen tres tipos de disección:

1. **Tipo I:** Disección de la aorta ascendente que se extiende más allá del tronco arterial braquiocefálico y afecta al cayado y a la aorta torácica descendente.
2. **Tipo II:** Disección limitada a la aorta ascendente que no progresa más allá del tronco arterial braquiocefálico.
3. **Tipo III:** Disección de la aorta torácica descendente, que se inicia en un punto distal a la arteria subclavia izquierda.

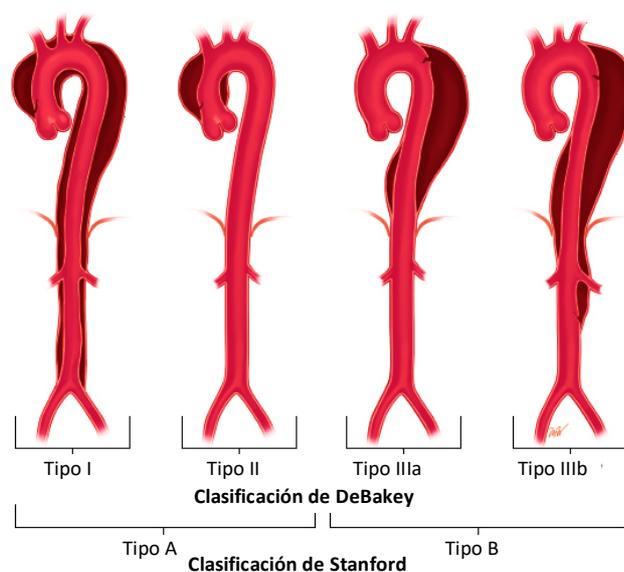


Figura 2. Clasificación de las disecciones aórticas. (Elaboración propia a partir de [15])

2.1.3.2. Fisiopatología

La pared aórtica se compone de tres capas íntima, media y adventicia, siendo la media la que más resistencia tensil aporta al vaso. Desde el punto de vista biomecánico, la aorta está sujeta a cargas cíclicas complejas generadas por la presión sanguínea pulsátil y por el flujo, y, en el caso de la aorta ascendente, por el propio desplazamiento cardíaco [15]. La túnica media está formada histológicamente por células de músculo liso en el seno de una matriz extracelular bien organizada, formada a su vez por varios componentes, de entre los que destacan la elastina, el colágeno y las microfibrillas. Entre las distintas microfibrillas que componen la matriz extracelular, la que presenta una mayor relevancia para el presente trabajo es la fibrilina-1, que constituye un soporte para la deposición de elastina amorfa.

En los aneurismas de la aorta torácica descendente y de la abdominal, son frecuentes los hallazgos ateroscleróticos en la superficie luminal, con una túnica media no engrosada, contenido bajo de elastina (con lo que eso implica para su resistencia mecánica) y un incremento relativo de colágeno [16]. Estos hallazgos son típicos de pacientes de edad avanzada (65–75 años) [17], en los que la hipertensión constituye un factor de comorbilidad predisponente.

Desde un punto de vista histológico, las modificaciones observadas en los aneurismas de la aorta ascendente son claramente diferentes a las de los aneurismas más distales e incluyen grados variables de degeneración de la media. Éste fenómeno se denominó clásicamente necrosis quística de la media o medionecrosis aórtica quística, pero los estudios anatomopatológicos modernos han descartado la presencia de necrosis o

quistes, lo que motivó el cambio terminológico, siendo denominado actualmente como degeneración mucoide. La degeneración de la media se caracteriza por la triada de pérdida de células musculares lisas (SMCs), disminución y fragmentación de las fibras elásticas (elastolisis) y un acúmulo de proteoglicanos en la matriz extracelular [16]. Los pacientes con síndrome de Marfan muestran a menudo degeneración de la media aórtica, si bien no es exclusiva de éstos, ya que también es frecuente en pacientes de edad avanzada, así como en pacientes hipertensos, con válvula aórtica bicúspide o con tetralogía de Fallot [2].

Es importante señalar la arbitrariedad que existe en la definición de los aneurismas aórticos ascendentes y descendentes, dado que se produce un cierto solapamiento en el proceso fisiopatológico subyacente a la formación del aneurisma en ambos casos. Se desconocen los determinantes primarios que conducen a la dilatación de la aorta, pero se han identificado algunos factores que pueden influir, como son la edad del paciente, la hipertensión arterial, así como los trastornos inflamatorios y las anomalías del tejido conectivo. Un elemento etiopatogénico clave en la génesis de los aneurismas es el factor genético, como lo prueba el hecho de que el 20 % de los pacientes con aneurismas o disecciones aórticas presentan algún familiar con estas patologías. La mayor parte de los síndromes genéticos asociados con la presencia de disecciones o aneurismas aórticos se heredan de manera autosómica dominante.

Los aneurismas aórticos torácicos familiares o los trastornos aórticos torácicos hereditarios (H-TAD) pueden presentarse con manifestaciones clínicas sindrómicas o de forma aislada (no sindrómica). El prototipo de enfermedad sindrómica es el síndrome de Marfan. Otras formas de H-TAD sindrómicas incluyen el síndrome de Loeys-Dietz (causado por mutaciones en los receptores para TGF β , TGFBR1 y TGFBR2) y el síndrome de aneurisma-osteoartritis (causado por mutaciones en SMAD3, una proteína transductora intracelular de la ruta de señalización de TGF β).

2.1.4. Diagnóstico

En el contexto de la importante variabilidad fenotípica del síndrome de Marfan, provocada por la variable expresión del mismo, la dilatación de la raíz aórtica y la ectopia lentis son las manifestaciones más características y, por tanto, con mayor valor diagnóstico. Por otra parte, otras manifestaciones clínicas incluidas en los criterios diagnósticos se dan también en pacientes con otras patologías, como sucede con la hiper movilidad articular.

Para el diagnóstico clínico de este síndrome, supuso un hito trascendental el establecimiento en 1996 de la denominada nosología de Gante [18]. Con ella se diseñó una clasificación formal de las manifestaciones clínicas, distinguiéndose entre manifestaciones mayores y menores, con afectación de los sistemas esquelético,

cardiovascular y ocular, así como de la duramadre. Con todo ello, se incluían los siguientes criterios para la orientación del diagnóstico del síndrome de Marfan: ectopia lentis, dilatación de la raíz aórtica, además de la disección aórtica y la ectasia dural lumbosacra, antecedentes familiares o genéticos, así como varias manifestaciones esqueléticas típicas [7]. Esta nosología fue revisada en 2010 y modificada con la inclusión de nuevos criterios diagnósticos y asignación de puntuaciones distintas a las establecidas en su versión original. A continuación, se realiza un listado detallado de dicha nosología, que distingue dos situaciones:

- **Ausencia de antecedentes en la historia familiar de SMF.** En esta situación, los criterios son los siguientes:
 - Criterio aórtico y ectopia lentis
 - Criterio aórtico y mutación causal de FBN1
 - Criterio aórtico y una puntuación sistémica ≥ 7
 - Ectopia lentis y mutación causal de FBN1 identificada únicamente con un aneurisma aórtico
- **Presencia de antecedentes en la historia familiar de SMF.** En este caso, los criterios son los presentados a continuación:
 - Ectopia lentis
 - Puntuación sistémica ≥ 7
 - Criterio aórtico

¿Cómo se calcula la puntuación sistémica según la Nosología de Gante revisada? (Tabla 2).

PUNTUACIÓN SISTÉMICA PARA LA NOSOLOGÍA DE GANTE REVISADA	
Característica sistémica	Puntuación
Signo de la muñeca Y signo del pulgar	3
Signo de la muñeca O signo del pulgar	1
Pectus carinatum	2
Pectus excavatum O asimetría torácica	1
Pie valgo	2
Neumotórax	2
Ectasia dural	2
Protrusión acetabular	2
Proporción reducida del segmentos superior/inferior Y aumento de la amplitud/altura del brazo Y ausencia de escoliosis grave	1
Escoliosis O cifosis torácico-lumbar	1
Reducción de la extensión del codo ($\leq 170^\circ$ de extensión total)	1
Características faciales (al menos tres de las cinco): dolicocefalia, enoftalmos, fisuras palpebrales reducidas, hipoplasia malar y retrognatia	1
Estrías cutáneas	1
Miopia mayor de 3 dioptrías	1
Prolapso de la válvula mitral	1

Tabla 2. Criterios revisados de la nosología de Gante (Reproducido de [19])

2.1.5. Diagnóstico diferencial

Existen múltiples enfermedades y síndromes en los que se reconocen manifestaciones clínicas que son similares al SMF. El diagnóstico diferencial se debe realizar con otras enfermedades genéticas que comprometen el tejido conectivo y enfermedades metabólicas que presentan algunos hallazgos clínicos semejantes pero presentados de forma aislada [20] (Tabla 3).

El diagnóstico diferencial incluye un gran número de patologías, la más relevante de las cuales es el síndrome de Loeys-Dietz. Este síndrome se caracteriza por ser una enfermedad autosómica dominante resultado de una mutación en alguno de los genes

codificadores del receptor del factor de crecimiento transformante β (TGF- β RI o TGF- β RII). Los aneurismas de aorta son muy frecuentes (98%) en esta enfermedad y se caracterizan por una aparición temprana, así como por un alto riesgo de disección y/o rotura incluso con diámetros <5 cm. En relación a las manifestaciones esqueléticas, cabe señalar que presentan las mismas que el síndrome de Marfan e incluyen la posibilidad de malformaciones en los pies de tipo pies zambos [2] [20].

Otro diagnóstico diferencial posible es con el síndrome de Ehlers-Danlos, provocado por mutaciones en el gen COL3A1 codificador del colágeno tipo III, un constituyente importante de las paredes de los vasos sanguíneos y las vísceras huecas. Se trata de un trastorno de herencia autosómica dominante, caracterizado clínicamente por presentar fragilidad tisular generalizada con hiperlaxitud articular, facilidad para el desarrollo de hematomas, cicatrices atróficas, rotura intestinal y/o uterina y fragilidad vascular. Generalmente son las arterias de pequeño diámetro las que primero se ven afectadas, aunque la aorta también puede verse involucrada. Por su parte, las disecciones pueden tener lugar incluso en ausencia de dilatación previa [2].

<u>ENTIDADES</u>	<u>GENES AFECTOS</u>	<u>CARACTERÍSTICAS SIMILARES AL SÍNDROME DE MARFAN</u>	<u>CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES</u>
Síndrome de Loews-Dietz (LOS)	TGF- β R /2	Aneurisma aórtico / disección	Úvula bífida / paladar hendido, tortuosidad arterial, hipertelorismo, dilatación aórtica difusa y aneurismas arteriales, craneosinostosis, pie zambo, anomalías en columna cervical, piel aterciopelada, dermatoporosis
Síndrome de Shprintzen-Goldberg (SGS)	FBN1 y otros (SKI)	Pecho anormal, escoliosis, aracnodactilia	Craneosinostosis, retraso mental
Fenotipo MASS	FBN1 y otros	Prolapso de la válvula mitral, dilatación leve de la aorta, estrías atróficas y al menos una característica esquelética, puntuación sistémica 2 : 5	Dilatación de la raíz aórtica <2 Z scores; sin ectopia lentis
Síndrome del prolapso de la válvula mitral	Varios loci candidatos genéticos	Prolapso de la válvula mitral, pectus excavatum, escoliosis, aracnodactilia leve	Ausencia de dilatación aórtica, sin ectopia lentis, puntuación sistémica <5
Aracnodactilia congénita contractural(CCA)	FBN2	Hábito marfanoide, aracnodactilia, cifosis/escoliosis, dilatación leve de los senos de Valsalva	Orejas arrugadas (hélice superior plegada), contracturas de las articulaciones principales (rodillas y tobillos) al nacer, contracturas en flexión de las articulaciones interfalángicas (camptodactilia), ausencia de disección o rotura aórticas
Síndrome de Weill-Marchesani (WMS)	FBN1 y ADAMTS O	Ectopia lentis	Microsferofaquia, braquidactilia, rigidez articular
Síndrome de Ectopia lentis (ELS)	FBN1, LTBP2, AOAMTSL4	Capas de ectopia, pueden tener ligeras inflamaciones esqueléticas	Ausencia de dilatación de la raíz aórtica
Aneurisma de la aorta torácica y síndrome de disección (FTAAD / FTAA)	TGF- β R /2, ACTA2	Dilatación y disección aórtica	Livedo reticularis, flóculo del iris, ausencia de características esqueléticas marfanoides.
FTAAP con válvula aórtica bicúspide	ACTA2	Aneurisma aórtico y disección	Livedo reticularis, flóculo del iris, aneurisma cerebral, accidentes cerebrovasculares isquémicos prematuros, enfermedad de Moyamoya, enfermedad coronaria prematura, válvula aórtica bicúspide, conducto arterioso persistente

<u>ENTIDADES</u>	<u>GENES AFECTOS</u>	<u>CARACTERÍSTICAS SIMILARES AL SÍNDROME DE MARFAN</u>	<u>CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES</u>
Homocistinuria	ces	Hábito marfanoide, ectopia lentis	Trombosis, retraso mental
Síndrome de tortuosidad arterial (ATS)	SLC2A10	Aneurisma aortico	Tortuosidad arterial generalizada, estenosis arterial, dismorfia facial
Síndrome de Ehlers-Danlos (tipo IV o vascular)	COL3A1	Aneurisma aórtico / en algunos, disección aguda con diámetros aórticos bajos	Aneurisma de arterias de tamaño medio, piel traslúcida, cicatrices distróficas, rotura intestinal o uterina
Síndrome de Ehlers-Danlos (subtipo valvular cardíaco)	COL1A2	Prolapso de la válvula mitral, hipermovilidad articular	Regurgitación valvular aórtica y/o mitral severa, cicatrices atróficas, hiperelasticidad de la piel
Síndrome de Ehlers-Danlos (tipo cifoscoliótico)	PLODI	Dilatación/disección aórtica, cifoescoliosis, laxitud articular	Aneurisma/rotura de arterias de tamaño medio
Síndrome de Stickler (artrooftalmopatía hereditaria)	COL2A ,COL AI	Hábito marfanoide, prolapso de la válvula mitral, retrognatia	Degeneración vítrea, desprendimiento de retina, miopía, glaucoma de ángulo abierto, cataratas tempranas, paladar hendido, pérdida de audición, cambios epifisarios
Síndrome de Klinefelter	47, XXY (y otros X> Y genotipos en hombres)	Hábito marfanoide	Testículos y genitales pequeños, deterioro cognitivo
Enfermedad valvular aórtica congénita con aortopatía asociada	NOTCH1, KCNJ2 y supuestos loci en los cromosomas 18q, Sq y 13q	Aneurisma de aorta ascendente, algunos tienen deformaciones pectorales, escoliosis	Válvula aórtica bicúspide (puede presentarse asociada o no con aneurisma aórtico en varios miembros de la familia); ausencia de estigmas oculares y sistémicos del síndrome de Marfan; la dilatación aórtica es en general máxima o exclusiva distalmente a la unión sinotubular
Coartación aórtica con dilatación asociada de la aorta ascendente	NOTCH, ERBB4, en gran parte desconocidos	Dilatación aórtica	Coartación de la aorta

Tabla 3. Diagnóstico diferencial del Síndrome de Marfan (Reproducido de [7]).

2.1.6. Morbilidad y mortalidad

La esperanza de vida en los pacientes con síndrome de Marfan está determinada principalmente por las complicaciones cardiovasculares (disección o rotura aórtica), especialmente en la raíz aórtica. En este sentido, tanto el tratamiento médico como quirúrgico de estos pacientes, ha permitido incrementar la esperanza de vida media hasta los 70 años. Sin embargo, esta enfermedad sigue estando asociada a una alta morbilidad [2].

2.1.7. Prevención y tratamiento cardiovascular de la Enfermedad de Marfan

Los pacientes con síndrome de Marfan requieren un seguimiento multidisciplinar, dado que las manifestaciones clínicas características de este síndrome están presentes en múltiples aparatos. Por todo ello, es necesario una evaluación anual tanto ortopédica, cardiovascular como oftalmológica que asegure la detección de lesiones de forma precoz, así como su evolución y tratamiento correspondiente. En relación con el objetivo de este trabajo, se hará un mayor hincapié en la prevención y posterior tratamiento de las manifestaciones de naturaleza cardiovascular.

La evaluación cardiológica deberá ser tanto clínica como ecocardiográfica y su frecuencia vendrá determinada por la existencia de lesiones así como de la severidad de las mismas. Es recomendable desarrollar una actividad física acorde al grado de compromiso cardiaco (nivel de evidencia IA y IIA). Por otro lado, los pacientes con afectación valvular, no operados o tras el reemplazo de la raíz aórtica con o sin sustitución valvular, deben seguir los protocolos de profilaxis de endocarditis infecciosa [20].

Los pacientes con hallazgos incompletos que no cumplen los criterios diagnósticos de esta enfermedad, deben ser reevaluados anualmente pues el carácter progresivo de esta patología deja abierta la posibilidad de aparición de síntomas tardíos que motiven la reclasificación. El consejo genético debe ser planteado en estos pacientes de forma individualizada, exponiendo todas las opciones disponibles (adopción, diagnóstico prenatal y diagnóstico preimplantacional). En este sentido, dada la escasa relación genotipo-fenotipo y la gran variabilidad intra e inter familiar, la decisión deberá ser asumida íntegramente por el paciente.

El tratamiento de las complicaciones cardiovasculares en la enfermedad de Marfan es eminentemente quirúrgico. Es prioritaria la cirugía electiva para reparar la raíz aórtica cuando se alcanzan valores máximos de diámetro aórtico de 5 cm. Será necesario considerar también la velocidad de la dilatación aórtica y los antecedentes familiares de disección aórtica con diámetro menor de 5 cm. En los pacientes con un aumento del diámetro aórtico superior a 1 cm/año, se recomienda una intervención quirúrgica con

independencia del diámetro absoluto. El tratamiento quirúrgico convencional consiste en la sustitución de la raíz aórtica por un tubo de Dacron que puede, o no, llevar aparejada la sustitución valvular. La técnica estándar de sustitución combinada valvular y de la raíz aórtica por un tubo valvulado es la modificación de la descrita por Bentall y De Bono. En años recientes el uso de técnicas de sustitución de la raíz aórtica con preservación valvular se ha popularizado, pues los pacientes con enfermedad de Marfan, jóvenes y con expectativas vitales largas, se benefician particularmente de las ventajas que estas técnicas aportan. La más utilizada de estas técnicas es la de reimplantación valvular de David que evita una anticoagulación crónica al paciente en una edad temprana [2] [20].

3. MODELOS ANIMALES DE AORTOPATÍAS

En la actualidad, el diagnóstico de un aneurisma se sigue de una postura de vigilancia pasiva, denominada *watchfull waiting*, que consiste en la monitorización de la evolución de la patología a través de pruebas de imagen. Este seguimiento se basa en la valoración de varios parámetros, como son el diámetro aórtico, la velocidad de progresión de la dilatación o la aparición de nuevos síntomas, mediante los cuales se puede predecir la evolución hacia una disección aórtica u otro tipo de complicaciones [21], [22]. Por otro lado, deberíamos contar con un abordaje alternativo tras el diagnóstico consistente en un tratamiento farmacológico que permitiera la detención o paliación del crecimiento aneurismático y sirviera además como complemento a lo anterior.

En relación con estos planteamientos, el desarrollo de modelos experimentales desempeña un papel fundamental en la reproducción de la evolución clínica y morfológica así como la fisiopatología celular y molecular observada en la pared aórtica humana [22]. La consecución de una adecuada reproducción garantiza una mejor extrapolación a la clínica de las intervenciones farmacológicas. El modelo experimental ideal debería ser aquel que proporcione un rendimiento elevado, es decir, una elevada proporción de animales que desarrollen el aneurisma y permita además una supervivencia suficiente para poder analizar los fenómenos asociados.

Con un buen modelo de aortopatía ectasiante se puede estudiar la fisiopatología del proceso, pero también se puede valorar el efecto de factores coadyuvantes sobre el mismo (HTA, dieta, tabaco, etc.), o bien la aplicación de herramientas farmacológicas que prevengan o enlentezcan el proceso de expansión aórtica [22], [23]. El planteamiento del estudio también puede ser el contrario, es decir, se pueden desarrollar y analizar modelos que presenten resistencia al desarrollo de aneurismas, a pesar de manipulaciones que de manera reproducible los producen en animales silvestres. Por último, podemos estudiar los factores que intervienen en el deterioro mecánico de la pared aórtica y la hacen vulnerable independientemente de su diámetro.

Los modelos experimentales pueden ser clasificados en seis grandes tipos: modelos espontáneos, modelos de manipulación genética, de modificación dietaria, modelos basados en fármacos, de manipulación aórtica directa y modelos mixtos, que son los más usados. En el caso del síndrome de Marfan los modelos utilizados son los de manipulación genética con pérdida de función, dando lugar a animales denominados *Knocked Out* (KO) [21].

4. BASES MOLECULARES DE LA FISIOPATOLOGÍA EN EL SÍNDROME DE MARFAN

4.1. Fibrilina

4.1.1. Historia de la fibrilina-1

En la década de 1980, el descubrimiento de nuevas proteínas se encontraba en auge gracias al desarrollo de la tecnología de anticuerpos monoclonales por Köhler y Milstein en 1975. Esta técnica permitió el desarrollo de anticuerpos específicos que producían nuevos patrones de tinción de inmunofluorescencia, lo que permitió identificar la existencia de un componente microfibrilar en las fibras elásticas. Los anticuerpos se utilizaron para inmunoprecipitar una glicoproteína a la que se denominó fibrilina, porque los experimentos de microscopía electrónica con inmunolocalización demostraron un marcaje periódico a lo largo de las longitudes de microfibrillas de 10 nm de diámetro [3], [24] (Figura 3).

La fibrilina se aisló del medio de cultivo de fibroblastos humanos. La electroforesis de la proteína de enlace disulfuro reducido proporcionó una banda única con una masa molecular estimada de 350 kD. Las características de la fibrilina identificadas en estos primeros estudios son las siguientes [24]:

- Existencia de enlaces disulfuro intracatenarios.
- Posibilidad de tinción con reactivo ácido de Schiff periódico.
- Resistencia a la digestión por colagenasa bacteriana.

Se demostró la existencia de esta proteína en las matrices extracelulares del tejido conectivo de piel, pulmón, riñón, pared vascular, cartílago, tendón, músculo, córnea y zónula ciliar.

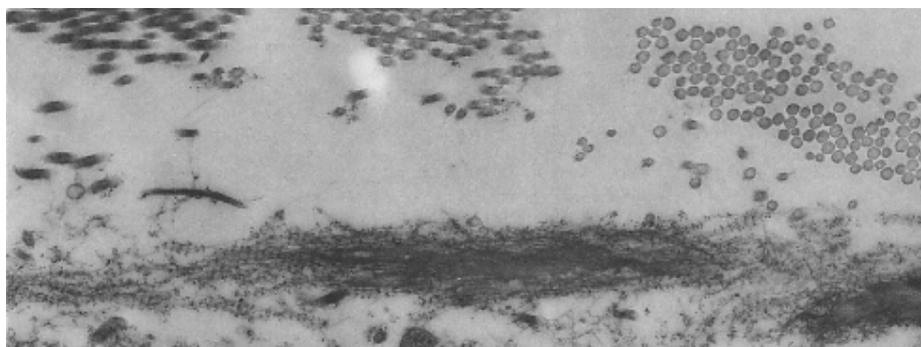


Figura 3. Microscopía electrónica de transmisión en piel humana con inmunolocalización de fibrilina en microfibrillas alrededor de núcleos amorfos de fibras elásticas (Reproducido de. [24]).

4.1.2. Descripción y estado actual

Actualmente, la fibrilina se reconoce como una macromolécula estructural de gran tamaño (aproximadamente 350 kDa de peso molecular) que contribuye a la integridad y función de todos los tejidos conectivos. Se considera "macromolécula estructural" porque, al igual que los colágenos, las fibrilinas forman fibras que son visibles en la microscopía electrónica de transmisión.

En los diversos tipos de tejido conectivo, las microfibrillas de fibrilina presentan una organización adecuada a la integridad funcional del tejido: por ejemplo, en la piel, las fibras elásticas forman una red laxa de unidades interconectadas; en la dermis, discurren en un plano paralelo a la epidermis con desviaciones que se curvan perpendicularmente desde las fibras elásticas más profundas hasta la membrana basal en la unión dérmoe epidérmica, donde los haces de microfibrillas se cruzan con la lámina densa. En cambio, en el caso de las arterias musculares las fibras elásticas tienen una orientación perimetral.

A partir de técnicas de inmunocolocalización, se ha demostrado la existencia de moléculas adicionales asociadas a las microfibrillas que se unen directamente con la fibrilina. Entre ellas se incluyen las fibulinas, los LTBP (Proteínas de unión a TGF- β latentes) [25] y los miembros de la familia de proteínas Adams-like y ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs) [26] que serán mencionadas a lo largo de este trabajo.

Las microfibrillas de fibrilina desempeñan importantes funciones arquitectónicas específicas del tejido, más allá de servir como andamiaje estructural para la deposición de elastina. En la última década, se ha identificado una función muy relevante de las microfibrillas de fibrilina. Éstas fijan y secuestran en forma latente a los miembros de la superfamilia de TGF- β y, dado que este colectivo de factores de crecimiento incluye más de 30 miembros diferentes, esta función diversifica sus acciones biológicas. Entre las funciones de la fibrilina, destaca la selección y el secuestro en forma latente de un conjunto variado de factores de crecimiento, además de contribuir a la formación y la reparación de órganos. De esta manera, las estructuras de microfibrillas de fibrilina colaboran en diversas funciones biológicas con un objetivo morfogénico y de mantenimiento de los tejidos conectivos, por lo que sus mutaciones provocan una alteración en la homeostasis y en el crecimiento tisular [3].

4.1.3. Gen de la fibrilina-1

El gen que codifica la fibrilina 1 (FBN1) se encuentra localizado en el cromosoma 15 (15q21.1) [22]. Está constituido por 65 exones que abarcan 235 kb de ADN genómico y codifica una glicoproteína de 350 kDa muy conservada en la escala evolutiva.

La primera molécula de fibrilina estudiada se obtuvo a partir de cadenas de ADNc de placenta humana, usando un conjunto mixto de oligonucleótidos que representaban todas las posibilidades de codificación para una secuencia de péptido de fibrilina [27].

La secuencia de aminoácidos puso de manifiesto una estructura de dominio modular consistente principalmente en dominios similares a los del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF), con 6 cisteínas por dominio, y dominios novedosos que contienen 8-cisteínas. Cada molécula de fibrilina está compuesta de 47 dominios similares al EGF, 43 de los cuales se predice que se unen al calcio (cbEGF), 7-8 dominios que contienen cisteína (8 cys), 2 dominios "híbridos" que comparten características del dominio 8-cisteína y el dominio de tipo EGF, un dominio rico en prolina, y dominios amino y carboxilo terminales [3]. Cada uno de los dominios tipo-EGF contiene seis residuos altamente conservados de cisteína que forman tres puentes disulfuro (entre C1 y C3, entre C2 y C4 y entre C5 y C6), dando lugar a una estructura de lámina β que está implicada en la unión al calcio. El calcio juega un papel muy importante en la estabilidad del dominio y confiere una mayor resistencia a la degradación proteolítica [28].

Los métodos de clonación condujeron al descubrimiento de dos nuevas moléculas de fibrilina, denominadas fibrilina-2 [29] y fibrilina-3 [30], (Figura 4). A continuación, se llevará a cabo una descripción más detallada de ambas:

- **Fibrilina-2.** Con el uso de los anticuerpos monoclonales utilizados para caracterización y clonación de la fibrilina, sólo se logró identificar la molécula de fibrilina-1. La expresión del gen de la fibrilina-2 se limita en gran parte al periodo de desarrollo fetal [31]. Se han encontrado moléculas de fibrilina-2 en tejidos posnatales, pero los epítomos quedan enmascarados por la fibrilina-1, lo que sugiere que la estructura de las microfibrillas maduras incluye la acumulación de moléculas de fibrilina-1 alrededor de un núcleo de moléculas de fibrilina-2 que se ensamblan durante el desarrollo fetal. La única manifestación clínica encontrada hasta el momento en relación con mutaciones de la fibrilina-2, agrupadas en los exones 23-24, es la artrogriposis distal tipo 9.
- **Fibrilina-3.** La expresión de FBN3 también se limita al desarrollo fetal.

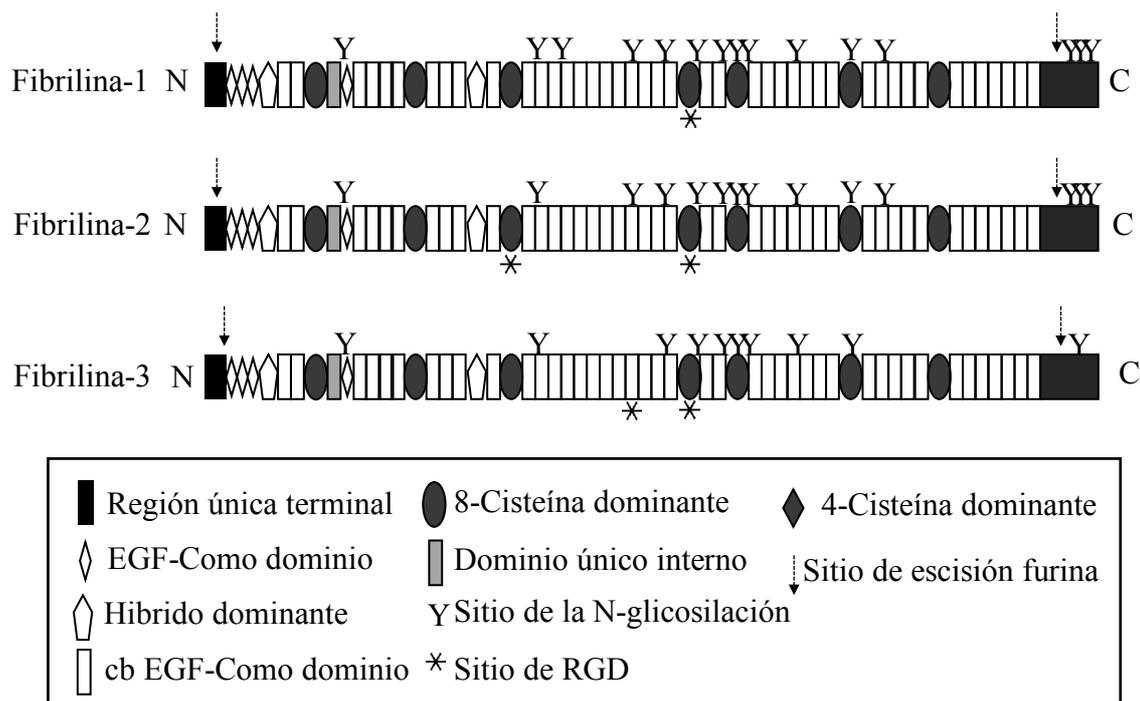


Figura 4. Las estructuras de dominio de la familia de proteínas Fibrilina-LTBP. Fibrilinas y LTBP se componen de los mismos tipos de dominios. El dominio 8-cisteína está presente solo en esta familia de proteínas. Las fibrilinas son del mismo tamaño, mientras que las LTBP varían en tamaño. (Elaboración propia a partir de [3]).

Las tres fibrilinas comparten la misma organización general de dominios modulares. Sin embargo, en lugar del dominio rico en prolina en fibrilina-1, hay un dominio rico en glicina en fibrilina-2 y un dominio rico en prolina y glicina en fibrilina-3. En la actualidad, se desconocen las funciones específicas para estos dominios distintivos [3].

4.1.4. FBN1 mutaciones en el Síndrome de Marfan

Desde la identificación de FBN1 como el gen involucrado en el síndrome de Marfan, se han notificado 1847 mutaciones diferentes en 3044 muestras de ADN, de acuerdo con la base de datos más extensa de mutaciones de FBN1¹. Las mutaciones se encuentran en toda la longitud del gen y sólo el 12% de todas las mutaciones de FBN1 descritas son recurrentes [3]. Una posible excepción es la del agrupamiento aparente de mutaciones entre los exones 24 y 32 asociados con casos de SMF rápidamente progresivo, conocido también como SMF neonatal [7]. No obstante, conviene señalar que es probable que el número de mutaciones conocidas sea en realidad mucho mayor, ya que no todas las mutaciones de FBN1 que han sido identificadas se han incluido en la base de datos.

¹ <http://www.umd.be/FBN1/> - última actualización 28/08/2014

La penetrancia de las mutaciones de FBN1 es extremadamente alta, cercana al 100%. Sin embargo, se han comunicado casos excepcionales en los que la penetrancia ha sido incompleta. Hay que tener en cuenta que muchas de las manifestaciones del síndrome son edad-dependientes; así, un niño puede ser portador de la mutación y sólo desarrollar rasgos de la enfermedad cuando llegue a la edad adulta [32]. Por otra parte, alrededor del 25% de los casos son causados por mutaciones de novo o espontáneas que surgen durante la formación del cigoto.

Entre las mutaciones en el gen FBN1 se incluyen diferentes tipos [3], [7]:

- **Mutaciones contrasentido.** Se trata de la mutación más frecuente ya que puede alcanzar los 2/3 de los casos. En este caso, los residuos de cisteína suelen sustituir a los enlaces disulfuro dentro de uno de los dominios cbEGF o 8-Cys, si bien también son comunes las mutaciones sin sentido que crean nuevos residuos de cisteína en estos módulos.
- **Pequeñas inserciones, deleciones o duplicaciones.** Representan alrededor del 10-15% de todas las mutaciones recogidas, la mayoría de las cuales crearán un codón de terminación prematuro (PTC). Cabe señalar que la supresión completa del gen se considera un evento extraño.
- **Errores de empalme.** Otro 10-15% de las mutaciones notificadas consiste en varios tipos de errores de empalme, que afectan con mayor frecuencia a las secuencias de empalme canónicas en los límites exón/intrón. Muchas mutaciones del sitio de empalme de FBN1 dan como resultado el desplazamiento de la pauta de lectura, de modo que la fibrilina-1 mutante carece de un dominio cbEGF completo.

Dada la gran variedad de tipos de mutaciones encontradas en FBN1, el cribado de mutaciones del gen FBN1 no sólo debe incluir técnicas convencionales para la detección de mutaciones exónicas, sino que también debe completarse con técnicas para la detección de grandes deleciones/inserciones e incluso para las mutaciones intrónicas profundas.

Por último, es importante señalar el planteamiento de la hipótesis de que las mutaciones en el gen FBN1 darían lugar a peores fenotipos en comparación con los codones de parada prematuros. A pesar de que se han llevado a cabo varios intentos de demostración de esta hipótesis no ha podido confirmarse hasta la fecha [2].

4.1.5. Relación genotipo-fenotipo en el Síndrome de Marfan

El síndrome de Marfan constituye un trastorno sistémico muy variable, con características clínicas similares a una gran variedad de trastornos hereditarios de los cuales resulta fundamental su distinción.

Se han analizado las diferentes correlaciones genotipo-fenotipo con el fin de investigar si ciertos tipos de mutaciones en FBN1 se asocian con características clínicas específicas del síndrome de Marfan. Estos estudios se han visto obstaculizados por la heterogeneidad clínica ya conocida en este síndrome. En este sentido, y dado que la variabilidad interfamiliar e intrafamiliar es muy relevante, los distintos fenotipos en los portadores de la misma mutación tienden a difuminar las distinciones entre las diferentes mutaciones. Por otro lado, existen factores adicionales que permiten explicar esta variabilidad, entre los que se incluyen el nivel de expresión del alelo normal de FBN1 y el papel de la hiperhomocisteinemia [33]. Asimismo, es probable que los modificadores genéticos o factores epigenéticos y ambientales también desempeñen papeles importantes en la variabilidad clínica del síndrome de Marfan [3].

En estudios recientes [3], se observó que las mutaciones de truncamiento (mutaciones sin sentido) y de corte y empalme ocurren con mayor frecuencia en pacientes con Marfan que han tenido eventos aórticos, concretamente un 79%. Las mutaciones contrasentido de desplazamiento de la pauta de lectura, corte y empalme estaban considerablemente subrepresentadas (27.8%) en los exones 24-32, en comparación con todos los demás exones (44.4%). Por lo tanto, una visión en conjunto de los datos evidencia que las mutaciones en los exones 24-32 y con mutaciones de truncamiento y de corte y empalme asocian un mayor riesgo de evento aórtico temprano. Sin embargo, a pesar de estas correlaciones genotipo-fenotipo, parece razonable decir que no podemos predecir el fenotipo para una mutación concreta de FBN1.

4.1.6. Nueva visión de la fibrilina-1

El síndrome de Marfan se produce por mutaciones en el gen de la FBN1, codificador de la fibrilina-1. Tradicionalmente, se ha considerado la necesidad de microfibrillas que contuvieran fibrilina-1 para la formación de las fibras elásticas dentro de la matriz extracelular (MEC). Por ello, se pensó que las personas con SMF nacen con una predisposición a la debilidad estructural de los tejidos y, por tanto, a complicaciones relacionadas con este problema. Esta hipótesis ofrece una explicación a la dilatación aórtica que se produce ante presiones sanguíneas que, en circunstancias normales, no producirían ninguna patología en el paciente.

Sin embargo, esta interpretación no permitía explicar en su conjunto la sintomatología presente en este tipo de pacientes, como pueden ser el sobrecrecimiento de los huesos largos, la elongación y engrosamiento de la válvula mitral, así como la hipoplasia del músculo esquelético. Dichas manifestaciones son difíciles de conciliar en un modelo patogénico que recurre al concepto de la integridad estructural del tejido comprometido, siendo más bien sugestivas de un comportamiento celular alterado. A medida que se ha avanzado en el estudio de nuevas moléculas, la homología entre fibrilina-1 y LTBP condujo a la hipótesis de que las microfibrillas contienen moléculas de fibrilina-1 anormales o insuficientes en los tejidos de los pacientes con SMF, dando lugar a una señalización alterada de TGF- β [34].

4.2. Factor de crecimiento transformante (TGF- β)

4.2.1. Familia de Factores de Crecimiento Transformante β

La familia de factores de crecimiento transformante β (por sus siglas en inglés, TGF- β *Transforming Growth Factor*) constituye un conjunto de citoquinas multifuncionales, encargadas de regular multitud de procesos celulares, desde la etapa del desarrollo embrionario hasta la edad adulta. Entre sus múltiples funciones se incluyen el control de fenómenos de migración, adhesión, proliferación, diferenciación, apoptosis celular y reparación de prácticamente todos los tejidos del organismo, incluido el sistema cardiovascular. La alteración de estas citoquinas o de sus vías de señalización se ha relacionado con distintos defectos del desarrollo, así como con enfermedades sistémicas tales como el cáncer, enfermedades autoinmunes, fibróticas y cardiovasculares [35].

Esta superfamilia está constituida por más de 50 miembros, subdividiéndose en dos familias, siguiendo el criterio de similitud de sus secuencias y de sus vías de señalización (Figura 5):

- TGF- β s/Activinas, dentro de las que se incluyen los TGF- β s, las activinas y las inhibinas.
- BMPs (*Bone Morphogenetic Proteins*), GDFs (*Growth and Differentiation Factors*), que comprenden las BMPs, los GDFs y los MIS.

receptor. Para que se produzca la activación del TGF- β , resulta imprescindible que se disocie del LAP, lo que puede tener lugar ante cambios de temperatura o de pH. Una vez liberada, la molécula activa de TGF- β presenta vida media corta.

Las moléculas de LTBP (*Latent TGF- β binding protein*) desempeñan un papel importante en este proceso, ya que median la secreción y posterior asociación del complejo TGF- β latente con la matriz extracelular. Dentro de las diferentes isoformas de esta molécula, será LTBP-1 la que interaccione con la fibrilina-1. Por otra parte, cabe señalar que esta asociación está presente sólo en algunos tejidos, si bien cuando la LTBP-1 no esté disponible será LTBP-4 la que lleve a cabo su función [37].

La interacción de LTBP-1 con fibrilina-1 supone una estabilización del TGF- β latente en la MEC, lo que plantea la hipótesis de que la disminución, en cantidad de proteína o funcional, de fibrilina-1 produce una menor estabilización del complejo, lo que desencadena la cascada de activación de TGF- β [38].

4.2.2.2. Receptores de TGF- β

Existen tres tipos de receptores de TGF- β , que pueden ser clasificados en funcionales y no funcionales [35] [39]:

- **Receptores funcionales:** Se incluyen el tipo I (TGF- β RI) con un peso molecular de 53 a 65 kD, y el tipo II (TGF- β RII) con un peso molecular de 83 a 110 kD. Las diferencias existentes entre ambos tipos residen en la conservación de los dominios con actividad quinasa y la presencia de un dominio serina/treonina (dominio GS) que se encuentra anclado a la membrana en el receptor tipo I y que es crítico para su activación. Con respecto a la cooperación entre TGF- β RI y TGF- β RII, cabe señalar una dependencia funcional entre ambos; el receptor TGF- β RI requiere de TGF- β RII para unirse al ligando, mientras que TGF- β RII requiere de TGF- β RI para la señalización funcional. Por último, en presencia del TGF- β , ambos receptores funcionales tienen la capacidad de interactuar entre sí y formar un complejo tetramérico a través del cual se transducen las señales.
- **Receptores no funcionales:** Incluyen los tipo III (TGF- β RIII) de peso molecular 250 a 310 kD. Dado que no se requieren para la generación de la señal pero son capaces de modularla, controlan la interacción del TGF- β con los receptores funcionales, por lo que reciben el nombre de co-receptores del TGF- β .

4.2.2.3. Cascada de señalización

La señalización clásica de los TGF- β s se realiza tanto por las propias células liberadoras como en las próximas, es decir, de forma autocrina y paracrina, respectivamente [35]. La respuesta inducida por un determinado TGF- β en las células

diana depende de múltiples factores como la concentración, disponibilidad funcional y tipos de receptores activados, la vía de transducción de la señal (canónica o no canónicas), el tipo celular, y la fase del ciclo celular, entre otros.

Como se ha indicado en el apartado anterior, la unión del ligando induce la formación de complejos receptoriales heterotetraméricos estables, compuestos por dos receptores de cada tipo. Tras la interacción con el ligando, el TGF- β RII fosforila al TGF- β RI en una región conservada evolutivamente rica en glicina y serina, denominada dominio GS. Dicha fosforilación produce un cambio conformacional en TGF- β RI que promueve una actividad kinasa en serinas/treoninas que propaga la señal en el interior de la célula. Estos cambios son suficientes para que se activen las diferentes vías de señalización tanto canónica como no canónicas.

Vía de señalización canónica: señalización dependiente de proteínas SMAD

Las proteínas SMAD (*Small mothers against decapentaplegic*, homólogas de la proteína de *Drosophila* y la proteína SMA) han sido identificadas como las principales transductoras de la señalización del TGF- β , pues median la señalización del receptor desde la superficie celular hasta los genes diana en el núcleo [39] y exhiben una cascada de señalización muy conservada en la escala evolutiva [35], (Figura 6).

En vertebrados se han descrito 9 proteínas SMAD diferentes que se clasifican en 3 familias en base a su función celular [35] [39]:

- **SMADs activadas por receptor o R-SMADs:** este grupo comprende SMAD-1, -2, -3, -5 y -8.
- **SMAD mediadoras comunes o co-SMADs:** se incluyen SMAD-4 y SMAD-10.
- **SMADs inhibitoras o I-SMADs:** en sus dos formas posibles SMAD-6 y SMAD-7, caracterizadas por inhibir la señalización de TGF- β s o BMPs.

En la vía canónica, la fosforilación en TGF- β RI supone la activación de las quinasas que, a su vez, fosforilan a los factores de transcripción SMAD-2 y SMAD-3 en su segmento C-terminal. Tras la fosforilación, se produce la liberación del complejo del receptor y se forma un complejo con SMAD-4 para traslocarse del citoplasma hacia el núcleo, donde interactúan de una manera específica con otros factores de transcripción como AP-1, regulando así la transcripción de genes de respuesta al TGF- β para llevar a cabo sus funciones biológicas [39].

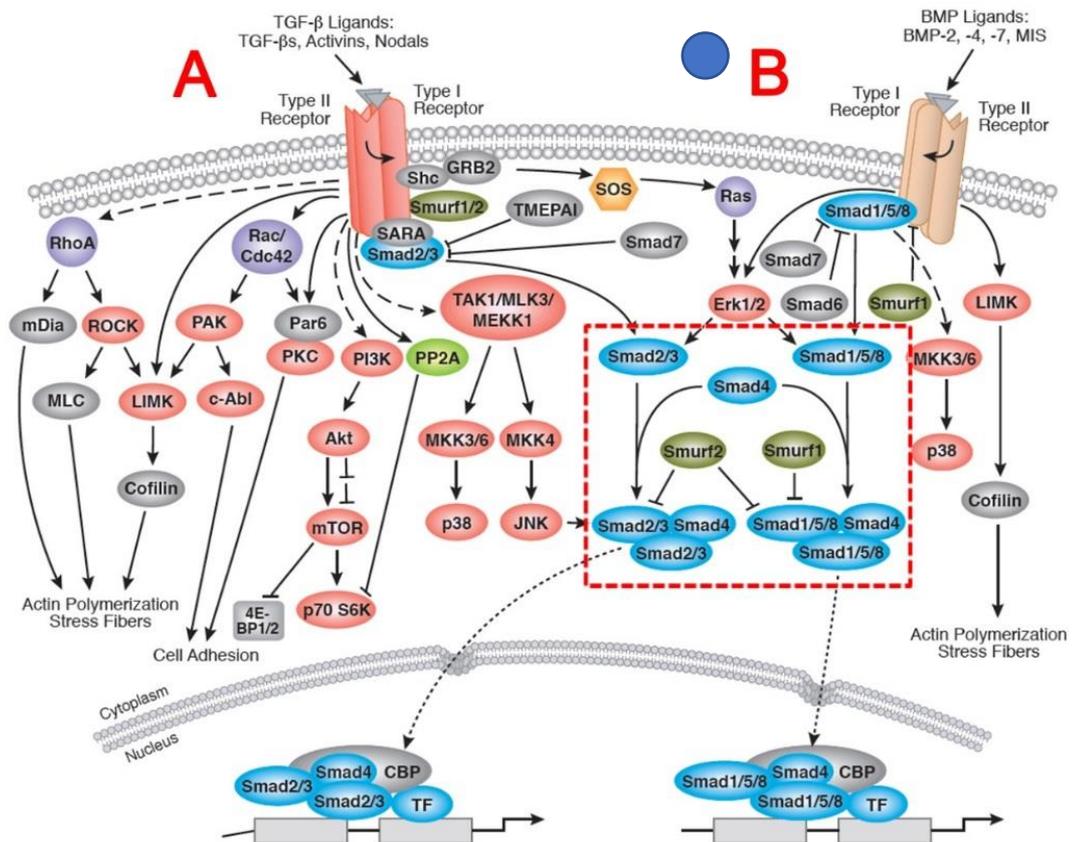


Figura 6. Vías de señalización canónicas (SMAD)(Reproducido de [35])

Vías de señalización no canónicas: señalización independiente de proteínas SMAD

Además de la señalización intracelular canónica, existen otras rutas no canónicas independientes de las SMADs. Estas rutas se activan mediante fosforilación o interacción directa de los TGF-β RII con sus sustratos, produciendo una atenuación o refuerzo de las respuestas celulares producidas por la ruta canónica. Entre estas vías no-SMAD las más relevantes son [35] [39]:

- Ruta de las MAP quinasas (*Mitogen-Activated Protein Kinases* o MAPKs): Las MAPKs constituyen una vía de señalización intracelular importante para transmitir señales extracelulares hasta el núcleo a través de la fosforilación y modulación de múltiples factores de transcripción (Figura 7).
 - o ERK 1/2 (*Extracellularly Responsive Kinase*) y JNK (Jun N terminal Kinase), las cuales pueden producir la fosforilación de SMAD, así como la regulación de su activación.
 - o Vía de señalización Ras-Erk-MAPK. Se caracteriza por inducir la activación de TGF-β y, con ello, amplificar su respuesta e inducir respuestas secundarias posteriores.

○ p38

- GTPasas tipo Rho (Rho-likeGTPase).
- Vía de PI3K/Akt (*fosfatidilinositol-3-quinasa/Akt*) y la vía protein-fosfatasa (PP2A).

Cabe señalar, además, que la capacidad dual de TGF-β de activar tanto SMADs como la señalización de MAPK desempeña un papel relevante en la transdiferenciación epitelio-mesenquimal inducida por TGF-β. Aunque esta convergencia puede producir una relación cooperativa entre ambas, también es posible que se antagonicen. Por todo ello, este equilibrio entre la activación directa de SMADs y las vías de señalización MAPK a menudo define las respuestas celulares a TGF-β [35].

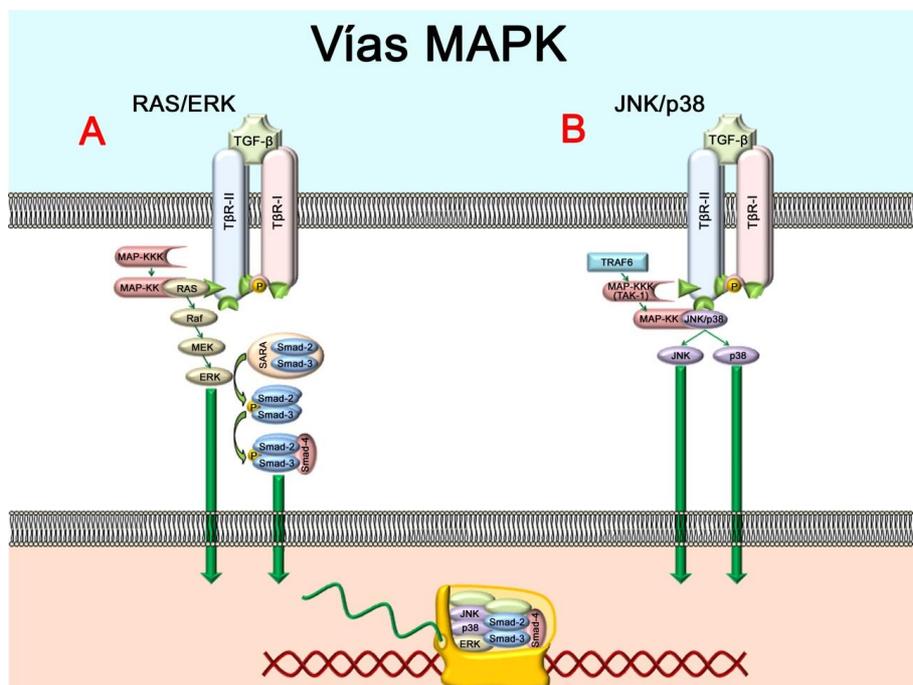


Figura 7. Vías de señalización dependientes de MAPKs. A: Vía RAS/ERK. B: Vía JNK/p38 (Reproducido de [35])

4.2.3. Papel de TGF-β en el desarrollo de los aneurismas aórticos

La matriz extracelular de la pared aórtica consta de abundantes proteínas, glucoproteínas y glicosaminoglicanos, de entre las que la elastina proporciona la compliancia y la capacidad de recuperación elástica, mientras que el colágeno la resistencia tensil. Por su parte, las células del músculo liso detectan el estado mecánico en el que se encuentra la matriz a través de las integrinas y del citoesqueleto. La transducción de esta información a través de las vías de señalización intracelular les

permite adecuar la síntesis de los componentes de la matriz y alterar su citoesqueleto en respuesta a los ciclos de mayor carga mecánica.

Esta remodelación de la matriz regulada por el estrés al que está sometido el vaso, implica la intervención de moléculas que son secretadas por las células residentes de la pared aórtica. Las células de músculo liso y los fibroblastos liberan TGF- β y factor de crecimiento plaquetario (PDGF) que desempeñan un papel clave en el desarrollo de los aneurismas [17].

La hiperactivación patológica de TGF- β a través de su vía no canónica (Erk-mediada) a través del receptor de angiotensina tipo I (AT1r), parece ser un factor importante en el desarrollo de los aneurismas de la aorta torácica. El TGF- β induce específicamente la expresión de MMP2 y MMP9, las MMPs que están asociadas con la formación de aneurismas y además aumentan la expresión del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) [40] [41]. TGF- β y PDGF modulan la expresión de proteínas de la matriz y del citoesqueleto, de forma que controlan la integridad estructural. Otro factor clave en este proceso es la hormona peptídica angiotensina II, que se libera de las células del músculo liso en respuesta a la carga cíclica [40].

4.2.4. Mutaciones en proteínas de la matriz extracelular que producen una alteración de la señalización de TGF- β

Existen mutaciones en otras proteínas presentes en la MEC que producen alteraciones similares a las del síndrome de Marfan o que pueden estar relacionadas con él. A continuación, se realizará una descripción detallada de dichas moléculas:

4.2.4.1. Proteínas LTBP

Las fibrilinas y las proteínas de unión del factor de crecimiento transformante latente (LTBP) forman una superfamilia de proteínas estructuralmente relacionadas que poseen dominios tipo factor de crecimiento epidérmico ligado a calcio (cbEGF) intercalados con proteína de unión al factor de crecimiento transformante que contiene 8-cisteínas [42]. Asimismo, constituye una proteína importante de la matriz extracelular que interactúa con las microfibrillas de fibrilina [43]. Por su parte, el módulo de 8-cisteínas en LTBP forma enlaces covalentes con el pequeño complejo latente de TGF- β .

La función principal de esta molécula es la de mediar la secreción y posterior asociación del complejo TGF- β latente con la matriz extracelular. Dentro de la LTBP se pueden distinguir cuatro tipos de moléculas:

- **LTBP-1/3**. Se caracteriza por estar presente en las plaquetas, fibroblastos, células musculares lisas, endoteliales y epiteliales. Se une a la matriz extracelular, dando lugar al depósito de TGF- β en ésta y desencadena con ello

lo que posiblemente constituya la primera etapa en la activación del TGF- β [38]. Esta proteína no es un componente estructural de las microfibrillas [44].

- **LTBP-2.** Se trata de una proteína microfibrilar integral, que funcionalmente se encuentra más relacionada con las fibrilinas que las demás LTBP [44].
- **LTBP-4.** Desempeña un papel menos relevante en el depósito de la TGF- β en la MEC. En aquellos tejidos en los que la LTBP-1 no es expresada, será sustituida por LTBP-4 dada su buena predisposición a la unión con la fibrilina [45].

4.2.4.2. Fibulinas

Las fibulinas constituyen una familia de proteínas con siete isoformas distintas, fibulina-1, 2, 3, 4, 5, 7 y HMCN1, conocida como fibulina 6, que desempeñan la función de puentes intermoleculares dentro de la MEC. Tanto la fibulina-4 como la fibulina-5 se unen a la fibrilina-1 y a la elastina, facilitando el ensamblaje y el desarrollo de la función de la fibra elástica. Por otro lado, mientras que la fibulina-5 parece promover el ensamblaje de la fibra de elastina mediante el reclutamiento de tropoelastina a las microfibrillas, la fibulina-4 recluta la lisil oxidasa (LOX), la cual reticula las moléculas de elastina [34].

Varios estudios han puesto de manifiesto un aumento de la vía de señalización canónica de TGF- β en humanos y ratones deficientes en fibulina-4. En éstos, se observaron además incrementos en la activación de SMAD2 y en la expresión de CTGF en la aorta y en los pulmones [46]. Al igual que ocurre en ratones con SMF, las cascadas de señalización no canónica de TGF- β , específicamente la vía de Erk1/2, también se activan en las aortas de los ratones deficientes en fibulina-4. Adicionalmente, se ha identificado un aumento de la expresión de MMP9 en este tipo de ratones.

4.2.4.3. ADAMTS

La familia ADAMTS es un grupo de proteínas asociadas a la matriz extracelular con actividad desintegrina y metaloproteasa. Incluye 19 metaloproteasas de zinc y 7 proteínas similares a ADAMTS que carecen de actividad catalítica. Aunque muchas funciones de los miembros de la familia no se han identificado todavía, parecen participar en la maduración del procolágeno y del factor de Von Willebrand, así como en modificaciones de la matriz extracelular, como el procesamiento proteolítico de los proteoglicanos y otras proteínas. Intervienen en el secuestro y activación de TGF- β , a través de la interacción con LTBP1 (ADAMTS2) o, de forma indirecta, regulando la formación de microfibrillas a través de su interacción con fibrilina-1 (ADAMTS10),

ADAMTSL2, 4) y/o mejorando la biogénesis de las microfibrillas (ADAMTS10, ADAMTSL4, 6) [34] [47].

4.2.4.4. Otros

Se ha demostrado que las mutaciones en otros componentes de la matriz extracelular causan fenotipos aórticos, esqueléticos, oculares y/o de la piel que exhiben cierto grado de superposición fenotípica con el síndrome de Marfan y patologías similares. Por ejemplo, las mutaciones en el gen codificador de la elastina causan cutis laxa con aneurisma de la aorta ascendente de baja penetrancia y disección. Los cultivos de fibroblastos de pacientes con este síndrome muestran un deterioro del depósito de tropoelastina en fibras que contienen microfibrillas, así como una mayor coacervación de tropoelastina y la formación de glóbulos, lo que conduce a menores cantidades de elastina madura e insoluble. También mostraron una sobre-expresión de SMAD2, que implica un aumento de la señalización de TGF- β en la patogénesis de esta enfermedad [34].

4.3. Receptor de angiotensina II TIPO I (ATR-1)

Algunas de las manifestaciones características del síndrome de Marfan se atribuyen a una excesiva señalización de TGF- β . En particular, se ha demostrado que el desarrollo de las manifestaciones cardiovasculares, principalmente el aneurisma aórtico, puede prevenirse en ratones mediante la administración de anticuerpo neutralizante de TGF- β o un fármaco que reduzca la producción y señalización de TGF- β como son los bloqueantes del receptor de angiotensina II tipo I o (ATR-1) [48]. Estos datos confirmarían la hipótesis de la influencia de una excesiva señalización de TGF- β en las manifestaciones del síndrome de Marfan.

Un antagonista de los receptores de angiotensina II es el Losartán, utilizado en clínica como antihipertensivo, que produce una atenuación en la señalización de TGF- β en ciertos estadios de la enfermedad. En ratones con síndrome de Marfan tratados con Losartán y comparados con animales tratados con placebo o con dosis equihipotensoras del β -bloqueante propranolol, se ha observado una disminución significativa de la progresión del aneurisma de la raíz aórtica, así como del grosor de la pared aórtica y del deterioro estructural de la misma. Losartan también tuvo un efecto positivo sobre los pulmones de estos animales, pues previno el fallo en la septación postnatal de los sacos alveolares que antecede a la formación de bullas y neumotórax, y en el músculo esquelético en el que previene el desarrollo de miopatía.

Sin embargo, el mecanismo por el cual el bloqueo de AT1 antagoniza la señalización de TGF- β no se ha aclarado. La señalización a través del receptor AT1 supone un aumento de la expresión de ligandos y receptores de TGF- β , así como de la expresión de

trombospondina-1, que constituye un potente activador de TGF- β . En la pared vascular, esta señalización estimula la proliferación de las células del músculo liso vascular (CMLV) y la fibrosis de la MEC, si bien puede depender del contexto. Las CMLV derivadas de cresta neural y mesodermo (CMLV-N y M, respectivamente) responden de manera diferente a TGF- β 1. Se observa una mayor proliferación celular y fenómenos de fibrosis en las CMLV-N y una inhibición del crecimiento en las CMLV-M. Es precisamente esta respuesta diferenciada de las CMLV la que permite explicar la predisposición particular que presenta la raíz aórtica, un segmento vascular enriquecido en CMLV-N, a padecer dilatación y disección en pacientes con síndrome de Marfan. La raíz de la arteria pulmonar, por su parte, también presenta una población CMLV-N predominante y con frecuencia muestra una dilatación en estos pacientes, pese a sus bajas presiones de trabajo [48]. La relación entre el efecto positivo sobre el fenotipo de los ratones SMF tratados con Losartán y la reducción de la activación de SMAD2/3, refleja que el antagonismo de AT1 produce un efecto terapéutico a través del bloqueo de la vía de señalización de TGF- β [34].

Si bien sabemos que angiotensina-II desempeña un papel en la progresión del aneurisma aórtico a través de AT1R, desconocemos las contribuciones del receptor de angiotensina II tipo 2 (AT2R) en el SMF. La señalización de AT2R supone una oposición a la hiperactivación de la señalización de TGF- β mediada por AT1R, lo que indicaría un papel protector. Sin embargo, la señalización de AT2R también puede inducir apoptosis de células de músculo liso vascular (CVM) y contribuir, en teoría, al daño de la pared aórtica. Estos datos cuestionan la acción terapéutica del bloqueo selectivo de AT1R frente al bloqueo de la señalización de ambos receptores, AT1R y AT2R, mediante el uso de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) que impiden la producción de ANG- II [48].

5. FISIOPATOLOGÍA DEL SÍNDROME DE MARFAN

Los aneurismas aórticos torácicos y las disecciones aórticas (TAAD), sindrómicas y no sindrómicas se asocian con un aumento de la señalización de TGF- β . Se ha propuesto que la activación de TGF- β produce una degeneración de la media aórtica caracterizada por un engrosamiento y deterioro estructural con pérdida de CMLVs, fibrosis, acumulación masiva de proteoglicanos y desorganización y fragmentación de las fibras elásticas [49], [50]. Sin embargo, no está clara la relación [49] entre la activación de TGF- β y los TAAD, es decir, si es causa o consecuencia de éstos. A favor de la relación causal está la observación en ratones de que los anticuerpos neutralizantes para TGF- β disminuyen la progresión de la dilatación aórtica característica del SMF. Esta inhibición también se consigue con losartán, un antagonista del receptor tipo I de angiotensina II (Ang-II) (AT1R) que inhibe la señalización de TGF- β , si bien su eficacia en clínica no es superior a la del betabloqueante atenolol [51], [52]. La utilización de tratamiento combinado con ambos no ha supuesto un beneficio adicional [53], [54].

Sabemos que Ang-II y otros estímulos asociados con el remodelado vascular inducen la expresión aórtica de una desintegrina y metaloproteinasa (ADAMTS1) lo que plantea la posibilidad de que esta proteína pueda mediar en la génesis de los aneurismas inducidos por Ang-II [53]. Sin embargo, todavía se desconoce el papel de ADAMTS1 en el desarrollo de los mismos.

Al margen del papel que fibrilina-1 juega en la señalización de TGF- β , participa en el andamiaje estructural de las células del musculo liso con la matriz extracelular [53]. El hecho de que las microfibrillas estén alteradas por mutaciones en fibrilina-1 provoca que el mecanosensado y la mecanotransducción de las células del musculo liso, entre ellas y con las unidades lamelares adyacentes, sean defectuosas e impidan que las células del musculo liso cumplan su función normal de contracción cíclica para adaptarse al ciclo cardiaco, lo que contribuye al desarrollo de los aneurismas aórticos.

6. NUEVAS PERSPECTIVAS

En un corto periodo de tiempo se ha logrado identificar un gran número de mutaciones en diferentes genes (fibrilina-1, receptor de TGF- β , SMAD2, TGF- β 2, TGF- β 3, etc.) con sus correspondientes traducciones funcionales, una de las cuales es el desarrollo de aneurismas aórticos. Ante la presencia de estas anomalías aparece la posibilidad de tratamiento farmacológico convencional que permita su compensación. Algunas de estas nuevas opciones farmacológicas son las siguientes:

- Bloqueo de la generación de plasmina.
- Antihipertensivos con actividad simpática aumentada.
- Inhibición de NOS-2 [53]. Se ha identificado un exceso de este enzima en animales con SMF, que da lugar a un deterioro de la contracción de las CMLV.

Sin embargo, dichos tratamientos no pueden compensar todas las deficiencias causadas por una mutación, por lo que será necesario un abordaje más específico. Las nuevas perspectivas terapéuticas se orientan hacia la génesis de la enfermedad, es decir, se basan en la edición del genoma.

6.1. Tecnología CRISPER/Cas

Los sistemas optimizados de CRISPR/Cas consisten en la generación de un RNA guía (sgRNA) capaz de unirse de forma específica a la región del genoma de interés, y en la aplicación de la nucleasa Cas que inducirá una rotura en la doble hebra de DNA (Figura 8). La coinyección del RNA guía y la proteína Cas a embriones unicelulares provoca la introducción de mutaciones en el locus de interés [55]. El uso de varios sgRNA permite de forma sencilla generar mutantes para varios genes. Los embriones inyectados se cultivan hasta el estadio de dos células y se reimplantan a hembras pseudogestantes. La progenie será mutante para los genes seleccionados. Este sistema es mucho más eficiente y simple que la tecnología de ratones knockout, aunque hay que estar alerta de posibles cortes inespecíficos.

Esta técnica es muy eficaz pero poco eficiente ya que son necesarios muchas repeticiones para lograr el éxito. Además, supone un riesgo elevado en humanos, ya que los elementos de identificación para el corte de la doble hélice no son exactos, lo cual puede provocar un corte en un punto indeseado que provoque la aparición de patologías secundarias, incluso letales. Otra desventaja de esta técnica es su carácter definitivo [56], [57].

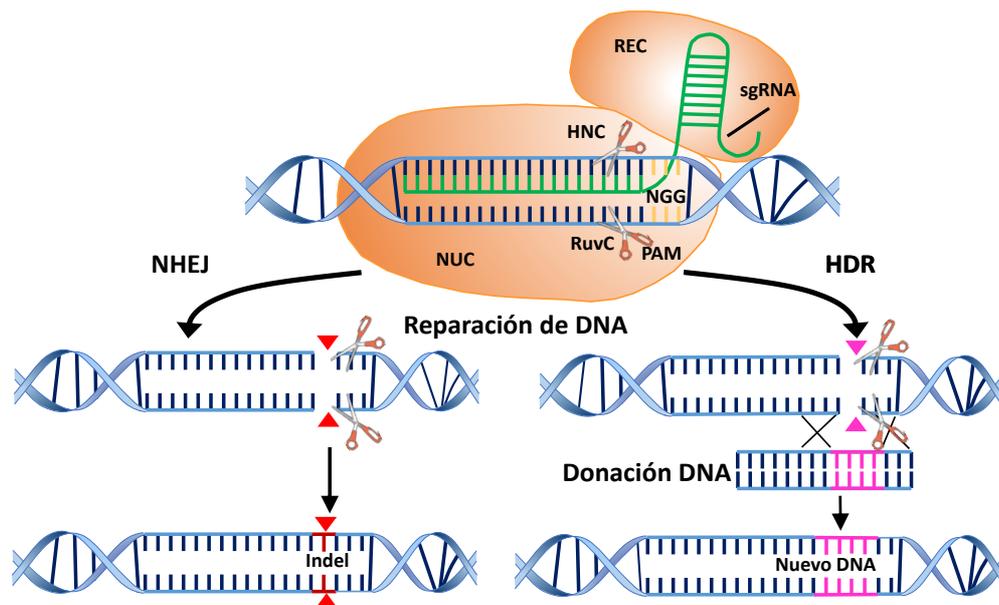


Figura 8. CRISPR/Cas9 mediada por la escisión de ADN genómico y dos vías principales de reparación. (Elaboración propia a partir de [58])

6.2. Edición de bases

Esta técnica constituye un progreso a partir de CRISPR/Cas, ya que se ha logrado que no produzca cortes directamente sobre la cadena de ADN, sino que altere nucleótidos específicos (Figura 9). Esto supone un importante avance ya que permitiría “curar” enfermedades con defectos puntuales o lograr una disminución de los síntomas en otras con defectos más complejos corrigiendo defectos puntuales en sitios relevantes [59]. Otras ventajas adicionales de esta técnica son su carácter reversible, al contrario que la anterior, además de su mayor eficiencia. En líneas generales, las investigaciones a corto y medio plazo parecen ir orientadas a la mejora de esta técnica para su uso clínico, con lo que la técnica CRISPR/Cas quedaría en el ámbito meramente experimental en tanto no se mejoren sus limitaciones para uso en pacientes [56], [60].

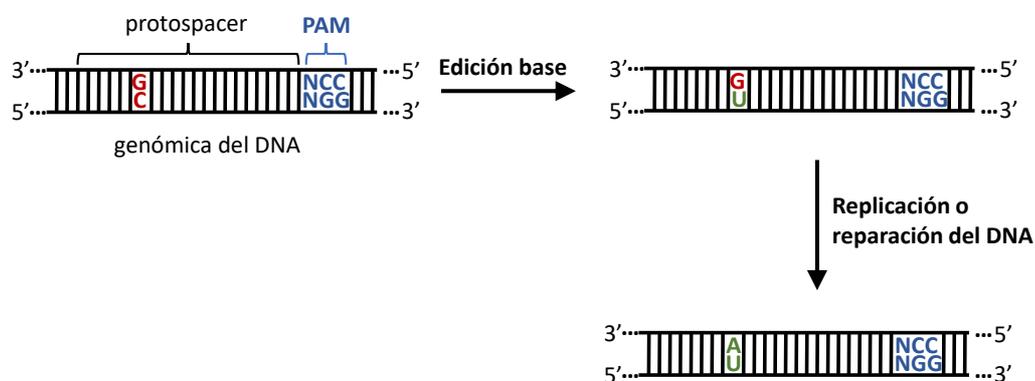


Figura 9. Representación de las secuencias de ADN iniciales, intermedias y finales implicadas en la edición de bases. (Elaboración propia a partir de [61]).

7. CONCLUSIONES

1. El síndrome de Marfan es un trastorno hereditario del tejido conectivo con herencia autosómica dominante. El diagnóstico está basado en la identificación de una combinación de manifestaciones clínicas en los sistemas ocular, musculoesquelético y cardiovascular, definidos en la Nosología de Gante.
2. La principal manifestación cardiovascular en SMF es una dilatación progresiva de la aorta ascendente que conduce a la formación de aneurismas aórticos y, en último término, a la rotura o disección aórticas.
3. En la década de los 1990 se identificaron mutaciones causantes de este síndrome en el gen de la fibrilina-1. Dichas mutaciones producen una alteración estructural de la matriz extracelular, aunque no permiten explicar el conjunto de las manifestaciones clínicas.
4. La aparición de nuevos medios técnicos permitió la identificación de un exceso de señalización de la vía TGF- β en animales con síndrome de Marfan. Sin embargo, la experimentación con anticuerpos neutralizantes de TGF- β y los ensayos clínicos con bloqueantes de esta citoquina no arrojaron los resultados esperados, lo que cuestiona esta hipótesis como el factor primario causante de la patología.
5. La posición de la comunidad científica no es unánime, siendo minoritaria la hipótesis de TGF- β como causante de la patología del SMF frente a la teoría de mecanismo colateral.
6. Recientes estudios han abierto una nueva vía de trabajo al identificar niveles disminuidos de ADAMTS-1 y elevados de NOS-2 y NO. Se ha logrado una reducción del diámetro de los aneurismas aórticos en ensayos animales a través de una inhibición genética o farmacológica de NOS-2.

8. BIBLIOGRAFIA

- [1] Marfan A. B. J. Un cas de déformation congénitale des quatre membres, plus prononcée aux extrémités, caractérisée par allongement avec un certain degré d'amincissement. Bull Mem Soc Med Hop. 1896;13:220-6.
- [2] De Backer J. Cardiovascular characteristics in Marfan syndrome and their relation to the genotype. Tesis Doctoral. Flandes (Bélgica): Universidad de Ghent, Facultad de Medicina y Salud Pública; 2007.
- [3] Sakai L, Keene D, Renard M, De Backer J. FBN1: The disease-causing gene for Marfan syndrome and other genetic disorders. Gene. 2016;591(1):279-91.
- [4] Neptune E, Frischmeyer P, Arking D, Myers L, Bunton T, Gayraud B, Ramirez F, Sakai L, Dietz H. Dysregulation of TGF- β activation contributes to pathogenesis in Marfan Syndrome. Nat Genet. 2003;33(3):407-11.
- [5] Pyeritz R. The Marfan Syndrome. Annu Rev Med. 2000;51:481-510.
- [6] Aubart M, Gross M, Hanna N, Zobot M, Sznajder M, Detaint D, Gouya L, Jondeau G, Boileau C, Stheneur C. The clinical presentation of Marfan syndrome is modulated by expression of wild-type FBN1 allele. Hum Mol Genet. 2015;24(10):2764-70.
- [7] Wright MJ, Connolly HM. Genetic, clinical features, and diagnosis of Marfan syndrome and related disorders. UpToDate. 2017.
- [8] Wright MJ, Connolly HM. Marfan syndrome. UpToDate. 2009.
- [9] Judge DP, Dietz HC. Marfan's syndrome. Lancet. 2005;366(9501):1965-76.
- [10] Van Karnebeek CDM, Naeff M, Mulder B, Hennekam R, Offringa M. Natural history of cardiovascular manifestations in Marfan syndrome. Arch Dis Child. 2001;84(2):129-37.
- [11] Stuart AG, Williams A. Marfan's syndrome and the heart. Arch Dis Child. 2007;92(4):351-56.
- [12] Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chang AR. Heart Disease and Stroke Statistics-2018. Update: A Report From the American Heart Association. Circulation. 2018;137(15):e67-e492.
- [13] Kirsch M, N'Guyen A. Disecciones aórticas. EMC - Tratado de medicina. 2013;17(4):1-10, 2013.

- [14] Müller N. Aortic dissection. High-Yield imaging. Chest. 2017:666-667. Elsevier.
- [15] Manning WJ. Overview of acute aortic syndromes. UpToDate. 2017.
- [16] Humphrey J, Schwartz M, Tellides G, Milewicz D. Role of mechanotransduction in vascular biology: focus on thoracic aortic aneurysms and dissections. Circ Res. 2015;116(8):1448-61.
- [17] Guo D, Papke C, He R, Milewicz D. Pathogenesis of thoracic and abdominal aortic aneurysms. Ann N Y Acad Sci. 2006;1085:339-52.
- [18] Humphrey JD, Milewicz DM, Tellides G, Schwartz MA. Dysfunctional mechanosensing in aneurysm. Science. 2014;344(6183):477-79.
- [19] De Paepe A, Devereux R, Dietz H, Hennekam R, Pyeritz R. Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome. Am J Med Genet. 1996;62(4):417-26.
- [20] Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, Callewaert BL, Backer JD, Devereux RB, Hilhorst-Hofstee Y, Jondeau G, Faivre L, Milewicz DM, Pyeritz RE, Sponseller PD, Wordsworth P, De Paepe AM. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. J. Med. Genet. 2010;47(7):476-85.
- [21] Sanz Ayán MP. Estudio sobre la presencia de ectasia dural y dolor lumbar en pacientes con síndrome de Marfan. Tesis Doctoral. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. 2014. Disponible en: Repositorio Institucional de la Universidad Complutense de Madrid.
- [22] Lindsay M, Dietz H. Lessons on the pathogenesis of aneurysm from heritable conditions. Nature. 2011;473(7347):308-16.
- [23] Dietz H, Cutting G, Pyeritz R, Maslen C, Sakai L, Corson G, Puffenberger E, Hamosh A, Nanthakumar E, Curristin S. Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. Nature. 1991;352(6333):337-9.
- [24] Carta L, Pereira L, Arteaga-Solis E, Lee-Arteaga S, Leanart B, Starcger B, Merkel C, Sukoyan M, Kerkis A, Hazeki N, Keene D, Sakai L, Ramirez F. Fibrillins 1 and 2 perform partially overlapping functions during aortic development. J. Biol. Chem. 2006;12(281):8016-23.
- [25] Sakai L, Keene D, Engvall E. Fibrillin, a new 350-kD glycoprotein, is a component of extracellular microfibrils. J Cell Biol. 1986;103(6 Pt1):2499-509.
- [26] Ono R, Sengle G, Charbonneau N, Carlberg V, Bächinger H, Sasaki T, Lee-Arteaga S, Zilberberg L, Rifkin D, Ramirez F, Chu M, Sakai L. Latent transforming growth factor

- beta-binding proteins and fibulins compete for fibrillin-1 and exhibit exquisite specificities in binding sites. *J Biol Chem.* 2009;284(25):16872-81.
- [27] Kutz W, Wang L, Bader H, Majors A, Iwata K, Traboulsi E, Sakai L, D. Keene, Apte. ADAMTS10 protein interacts with fibrillin-1 and promotes its deposition in extracellular matrix of cultured fibroblasts. *J Biol Chem.* 2011;286(19):17156-67.
- [28] Corson MC. Partial sequence of a candidate gene for the marfan syndrome. *Nature.* 1911;352(6333):334-7.
- [29] Barriales-Villa R, Garcia-Ciustiniani D, Monserrat L. Genetics of Marfan Syndrome. *Cardiocyte.* 2001;46(3):101-4.
- [30] Lee B, Godfrey M, Vitale E, Hori H, Mattei M, Sarfarazi M, Tsiouras P, Ramirez F, y Hollister D. Linkage of Marfan syndrome and phenotypically related to two different fibrillin genes. *Nature.* 1911;352(6333):330-4.
- [31] Nagase T, Ishikawa K, Suyama M, Kikuno R, Hirosawa M, Miyajima N, Tanaka A, Kotani H, Nomura N, Ohara O. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XII. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro. *DNA Res.* 2998;5(6):355-64.
- [32] Zhang H, Apfelroth S, Hu W, Davis E, Sanguineti C, Bonadio J, Mecham R, F. Ramirez F. Structure and expression of fibrillin-2, a novel microfibrillar component preferentially located in elastic matrices. *J Cell Biol.* 1994;124(5):855-63.
- [33] Arslan-Kirchner M, Arbustini E, Boileau C, Child A, De Paepe A, Epple J, Jondeau G, Loeys B, Faivre L. Clinical utility gene card for: Marfan syndrome type 1 and related phenotypes FBN1. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(9).
- [34] Giusti B, Marcucci R, Lapini I, Sestini I, Lenti M, Yacoub M, Pepe G. Role of hyperhomocystinemia in aortic disease. *Cell Mol Biol.* 2004;50(8):945-52.
- [35] Doyle J, Gerber E, Dietz H. Matrix- dependent perturbation of TGFB signaling and disease. *FEBS Lett.* 2012;586(14),:2003-15.
- [36] Fernández Merino D. Plasticidad patológica del miocardio y su recuperación. Papel de BMP-7. Tesis Doctoral, Santander: Universidad de Cantabria. 2014. Disponible en: Repositorio Institucional de la Universidad de Cantabria.
- [37] Weiskirchen R, Meurer S. BMP-7 counteracting TGF-beta1 activities in organ fibrosis. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2013;18:1407-1434.

- [38] R. N. Zeno Isogai RN. Latent transforming growth factor beta-binding protein 1 interacts with fibrillin and is a microfibril-associated protein. *J Biol Chem.* 2003;278(4):2750-7.
- [39] Saharinen J, Taipale J, Keski-Oja J. Association of the small latent transforming growth factor-beta with an eight cysteine repeat of its binding protein LTBP-1. *EMBO J.* 1996;15(2):245-53.
- [40] Enríquez de Salamanca Aladro A. Papel del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y eficacia de moléculas inhibitoras en la respuesta inflamatoria de la superficie ocular, Tesis Doctoral, Valladolid: Universidad de Valladolid. 2012. Disponible en: Repositorio Institucional de la Universidad de Valladolid.
- [41] Cook J, Clayton N, Carta L, Galatioto J, Chiu E, Smaldone S, Nelson C, Cheng S, Wentworth B, Ramirez F. Dimorphic effects of transforming growth factor- β signaling during aortic aneurysm progression in mice suggest a combinatorial therapy for Marfan syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(4):911-7.
- [42] Van der Linde D, Roos-Hesselink J, Loeys BL. Aneurysms-Osteoarthritis Syndrome: SMAD3 Gene Mutations. Academic Press; 2016.
- [43] Jensen SA, Iqbal S, Lowe ED, Redfield C, Handford PA. Structure and Interdomain Interactions of a Hybrid Domain: A Disulphide-Rich Module of the Fibrillin/LTBP Superfamily of Matrix Proteins. *Structure.* 2009;17(5-3):759–768.
- [44] Dallas S, Miyazono K, Skerry T, Mundy G, Bonewald L. Dual role for the latent transforming growth factor-beta binding protein in storage of latent TGF-beta in the extracellular matrix and as a structural matrix protein. *J Cell Biol.* 1995;131(2):539-49.
- [45] Saharinen J, Keski-Oja J. Specific sequence motif of 8-Cys repeats of TGF-beta binding proteins, LTBPs, creates a hydrophobic interaction surface for binding of small latent TGF-beta. *Mol Biol Cell.* 2000;11(8):2691-704.
- [46] Isogai, Ono R, Ushiro S, Keene D, Chen Y, Mazzieri R, Charbonneau N, Reinhardt, Rifkin D, Sakai L. Latent transforming growth factor beta-binding protein 1 interacts with fibrillin and is a microfibril-associated protein. *J Biol Chem.* 2003;278(4):2750-7.
- [47] Renard M, Holm T, Veith R, Callewaert B, Adès L, Baspinar O, Pickart A, Dasouki M, Hoyer J, Rauch A, Trapane P, Earing M, Coucke P, Sakai L, Dietz D, De Paepe A, Loeys B. Altered TGF-beta signaling and cardiovascular manifestations in patients

- with autosomal recessive cutis laxa type I caused by fibulin-4 deficiency. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(8):895-901.
- [48] Hubmacher D, Apte S. Genetic and functional linkage between ADAMTS superfamily proteins and fibrillin-1: a novel mechanism influencing microfibril assembly and function. *Cell Mol Life Sci.* 2011;68(19):3137–3148.
- [49] Habashi J, Judge D, Holm T, Cohn R, Loeys B, Cooper T, Myers L, Klein E, Liu G, Calvi C, Podowski M, Neptune E, Halushka M, Bedja D, Gabrielson K, Rifkin D, Carta L, Ramirez F, Huso D, Dietz H. Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a model of marfan syndrome. *Science.* 2006;312(5770):117-21.
- [50] Dietz HC. TGF- β in the pathogenesis and prevention of disease: A matter of aneurysmic proportions. *J Clin Invest.* 2010;120(2):403-7.
- [51] Renard M, Callewaert B, Baetens M, Campens L, Macdermot K, Fryns JP, Bonduelle M, Dietz HC, Gaspar IM, Cavaco D, Schrandt-Stumpel C, Coucke P, Loeys B, De Paepe A, De Backer J. Novel MYH11 and ACTA2 Mutations Reveal a Role For Enhanced TGF β Signaling in FTAAD. *Int J Cardiol.* 2013;165(2):314-21.
- [52] Gallo EM, Loch DC, Habashi JP. Angiotensin II-dependent TGF-beta signaling contributes to Loeys-Dietz syndrome vascular pathogenesis. *J Clin Invest.* 2014;124(1):448-60.
- [53] Forteza A, Evangelista A, Sanchez V, Teixido-Tura G, Sanz P, Gutierrez L, Garcia T, Centeno J, Rodriguez-Palomares J, Rufilanchas JJ, Cortina J, Ferreira-Gonzalez I, Garcia-Dorado D. Efficacy of losartan vs. atenolol for the prevention of aortic dilation in Marfan syndrome: a randomized clinical trial. *Eur Heart J.* 2015;37(2):978-85.
- [54] Oller J, Mendez-Barbero N, Josue Ruiz E, Villahoz S, Renard M, Canelas LI, Briones AM, Aberca R, Lozano-Vidal N, Hurler MA, Milewicz D, Evangelista A, Salaices M, Nistal JF. Nitric oxide mediates aortic disease in mice deficient in the metalloprotease Adamts1 and in a mouse model of Marfan syndrome. *Nat Med.* 2017;23(2):200-212.
- [55] Lacro RV, Dietz HC, Sleeper LA, Yetman AT, Bradley TJ, Colan SD, Pearson GD, Tierney SS. Atenolol versus Losartan in Children and Young Adults with Marfan's Syndrome. *N Engl J Med.* 2014;371:2061-2071.

- [56] Bibikova M, Golic M, Golic KG, Carroll D. Target chromosomal cleavage and mutagenesis in *Drosophila* using zinc-finger nucleases. *Genetics*. 2002;161(3):1169-75.
- [57] Musunuru K. Genome editing: The recent history and perspective in cardiovascular diseases. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(22):2808-2821.
- [58] Rozman C, Cardellach. *Medicina Intern*. 18ª Ed. Barcelona: Elsevier España; 2016.
- [59] Kruminis-Kaszkiel E, Juranek J. CRISPR/Cas9 Technology as an Emerging Tool for Targeting Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). *Int J Mol*. 2018;906(19).
- [60] Komor A, Kim Y, Packer M, Zuris J, Liu D. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature*. 2016;533:420-4.
- [61] Nishida K, Arazoe T, Yachie N. Targeted nucleotide editing using hybrid prokaryotic and vertebrate adaptive immune systems. *Science*. 2016;353(6305).
- [62] Peled JU, Kuang FL. The Biochemistry of Somatic Hypermutation. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:481-511.