

## Mirando de cerca a la válvula mitral: Investigación traslacional

## Looking closer at the mitral valve: Translational research

José M. Revuelta<sup>a</sup>, Diego Ferreño<sup>a</sup> y Olga Conde<sup>b,c,d</sup><sup>a</sup> LADICIM, Laboratorio de la División de Ciencia e Ingeniería de los Materiales, Universidad de Cantabria<sup>b</sup> Grupo de Ingeniería Fotónica, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Santander, España<sup>c</sup> Instituto Marqués de Valdecilla (IDIVAL), Santander, España<sup>d</sup> CIBER Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBERBBN), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

La necesidad de estrechar lazos entre la investigación básica y la práctica clínica ha dado origen a la investigación traslacional que facilita la necesaria transición del conocimiento básico a las aplicaciones clínicas en beneficio de la salud<sup>1</sup>. Algunos investigadores muestran ciertas reticencias en designarla como investigación traslacional (del inglés, *translational research*) y prefieren denominarla investigación aplicada (del inglés, *applied research*). Sin embargo, estos términos indican aspectos diferentes en el proceso de la investigación biomédica<sup>2</sup>. El traslado de conocimientos de las ciencias básicas en la búsqueda de intervenciones terapéuticas exige una continua interacción, un intercambio de recursos y conocimientos, cuya finalidad es conseguir que los descubrimientos de las ciencias básicas favorezcan y contribuyan a encontrar nuevas herramientas y técnicas para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades<sup>3</sup>, verdadera esencia de la investigación traslacional. Esta interacción *del laboratorio a la cama del paciente* (del inglés, “*from bench to bed-side*”) en Cirugía podría concretarse como *del laboratorio al quirófano* (del inglés, “*from bench to operating room*”).

La prevalencia de la valvulopatía mitral está aumentando en el mundo como consecuencia del envejecimiento de la población. En la actualidad, alrededor de 24 millones de personas padecen enfermedad degenerativa de la válvula mitral<sup>4</sup>. Según DÁrcy et al.<sup>5</sup>, el 2,5% de la población general presenta esta patología, requiriendo de la cirugía en muchos de estos pacientes.

En general, la enfermedad degenerativa de la válvula mitral se presenta como una insuficiencia por prolapso de sus velos, a consecuencia de la rotura o elongación de las cuerdas tendinosas. Las variedades anatómicas, bien diferenciadas, de esta patología degenerativa son la enfermedad de Barlow y la deficiencia fibroelástica. La enfermedad de Barlow afecta a personas de mediana edad, de evolución crónica, presenta los velos engrosados y redundantes -válvula mitral mixomatosa- y cuerdas tendinosas alargadas. La deficiencia fibroelástica, variedad más frecuente que la anterior y en pacientes mayores de 60 años, tiene una evolución clínica más corta, mostrando los velos mitrales finos con algunas cuerdas tendinosas marginales rotas.

A pesar de la amplia información disponible sobre esta frecuente entidad clínica, existe escasa documentación científica sobre estudios multidisciplinarios llevados a cabo para determinar sus posibles formas de disfunción cordal y métodos de diagnóstico peroperatorio para comprobar qué cuerdas tendinosas, con aspecto macroscópico normal en el acto operatorio, pueden haber sido ya afectadas por el proceso degenerativo sufriendo, meses o años más tarde, su progresivo alargamiento o rotura. Con cierta frecuencia, estos episodios de recurrencia de la insuficiencia mitral suelen

atribuirse, erróneamente, a defectos técnicos y/o los dispositivos utilizados para la reparación valvular. Acercar los conocimientos básicos de la patología valvular mitral a la práctica clínica contribuye a perfeccionar su diagnóstico, la toma de decisiones y la elección del procedimiento quirúrgico más apropiado para cada paciente.

En este sentido, durante la última década, un grupo multidisciplinario de investigadores, pertenecientes al Departamento de Anatomía y Biología Celular, al grupo de investigación LADICIM (Laboratorio de la División de Ciencia e Ingeniería de los Materiales) y GIF (Grupo de Ingeniería Fotónica) de la Universidad de Cantabria, y Servicio de Cirugía Cardiovascular del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander, hemos venido trabajando en el ámbito de la investigación traslacional de la patología valvular mitral. En lo que sigue describimos nuestras principales contribuciones.

**Análisis estructural de las cuerdas tendinosas**

El proceso degenerativo mitral puede ocasionar la rotura parcial o completa de los haces de colágeno denso localizado en la porción central de la cuerda tendinosa y alteración progresiva de sus fibras elásticas por infiltración de glucoaminoglicanos (GAGs)<sup>6–9</sup>. Los GAGs constituyen la fracción glucídica de los proteoglicanos, tipo de biomoléculas con función estructural, que se encuentran en el tejido conectivo cumpliendo diversas funciones, como retener líquidos e iones.

En 2013, publicamos un estudio<sup>10</sup> estructural de las cuerdas tendinosas degenerativas humanas con objeto de determinar los posibles mecanismos y modos de alargamiento y rotura cordal, comparando las cuerdas tendinosas patológicas y las colindantes de aspecto normal durante la cirugía. El análisis con microscopía electrónica de barrido demostró que la mayoría de cuerdas, aparentemente normales, mostraban signos evidentes de alteración estructural. A diferencia de lo descrito anteriormente<sup>11</sup>, encontramos que la patología degenerativa de la válvula mitral es un proceso segmentario, en la que los haces de colágeno denso de la zona central de las cuerdas presentan una apariencia desordenada con signos de retracción y rotura del colágeno, con separación anormal de la zona esponjosa que los recubren superficialmente.

En muchos casos, no se observa una rotura de la cuerda tendinosa, mientras que la capa esponjosa permanece intacta, manteniendo por un tiempo su integridad estructural, dándole la apariencia macroscópica de normalidad. Cuando finalmente la capa esponjosa se fragmenta, pueden observarse los haces de colágeno

deshilachados y fragmentados. Estos hallazgos anatómicos, que observamos en nuestro análisis, ponen de manifiesto que se trata de un proceso degenerativo con deterioro estructural progresivo y no debido al incremento del esfuerzo mecánico actuante sobre las cuerdas afectadas, como se había sugerido<sup>11</sup>.

Las cuerdas degenerativas mostraban alteraciones en el material extracelular, con modificación de su fenotipo celular<sup>10</sup>. En todas las cuerdas estudiadas existía un incremento significativo de elastina, en la zona límite de separación de la esponjosa y la región central interior de los haces de colágeno denso, con desorganización y rotura de las fibras, así como un mayor acúmulo patológico de elastina en las áreas de fractura. Estos hallazgos demuestran que existe una relación directa entre el acúmulo de elastina y la rotura de los haces de colágeno, aparte de poner en evidencia que la enfermedad degenerativa mitral altera la síntesis y depósito de las fibras de colágeno y elastina, comprometiendo la estructura normal de la cuerda.

Los componentes celulares de la cuerda tendinosa constituyen los factores básicos en el desarrollo de anomalías estructurales. Mientras que la mayoría de células intersticiales de las cuerdas normales son fibroblastos, en las degenerativas -elongadas o rotas- se observan miofibroblastos, como se había descrito mediante análisis inmunohistoquímico en cuerdas mixomatosas<sup>12</sup>. Estos miofibroblastos contribuyen a la degeneración progresiva de la matriz celular, favoreciendo la rotura espontánea de las cuerdas tendinosas. El proceso disruptivo de los haces de colágeno está relacionado con la actividad de la colagenasa, enzima proteolítica significativamente aumentada en la enfermedad degenerativa valvular<sup>13</sup>.

Desde el punto de vista funcional, la disminución o desaparición de la ondulación normal de los haces de colágeno y su posterior rotura parcial afectan la elasticidad normal de la cuerda y su capacidad de recuperación durante los constantes movimientos del ciclo cardiaco. Nuestros resultados indican que la existencia de un incremento en la síntesis y degradación de la matriz celular en el interior de las cuerdas afectadas, junto con la pérdida de la ondulación de los haces de colágeno, ocasionan una alteración de sus propiedades estructurales y físicas, que finalmente llevan a la rotura cordal. Asimismo, esta pérdida del ondulado normal de los haces de colágeno y disminución de su elasticidad producen un alargamiento patológico de la cuerda, con el consiguiente prolapso del velo afectado, origen de la regurgitación mitral.

La presencia de depósitos granulares en la superficie de las fibras de elastina y haces de colágeno, semejantes a los proteoglicanos, podrían estar interactuando con la elastina y el colágeno, contribuyendo al ensamblaje de la matriz celular, distribución de su carga y consiguiente deformidad del tejido cordal. Estos gránulos se han observado en el interior de unas cavidades o vacuolas formadas entre las fibras de colágeno y elastina, tanto en las cuerdas patológicas como en las que presentaban un aspecto macroscópico normal. Los componentes básicos aún no han sido identificados, quizás podrían constituir parte del proceso de envejecimiento valvular<sup>10</sup>.

Tratando de profundizar en los mecanismos íntimos de la patología de las cuerdas tendinosas mitrales afectadas y colindantes aparentemente sanas, se llevaron a cabo diversos análisis sobre su comportamiento mecánico, micro-TAC y tomografía de coherencia óptica (OCT).

### Comportamiento mecánico y microestructural

A modo de ejemplo de investigación traslacional, los autores de este texto, todos vinculados a la Universidad de Cantabria y al IDIVAL (Instituto de Investigación Sanitaria Valdecilla), y también al CIBER-BBN (Consorcio Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina), han participado en diversos estudios para comprender mejor el comportamiento

mecánico de las cuerdas tendinosas de la válvula mitral, así como la relación existente entre su microestructura y comportamiento mecánico. Esta relación es de singular importancia habida cuenta de que tanto la apariencia externa como el comportamiento mecánico de los materiales no son sino manifestaciones de su naturaleza microestructural.

La investigación desarrollada por Casado et al.<sup>14</sup>, en nuestro grupo de trabajo, trataba de determinar la influencia de la calcificación de las válvulas mitrales humanas sobre las propiedades mecánicas de sus cuerdas tendinosas. El estudio incluía válvulas con diferente grado de calcificación. El comportamiento mecánico de las cuerdas no calcificadas y moderadamente calcificadas fue analizado mediante ensayos de tracción cuasiestáticos, que no pudieron ser llevados a cabo sobre cuerdas muy calcificadas, debido a su avanzado estado de deterioro. Los parámetros mecánicos del material (entre otros, el módulo de Young, la resistencia última y deformación en rotura) revelaron diferencias significativas entre las cuerdas tendinosas mitrales no calcificadas y moderadamente calcificadas. Se observó que las cuerdas normales son 3 – 7 veces más rígidas y resistentes que las moderadamente calcificadas mientras, mientras sin encontrarse diferencias significativas en lo que respecta a la deformación en rotura. Este resultado sugiere que, incluso niveles moderados de calcificación, rigidizan sustancialmente las cuerdas tendinosas y, de esta forma, condicionan la movilidad de los velos y, por ello, la propia competencia funcional de la válvula mitral. Finalmente, se determinó cuantitativamente el contenido de calcio presente en los tres grupos de cuerdas mediante espectroscopía de absorción atómica para poder obtener la relación entre las propiedades mecánicas de cuerdas normales y moderadamente calcificadas en función de su contenido de calcio. Este análisis evidenció la existencia de una fuerte correlación entre el contenido de calcio y la rigidez o resistencia cordal, confirmando la hipótesis apuntada anteriormente.

La naturaleza microestructural de las cuerdas tendinosas mitrales está siendo determinada en una investigación actualmente en curso, en nuestro laboratorio. Su objetivo es identificar mediante micro tomografía axial computarizada (micro TAC) las diferencias microestructurales entre cuerdas tendinosas mitrales normales y degenerativas. El grupo de control del estudio está compuesto por cuerdas normales procedentes de receptores de trasplante cardiaco. El material de estudio comprende cuerdas fibroelásticas degenerativas obtenidas durante la cirugía, procedentes de válvulas patológicas reparadas o reemplazo mitral. La observación de las reconstrucciones tridimensionales proporcionadas por el micro TAC reveló los rasgos anatómicos asociados con las cuerdas normales y degenerativas. En el primer caso, las células endoteliales superficiales y la capa esponjosa estaban intactas, cubriendo el núcleo ondulado de colágeno. Por el contrario, en el grupo degenerativo, las fibras de colágeno se agrupaban en haces gruesos estirados en una configuración paralela. La información proporcionada por el micro TAC sugiere la posibilidad de definir una métrica que permitiera distinguir las cuerdas mitrales normales y degenerativas. En este sentido, en cada cuerda, normal o degenerativa, se han examinado 100 de las secciones transversales proporcionadas por el micro-TAC. Dado que, como se ha señalado anteriormente, la patología degenerativa afecta al ordenamiento de las fibras de colágeno (onduladas en el grupo de control y estiradas en la dirección axial de la cuerda en el grupo experimental), se ha obtenido la entropía de Shannon de cada una de las secciones transversales, parámetro que cuantifica el nivel de desorden estructural. Los resultados alcanzados, todavía en proceso de análisis, indican diferencias estadísticamente muy significativas entre ambos grupos. De esta forma, la ordenación microestructural de las fibras de colágeno podría implementarse como un indicador temprano de patología degenerativa o como una herramienta de diagnóstico precoz. Los resultados preliminares alcanzados invitan al optimismo.

Desafortunadamente, la tomografía no puede ser utilizada en el quirófano. Sin embargo, es posible optimizar otras técnicas fotónicas, que estamos empleando, para la cuantificación del daño microestructural experimentado por el aparato subvalvular mitral.

### Tomografía de coherencia óptica

Con la idea de evaluar la integridad estructural de las cuerdas hemos analizado la viabilidad de aplicar técnicas de imagen basadas en la interferencia de radiación láser. La Tomografía de Coherencia Óptica Sensible a la Polarización (PS-OCT, Polarization Sensitive Optical Coherence Tomography) permite visualizar, en tiempo real, el efecto que la desorganización de los haces de colágeno tiene sobre la polarización de la luz. La técnica PS-OCT es capaz de obtener imágenes en tiempo real de las cuerdas que, por otro lado, no necesitan ninguna preparación específica para ser evaluadas. Este hecho hace a la PS-OCT especialmente apta para su traslación al quirófano. Como se ha comentado, los haces de colágeno de las cuerdas tendinosas presentan una estructura altamente organizada desde un punto de vista morfológico. Esta organización muy anisotrópica a nivel estructural (es decir, sus propiedades dependen fuertemente de la dirección), se manifiesta de forma indirecta sobre la propiedad óptica de los tejidos denominada birrefringencia. La birrefringencia ofrece una medida de la variación en la velocidad de propagación de la luz en cada una de las direcciones del tejido. Si el tejido es muy anisotrópico, la birrefringencia será alta. Por ello, cualquier desorganización estructural del colágeno implica una modificación de su comportamiento anisotrópico, y con ello, una disminución del parámetro de birrefringencia.

Basada en estos preceptos, la investigación realizada por Real et al.<sup>15</sup>, demostró, por primera vez, que las cuerdas degenerativas presentaban mapas de retardo de fase, obtenidos con PS-OCT, que eran totalmente diferentes en las cuerdas patológicas y el grupo control. La validación de esta hipótesis abrió una línea de investigación centrada en considerar la birrefringencia como biomarcador de la desorganización estructural de las cuerdas. Estudios posteriores<sup>16</sup>, realizados con mayor número de muestras humanas, revalidaron que las diferencias estructurales de los grupos diagnósticos de las cuerdas tendinosas (funcionales, degenerativas, reumáticas) se traducían en variaciones morfológicas de los mapas de retardo de fase obtenidos con la técnica PS-OCT. El adecuado tratamiento de estos mapas nos permitió cuantificar los valores de birrefringencia presentes en cada punto de la cuerda. Este trabajo demostró que las cuerdas funcionales se caracterizaban por tener valores más altos de birrefringencia, seguidas por las cuerdas degenerativas y, en último lugar, las cuerdas reumáticas. Este valor de birrefringencia mostraba un correlato con la ordenación estructural del interior de la cuerda documentada mediante micrografías SEM.

Como la técnica PS-OCT permite obtener los valores de birrefringencia a lo largo de toda la longitud de la cuerda con una resolución espacial entre 10–25 micrómetros, se verificó que las cuerdas funcionales presentaban valores de birrefringencia más uniformes espacialmente. Sin embargo, en las cuerdas degenerativas y reumáticas, la birrefringencia presentaba anomalías a lo largo de la longitud de la cuerda revelando zonas con especial desorganización interna. Esto puede ser indicativo de que las alteraciones estructurales del colágeno se pueden presentar en diferente grado y extensión, dependiendo de la patología. Trabajos posteriores, como el realizado por Mieites<sup>17</sup> y otros en desarrollo actualmente, están demostrando la capacidad que tiene la birrefringencia para cuantificar las alteraciones estructurales de las cuerdas cuando son sometidas a procesos de tracción mecánica. Ante esfuerzos mecánicos de tracción sobre la cuerda, la evolución de la variación espacial de la birrefringencia apunta hacia la zona de ruptura antes de que

esta se produzca. Por otro lado, estos ensayos de tracción están verificando cómo la birrefringencia se correlaciona con la elongación sufrida por la cuerda en la tracción aplicada y, con ello, con su capacidad elástica. Este hecho permitirá definir marcadores de diagnóstico estructural obtenidos directamente sobre las cuerdas tendinosas.

### Reflexiones finales

En la última década, la investigación traslacional está contribuyendo de forma relevante al desarrollo de la Cardiología y Cirugía Cardiovascular modernas. El trabajo conjunto de médicos, ingenieros y físicos ha posibilitado el importante avance en el conocimiento de la microestructura y funcionamiento de las válvulas cardiacas normales y patológicas, diferentes según la causa etiológica de la insuficiencia mitral. En este sentido, los procedimientos de caracterización del comportamiento mecánico desarrollados sobre materiales inertes están proporcionando información sumamente valiosa cuando se aplican sobre material biológico, como en el caso de las cuerdas tendinosas mitrales. Las técnicas de observación microestructural, como el micro TAC, están permitiendo entender los fenómenos de daño que el material experimenta como consecuencia de la patología degenerativa.

Novedosas técnicas de imagen como la PS-OCT, basadas en el análisis de las propiedades ópticas de las cuerdas tendinosas mitrales, están permitiendo alcanzar avances significativos en el descubrimiento no invasivo de su microestructura. La principal ventaja de esta técnica reside en su capacidad de ser miniaturizadas para su utilización en el quirófano al no requerir preparación previa de la muestra.

La investigación traslacional de las cuerdas tendinosas de la válvula mitral está proporcionando una valiosa información de carácter anatómico, microestructural y comportamiento mecánico y fatiga, junto con la moderna técnica de PS-OCT, que podrá permitir al cirujano, en un futuro cercano, comprobar el estado real de las cuerdas tendinosas patológicas con aspecto externo de normalidad, y poder decidir durante la operación, la mejor alternativa quirúrgica para cada paciente con insuficiencia mitral significativa.

### Bibliografía

1. Wehling M. Translational medicine: Science or wishful thinking? *J Transl Med.* 2008;6:1–3, <http://dx.doi.org/10.1186/1479-5876-6-31>.
2. Bermejo J, Heras M, Segovia J, Alfonso F. Medicina cardiovascular traslacional. Ahora o nunca. *Rev Esp Cardiol.* 2009;62:66–8, [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-8932\(09\)70022-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-8932(09)70022-3).
3. Zerhouni EA. Clinical Research at a Crossroads. *J Investig Med.* 2006;54:171–3, <http://dx.doi.org/10.2310/6650.2006.X0016>.
4. Coffey S, Roberts-Thomson R, Brown A, Carapetis J, Chen M, Enriquez-Sarano M, et al. Global epidemiology of valvular heart disease. *Nat Rev Cardiol.* 2021;18:853–64, <http://dx.doi.org/10.1038/s41569-021-00570-z>.
5. D'Arcy JL, Prendergast BD, Chambers JB, Ray SG, Bridgewater B. Valvular heart disease: The next cardiac epidemic. *Heart.* 2011;97:91–3, <http://dx.doi.org/10.1136/hrt.2010.205096>.
6. Tamura K, Fukuda Y, Ishizaki M, Masuda Y, Yamanaka N, Ferrans VJ. Abnormalities in elastic fibers and other connective-tissue components of floppy mitral valve. *Am Heart J.* 1995;129:1149–58, [http://dx.doi.org/10.1016/0002-8703\(95\)90397-6](http://dx.doi.org/10.1016/0002-8703(95)90397-6).
7. Fornes P, Heudes D, Fuzellier JF, Tixier D, Bruneval P, Carpentier A. Correlation Between Clinical and Histologic Patterns of Degenerative Mitral Valve Insufficiency: A Histomorphometric Study of 130 Excised Segments. *Cardiovasc Pathol.* 1999;8:81–92, [http://dx.doi.org/10.1016/S1054-8807\(98\)00021-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1054-8807(98)00021-0).
8. Grande-Allen KJ, Griffin BP, Ratliff NB, Cosgrove DM, Vesely I. Glycosaminoglycan profiles of myxomatous mitral leaflets and chordae parallel the severity of mechanical alterations. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:271–7, [http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097\(03\)00626-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097(03)00626-0).
9. Chikwe J, Adams DH. State of the Art: Degenerative Mitral Valve Disease. *Heart Lung Circ.* 2009;18:319–29, <http://dx.doi.org/10.1016/j.HLC.2009.02.005>.
10. Icardo JM, Colvee E, Revuelta JM. Structural analysis of chordae tendineae in degenerative disease of the mitral valve. *Int J Cardiol.* 2013;167:1603–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.04.092>.

11. Scott-Jupp W, Barnett NL, Gallagher PJ, Monro JL, Ross JK. Ultrastructural changes in spontaneous rupture of mitral chordae tendineae. *J Pathol.* 1981;133:185–201, <http://dx.doi.org/10.1002/PATH.1711330303>.
12. Rabkin E, Aikawa M, Stone JR, Fukumoto Y, Libby P, Schoen FJ. Activated interstitial myofibroblasts express catabolic enzymes and mediate matrix remodeling in myxomatous heart valves. *Circulation.* 2001;104:2525–32, <http://dx.doi.org/10.1161/hc4601.099489>.
13. Flameng W, Meuris B, Herijgers P, Herregods MC. Durability of mitral valve repair in Barlow disease versus fibroelastic deficiency. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008;135:274–82, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.200706040>.
14. Casado JA, Diego S, Ferreño D, Ruiz E, Carrascal I, Méndez D, et al. Determination of the mechanical properties of normal and calcified human mitral chordae tendineae. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2012;13:1–13, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmbbm.2012.03.016>.
15. Real E, Revuelta JM, González-Vargas N, Pontón A, Calvo M, López-Higuera JM, et al. Collagen birefringence assessment in heart chordae tendineae through PS-OCT Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXI. *Photonics West BiOS.* 2017, <http://dx.doi.org/10.1117/12.2254303>.
16. Real E, Icardo JM, Fernández-Barreras G, Revuelta JM, Díez MC, Pontón A, et al. Identification of Human Pathological Mitral Chordae Tendineae Using Polarization-sensitive Optical Coherence Tomography. *Sensors* 2019, Vol 19 Page 543. 2019;19:543, <http://dx.doi.org/10.3390/S19030543>.
17. Mientes Alonso V. Validación de la birrefringencia como marcador de la degradación de cuerdas tendinosas con PS-OCT. Master Thesis. University of Cantabria. 2020. URI: <http://hdl.handle.net/10902/19145>.