



Fundació
La Marató de TV3

21è SIMPOSIUM
Malalties del cor



ANEURISMES D'AORTA ASCENDENT: FACTORS BIOMOLECULARS I BIOMECÀNICS

Arturo Evangelista Masip

Institut de Recerca Hospital Universitari Vall d'Hebron

Juan Miguel Redondo Moya

Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III - Madrid

Per Eriksson

Karolinska Institutet Stockholm

1. Resum

Els aneurismes d'aorta ascendent poden ser el resultat de factors genètics que predisposen al debilitament de la paret, de factors biomecànics que augmenten la tensió de paret o de cisellament (*shear stress*) i de l'aterosclerosi. L'objectiu principal d'aquest estudi era determinar els mecanismes biomecànics, moleculars i epigenètics que afavoreixen la dilatació de l'aorta ascendent.

Els objectius de l'estudi van ser: 1) determinar els factors biomecànics que afavoreixen la dilatació d'aorta ascendent en estadis inicials i avançats de la malaltia en diferents etiologies: Marfan, bicúspide, degenerativa; 2) investigar l'impacte de biomecànica de l'aorta ascendent en la metilació de l'ADN mitjançant un sistema *in vitro*; i 3) definir els mecanismes moleculars implicats en la regulació de l'homeòstasi aòrtica per ADAMTS1 i els seus substrats. I el model de ratolí deficient en ADAMTS1, per identificar i caracteritzar els mediadors moleculars implicats en la formació dels aneurismes-disseccions d'aorta toràctica (TAAD). Es van determinar els nivells sèrics en el model animal d'ADAMTS1; els seus substrats o el TGF- β es correlacionen amb els nivells que es troben en pacients amb TAAD.

El centre coordinador, **grup 1**, va incloure pacients amb dilatació de l'aorta ascendent afectats de Marfan i altres malalties sindròmiques, malaltia familiar no sindròmica, vàlvula aòrtica bicúspide i malaltia degenerativa o hipertensiva. Es van realitzar 4D-MRI (ressonància magnètica) en els pacients per analitzar la distensibilitat aòrtica, la velocitat de l'ona del pols, la tensió de paret i de cisellament i paràmetres de flux. El **grup 2** va analitzar dos models de ratolí (malaltia sindròmica i no sindròmica) per determinar els mecanismes moleculars implicats en la dilatació de l'aorta ascendent, i van efectuar estudis amb ecografia per determinar la distensibilitat aòrtica i la velocitat de l'ona del pols. Aquestes dades serien integrades amb les obtingudes en pacients. I es determinaran també els marcadors sèrics (ADAMTS1, versicà, aggrecan i TGF- β). El **grup 3** va analitzar el teixit aòrtic de pacients per definir els factors epigenètics (metilació de l'ADN) i relacionar-ho amb les variables biomecàniques obtingudes per RM. També es va fer un estudi *in vitro* utilitzant mostres de biobancs per establir la variació epigenètica mediada pel flux.

2. Resultats obtinguts

El projecte ha aconseguit els objectius plantejats aportant informació transcendent per millorar el pronòstic i el maneig de la patologia aòrtica. Un dels objectius principals del projecte era determinar els factors biomecànics que afavoreixen la dilatació de l'aorta ascendent. Un dels estudis duts a terme que pot tenir més transcendència clínica demostra que l'*strain* longitudinal de l'aorta proximal està relacionat de manera independent amb la taxa de dilatació de l'arrel aòrtica i els esdeveniments aòrtics en els malalts amb síndrome de Marfan. (*Proximal aorta longitudinal strain predicts aortic root dilation rate and aortic events in Marfan syndrome*. Eur Heart J. 2019 Jul 1;40[25]:2047-2055). Cal destacar que el valor de l'*strain* de l'aorta proximal prediu també els canvis longitudinals evolutius en el z-score i l'índex de diàmetre aòrtic normalitzat per alçada. L'estudi mostra que la distensibilitat de l'aorta ascendent no afegeix valor predictiu als factors de risc establerts, com el diàmetre de l'arrel aòrtica o la taxa de dilatació de l'arrel aòrtica en pacients de Marfan.

A més de l'aorta ascendent, les malalties de l'aorta descendent han aparegut com un problema clínic en la síndrome de Marfan. El nostre estudi *Decreased rotational flow and circumferential wall shear stress as early markers of descending aorta dilation in Marfan syndrome: a 4D flow CMR study*. J Cardiovasc Magn Reson. 2019 Oct 14;21(1):63 demostra que el flux de rotació reduït està present en l'aorta de pacients de Marfan, fins i tot en absència de dilatació, i està relacionat amb la rigidesa aòrtica, tot provocant una tensió de cisellament anormal de la paret. La tensió de cisellament axial i circumferencial està relacionada de forma independent amb la dilatació de l'aorta descendent proximal més enllà dels factors clínics. El flux de rotació de la tensió de cisellament de la paret circumferencial es pot considerar un marcador precoç de la dilatació de l'aorta descendent en els pacients de Marfan. Per diferenciar la biomecànica de l'aorta dels malalts en vàlvula bicúspide, la síndrome de Marfan o aortopatia degenerativa, es van fer estudis amb 4D-MRI (ressonància magnètica) a fi de valorar la distensibilitat aòrtica, la velocitat de l'ona del pols, la tensió de paret, la tensió de cisellament i paràmetres de flux (*Influence of aortic dilation in the regional aortic stiffness of bicuspid aortic valve assessed by 4D-flow CMR: comparison with Marfan syndrome and degenerative aortic aneurysm*. JACC cardiovascular imaging. 12[6] 1020-9, 2019. D1 doi: 10.1016/j.jcmg.2018.03.017). Els pacients amb VAB presenten patrons de flux alterats que depenen del seu fenotip valvular (*Aortic flow*

patterns and wall shear stress maps by 4D-flow MRI in the assessment of aortic dilatation in bicuspid aortic valve. J Cardiovasc Magn Reson. 2018, 20:28 D1. [HTTPS://DOI.ORG/ 10.1186 /S12968-018-0451-1](https://doi.org/10.1186/S12968-018-0451-1)). Els pacients amb fusió de les sigmoidals dreta i esquerra (DE-VAB) presenten una direcció del flux anterior, mentre que la fusió de les sigmoidals dreta no coronària (DN-VAB) presenta un flux dirigit a la paret posterior, predominant a la unió sinotubular, que es desplaça cap a la paret anterior o dreta anterior a l'aorta ascendent distal. Aquesta distribució de flux indueix un augment de la tensió de cisellament de la paret a la paret aòrtica anterior en pacients amb DE-VAB, mentre que la morfologia DN-VAB genera un augment en el flux rotacional del pla axial i de la tensió de cisellament de la paret circumferencial a l'aorta ascendent mitjana i distal. Aquests resultats poden explicar diferents morfotips de dilatació en la població de VAB.

A més dels diàmetres aòrtics, la valoració dels diferents components de la tensió de cisellament de les parets (axial i circumferencial) i dels paràmetres de flux derivats poden contribuir a identificar els malalts que presenten un risc més elevat de dilatació aòrtica. La dilatació de l'arc aòrtic proximal és una troballa freqüent en pacients amb VAB i s'associa principalment amb la fusió de la cúspide dreta i no coronària (*Increased rotational flow in the proximal aortic arch contributes to its dilation in bicuspid aortic valve disease.* 2019. Eur Heart J Card Img. doi: 10.1093/ehjci/jez046, 27 February 2019). Tot i que l'ecocardiografia és la tècnica elegida en el seguiment de pacients amb VAB, pot ser que els mesuraments de diàmetre de l'arrel aòrtica siguin inexactes en presència d'asimetria de l'arrel i en VAB amb fusió de les cúspides dreta i no coronària (*Implications of asymmetry and valvular morphotype on echocardiographic measurements of aortic root in bicuspid aortic valve.* Journal of the American Society of Echocardiography. D1. doi: 10.1016/j.echo.2018.08.004). En aquests casos pot ser aconsellable una imatge de secció transversal, amb ressonància magnètica o tomografia, per confirmar diàmetres aòrtics.

El **grup coordinat 2** va assolir els objectius plantejats. Va definir aspectes claus en les alteracions biomoleculares que condicionen la dilatació d'aorta en la malaltia de Marfan. Va demostrar clarament que els substrats de l'ADAMTS1, com el versicà i la via de l'òxid nítric, són essencials en el desenvolupament de la dilatació de l'aorta. No obstant això, considerem que alguns pèptids nitrats i l'augment dels nivells del cGMP es relacionen amb la progressió de la dilatació d'aorta i, per tant, poden ser efectius com a

biomarcadors. L'estudi amb ratolins s'ha replicat en mostres humanes i s'ha confirmat el comportament adequat d'aquests biomarcadors.

Respecte dels resultats del **grup coordinat 3**, es va poder demostrar que la resposta als estrògens va ser la metilació de diferents gens, seguida per la senyalització per TNF/NFKB, hipòxia i transició mesenquimal epitelial. S'ha identificat una superposició entre els gens DM entre VAB-ND i VAT-ND i gens que canvien la metilació en resposta al flux. Es va demostrar que metilació VAB-ND estava associada amb el flux oscil·latori ($P = 0,01$), especialment relacionat amb l'endocitosi ($FDRq = 1,5e-3$) i la regulació del citoesquelet d'actina ($FDRq = 2,8e-3$). Quan es va exposar les CE primàries de VAB i VAT al flux oscil·latori es van identificar gens DMR i els nivells i expressió. Un total de 400 gens en VAB i 1.251 en VAT van canviar d'expressió en resposta al flux oscil·latori ($FDR 10\%$). En VAB, el 83% dels gens estaven sobreexpressats en comparació amb sols un 10% en VAT (via KEGG).

3. Rellevància i possibles implicacions futures

La importància de les nostres troballes rau a diferenciar les propietats mecàniques aòrtiques de VAB i de la síndrome de Marfan. L'aortopatia dels malalts amb VAB no té una deficiència mecànica intrínseca com la síndrome de Marfan. Així, sembla que els pacients amb VAB no es beneficien d'un maneig clínic diferent dels malalts amb vàlvula tricúspide i no són comparables amb els que tenen síndrome de Marfan. La dilatació aòrtica exerceix efectes similars sobre les propietats mecàniques locals de VAB i pacients amb TAV, diferents dels malalts amb Marfan. La PWV va mostrar la millor associació amb dilatació aòrtica ascendent en pacients amb VAB, més enllà dels factors de risc clínics. Els principals avantatges de PWV són que, a diferència d'AD, no depèn de cap supòsit geomètric o mecànic ni tampoc de la pressió local, que no es pot mesurar no invasivament. Aquest estudi evidencia una dada força interessant, com és la tendència bifàsica de la velocitat de l'ona del pols a l'aorta ascendent quan el diàmetre de l'aorta arriba als 50 mm, fet que suggereix que la remodelació de l'aorta ja no permet compensar les alteracions de la paret de l'aorta. El valor és molt proper al que empíricament es suggereix per indicar cirurgia profilàctica de l'aorta ascendent. Les guies de pràctica clínic només inclouen els paràmetres dimensionals i la història familiar de dissecció, com variables que impliquen una indicació de cirurgia precoç a 45

mm i no a 50 mm. Tot i utilitzar les recomanacions de les guies per mesurar l'aorta per ecocardiografia i CMR, el diàmetre màxim de l'arrel aòrtica mostra una concordança acceptable, però en un 39% dels casos les diferències van ser de 3 mm i en el 15% van ser de 5 mm. Aquestes diferències es van relacionar principalment amb la presència d'asimetria d'arrel i el morfotip de VAB-ND.

Per tant, aquest projecte ha aportat informació i coneixement important en aspectes fonamentals de la patologia aòrtica, com ha estat demostrar el valor pronòstic de l'*strain* de l'aorta ascendent i definir que el PWV determinat pel flux 4D és el paràmetre de la biomecànica més consistent. D'una banda, els estudis de flux 4D permeten determinar el segment proximal o distal de la dilatació de l'aorta ascendent, i també de l'arc proximal. I, d'una altra banda, s'ha evidenciat que el mini rafe genera alteració del flux aòrtic i facilita la dilatació de l'aorta ascendent. Finalment, que la presència d'asimetria de l'arrel o el morfotip valvular VAB-ND s'associen amb una infraestimació de les mesures ecocardiogràfiques i obliguen a practicar una CMR o TC per validar el diàmetre més gran en tècniques tridimensionals.

Els resultats del projecte aporten noves evidències que tindran una important aplicació clínica. S'han trobat nous paràmetres de biomecànica aòrtica, com l'*strain* longitudinal, que són predictors independents de la dilatació de l'arrel aòrtica i els esdeveniments aòrtics en els malalts amb síndrome de Marfan. Aquest paràmetre de CMR pot permetre definir el grup de malalts candidats a cirurgia precoç, als 45 mm de diàmetre màxim, i també ser més agressius amb el tractament mèdic.

El maneig de l'aortopatia dels malalts amb vàlvula bicúspide depèn essencialment del diàmetre aòrtic. Pel comportament de la velocitat de l'ona del pols es confirma que el diàmetre que pot condicionar risc de complicacions agudes és superior a 50 mm. D'altra banda, els estudis de *4D-flow* demostren que el morfotip valvular amb fusió de la sigmoidal dreta no coronariana condiona un augment de la tensió de cisellament circumferencial a nivell distal de l'aorta ascendent i de l'arc que provoca una dilatació en aquests segments. Per tant, el control d'aquests malalts per ecocardiografia, més útil per mesurar l'arrel, pot implicar no valorar el segment més dilatat de l'aorta. Per tant, la pràctica d'RM o TC són obligades per definir el diàmetre màxim d'aorta en aquestes condicions i descartar una infraestimació del diàmetre màxim aòrtic. El paper de l'òxid nítric en les alteracions biomoleculares dels pacients Marfan implica una nova

diana terapèutica (PCT/EP2016/082925, *Mètode 'in vitro' per identificar aneurismes aòrtics toràcics [TAA] en un subjecte*). El grup ha aconseguit una patent que permetrà començar un assaig clínic per al tractament de les aortopaties genètiques, concretament en malalts amb síndrome de Marfan. Igualment, esperem caracteritzar molècules com a mediadores i biomarcadors del progrés de la malaltia. Per tant, els resultats d'aquest projecte, amb els seus subestudis, han proporcionat informació de significació clínica que ha suposat una millora important en l'ús de biomarcadors d'imatge predictors de complicacions aòrtiques, més enllà del diàmetre aòrtic màxim i la millora del coneixement biomecànic, mecanismes moleculars i epigenètics que afavoreixen la dilatació de l'aorta ascendent. Aquestes dades promouran nous estudis sobre l'estratificació del risc de la malaltia amb implicacions en el maneig i un nou objectiu terapèutic que requerirà un nou assaig farmacològic per reduir l'ampliació d'aorta d'aquestes malalties.

4. Bibliografia científica generada

Guala A, Teixido-Tura G (co-first author), Rodríguez-Palomares J, Ruiz-Muñoz A, Dux-Santoy L, Villalva N, Granato C, Galian L, Gutierrez L, Gonzalez-Alujas T, Sanchez V, Forteza A, García-Dorado D, Evangelista A.

Proximal aorta longitudinal strain predicts aortic root dilation rate and aortic events in Marfan syndrome.

European Heart Journal 2019; 40(25): 2047-2055.

Guala A, Rodriguez-Palomares J (co-first author), Galian L, Teixido Tura G, Johnson K.M., Sao Avilés A., Evangelista A.

Partial aortic valve leaflet fusion is related to deleterious alteration of proximal aorta hemodynamics: a 4D-flow MRI study.

Circulation 2019;139:2707–2709.

Guala A, Teixido-Tura G (co-first author), Dux-Santoy L., Rodriguez-Palomares J., Maldonado G, Galian L., Valente F., Villalva N., Gutiérrez L., González-Alujas T., Johnson K.M., Wieben O, Sao Avilés A, Garcia-Dorado D, Evangelista A.

Decreased rotational flow and circumferential wall shear stress as early markers of descending aorta dilation in Marfan syndrome: a 4D flow CMR study.

2019. Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance.

Dux-Santoy L, Guala A (co-first author), Teixidó-Turà G, Maldonado G, Villalva N, Galian L, Valente F, Gutiérrez L, González-Alujas T, Sao-Avilés A, Johnson KM, Wieben O, García-Dorado D, Evangelista A, Rodríguez-Palomares JF.

Increased rotational flow in the proximal aortic arch contributes to its dilation in bicuspid aortic valve disease.

2019. Eur Heart J Card Img. doi: 10.1093/ehjci/jez046, 27 February 2019, D1.

Lydia Dux-Santoy, Andrea Guala (co-first author), Julio Sotelo, Sergio Uribe, Gisela Teixidó-Turà, Aroa Ruiz-Muñoz, Daniel Hurtado, Filipa Valente, Laura Galian-Gay, Laura Gutiérrez, Teresa González-Alujas, Kevin M. Johnson, Oliver Wieben, Ignacio Ferreira, Arturo Evangelista, José Rodríguez-Palomares.

Low and oscillatory wall shear stress is not related to aortic dilation in bicuspid aortic valve patients: a 4D flow MRI study (en premsa).

2019. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.

Guala A, Dux-Santoy L, Teixido Tura G, Johnson Kevin M., Wieben O, Evangelista A, Rodriguez-Palomares J.

Raphe in bicuspid aortic valve is unrelated to altered aortic hemodynamics and stiffness (en premsa).

2019. Revista Española de Cardiología.

Guala A., Rodriguez-Palomares JF (co-first author), Dux-Santoy L, Teixido Tura G, Maldonado G, Galian L, Huguet M, Valente F, Gutiérrez L, González-Alujas T, Johnson KM., Wieben O, Sao Avilés A, Garcia-Dorado D, Evangelista A (2018).

Influence of aortic dilation in the regional aortic stiffness of bicuspid aortic valve assessed by 4D-flow CMR: comparison with Marfan syndrome and degenerative aortic aneurysm.

JACC cardiovascular imaging. 12(6) 1020-9, 2019. D1 doi: 10.1016/j.jcmg.2018.03.017.

Rodríguez-Palomares, J †, L. Dux-Santoy †, A Guala, R. Kale, G. Maldonado, M Huguet, G Teixidó-Turà, L Galian, F Valente, L Gutiérrez, T González-Alujas, KM. Johnson, O Wieben, D García-Dorado, A Evangelista (2018).

Aortic flow patterns and wall shear stress maps by 4D-flow MRI in the assessment of aortic dilatation in bicuspid aortic valve.

J Cardiovasc Magn Reson. 2018, 20:28 D1. <https://doi.org/10.1186/s12968-018-0451-1>.

JC Vis, JF. Rodríguez-Palomares, G Teixidó-Tura, L. Galian-Gay, C. Granato, A Guala, L Gutiérrez, T González-Alujas, D García-Dorado, A Evangelista (2018).

Implications of asymmetry and valvular morphotype on echocardiographic measurements of aortic root in bicuspid aortic valve.

Journal of the American Society of Echocardiography. D1. doi:

10.1016/j.echo.2018.08.004.

Björck HM, Du L, Pulignani S, Paloschi V, Lundströmer K, Kostina AS, Österholm C, Malashicheva A, Kostareva A, Evangelista A, Teixidó-Tura G, Maleki S, Franco-Cereceda A, Eriksson P.

Altered DNA methylation indicates an oscillatory flow mediated epithelial-to-mesenchymal transition signature in ascending aorta of patients with bicuspid aortic valve.

Sci Rep. 2018 Feb 9;8(1):2777. doi: 10.1038/s41598-018-20642-4.

Sotelo J, Dux-Santoy L, Guala A, Rodríguez-Palomares J, Evangelista A, Urbina J, Mura J, Hurtado D, Uribe S (2017).

Tridimensional Axial and Circumferential WSS from 4D flow data using a finite element method and a Laplacian approach.

Magnetic Resonance in Medicine. 79(5) doi: 10.1002/mrm.26927 Q2.

Oller J, Méndez-Barbero N, Ruiz EJ, Villahoz S, Renard M, Canelas LI, Briones AM, Alberca R, Lozano-Vidal N, Hurlé MA, Milewicz D, Evangelista A, Salaices M, Nistal JF, Jiménez-Borreguero LJ, De Backer J, Campanero MR, **Redondo JM**.

Nitric oxide mediates aortic disease in mice deficient in the metalloprotease Adamts1 and in a mouse model of Marfan syndrome.

Nat Med. 2017 Feb;23(2):200-212. doi: 10.1038/nm.4266. Epub 2017 Jan 9. PMID: 28067899.

Kurusamy S, López-Maderuelo D, Little R, Cadagan D, Savage AM, Ihugba JC, Baggott RR, Rowther FB, Martínez-Martínez S, Arco PG, Murcott C, Wang W, Francisco Nistal J, Oceandy D, Neyses L, Wilkinson RN, Cartwright EJ, **Redondo JM**, Armesilla AL.

Selective inhibition of plasma membrane calcium ATPase 4 improves angiogenesis and vascular reperfusion.

J Mol Cell Cardiol. 2017 Aug;109:38-47. doi: 10.1016/j.yjmcc.2017.07.001. Epub 2017 Jul 3. PMID: 28684310.

de Cárcer G*, Wachowicz P, Martínez-Martínez S, Oller J, Méndez-Barbero N, Escobar B, González-Loyola A, Takaki T, El Bakkali A, Cámara JA, Jiménez-Borreguero LJ, Bustelo XR, Cañamero M, Mulero F, de Los Ángeles Sevilla M, Montero MJ, **Redondo JM***, Malumbres M*.

Plk1 regulates contraction of postmitotic smooth muscle cells and is required for vascular homeostasis.

Nat Med. 2017 Jul 10. doi: 10.1038/nm.4364. PMID: 28692064.

Villahoz S, Yunes-Leites PS, Méndez-Barbero N, Urso K, Bonzon-Kulichenko E, Ortega S, Nistal JF, Vazquez J, Offermanns S, **Redondo JM***, Campanero MR*.

Conditional deletion of Rcan1 in vascular cells predisposes to hypertension-mediated aortic rupture, intramural hematoma, and aneurysm.

Nat Commun. 2018 Nov 15;9(1):4795. doi: 10.1038/s41467-018-07071-7.

Buxade M, Encabo HH, Riera-Borrull M, Quintana-Gallardo L, Lopez-Cotarelo P, Tellechea M, Martinez-Martinez S, **Redondo JM**, Martin-Caballero J, Flores JM, Bosch E, Rodriguez-Fernandez JL, Aramburu J, Lopez-Rodriguez C.

Macrophage-specific MHCII expression is regulated by a remote Ciita enhancer controlled by NFAT5.

J Exp Med 2018 Nov 5;215(11):2901-2918. doi: 10.1084/jem.20180314.