

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“IGNACIO CHÁVEZ”
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA CARDIOTORÁCICA

T E S I S:

**“FACTORES DE INFLAMACIÓN IMPLICADOS EN LA
GÉNESIS DE LA DILATACIÓN Y DISECCIÓN AÓRTICA EN
PACIENTES CON SÍNDROME DE MARFAN”**

Para obtener el título de la especialidad de
Cirugía Cardiotorácica

Presenta:

Dra. Karla Yael Herrera Morales

Tutores:

Dr. C. M. Israel Pérez Torres
Investigador en Ciencias Médicas “C” SNI I

Dra. C. M. María Elena Soto López
Investigadora en Ciencias Médicas “D” SNI II

Dr. Valentín Herrera Alarcón
Jefe del Departamento de Cirugía Cardiotorácica

CIUDAD DE MÉXICO

JUNIO 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DR. JUAN VERDEJO PARÍS
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHÁVEZ"

DR. VALENTÍN HERRERA ALARCÓN
JEFE DEL SERVICIO DE CIRUGÍA CARDIACA ADULTOS
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN CIRUGÍA
CARDIOTORÁCICA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHÁVEZ"

DR. C.M. ISRAEL PÉREZ TORRES
BIÓLOGO MOLECULAR
INVESTIGADOR EN CIENCIAS MÉDICAS "C"
SISTEMA NACIONAL DE INVESTIGADORES SNI-I
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHÁVEZ"

DRA. C.M. MARÍA ELENA SOTO LÓPEZ
ASESOR METODOLÓGICO Y ESTADÍSTICO DE TESIS
INVESTIGADORA EN CIENCIAS MÉDICAS "D"
SISTEMA NACIONAL DE INVESTIGADORES SNI-II
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHÁVEZ"

INDICE

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| <u>RESUMEN</u> | <u>4</u> |
| <u>INTRODUCCIÓN</u> | <u>6</u> |
| <u>MARCO TEÓRICO</u> | <u>9</u> |
| <u>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</u> | <u>13</u> |
| <u>JUSTIFICACIÓN</u> | <u>13</u> |
| <u>OBJETIVO</u> | <u>16</u> |
| <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</u> | <u>22</u> |
| <u>RESULTADOS</u> | <u>23</u> |
| <u>DISCUSIÓN</u> | <u>33</u> |
| <u>CONCLUSIÓN</u> | <u>36</u> |
| <u>REFERENCIAS</u> | <u>37</u> |

RESUMEN

Introducción.

El síndrome de Marfan (MFS) es una enfermedad rara que tiene afección en el gen que codifica a la fibrilina-1 (FBN-1), proteína que participa en la regulación de las fibras elásticas. Su deficiencia conlleva a disfunción y daño aórtico. En la patogénesis de la dilatación y disección aórtica en pacientes con colagenopatías se ha estudiado su importante asociación genética y se han propuesto otros mecanismos adyacentes como disfunción endotelial, alteración del estado redox y procesos pro-inflamatorios progresivos.

Objetivo.

Evaluar la participación del metabolismo del ácido araquidónico (AA) y sus vías, para tratar de comprender e identificar sitios de posible acción terapéutica preventiva.

Material y Métodos.

La selección de pacientes fue realizada por una Reumatóloga experta en el área. La decisión quirúrgica fue analizada mediante sesión médica quirúrgica de acuerdo a la prioridad de intervención. El tejido aórtico fue obtenido durante la cirugía reparativa del aneurisma o disección aórtica de 6 sujetos control y 14 pacientes con MFS. La extracción de AA se realizó por cromatografía de gases. La actividad de las ciclooxigenasas (COXs) se realizó por medio de la monitorización de la velocidad de captación de O₂; y la inhibición de la actividad catalítica de la COX se realizó por la adición de indometacina. La determinación de COX1, COX2, PLA₂, TXA₂, CYP450 y 5-LOX se analizó por densito fotometría mediante el programa Imagen Kodak versión 1.1. Las prostaglandinas y los marcadores de inflamación se midieron por el método

inmunoenzimático de ELISA con kits comerciales para 6-keto PGF1, PGE2y el 8-isoprostano proporcionados por Cayman Chemical Company. El TNF α y TGF β 1 fue proporcionado por Elabscience y leídas en un lector de micro placas a luz visible de 492/630 nm. Las secciones histológicas se analizaron utilizando un microscopio de luz Carl Zeiss (63300 Modelo) equipado con una cámara digital Tucsen de 9 megapíxeles y el software TS view 7.1 con una ampliación de 16x.

Resultados.

En pacientes con MFS hay incremento de las concentraciones de 8-isoprostano cuando se comparan al control, no alcanzaron significancia estadística en comparación con los sujetos control; la misma tendencia se observó en con la 6-Keto-PG1 α metabolito estable de la COX1. Sin embargo, la PGE2, TGF β 1 y TNF α presentaron incremento significativo en los pacientes con MFS en comparación con el control ($p=0.3$, $p=0.05$). El AA presentó un porcentaje de disminución estadísticamente significativo en los pacientes con MFS en comparación con los sujetos control ($p=0.05$). La actividad de las isoformas de las COXs y la expresión de PLA2, CYP450 y 5-LOX fueron estadísticamente mayores en pacientes con MFS en comparación con los sujetos control ($p=0.002$, $p=0.05$, $p=0.001$ y $p=0.004$, respectivamente).

Conclusión.

En el tejido aórtico de pacientes MFS la participación del metabolismo del AA se confirma. Hay disminución de AA, disminución de la síntesis de prostaglandinas vaso activas, incremento de la tromboxano sintasa, de síntesis de PGE2, de 6-keto-PGF1 α . Esto sugiere que el involucro de los factores de inflamación son mecanismos involucrados en pérdida de la función de las fibras elásticas de la aorta, por lo tanto dilatación y disección aórtica.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de Marfan (MFS por sus siglas en inglés), es una enfermedad genética pleiotrópica con afectación del sistema cardiovascular, ocular y esquelético con una variabilidad clínica muy amplia. Es un trastorno del tejido conectivo con asociaciones de carácter autosómico dominante en el que se ve afectado el gen que codifica a la proteína fibrilina-1 (FBN-1), lo que conlleva a alteraciones de las fibras elásticas causando micro disección y degeneración de la capa media a nivel de la aorta. (1)

Este daño conlleva a variaciones estructurales dentro del mismo vaso arterial en donde hay heterogeneidad inherente a su contenido, grosor y composición celular. Por otro lado, la disfunción endotelial está presente en la evolución progresiva del daño aórtico y es posible que la inflamación y estrés oxidante jueguen un papel importante en la transformación anatómica y funcional (2).

En el MFS neonatal y padecimientos similares tales como el síndrome de Loeys-Dietz y Sprintzen Goldberg, el daño aórtico puede ser rápidamente progresivo y se ha asociado con mutaciones en los genes del TGFRB1 y TGRB2. Sin embargo, estos no justifican la versatilidad del daño aórtico y la variabilidad en la expresión clínica.

Es conocido que en las diferentes regiones anatómicas de la aorta hay características diferentes en cada segmento, tal como la del grosor de la pared, el cual es menor en la región torácica que en la aorta abdominal ya que el diámetro de la pared torácica es de 30 a 40% menos que en la del abdomen; por otro lado, se sabe que en la región torácica hay mayor concentración de fibras elásticas la cual disminuye hacia la raíz. La aorta torácica deriva de células musculares de la cresta neural y del ectodermo, mientras que en la aorta abdominal las células derivan del mesodermo y por lo tanto puede haber mayor inflamación en la aorta torácica .

La aorta torácica es más ancha y tiene un diámetro de pared mayor que la de las regiones más distales. En humanos, la pared del arco aórtico es aproximadamente 1,5 mm de espesor, mientras que la pared aórtica abdominal es de ≤ 1 mm de espesor. La concentración de la vasa vasorum aórtica es aproximadamente de 9.4 vasos por mm² en el grosor de la pared de la región torácica y únicamente de 1.9 vasos por mm² en la región abdominal.

Por otro lado, existen diferencias embriológicas: estudios de embriogénesis aórtica en animales revelaron que las células de la cresta neural contribuyen a la formación de células musculares lisas (CML) en el tronco aórtico, arco proximal y el tronco de la arteria pulmonar, no siendo así en las partes más distales de la aorta. En contraste, las CML de la aorta abdominal son primariamente derivadas del mesodermo. Estas diferencias básicas implican que programas únicos genéticos pueden ser responsables para respuestas variables de CML para estimulación de citocinas en la aorta torácica y aorta abdominal. (3)

Diversos padecimientos no genéticos se asocian a daño aórtico, por lo que se ha considerado que la etiología puede ser multifactorial. Así, la participación del estrés oxidante e inflamación son factores que pueden contribuir en la progresión del daño en el tejido aórtico. En un trabajo preliminar de nuestro grupo evaluamos la participación del estrés oxidante en aortopatías de diferentes padecimientos en humanos y se correlacionó con proteínas de la membrana basal subendotelial y encontrando hallazgos similares en la mayoría de estudios a nivel experimental en modelos animales que sugerían la existencia de disfunción y progresión del daño aórtico (2).

Los componentes patogénicos de la inflamación como factor participante en el MFS no han sido totalmente esclarecidos ya que las investigaciones se han fundamentado

principalmente en modelos animales y existen pocos estudios en tejido humano. (4)
Como sabemos la composición aórtica en animales difiere de la de humanos en características anatómicas y funcionales (5).

El estudio integral para determinar si existe o no participación inflamatoria crónica a nivel de la aorta en pacientes con MFS es el análisis del metabolismo del ácido araquidónico (AA) y sus diferentes vías, así como la participación de citocinas inflamatorias. Nuestro objetivo es evaluar los factores de inflamación implicados en la génesis de los aneurismas aórticos y disección aórtica en los pacientes que tienen enfermedad del tejido elástico o colagenopatías.

MARCO TEÓRICO

Existe evidencia del papel que desempeña el factor de crecimiento transformante β (TGF β) en la señalización de la patogénesis del MFS y se ha descrito que la matriz extracelular regula la biodisponibilidad y activación del TGF β . (6) Debido a los defectos o deficiencias que existen en la proteína de fibrilina-1, una respuesta acelerada de liberación y activación de TGF β ocurre en la matriz extracelular, lo que contribuye a la formación de aneurismas de raíz aórtica. En estudios realizados en ratones, se encontró que el bloqueo de la liberación de TGF β a través de anticuerpos anti-TGF β reducen la dilatación de raíz aórtica. (7)

Por otra parte, en el daño aórtico de diversos modelos animales celulares e in vitro se ha demostrado disfunción endotelial con participación inflamatoria crónica asociada al metabolismo del ácido araquidónico (AA), el cual está esterificado en los fosfolípidos de membrana. (8)

Dentro de la patogénesis del daño aórtico se ha demostrado que hay aumento de la rigidez aórtica, reducción de la distensibilidad de aorta, así como una elevada velocidad de onda de pulso, lo cual se ha sugerido que podría ser un indicador de la disección Y ruptura. Noventa por ciento de los pacientes desarrollan aneurisma en la raíz aórtica y aorta torácica ascendente, y una población más pequeña tiene complicaciones en la aorta abdominal o en otros sitios. (7)

Diversos mecanismos participan en la patogénesis de SM y la presencia de aneurismas, los defectos o (mutación) en el gen de fibrilina 1 determina la estructura de la fibrilina, la cual es una proteína esencial en la formación y maduración de Fibras elásticas en las arterias grandes y responsable del ensamblaje de las redes de micro

fibrillas en conjunto con la elastina, forman parte de la matriz extracelular de los tejidos, por lo que es considerada una proteína constitutiva del tejido conectivo. La alteración en esta proteína conlleva por lo tanto una destrucción del ensamblaje de las microfibrillas normales y la producción de fibras elásticas anormales. Por otro lado las microfibrillas poseen un almacén de factores de crecimiento que son liberados en momentos específicos con el fin de controlar el crecimiento y reparar los tejidos y órganos del cuerpo. Una mutación en el gen FBN1 puede reducir la cantidad de funciones de la proteína fibrilina y como consecuencia hay cambios en la elasticidad en algunos tejidos provocando crecimiento e inestabilidad en los tejidos.

Actualmente en el estudio celular de la patogénesis del aneurisma aórtico en el síndrome de Marfan ha sido generado un modelo vascular de células musculares lisas derivadas de células Stem-Cell pluripotenciales inducidas de humanos con síndrome de Marfan (MFS-HiPSC) lo cual ha recapitulado la patología observada en aortas de pacientes con MFS que incluyen a los defectos en la acumulación de fibrilina-1, degradación de la matriz extracelular, señalización del factor de crecimiento transformante β (TGF- β), contracción y apoptosis; estudios de esas anomalías como la inhibición del TGF- β ha rescatado conceptos en las anomalías de la acumulación de fibrilina-1 y en la expresión de metaloproteinasas de la matriz. Sin embargo, sólo la vía p38 no canónica regulada por apoptosis de células musculares lisas (SMC), un mecanismo patológico también gobernado por el factor 4 Krüppel-like (KLF4). Ese modelo ha permitido a los investigadores diseccionar los mecanismos moleculares de MFS, para identificar nuevos objetivos para el tratamiento. (9)

Como es conocida la importancia de mantener la función contráctil en las células del músculo liso aórtico (CML) ya que ha sido evidente el hecho de que las mutaciones

heterocigotas en las principales proteínas estructurales o quinasas que controlan la contracción conducen a la formación de aneurismas de la aorta torácica ascendente que predisponen a disecciones aórticas potencialmente mortales. La generación de fuerza por SMC requiere interacciones cíclicas dependientes de ATP entre filamentos compuestos de isoformas específicas de SMC de α -actina (codificada por ACTA2) y cadena pesada de miosina (MYH11). Las mutaciones de ACTA2 y MYH11 se predice o se ha demostrado que interrumpen esta interacción cíclica predisponen a la enfermedad aórtica torácica.

El movimiento del dominio motor de la miosina se controla mediante la fosforilación de la cadena ligera reguladora en el filamento de miosina, y las mutaciones de pérdida de función en la quinasa dedicada para esta fosforilación, la quinasa de cadena ligera de miosina (MYLK) también predisponen a la enfermedad aórtica torácica. Finalmente, una mutación en la proteína quinasa activada por cGMP (PRKG1) da lugar a la activación constitutiva de la quinasa en ausencia de GMPc, impulsando de este modo la relajación de SMC en parte mediante una desfosforilación aumentada de la cadena ligera reguladora y predispone a la enfermedad aórtica torácica. Además, por otro lado las SMC no pueden generar fuerza sin conexiones a la matriz extracelular a través de adherencias focales, y las mutaciones en la proteína principal en la matriz extracelular, la fibrilina-1, uniendo CML a la matriz también causan enfermedad aórtica torácica en individuos con MFS. Por lo tanto, la interrupción de la capacidad de las CML aórtica para generar fuerza a través de las unidades contráctiles de elastina en respuesta al flujo sanguíneo pulsátil puede ser un impulsor primario para los aneurismas y disecciones aórticas torácicas. (10)

Por otro lado, diversos estímulos físicos conllevan a que el Ca^{2+} penetre en la célula endotelial, lo que incrementa su concentración intracelular y activa la fosfolipasa A_2 (PLA_2) dependiente de ion que libera el AA de los fosfolípidos de la membrana celular y una parte del AA puede ser metabolizado para obtener productos oxigenados por acción de diferentes sistemas enzimáticos, como el de la isoformas de COX, TXA₂, LOXs y CYP450. El producto final de estas vías son eicosanoides que modulan el tono vascular, activación plaquetaria, señalización, proliferación, migración celular y procesos de inflamación. (11) Además, el AA puede ser oxidado de manera no enzimática por radicales libres originando 8-isoprostanos que son agentes oxidantes asociados a estrés oxidante e inflamación. (12)

Así mismo , el endotelio regula el tono vascular mediante la producción de otros potentes vasodilatadores como las prostaciclina, los péptidos natriuréticos y el péptido semejante a EDRF, mismas que guardan equilibrio con las sustancias vasoconstrictoras como las prostaglandinas, la angiotensina II y la endotelina. (13,14) De acuerdo a lo anterior, el determinar la participación de los mecanismos del metabolismo del AA en pacientes con aneurisma aórtico asociados a la inflamación permitirá el comportamiento de los mismos en tejido humano y de acuerdo a los hallazgos para establecer diseños específicos exploratorio de los diversos mecanismos relevantes y evaluar como intervenir con terapéutica preventiva en la limitación del daño progresivo en la aorta.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿La interrupción del metabolismo del AA podría influir en los cambios estructurales que presenta la aorta debido a la inflamación crónica en los pacientes con MFS?

JUSTIFICACIÓN

Hasta ahora es bien conocido que el estrés oxidante está asociado a disfunción endotelial en pacientes con MFS (15) y en la aorta de modelos de ratón con MFS. (12)

El estrés oxidante se asocia a disminución de la relajación dependiente de endotelio mediada por óxido nítrico vía eNOS y a su vez esta alteración está relacionada con cambios estructurales aórticos que conducen en parte a la formación del aneurisma. (16)

La disfunción vasomotora puede determinar la susceptibilidad de formación de aneurismas. La función vasomotora es regulada herméticamente por especies reactivas de oxígeno (ERO). (12) A baja concentración las ERO regulan el tono vascular, proliferación y la señalización celular. Sin embargo una cuenta excesiva, conducen a estrés oxidante, el cual está asociado a la patogénesis de enfermedades cardiovasculares incluyendo hipertensión, aterosclerosis y diabetes. Esta elevación de ERO es causada por un desbalance entre la producción y neutralización de ERO. Todos los tipos celulares contienen enzimas que generan ERO. Entre las potenciales enzimas pro-oxidantes se encuentran, NADPH oxidasa, xantina oxidasa, y óxido nítrico sintasa (NOS), las cuales son las que mejor se han estudiado y se cree que pueden tener un papel dominante en las enfermedades vasculares.

Considerando que hay participación del estrés oxidante en suero y tejido aórtico de pacientes con MFS es relevante evaluar si el metabolismo del AA tiene un papel importante como un participante coadyuvante del proceso inflamatorio en el tejido aórtico de pacientes con MFS que presentan aneurismas.

Cabe resaltar que en pacientes con una vez que se confirma que presenta dilatación y/o disección, el tratamiento que se puede ofrecer es únicamente resolutivo mediante cirugía o intervencionismo y en la mayoría de las veces se requiere de la sustitución de la aorta en las zonas afectadas y/o la implantación de una prótesis endovascular o de un manejo combinado lo cual ha mejorado la sobrevida de estos pacientes en los últimos años. Sin embargo, no hay estudios que analicen a detalle los mecanismos de daño endotelial aórtico para poder realizar intervenciones tempranas y preventivas en los pacientes con MFS.

Estudios de base poblacional sugieren que la incidencia la disección aórtica es de 2 a 3.5 por 100,000 personas/año. (17) El 40% de los pacientes con dilatación aórtica muere antes de llegar a recibir cuidados de emergencia; la mortalidad después de llegar a valoración en urgencias es de 1% por hora, de 5% a 20% muere en el posoperatorio inmediato y del 50% a 70% se encontrará vivo a 5 años después de la cirugía. (17)

El manejo quirúrgico de la disección aórtica (DAo) aguda stanford A es clasificada como una urgencia (clase I nivel de evidencia B). El procedimiento quirúrgico recomendado para la disección aórtica Stanford A es la resección del sitio afectado con sustitución de la zona de aorta afectada con injertos de Dacron en su mayoría y en algunas ocasiones con reemplazo de la válvula aórtica y/o reimplantación de las arterias coronarias. (18)

La disección parcial de la raíz aortica puede ser reparada con la resuspensión de la válvula aórtica (procedimiento de David). En la disección extensa de la raíz aortica con

involucro de los troncos coronarios o con compromiso hemodinámico de la válvula aórtica se sugiere reemplazar con un injerto valvulado (procedimiento de Bentall y De Bono). (clase I nivel de evidencia C). (17)

La colocación de injerto endovascular no está aprobado para la AoD que envuelve la aorta ascendente o el arco aórtico. (19) Sin embargo, a pesar de que los resultados en la terapia intervencionista han mejorado la condición de vida y ha incrementado el pronóstico de vida, el manejo a este nivel del daño no siempre es exitoso.

La terapia médica actual mediante el antagonista del receptor de angiotensina II, está enfocada en la prevención de la disección aórtica, a la vez que existen ya programas de vigilancia médica periódica mediante el uso de herramientas no invasivas de imagen que permiten evaluar el incremento del diámetro aórtico en el seguimiento de estos pacientes y son recientemente utilizadas.

Sin embargo, hasta ahora la terapia preventiva encaminada a disminuir la progresión de la dilatación aórtica consiste en utilizar inhibidores del receptor tipo I de angiotensina II, beta bloqueadores, hidralazina, estatinas y debido a avances recientes hay hallazgos que demuestran que los pacientes con MFS tienen depleción de la actividad antioxidante y un incremento de la lipoperoxidación por lo que el uso de terapia antioxidante, incluida en la dieta, permite mejorar la actividad antioxidante. (16)

Los estudios de investigación para conocer los mecanismos que participan en el daño aórtico de las colagenopatías como el MFS, permitirán evaluar si dentro de la terapia preventiva que se otorga a los pacientes con MFS. Es necesario considerar que además del daño por estrés oxidante pueda existir un proceso inflamatorio, lo cual ya ha sido demostrado en modelos animales, el estudio del metabolismo del AA y sus vías

podrá generar hipótesis y diseños de otros mecanismos de acción terapéutica que podrían mejorar el tratamiento preventivo.

OBJETIVO

Analizar la participación del metabolismo de AA asociados a factores de inflamación en la génesis de la dilatación y disección aórtica en los pacientes con MFS.

HIPOTESIS

En pacientes con MFS, el metabolismo del AA puede estar involucrado en la participación del daño aórtico a través de un proceso inflamatorio crónico que conduce a dilatación y disección del aneurisma

DISEÑO DEL ESTUDIO

Es un estudio observacional de cohorte, descriptivo y prospectivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población en estudio:

Pacientes con indicación quirúrgica considerando el procedimiento de Bentall y De Bono, y/o procedimiento de Bentall y De Bono con sustitución de arco aórtico, colocación de endoprótesis en aorta torácica, plastia mitral, cambio valvular mitral, revascularización coronaria, procedimiento de Tirone David y el procedimiento de sustitución de aorta toraco-abdominal.

Criterios de Inclusión:

Obtener Tejido aórtico de pacientes con diagnósticos de MFS, a partir de criterios de Ghent que presentaban dilatación aórtica y cuyo caso fue presentado en la sesión medico quirúrgica para normar los criterios de requerimiento del tipo cirugía de aorta a considerar de acuerdo a la patología de cada paciente y que fueran atendidos en el Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

Criterios de Exclusión:

No considera el tejido aórtico de pacientes que se consideró realizar un procedimiento quirúrgico de aorta, y que no aceptaran firmar el consentimiento informado para el estudio de investigación o en los cuales hubiera duda diagnóstica.

Criterios de eliminación:

El tejido de aquellos pacientes en los cuales teniendo los criterios de inclusión la muestra obtenida no hubiera sido suficiente o que no hubiera sido tomada bajo los requerimientos apropiados para el proceso de investigación.

Consideraciones éticas:

El estudio se realizó con las normas éticas internacionales y con la Ley General de Salud, así como con la declaración de Helsinki, modificada en el Congreso de Tokio, Japón

Tipos de cirugías incluidas:

Aneurisma de raíz de aorta: Un aneurisma de aorta es una dilatación localizada que produce una debilidad en la pared de la arteria, puede llegar a formarse en cualquier parte del cuerpo.

Disección de aorta: La disección aórtica es un desgarró en la pared de la aorta que hace que la sangre fluya entre las capas de la pared de la aorta y la fuerza de las capas de separación. La disección aórtica es una emergencia médica que puede conducir rápidamente a la muerte, incluso con un óptimo tratamiento. Si la disección aórtica se abre completamente (a través de las tres capas), se produce pérdida de sangre.

Cirugía de Bentall y De Bono: Si la válvula aórtica está afectada, se realiza esta técnica, que consiste en la resección de la válvula aórtica y se utiliza un injerto de Dacron con una válvula mecánica o biológica que se sutura al anillo aórtico.

Cirugía de Tirone-David (Resuspensión valvular): Si no hay afectación significativa de la válvula aórtica, se utiliza alguna de las técnicas que permiten preservar la válvula.

Cirugía de Yacoub (David I). En la técnica de remodelación los senos afectados se resecan, se crean tres neosenos en el injerto de Dacron y posteriormente este se

sutura a la pared aórtica residual y al anillo aórtico. Esta técnica permite la preservación de la función del anillo aórtico y, además se forman los neosenos.

EXTRACCIÓN DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

La extracción del AA se realizó de acuerdo al método de Folch66. A 1 mg de proteína de homogeneizado de aorta, se le agregó 100 μ g de ácido margárico como estándar interno, 1 ml de MetOH con BHT al 0.002%, 1 ml de NaCl al 0.09% y 2 ml de cloroformo con BHT al 0.002%. La muestra se agitó 30 seg y se centrifugó a 376 g/5 min. La fase de cloroformo se recuperó (se repitió la última parte 1 vez más). A los 4 ml de cloroformo obtenidos se les agregó 200 μ l de metanol y sulfato de sodio anhidro y se filtró; el cloroformo obtenido se evaporó con una corriente de N₂. Al residuo lipídico se le agregó 100 μ l tolueno, 2 ml de MetOH con BHT al 0.002 y 40 μ l H₂SO₄ se calentó a 90°C por 2 horas, después de la incubación se le agregaron 4 ml de hexano se mezclaron con vortex y centrifugó a 376 g/5 min, se extrajo la fase de hexano y se evaporó con una corriente de N₂. El metilester de AA se separó e identificó por cromatografía de gases en un cromatógrafo (Carlo Erba Fratovap 2300) equipado con una columna capilar de 30 m largo x 0.25 mm de diámetro a 210 °C y un flujo constante de helio 1.2 ml/min.

DETECCIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LAS ISOFORMAS DE CICLOOXIGENASAS

La actividad de las ciclooxigenasas se realizará monitoreando la velocidad de captación de O₂ usando un oxímetro, el cual esta acoplado a un electrodo de O₂. A 3 ml de una mezcla de amortiguador Tris-HCl 0.1M, 1mM de fenol, 85 μ g de hemoglobina bovina, pH 8 y 100 μ M de AA a 37°C se le agregarán 100 μ g de homogeneizado de aorta para

iniciar la reacción. Una unidad de actividad de la ciclooxigenasa se define como la capacidad de la enzima de catalizar la oxigenación de 1 nmol de AA por minuto a 37°C. La inhibición de la actividad catalítica de la ciclooxigenasa se realizó por la adición de 10 µM indometacina.

DETERMINACION DE COX1, COX2, PLA2, TXA2, CYP450 y 5-LOX POR IMMUNOBLOTTING

100 µg de proteína del homogenizado de aorta se mezcló con amortiguador de carga (glicerol 59 % vol/vol; Tris-HCl, pH 6.5; SDS 1 % peso/vol, azul de bromofenol 0.1 % peso/vol; 2-mercaptoetanol). La mezcla se calentó a 100 °C por 1-2 min. y las proteínas se separaron en gel de SDS/PAGE al 10% bajo condiciones reductoras. Al término de la electroforesis el gel se transfirió a una membrana de nitrocelulosa Hybond-C. La membrana se bloqueó durante 3 horas con TBS que contenía 5 % de leche deshidratada desgrasada y Tween-20 al 0.5 %. Después la membrana se incubó con una dilución 1/500 de anticuerpos primarios monoclonales de ratón contra COX1, COX2, PLA2, TXA2, CYP450 y 5-LOX según el caso, toda la noche a 4°C con agitación constante. La membrana se enjuagó tres veces con TBS y se incubó con una dilución 1/500 de anticuerpos secundarios policlonales de cabra anti IgG-HRP de ratón por tres horas a temperatura ambiente y se reveló con 3,3'-diaminobenzidina y se analizó por densitofotometría mediante el programa Image Kodak versión 1.1.

MEDICIÓN DE PROSTAGLANDINAS Y MARCADORES DE INFLAMACION POR ELISA

Las prostaglandinas y los marcadores de inflamación se midieron por el método inmunoenzimático de ELISA con kits comerciales para 6-keto PGF₁α, PGE₂ y el 8-isoprostano proporcionados por Cayman Chemical Company., el TNFα y TGFβ1 fue proporcionado por Elabscience y leídas en un lector de micro placas a luz visible de 492/630 nm.

Histología

Para la histología, 2 mm de aneurisma aórtico se lavaron en 0,9% de NaCl durante 30 segundos. La solución se decantó después se fijó en amortiguador de fosfatos (pH 7,4) con formalina al 10% durante 24 horas. Las secciones histológicas se procesaron según los procedimientos histológicos convencionales y por el método de Weigerts para fibras elásticas, hematoxilina y eosina, y la técnicas de tricrómica de Masson. Las secciones histológicas se analizaron utilizando un microscopio de luz Carl Zeiss (63300 Modelo) equipado con una cámara digital Tucsen de 9 megapíxeles y el software TSview 7.1, con una ampliación de 16x.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de los datos obtenidos se realizó con ANOVA de dos vías y una prueba post hoc de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$, mediante el programa Sigma Plot (SigmaPlot versión 11, Jandel Corporation, 1986-2010). Los datos se presentan como la media \pm error estándar.

RESULTADOS

Un total de 14 sujetos con MFS y 6 controles fueron estudiados, la edad promedio general fue de 40 ± 16 años. La edad en pacientes con SM fue de una mediana de 35 con valor mínimo de 16 y máximo de 59 y en los controles de 63 máximo de 72 ($P=0.001$), la edad y género no tuvo diferencias. Las características demográficas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Muestra características demográficas de casos y controles.

| | Global n=20 | Casos n=14 | Controles n=6 | p |
|------------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|----------|
| Género: | | | | |
| Mujer | 11 (55) | 10 (71) | 1 (17) | 0.03 |
| Hombre | 9 (45) | 4(29) | 5 (83) | |
| Talla: | | | | |
| Mediana (Min-Max) | 1.70 (1.5-2.0) | 1.70 (1.6-2.0) | 1.60 (1.50-1.70) | 0.02 |
| Peso: | | | | |
| Mediana (Min-Max) | 70 (43-106) | 70 (43-96) | 70 (65-106) | NS |
| IMC: | | | | |
| Mediana (Min-Max) | 24 (17-37) | 23 (17-33) | 27 (24-37) | 0.01 |
| Glucosa: | | | | |
| Mediana (Min-Max) | 93 (67-166) | 90 (67-166) | 102 (84-119) | NS |
| LDL: | | | | |
| Mediana (Min-Max) | 95 (64-154) | 96 (64-154) | 101 (70-125) | NS |
| HDL: | | | | |
| Mediana (Min-Max) | 36 (13-62) | 50 (23-62) | 30 (13-36) | 0.02 |
| Triglicéridos: | | | | |
| Mediana (Min-Max) | 95 (55-288) | 95 (56-288) | 98 (55-250) | NS |

Tabla 2. Presenta las características demográficas de los pacientes en estudio.

| No | Género | Edad | Criterios de Ghent 2010 Nosología clínica | | | | Mutación genética | Número total de Criterios de Ghent |
|----|--------|------|--|-----------------------|-------------------|--------|-------------------|------------------------------------|
| | | | HF | Diámetro Aórtico (mm) | Puntaje sistémico | Ocular | | |
| 1 | M | 32 | - | 83 | 10 | - | pendiente | 2 |
| 2 | M | 43 | - | 48 | 8 | - | pendiente | 2 |
| 3 | F | 35 | + | 25 | 7 | - | pendiente | 3 |
| 4 | M | 16 | + | 20.6 | 7 | + | FBN-1 Exón 42 | 3 |
| 5 | F | 38 | + | 23 | 7 | - | pendiente | 3 |
| 6 | F | 35 | + | 76 | 7 | - | pendiente | 3 |
| 7 | F | 38 | - | 76 | 7 | + | pendiente | 3 |
| 8 | F | 22 | - | 54 | 7 | - | pendiente | 2 |
| 9 | M | 49 | - | 37 | 7 | - | FBN-1 Exón 28 | 2 |
| 10 | F | 59 | - | 69 | 10 | + | FBN-1 Exón 14 | 2 |
| 11 | F | 23 | + | 17 | 8 | + | FBN-1 Exón 38 | 4 |
| 12 | F | 27 | + | 63 | 7 | - | pendiente | 3 |
| 13 | F | 33 | - | 57 | 7 | - | pendiente | 2 |
| 14 | F | 53 | + | 41 | 9 | - | pendiente | 3 |

La tabla 3 presenta las concentraciones en pg/mg de proteína de los diferentes marcadores como; el 8-isoprostano marcador de oxidación del AA por vía no enzimática sino por radicales libres, en los pacientes con MFS se observó una tendencia a incrementarse pero no alcanzó diferencia significativa en comparación con los sujetos control, la misma tendencia se observó en con la 6-Keto-PG₁α metabolito estable de la COX1. Sin embargo, la PGE₂, TGFβ₁ y TNFα presentaron incremento significativo en los pacientes con MFS en comparación con el control (p=0.3, p=0.05).

| Parámetros (pg/mg de proteína) | Control | MFS |
|---------------------------------------|----------------|---------------|
| 8-isoprostano | 15.6 ± 4.1 | 32.2 ± 8.5 |
| 6-keto-PG₁α | 2833.8 ± 893.9 | 3727.4± 696.8 |
| PGE₂ | 665.8 ± 101.6 | 913.9 ± 49.3* |
| TGF-B1 | 985.3 ± 230.6 | 2350.0 ±372.5 |
| TNFα | 169.2 ±36.2 | 349.2± 57.3 |

Tabla 3. Marcadores de inflamación, estrés oxidante y prostaglandinas vasodilatadoras y vasoconstrictoras. Control vs. MFS *p≤0.04

La figura 1 muestra que el AA presentó un porcentaje de disminución estadísticamente significativo en el homogeneizado de aorta de los pacientes con MFS en comparación con los sujetos control ($p=0.05$).

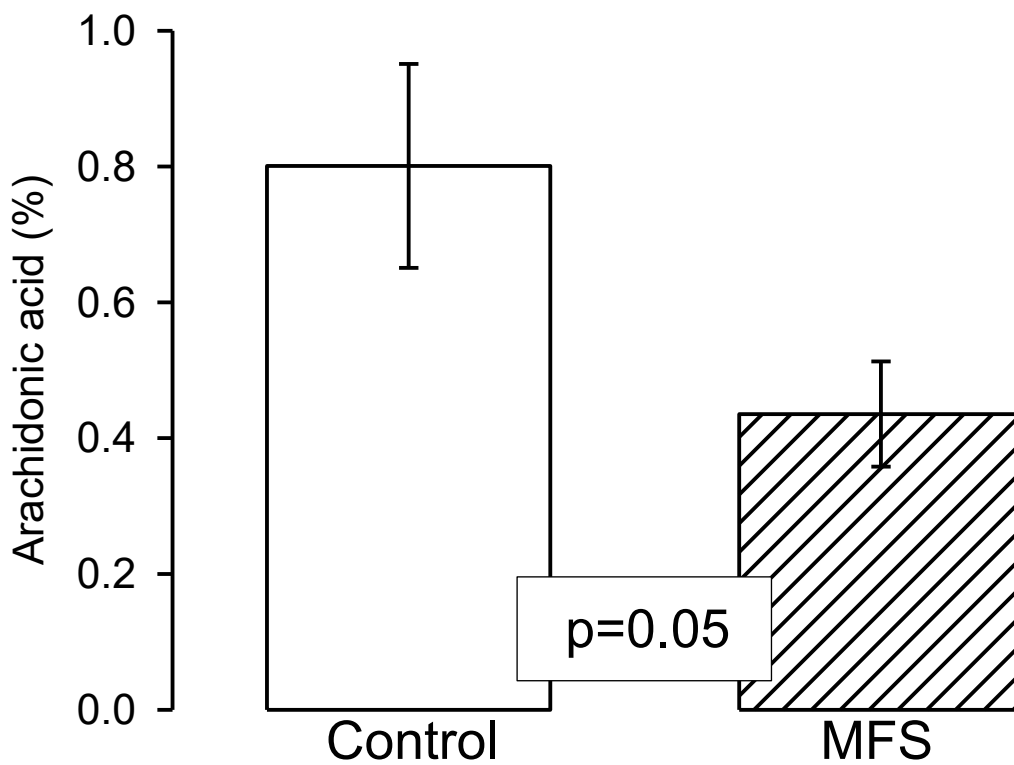


Figura 1.

La figura 2 muestra que la actividad de las isoformas de las ciclooxygenasas fue estadísticamente mayor en los pacientes con MFS en comparación con los sujetos control ($p=0.002$).

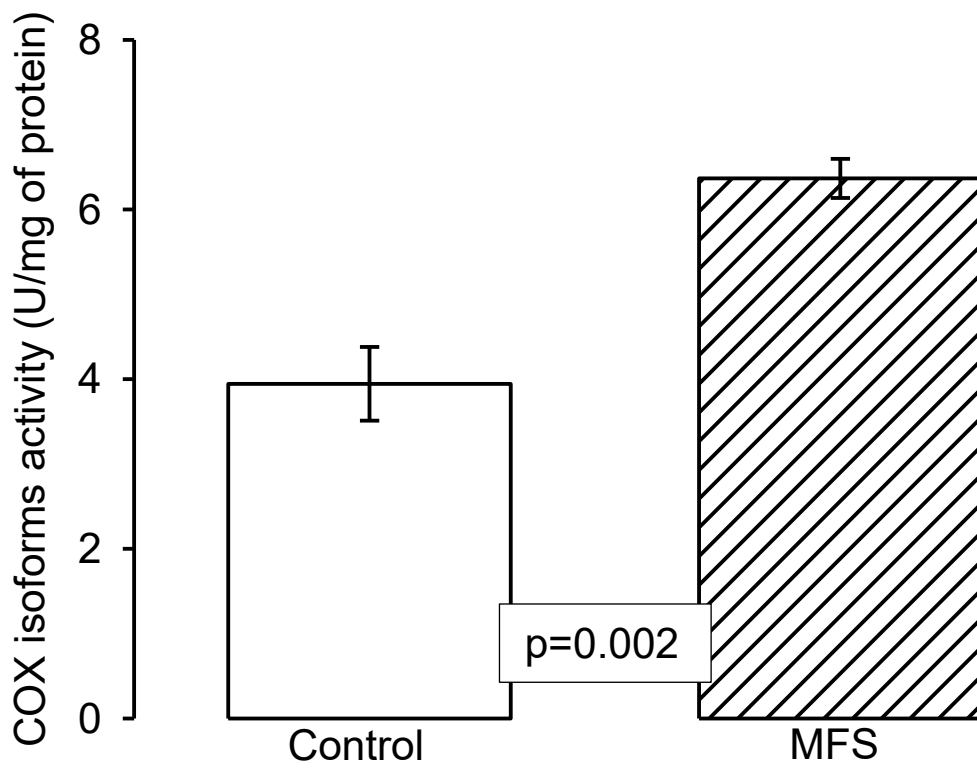


Figura 2.

En los pacientes con MFS la expresión de la PLA₂, CYP450 y 5-LOX fueron estadísticamente mayores en comparación con los sujetos control (p=0.05, p=0.001 y p=0.004, Figura 3A, B y C respectivamente).

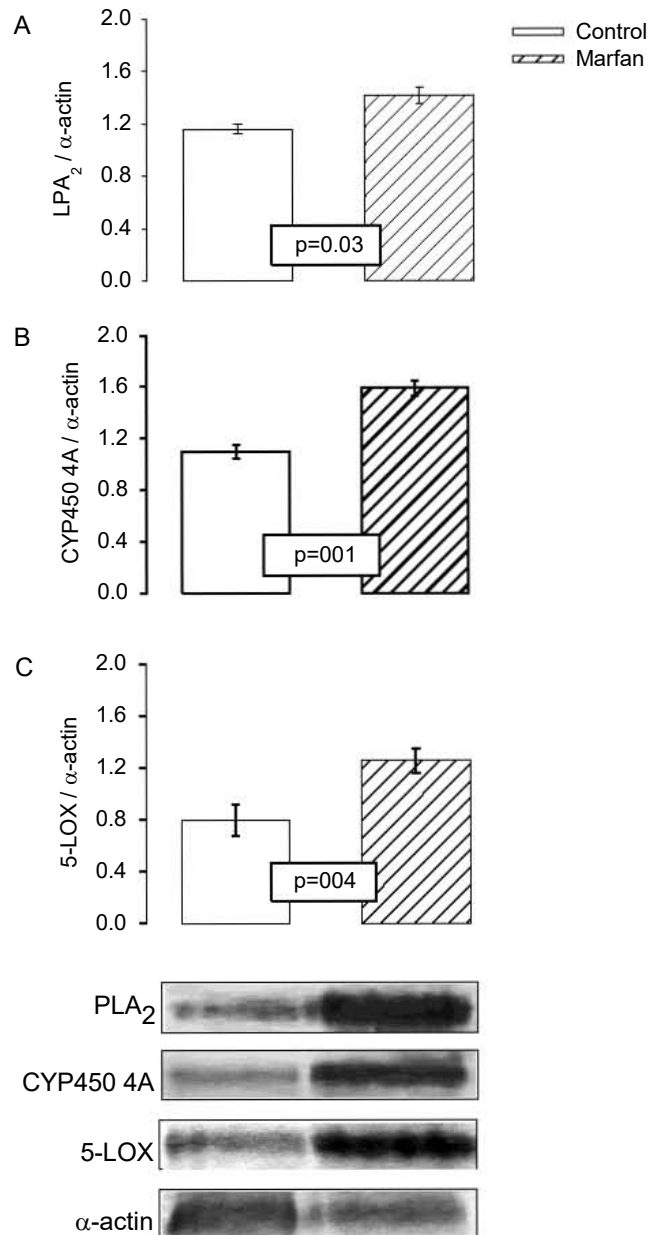


Figura 3.

La expresión de la COX1 mostró en los pacientes con MFS una tendencia a incrementarse sin alcanzar diferencia significativa en comparación con los sujetos control ($p=0.08$, Figura 4A). Sin embargo, la expresión de la COX2 y TXA2 presento incremento significativo en los pacientes con MFS en comparación con los sujetos control ($p=0.05$, Figura 4B y C).

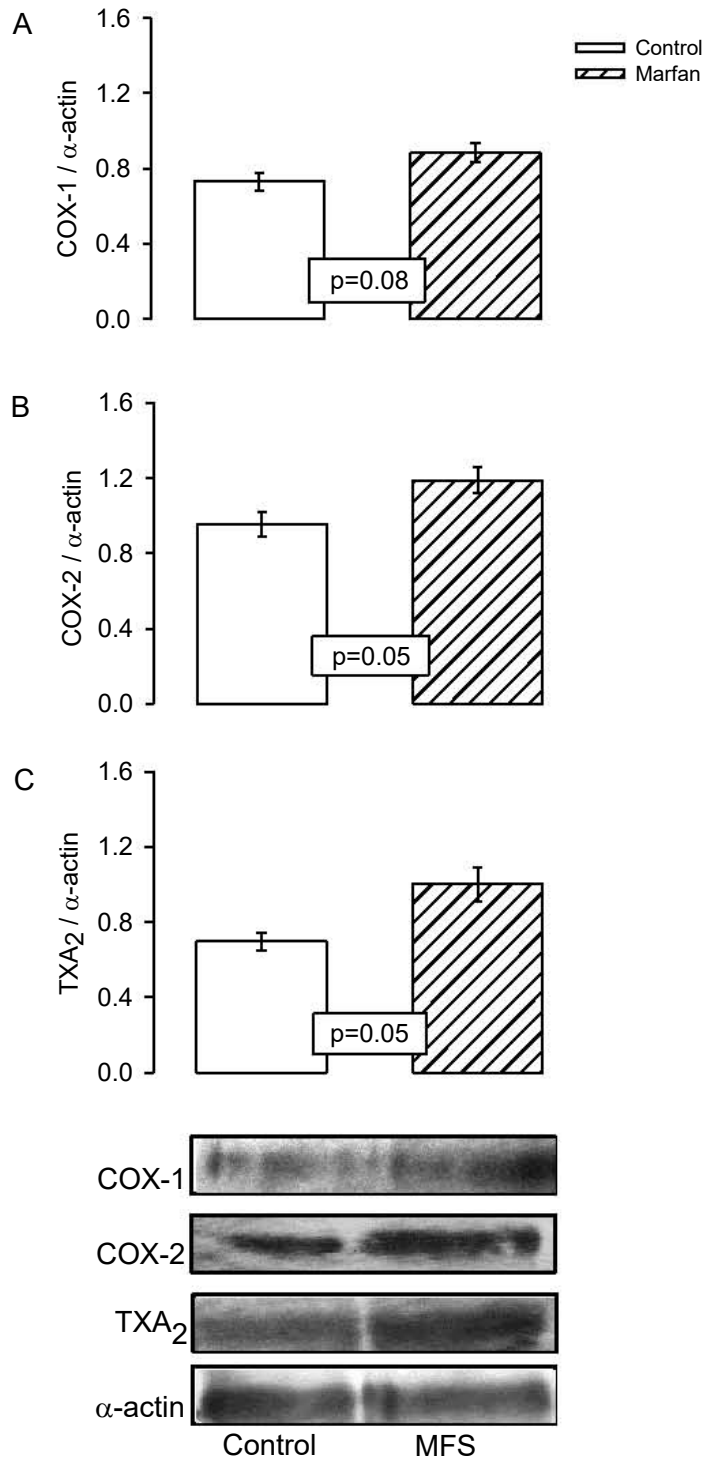


Figura 4.

En la figura 5, los paneles A, B y C muestran una fotomicrografía representativa de la aorta teñida con Hematoxilina, tricrómica de Masson y método de Weiger para fibras elásticas, respectivamente, en sujetos control. Se puede apreciar las fibras elásticas conservadas en color negro que alternan con fibras de colágeno limitadas en marrón rojizo. Los paneles D, E y F representan fotomicrografías del tejido aórtico de pacientes con MFS. Un aumento en el colágeno entre las fibras elásticas rotas y que se separan y forman cavidades resultantes de la rotura de las fibras elásticas. Estas características corresponden a la presencia de necrosis quística y sugieren una falta de elasticidad, engrosamiento y alta desorganización de la estructura del lamelar elástica y fibrosis por exceso de colágeno en los pacientes con MFS.

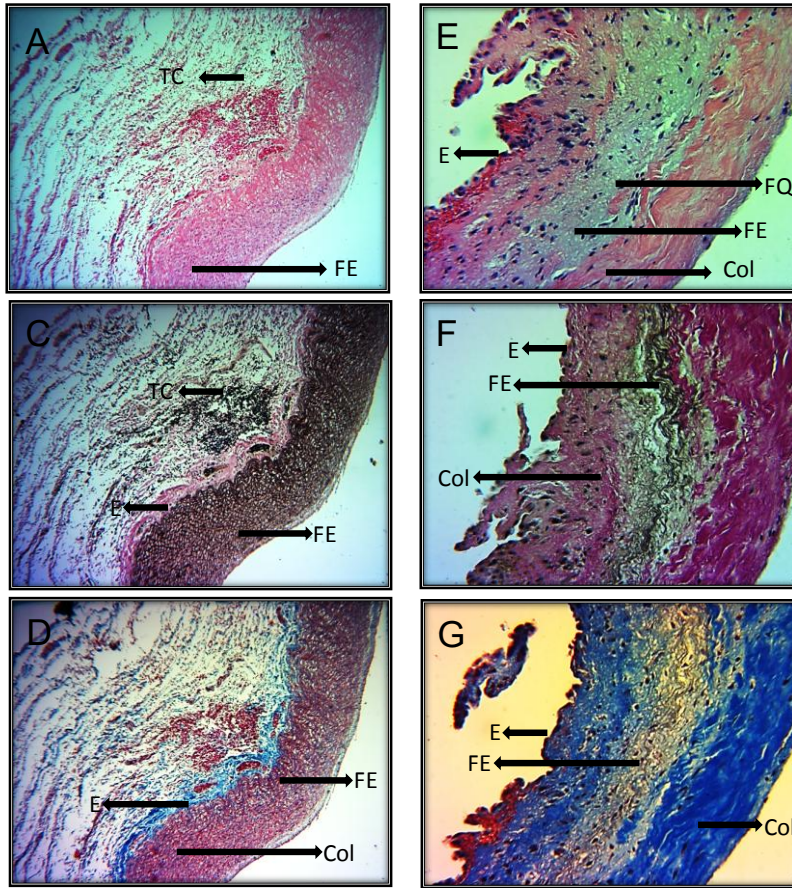


Figura 5. Fotomicrografía representativa a 16x de la aorta torácica de un sujeto control (panel A, B y C) en comparación con la aorta torácica de un paciente con MFS (panel E, F y G), las diferentes secciones fueron teñidas con las técnicas histológicas de hematoxilina y eosina, método de Weigert para fibras elásticas y tricrómica de Masson. Abreviaturas; Col = colágena, FE = fibras elásticas, E = endotelio, FQ = fibrosis quística, TC = tejido conectivo.

DISCUSIÓN

El estrés oxidante está asociado con disfunción endotelial en pacientes con MFS (16) y en la aorta de modelos de ratón con MFS. El estrés oxidante se asocia con disminución en la relajación dependiente de endotelio mediada por óxido nítrico vía eNOS y esta alteración se asocia a los cambios estructurales aórticos que conducen en parte a la formación de aneurismas.

Con excepción de los eritrocitos, todas las células de los mamíferos sintetizan eicosanoides (compuestos de 20 carbonos) derivados del AA (20), a través de tres vías: la de las COXs, la de la LOX y la del CYP450 (21), produciéndose sustancias tales como las prostaglandinas (PG), las prostaciclina (PC), los tromboxanos (TX) y los leucotrienos (LK) (22). En general son muy potentes y tienen efectos fisiológicos importantes de diferente naturaleza ya que participan en fenómenos como producción de dolor, fiebre, respuesta inflamatoria, regulación de la presión sanguínea, activación plaquetaria e iniciación de la cascada de la coagulación. (23) Las PG se generan por la acción de las COXs sobre el AA; de éstas, existen dos isoenzimas: la COX-1 constitutiva y la COX-2 inducible.

Inicialmente se produce la prostaglandina PGG_2 muy inestable y la PGH_2 vasoconstrictora, asociada a la hipertensión por envejecimiento. (24) Posteriormente, por la acción de la sintasa de prostaciclina se sintetiza la prostaciclina PGI_2 , vasodilatadora e inhibidora de la agregación plaquetaria; por otra parte y por medio de la sintasa PG se generan una serie de prostaglandinas, en su mayoría vasoconstrictoras, como la $PGF_{2\alpha}$. Los tromboxanos (TXA_2 metabolito inestable y TXB_2 metabolito estable), se producen por la acción de la sintasa del tromboxano, también

son vasoconstrictores y pro-agregantes plaquetarios. (25) El AA que se metaboliza a través e otras vías, como la de la LOX, que da lugar a leukotrienos y la vía del CYP450, por la cual, mediante hidroxilación y epoxigenación del AA se generan compuestos del tipo 20-HETE (vasoconstrictores) y 11,12-EET (vasodilatadores), (26) ésta última parece ser la vía preferencial en varios órganos y sistemas, que incluye vasculatura periférica, estos metabolitos actúan regulando la función renal, cardíaca y el tono vascular.

En los procesos inflamatorios se ha descrito que existe asociación con el metabolismo del AA. (27) Los metabolitos de este ácido graso pueden intervenir de manera directa o indirecta en el sistema cardiovascular. Además, los prostanoïdes derivados del metabolismo del AA participan en la regulación del tono vascular y la presión arterial. (28) El objetivo del estudio fue determinar la participación del metabolismo de AA asociados a factores de inflamación en la génesis de la dilatación y disección aórtica en los pacientes con MFS.

Los resultados sugieren que los metabolitos del ácido araquidónico sintetizados por la vía de las COX-1 y 2, contribuyen a la inflamación crónica observada en el MFS. Se ha descrito que las isoformas de COX se asocian con la síntesis de TXA₂. (29) Se ha descrito que las PG sintetizadas por COX-2 pueden regular la síntesis y liberación de angiotensina II, (27) la cual está incrementada en modelo de ratón con MFS. Los resultados sugieren que la vía metabólica COX/ tromboxano sintasa está alterada en los pacientes con MFS. El TXA₂ es un potente vasoconstrictor que puede ser sintetizado por el endotelio. Asimismo los resultados indican deterioro en la función endotelial en modelos de ratón con MFS se ha demostrado un incremento de PGE₂. (30) Se ha descrito que la PGE₂ y el TXA₂ incrementan la transcripción de colágena

tipo IV, laminina y fibronectina, proteínas involucradas en el engrosamiento de la capa subendotelial aórtica, característica predominante en el aneurisma aórtico.

Nuestros resultados evidencian incremento en la PGE₂ en los pacientes con MFS.

La porcentaje de AA en los homogeneizados de aorta de pacientes con MFS disminuyo en comparación con los sujetos control; resultados previos de nuestro laboratorio ya han descrito que otro ácido graso como el oleico está involucrado en la participación de la formación del aneurisma aórtico en los pacientes con MFS, estos resultados muestran que el AA también está involucrado, principalmente el decremento es debido a que una parte está siendo oxidada por radicales libres y otra parte se está utilizando por las COXs, TXA2 CYP450 4A y 5-LOX. Para producir eicosanoides involucrados en la regulación de tono vascular aórtico. Además se ha demostrado que los metabolitos, productos de la actividad de la COX-2 sobre el ácido araquidónico, pueden incrementar la actividad del sistema renina angiotensina (31) un aumento de angiotensina II contribuye a la elevación de la presión arterial sistólica y al daño endotelial aórtico en el MFS. Así mismo, los cambios en disminución del porcentaje del AA se deben a la alteración en la expresión de la PLA₂, enzima clave en la liberación del AA de los fosfolípidos de la membrana celular.

Se han asociado los metabolitos estables de COX-1 y 2 como el 6-keto-PGF_{1α} y la PGE₂ al decremento y al incremento, respectivamente, de la presión arterial sistólica (32) y al daño endotelial en modelos experimentales de MFS.

Los resultados sugieren que en los pacientes con MFS presentan alteración del metabolismo del AA, favoreciendo o disminuyendo la síntesis de prostaglandinas vaso activas involucradas en la regulación de la función endotelial y como consecuencia, el

deterioro de la función aortica asociado a desarrollo del aneurisma. Además los resultados sugieren que la vía de las isoformas de COX/tromboxano sintasa se encuentra alterada y se desvía en el MFS a una mayor síntesis y liberación de PGE₂ que de 6-keto-PGF_{1α}.

CONCLUSIÓN

En el tejido aórtico de pacientes con síndrome de Marfan existen factores inflamatorios aunados a los factores genéticos que predisponen a la disfunción endotelial aórtica. Hay disminución del metabolismo del AA el cual favorece la disminución de la síntesis de prostaglandinas vasoactivas conduciendo a un incremento de tromboxano sintasa, lo cual desvía a una mayor síntesis de PGE₂ que de 6-keto-PGF_{1α} y, por lo tanto, de vasodilatación.

La evidente pérdida de homeostasis en estos mecanismos confirma que existe una participación de la vía del ácido araquidónico. Esto sugiere que el crecimiento aórtico y la disección aórtica pueden ser secuencias progresivas secundarias a la desregulación de la función endotelial, el involucro importante de los factores de inflamación y la pérdida de la función endotelial de la aorta.

REFERENCIAS

1. Wheeler JB, Ikonomidis JS, Jones JA. Connective tissue disorders and cardiovascular complications: The indomitable role of transforming growth factor-beta signaling. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2014. p. 107–27.
2. Soto ME, Soria-Castro E, Guarner Lans V, Muruato Ontiveros E, Iván Hernández Mejía B, Jorge Martínez Hernandez H, et al. Analysis of oxidative stress enzymes and structural and functional proteins on human aortic tissue from different aortopathies. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014.
3. Gadson PF, Dalton ML, Patterson E, Svoboda DD, Hutchinson L, Schram D, et al. Differential response of mesoderm- and neural crest-derived smooth muscle to TGF-beta1: regulation of c-myb and alpha1 (I) procollagen genes. *Exp Cell Res* [Internet]. 1997;230(2):169–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9024776>
4. Padilla J, Jenkins NT, Vieira-Potter VJ, Laughlin MH. Divergent phenotype of rat thoracic and abdominal perivascular adipose tissues. *AJP Regul Integr Comp Physiol* [Internet]. 2013;304(7):R543–52. Available from: <http://ajpregu.physiology.org/cgi/doi/10.1152/ajpregu.00567.2012>
5. Martin C, Pham T, Sun W. Significant differences in the material properties between aged human and porcine aortic tissues. *Eur J Cardio-thoracic Surg*. 2011;40(1):28–34.
6. Neptune ER, Frischmeyer PA, Arking DE, Myers L, Bunton TE, Gayraud B, et al. Dysregulation of TGF- β activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome. *Nat Genet* [Internet]. 2003;33(3):407–11. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/ng1116>
7. Cohn RD, van Erp C, Habashi JP, Soleimani AA, Klein EC, Lisi MT, et al. Angiotensin II type 1 receptor blockade attenuates TGF- β -induced failure of muscle regeneration in multiple myopathic states. *Nat Med* [Internet]. 2007;13(2):204–10. Available from:

<http://www.nature.com/doi/10.1038/nm1536>

8. Aggarwal NT, Gauthier KM, Campbell WB. Endothelial nitric oxide and 15-lipoxygenase-1 metabolites independently mediate relaxation of the rabbit aorta. *Vascul Pharmacol*. 2012;56(1–2):106–12.
9. Granata A, Serrano F, Bernard WG, McNamara M, Low L, Sastry P, et al. An iPSC-derived vascular model of Marfan syndrome identifies key mediators of smooth muscle cell death. *Nat Genet* [Internet]. 2016;49(1):97–109. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/ng.3723>
10. Milewicz DM, Guo D-C, Tran-Fadulu V, Lafont AL, Papke CL, Inamoto S, et al. Genetic Basis of Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections: Focus on Smooth Muscle Cell Contractile Dysfunction. *Annu Rev Genomics Hum Genet* [Internet]. 2008;9(1):283–302. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.genom.8.080706.092303>
11. Gauthier KM, Goldman DH, Aggarwal NT, Chawengsub Y, Falck JR, Campbell WB. Role of arachidonic acid lipoxygenase metabolites in acetylcholine-induced relaxations of mouse arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* [Internet]. 2011;300(3):H725-35. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3064304&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
12. Yang HHC, van Breemen C, Chung AWY. Vasomotor dysfunction in the thoracic aorta of Marfan syndrome is associated with accumulation of oxidative stress. *Vascul Pharmacol*. 2010;52(1–2):37–45.
13. Dab H, Hachani R, Sakly M, Bricca G, Kacem K. Physiological regulation of pro-inflammatory cytokines expression in rat cardiovascular tissues by sympathetic nervous system and angiotensin II. *Gen Physiol Biophys*. 2013;32(4):569–75.
14. Anton N, Atzenhoffer M, Daubeuf F, Li X, Schini-Kerth VB, Delmotte B, et al. Do iodinated nano-emulsions designed for preclinical vascular imaging alter the vascular reactivity in rat aorta? *Int J Pharm*. 2013;454(1):143–8.
15. Porciani MC, Attanasio M, Lepri V, Lapini I, Demarchi G, Padeletti L, et al. [Prevalence of cardiovascular manifestations in Marfan syndrome]. *Ital Heart J Suppl* [Internet]. 2004;5(8):647–52. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15554020>
16. Soto ME, Zuñiga-Muñoz A, Guarner Lans V, Duran-Hernández EJ, Pérez-Torres I. Infusion of *Hibiscus sabdariffa* L. Modulates Oxidative Stress in Patients with Marfan Syndrome. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2016;2016:1–12. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/mi/2016/8625203/>
 17. Hagan PG, Nienaber C a, Isselbacher EM, Bruckman D, Karavite DJ, Russman PL, et al. The International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD): new insights into an old disease. *JAMA*. 2000;283(7):897–903.
 18. Vijayakumar a R, Menon S, Kumar S, Prasad S. Acute aortic dissection--De Bakey Type I and Stanford A. *J Assoc Physicians India* [Internet]. 2004;52(February):154–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15656052>
 19. Buckvold S, Yetman AT. The 2010 AHA/ACC/AATS Guidelines on the Management of Thoracic Aortic Disease: What they say and why. *Prog Pediatr Cardiol*. 2012;34(1):3–7.
 20. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, Van De Putte LB, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J*. 1998;12(12):1063–73.
 21. Escalante B a, McGiff JC, Oyekan AO. Role of cytochrome P-450 arachidonate metabolites in endothelin signaling in rat proximal tubule. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2002;282(1):F144-50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11739122>
 22. Yamada M, Omata K, Abe F, Ito S, Keishi Abe. Changes in prostacyclin, thromboxane A2 and F2-isoprostanes, and influence of eicosapentaenoic acid and antiplatelet agents in patients with hypertension and hyperlipidemia. *Immunopharmacology*. 1999;44(1–2):193–8.
 23. Marnett LJ, Rowlinson SW, Goodwin DC, Kalgutkar AS, Lanzo CA. Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. Mechanisms of catalysis and inhibition. Vol. 274, *Journal of Biological Chemistry*. 1999. p. 22903–6.
 24. Pomposiello SI, Quilley J, Carroll MA, Falck JR, McGiff JC. 5,6-Epoxyeicosatrienoic acid mediates the enhanced renal vasodilation to arachidonic acid in the SHR. *Hypertension*. 2003;42(4 I):548–54.

25. Vazquez-Cruz B, Lopez P, Talamas-Rohana P, Escalante B. Increased renal vasoconstriction and gene expression of cyclooxygenase-1 in renovascular hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* [Internet]. 2000;36(5):577–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11065217>
26. Minuz P, Jiang H, Fava C, Turolo L, Tacconelli S, Ricci M, et al. Altered release of cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid in renovascular disease. *Hypertension*. 2008;51(5):1379–85.
27. Hernández J, Astudillo H, Escalante B. Angiotensin II stimulates cyclooxygenase-2 mRNA expression in renal tissue from rats with kidney failure. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2002;282(4):F592-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11880319>
28. Roman RJ. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev*. 2002;82(1):131–85.
29. Hishinuma T, Koseki Y, Murai Y, Yamazaki T, Suzuki K ichi, Mizugaki M. Urinary thromboxane A2/prostacyclin balance reflects the pathological state of a diabetic. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 1999;58(5–6):263–71.
30. Honeck H, Gross V, Erdmann B, Kärgel E, Neunaber R, Milia a F, et al. Cytochrome P450-dependent renal arachidonic acid metabolism in desoxycorticosterone acetate-salt hypertensive mice. *Hypertension* [Internet]. 2000;36(4):610–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11040244>
31. Caughey GE, Cleland LG, Gamble JR, James MJ. Up-regulation of endothelial cyclooxygenase-2 and prostanoid synthesis by platelets. Role of thromboxane A2. *J Biol Chem*. 2001;276(41):37839–45.
32. Baber SR, Champion HC, Bivalacqua TJ, Hyman AL, Kadowitz PJ. Role of cyclooxygenase-2 in the generation of vasoactive prostanoids in the rat pulmonary and systemic vascular beds. *Circulation*. 2003;108(7):896–901.