**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

EMANUEL JÚNIO RAMOS TENÓRIO

**EXPRESSÃO DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DOS miRNA-191 E
miRNA-455-3P EM PACIENTES COM ANEURISMA DE AORTA
ABDOMINAL E SUAS RELAÇÕES COM A EVOLUÇÃO CLÍNICA
APÓS TRATAMENTO ENDOVASCULAR**

**Ribeirão Preto
2017**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

EMANUEL JÚNIO RAMOS TENÓRIO

**EXPRESSÃO DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DOS miRNA-191 E
miRNA-455-3P EM PACIENTES COM ANEURISMA DE AORTA
ABDOMINAL E SUAS RELAÇÕES COM A EVOLUÇÃO CLÍNICA
APÓS TRATAMENTO ENDOVASCULAR**

Tese de Doutorado apresentada à
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
da Universidade de São Paulo, para
obtenção do **Título de Doutor**.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Edwaldo E. Joviliano

**Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca
da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e
Dissertações da USP (BDTD)**

**Ribeirão Preto
2017**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo, pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Tenório, Emanuel Júnio Ramos

Expressão dos níveis plasmáticos dos miRNA-191 e miRNA-455-3p em pacientes com aneurisma de aorta abdominal e suas relações com a evolução clínica após tratamento endovascular, 2017.

90 p.: il.; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. RP, SP.

Orientador: Edwaldo Edner Joviliano

1. Aneurisma de aorta abdominal. 2. correção endovascular de aneurisma de aorta abdominal. 3. MicroRNAs. 4. biomarcadores

FOLHA DE APROVAÇÃO

EMANUEL JÚNIO RAMOS TENÓRIO

Expressão dos níveis plasmáticos dos miRNA-191 e miRNA-455-3p em pacientes com aneurisma de aorta abdominal e suas relações com a evolução clínica após tratamento endovascular

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do **Título de Doutor**.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica.

Aprovado em: ____ de ____ de ____

Banca examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

*“A ciência é uma construção intelectual sob revisão
constante, uma narrativa que criamos para dar
sentido ao que vemos do mundo.”*

Marcelo Gleiser

DEDICATÓRIAS

À Deus, por existir, escolher e me guiar sempre pelos melhores caminhos, iluminando-os nos momentos de angústia e incerteza, fortalecendo-me.

À meus pais, Manoel e Edna, pelo amor, carinho, dedicação e criação, sentimentos e princípios que formaram meu caráter e que hoje norteiam minha vida. Meu reconhecimento e gratidão eterna.

À meus avós, Sebastião (*in memorian*) e Odete (*in memorian*), e, Maria (*in memorian*) e Paulo (*in memorian*), que me fazem lembrar minhas origens. Pois, um homem sem memória é um homem sem história e um homem sem história está fadado a cometer, no presente e no futuro, os mesmos erros do passado.

À meus irmãos, Sebastião, Marcos, José e Tarciana, amigos de todas as horas na minha caminhada, pelo carinho, cumplicidade e amizade.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Edwaldo Edner Joviliano, amigo, orientador, por ter dado a oportunidade de me aventurar na vida acadêmica. Agradeço pela confiança, perseverança e entusiasmo. Agradeço também pela tutoria na minha formação de cirurgião vascular, inspirando-me na busca incessante do conhecimento.

À Profa. Dra. Daniela Pretti Da Cunha Tirapelli, entusiasta e alimentadora de sonhos. Agradeço pela colaboração, ensinamentos e idéias no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos eternos professores da Cirurgia Vascular do HC-FMRP, Prof. Dr. Jesualdo Cherri, Prof. Dr. Carlos Eli Piccinato, Prof. Dr. Edwaldo Edner Joviliano, Prof. Dr. Takachi Moriya e Prof. Dr. Mauricio Serra Ribeiro pelos ensinamentos durante e após a residência médica, sem os quais minha atividade profissional não seria possível.

Aos Drs. Nei Dezotti, José Geraldo, Marcelo Dalio e Leandro Gardenghi, obrigado pelos ensinamentos, apoio e incentivo.

Ao Dr. Fernando Reis Neto, “o parceiro que eu sempre quis ter”. Obrigado pelo companheirismo, apoio e incentivo. Muito obrigado pela sua amizade.

Aos amigos residentes de hoje e de sempre, Thiago Guimarães, Laura Rocha, Rodrigo Mota, Viviane Veronica, César Campos, Gabriel Bordonal, Rafael Zanatta, André Farias, Rafael Catto e Rafael Isaac, obrigado pela amizade, ensinamentos e incentivo.

À equipe do Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Cirurgia da FMRP – USP: Fermino Sanches, Renata Pugliesi e Luana Grupioni pela ajuda no armazenamento das amostras e realização dos experimentos.

À Unidade de Pesquisa Clínica (UPC) e toda a equipe da enfermaria do 12º andar do HC – FMRP pela ajuda na internação e coleta das amostras de sangue dos pacientes.

À comissão de Pós-graduação do Departamento de Cirurgia e Anatomia, por ter acreditado neste projeto.

Ao Departamento de Cirurgia e Anatomia e suas secretárias em especial à Juliana e Sandra.

Ao “pentágono” (Eu, Daniel Thalles, Tony Ferraz, Manoel Fenelon e Sergio Henrique) pelo apoio emocional e espiritual concedidos gratuitamente mediante uma convivência inesquecível e agradável.

Aos demais Mestres, amigos e colegas de jornada das instituições e hospitais pelos quais passei, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Campina Grande, Hospital Santa Marcelina, Hospital das Clínicas – FMRP – USP, Hospital Estadual de Ribeirão Preto e Hospital Estadual de Américo Brasiliense. Agradeço pelos ensinamentos aprendidos.

Aos pacientes e seus familiares, todos envolvidos neste estudo, sem os quais esta tese não poderia ser realizada. Meu respeito e gratidão eterna.

RESUMO

Tenório, EJR. **Expressão dos níveis plasmáticos dos miRNA-191 e miRNA-455-3P em pacientes com aneurisma de aorta abdominal e suas relações com a evolução clínica após tratamento endovascular** [tese]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2017.

Introdução: O aneurisma de aorta abdominal (AAA) é uma importante causa de morbimortalidade na população idosa. O tratamento endovascular está associado a menor morbimortalidade que o tratamento convencional, no entanto, necessita de um seguimento rigoroso com exames de imagem contrastados para confirmação da exclusão do saco aneurismático. Considerando que a formação de um aneurisma é um processo multifatorial complexo, envolvendo a remodelação destrutiva do tecido conjuntivo em todo o segmento afetado da parede da aorta e que este processo envolve uma inflamação crônica local, uma diminuição no número de células do músculo liso da túnica média, e fragmentação da matriz extracelular da aorta e ainda que um perfil de expressão aberrante de miRNAs tem sido associada a doenças humanas, incluindo disfunção cardiovascular propôs-se então a realização deste estudo envolvendo todo este processo. O objetivo principal foi quantificar e avaliar a resposta da expressão dos miRNAs à correção endovascular de aneurisma de aorta abdominal com base em dosagens séricas no seguimento de seis meses.

População e Método: Foram recrutados 30 pacientes consecutivos com AAA sem outras doenças inflamatórias associadas, do Ambulatório de Cirurgia Vascular e Endovascular do HCFMRPUSP com indicação de tratamento endovascular. Foram escolhidos para estudo e dosagens séricas os miRNA-191 e miRNA-455-3p. A expressão diferencial dos miRNAs foi realizada pelo método de PCR em tempo real, após extração do RNA das amostras de sangue total em dois momentos, pré-operatório e após 6 meses de pós-operatório. Além disso, ferramentas de bioinformática foram utilizadas para determinar vias fisiopatológicas relacionadas ao AAA. Foram Colhidos dados de perfil demográfico, de seguimento clínico e exames de imagem com angiotomografia no pré-operatórios e após 6 meses. **Resultados:** Foi observado uma hiperexpressão dos miR-191 e miR-455-3p no sangue total dos pacientes com AAA. O tratamento endovascular dos pacientes com AAA resultou em diminuição significativa das expressões dos miRNAs estudados, indicando que a exclusão do saco aneurismático altera as expressões dos mesmos. Adicionalmente, as expressões dos miR-191 e miR-455-3p não apresentaram correlação com o diâmetro do aneurisma e a análise da influência dos diversos tipos de dispositivos utilizados para o tratamento endovascular dos AAA, não mostrou diferenças significativas nas expressões dos miR-191 e miR-455-3p. **Conclusões:** A hiperexpressão dos miR-191 e miR-455-3p com sua significativa redução apos o tratamento endovascular, pode sugerir a utilização dessas moléculas como potenciais biomarcadores no seguimento desses pacientes. Novos estudos com maior número de casos devem ser realizados com o objetivo de validar os dados obtidos incluindo pacientes com eventuais vazamentos.

Palavras-chaves: Aneurisma de aorta abdominal. Correção endovascular de aneurisma de aorta abdominal. MicroRNAs. Biomarcadores.

ABSTRACT

Tenório EJR. **Expression of plasma levels of miRNA-191 and miRNA-455-3P in patients with abdominal aortic aneurysm and their relationship with a clinical outcome after endovascular treatment** [thesis]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2017.

Background: Abdominal aortic aneurysm (AAA) is an important cause of morbidity and mortality in the elderly population. Endovascular treatment is associated with lower morbidity and mortality than conventional treatment, however, it requires a rigorous follow-up with contrast imaging tests to confirm the aneurysmal sac exclusion. Considering that the formation of an aneurysm is a complex multifactorial process, involving the destructive remodeling of the connective tissue throughout the affected segment of the aortic wall and that this process involves a chronic local inflammation, a decrease in the number of smooth muscle cells of the media tunic, and fragmentation of the extracellular matrix of the aorta and although an aberrant expression profile of miRNAs has been associated with human diseases, including cardiovascular dysfunction, it was proposed to carry out this study involving this whole process. The main objective was to quantify and evaluate miRNA expression response to endovascular correction of abdominal aortic aneurysm based on serum dosages at the six-month follow-up. **Population and Method:** We recruited 30 consecutive patients with AAA without other associated inflammatory diseases from the Ambulatory of Vascular and Endovascular Surgery of the HCFMRPUSP with indication of endovascular treatment. The miRNA-191 and miRNA-455-3p were selected for study and serum dosages. The differential expression of the miRNAs was performed by the real-time PCR method, after extraction of RNA from the whole blood samples at two moments, preoperatively and after 6 months of follow-up. In addition, bioinformatics tools were used to determine pathophysiological pathways related to AAA. Demographic profile, clinical follow-up and imaging examinations with angiotomography performed in the preoperative period and after 6 months were collected. **Results:** Hyperexpression of miR-191 and miR-455-3p in whole blood of AAA patients was observed. The endovascular treatment of patients with AAA resulted in a significant decrease in the expression of the miRNAs studied, indicating that the exclusion of the aneurysmal sac altered their expression. In addition, the expression of miR-191 and miR-455-3p showed no correlation with the diameter of the aneurysm and analysis of the influence of the various types of devices used for the endovascular treatment of AAA did not show significant differences in the expression of miR-191 And miR-455-3p. **Conclusions:** The hyperexpression of miR-191 and miR-455-3p with its significant reduction after endovascular treatment may suggest the use of these molecules as potential biomarkers in the follow-up of these patients. New studies with a greater number of cases should be performed with the objective of validating the data obtained including patients with possible endoleaks.

Keywords: Abdominal aortic aneurysm. Endovascular correction of abdominal aortic aneurysm. MicroRNAs. Biomarkers.

LISTA DE ABREVIATURAS

AAA:	aneurisma de aorta abdominal;
ACE:	enzima conversora de angiotensina;
AVCi:	acidente vascular cerebral isquêmico;
cDNA:	(<i>complementary DNA</i>): DNA complementar;
Ct:	(<i>cycle threshold</i>): limite de detecção;
DAB2IP	(<i>DAB2 interacting protein</i>): Proteína interativa DAB2
DAC:	doença arterial coronariana;
DAOP:	doença arterial obstrutiva periférica;
DM:	Diabetes Melitus;
DNA	(<i>deoxyribonucleic acid</i>): ácido desoxirribonucléico;
DPOC:	doença pulmonar obstrutiva crônica;
DREAM:	<i>Dutch Randomized Endovascular Aneurysm Repair</i> ;
DV:	desvio padrão
e-PTFE	(<i>polytetrafluoroethylene</i>): politetrafluetileno;
EDTA	(<i>ethylenediamine tetraacetic acid</i>): ácido etilenodiamino tetra-acético
EUA:	Estados Unidos da América
EVAR1:	<i>Endovascular Aneurysm Repair 1</i>
FMRP:	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
GB:	glóbulos brancos;
HCRP:	Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto;
HDL	(<i>high density lipoprotein</i>): lipoproteína de alta densidade;
IC:	Intervalo de confiança;
ICAM	(<i>intercellular adhesion molecule</i>): molécula de adesão intercelular;
IFN:	Interferon;
IL:	Interleucina;
IMC:	Índice de massa corpórea;
JNK:	(<i>c-Jun N-terminal kinase</i>): quinase N-terminal;
kDA:	Kilodalton;
LDLR	(<i>low density lipoprotein receptor</i>): receptor de lipoproteína de baixa densidade
LRP1	(<i>LDL receptor related protein 1</i>): proteína ligada ao receptor LDL 1
miRNA(s):	microRNA(s);
MMP:	Metaloproteinase da matriz extracelular;

mRNA	(<i>messenger RNA</i>): RNA mensageiro
MTHFR	(<i>methylenetetrahydrofolate reductase</i>): metilenotetrahidrofolato redutase
OLTA:	órgão linfoide terciário adventicial;
OR	(<i>odds ratio</i>): razão de chances;
OVER:	<i>Open Versus Endovascular Repair</i> ;
PA:	pressão arterial;
PCR:	proteína C reativa;
RISC:	(<i>RNA-induced silencing complex</i>): complexo silenciador induzido pelo RNA;
RNA:	(<i>ribonucleic acid</i>): ácido Ribonucléico;
Rpm:	rotação por minuto;
RQ-PCR:	reação em cadeia de polimerase quantitativo em tempo real;
Th:	Linfócitos T helper;
TIMP:	(<i>tissue inhibitor of metalloproteinases</i>): inibidor tissular da metaloproteinase;
TNF:	fator de necrose tumoral;
UPC:	unidade de pesquisa clínica;
USP:	Universidade de São Paulo;
VCAM:	(<i>vascular cell adhesion molecule</i>): molécula de adesão celular vascular.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Representação esquemática do impacto da interface sangue - trombo crônico intraluminal na degradação da media e as respostas inflamatórias, angiogênicas e fibróticas adventíciais no AAA humano. OLTA, órgão linfóide terciário adventicial; GB, glóbulos vermelhos; AAA, aneurisma de aorta abdominal ⁶⁶	27
Figura 2 –	Diagrama representando a complexa fisiopatologia do desenvolvimento do aneurisma de aorta abdominal ao longo dos anos. LEI, lâmina elástica interna; LEE, lâmina elástica externa; MMPs, metaloproteinases; TIMPs, inibidores teciduais de metaloproteinases ⁷⁷	30
Figura 3 –	Modelo geral da biogênese do miRNA. mRNA, ácido ribonucleico mensageiro; miRNA, microRNA ⁹³	35
Figura 4 –	Mecanismo de ação dos miRNAs: (A) clivagem do RNAm. A seta preta indica o local da clivagem; (B) Repressão translacional. RISC, complexo silenciador induzido por RNA ⁹⁹ ...	36
Figura 5 –	Imagens da morfometria do AAA em paciente do sexo feminino. A, morfometria do aneurisma pré-operatória com diâmetro de 5,32 cm e volume de 117,44 cm ³ . B, morfometria do aneurisma após 6 meses de pós-operatório com diâmetro de 4,18 e volume de 86,33 cm ³ . Nota-se redução significativa tanto do diâmetro quanto do volume após intervenção.....	57

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Expressão do miR-191 em dois momentos: pré-operatório e no seguimento de seis meses de pós-operatório. $p < 0,05$	51
Gráfico 2 –	Expressão do miR-455-3p em dois momentos: pré-operatório e no seguimento de seis meses de pós-operatório. $p < 0,05$	52
Gráfico 3 –	Expressão do miR-191 em relação ao tipo de fixação da endoprótese após seis meses do implante. $p = 0,1$	53
Gráfico 4 –	Expressão do miR-455-3p em relação ao tipo de fixação da endoprótese após seis meses do implante. $p = 0,56$	54
Gráfico 5 –	Expressão do miR-191 em relação ao tipo de material da endoprótese após seis meses do implante. $p = 0,18$	55
Gráfico 6 –	Expressão do miR-455-3p em relação ao tipo de material da endoprótese após seis meses do implante. $p = 0,41$	56
Gráfico 7 –	Curva de dispersão do miR-191.....	58
Gráfico 7 –	Curva de dispersão do miR-455-3p.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Fatores de risco independente para AAA ≥ 4 cm ³⁰	25
Tabela 2 –	Risco de ruptura anual estimado ⁸¹	31
Tabela 3 –	Características demográficas e clínicas dos pacientes com aneurisma de aorta abdominal.....	50
Tabela 4 –	Características perioperatórias.....	51
Tabela 5 –	Características demográficas e clínicas dos pacientes de acordo com o tipo de fixação da endoprótese.....	53
Tabela 6 –	Características demográficas e clínicas dos pacientes de acordo com o material da endoprótese.....	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	22
2.1 Aneurisma de aorta abdominal	22
2.1.1 Prevalência	22
2.1.2 Incidência	23
2.1.3 Fatores de risco	24
2.1.4 Patogenia do aneurisma de aorta abdominal	27
2.1.4 Risco de ruptura.....	33
2.1.5 Tratamento e seguimento	34
2.2 Os microRNAs.....	36
2.2.1 Biogênese dos miRNAs.....	36
2.2.2 Mecanismo de ação dos miRNAs	37
2.2.3 Os microRNAs e a formação dos aneurisma.....	38
3 OBJETIVO.....	42
3.1 Objetivo geral	42
3.2 Objetivos específicos	42
4 POPULAÇÃO E MÉTODO.....	44
4.1 População.....	44
4.1.1 Critério de inclusão	44
4.1.2 Critérios de exclusão	45
4.2 Local do estudo.....	45
4.3 Seleção de miRNA.....	45
4.4 Previsão de alvos e análise de enriquecimento de via	46
4.5 Método.....	46
4.5.1 Descrição dos dispositivos.....	46
4.4.2 Realização do procedimento e liberação do dispositivo	46
4.4.3 Acompanhamento pós-operatório.....	47
4.4.4 Coleta do Material	47
4.4.5 Análise laboratorial	48
4.4.6 Morfometria do aneurisma	50
4.5 Análise estatística	50
5 RESULTADOS	52
5.1 Casuística	52
5.2 PCR qualitativo de miRNA plasmático no pré-operatório e após 6 meses de pós-operatório	53
5.3 PCR qualitativo de miRNA plasmático de acordo com modo de fixação da endoprótese	54
5.4 PCR qualitativo de miRNA plasmático de acordo com o material da endoprótese	56
5.5 PCR qualitativo de miRNA plasmático de acordo com a morfometria do aneurisma	58
5.6 Interações entre os miRNAs 191 e 455-3p e os genes relacionados ao aneurisma da aorta abdominal	60
6 DISCUSSÃO	63

7 CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS.....	72
ANEXO A	84
ANEXO B	88
ANEXO C	89
ANEXO D	90

1. INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Aneurisma da aorta abdominal (AAA) é uma doença degenerativa comum, com uma prevalência de 8% em homens idosos.¹ É caracterizada por um processo inflamatório crônico, depleção de células musculares lisas e degradação da matriz extracelular, resultando em enfraquecimento gradual e alargamento da parede da aorta. O diagnóstico do AAA é comumente um achado acidental, embora haja um número crescente de programas de rastreio, especialmente visando populações de alto risco. A consequência clínica mais temida da progressão do AAA é a ruptura aguda, o que acarreta uma mortalidade de 80%.²

Atualmente, a única opção de tratamento disponível continua a ser a reparação cirúrgica³, com a abordagem cirúrgica clássica sendo a inserção de um enxerto intraluminal via acesso aberto à aorta aneurismática. Recentemente, no entanto, este processo mórbido tem sido largamente substituído por próteses endovasculares. Além de serem inadequados para tratar as fases iniciais da doença, ambos os procedimentos de intervenção implicam em um risco operatório potencial e, portanto, aparecem apenas eficazes na prevenção da ruptura da aorta.² Até agora, nenhuma abordagem conservadora farmacológica foi identificada a limitar eficazmente a progressão ou o risco de ruptura em seres humanos com AAA, o qual é muito provavelmente devido à escassez de mecanismos definidos de iniciação e expansão do AAA.

O desenvolvimento de métodos não invasivos é, portanto, uma necessidade urgente para diagnóstico do AAA em situação de risco e facilitar a intervenção precoce. Programas de rastreamento por ultrassom realizados em vários centros provaram reduzir substancialmente as mortes relacionadas com AAA.⁴ No entanto, os resultados do diagnóstico são em grande parte dependentes da experiência do médico e ainda mais complicada por vários métodos de medição utilizado. Testes com base em dosagens séricas parecem representar uma opção atraente por serem minimamente invasivos e capazes de alcançar resultados consistentes. A questão-chave é identificar potenciais biomarcadores com alta precisão para AAA.

Os microRNAs (miRNAs) são sequências curtas (19 e 26) de nucleotídeos não codificantes de RNA, que são transcritas a partir de DNA, no entanto, elas não são traduzidas em proteínas. Eles estão envolvidos na expressão do gene humano ligando-se a RNA mensageiro (RNAm) e impedindo a expressão

gênica por meio da inibição da síntese de proteínas.⁵ Padrão de expressão aberrante miRNAs tem sido implicada na patogênese de várias doenças cardiovasculares.⁶ Estudos recentes revelam que miRNAs desempenham um papel crucial no desenvolvimento AAA.⁷ Os miRNAs circulantes são encontrados para ser estável em sangue humano e são detectáveis com elevada sensibilidade e especificidade⁸, o que indica que eles podem ser eficazes como biomarcadores do AAA.

O presente trabalho é motivado pela necessidade de rastrear biomarcadores plasmáticos, mediante pesquisa com miRNA, bem como avaliar o comportamento dos miRNAs após tratamento endovascular do AAA.

2. REVISÃO DA LITERTATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aneurisma de aorta abdominal

Os aneurismas de aorta abdominal (AAA) são aqueles que, com maior frequência, encontramos na prática clínica. Um AAA é uma dilatação permanente, localizada da aorta abdominal, (a partir do nível do diafragma e que se estende à sua bifurcação para as artérias ilíacas comuns esquerda e direita) que excede o diâmetro normal por 50%, ou diâmetro maior que 3 cm. A maior parte dos AAA são encontrados na aorta infra-renal, proximal à bifurcação da aorta.⁹

Os processos patológicos envolvidos na formação dos AAA degenerativas incluem a regulação positiva das vias proteolíticas, a apoptose, o stress oxidativo, a inflamação, e a perda de matriz da parede arterial.¹⁰ Apesar dos AAA serem lesões focais, varias evidências indicam que a árvore vascular inteira é anormal em pacientes com um AAA.¹¹ Alterações moleculares e biomecânicas encontradas na vasculatura distante do AAA são semelhantes as presentes na parede do aneurisma.¹²⁻¹⁴

O risco de ruptura do AAA aumenta com o diâmetro da aorta.¹⁵ Mortalidade após a ruptura é elevado; cerca de 80% daqueles que chegam ao hospital e 50% daqueles que se submetem a uma cirurgia de AAA roto irão morrer^{16,17}. A base do gerenciamento para AAA é diagnosticar a doença antes da ruptura e oferecer correção do aneurisma de forma eletiva em um momento oportuno.

O diagnóstico é problemático, uma vez que a maioria dos aneurismas são assintomáticos até a ruptura. A mortalidade consideravelmente reduzida após a reparação eletiva, em comparação com a que ocorre após ruptura, levou ao desenvolvimento de programas de rastreio com ultrassom. Serviços de triagem de base comunitária têm sido mostrados para reduzir a mortalidade de AAA em homens com idade entre 65-79 anos, mas não são efetivos em mulheres nas quais a prevalência de AAA é menor.¹⁸⁻²¹

2.1.1 Prevalência

A maioria dos primeiros estudos que descreveram a ocorrência de AAA foram baseados em descobertas no exame post-mortem ou em base populacional de série de casos. Esses estudos estimaram que a prevalência de AAA poderia ser tão alta quanto 6% em populações selecionadas.²² Os aneurismas são mais prevalentes em homens brancos e a mortalidade aumenta com o avançar da idade.²³ Posteriormente programas de rastreio em populações específicas foram usados para descrever a epidemiologia do AAA.^{18,20,21,24,25} Nos homens com idades compreendidas entre 65-80 anos, esses estudos de rastreio referiram que a prevalência de AAA situou-se entre 4% e 8%.

A prevalência é de aproximadamente seis vezes maior em homens do que mulheres.²⁵ No entanto, existem evidências que indicam que a prevalência de AAA entre as mulheres pode estar aumentando lentamente, com as mulheres representando agora um terço dos pacientes com ruptura.²⁶ A razão para esta tendência não é totalmente compreendido. Uma explicação é que o aumento reflete uma mudança temporal na prevalência do tabagismo entre as mulheres, que aumentou entre 1950 e 1970.²⁷

2.1.2 Incidência

A incidência média anual de novos diagnósticos de AAA em populações ocidentais é 0,4-0,67%.²⁸⁻³⁰ A incidência é dez vezes menor em populações asiáticas.³¹ A incidência de ruptura do AAA está aumentando. Uma possível explicação para esse aumento é a diminuição da mortalidade por causas cardiovasculares o que significa um aumento da longevidade, proporcionando crescimento insidioso do AAA até ruptura. A verdadeira magnitude da mortalidade relacionada com a ruptura da aorta é susceptível de ser subestimada, especialmente com a diminuição do número de exames post-mortem realizados.³²⁻³⁴

2.1.3 Fatores de risco

2.1.3.1 Sexo

Os homens estão em risco muito maior de AAA do que as mulheres. As razões para isso não são claras, mas é provável que seja uma função de fatores hormonais, susceptibilidade genética e o fator de risco de exposição.³³ Quando aneurismas não rotos são descobertos em mulheres parece haver uma associação com história familiar.³⁵ Não existe evidência para sugerir que a triagem em mulheres para AAA é custo-efetiva.³⁶

2.1.3.2 História familiar

A história familiar é um fator de risco para AAA independente do desenvolvimento da aterosclerose.³⁷ Vários estudos relatam uma alta prevalência de AAA entre irmãos de pacientes com AAA.^{38,39} Uma história familiar positiva de AAA está associada com um risco aproximadamente duas vezes maior de AAA em comparação com aqueles sem histórico familiar.⁴⁰

O desenvolvimento do AAA é geneticamente complexo. Evidências de série de casos familiares e estudos com gêmeos têm fornecido evidências robustas de que a hereditariedade contribui para a formação do AAA.⁴¹ A probabilidade de que gêmeos monozigóticos de uma pessoa com um AAA irá desenvolver um aneurisma é de 24%.⁴²

O desenvolvimento do AAA é pouco provável que seja relacionado a uma mutação de um único gene, e vários fatores genéticos estão implicados. Os genes de susceptibilidade, em vez de mutações genéticas ocasionais, são susceptíveis de ser importante, particularmente aqueles que regulam mediadores inflamatórios, proteases de tecido e a biologia celular do músculo liso.⁴³

2.1.3.3 Tabagismo

O tabagismo é um fator de risco irrefutável para AAA.⁴⁴ Fumar aumenta o risco relativo de AAA em 7,6 vezes.⁴⁵ Os homens que fumam mais de 25

cigarros por dia têm 15 vezes maior risco de desenvolver um AAA, em comparação com os homens que nunca fumaram.⁴⁶

O número de cigarros fumados por dia é relevante, mas o mais importante é a duração do hábito de fumar.²⁸ Cada ano de tabagismo aumenta o risco relativo de AAA em 4% em todas as populações.⁴⁵ Aqueles que continuam a fumar têm expansão do AAA mais rápida.⁴⁷

O risco de um fumante desenvolver um AAA continua durante pelo menos 10 anos após a cessação do tabagismo. Até a presente data, no entanto, nenhuma ligação causal foi comprovada entre o tabagismo e formação do AAA. O mecanismo é independente da aterosclerose e teorias incluem a interrupção na síntese de colágeno, expressão alterada de metaloproteinases, e a resposta ao stress oxidativo.⁴⁸

2.1.3.4 Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC)

Foi relatada uma associação entre DPOC e AAA. A prevalência de AAA entre os pacientes com DPOC foi encontrada entre 7% e 11% e a maioria dos programas de rastreamento populacional relatam prevalências de 4% a 6%. A associação foi explicada em parte como a degradação comum do tecido elástico. O aumento da atividade elastolítica tem sido descrito no soro e nos pulmões de pacientes com DPOC e no soro e nas aortas de pacientes com AAA.²¹

2.1.3.5 Níveis lipídicos

A associação entre os níveis de lipídios plasmáticos e AAA é controversa. Níveis de colesterol sérico elevado (> 240 mg / dl) foi associado com um OR de 2,82 para AAA (IC de 95% 2,13-3,72).⁴⁹ No entanto, um estudo epidemiológico retrospectivo semelhante não conseguiu reproduzir esse achado, tendo identificado um efeito protetor de níveis elevados de HDL no soro.⁵⁰ Esse efeito protetor pode ser simplesmente um marcador substituto da saúde cardiovascular, como o exercício físico é conhecido por aumentar o HDL colesterol.⁵¹ Tem sido explorado o possível papel da terapia com estatinas para estabilizar a progressão do AAA. Análise retrospectiva do banco de dados de rastreio AAA

holandês propôs que as estatinas poderiam retardar o crescimento AAA, mas essa observação ainda não foi comprovada em um estudo prospectivo.⁵²

2.1.3.6 Hipertensão

O aumento da pressão arterial (PA) é um fator de risco comumente citada para AAA, mas apresenta uma associação fraca.^{53,54} A Hipertensão (pressão arterial sistólica > 160 mmHg, PA diastólica > 95 mmHg) está associada a risco de AAA, mas apenas em mulheres.²⁸ A pressão arterial média elevada tem sido citado como um fator de risco independente para a ruptura do aneurisma em homens e mulheres, e reflete a carga hemodinâmica contínua na parede da aorta, o que contribui com a fragilidade da parede arterial.⁵⁵

2.1.3.7 Obesidade

A obesidade central está associada independentemente com AAA. As medidas antropométricas específicas, especialmente a circunferência da cintura (OR 1,14, 95% IC 1,06-1,22) e relação cintura-quadril (OR 1,22, 95% IC 1,09-1,37), foram associados de forma independente com AAA em homens.⁵⁶ Outro estudo mostrou que a obesidade (IMC > 30 kg/m²) foi independentemente associada com AAA (OR 2,0, 95% IC 1,2-3,4).⁵⁷

2.1.3.8 Diabetes Melito

O diabetes é um fator de risco para aterosclerose, mas tem sido mostrado para ser protetor contra o desenvolvimento de AAA.³⁷ Uma meta-análise sugeriu uma taxa reduzida de AAA entre os pacientes com diabetes, em comparação com pacientes sem diabetes (OR 0,65, 95% IC 0,6-0,7, P < 0,001).²⁶ O diabetes também está associado a uma taxa mais lenta de crescimento dos AAA.⁵⁸

Os mecanismos propostos para o efeito protetor do diabetes incluem a hiperinsulinemia, hiperglicemia, e ações dos agentes terapêuticos utilizados no tratamento do diabetes. Estes agentes podem estabilizar trombo mural, aumentar a rigidez da parede da aorta, e diminuir a inflamação sistêmica.^{41,59,60}

2.1.3.9 Outros fatores de risco

Altos níveis de ingestão de álcool (> 30 g / dia) têm sido associados com risco aumentado de AAA (OR 1,65, IC 95% 1,03-2,64).⁴⁶ O mecanismo através do qual a exposição ao álcool aumenta o risco de AAA não é clara, mas poderia ser através de regulação positiva de metaloproteinases da matriz e a degradação focal da elastina.⁶¹ Baixo nível socioeconômica e origem geográfica têm sido citados como fatores de risco associados ao desenvolvimento de AAA, no entanto, esses fatores podem ser marcadores substitutos da influência do tabagismo, atendimento hospitalar e genética.⁶²(Tabela 1).³⁰

Tabela 1 - Fatores de risco independente para AAA ≥ 4 cm³⁰

Fator de Risco	OR	95% IC
RISCO AUMENTADO		
História de tabagismo	5.1	4.1-6.2
História familiar de AAA	1.9	1.6-2.3
Idade avançada	1.7	1.6-1.8
Doença arterial coronariana	1.5	1.4-1.7
Colesterol elevado	1.4	1.3-1.6
DPOC	1.2	1.1-1.4
Altura	1.2	1.1-1.3
RISCO REDUZIDO		
Imagem abdominal dentro 5 anos sem AAA	0.8	0.7-0.9
Trombose venosa profunda	0.7	0.5-0.8
Diabetes melitus	0.5	0.5-0.6
Raça negra	0.5	0.4-0.7
Sexo feminino	0.2	0.1-0.5

AAA, aneurisma de aorta abdominal; DPOC, doença pulmonar obstrutiva crônica

2.1.4 Patogenia do aneurisma de aorta abdominal

A aorta normal é composta por três camadas: íntima, túnica média e adventícia. A camada íntima é a mais interna da parede da aorta, composta de células endoteliais em contato direto com o sangue. Estas células podem contribuir para a formação do aneurisma através da produção de espécies reativas de oxigênio.⁶³

A camada média contém elementos conectivos extracelulares (elastina, colágenos tipos I e III, e proteoglicanos) e células musculares lisas organizados em unidades lamelares funcionais. Estas unidades, que dão suporte de

carga primária a estrutura da aorta saudável, estão esgotadas drasticamente ao longo de um período de anos ou décadas durante a patogênese do AAA. Na doença avançada, a degradação da elastina aumenta substancialmente a rigidez da aorta e a carga de colágeno. A ruptura ocorre quando as fibras de colágeno residuais e recém sintetizadas da média e adventícia não conseguem manter a integridade estrutural. A sequência exata de eventos que levam à ruptura permanece desconhecida, mas certamente envolve a inflamação e proteólise da camada média, resultando em reduções importantes da resistência mural à tração.⁶³

A adventícia é composta de colágeno intersticial, fibroblastos, fibras nervosas e vasa vasorum, estando ativamente envolvida na patogênese do AAA. A densidade dos vasa vasorum diminui ao longo do comprimento da aorta a partir da raiz da aorta até a bifurcação.⁶⁴ A especulação já existe há décadas a respeito de uma potencial relação entre a densidade reduzida de vasa vasorum na adventícia e a tendência para o aumento da formação de aneurisma na aorta distal. Evidência de causalidade do surgimento de aneurisma relacionada a diferenças regionais na vascularização da adventícia da aorta permanece inconclusiva. No entanto, recentemente o aumento da inflamação impulsionando a neovascularização, tem sido reconhecido em espécimes cirúrgicos obtidos no momento da correção do aneurisma, encontrando-se mais proeminente nos locais de rotura da aorta. Embora esta neovascularização esteja claramente presente, ainda é incerto se ela promove ativamente a progressão da doença aneurismática com consequente rotura, ou simplesmente representa evidência de inflamação mural progressiva.⁶⁵

O trombo intraluminal, além de ser um marcador indireto da progressão da doença, pode também mediar diretamente à progressão do AAA, através da ativação das metaloproteinases proteolíticas pela plasmina. Adicionalmente, o acúmulo de trombos pode prejudicar a difusão de oxigênio através da parede da aorta e resultar em hipóxia relativa e potencial de apoptose / necrose de células musculares lisas. O trombo laminar também pode alterar o pico de tensão da parede no AAA. Entretanto, a influência da presença de trombo no AAA permanece incerta, mas a maioria dos investigadores concorda que o trombo laminar geralmente aumenta a progressão da doença e o risco de rotura do AAA de diâmetro similar (Figura 1).⁶⁶

Figura 1 - Representação esquemática do impacto da interface sangue - trombo crônico intraluminal na degradação da media e as respostas inflamatórias, angiogênicas e fibróticas adventíciais no AAA humano. OLTA, órgão linfóide terciário adventicial; GB, glóbulos vermelhos; AAA, aneurisma de aorta abdominal.⁶⁶

Fonte: Modificada de Michel JB et al Cardiovasc Res. 2011;90(1):18-27

As metaloproteinases (MMPs) constituem-se em um conjunto de enzimas extracelulares que degradam a matriz celular, essenciais para uma variedade de processos fisiológicos, incluindo a homeostase, cicatrização de feridas, remodelação de tecidos e reabsorção óssea. Todas as MMPs são partes de sequências de aminoácidos que são substancialmente similares, contêm um íon de zinco essencial à sua atividade enzimática e são inibidas por agentes quelantes. Por outro lado, sua inibição, in vivo, dá-se por meio da expressão e liberação local de inibidores biológicos de atividade de metaloproteinase ou por inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs). As pro-MMP são secretadas por neutrófilos, macrófagos, fibroblastos e células musculares lisas. A clivagem enzimática e de

ativação das mesmas são catalisadas por proteases extracelulares, tais como plasmina, ativadores do plasminogênio e outros MMPs.^{67,68}

A MMP-9, também conhecida como gelatinase b, ou gelatinase de 92 kDA, cliva elastina, colágenos tipos I e IV, e o fibrinogênio. Os níveis de MMP-9 no plasma são aumentados na doença do AAA, e mais RNAm de MMP-9 está presente nos tecidos da aorta aneurismática do que em tecido aórtico normal. Pacientes com AAA de dimensão intermediária (entre 5 e 6,9 cm) têm nível sérico maior do que os pacientes com menores que 4 cm ou maiores que 7 cm, embora não normalizada para o volume de tecido ou celularidade mural. Estes resultados implicam em papel significativo para atividade da MMP-9 na progressão da doença.⁶⁷ Os níveis de MMP-9 consistentemente diminuem após o reparo de AAA, tanto endovascular quanto aberto, e os pacientes com os níveis persistentemente elevados após o reparo endovascular de aneurisma podem estar em maior risco para o desenvolvimento e a manutenção de vazamentos.^{69,70}

Tal como a MMP-9, a MMP-2 cliva elastina e colágeno do tipo IV. As amostras obtidas a partir de aneurismas de aorta demonstram relativamente menor atividade da MMP-2 do que da MMP-9, o que sugere que o aumento da atividade de MMP-2 pode representar um evento precoce na evolução temporal da patogênese da doença aneurismática. Os dados experimentais sugerem que tanto a MMP-2 como MMP-9 necessitam estar presentes e ativas para progressão máxima do aneurisma, implicando, assim, uma relação sinérgica e co-dependente entre, pelo menos, duas das proteases mais ativas relevantes na doença AAA.⁷¹

O esgotamento das células musculares lisas também constitui em característica patológica pronunciada da doença aneurismática avançada. Evidência de apoptose de células musculares lisas, incluindo o aumento da produção de p53, é aumentada em aneurisma, em oposição às amostras de doenças oclusivas da aorta no momento da reparação cirúrgica. Os restantes de células musculares lisas, embora viáveis, exibem a capacidade proliferativa diminuída. O esgotamento do músculo liso também é uma característica sentinela da patogênese do aneurisma experimental. Vários modelos experimentais têm demonstrado a capacidade de maior celularidade da camada média para estabilizar a integridade da aorta e limitar o crescimento do aneurisma.¹²

Em adição à proteólise e perda da celularidade da camada média, a inflamação é uma característica central da fisiopatologia do aneurisma da aorta.

Embora os eventos de iniciação da doença AAA humana permaneçam incertos, evidências experimentais sugerem que os produtos de degradação de elastina, ou peptídeos hidrofílicos liberados de eventos elastolíticos, estimulam e perpetuam a localização de células mononucleares e ativação dentro da parede da aorta. Produtos de degradação da elastina se ligam a proteínas de superfície e estimulam o aumento da quimiotaxia, ativação e fagocitose de células mononucleares. As concentrações séricas de produtos de degradação da elastina são elevadas em pacientes com AAA, e se correlacionam com o risco para progressão da doença.⁷²

Outros eventos precoces de sinalização pró-inflamatórias incluem a produção de superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) por fibroblastos, células aórticas constitutivas e leucócitos que se infiltram. O aumento da produção destas espécies de oxigênio reativo inibe o inibidor do ativador do plasminogênio-1, uma enzima que limita a ativação de MMP, e conduz a um aumento da proteólise e degradação da matriz. Níveis de estresse oxidativo são marcadamente maior em espécimes cirúrgicos AAA do que no tecido aórtico normal.⁷³

As células inflamatórias presentes em espécimes cirúrgicos de AAA incluem macrófagos, linfócitos Th1, Th2 e B. O papel potencial diferencial de células Th1 e Th2 na mediação das doenças da aorta é uma questão de debate vigoroso. Embora exista alguma sobreposição, quase certamente existe evidência experimental recente que sugere que as respostas de citocinas Th2 predominam na doença AAA e que a resposta de citocinas tipo Th1 é característica de doenças vasculares oclusivas ateroscleróticas. Linfócitos Th2 produzem interleucina -4 (IL -4), IL -5 , IL- 8 e IL -10, que em conjunto promovem a angiogênese mural , liberação adicional de citocinas pró-inflamatórias e apoptose de células musculares lisas através da ativação do ligando *fas*. As células T helper com afinidade para o receptor do complexo principal de histocompatibilidade de classe II, que produzem o interferon (IFN)- γ e $CD4^+$, são os linfócitos mais abundantes presentes no tecido do aneurisma aórtico. Ratos deficientes em células T $CD4^+$ são resistentes à formação de AAA, mas a resposta pode ser parcialmente restaurada por tratamento com IFN- γ exógeno, enquanto a formação AAA em ratos deficientes em IFN- γ podem ser reconstituídas por reinfusão de esplenócitos de tipo selvagem.^{74,75}

Muitas respostas inflamatórias em células musculares lisas e macrófagos incluem a ativação da via quinase n-terminal (JNK) também conhecida como proteína-quinase ativada por estresse. A JNK é uma molécula de sinalização

proximal que regula as funções proteolíticas e sintéticas de células musculares lisas vasculares, bem como a produção de citocina pró-inflamatória e a atividade proteolítica dos macrófagos. Produção e ativação de mais de 20 proteínas consideradas relevantes para a patogênese do AAA, incluindo MMP-9 e IL-1a, são reguladas, em certa medida pela atividade da JNK. Expressão da JNK é aumentada em estudos experimentais, bem como amostras de tecidos humanos com AAA.⁷⁶ (Figura 2).⁷⁷

Figura 2 - Diagrama representando a complexa fisiopatologia do desenvolvimento do aneurisma de aorta abdominal ao longo dos anos. LEI, lâmina elástica interna; LEE, lâmina elástica externa; MMPs, metaloproteinases; TIMPs, inibidores teciduais de metaloproteinases.⁷⁷

Fonte: Modificada de Curci JA et al J Clin Invest. 2004;114(2):168-71.

Proteínas classicamente associados com trombose e regulação da cascata de coagulação também podem participar na patogênese do AAA. Em um

estudo, pacientes com aneurismas da aorta tinham uma concentração média três vezes maior da Proteína C ativada e do inibidor da Proteína C do que os controles. Níveis de Proteína C ativada/inibidor também se correlacionam com diâmetro do AAA. A osteopontina, um mediador pluripotencial do metabolismo ósseo, inflamação e calcificação vascular, pode também desempenhar um papel central na doença AAA. As concentrações no soro e no tecido de osteopontina são aumentadas na doença humana, e ratos deficientes em osteopontina demonstram atenuada formação AAA em modelos experimentais.^{78,79}

Os aneurismas também podem desenvolver-se no decurso de doenças autoimunes crônicas. Arterite de células gigantes é uma condição inflamatória necrotizante que promove a degeneração aneurismática ou obliteração luminal das grandes artérias musculares e elásticas. Doença de Takayasu está associada com a doença aneurismática em até 31% dos pacientes, precipita infiltrados inflamatórios crônicos transmuralis e depleção de elastina e de células musculares lisas, semelhante à observada na doença degenerativa do aneurisma. Aneurismas arteriais também podem ocorrer em pacientes com granulomatose de Wegener, poliarterite nodosa, e doença de Kawasaki.⁷⁹

2.1.4 Risco de ruptura

Vários fatores estão associados com ruptura do AAA.⁸⁰ O indicador mais comumente utilizado de ruptura do AAA é o diâmetro máximo do aneurisma (Tabela 2).⁸¹ O diâmetro do AAA significativo na ruptura foi de 5 cm em mulheres e 6 cm em homens. Após o ajuste para idade, diâmetro AAA inicial, IMC e altura, a taxa de ruptura do AAA foi três vezes maior em mulheres do que em homens. Por conseguinte, o limite de diâmetro AAA de intervenção cirúrgica eletiva pode ser menor para as mulheres que para os homens.⁸¹

Tabela 2 - Risco de ruptura anual estimado⁸¹

Diâmetro do AAA (cm)	Risco de ruptura (%/ano)
< 4	0
4 – 5	0.5 – 5
5 – 6	3 – 15
6 – 7	10 – 20
7 – 8	20 – 40
>8	30 – 50

AAA, aneurisma de aorta abdominal

Estudos com biomarcadores e biomecânica foram investigados por sua utilidade em prever a ruptura do AAA, e apesar de programas específicos de elementos finitos serem promissor, essas técnicas ainda não são suficientemente específicas para serem aplicadas na prática clínica.⁸² Os estudos que examinam biomarcadores putativos para a ruptura do AAA são escassos e têm se concentrado em proteínas plasmáticas sensíveis à inflamação, tais como o fibrinogênio e α -1-antitripsina.⁸³ As elevações dos níveis desses marcadores é provável que seja uma consequência da ruptura, em vez de um preditor real de risco.¹

A taxa de crescimento do AAA foi sugerido ter um impacto independente sobre o risco de ruptura. Um crescimento maior que 1 cm por ano tem sido usada como uma indicação independente para cirurgia do AAA.¹ Outros fatores demonstraram ser independentes e significativamente associados com o risco de ruptura do AAA, são eles: sexo feminino (OR 4,5, IC 95% 1,98-10,2), tabagismo (OR 2,1, IC 95% 0,95-4,67), e hipertensão (média da PA > 110 mmHg) (OR 1,04, IC 95% 1,02-1,07).⁵⁵ Mecanismos farmacológicos para reduzir risco de ruptura AAA têm sido explorados. Um trabalho mostrou que os pacientes que tomam inibidores da enzima de conversão da angiotensina são menos propensos a apresentar-se com ruptura de AAA (OR 0,82, 95% IC 0,74-0,9).⁸⁴

2.1.5 Tratamento e seguimento

Uma vez que um aneurisma se estabelece, a história natural é de crescimento gradual. Uma compreensão mais clara da fisiopatologia do AAA levou a ensaios de estratégias farmacológicas para limitar a expansão do aneurisma.

Estudos de β -bloqueadores e antibióticos não conseguiram traduzir os resultados dos estudos em animais para terapias na prática clínica.⁸⁵ No momento, a intervenção cirúrgica é o único tratamento comprovadamente efetivo para prevenir a ruptura do AAA e o óbito relacionado ao aneurisma. Esta intervenção deve ser realizada em pacientes do gênero masculino quando o AAA alcança 5,5 cm de diâmetro e 5 cm em pacientes do gênero feminino, e em todos os aneurismas sintomáticos, independente do diâmetro. O procedimento cirúrgico é uma solução eficaz e durável, mas apesar das melhorias técnicas em cuidados pré-operatórios, a média de mortalidade de 30 dias continua a ser $> 5\%$ em muitos centros. A mortalidade relativamente elevada por reparo aberto levou ao conceito de que um stent revestido de tecido pode ser entregue endoluminalmente para excluir o aneurisma da circulação e evitar a ruptura (correção endovascular do aneurisma).¹

A evidência inicial de benefício com técnica endovascular sobre cirurgia aberta foi fornecida por um único centro de dados de registro. Esses registros descreveram 2,9-5,8% de mortalidade com a técnica eletiva e conduziram a ensaios clínicos randomizados comparando a cirurgia aberta estabelecida com técnicas endovasculares. Três ensaios clínicos randomizados compararam a técnica endovascular com cirurgia aberta em pacientes aptos para cirurgia eletiva. Os ensaios EVAR1, DREAM e OVER têm relatado resultados a médio e longo prazo. Todos os estudos demonstraram um benefício de mortalidade perioperatória precoce para o tratamento endovascular versus cirurgia aberta (EVAR1: 1,7% versus 4,7%, $P = 0,009$, DREAM: 4,2% versus 4,6%, $P = 0,1$, OVER: 0,5% versus 3,0%, $P = 0,004$). Além disso, os pacientes submetidos a técnica endovascular tiveram menos perda de sangue, requereram menos transfusões de sangue e reduziram a permanência em cuidados intensivos do que os pacientes que foram submetidos à cirurgia aberta. No entanto, não foi demonstrada diferença entre as duas opções de tratamento para mortalidade total a longo prazo (> 2 anos) ou mortalidade relacionada com AAA.¹

As taxas de vazamento variam de 0% a 47%, dependendo do tipo de enxerto da endoprótese, seleção do paciente, técnica de implante e morfologia da aorta. A presença de vazamentos pode estar associada a uma maior expansão do aneurisma, que por sua vez pode resultar em ruptura. Dessa forma, torna-se necessário realizar seguimento do paciente submetido à correção endovascular de

AAA por meio de exames tomográficos, com aumento significativo em custos do processo total.^{86,87}

Reparo cirúrgico aberto ou endovascular provavelmente permanecerá o tratamento primário de aneurismas maiores ou sintomáticos para o futuro previsível, mas a pesquisa está em curso para desenvolver terapias mais eficazes para a supressão precoce da doença, bem como as possíveis estratégias farmacológicas para melhorar os resultados em longo prazo após a exclusão endovascular.

2.2 Os microRNAs

Os microRNAs (miRNAs) são moléculas de RNA de cadeia simples de cerca de 17-23 nucleotídeos de comprimento, que funcionam na regulação da expressão do gene, e estão envolvidas em diversos processos celulares, incluindo diferenciação, proliferação e apoptose.⁸⁸ Evolutivamente, sua origem é do reino vegetal como forma de proteção ao material genético de interferências externas. O primeiro pequeno RNA não codificante identificado foi o lin-4, regulador do gene de controle do crescimento larval lin-14, no nematódeo *Caenorhabditis elegans*.⁸⁹ Em 2000 foi identificado o primeiro miRNA em vertebrados, o let-7a.⁹⁰

2.2.1 Biogênese dos miRNAs

O processo de biogênese dos miRNAs é complexo e envolve componentes nucleares e citoplasmáticos.⁹¹ Inicialmente, os miRNAs são produzidos na forma de um transcrito primário longo (pri-miRNA), de várias quilobases de extensão, pela RNA polimerase II. O pri-miRNA é processado, ainda no núcleo, por uma endonuclease RNase III, conhecida como Drosha, juntamente com seu cofator Pasha gerando uma molécula precursora do miRNA maduro denominada pré-miRNA, com cerca de 70 nucleotídeos. Em seguida, o pré-miRNA é transportado ao citoplasma pela exportina-5, que utiliza GTP como cofator.

No citoplasma, o pré-miRNA é processado por outra RNase III, Dicer, gerando um miRNA fita dupla de aproximadamente 22 nucleotídeos. Este produto é incorporado ao complexo multimérico RISC (do inglês, complexo

silenciador induzido por RNA), que inclui as proteínas argonautas como principais componentes. A atividade da helicase faz com que apenas uma das fitas do duplex de miRNA permaneça no complexo RISC para controlar a expressão pós-transcricional de genes-alvo.⁹² (Figura 3).⁹³

Figura 3 – Modelo geral da biogênese do miRNA. mRNA, ácido ribonucleico mensageiro; miRNA, microRNA.⁹³

Fonte: Modificada de Kai ZS et al. Nat Struct Mol Biol. 2010;17(1):5-10.

2.2.2 Mecanismo de ação dos miRNAs

Os miRNAs constituem tradicionalmente uma classe de reguladores negativos da transcrição gênica. Cada miRNA pode, por predições de bioinformática, regular até 300 genes diferentes, de acordo com a complementariedade do miRNA e a sequência do mRNA do gene.⁹⁴ Para os miRNAs são conhecidos 2 mecanismos de ação: degradação do mRNA e inibição da sua tradução. O primeiro mecanismo ocorre quando há pareamento perfeito entre o miRNA e o gene alvo.⁹⁵ ou quando o pareamento imperfeito resulte em deadenilação do mRNA.⁹⁶ O pareamento imperfeito pode interferir na inibição da tradução, através do bloqueio da inicialização, retirada de ribossomos e inibição de alongamento.⁹⁷ O possível papel

do miRNA como regulador positivo da transcrição gênica também já foi demonstrado.⁹⁸ (Figura 4).⁹⁹

Figura 4 - Mecanismo de ação dos miRNAs: (A) clivagem do RNAm. A seta preta indica o local da clivagem; (B) Repressão translacional. RISC, complexo silenciador induzido por RNA.⁹⁹

Fonte: Modificada de Bartel DP Cell. 2004;116(2):281-97.

2.2.3 Os microRNAs e a formação dos aneurisma

Experimentos com células musculares lisas específicas enfatizam a importância dos miRNAs para a homeostase das células musculares lisas vasculares¹⁰⁰ e por isso é provável que os miRNAs também desempenham um papel importante na formação do aneurisma, que é caracterizada pela disfunção das células musculares lisas vasculares. Com efeito, demonstrou-se recentemente que o miRNA-29 desempenha um papel fundamental na formação de aneurismas.¹⁰¹⁻¹⁰³

Estes estudos relatam que a inibição de miRNA-29 reduz a formação de aneurisma em diferentes modelos murinos. Especificamente, a inibição de toda a família miRNA-29 foi mostrada para impedir a angiotensina II a induzir dilatação da aorta de camundongos do tipo selvagem.¹⁰¹ Inibidores de miRNA-29b reduziu a progressão do aneurisma no modelo de infusão de elastase pancreática porcina em camundongos C57BL6 e, embora em menor medida, no modelo de infusão de angiotensina II em camundongos ApoE^{-/-}.¹⁰²

Resultados semelhantes foram demonstrados em modelos genéticos usando ratos com Marfan^(Fbn1C1039G/+), em que o bloqueio miRNA-29b impediu o desenvolvimento de aneurisma e apoptose da parede da aorta.¹⁰³ Além disso, a expressão aumentada do miRNA-29 induziu expansão aneurismática grave em dois modelos murinos diferentes.¹⁰²

Todos estes estudos apontam para o mesmo mecanismo molecular: miRNA-29 regula os níveis de múltiplos alvos de expressão com uma função na matriz extracelular, e a inibição terapêutica do miR-29 melhora a estrutura e a integridade da parede do vaso. Foi anteriormente demonstrado que, no coração, o miRNA-29 atua em diferentes alvos da matriz extracelular, tais como colágeno e elastina.¹⁰⁴ Estes componentes da matriz extracelular são também induzidos após a inibição de miRNA-29 na vasculatura.¹⁰⁵ Curiosamente, a inibição de miRNA-29 também pode ser usado para aumentar a expressão de elastina em células de pacientes haplo insuficientes para a elastina e para aumentar a deposição de elastina em vasos de bioengenharia.⁹² Além de atuar nos componentes estruturais da matriz extracelular, miRNA-29 também tem como alvo a proteína anti-apoptótica MCL-1.¹⁰⁶ e, paradoxalmente, MMP-2. Na verdade, a diminuição da proteína MCL-1 foi encontrada em ratos com Marfan, e a inibição de miRNA-29 evitou apoptose, o que pode contribuir para os efeitos terapêuticos da inibição do miRNA-29.¹⁰³

Fisiologicamente, miRNA-29 provavelmente funciona como um travão endógeno sobre a expressão de proteínas da matriz extracelular, atenuando assim os efeitos pró-fibróticos. Consistentemente, tem sido descrito que a inibição do miRNA-29 in vivo induz a fibrose em vários órgãos, incluindo o coração¹⁰⁴ fígado¹⁰⁷, e nos rins¹⁰⁸, caracterizada pelo aumento da deposição de matriz extracelular.

Nos aneurismas humanos, miRNA-29b (mas não miRNA-29a e miRNA-29c) apresentou expressão elevada em aneurismas torácicos em um estudo, ao passo que não foi regulado em outro estudo e apresentou baixa expressão em aneurismas de aorta abdominal. Um recente relatório adicional descreve a associação de níveis alterados miRNA-29 com formação de aneurisma em aneurismas torácicos humanos¹⁰⁹, e utilizando uma abordagem de bioinformática, miRNA-29 foi proposta para contribuir para a formação de aneurisma.¹¹⁰

Além de miRNA-29, outros miRNAs têm sido descritos para desempenhar um papel na patogenia dos aneurismas. Um dos primeiros relatórios aludindo a um papel de miRNAs para a formação dos aneurismas descreve o mecanismo pelo qual miRNA-143/145 regula a função de células musculares lisas. Os autores mostraram que em aneurismas torácicos humanos, miRNA-143 e miRNA-145 foram expressos em níveis mais baixos em comparação com aorta torácica saudáveis, que se correlacionou com a função de células musculares lisas.

Outro estudo que aponta para o papel de miRNA-143/145 na manutenção da função de células musculares lisas descreve a eliminação específica de células musculares lisas em ratos que conduzem a disfunção contráctil das células musculares lisas que pode ser resgatada pela restauração do miRNA-143/145.¹⁰⁰ Se há restauração de miRNA-143/145, a formação de aneurisma não foi relatada. Outro regulador principal do fenótipo das células musculares lisas vasculares, o miRNA-21, revelou inibir a formação de aneurisma em ratos. A superexpressão miRNA-21 protegia contra a progressão do aneurisma, enquanto que a inibição de miRNA-21 aumentou ainda mais a formação de aneurisma em curso.¹¹¹

Diante do exposto, é possível afirmar que a formação de um aneurisma é um processo multifatorial complexo, envolvendo a remodelação destrutiva do tecido conjuntivo em todo o segmento afetado da parede da aorta. Este processo envolve inflamação crônica local, diminuição no número de células do músculo liso da túnica média, e fragmentação da matriz extracelular da aorta. Durante os últimos anos, um esforço considerável tem sido dedicado à elucidação dos mecanismos moleculares e vias de formação dos AAA, com trabalhos recentes focando o papel dos miRNAs. Ao compreender a fisiopatologia da formação do aneurisma, tratamentos específicos com drogas podem ser desenvolvidos para interromper o crescimento do mesmo ou para evitar sua ruptura. O estudo dos miRNAs e sua modulação vai acrescentar à nossa compreensão da formação do AAA , e pode resultar em potenciais alvos terapêuticos.

3. OBJETIVOS

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a expressão dos níveis plasmáticos dos miR-191 e miR-455-3p em pacientes com aneurisma de aorta abdominal antes e após o tratamento endovascular.

3.2 Objetivos específicos

- Quantificação sérica da expressão dos miR-191 e miR-455-3p;
- Avaliar a resposta da concentração sérica dos miR-191 e miR-455-3p à correção endovascular de aneurisma de aorta abdominal;
- Correlacionar a expressão sérica dos miR-191 e miR-455-3p com os diversos materiais de endoproteses existentes;
- Correlacionar o diâmetro do AAA com a expressão dos miRNAs estudados.

4. POPULAÇÃO E MÉTODOS

4 POPULAÇÃO E MÉTODOS

4.1 População

Neste estudo, foram incluídos 41 pacientes (independente do grupo étnico, idade e sexo) que foram submetidos à correção endovascular de AAA no período de janeiro de 2014 a novembro de 2015 selecionados a partir de casos atendidos no Ambulatório de Cirurgia Vascular e Endovascular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP). As dosagem dos miRNAs a serem estudados foram realizadas da seguinte forma: A-dosagem sérica pré-operatória (24 horas antes do procedimento cirúrgico), através de uma veia periférica e B-dosagem sérica através de veia periférica com seis meses de pós-operatório. Estes pacientes realizaram exames de vigilância (angiografia de aorta total por tomografia computadorizada ou por ressonância nuclear magnética) em três momentos: 1, 6 e 12 meses após o procedimento cirúrgico, objetivando a investigação de vazamentos e/ou alterações na morfometria do saco aneurismático.

Cabe ressaltar, que tais exames são realizados de rotina no controle pós-operatório de todos os pacientes submetidos à correção endovascular de AAA.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP de acordo com o n° 3240/2014.

4.1.1 Critério de inclusão

Foram incluídos no presente estudo pacientes com diagnóstico de aneurisma de aorta abdominal infrarrenal/ilíacas elegíveis para correção endovascular padrão, respeitando as indicações de tratamento vigentes na atualidade - em homens diâmetro $\geq 5,5\text{cm}$; em mulheres diâmetro $\geq 5,0\text{cm}$; crescimento $\geq 1\text{cm}$ em 1 ano ou $\geq 0,5\text{ cm}$ em 6 meses, independente do sexo; e aneurismas de ílica comum com diâmetro $\geq 3\text{cm}$, independente do sexo.¹¹² Todos os pacientes foram recrutados do Ambulatório de Cirurgia Vascular e Endovascular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP) após autorização por termo de consentimento livre esclarecido (Anexo A).

4.1.2 Critérios de exclusão

Pacientes com aneurisma roto; pacientes com aneurisma em qualquer outro território arterial que não a aorta infrarrenal/ilíacas; pacientes que, por qualquer motivo, não completaram o tempo total de seguimento de seis meses; pacientes que apresentaram qualquer tipo de vazamento no seguimento de seis meses; Pacientes com doenças subjacentes (psicose medicamentosa, meningites, acidente vascular encefálico, esclerose múltipla, tumores e doenças autoimunes) e doentes que se recusaram a participar do estudo.

4.2 Local do estudo

As dosagens dos MicroRNAs foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP).

As coletas de sangue foram realizadas na Unidade de Pesquisa Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (UPC-HC-FMRP).

4.3 Seleção de miRNA

A seleção dos miRNAs estudados foi obtida mediante análise de estudo¹¹³ que descreveu a hiperexpressão de miRNAs no soro de pacientes com aneurisma de aorta abdominal infrarrenal em 2015 com resultados normalizados para o soro de pacientes não portadores de aneurisma. Esse estudo identificou 151 miRNAs com expressão alterada, sendo selecionado para o presente estudo os miRNAs 191 e o 455-3p que apresentavam-se hiperexpressos em mais de 8 vezes a expressão em pacientes não portadores de aneurisma.

4.4 Previsão de alvos e análise de enriquecimento de via

O servidor miRWalk¹¹⁴ foi utilizado para identificar alvos previstos dos miRNA-191 e miRNA-455-3p relacionados com a fisiopatologia do AAA para enriquecimento de vias fisiopatológicas associada ao AAA.

4.5 Método

4.5.1 Descrição dos dispositivos

Foram utilizadas seis marcas de endopróteses diferentes: AFX^{TM} (n=9) endoprótese que apresenta esqueleto metálico de cromo-cobalto revestido com e-PTFE, fixação anatômica (fixação da bifurcação da endoprótese na bifurcação da aorta); GORE® EXCLUDER® (n=7) endoprótese que apresenta esqueleto metálico de nitinol revestido com e-PTFE, bimodular com fixação proximal passiva (sem farpas ou ganchos de fixação direta à parede da aorta); MEDTRONIC® ENDURANTI® (n=7) endoprótese com esqueleto metálico de nitinol revestido com poliéster, bimodular com fixação proximal ativa (com farpas de fixação direta à parede da aorta); HERCULES^{TM} (n=4) endoprótese que apresenta esqueleto metálico revestido com poliéster, bimodular com fixação proximal passiva; COOK® ZENITH® (n=2) endoprótese que apresenta esqueleto de aço inoxidável revestido com poliéster, trimodular com fixação proximal ativa; ANACONDA^{TM} (n=1) endoprótese que apresenta esqueleto de nitinol revestida com poliéster, reposicionável, trimodular com fixação proximal ativa.

A variedade de endopróteses usadas justifica-se pela variabilidade da anatomia de cada aneurisma, sendo selecionado a endoprótese mais adequada para cada caso.

4.4.2 Realização do procedimento e liberação do dispositivo

Os procedimentos foram realizados por equipe treinada em cirurgia endovascular, da Divisão de Cirurgia Vascular e Endovascular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Os procedimentos foram

realizados em centro cirúrgico, utilizando-se arco cirúrgico GE/OEC 9900 ELITE sob anestesia geral, usando-se a via de acesso femoral bilateral para entrega e liberação dos dispositivos. Administrou-se heparina não fracionada (5.000 unidades) no intra-operatório, logo após a colocação do introdutor.

4.4.3 Acompanhamento pós-operatório

Todos os pacientes foram acompanhados no mesmo ambulatório, com retornos agendados para um mês, seis meses e doze meses (sendo que o paciente teve livre acesso ao ambulatório se necessário). Nas consultas de retorno, foram submetidos a exame clínico minucioso, realizado por um dos integrantes da equipe, cirurgião vascular capacitado. Esses pacientes realizaram exames de vigilância (angiografia de aorta total por tomografia computadorizada ou por ressonância nuclear magnética) em três momentos: 1, 6 e 12 meses após o procedimento cirúrgico, objetivando a investigação de vazamentos e/ou alterações na morfometria do saco aneurismático.

4.4.4 Coleta do Material

Os voluntários da pesquisa foram submetidos a uma ficha de entrevista clínica e termo de consentimento livre esclarecido (Anexos A) previamente à coleta da amostra de sangue. Após o preenchimento dos critérios de inclusão e exclusão, foram submetidos à coleta de sangue através de veia periférica (30mL) que foram distribuídos em alíquotas:

1. PCR (Plasma) – tubo com tampa roxa, contendo EDTA, o sangue foi centrifugado a 5200 rpm por 10 minutos a 40C, então foi separado em tubo eppendorf (1 alíquota de mais ou menos 1 mL) e congelado a -700C;
2. MicroRNAs – tubo com tampa roxa, contendo EDTA, sangue total congelado a -80⁰C. Todo o material coletado foi armazenado até o momento das análises. A segunda coleta, após 6 meses do tratamento, foi realizada seguindo os mesmos parâmetros, durante a consulta de retorno.

4.4.5 Análise laboratorial

4.4.5.1 Proteína C reativa

Foi utilizado o método imunoturbidimétrico com látex. Proteína C Reativa reage com o anticorpo específico formando imunocomplexos insolúveis. A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de PCR na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

4.4.5.2 microRNAs

As amostras de sangue foram coletadas em tubos com EDTA em quantidade aproximada de 4 mL. O sangue total foi transferido para um tubo falcon estéril e livre de RNase de 50 mL e a esse foi acrescentado 20 mL de tampão para lise de glóbulos vermelhos. Após manter 15 min em gelo, centrifugou-se novamente por 10 min a 3000 rpm. O sobrenadante foi descartado, obtendo-se o pellet que foi ressuspenso em 250 mL de PBS (*phosphate-buffered saline*) e 750 mL de Trizol (Invitrogen, EUA) e transferido para um tubo *ependorf* de 1,5 mL. Acrescentou-se 200µl de clorofórmio, agitando-se vigorosamente por 15 segundos. A solução final foi centrifugada a 4°C por 15 minutos a 14.000 rpm e a fase aquosa (superior) de cada *ependorf* foi transferida para novos tubos. O RNA foi precipitado com 500µl de álcool isopropílico 100% e permaneceu a -80°C por pelo menos 12 horas.

Após esse período, a amostra foi centrifugada a 4°C por 15 minutos a 14.000 rpm, desprezando-se o sobrenadante a seguir. Foi acrescentado 1000µl de etanol 70% seguido de centrifugação refrigerada por 15 minutos a 14.000 rpm, novamente desprezando-se o sobrenadante. O pellet foi seco por inversão e permanência em temperatura ambiente por alguns minutos. A seguir a amostra foi ressuspenso com água tratada com DEPC com volume final de 15 mL. Esse material foi, em seguida, aliquotado, identificado e armazenado a -80°C.

Foi utilizado o equipamento *Thermo Scientific NanoDrop 2000*, um espectrofotômetro que fornece a concentração de RNA em uma amostra de 1 a 2µl. Além da concentração, este aparelho nos fornece valores de razão referentes à pureza das amostras (razão 260/280).

4.4.5.2.1 Síntese de DNA complementar (cDNA) para miRNA

Foi realizada a transcrição reversa utilizando o kit comercial High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems). Para a síntese do cDNA do miRNA para cada 5ng de RNA, foi adicionado 0,75µl de RT Buffer, 0,075µl de dNTP's, 1,5µl de Primers específicos (miRNA ou controle endógeno) e 0,5µl da enzima MultiScribe™, 0,094µl de RNase out (1.9U), completando com água DEPC para um volume final de 7,5µl. As amostras foram levadas para um termociclador por 30 min a 16°C, 30 min a 42°C, 5 min a 85°C e resfriadas a 4°C, posteriormente as amostras foram armazenadas em freezer -20°C. Antes de utilizar o cDNA sintetizado na reação de PCR em tempo real, o mesmo foi diluído 1:4 em água DEPC.

4.4.5.2.2 RQ-PCR do microRNA

O método de PCR em tempo real foi utilizado para a verificação da expressão diferencial do miRNA. Para a análise quantitativa da expressão, foram utilizados os sistemas disponíveis comercialmente Taq Man Assay-on-demand (Applied Biosystems).

Considerando-se as diferenças causadas por quantidades distintas de cDNA utilizadas nas reações, os valores de *Threshold cycle* (Ct) determinados para as diferentes amostras, foram normalizados. O Ct determinado para uma amostra (para um determinado miRNA) foi subtraído do Ct determinado do *house-keeping* (neste caso o U6) da mesma amostra, originando o chamado ΔCt . Assim, o número de ciclos que separa o ΔCt de uma amostra do ΔCt do calibrador, neste caso utilizou a média das amostras do grupo controle, tendo como resultado $\Delta\Delta Ct$. Esta diferença, em termos de nível de expressão gênica relativa, é obtida de forma aproximada, aplicando a fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

As reações de amplificação por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) quantitativo em tempo real (RQ-PCR) foram realizadas em duplicata numa placa de 96 poços, utilizando o reagente Taqman Master Mix (Applied Biosystems, EUA). A reação teve um volume final de 10µl, utilizando 5µl do reagente específico Taqman Master Mix, 0,5µl de cada sonda específica e 4,5µl de cDNA diluído. Um aparelho de detecção de PCR em tempo real 7500 Fast Real Time PCR System

(Applied Biosystems) foi utilizado juntamente com o software 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems) para a obtenção dos valores de Ct.

As condições padrão de amplificação foram 95°C por 10 minutos, seguidos por 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto (anelamento e extensão simultânea). Os dados foram então exportados para planilhas do software Excel para cálculo dos valores de $2^{-\Delta\Delta CT}$. Foi estabelecido um *threshold* de 0,1 para o endógeno e também para os miRs estudados e o desvio entre as amostras considerado foi um valor de até 0,5.

4.4.6 Morfometria do aneurisma

Foi utilizado o programa Osirix 32-bit para realização das medidas do aneurisma as quais foram plotadas em diagrama confeccionado previamente (Anexo B). As aferições foram realizadas em dois momentos (pré-operatório e 6 meses após o procedimento cirúrgico).

4.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do programa GraphPad Prism versão 6.0 (GraphPad Software Inc., São Diego, Califórnia, EUA). O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a distribuição normal de dados. Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio-padrão. Para a comparação das características demográficas e variáveis clínicas dos subgrupos estudados foi utilizado, para as variáveis nominais, o teste exato de Fisher e, para a única variável contínua (idade), o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para comparar as variáveis contínuas, o t-test para grupos independentes ou emparelhado t-test foi utilizado depois de considerar a presença ou ausência de homocedasticidade; os testes não paramétricos de Mann-Whitney e Wilcoxon foram utilizados para variáveis com distribuições não normais. Além disso, foi realizada a correlação por postos, calculando-se o coeficiente de correlação de Spearman (r). A hipótese de nulidade foi rejeitada quando a possibilidade de ocorrência casual das diferenças observadas não exceder 5% ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Casuística

Foram recrutados 41 pacientes para o estudo. Onze pacientes foram excluídos do estudo. Os critérios de exclusão foram os seguintes:

- Infecção do sítio cirúrgico (n = 3 pacientes);
- oclusão accidental de artéria renal (n = 1 paciente);
- neoplasia (n = 1 paciente);
- vazamento tipo II (n = 3 pacientes);
- perda de seguimento (n = 2 pacientes);
- óbito (n = 1 paciente).

Portanto, 30 pacientes tratados completaram o estudo. A maioria dos pacientes eram idosos do sexo masculino e tabagistas (Tabela 3). Todos os procedimentos foram realizados sob anestesia geral não havendo necessidade de transfusão em nenhum dos casos (Tabela 4).

Tabela 3 - Características demográficas e clínicas dos pacientes com aneurisma de aorta abdominal.

Total (n = 30)		
Média ± DV		
Idade, anos	68,6 ± 1,7	
Diâmetro do aneurisma, cm	5,62 ± 0,2	
	Absoluto	%
Sexo, homem	26	86,67
Etnia, caucasiano	21	70
Tabagismo	26	86,67
Hipertensão	20	66,67
DPOC	1	3,33
DAC	1	3,33
DAOP	5	16,67
Dislipidemia	8	26,67
AVCi	1	3,33
DM	5	16,67

DPOC, doença pulmonar obstrutiva crônica; DAC, doença arterial coronariana; DAOP, doença arterial obstrutiva periférica; AVCi, acidente vascular cerebral isquêmico; DM, diabetes melitus; DV, desvio padrão.

Tabela 4 - Características perioperatórias.

	Total (n=30)
Anestesia geral	100%
	Média ± DV
Perda de sangue, ml	406,7 ± 45,79
Volume de contraste, ml	100,9 ± 9,69
Radiação, mGy	450,2 ± 94,18
Tempo cirúrgico, minutos	146,2 ± 11,14
Dias de internação, dias	3,2 ± 0,16

DV, desvio padrão

5.2 PCR qualitativo de miRNA plasmático no pré-operatório e após 6 meses de pós-operatório

Os miR-191 (2,93x; IC 95%, -0,99 para -0,28; $p=0,0001$) e miR-455-3p (3,97x; IC 95%, -1,21 para -0,21; $p=0,0005$) apresentaram uma redução de sua expressão após seis meses de pós-operatório (Gráficos 1 e 2).

Gráfico 1 - Expressão do miR-191 em dois momentos: pré-operatório e no seguimento de seis meses de pós-operatório. ($p=0,0001$).

Elaborado pelo autor

Gráfico 2 - Expressão do miR-455-3p em dois momentos: pré-operatório e no seguimento de seis meses de pós-operatório. ($p=0,0005$).

Elaborado pelo autor

5.3 PCR qualitativo de miRNA plasmático de acordo com modo de fixação da endoprótese

Em relação ao modo de fixação da endoprótese, foram utilizadas 20 endopróteses com fixação passiva e 10 com fixação ativa. A tabela 5 mostra as características demográficas e clínicas entre os grupos comparados, não havendo diferenças estatisticamente significativas entre eles.

Tabela 5 - Características demográficas e clínicas dos pacientes de acordo com o tipo de fixação da endoprótese.

	Ativa (n = 10)	Passiva (n = 20)	
	Média ± DV	Média ± DV	p
Idade, anos	69,21 ± 2,83	68,30 ± 2,23	0,75
Diâmetro do aneurisma, cm	6,03 ± 0,23	5,40 ± 0,28	0,11
	%	%	p
Sexo, homem	100	80	0,27
Etnia, caucasiano	80	62,50	0,67
Tabagismo	80	90	0,58
Hipertensão	80	60	0,41
DPOC	0	5	0,99
DAC	0	5	0,99
DAOP	10	20	0,64
Dislipidemia	20	25	0,99
AVCi	0	5	0,99
DM	20	10	0,58

DPOC, doença pulmonar obstrutiva crônica; DAC, doença arterial coronariana; DAOP, doença arterial obstrutiva periférica; AVCi, acidente vascular cerebral isquêmico; DM, diabetes melitus; DV, desvio padrão.

Os miR-191 (IC 95%, -0,43 para 0,06; p=0,10) e miR-455-3p (IC 95%, -0,32 para 0,15; p=0,56) não sofreram influencia em suas expressões devido ao tipo de fixação da endoprótese (Gráficos 3 e 4).

Gráfico 3 - Expressão do miR-191 em relação ao tipo de fixação da endoprótese após seis meses do implante. (p=0,1).

Elaborado pelo autor

Gráfico 4 - Expressão do miR-455-3p em relação ao tipo de fixação da endoprótese após seis meses do implante. ($p=0,56$).

Elaborado pelo autor

5.4 PCR qualitativo de miRNA plasmático de acordo com o material da endoprótese

Em relação ao material das endopróteses, foram utilizadas 14 endopróteses de poliéster e 16 de e-PTFE. A Tabela 6 mostra as características demográficas e clínicas entre os grupos comparados, onde nota-se que há uma diferença estatisticamente significativa em relação ao diâmetro máximo do aneurisma.

Tabela 6 - Características demográficas e clínicas dos pacientes de acordo com o material da endoprótese.

	Poliéster (n = 14)	e-PTFE (n = 16)	
	Média ± DV	Média ± DV	p
Idade, anos	69,14 ± 2,26	68,13 ± 2,65	0,41
Diâmetro do aneurisma, cm	6,0 ± 0,19	5,27 ± 0,33	0,03*
	%	%	p
Sexo, homem	100	75,00	0,10
Etnia, caucasiano	78,57	62,50	0,43
Tabagismo	78,57	93,75	0,31
Hipertensão	85,71	50,00	0,057
DPOC	0,00	6,25	0,99
DAC	0,00	6,25	0,99
DAOP	14,29	18,75	0,99
Dislipidemia	35,71	18,75	0,41
AVCi	0,00	6,25	0,99
DM	14,29	18,75	0,99

DPOC, doença pulmonar obstrutiva crônica; DAC, doença arterial coronariana; DAOP, doença arterial obstrutiva periférica; AVCi, acidente vascular cerebral isquêmico; DM, diabetes melitus; DV, desvio padrão.

Os miR-191 (IC 95%, -0,31 para 0,07; p=0,18) e miR-455-3p (IC 95%, -0,26 para 0,11; p=0,41) não sofreram influência em suas expressões devido ao material constituinte das endopróteses (Gráficos 5 e 6).

Gráfico 5 - Expressão do miR-191 em relação ao tipo de material da endoprótese após seis meses do implante. (p=0,18).

Elaborado pelo autor

Gráfico 6 - Expressão do miR-455-3p em relação ao tipo de material da endoprótese após seis meses do implante. ($p=0,41$).

Elaborado pelo autor

5.5 PCR qualitativo de miRNA plasmático de acordo com a morfometria do aneurisma

Quanto à morfometria dos aneurismas tratados todos eram fusiformes. A associação com aneurismas de artérias ilíacas comuns esteve presente em 12 casos (40%), sendo bilateral em quatro casos (13,33%). O diâmetro médio dos aneurismas apresentou redução significativa ao final de seis meses de segmento (IC 95%, -1,21 para -0,07; $p=0,03$)(Figura 5).

Figura 5 - Imagens da morfometria do AAA em paciente do sexo feminino. **A**: morfometria do aneurisma pré-operatória com diâmetro de 5,32 cm e volume de 117,44 cm³. **B**: morfometria do aneurisma após 6 meses de pós-operatório com diâmetro de 4,18 e volume de 86,33 cm³. Nota-se redução significativa tanto do diâmetro quanto do volume após intervenção.

Elaborada pelo autor

As expressões dos miR-191 ($r = -0,06$; IC 95%, $-0,37$ para $0,39$; $p = 0,95$) e miR-455-3p ($r = -0,11$; IC 95%, $-0,34$ para $0,46$; $p = 0,73$) não apresentaram correlação com o diâmetro dos aneurismas (Gráficos 7 e 8). Além disso, a presença concomitante de aneurisma de artéria ilíaca comum não alterou as expressões dos miR-191 (IC 95%, $-0,39$ para $0,97$; $p = 0,46$) e miR-455-3p (IC 95%, $-0,26$ para $1,29$; $p = 0,16$).

Gráfico 7- Curva de dispersão do miR-191.

Elaborado pelo autor

Gráfico 8 - Curva de dispersão do miR-455-3p.

Elaborado pelo autor

5.6 Interações entre os miRNAs 191 e 455-3p e os genes relacionados com o aneurisma da aorta abdominal

O servidor miRWalk¹¹⁴ foi utilizado para identificar interações previstas entre os biomarcadores miR-191, miR-455-3p e biomarcadores relacionados com AAA (MMPs, TIMP-1, senescência (SATB1 e CDK6), IL-6, TNF- α , osteoprotegerina, osteopontina, IFN- γ , molécula de adesão intercelular (ICAM)-1,

molécula de adesão celular vascular (VCAM)-1, D-dímero, α 1-antitripsina (SERPINA1), fibrinogênio, triglicerídeos, lipoproteína a, apoproteína A, lipoproteína de alta densidade, proteína DAB2 interativa (DAB2IP), Proteína ligada ao receptor de lipoproteína de baixa densidade (LRP) 1, sortilina 1, receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLR), enzima conversora de angiotensina, metilenotetrahydrofolato redutase (MTHFR)).

Várias interações previstas foram identificadas com miR-191 (SATB1, CDK6, VCAM1, ICAM1, TIMP1, MMP-8, 14, 16, 23b, 24, 25, IL-6, TNF- α , DAB2IP, SERPINA1, LDLR, IL-16) e miR-455-3p (ICAM1, TIMP1, MMP-3, 11, 12, 14, 15, 19, 23b, 24, 26, TNF- α , DAB2IP, SERPINA1, LDLR, IL-16, MTHFR). Houve também várias interações previstas comuns aos miR-191 e miR-455-3p (ICAM1, TIMP1, MMP-14, 23b, 24, TNF- α , DAB2IP, SERPINA1, LDLR, IL-16)(Figura 6).

Figura 6 - Alvos previsto para os miRNAs 191 e 455-3p.

Elaborada pelo autor

6. DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A literatura existente sobre miRNAs e AAA ainda é muito escassa, e a importância biológica não é clara. Os miRNAs podem mediar a repressão translacional, degradação, bem como estimular a expressão do gene por ligação ao RNAm alvo, e cada miRNA pode regular centenas de alvos, sugerindo que eles podem desempenhar um papel importante na maioria das vias de sinalização biológicas.¹¹⁵ Os miRNAs representam uma nova camada de regulação precisa para a expressão de sequências específicas de genes. A importância das vias reguladoras miRNAs também é reforçada por uma impressionante lista de doenças que se verificou estar associada à expressão miRNA anormal. Há evidências que muitas doenças relacionadas com a idade, inclusive AAA, estão associadas a um controle diminuído da sinalização celular, reparação do DNA, respostas ao estresse oxidativo e apoptose.⁶ Assim, o conhecimento de que miRNAs estão envolvidos em doenças poderia nos dar insights detalhados sobre os mecanismos, e por sua vez ser usado como biomarcadores ou alvos terapêuticos.

Em relação aos paciente portadores de AAA duas questões de importância clínica se impõe: o seguimento de pacientes submetidos a correção endovascular de aneurisma de aorta para o diagnóstico do surgimento de vazamentos e qual seria a melhor propedêutica para os pequenos aneurismas de aorta. Até o momento, o diagnóstico dos vazamentos após correção endovascular de aneurisma de aorta depende quase que exclusivamente de exames de tomografia computadorizada múltiplos durante o acompanhamento e de avaliação angiográfica adicional para vazamentos considerados relevantes, com custos de gestão clínica adicionais e um potencial risco de lesão renal contraste-induzida.¹¹⁶⁻¹¹⁸

A taxa de vazamento varia de 0% a 47%, dependendo do tipo de enxerto de stent, seleção do paciente, técnica de implantação e morfologia aórtica.^{86,87,117} A presença de vazamento pode estar associada com expansão adicional do aneurisma, que por sua vez pode resultar em ruptura.¹¹⁹ Por isso, é necessário o segmento dos pacientes submetidos à correção endovascular de AAA para o diagnósticos de vazamentos por exames tomográficos seriados, com um aumento significativo dos custos do processo total. Além disso, a importância biológica dos vazamentos ainda não é conhecida, e a tomografia computadorizada

não está ajudando na tomada de decisão clínica, o que exigirá tratamento adicional.⁸⁷

Por outro lado, esforços para limitar a taxa de mortalidade por ruptura de AAA dependem da detecção precoce e reparação eletiva. A indicação para o reparo eletivo é baseada principalmente no diâmetro máximo do AAA acima de 5,5 cm.^{120,121} Por conseguinte, o benefício do diagnóstico precoce de AAA por rastreio de ultrassonografias abdominais é limitado porque a maioria dos AAA são demasiado pequenos para intervenção no momento do diagnóstico. Atualmente não há nenhum tratamento médico estabelecido para os pequenos AAA, no entanto, eles podem romper ocasionalmente. Se pudéssemos prever quais AAA pequenos terão maior probabilidade de exigir intervenção posterior, talvez a intervenção possa ser oferecida mais cedo, com menos morbidade e mortalidade, porque a idade é um dos principais fatores de risco e as rupturas fatais durante a vigilância poderiam ser limitadas.⁵⁴ No entanto, dois grandes ensaios randomizados mostraram estratégia de reparação precoce AAA pareceu ser ineficiente.^{120,122} Além disso, apenas metade daqueles grandes AAA que operamos teriam rompido se não fossem tratados. Consequentemente, é desejável um modelo de risco melhorado, ao qual os biomarcadores circulantes podem contribuir com informações.

Quatro loci genéticos foram identificados através de estudos de associação de genoma (DAB2IP, LRP1, SORT1 e LDLR)¹²³⁻¹²⁶, e três polimorfismos de um único nucleotídeo candidatos foram identificados como associados com AAA em uma metanálise (MMP-9, ACE, MTHFR).¹²⁷ Além disso, identificou-se uma ampla gama de biomarcadores potenciais para AAA, com duas metanálises recentes^{128, 129} relatando uma associação significativa entre AAA e 18 proteínas MMP-2, MMP-9, TIMP-1, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF) α , osteoprotegerina, osteopontina, IFN, ICAM-1, VCAM-1, D-dímero, α 1-antitripsina, fibrinogênio, triglicerídeos, lipoproteína (a), apolipoproteína A e lipoproteína de alta densidade. A especificidade e sensibilidade destes biomarcadores é, contudo, fraca com todas as características do operador repórter abaixo de 0,7; Portanto, uma abordagem diferente deve ser tomada para entender melhor a fisiopatologia subjacente do AAA.

No presente estudo, os miR-191 e miR-455-3p foram identificados no sangue total de pacientes com AAA e apresentaram redução significativa de suas expressões após tratamento endovascular. Adicionalmente, as expressões dos miR-191 e miR-455-3p não apresentaram correlação com o diâmetro do aneurisma. A

análise da influência dos diversos tipos de dispositivos utilizados para o tratamento endovascular dos AAA, não mostrou diferenças significativas nas expressões dos miR-191 e miR-455-3p.

Comparando-se as características clínicas entre os subgrupos poliéster e e-PTFE observa-se que os diâmetros dos aneurismas no grupo e-PTFE é significativamente menor que a do subgrupo poliéster. Este fato se justifica pela presença de todos os pacientes do sexo feminino comporem o subgrupo e-PTFE já que o diâmetro para indicação de intervenção em mulheres é menor que em homens. Em relação as demais características clínicas e demográficas, não foram constatadas diferenças entre os diversos fatores de risco cardiovascular.

Zhang *et al.*, 2015¹¹³ realizaram estudo com amostras de plasma agrupadas com 10 pacientes portadores de AAA e 10 controles saudáveis que foram perfiladas por microarray. Os miRNAs diferencialmente expressos foram validados numa coorte separada de 120 indivíduos, incluindo 60 pacientes com AAA e 60 controles normais. O estudo de perfil inicial identificou 151 miRNAs hiperexpressos acima de 2 vezes o controle. Entre eles, três miRNAs, miR-191-3p, miR-455-3p e miR-1281 exibiram o maior aumento no grupo de pacientes (expressão > 5 vezes). Esses miRNAs apresentaram alta sensibilidade e especificidade para pacientes com AAA, sugerindo que eles podem atuar como biomarcadores promissores para o diagnóstico precoce de AAA. Em comparação com os nossos resultados, obtivemos hiperexpressão para os miR-191 e miR-455-3p, porém com níveis de expressão menores (> 1 vez). Esta diferença entre estudos pode ser atribuída ao número de pacientes, mas também a diferenças entre as populações estudadas (étnicas, geográficas, econômicas, etc.). A expressão gênica pode variar entre populações normais.

Em estudo de validação em amostras de sangue total Stather *et al.*, 2015¹³⁰ revelou que três miRNAs estavam significativamente hipoexpressos (let-7e, miR-15a, miR-196b) e um miRNA (miR-411) hiperexpresso em pacientes com AAA em comparação com controles. No entanto, não foram encontradas diferenças na expressão de miRNA entre amostras pré-operatórias e pós-operatórias dos mesmos pacientes e os níveis de let-7e foram fracamente correlacionados com o diâmetro do aneurisma. Em nossa casuística, apesar de termos estudados miRNAs (miR-191 e miR-455-3p) diferentes, a intervenção resultou em diminuição significativa da expressão dos miRNAs estudados após 6 meses de pós-operatório o que sugere

que a exclusão do saco aneurismático altera as expressões dos miRNAs. Todavia, nossos achados partilham a inexistência ou fraca correlação dos miRNAs com o diâmetro do aneurisma.

Os miR-455-3p e miR-191 possuem vários genes alvos. Uma das funções importantes das células endoteliais é a manutenção e reparação da parede vascular. Nosso estudo sugere uma propriedade reparadora limitada do tecido aneurismático com posterior melhora após tratamento endovascular porque o miR-191 estava hiperexpresso e reduz significativamente seus níveis após o tratamento endovascular. Verificou-se que o mesmo miR-191 era antiproliferativo e antireplicativo nos queratinócitos humanos primários senescentes.¹³¹ A hiperexpressão do miR-191 foi suficiente para induzir a senescência, e os transcritos SATB1 e CDK6 foram os dois alvos diretos para a senescência neurosensorial e a parada do ciclo celular.¹³² O miR-191 elevado no soro de pacientes com AAA sugere uma proliferação celular e síntese de matriz extracelular limitadas. Consequentemente, a senescência das células endoteliais vasculares em resposta a miR-191 pode resultar numa proliferação defeituosa.

Outro alvo importante do miR-191 relacionado com a fisiopatologia do AAA é a MMP-8. As metaloproteinases de matriz (MMPs) são um grupo de enzimas produzidas por uma vasta gama de tipos de células, incluindo os fibroblastos, células do músculo liso e células inflamatórias encontradas na parede do aneurisma. As MMPs podem degradar os componentes da matriz extracelular, incluindo a elastina e o colágeno, e têm sido implicadas na proteólise que acompanha a expansão do aneurisma. A MMP-8 está aumentada no local de ruptura do aneurisma.¹³³ O corolário, é claro, é que a inibição da atividade de MMP-8 poderia potencialmente diminuir o risco de ruptura de aneurisma, sendo isso possível através da regulação do miRNA-191.

O miR-455-3p possui como alvo importante relacionado com a fisiopatologia do AAA a MMP-3. A família das MMPs tem sido implicada na degradação da parede da aorta. No entanto, as MMPs são também intimamente envolvidas com o desenvolvimento e ruptura de placas ateroscleróticas. É possível que as diferenças na atividade das MMPs pode determinar se uma aorta aterosclerótica irá desenvolver uma doença aneurismática ou estenosante. A MMP-3 foi descrita para ser específica da parede da aorta em pacientes com aneurisma em relação a pacientes com oclusão aórtica, apresentando um aumento significativo de

40 vezes na expressão média nas amostras de aortas aneurismáticas sobre as amostras aórticas oclusivas. Além disso, uma diminuição nos níveis plasmáticos da MMP-3 indica uma exclusão do aneurisma bem sucedida após tratamento endovascular.¹³⁴ Demonstrou-se que há uma diminuição contínua da MMP-3 após a exclusão com êxito do AAA até os 6 meses de seguimento. Adicionalmente, um aumento nos níveis de MMP-3 após correção endovascular, representa um marcador confiável de exclusão ineficaz do aneurisma.⁷⁰ No presente trabalho a expressão do miR-455-3p apresentou redução significativa após 6 meses de exclusão do AAA reforçando a via regulatória miR-455-3p/MMP-3.

Wanhainen *et al.*, 2017¹³⁵ identificaram 103 miRNAs diferentes no plasma que foram alterados, entre pacientes com AAA e controles pareados por idade, e 20 miRNAs que diferiram entre AAA de rápido crescimento e de crescimento lento. Em particular, os miR-125a-5p e miR-335-5p mostraram níveis significativamente mais baixos em indivíduos com AAA de rápido crescimento. Em combinação com fatores de risco clínicos, a diminuição dos níveis desses miRNAs apenas modera modestamente a probabilidade de AAA de rápido crescimento (cerca de 2 vezes), mas na presença de altos níveis de ambos os miRNAs, a probabilidade cai dramaticamente (83%). Isso demonstra que os miRNAs podem ser biomarcadores úteis na triagem AAA com impacto clinicamente significativo. Os miR-125a-5p e miR-335-5p seriam mais úteis para excluir o risco de AAA de rápido crescimento, em vez de confirmar esse risco. Os miR-191 e 455-3p que são objetos de estudo do presente trabalho não foram identificados no trabalho de Wanhainen *et al.*, 2017.¹³⁵ Raffort *et al.*, 2016¹³⁶ revisaram bem os estudos atuais realizados para tratar os miRNAs como biomarcadores potenciais de AAA e discutiram claramente as diferenças no desenho e as limitações com relação ao número da população de estudo, controles adequados e que apenas poucos estudos estão em concordância.

Variações no material do enxerto têm sido usadas para explicar diferentes respostas biológicas precoces entre o reparo de aneurisma aberto e endovascular. Esses achados podem ser o resultado de muitas causas. Primeiro, o material utilizado para compor a endoprótese que são o politetrafluoroetileno (e-PTFE) e o poliéster. O material texturizado é exposto à corrente sanguínea, e sua superfície ativa leucócitos e plaquetas e promove a liberação de mediadores

inflamatórios, tais como citocinas e proteínas de fase aguda. Diferentes tipos de biomateriais podem provocar respostas inflamatórias variadas.¹³⁷

Segundo, a técnica de inserção do endoenxerto que pode ser feita com a inserção de uma bainha introdutora ou não. Embora não haja diferenças significativas no tamanho do sistema introdutor a inserção de uma bainha, que é mais macia e mais flexível do que o endoenxerto inteiro, pode causar menos lesão ao endotélio vascular. Na ausência de uma bainha introdutora, as manobras endovasculares repetitivas com os componentes da endoprótese retirados e inseridos (corpo principal, extensão ilíaca) podem estar associadas a lesão arterial adicional. A lesão do endotélio vascular é responsável pela ativação do processo inflamatório. Além disso, a presença de farpas de fixação direta à parede da aorta nos dispositivos de fixação ativa causam uma lesão endotelial adicional com reforço na resposta inflamatória.^{138,139}

A implantação de endopróteses baseadas em e-PTFE resultou em uma resposta inflamatória menos pronunciada em comparação àqueles baseadas em tecido de poliéster e de fixação ativa.¹⁴⁰⁻¹⁴² No presente estudo as expressões dos miR-191 e miR-455-3p não foram influenciadas pelo material constituinte da endoprótese e nem pelo modo de fixação da mesma. O fator tempo pode justificar esse achado uma vez que a resposta inflamatória à inserção da endoprótese tem sido descrita nas primeiras 24-48 horas após a intervenção.

7. CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

A avaliação da expressão dos níveis plasmáticos dos miR-191 e miR-455-3p em pacientes com aneurisma de aorta abdominal antes e após o tratamento endovascular demonstrou que:

- Houve uma hiperexpressão dos miR-191 e 455-3p no sangue total de pacientes com AAA;
- Houve uma significativa diminuição das expressões dos miR-191 e 455-3p após tratamento endovascular dos AAA;
- A presença de aneurismas em artérias ilíacas não altera a expressão dos miR-191 e 455-3p;
- Os diferentes tipos de materiais de endoprótese não influenciam na expressão dos miR-191 e 455-3p;
- Os níveis plasmáticos dos miR-191 e 455-3p não apresentaram correlação com a variação dos diâmetros dos aneurismas.

REFERÊNCIAS¹

1. Nordon IM, Hinchliffe RJ, Loftus IM, Thompson MM. Pathophysiology and epidemiology of abdominal aortic aneurysms. *Nat Rev Cardiol*. 2011;8(2):92-102.
2. Golledge J, Norman PE. Current status of medical management for abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis*. 2011;217(1):57-63.
3. Golledge J, Muller J, Daugherty A, Norman P. Abdominal aortic aneurysm: pathogenesis and implications for management. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(12):2605-13.
4. Svensjö S, Björck M, Wanhainen A. Update on screening for abdominal aortic aneurysm: a topical review. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2014;48(6):659-67.
5. Stather PW, Sylvius N, Wild JB, Choke E, Sayers RD, Bown MJ. Differential microRNA expression profiles in peripheral arterial disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 2013;6(5):490-7.
6. Small EM, Frost RJ, Olson EN. MicroRNAs add a new dimension to cardiovascular disease. *Circulation*. 2010;121(8):1022-32.
7. Maegdefessel L, Spin JM, Adam M, Raaz U, Toh R, Nakagami F, et al. Micromanaging abdominal aortic aneurysms. *Int J Mol Sci*. 2013;14(7):14374-94.
8. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*. 2008;18(10):997-1006.
9. Johnston KW, Rutherford RB, Tilson MD, Shah DM, Hollier L, Stanley JC. Suggested standards for reporting on arterial aneurysms. Subcommittee on Reporting Standards for Arterial Aneurysms, Ad Hoc Committee on Reporting Standards, Society for Vascular Surgery and North American Chapter, International Society for Cardiovascular Surgery. *J Vasc Surg*. 1991;13(3):452-8.
10. Norman PE, Powell JT. Site specificity of aneurysmal disease. *Circulation*. 2010;121(4):560-8.
11. Ward AS. Aortic aneurysmal disease. A generalized dilating diathesis. *Arch Surg*. 1992;127(8):990-1.
12. Crowther M, Goodall S, Jones JL, Bell PR, Thompson MM. Increased matrix metalloproteinase 2 expression in vascular smooth muscle cells cultured from abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 2000;32(3):575-83.

---

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

13. Goodall S, Crowther M, Hemingway DM, Bell PR, Thompson MM. Ubiquitous elevation of matrix metalloproteinase-2 expression in the vasculature of patients with abdominal aneurysms. *Circulation*. 2001;104(3):304-9.
14. Goodall S, Crowther M, Bell PR, Thompson MM. The association between venous structural alterations and biomechanical weakness in patients with abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 2002;35(5):937-42.
15. Ballard DJ, Filardo G, Fowkes G, Powell JT. Surgery for small asymptomatic abdominal aortic aneurysms. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008(4):CD001835.
16. Verhoeven EL, Kapma MR, Groen H, Tielliu IF, Zeebregts CJ, Bekkema F, et al. Mortality of ruptured abdominal aortic aneurysm treated with open or endovascular repair. *J Vasc Surg*. 2008;48(6):1396-400.
17. Basnyat PS, Biffin AH, Moseley LG, Hedges AR, Lewis MH. Mortality from ruptured abdominal aortic aneurysm in Wales. *Br J Surg*. 1999;86(6):765-70.
18. Ashton HA, Buxton MJ, Day NE, Kim LG, Marteau TM, Scott RA, et al. The Multicentre Aneurysm Screening Study (MASS) into the effect of abdominal aortic aneurysm screening on mortality in men: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002;360(9345):1531-9.
19. Scott RA, Wilson NM, Ashton HA, Kay DN. Influence of screening on the incidence of ruptured abdominal aortic aneurysm: 5-year results of a randomized controlled study. *Br J Surg*. 1995;82(8):1066-70.
20. Norman PE, Jamrozik K, Lawrence-Brown MM, Le MT, Spencer CA, Tuohy RJ, et al. Population based randomised controlled trial on impact of screening on mortality from abdominal aortic aneurysm. *BMJ*. 2004;329(7477):1259.
21. Lindholt JS, Juul S, Fasting H, Henneberg EW. Screening for abdominal aortic aneurysms: single centre randomised controlled trial. *BMJ*. 2005;330(7494):750.
22. McFarlane MJ. The epidemiologic necropsy for abdominal aortic aneurysm. *JAMA*. 1991;265(16):2085-8.
23. Gillum RF. Epidemiology of aortic aneurysm in the United States. *J Clin Epidemiol*. 1995;48(11):1289-98.
24. Ashton HA, Gao L, Kim LG, Druce PS, Thompson SG, Scott RA. Fifteen-year follow-up of a randomized clinical trial of ultrasonographic screening for abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg*. 2007;94(6):696-701.
25. Scott RA, Bridgewater SG, Ashton HA. Randomized clinical trial of screening for abdominal aortic aneurysm in women. *Br J Surg*. 2002;89(3):283-5.
26. Shantikumar S, Ajjan R, Porter KE, Scott DJ. Diabetes and the abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2010;39(2):200-7.

27. Norman PE, Powell JT. Abdominal aortic aneurysm: the prognosis in women is worse than in men. *Circulation*. 2007;115(22):2865-9.
28. Forsdahl SH, Singh K, Solberg S, Jacobsen BK. Risk factors for abdominal aortic aneurysms: a 7-year prospective study: the Tromsø Study, 1994-2001. *Circulation*. 2009;119(16):2202-8.
29. Vardulaki KA, Prevost TC, Walker NM, Day NE, Wilmink AB, Quick CR, et al. Incidence among men of asymptomatic abdominal aortic aneurysms: estimates from 500 screen detected cases. *J Med Screen*. 1999;6(1):50-4.
30. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Littooy FN, Krupski WC, Bandyk D, et al. Yield of repeated screening for abdominal aortic aneurysm after a 4-year interval. Aneurysm Detection and Management Veterans Affairs Cooperative Study Investigators. *Arch Intern Med*. 2000;160(8):1117-21.
31. Salem MK, Rayt HS, Hussey G, Rafelt S, Nelson CP, Sayers RD, et al. Should Asian men be included in abdominal aortic aneurysm screening programmes? *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009;38(6):748-9.
32. Earnshaw JJ, Shaw E, Whyman MR, Poskitt KR, Heather BP. Screening for abdominal aortic aneurysms in men. *BMJ*. 2004;328(7448):1122-4.
33. Blanchard JF. Epidemiology of abdominal aortic aneurysms. *Epidemiol Rev*. 1999;21(2):207-21.
34. Acosta S, Ogren M, Bengtsson H, Bergqvist D, Lindblad B, Zdanowski Z. Increasing incidence of ruptured abdominal aortic aneurysm: a population-based study. *J Vasc Surg*. 2006;44(2):237-43.
35. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Study ADaMVAC. Abdominal aortic aneurysm in women. *J Vasc Surg*. 2001;34(1):122-6.
36. Cosford PA, Leng GC. Screening for abdominal aortic aneurysm. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007(2):CD002945.
37. Blanchard JF, Armenian HK, Friesen PP. Risk factors for abdominal aortic aneurysm: results of a case-control study. *Am J Epidemiol*. 2000;151(6):575-83.
38. Ogata T, MacKean GL, Cole CW, Arthur C, Andreou P, Tromp G, et al. The lifetime prevalence of abdominal aortic aneurysms among siblings of aneurysm patients is eightfold higher than among siblings of spouses: an analysis of 187 aneurysm families in Nova Scotia, Canada. *J Vasc Surg*. 2005;42(5):891-7.
39. Frydman G, Walker PJ, Summers K, West M, Xu D, Lightfoot T, et al. The value of screening in siblings of patients with abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2003;26(4):396-400.
40. Larsson E, Granath F, Swedenborg J, Hultgren R. A population-based case-control study of the familial risk of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*. 2009;49(1):47-50; discussion 1.

41. Astrand H, Rydén-Ahlgren A, Sundkvist G, Sandgren T, Länne T. Reduced aortic wall stress in diabetes mellitus. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2007;33(5):592-8.
42. Wahlgren CM, Larsson E, Magnusson PK, Hultgren R, Swedenborg J. Genetic and environmental contributions to abdominal aortic aneurysm development in a twin population. *J Vasc Surg.* 2010;51(1):3-7; discussion
43. Consortium A. Genome Wide Association Studies: identifying the genes that determine the risk of abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2008;36(4):395-6.
44. Lederle FA, Nelson DB, Joseph AM. Smokers' relative risk for aortic aneurysm compared with other smoking-related diseases: a systematic review. *J Vasc Surg.* 2003;38(2):329-34.
45. Wilmink TB, Quick CR, Day NE. The association between cigarette smoking and abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 1999;30(6):1099-105.
46. Wong DR, Willett WC, Rimm EB. Smoking, hypertension, alcohol consumption, and risk of abdominal aortic aneurysm in men. *Am J Epidemiol.* 2007;165(7):838-45.
47. MacSweeney ST, Ellis M, Worrell PC, Greenhalgh RM, Powell JT. Smoking and growth rate of small abdominal aortic aneurysms. *Lancet.* 1994;344(8923):651-2.
48. Knuutinen A, Kokkonen N, Risteli J, Vähäkangas K, Kallioinen M, Salo T, et al. Smoking affects collagen synthesis and extracellular matrix turnover in human skin. *Br J Dermatol.* 2002;146(4):588-94.
49. Iribarren C, Darbinian JA, Go AS, Fireman BH, Lee CD, Grey DP. Traditional and novel risk factors for clinically diagnosed abdominal aortic aneurysm: the Kaiser multiphasic health checkup cohort study. *Ann Epidemiol.* 2007;17(9):669-78.
50. Pleumeekers HJ, Hoes AW, van der Does E, van Urk H, Hofman A, de Jong PT, et al. Aneurysms of the abdominal aorta in older adults. The Rotterdam Study. *Am J Epidemiol.* 1995;142(12):1291-9.
51. Sagiv M, Goldbourt U. Influence of physical work on high density lipoprotein cholesterol: implications for the risk of coronary heart disease. *Int J Sports Med.* 1994;15(5):261-6.
52. Schouten O, van Laanen JH, Boersma E, Vidakovic R, Feringa HH, Dunkelgrün M, et al. Statins are associated with a reduced infrarenal abdominal aortic aneurysm growth. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006;32(1):21-6.
53. Wanhainen A, Bergqvist D, Boman K, Nilsson TK, Rutegård J, Björck M. Risk factors associated with abdominal aortic aneurysm: a population-based study with historical and current data. *J Vasc Surg.* 2005;41(3):390-6.

54. Cornuz J, Sidoti Pinto C, Tevaearai H, Egger M. Risk factors for asymptomatic abdominal aortic aneurysm: systematic review and meta-analysis of population-based screening studies. *Eur J Public Health*. 2004;14(4):343-9.
55. Brown LC, Powell JT. Risk factors for aneurysm rupture in patients kept under ultrasound surveillance. UK Small Aneurysm Trial Participants. *Ann Surg*. 1999;230(3):289-96; discussion 96-7.
56. Golledge J, Clancy P, Jamrozik K, Norman PE. Obesity, adipokines, and abdominal aortic aneurysm: Health in Men study. *Circulation*. 2007;116(20):2275-9.
57. Long A, Bui HT, Barbe C, Henni AH, Journet J, Metz D, et al. Prevalence of abdominal aortic aneurysm and large infrarenal aorta in patients with acute coronary syndrome and proven coronary stenosis: a prospective monocenter study. *Ann Vasc Surg*. 2010;24(5):602-8.
58. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Chute EP, Littooy FN, Bandyk D, et al. Prevalence and associations of abdominal aortic aneurysm detected through screening. Aneurysm Detection and Management (ADAM) Veterans Affairs Cooperative Study Group. *Ann Intern Med*. 1997;126(6):441-9.
59. Golledge J, Karan M, Moran CS, Muller J, Clancy P, Dear AE, et al. Reduced expansion rate of abdominal aortic aneurysms in patients with diabetes may be related to aberrant monocyte-matrix interactions. *Eur Heart J*. 2008;29(5):665-72.
60. Norman PE, Davis TM, Le MT, Golledge J. Matrix biology of abdominal aortic aneurysms in diabetes: mechanisms underlying the negative association. *Connect Tissue Res*. 2007;48(3):125-31.
61. Partridge CR, Sampson HW, Forough R. Long-term alcohol consumption increases matrix metalloproteinase-2 activity in rat aorta. *Life Sci*. 1999;65(13):1395-402.
62. Badger SA, O'Donnell ME, Sharif MA, Boyd CS, Hannon RJ, Lau LL, et al. Risk factors for abdominal aortic aneurysm and the influence of social deprivation. *Angiology*. 2008;59(5):559-66.
63. Wolinsky H, Glagov S. A lamellar unit of aortic medial structure and function in mammals. *Circ Res*. 1967;20(1):99-111.
64. Dobrin PB. Pathophysiology and pathogenesis of aortic aneurysms. Current concepts. *Surg Clin North Am*. 1989;69(4):687-703.
65. Choke E, Cockerill GW, Dawson J, Wilson RW, Jones A, Loftus IM, et al. Increased angiogenesis at the site of abdominal aortic aneurysm rupture. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1085:315-9.
66. Michel JB, Martin-Ventura JL, Egido J, Sakalihasan N, Treska V, Lindholt J, et al. Novel aspects of the pathogenesis of aneurysms of the abdominal aorta in humans. *Cardiovasc Res*. 2011;90(1):18-27.

67. McMillan WD, Tamarina NA, Cipollone M, Johnson DA, Parker MA, Pearce WH. Size matters: the relationship between MMP-9 expression and aortic diameter. *Circulation*. 1997;96(7):2228-32.
68. Tromp G, Gatalica Z, Skunca M, Berguer R, Siegel T, Kline RA, et al. Elevated expression of matrix metalloproteinase-13 in abdominal aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg*. 2004;18(4):414-20.
69. Lorelli DR, Jean-Claude JM, Fox CJ, Clyne J, Cambria RA, Seabrook GR, et al. Response of plasma matrix metalloproteinase-9 to conventional abdominal aortic aneurysm repair or endovascular exclusion: implications for endoleak. *J Vasc Surg*. 2002;35(5):916-22.
70. Sangiorgi G, D'Averio R, Mauriello A, Bondio M, Pontillo M, Castelvechio S, et al. Plasma levels of metalloproteinases-3 and -9 as markers of successful abdominal aortic aneurysm exclusion after endovascular graft treatment. *Circulation*. 2001;104(12 Suppl 1):I288-95.
71. Longo GM, Xiong W, Greiner TC, Zhao Y, Fiotti N, Baxter BT. Matrix metalloproteinases 2 and 9 work in concert to produce aortic aneurysms. *J Clin Invest*. 2002;110(5):625-32.
72. Lindholt JS. Activators of plasminogen and the progression of small abdominal aortic aneurysms. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1085:139-50.
73. Miller FJ, Sharp WJ, Fang X, Oberley LW, Oberley TD, Weintraub NL. Oxidative stress in human abdominal aortic aneurysms: a potential mediator of aneurysmal remodeling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(4):560-5.
74. Schönbeck U, Sukhova GK, Gerdes N, Libby P. T(H)2 predominant immune responses prevail in human abdominal aortic aneurysm. *Am J Pathol*. 2002;161(2):499-506.
75. Xiong W, Zhao Y, Prall A, Greiner TC, Baxter BT. Key roles of CD4+ T cells and IFN-gamma in the development of abdominal aortic aneurysms in a murine model. *J Immunol*. 2004;172(4):2607-12.
76. Yoshimura K, Aoki H, Ikeda Y, Fujii K, Akiyama N, Furutani A, et al. Regression of abdominal aortic aneurysm by inhibition of c-Jun N-terminal kinase. *Nat Med*. 2005;11(12):1330-8.
77. Curci JA, Thompson RW. Adaptive cellular immunity in aortic aneurysms: cause, consequence, or context? *J Clin Invest*. 2004;114(2):168-71.
78. Kölbel T, Strandberg K, Donath T, Mattiasson I, Stenflo J, Lindblad B. Activated protein C-protein C inhibitor complex in patients with abdominal aortic aneurysms: is it associated with diameter and growth rate? *Vasc Endovascular Surg*. 2008;42(2):135-40.
79. Golledge J, Muller J, Shephard N, Clancy P, Smallwood L, Moran C, et al. Association between osteopontin and human abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(3):655-60.

80. Powell JT, Brown LC, Greenhalgh RM, Thompson SG. The rupture rate of large abdominal aortic aneurysms: is this modified by anatomical suitability for endovascular repair? *Ann Surg*. 2008;247(1):173-9.
81. Brewster DC, Cronenwett JL, Hallett JW, Johnston KW, Krupski WC, Matsumura JS, et al. Guidelines for the treatment of abdominal aortic aneurysms. Report of a subcommittee of the Joint Council of the American Association for Vascular Surgery and Society for Vascular Surgery. *J Vasc Surg*. 2003;37(5):1106-17.
82. McGloughlin TM, Doyle BJ. New approaches to abdominal aortic aneurysm rupture risk assessment: engineering insights with clinical gain. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(9):1687-94.
83. Engström G, Börner G, Lindblad B, Janzon L, Lindgärde F. Incidence of fatal or repaired abdominal aortic aneurysm in relation to inflammation-sensitive plasma proteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(2):337-41.
84. Hackam DG, Thiruchelvam D, Redelmeier DA. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and aortic rupture: a population-based case-control study. *Lancet*. 2006;368(9536):659-65.
85. Baxter BT, Terrin MC, Dalman RL. Medical management of small abdominal aortic aneurysms. *Circulation*. 2008;117(14):1883-9.
86. Schurink GW, Aarts NJ, van Bockel JH. Endoleak after stent-graft treatment of abdominal aortic aneurysm: a meta-analysis of clinical studies. *Br J Surg*. 1999;86(5):581-7.
87. Zarins CK, White RA, Hodgson KJ, Schwarten D, Fogarty TJ. Endoleak as a predictor of outcome after endovascular aneurysm repair: AneuRx multicenter clinical trial. *J Vasc Surg*. 2000;32(1):90-107.
88. Lynam-Lennon N, Maher SG, Reynolds JV. The roles of microRNA in cancer and apoptosis. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2009;84(1):55-71.
89. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75(5):843-54.
90. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*. 2000;408(6808):86-9.
91. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*. 2005;435(7043):834-8.
92. Zhang W, Dahlberg JE, Tam W. MicroRNAs in tumorigenesis: a primer. *Am J Pathol*. 2007;171(3):728-38.
93. Kai ZS, Pasquinelli AE. MicroRNA assassins: factors that regulate the disappearance of miRNAs. *Nat Struct Mol Biol*. 2010;17(1):5-10.

94. Hsu SD, Chu CH, Tsou AP, Chen SJ, Chen HC, Hsu PW, et al. miRNAMap 2.0: genomic maps of microRNAs in metazoan genomes. *Nucleic Acids Res.* 2008;36(Database issue):D165-9.
95. Hutvagner G, Zamore PD. A microRNA in a multiple-turnover RNAi enzyme complex. *Science.* 2002;297(5589):2056-60.
96. Roush SF, Slack FJ. Micromanagement: a role for microRNAs in mRNA stability. *ACS Chem Biol.* 2006;1(3):132-4.
97. Petersen CP, Bordeleau ME, Pelletier J, Sharp PA. Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells. *Mol Cell.* 2006;21(4):533-42.
98. Vasudevan S. Posttranscriptional upregulation by microRNAs. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2012;3(3):311-30.
99. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004;116(2):281-97.
100. Albinsson S, Suarez Y, Skoura A, Offermanns S, Miano JM, Sessa WC. MicroRNAs are necessary for vascular smooth muscle growth, differentiation, and function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(6):1118-26.
101. Boon RA, Seeger T, Heydt S, Fischer A, Hergenreider E, Horrevoets AJ, et al. MicroRNA-29 in aortic dilation: implications for aneurysm formation. *Circ Res.* 2011;109(10):1115-9.
102. Maegdefessel L, Azuma J, Toh R, Merk DR, Deng A, Chin JT, et al. Inhibition of microRNA-29b reduces murine abdominal aortic aneurysm development. *J Clin Invest.* 2012;122(2):497-506.
103. Merk DR, Chin JT, Dake BA, Maegdefessel L, Miller MO, Kimura N, et al. miR-29b participates in early aneurysm development in Marfan syndrome. *Circ Res.* 2012;110(2):312-24.
104. van Rooij E, Marshall WS, Olson EN. Toward microRNA-based therapeutics for heart disease: the sense in antisense. *Circ Res.* 2008;103(9):919-28.
105. Boon RA, Dimmeler S. MicroRNAs and aneurysm formation. *Trends Cardiovasc Med.* 2011;21(6):172-7.
106. Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, Gores GJ. mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis. *Oncogene.* 2007;26(42):6133-40.
107. Roderburg C, Urban GW, Bettermann K, Vucur M, Zimmermann H, Schmidt S, et al. Micro-RNA profiling reveals a role for miR-29 in human and murine liver fibrosis. *Hepatology.* 2011;53(1):209-18.
108. Qin W, Chung AC, Huang XR, Meng XM, Hui DS, Yu CM, et al. TGF- β /Smad3 signaling promotes renal fibrosis by inhibiting miR-29. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(8):1462-74.

109. Jones JA, Stroud RE, O'Quinn EC, Black LE, Barth JL, Elefteriades JA, et al. Selective microRNA suppression in human thoracic aneurysms: relationship of miR-29a to aortic size and proteolytic induction. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011;4(6):605-13.
110. Liao M, Zou S, Weng J, Hou L, Yang L, Zhao Z, et al. A microRNA profile comparison between thoracic aortic dissection and normal thoracic aorta indicates the potential role of microRNAs in contributing to thoracic aortic dissection pathogenesis. *J Vasc Surg*. 2011;53(5):1341-9.e3.
111. Maegdefessel L, Azuma J, Toh R, Deng A, Merk DR, Raiesdana A, et al. MicroRNA-21 blocks abdominal aortic aneurysm development and nicotine-augmented expansion. *Sci Transl Med*. 2012;4(122):122ra22.
112. Moll FL, Powell JT, Fraedrich G, Verzini F, Haulon S, Waltham M, et al. Management of abdominal aortic aneurysms clinical practice guidelines of the European society for vascular surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2011;41 Suppl 1:S1-S58.
113. Zhang W, Shang T, Huang C, Yu T, Liu C, Qiao T, et al. Plasma microRNAs serve as potential biomarkers for abdominal aortic aneurysm. *Clin Biochem*. 2015;48(15):988-92.
114. Dweep H, Sticht C, Pandey P, Gretz N. miRWalk--database: prediction of possible miRNA binding sites by "walking" the genes of three genomes. *J Biomed Inform*. 2011;44(5):839-47.
115. Krek A, Grün D, Poy MN, Wolf R, Rosenberg L, Epstein EJ, et al. Combinatorial microRNA target predictions. *Nat Genet*. 2005;37(5):495-500.
116. Schurink GW, Aarts NJ, Wilde J, van Baalen JM, Chuter TA, Schultze Kool LJ, et al. Endoleakage after stent-graft treatment of abdominal aneurysm: implications on pressure and imaging--an in vitro study. *J Vasc Surg*. 1998;28(2):234-41.
117. Balm R, Jacobs MJ. Use of spiral computed tomographic angiography in monitoring abdominal aortic aneurysms after transfemoral endovascular repair. *Tex Heart Inst J*. 1997;24(3):200-3.
118. Karch LA, Henretta JP, Hodgson KJ, Mattos MA, Ramsey DE, McLafferty RB, et al. Algorithm for the diagnosis and treatment of endoleaks. *Am J Surg*. 1999;178(3):225-31.
119. Cuypers P, Buth J, Harris PL, Gevers E, Lahey R. Realistic expectations for patients with stent-graft treatment of abdominal aortic aneurysms. Results of a European multicentre registry. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1999;17(6):507-16.
120. Schermerhorn ML, Cronenwett JL. The UK small aneurysm trial. *J Vasc Surg*. 2001;33(2):443.
121. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Ballard DJ, Jordan WD, Blebea J, et al. Rupture rate of large abdominal aortic aneurysms in patients refusing or unfit for elective repair. *JAMA*. 2002;287(22):2968-72.

122. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Chute EP, Hye RJ, Makaroun MS, et al. The aneurysm detection and management study screening program: validation cohort and final results. Aneurysm Detection and Management Veterans Affairs Cooperative Study Investigators. *Arch Intern Med*. 2000;160(10):1425-30.
123. Gretarsdottir S, Baas AF, Thorleifsson G, Holm H, den Heijer M, de Vries JP, et al. Genome-wide association study identifies a sequence variant within the DAB2IP gene conferring susceptibility to abdominal aortic aneurysm. *Nat Genet*. 2010;42(8):692-7.
124. Jones GT, Bown MJ, Gretarsdottir S, Romaine SP, Helgadottir A, Yu G, et al. A sequence variant associated with sortilin-1 (SORT1) on 1p13.3 is independently associated with abdominal aortic aneurysm. *Hum Mol Genet*. 2013;22(14):2941-7.
125. Bown MJ, Jones GT, Harrison SC, Wright BJ, Bumpstead S, Baas AF, et al. Abdominal aortic aneurysm is associated with a variant in low-density lipoprotein receptor-related protein 1. *Am J Hum Genet*. 2011;89(5):619-27.
126. Bradley DT, Hughes AE, Badger SA, Jones GT, Harrison SC, Wright BJ, et al. A variant in LDLR is associated with abdominal aortic aneurysm. *Circ Cardiovasc Genet*. 2013;6(5):498-504.
127. Thompson AR, Drenos F, Hafez H, Humphries SE. Candidate gene association studies in abdominal aortic aneurysm disease: a review and meta-analysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2008;35(1):19-30.
128. Sidloff DA, Stather PW, Choke E, Bown MJ, Sayers RD. A systematic review and meta-analysis of the association between markers of hemostasis and abdominal aortic aneurysm presence and size. *J Vasc Surg*. 2014;59(2):528-35.e4.
129. Stather PW, Sidloff DA, Dattani N, Gokani VJ, Choke E, Sayers RD, et al. Meta-analysis and meta-regression analysis of biomarkers for abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg*. 2014;101(11):1358-72.
130. Stather PW, Sylvius N, Sidloff DA, Dattani N, Verissimo A, Wild JB, et al. Identification of microRNAs associated with abdominal aortic aneurysms and peripheral arterial disease. *Br J Surg*. 2015;102(7):755-66.
131. Weber M, Baker MB, Moore JP, Searles CD. MiR-21 is induced in endothelial cells by shear stress and modulates apoptosis and eNOS activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;393(4):643-8.
132. Lena AM, Mancini M, Rivetti di Val Cervo P, Saintigny G, Mahé C, Melino G, et al. MicroRNA-191 triggers keratinocytes senescence by SATB1 and CDK6 downregulation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;423(3):509-14.
133. Wilson WR, Anderton M, Schwalbe EC, Jones JL, Furness PN, Bell PR, et al. Matrix metalloproteinase-8 and -9 are increased at the site of abdominal aortic aneurysm rupture. *Circulation*. 2006;113(3):438-45.

134. Carrell TW, Burnand KG, Wells GM, Clements JM, Smith A. Stromelysin-1 (matrix metalloproteinase-3) and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 are overexpressed in the wall of abdominal aortic aneurysms. *Circulation*. 2002;105(4):477-82.
135. Wanhainen A, Mani K, Vorkapic E, De Basso R, Björck M, Länne T, et al. Screening of circulating microRNA biomarkers for prevalence of abdominal aortic aneurysm and aneurysm growth. *Atherosclerosis*. 2017;256:82-8.
136. Raffort J, Lareyre F, Clement M, Mallat Z. Micro-RNAs in abdominal aortic aneurysms: insights from animal models and relevance to human disease. *Cardiovasc Res*. 2016;110(2):165-77.
137. Galle C, De Maertelaer V, Motte S, Zhou L, Stordeur P, Delville JP, et al. Early inflammatory response after elective abdominal aortic aneurysm repair: a comparison between endovascular procedure and conventional surgery. *J Vasc Surg*. 2000;32(2):234-46.
138. Morikage N, Esato K, Zenpo N, Fujioka K, Takenaka H. Is endovascular treatment of abdominal aortic aneurysms less invasive regarding the biological responses? *Surg Today*. 2000;30(2):142-6.
139. Swartbol P, Truedsson L, Norgren L. Adverse reactions during endovascular treatment of aortic aneurysms may be triggered by interleukin 6 release from the thrombotic content. *J Vasc Surg*. 1998;28(4):664-8.
140. Gerasimidis T, Sfyroeras G, Trellopoulos G, Skoura L, Papazoglou K, Konstantinidis K, et al. Impact of endograft material on the inflammatory response after elective endovascular abdominal aortic aneurysm repair. *Angiology*. 2005;56(6):743-53.
141. Voûte MT, Bastos Gonçalves FM, van de Luijngaarden KM, Klein Nulent CG, Hoeks SE, Stolker RJ, et al. Stent graft composition plays a material role in the postimplantation syndrome. *J Vasc Surg*. 2012;56(6):1503-9.
142. Moulakakis KG, Alepaki M, Sfyroeras GS, Antonopoulos CN, Giannakopoulos TG, Kakisis J, et al. The impact of endograft type on inflammatory response after endovascular treatment of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*. 2013;57(3):668-77.

ANEXO A

Termo de consentimento livre e esclarecido (Grupo estudo)

Título do estudo: Avaliação do perfil inflamatório e de microRNAs após correção endovascular de aneurisma de aorta abdominal

Marcadores em investigação: Quantificações plasmáticas dos MicroRNAs 191 e 455-3p.

Nome do investigador principal: Emanuel Júnio Ramos Tenório

Instituição: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – HCFMRP-USP.

Introdução:

Você esta sendo convidado para participar de um estudo de pesquisa clínica que envolve a realização de exames complementares de imagem e a doação de pequenas amostras de sangue.

Este documento descreve o estudo para o qual você esta sendo convidado a participar e o que o estudo envolverá. Leia este documento com cuidado e não hesite em fazer qualquer pergunta a qualquer momento. Sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Cabe a você decidir se quer participar ou não.

Se decidir participar, você receberá uma cópia assinada deste documento para guardar. Ainda, se decidir participar, você pode mudar de idéia em qualquer momento e se retirar do estudo sem dar explicações. Isso não irá afetar o padrão de assistência médica que recebe.

Natureza e objetivo do estudo:

Este estudo de pesquisa clínica esta sendo conduzido por seu médico para avaliar alguns componentes sanguíneos como marcadores na correção endovascular de aneurisma de aorta abdominal.

Você está sendo convidado a participar neste estudo de pesquisa clínica porque é portador de aneurisma de aorta abdominal que corresponde ao enfraquecimento da

parede da artéria aorta o que resulta na dilatação da mesma com risco de rotura e de entupimento das artérias dos membros inferiores devido à migração de trombos contidos no aneurisma.

A correção endovascular de aneurisma de aorta abdominal corresponde a um procedimento no qual é realizada a exclusão do aneurisma da circulação através de dispositivos implantados por dentro dos vasos. Para isso, utiliza-se uma endoprótese (material que irá manter o aneurisma excluído da circulação) através das artérias femorais.

Ao participar desse trabalho você estará contribuindo para entender melhor a doença e para a verificação de possíveis tratamentos ou adequações do tratamento endovascular do aneurisma de aorta abdominal.

Duração do estudo:

A sua participação como voluntário deverá ter a duração máxima de 12 meses.

Procedimentos do estudo:

Marco 0: Você deverá comparecer para internação 1 dia antes do procedimento quando será colhido sangue.

Marco 1 mês: Você comparecerá novamente após um mês do procedimento para colher nova amostra sanguínea e ser submetido a seguimento também por exame de imagem (tomografia ou ressonância).

Marco 6 meses: Novo retorno será solicitado para coleta de sangue e novo exame de imagem (tomografia ou ressonância).

Marco 12 meses: Novo retorno será solicitado para a última coleta de sangue e novos exames de imagem (tomografia ou ressonância).

Riscos e benefícios:

Os riscos são inerentes ao procedimento cirúrgico que corresponde a correção endovascular de aneurisma de aorta. Não há riscos quanto a contaminação, pois os materiais utilizados serão descartáveis.

Não se sabe se os dados obtidos com a coleta de sangue irão ajudar a descobrir meios (medicações, etc.) para melhorar o tratamento endovascular do aneurisma de aorta abdominal.

É possível que a sociedade possa se beneficiar deste estudo. Existe uma possibilidade de que as informações obtidas neste estudo possam ajudar no desenvolvimento futuro de um novo tratamento para pacientes que sofrem da mesma condição que você.

Custos, não remuneração e compensação:

O estudo não requererá nenhum custo para o paciente quanto a material utilizado. Sua participação neste estudo não será remunerada.

Confidencialidade:

A garantia de sigilo dos seus dados, de acordo com as normas brasileiras, será assegurada.

Participação voluntária:

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária; você não é obrigado a participar. Seu tratamento e relacionamento com seu médico não serão afetados pela sua decisão de participar ou não deste estudo. Caso você se recuse a participar deste estudo, você não será penalizado de nenhuma forma e sua decisão não prejudicará qualquer cuidado médico ao qual você tem direito.

Outras informações importantes:

O investigador principal deste estudo médico é o Dr. Emanuel Junio Ramos Tenório, que pode ser encontrada no seguinte endereço: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – HCFMRP-USP – Av. Bandeirantes, 3900 – 9º andar – Departamento de Cirurgia e Anatomia – Campus Universitário – Monte Alegre – CEP: 14049-900 – Ribeirão Preto/SP e telefone (horário comercial) 16 3602 2593.

1. Eu li ou leram para mim o termo de consentimento livre e esclarecido para esse estudo. Recebi todas as explicações sobre a natureza, objetivo, duração, efeitos e riscos previsíveis do estudo, assim como sobre as minhas responsabilidades. As minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente.

2. Concordo em participar do estudo. Concordo em cooperar totalmente com o médico e entrar em contato com ele/ela quando necessário para esclarecimento de dúvidas ou dos próximos passos do estudo.
3. Informe ao médico do estudo sobre todas as minhas doenças e medicações que venho usando, além de informar sobre todas as minhas consultas médicas recentes.
4. Informe também ao médico do estudo sobre qualquer participação minha em outros estudos clínicos no último ano.
5. Entendo que minha participação no estudo é voluntária e que posso me recusar a participar ou posso sair do estudo a qualquer momento. Caso eu me recuse a participar deste estudo, não serei penalizado de nenhuma forma e minha decisão não prejudicará qualquer cuidado médico ao qual eu tenha direito.
6. Ao assinar este documento autorizo a revisão de meus registros.
7. Receberei uma cópia assinada deste consentimento.

Nome do paciente: _____

(a ser preenchido pelo paciente)

Assinatura do paciente: _____

(ou nome e assinatura do representante legal, se aplicável)

Data: ____/____/____

Nome da testemunha: _____

Assinatura da testemunha: _____

(se aplicável)

Data: ____/____/____

Investigador / subinvestigador ou pessoa que conduziu a discussão sobre o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Confirmo que expliquei pessoalmente a natureza, propósito, duração, efeitos e riscos previsíveis do estudo ao paciente acima mencionado.

Nome: _____

Assinatura: _____

Data: ____/____/____

ANEXO B

EXPRESSÕES INDIVIDUAIS DO MICRORNA-191 PRÉ-OPERATÓRIO E APÓS 6 MESES DO TRATAMENTO ENDOVASCULAR

PACIENTE	PRÉ-OPERATÓRIO	6 MESES DE PÓS-OPERATÓRIO
1	0,67851	0,6915
2	0,34232	0,2632
4	2,64339	0,3347
5	0,20122	0,3282
7	2,75677	0,1747
8	1,16783	0,1326
11	0,88079	0,3047
13	1,02397	0,4094
14	1,99088	0,2583
18	4,58580	0,1005
20	0,62710	0,4702
21	2,45746	1,0652
22	4,28492	0,4313
23	1,56575	0,2700
24	1,22827	0,5835
25	0,95361	0,0432
26	1,36673	0,3403
27	0,42410	0,1592
28	3,43011	0,7964
32	1,36340	0,9975
34	1,28915	0,7003
37	0,68204	0,1144
38	0,42474	1,0950
39	0,81043	0,4230
42	0,55862	0,4569
43	0,35927	0,1881
44	3,27967	0,7615
48	0,23399	0,2606
49	0,37752	0,2275
51	0,52855	0,4091

ANEXO C

EXPRESSÕES INDIVIDUAIS DO MICRORNA-455-3P PRÉ-OPERATÓRIO E APÓS 6 MESES DO TRATAMENTO ENDOVASCULAR

PACIENTE	PRÉ-OPERATÓRIO	6 MESES DE PÓS-OPERATÓRIO
1	0,67271	0,1064
2	0,94009	-
4	3,67037	0,2132
5	1,44961	0,3104
7	0,77669	0,0504
8	1,36559	0,1253
11	1,94904	0,1824
13	1,50908	0,3864
14	1,17257	0,0919
18	14,26154	0,0695
20	1,41827	0,2365
21	3,02939	0,5912
22	3,44943	0,6828
23	3,99441	0,1229
24	-	1,8433
25	0,28570	-
26	0,90567	-
27	0,57774	0,3523
28	6,68890	4,2720
32	1,73740	0,2327
34	-	-
37	0,28039	0,0710
38	0,13868	2,0454
39	-	-
42	0,13536	-
43	0,47079	0,2366
44	0,65594	0,9753
48	0,23841	0,1992
49	0,61646	-
51	0,23188	0,2675

ANEXO D

DIÂMETROS AÓRTICOS INDIVIDUAIS DO PACIENTES NO PRÉ-OPERATÓRIO E APÓS 6 MESES DO TRATAMENTO ENDOVASCULAR

PACIENTE	PRÉ-OPERATÓRIO	6 MESES DE PÓS-OPERATÓRIO
1	5,54	4,03
2	6,17	5,73
4	5,02	3,15
5	5,65	5,35
7	3,55	3,20
8	8,90	5,27
11	4,80	4,46
13	7,00	7,00
14	3,60	3,60
18	5,26	4,36
20	6,95	6,70
21	6,93	7,45
22	5,65	5,66
23	5,15	5,47
24	4,87	4,60
25	5,11	3,76
26	5,38	4,88
27	3,33	3,41
28	6,14	5,99
32	6,73	6,79
34	5,70	5,30
37	6,79	7,03
38	4,89	4,76
39	4,95	4,63
42	5,32	4,18
43	5,89	4,33
44	5,60	5,00
48	5,21	5,25
49	6,60	4,82
51	5,80	4,69