IGOR RAFAEL SINCOS

**Determinação do impacto do *Oversizing* da
endoprótese sobre a aorta torácica.
Estudo experimental em porcos.**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de: Clínica Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Erasmo Simão da Silva

São Paulo

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Sincos, Igor Rafael

Determinação do impacto do *Oversizing* da endoprótese sobre a aorta torácica. Estudo experimental em porcos / Igor Rafael Sincos. -- São Paulo, 2012.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Clínica Cirúrgica.

Orientador: Erasmo Simão da Silva.

Descritores: 1.Aorta torácica 2.Modelos, animais 3.Stents
4.Procedimentos endovasculares/efeitos adversos 5.Biomecânica

USP/FM/DBD-240/12

Dedicatória

A minha família, em especial:

Ao meus pais, Dr. David Sincos e Maria Cristina Sincos, pelo exemplo de vida, pelo apoio e amor incondicional.

À minha querida esposa, Anna Paula, razão de tudo, pelo seu imenso amor, dedicação e tolerância.

A Deus, pela minha maravilhosa família, pelo seu amor e misericórdia infinitos e pelas incontáveis bênçãos concedidas em minha vida.

Agradecimentos

Agradeço ao Professor Doutor Luiz Francisco Poli de Figueiredo, *in memoriam*, Professor Titular da Disciplina de Técnica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Sua visão científica, sua praticidade, e, especialmente, sua generosidade ao me proporcionar esta chance de crescimento pessoal e profissional. O senhor me serve de inspiração constante em minha carreira.

De modo especial, reitero minha gratidão aos Professores Titulares Doutor Pedro Puech-Leão e Doutor Nelson De Luccia, pelos ensinamentos e excelentes oportunidades concebidos, e pelo modelo de líderes que todos nós seguimos diariamente.

Aos meus orientadores, professores e amigos, Professor Doutor Erasmo Simão da Silva e Professor Doutor Ricardo Aun. Agradeço pela confiança e crédito depositado. Os senhores são os responsáveis diretos por todos os aspectos dessa tese, sendo fundamentais desde a formação das idéias, do financiamento e da execução do projeto. Minha eterna gratidão por esses seis anos de trabalho, nos quais os senhores têm me ensinado a arte da cirurgia vascular e da pesquisa de forma brilhante.

Ao meu amigo e irmão Sergio Quilici Villela Belczak. Sem a sua ajuda, suas idéias e sua participação, esse projeto não seria viável. Agradeço pela sua amizade e pelo exemplo de vida que toda a família Belczak nos proporciona, em especial ao Dr. João Belczak Neto (*in memoriam*) e à Professora Doutora Cleusa Ema Quilici Belczak.

À Professora Doutora Maria de Lourdes Higuchi, patologista responsável pelo desenho do estudo histológico e imunohistoquímico dessa tese.

Ao Doutor José Augusto Tavares Monteiro pelas idéias e sugestões, e pelo auxílio na técnica dos testes de biomecânica.

Agradeço aos dignos professores e colegas do Serviço de Cirurgia Vascular do Hospital das Clínicas de São Paulo, em especial aos Professores Doutores Calógero Presti, Ivan Bernaduce Casela, Walter Campos Junior e Andre Echaim Vallentsits

Estenssoro pela amizade e ensinamentos nas diversas áreas de cirurgia vascular transmitida a todos nós.

Meu muitíssimo obrigado aos Residentes do Hospital das Clínicas, em especial, Vitor Cervantes Gornati, Pedro Nogueira Gigglio, Vivian Carla Gomes, Marcelo Passos Teivelis e Carlos Alberto Sian de Oliveira pelo valioso auxílio e participação em todas as cirurgias. Agradeço também o apoio de sempre de meus amigos Luciano Antonio Nassar Pellegrino, Fabrício Ribeiro e Manoel Augusto Lobato, grandes amigos e grandes médicos.

Ao Dr. Arnaldo Zanoto, responsável pela metodologia estatística deste estudo.

À médica Veterinária Valéria Vieira Chida, do Centro de Experimentação e Treinamento em Cirurgia do Hospital Israelita Albert Einstein, pela dedicação e cuidado com os animais utilizados neste estudo.

Confirmo também minha gratidão à todos os funcionários da Técnica Cirúrgica, da Patologia-INCOR e da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Em especial à Junco, Marcia, Suely e Eliane, vocês foram extremamente gentis sempre que precisei de algum esclarecimento e/ou favor.

A toda minha família, em especial à minha irmã, Ilana Cristina Sincos, pelo carinho recibo todos esses anos, e pelo orgulho mútuo que sentimos em cada conquista.

Aos meus sogros Dr. Fausto César Ferreira Baptista e Thais Weinhardt Baptista, meu sincero e profundo agradecimento pelo amor e suporte à nossa família, e por me acolherem em sua casa como um verdadeiro filho.

Esta tese está de acordo com normas vigentes no momento de sua publicação, conforme seguem:

- Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. [Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena]. 2. ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2011.

- *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver), adaptado para citações e referências bibliográficas.

- *List of Journals Indexed in Index Medicus*, para abreviatura dos títulos dos periódicos.

- Bechara E. *Moderna gramática portuguesa*. 37. ed. Rio de Janeiro: Lucerna; 2000.

- Bechara E. *Novo acordo ortográfico da língua portuguesa*. Rio de Janeiro: Nova Fronteira; 2008.

- *Stedman: Dicionário médico*. [Traduzido sob a coordenação de Sérgio Augusto Teixeira]. 23. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. [Volumes 1 e 2].

Sumário

Lista de tabelas e gráficos

Lista de figuras

Lista de Abreviaturas, símbolos e siglas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	22
3. MÉTODO	23
3.1 Procedimentos anestésicos e perioperatórios	24
3.2 Técnica cirúrgica	26
3.3 Avaliação do procedimento.....	28
3.4 Análise estatística	43
4. RESULTADOS	44
5. DISCUSSÃO	72
6. CONCLUSÃO	82
7. ANEXOS	83
8. REFERÊNCIAS	86

Lista de Tabelas e Gráficos

Tabela 1	Descrição dos diâmetros pré e pós operatórios.....	44
Tabela 2	Força de destacamento e deformação do espécime durante o teste.....	46
Tabela 3	Média e Desvio padrão das medidas dos fragmentos.....	48
Tabela 4	Resultado do teste de biomecânica.....	49
Tabela 5	Média dos valores do teste de biomecânica dos fragmentos nos 5 grupos: Deformação e Strain.....	51
Tabela 6	Dados dos testes de biomecânica das regiões X, Y e Z.....	53
Tabela 7	Teste estatístico ANOVA entre as regiões X, Y e Z.....	53
Tabela 8	Dados dos testes de biomecânica das regiões X, Y e Z do Grupo Controle.....	54
Tabela 9	Porcentagem de colágeno na parede aórtica.....	55
Tabela 10	Porcentagem de fibra muscular na parede aórtica.....	56
Tabela 11	Análise Estatística (teste de Newman-Keuls) - Fibras Musculares.....	56
Tabela 12	Porcentagem de Fibra Elástica na parede aórtica.....	61
Tabela 13	Análise Estatística (teste de Newman-Keuls) - Fibra Elástica.....	61
Tabela 14	Porcentagem de α -Actina na parede aórtica.....	66
Tabela 15	Análise Estatística (teste de Newman-Keuls) - α -Actina.....	66
Tabela 16	Frequência de células apoptóticas na parede aórtica.....	70
Gráfico 1	Destacamento (Carga/N x Deslocamento/mm).....	34
Gráfico 2	Curva do Deformação do Fragmento em milímetros contra Carga.....	38
Gráfico 3	Média da Força de destacamento em cada grupo.....	46
Gráfico 4	Força máxima suportada pelo fragmento em cada grupo.....	49
Gráfico 5	Estresse Máximo suportado pelo fragmento (N/mm ²).....	50
Gráfico 6	Tensão Máxima suportado pelo fragmento (N/mm).....	51
Gráfico 7	Média do Strain calculado em cada grupo.....	52
Gráfico 8	Quantidade média de Fibras de Colágeno na parede aórtica.....	55
Gráfico 9	Quantidade média de Fibras de Musculares na parede aórtica.....	57
Gráfico 10	Quantidade média de Fibras de Elásticas na parede aórtica.....	64
Gráfico 11	Quantidade média de α -Actina na parede aórtica.....	69

Lista de figuras

Figura 1	Ruptura da aorta torácica com sangramento ativo.....	18
Figura 2	Controle pós-operatório de Correção Endovascular.....	19
Figura 3	Reconstrução Tomográfica pós operatória.: Free-flow na subclávia.....	20
Figura 4	Acesso extra-peritoneal esquerdo.....	26
Figura 5	Estação de trabalho com uma prótese de Dacron®.....	26
Figura 6	Cateter de Pigtail Graduado na Aorta – medida do diâmetro do vaso.....	27
Figura 7	Cateter de Pigtail Graduado no Arco Aórtico – medida do diâmetro do vaso.....	27
Figura 8	Arteriografia de controle pós operatória.....	28
Figura 9	Espécime aórtico removido.....	29
Figura 10	Espécime aórtico com endoprótese removida após os testes.....	29
Figura 11	Primeira fase: sistema de presilhas.....	31
Figura 12	Primeira fase: acondicionamento no sistema com presilhas.....	31
Figura 13	Destacamento: Força máxima de separação do espécime.....	33
Figura 14	Três fragmentos circunferenciais coletados.....	35
Figura 15	Aorta e prótese separadas para o teste Biomecânico.....	36
Figura 16	Fragmentos pareados para teste de biomecânica e para histologia.....	36
Figura 17	Teste Biomecânico: Ruptura do fragmento.....	37
Figura 18	Corte longitudinal da aorta (Masson).....	40
Figura 19	Controle angiográfico (30 dias).....	45
Figura 20	Ruptura aórtica durante teste em um caso do Grupo D.....	47
Figura 21	Ruptura aórtica durante teste em um caso do Grupo C.....	47
Figura 22	Corte histológico (Masson) do grupo Controle.....	58
Figura 23	Corte histológico (Masson) de uma aorta do grupo A.....	59
Figura 24	Corte histológico (Masson) de uma aorta do grupo D.....	60
Figura 25	Corte histológico (VanGieson) de uma aorta do grupo controle.....	62
Figura 26	Corte histológico (VanGieson) de uma aorta do grupo D.....	63
Figura 27	Corte histológico (Masson) de uma aorta do grupo D.....	65
Figura 28	Corte imunohistoquímico (α -Actina) de uma aorta do grupo Controle.....	67

Figura 29 Corte imunohistoquímico (α -Actina) de uma aorta do grupo C.....	68
Figura 30 Técnica de TUNEL, células apoptóticas identificadas em verde fluorescente.....	71
Figura 31 Incorporação da endoprótese e formação de Neointima.....	80

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas

AHA	American Heart Association
CETEC	Centro de Experimentação e Treinamento em Cirurgia
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius
DP	Desvio Padrão
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Fr	French
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
IV	Endovenoso
Kg	Kilograma(s)
mg	Miligrama(s)
cm	Centímetro(s)
mm	Milímetro(s)
ml	Mililitro(s)
N	Newtons
NSF	National Science Foundation
PC	Computador pessoal
UI	Unidade Internacional
Oversizing	Sobredimensionamento

Resumo

Sincos IR. Determinação do impacto do *oversizing* da endoprótese sobre a aorta torácica. Estudo experimental em porcos. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2012. 90p.

Introdução: A utilização da técnica endovascular para tratar as diversas afecções da aorta têm suplantado as técnicas abertas tradicionais, sendo particularmente promissora no trauma¹. A ruptura traumática da aorta é a segunda causa de morte por acidente de trânsito^{2,3}; e o reparo endoluminal dessas lesões com endopróteses apresenta menor taxa de mortalidade e paraplegia quando comparada a cirurgia aberta, no entanto os resultados a longo prazo ainda não estão disponíveis²⁻⁷. As próteses aprovadas e comercialmente disponíveis, até o momento desse estudo, foram desenhadas para doença aneurismática, com diâmetro muito superior ao diâmetro da aorta de jovens (vítimas de trauma). Esse sobredimensionamento (*oversizing*) pode levar a alteração mecânica na interação da prótese com a parede aórtica, comprometendo a vascularização e aumento o risco de complicações relacionadas ao implante de endopróteses⁸⁻¹². **Objetivos:** Analisar, a partir de um modelo animal experimental, o efeito biomecânico e histopatológico de quatro níveis diferentes de sobredimensionamento de endopróteses sobre a aorta não aterosclerótica, semelhante às encontradas em pacientes jovens vítimas de trauma. **Método:** O diâmetro da aorta torácica suína é semelhante ao da aorta de jovens adultos (18-20 mm), desta forma 25 porcos foram randomizados em 5 grupos: 1 controle (sem stent) e 4 grupos de sobredimensionamento (A: 10% -19 %, B: 20% -29%, C: 30% -39%, e D: >40% de sobredimensionamento). Dois tipos de testes biomecânicos foram realizados em todas as aortas 4 semanas após a implantação da endoprótese: teste do “destacamento” da endoprótese; e o teste de biomecânica propriamente dito dos fragmentos aórticos coletados. Os fragmentos foram, então, submetidos a uma análise histológica e imunohistoquímica. **Resultados:** Os resultados do teste de destacamento, que avaliou a força necessária para remover o *stent* da aorta, foram semelhantes nos quatro grupos (A: 42 N, B: 41 N, C: 46 N e D: 46 N, $p=0,881204$). O segundo teste foi realizado em três segmentos da aorta. Força máxima, estresse máximo e tensão máxima suportada pela parede da aorta tiveram uma correlação negativa e linear com o *oversizing*, isto é, quanto maior o *oversizing*, menor a resistência do fragmento à ruptura. Houve diferenças significativas em todos os quatro grupos, quando comparados com o grupo controle. A deformação máxima e o Strain, que refletem as propri-

edades elásticas da parede da aorta, foram muito semelhantes em todos os quatro grupos de sobredimensionamento. Mas, uma diminuição significativa da elasticidade foi encontrada quando comparados cada um dos grupos com o grupo controle ($p= 0,0000001$). A análise histológica e imunohistoquímica demonstrou que a parede da aorta tem uma perda significativa de fibras musculares e α -actina com o aumento do sobredimensionamento ($p= 0,000198$ e $p= 0,002031$, respectivamente). A quantidade de fibra elástica apresentou uma queda significativa independente do sobredimensionamento ($p= 0,0000001$). **Conclusões:** Os quatro níveis de sobredimensionamento estudados não demonstraram diferenças significativas no teste de destacamento. Os testes biomecânicos dos fragmentos da aorta mostraram uma diminuição na resistência da parede aórtica proporcional ao aumento do *oversizing*. A elasticidade da parede aórtica sofre alteração significativa independente do sobredimensionamento utilizado. Os exames histopatológicos e imunohistoquímicos comprovaram o desarranjo na estrutura da parede aórtica com a utilização de endopróteses, resultando na diminuição da quantidade de fibras elásticas e musculares.

.

Descritores: aorta torácica, modelo porcino, stent, força de destacamento, sobredimensionamento, *oversizing*, estresse de parede, tensão de parede, biomecânica.

Abstract

Sincos IR. Impact of Stent-Graft Oversizing on the Thoracic Aorta: Experimental Study in a Porcine Model [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2012. 90p.

Introduction: The use of endovascular techniques to treat the various disorders of the aorta has supplanted traditional open techniques, and is particularly promising in trauma¹. The traumatic rupture of the aorta is the second leading cause of death by traffic accident^{2, 3}, and repair of these lesions with endoluminal stents has showed lower mortality and paraplegia when compared to open surgery, however the long-term results are not yet available²⁻⁷. The endoprosthesis approved and commercially available during this study were designed to aneurysmal disease, with a diameter greater than the diameter of the aorta of young people (trauma victims). This “oversizing” can lead to mechanical changes in the interaction of the prosthesis with the aortic wall, affecting the vascularization and raising the risk of complications related to stent-graft implantation⁸⁻¹².

Purpose: Analyze, from an experimental animal model, the biomechanical and histological effects of four different levels of stents-graft oversizing in non-atherosclerotic aortas; such as those aorta found in young individuals who undergo stent-graft repair for traumatic aortic injuries.

Methods: The diameter of the porcine thoracic aorta is similar to the aorta of young adults (18–20 mm), so 25 pigs were randomized into 5 groups: 1 control (without stent-graft) and 4 oversizing groups (A: 10%–19%, B: 20%–29%, C: 30%–39%, and D: .40%). Two types of biomechanical tests were performed on all aortas 4 weeks after endoprosthesis deployment: The “detachment” of the stent, and the biomechanics test of aortic fragments collected. The fragments were submitted to a histological and an immunohistochemistry analysis.

Results: The results of the detachment test, which analyzed the strength necessary to remove the stent-graft from the aorta, were similar in the 4 groups (A: 42 N, B: 41 N, C: 46 N e D: 46 N, $p= 0,881204$). The second test was performed in 3 aortic segments. Maximum strength, maximum stress, and maximum tension supported by the aortic wall had a negative and linear correlation with oversizing. There were significant differences in all 4 groups when compared with the control group. The maximum deformation and strain, which reflect the elastic properties of the aortic wall, were very similar in all 4 groups. But a significant

decrease in elasticity was found when compared each group with the control group ($p = 0.0000001$).

Histological and immunohistochemistry analysis supported that the aortic wall has a significant loss of muscle fibers and α -actin by increasing the oversize ($p = 0.000198$ $p = 0.002031$, respectively). The amount of elastic fiber showed a significant drop regardless of the oversizing ($p = 0.0000001$).

Conclusion: The four levels of oversizing studied did not show significant differences in the detachment test. Biomechanical tests of the fragments of the aorta showed a decrease in resistance of the aortic wall with increase in oversize. The elasticity of the aortic wall undergoes significant change independent of the oversizing used. The histopathological and immunohistochemical examinations confirmed the breakdown in the structure of the aortic wall with the use of stents-graft, resulting in decreased amount of elastic and muscle fibers.

Key words: thoracic aorta, porcine model, stent-graft, oversizing, displacement force, shear strength, wall stress, tension, strain, biomechanics.

1. Introdução

A utilização da técnica endovascular para tratar as diversas afecções da aorta tem se expandido rapidamente.¹⁻³ Resultados iniciais da terapia endovascular com as próteses comercialmente disponíveis têm sido encorajadores, mas os resultados a longo prazo ainda não estão definidos.² A técnica endovascular é particularmente promissora no trauma devido as sérias lesões associadas que esses pacientes apresentam.⁴⁻⁶ A lesão de aorta torácica acontece em menos de 1% dos indivíduos vítimas de acidentes automobilísticos, mas é responsável por 16% das mortes.^{2,3} Cerca de 80% dos indivíduos morrem no local do acidente, e aqueles que chegam com vida, a maioria irá falecer sem tratamento.^{2,6}

Em paralelo ao desenvolvimento do suporte avançado dos indivíduos traumatizados, técnicas hospitalares de intervenção necessitam ser aprimoradas para controle rápido da hemostasia, promoção de menor trauma cirúrgico, revertendo-se em melhor e mais rápida recuperação e com diminuição dos custos de internação. Os traumas vasculares, arteriais e venosos, são responsáveis por expressiva morbimortalidade. Em determinados territórios o trauma cirúrgico acrescenta riscos elevados ao já comprometido paciente.

A indicação de endoprótese torácica tem aumentado, e cada vez mais pacientes jovens com trauma aórtico têm sido tratados com esta modalidade.² A ruptura traumática da aorta é a segunda causa de morte por acidente de trânsito, pois geralmente é decorrente de impacto severo sendo associada a múltiplas lesões (trauma crânio-encefálico, abdominal, osteomuscular).^{1,2,6} O reparo endoluminal apresenta menor

taxa de mortalidade e paraplegia quando comparada a cirurgia aberta, sendo realizado através do princípio de controle de danos, via sítio remoto, sem infligir a um paciente já extremamente grave a toracotomia e o clampeamento da aorta torácica.²⁻⁷ A experiência dos diversos serviços com esta modalidade de tratamento têm se limitado de 20 a 40 casos por unidade de trauma, nos últimos 15 anos. Muitas próteses usadas nestes estudos não foram aprovadas, algumas customizadas a partir de dispositivos abdominais ou até mesmo próteses confeccionadas de forma artesanal.⁵ Pacientes vítimas de trauma geralmente são mais jovens, e possuem aorta torácica com um diâmetro transversal menor (16-20 mm) e com estrutura diferente em relação aos pacientes com doença aneurismática. Esses pacientes com ruptura traumática da aorta apresentam um processo patológico não comparável aos pacientes com doença aneurismática, com diferentes considerações anatômicas, terapêuticas e possibilidade de complicações.²⁻⁶ Os dados de nosso serviço foram publicados⁶, incluindo 21 casos operados por via endovascular de janeiro de 2001 à maio de 2009, sendo utilizado um sobredimensionamento máximo de 30% (figura 1, 2 e 3). Não tivemos nenhuma complicação grave no seguimento a curto e médio prazo, no entanto, a técnica endovascular ainda gera discussão quanto a sua durabilidade e possibilidade de complicações ao longo dos anos. Devido à ausência de próteses comerciáveis de tamanho adequado para casos de trauma de aorta torácica até o momento de realização desse estudo, muitos cirurgiões implantaram endopróteses com diâmetro superior à 30-40% da medida transversal da aorta (sobredimensionamento). Um trial americano de trauma de aorta foi publicado em 2008 e concluiu a necessidade urgente de melhor nos dispositivos endovasculares para trauma torácico; pois, apesar de uma melhora importante na sobrevida dos pacientes nesse estudo, foi encontrada uma taxa de

complicação de 20% relacionada ao implante de endopróteses.⁸

Um tipo de complicação descrito é o colapso das endopróteses, que consiste no desabamento do *stent* proximal, com possível obstrução do fluxo sanguíneo. O colapso de endopróteses com sobredimensionamento (aqui chamados de *oversizing*) tão generosos têm sido reportados.⁹⁻¹³ Nenhuma das próteses disponíveis até o momento desse estudo haviam sido desenhadas para se adaptarem a angulação aguda da aorta torácica dos pacientes jovens. Isto pode levar à pobre aposição da prótese na parede aórtica, agravada no caso de um *oversizing* exagerado.¹³ Bandorski et al.¹⁴ relatam três casos de colabamento após tratamento com endopróteses, e inferem que o menor diâmetro da aorta dos jovens e o *oversizing* são fatores determinantes para a ocorrência desta complicação.

Figura 1. Ruptura da aorta torácica com sangramento ativo.

Figura 2. Controle Pós Operatório de Correção Endovascular.

O *oversizing* planejado para utilização em aortas torácicas depende da doença aórtica que requer tratamento e da sua localização; sendo geralmente determinada caso a caso. Nenhum grande estudo avaliou o *oversizing* ideal em aortas torácicas, principalmente para aortas não ateroscleróticas. Sternberg et al.¹⁵ analisaram 351 pacientes tratados por aneurisma de aorta abdominal infra-renal com endopróteses e concluíram que um *oversizing* maior do que 30% aumenta o risco de migração da prótese (> 5mm) em torno de 14 vezes, além de aumentar o risco de expansão do aneurisma em 16 vezes após dois anos, quando comparado aos casos com *oversizing* menor ou igual a 30%. Um consenso internacional sugere que em caso de trauma em jovens não se deve usar um *oversizing* maior do que 20%, pois a prótese pode colabar e obstruir a aorta¹. Os fatores atribuídos a este fenômeno são a angulação da aorta no arco e o menor diâmetro aórtico nos pacientes mais jovens.¹

Outra complicação importante e geralmente fatal que pode estar relacionada ao sobredimensionamento exagerado é fístula aorto-esofágica. Eggebrecht et al.¹⁶ relatam seis casos de fístula aorto esofágica após uso de endoprótese em 268 pacientes

com doença aneurismática ou dissecção de aorta (1,6% dos casos). Em tese apresentada na Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo^{17,18}, foram observados 3 casos de fistula aorto-esofágica no seguimento de 23 casos de dissecção aórtica tratados de forma endovascular (13%). O uso de endoprótese pode levar a uma interrupção na circulação colateral esofágica proveniente da aorta. Outro mecanismo de lesão pode estar relacionado à pressão contínua exercida pelo stent auto-expansível, com possível necrose da parede esofágica.¹⁶

Figura 3. Reconstrução Tomográfica pós operatória. Complicação menor – Free-flow na subclávia.

As endopróteses contemporâneas são mantidas no lugar por forças radiais provenientes da estrutura metálica que suporta o stent. O mecanismo de básico de fixação das endopróteses é o *oversizing*, e esse sobredimensionamento gera uma força contínua contra a parede aórtica. Porém, muito pouco se sabe sobre as consequências dessa força radial aplicada na parede aórtica ao longo do tempo. Não há estudos sobre a influência de endopróteses na biomecânica da parede aórtica.

A parede aórtica têm características estruturais definidas para suportar a pulsação sanguínea e a pressão arterial. Sua capacidade adaptativa pode ser influenciada por aterosclerose, hipertensão arterial sistêmica (HAS) e pela idade. Outro fator ex-

tremamente importante analisado no mesmo laboratório do estudo atual, é o de que as propriedades biomecânicas da parede aórtica nos pacientes idosos são totalmente diferentes quando comparada à aorta dos jovens.¹⁹ O Jovem apresenta uma aorta com elasticidade muito superior quando comparada a aorta dos pacientes idosos. A biomecânica da interação endoprótese com a aorta deve ser levada em consideração para escolha do material a ser utilizado e para o perfil de paciente que será tratado: jovens (trauma) ou idosos (aneurisma).²⁰

As propriedades biomecânicas da aorta podem ser estudadas a partir de testes destrutivos uniaxiais. Essa metodologia introduzida a vários anos, já foi validada por vários estudos científicos publicados.¹⁹⁻²² O laboratório de biomecânica vascular da Disciplina de Técnica Cirúrgica da FMUSP realiza esses estudos desde 2001 através de um convênio com o Departamento de Bioengenharia da Universidade de Iowa, EUA. Essa parceria internacional recebeu apoio da NSF (National Science Foundation), AHA (American Heart Association) e da FAPESP, gerando importantes publicações na área.^{19,22}

Todos estes conceitos relacionados às endopróteses e aos traumas são definidos a partir da análise retrospectiva dos casos publicados.⁶ Nenhum estudo multicêntrico e randomizado avaliou com clareza o *oversizing* ideal para aorta torácica e para cada tipo de lesão segundo a faixa etária. Nem tampouco testes biomecânicos foram realizados com este intuito.

2. Objetivo

O objetivo deste estudo é analisar, a partir de um modelo animal experimental:

1. A influência do *oversizing* para destacar a endoprótese de uma aorta não aterosclerótica.
2. O efeito biomecânico do *oversizing* de endopróteses sobre a parede da aorta não aterosclerótica.
3. O efeito histopatológico do *oversizing* de endopróteses sobre a aorta não aterosclerótica.

3. Método

Este estudo foi realizado no Centro de Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein – CETEC e na Disciplina de Técnica Cirúrgica do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, entre novembro de 2009 e março de 2011. O estudo foi aprovado pela comissão de ética e pesquisa na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, número 817/09 (anexo 1). Foram rigorosamente adotadas e seguidas as recomendações e normatizações prescritas pelo Decreto 6.899, datado de 15 de julho de 2009, para uso de animais em experimentos científicos e para proteção desses animais.

O modelo animal foi desenvolvido com vinte cinco porcos da raça Large White, animais jovens de 5 a 6 meses e com peso entre 38 a 50 Kg. Esse perfil de animal apresenta uma aorta com diâmetro compatível com o objeto do estudo (20 mm). Não houve diferença estatística ($p = 0,2212$) entre os grupos com relação ao peso.

Os animais foram divididos em cinco grupos todos com cinco animais cada. Um grupo foi definido como o grupo Controle, no qual não foi implantada nenhuma endoprótese, para comparação anatomopatológica da parede aórtica e para comparação morfológica que ocorre devido ao crescimento do animal.

Os outros quatro grupos foram divididos (sorteados) conforme *oversizing*:

Grupo A: 10 – 19%

Grupo B: 20 – 29%

Grupo C: 30 – 39%

Grupo D: maior que 40%

As próteses implantadas foram todas para aorta torácica, Valiant / Medtronic®, nos tamanhos de 24 a 34 mm de diâmetro e 100 mm de comprimento. Essa endoprótese é composta por um stent de nitinol coberto internamente com um tecido de poliéster (Dacron®). O sistema de liberação é o Xcelerant, composto por um sistema de molas, na forma de *pull-back*. Optamos por uma prótese de 100 mm de comprimento, por ser o menor tamanho disponível para endopróteses torácicas no momento do estudo, e ser suficiente para o preparo e fixação adequada do conjunto aorta-endoprótese para os testes de biomecânica.

O estudo teve um tempo de duração de 4 semanas, pois os animais de 5 meses apresentam uma taxa de crescimento acelerada, podendo alterar o diâmetro aórtico e gerar um viés no estudo. Após os 30 dias, os animais foram submetidos à uma arteriografia de controle para avaliar a condição da prótese: vazamento (*endoleak*), migração, colabamento; e mensuração dos diâmetros aórticos e da prótese. Foram submetidos à anestesia geral para explante do conjunto aorta-endoprótese, verificação macroscópica do estado morfológico e para eutanásia do animal. O conjunto aorta-endoprótese foi enviado para o laboratório de biomecânica.

3.1 PROCEDIMENTOS ANESTÉSICOS E PERIOPERATÓRIOS

O procedimento anestésico foi realizado sob supervisão de uma Médica Veterinária. Todos os animais foram pré-anestesiados com injeção intramuscular de Ketamina (10,0 mg/kg) e Midazolan (0,25 mg/kg) misturados na mesma seringa.

Passados 15 minutos da injeção, a veia marginal da orelha foi cateterizada com cateter de calibre 20 ou 22 (BD Insystem, Becton Therapy Systems Inc., EUA), para

servir de acesso venoso para a indução anestésica, que foi realizada com Diprivan 1% / Propofol (5 mg/kg) ou Etomidato (1 mg/Kg). A reposição hídrica de jejum foi calculada de acordo com o protocolo: dose inicial de 2 ml/Kg/h de cristalóide infusão rápida, com uma manutenção de 10 ml/kg/h de cristalóide durante a operação.

Foram utilizados tubos endotraqueais tamanho 6,5 a 8,5 (Portex[®]) para a intubação dos animais. A anestesia foi mantida inalatória com Isoflurano de 1 a 1,5 %. Para ventilação, mantivemos um volume corrente é de 10ml/kg, ajustado conforme parâmetros fisiológicos necessários. A analgesia foi mantida com fentanil, com dose inicial de 2,5 µg/kg, e para o relaxamento muscular foi utilizado o Nibium (0,24 mg/Kg). A profilaxia antibacteriana foi realizada com degermação de pele, seguida de assepsia rigorosa. Utilizamos Benzetacil: 2.400.000 UI IM no pré-operatório e Cefazolina 1 g IV na indução anestésica.

As funções vitais e os parâmetros fisiológicos de respiração foram mantidos durante ventilação mecânica. A frequência cardíaca e pressão arterial invasiva foram avaliadas continuamente durante o procedimento, após acesso em artéria femoral comum direita guiada por ultrassonografia. Quando necessário, a correção de bradicardia com Atropina (0,5 mg) IV foi utilizada durante a liberação da endoprótese.

Após a operação o analgésico aplicado foi Lisador[®] (dipirona sódica, cloridrato de adifenina e cloridrato de prometazina), via oral, 2,0 ml duas vezes ao dia durante 5 dias. O analgésico foi ministrado conforme necessidade de cada animal. A partir do primeiro dia pós operatório foi iniciado o uso, via oral, de 100 mg de ácido acetil salicílico diariamente até o explante do stent. Após o término da segunda operação e do explante da endoprótese, ainda sob anestesia geral, os animais foram submetidos à eutanásia com Cloreto de Potássio endovenoso (dose de 15-30 mg/kg).

3.2 TÉCNICA CIRÚRGICA

Para implante da endoprótese um acesso extraperitoneal esquerdo foi realizado. Técnica estritamente estéril foi utilizada. Após dissecação e controle aórtico foi confeccionada uma estação de trabalho com uma prótese de Dacron® n.6 ou 8 mm (Figura 4 e 5). O animal era anticoagulado plenamente com 200 UI/kg de heparina endovenosa. Um introdutor 6 FR foi posicionado através da prótese de Dacron® até a aorta, seguido do avanço do fio guia e de um cateter angiográfico graduado até o arco aórtico.

Figura 4. Acesso Extra-peritoneal Esquerdo.

Figura 5. Estação de trabalho com uma prótese de Dacron®.

Através de um cateter angiográfico graduado em centímetros (*pigtail*) realizou-se uma arteriografia e, a seguir, foi aferido o diâmetro interno da aorta torácica em três níveis. Para a escolha do diâmetro da prótese, a medida do *oversizing* foi baseada no diâmetro da aorta descendente próximo a subclávia. (Fig.6 e 7).

Figura 6. Pigtail Graduado na Aorta – medida do diâmetro do vaso.

Figura 7. Pigtail Graduado na Aorta – medida do diâmetro do vaso.

A prótese era, então, posicionada e liberada justa à artéria subclávia esquerda, no local de maior angulação, evitando cobrir a artéria subclávia. Imediatamente após, um controle angiográfico certificava a correta posição da endoprótese (Fig. 8). Ao final do procedimento, os instrumentos endovasculares e os guias eram removidos, seguindo-se a ligadura da prótese de Dacron justa-aórtica e fechamento da incisão com fios de vicryl 1-0 e prolene 2.0 e a pele com fio mononylon 3-0 .

Figura 8. Arteriografia de Controle pós operatória.

3.3 AVALIAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Os animais foram submetidos à eutanásia após 4 semanas, tempo suficiente para ocorrer algum grau de hiperplasia intimal e incorporação do stent, sem que o animal ganhasse muito peso e aumentasse a aorta torácica em diâmetro.²³ Não houve nenhuma complicação importante. No momento do procedimento, uma arteriografia de controle foi realizada para mensuração dos diâmetros (repetindo-se os mesmos níveis da medida) e comparação com as imagens da primeira operação. A avaliação cirúrgica do stent foi realizada por toracotomia esquerda, com especial atenção para detec-

ção macroscópica de inflamação aórtica e dos tecidos próximos, como esôfago e veia ázigos. Após anticoagulação plena com heparina não fracionada os animais foram submetidos a eutanásia e a aorta removida em conjunto com a prótese para análise biomecânica e histopatológica (Fig. 9 e 10).

Apenas para uma avaliação secundária complementar, o esôfago foi aberto longitudinalmente em busca de áreas de fibrose ou ulceração da mucosa para determinação de possíveis lesões resultantes do implante da prótese.

Figura 9. Espécime aórtico removido.

Figura 10. Espécime aórtico com endoprótese removida após término dos testes.

AValiação biomecânica

A aorta removida foi submetida a cuidadosa dissecação cirúrgica em bancada, com a retirada de todos os tecidos peri-aórticos. Foi imersa em solução salina fisiológica a 0.9% e mantida em refrigerador a 4⁰C, até momentos antes do teste de resistência uniaxial (sendo que este último não ultrapassou 24 horas do horário da eutanásia). Após retirada do refrigerador é mantida em temperatura ambiente até atingir um equilíbrio térmico para o início do experimento.

A análise biomecânica foi realizada em duas fases: a primeira fase foi o “Teste do Destacamento”. Na segunda fase foram testadas as propriedades biomecânicas da aorta isolada (segmento retirado e não danificado pela primeira fase).

Primeira Fase - Destacamento: Teste do segmento aórtico removido com a prótese aderida ao órgão. Este teste foi realizado para identificar a força em Newtons necessária para destacar a endoprótese da aorta torácica em cada nível de *oversizing*. Um sobredimensionamento insuficiente poderia levar a migração distal da endoprótese torácica, e seria identificado facilmente através desse teste.

Para o teste, o fragmento foi acondicionado em um sistema de presilhas delicadas para firme fixação das extremidades da amostra sem causar dano excessivo ao material (o sistema com pequenas ranhuras foi desenhado especialmente para este fim – Fig. 11 e 12). Em uma extremidade foi presa a aorta e na outra extremidade a prótese. Este sistema é regulável e permite maior ou menor pressão de acordo com as características do material.

Todas as endopróteses apresentavam um comprimento de 100 mm. Para que os resultados fossem homogêneos em todos os grupos, convencionamos que 1/3 da aorta em contato com a endoprótese fosse removida para a primeira fase do teste.

Assim, uma área de contato representada por $2/3$ do comprimento da endoprótese foi responsável por evitar o destacamento da endoprótese, e o $1/3$ inferior da prótese ficava preso ao sistema de presilhas.

Figura 11. Primeira fase: sistema de presilhas.

Figura 12. Primeira fase: acondicionamento no sistema com presilhas.

A seguir, o fragmento fixo ao sistema de presilhas foi colocado no aparelho para teste de distensão uniaxial *INSTRON SPEC 2200*. Uma vez conectado, toda a operação relacionada ao teste é computadorizada e eletrônica, sendo comandada por dois programas instalados em computador (PC) e em um computador de bolso

(Palm). O computador de bolso, com seu programa de gerenciamento, *INSPEC*, é alimentado com informações relacionadas ao comprimento útil do fragmento a ser testado, largura e espessura do mesmo. O PC utiliza o programa de gerenciamento de dados *SERIES IX*. Este capta as informações fornecidas pela célula eletrônica de carga, isto é, a força aplicada ao fragmento e a distensão a que este é submetido. Cria-se, portanto, uma relação entre os dados de força aplicada ao fragmento com o respectivo alongamento produzido até a separação do conjunto aorta/endoprótese (carga máxima e distensão de separação). Para que todos os testes tenham um início em comum, com a mesma força aplicada a todos os fragmentos, o primeiro passo é provocar um deslocamento inicial do espécime até que o mesmo acuse uma tensão de 0.01 N. A partir deste ponto as medidas manuais com paquímetro (medidas em mm com duas casa decimais) da largura (três medidas), da espessura (três medidas) e do comprimento útil. A velocidade do deslocamento dos braços mecânicos do dispositivo de distensão uniaxial é fornecida baseada em 20% do comprimento útil do espécime.^{19,20} Estes dados são fornecidos ao computador de mão que executa o teste com a velocidade adequada para o espécime.

Com as características do fragmento obtidas, o teste foi realizado sob ótimas condições de umidade. Para tanto o sistema foi construído permitindo-se o fechamento de um compartimento e execução do teste com as presilhas e o fragmento mergulhados em solução fisiológica à temperatura ambiente (Fig. 13).

Figura 13. Destacamento: Força máxima de separação do espécime.

Antes do início do teste destrutivo uniaxial a amostra é submetida a um pré-teste. Este visa homogeneizar e estabilizar o comportamento mecânico do material e somente iniciar o teste destrutivo em condições semelhantes para todos os espécimes. O pré-condicionamento é feito com 10 ciclos de distensão e relaxamento correspondente a distensão de 5% do comprimento útil do espécime conforme protocolo pré-definido.¹⁹⁻²²

Ao final do pré-teste, tem-se o início do teste biomecânico até a separação do conjunto. Os dados de força necessária para deformar o fragmento e a sua deforma-

ção segundo a força aplicada são registrados no PC até a separação do conjunto. Em caso de rotura da aorta, o valor da rotura foi computado para análise.

Os dados da força aplicada e deformação obtida foram armazenados no PC e transferidos para uma planilha eletrônica (MICROSOFT EXCEL). Foram calculadas a deformação máxima e a Força Máxima aplicada. Todos os dados supra citados associados a dados clínicos são colocados em planilha Excel para análise (Gráfico 1).

Gráfico 1: Curva do Destacamento da Endoprótese (X: “Displacement”) contra Carga exercida para retirada da prótese da aorta em Newtons (Y: “Load”).

¹Load: Carga em Newtons, ²Displacement: deformação em milímetros.

Os parâmetros medidos foram :

- deformação máxima apresentada pelo espécime até a separação;
- força máxima aplicada até a separação do espécime (resistência máxima em Newton, N);

Segunda Fase: Teste da propriedade biomecânica de fragmentos transversos da aorta isolada.

Foram retirados da aorta três segmentos não deformados pela primeira etapa para a análise biomecânica e histopatológica (Fig. 14 - 17). Para garantir similaridade entre os fragmentos aórticos estudados foi idealizado e construído um dispositivo com três lâminas em paralelo que produz dois fragmentos paralelos de tecido onde o dispositivo foi aplicado (um dos fragmentos utilizou-se para o teste biomecânico e o outro para análise histológica em formalina). De cada aorta foram preparados 3 fragmentos para biomecânica (X, Y e Z) e 3 fragmentos para histologia (X, Y e Z). Os fragmentos mediam 2-3 mm de largura e o comprimento era definido em consequência do diâmetro da aorta estudada.

Figura 14. Três fragmentos circunferenciais coletados.

Figura 15. Aorta e prótese separadas para o teste Biomecânico.

Figura 16. Fragmentos pareados para teste de biomecânica e para histologia.

Figura 17. Teste Biomecânico.

Para o teste biomecânico dos fragmentos, a metodologia foi a mesma aplicada ao conjunto prótese-aorta. Os dados da força aplicada e deformação obtida são armazenados no PC e transferidos para uma planilha eletrônica (MICROSOFT EXCEL) onde, através de fórmulas, são convertidos em tensão máxima (força normalizada pela largura do espécime), deformação máxima (mm), estresse máximo (força normalizada pela área da secção transversa do espécime) e *Strain* ($strain = L_1 - L_0/L_0$, onde L_1 é o comprimento final antes da ruptura e L_0 é o comprimento inicial do espécime). O *Strain* e a deformação são analisados em gráficos que refletem as propriedades elásticas da aorta, enquanto a força máxima, a tensão máxima e o estresse máximo estão relacionados com a resistência da aorta à ruptura.

Todos os dados supra citados associados a dados clínicos foram colocados em planilha Excel para análise (Gráfico 2). Os parâmetros medidos foram:

- deformação máxima apresentada pelo espécime até a ruptura;
- *STRAIN* ($L_1 - L_0/L_0$)
- força máxima aplicada até a ruptura do espécime (resistência máxima

em Newton, N);

- força indexada por unidade de área de secção transversa do espécime (estresse máximo suportado pelo fragmento, N/mm^2);
- força indexada pela largura do espécime (tensão máxima, N/mm);

Gráfico 2: Curva do Deformação do Fragmento em milímetros (X: “Displacement”) contra Carga exercida sobre um fragmento de aorta em Newtons (Y: “Load”).

¹Load: Carga em Newtons, ²Displacement: deformação em milímetros.

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Após o teste biomecânico, foram enviados para histologia os três fragmentos circunferenciais coletados das seguintes regiões: uma proximal (X), uma na porção média (Y) e uma distal da aorta (Z); todas de regiões em contato com a prótese (as 3 regiões foram equivalentes ao fragmento usado no teste biomecânico – figura 14 e

16). Todos os fragmentos coletados para histologia foram fixados em formol tamponado a 10% e posteriormente processados e incluídos em parafina. Foram realizadas secções histológicas (5- μ m) e colorações Hematoxilina e Eosina (H&E), VanGieson, Picrosirius e Tricrômico de Masson visando análise das fibras elásticas e musculares, colágeno e fibrose, infiltrado inflamatório e neovascularização, analisados à microscopia óptica de luz e de luz polarizada.

As análises morfométricas foram feitas em um sistema de análise de imagens com o Software *Quantimet 500* (Leica Cambrigde Ltd) acoplado ao microscópio óptico com magnificação de 20X e uma câmera de video (DONPISHA 3CCD). A espessura média e área total da íntima e da média foram obtidas delimitando-se as camadas manualmente, nas lâminas coradas pelo VanGieson, que cora fibras elástica e consegue delimitar melhor as camadas da aorta. Quantidade de fibras musculares, colágeno e fibrose foram obtidas por detecção automática da cor (Software *Quantimet 500*) utilizando-se as colorações Masson e Picrosirius, para diagnósticos de hiperplasia ou fibrose intimal.

Em todas as regiões cobertas pela endoprótese, a compressão dos suportes de metal dos stents deixou recortes na parede da aorta. Entre esses recortes ocorreu a formação de trombos, dando à superfície luminal um padrão sinusoidal. A quantidade de colágeno, fibras musculares e fibras elásticas foram realizadas em duas regiões: na área comprimida pelo Stent e na área de folga do Stent (Figura 18). Para o cálculo estatístico global do estudo consideramos apenas as medidas da parede aórtica no local de folga do stent, uma vez que no local de compressão do stent a parede fica muito estreita. A identificação perfeita das estruturas de forma visual e pelo Software *Quantimet 500*, é mais precisa no local de folga do stent.

No entanto, as duas medidas (folga e compressão do stent) foram comparadas entre si para uma avaliação secundária, pois, a pressão exercida pelo stent na parede aórtica pode ser um fator importante na fisiopatologia da integração endoprótese com a parede aórtica.

Figura 18: Corte longitudinal da aorta (Masson), com identificação do local de impressão do stent de nitinol e o local de folga com hiperplasia intimal:

A) Panorâmica

B) Aumento 4x: visualização do ponto de compressão (seta azul) e folga do sten (seta negra).

Para uma análise complementar, em cada uma dessas regiões da lâmina histológica foram avaliadas separadamente as estruturas em 3 regiões da parede aórtica: no terço interno (próximo à íntima), no terço médio e no terço externo (próximo à adventícia) da parede aórtica. Essas 3 regiões foram comparadas entre si, a fim de identificar o local da parede aórtica que sofreu maior alteração.

Imunohistoquímica:

A identificação de células musculares dos vasos e endotélio, conforme descrito por Reis et al.²⁴ e por Koike et al.²⁵ foram avaliados por reação de imunohistoquímica: pesquisa de α -actina músculo-liso. Secções de tecido foram incubadas durante a noite em uma diluição de 1:500 do anticorpo de rato anti-humano α -actina músculo liso (Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) à 4°C. Os cortes foram então incubados em um kit de peroxidase estreptavidina-biotina (Dako LSAB + kit; Dako, Carpinteria, CA, EUA), e diaminobenzidina para o desenvolvimento de cor. Finalmente, os cortes foram fracamente contra-corados com hematoxilina. Células musculares lisas vasculares com coloração intensa foram definidas como positivas para α -actina.

Apoptose de células da parede aórtica: A detecção de morte celular *in situ* realizada através do método do TUNEL. Essa técnica seguiu protocolo descrito previamente.^{26,27} O procedimento foi realizado com cortes histológicos de 5 mm de espessura embebidos em parafina e fixadas em formalina. Os cortes foram desparafinados em xilol e reidratados, e sequencialmente foram pré-tratados com proteinase K (Gibco, Gaithersburg, MD) em uma diluição de 20µg/mL em 10mM Tris/HCL, pH 7,5 por 15 min na temperatura de 32 - 35 °C. Os cortes foram lavados em 0,1 M tampão fosfato (PBS), pH 7,3; e incubadas em atmosfera úmida de 37°C por 60 min em 50 µL

da combinação da reação de acoplamento com fluoresceína TUNEL (Boehringer, Mannheim, Alemanha). Seções da aorta que apresentaram números elevados de apoptose das células intersticiais foram identificadas como o controle positivo.

A avaliação da quantidade de células foi contabilizada de acordo com o número encontrado por campo (20X):

0= nenhuma célula apoptótica

+ = de 1 a 4 células apoptóticas

++ = de 5 a 10 células apoptóticas

+++ = acima de 10 células apoptóticas

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Estatística do Teste de Biomecânica: Dados específicos das medidas morfométricas, diâmetros pré e pós-operatórios da aorta, grau de migração e de colapso foram comparados. Os dados dos testes biomecânicos também foram analisados. Os testes de ANOVA, “post-hoc”, e de Wilcoxon pareado foram realizados. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

Estatística da Histologia: Os dados quantitativos analisados foram expressos em média aritmética (M), desvio padrão (DP) e intervalo de confiança da média, para 95% (I.C.±95%). Na elaboração gráfica foram utilizados a média aritmética e o respectivo intervalo de confiança, para 95%. Outros dados de natureza qualitativa foram calculados em percentuais. Para análise de dados qualitativos (TUNEL), estes foram apresentados como frequências.

Para a avaliação da variação entre as médias aritméticas dos 5 grupos foi utilizada a Análise de Variância, segundo um critério de classificação. Em seguida foi aplicado o teste “post-hoc” de Newman-Keuls, entre todos os pares possíveis de grupos. Confirmamos os dados com o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas com o software Statistica for Windows (versão 8.0; StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

4. Resultados

As medidas de peso dos animais, diâmetros pré e pós operatórios da aorta na região justa-subclávia não tiveram diferença estatística. No entanto, a região pré-subclávia apresenta aumento do diâmetro médio após 30 dias do implante (tabela 1), possivelmente relacionado ao crescimento do animal (p : 0,013662). As medidas dos diâmetros após 5 cm e após 10 cm da subclávia apresentaram diminuição após 30 dias, provavelmente relacionada a hiperplasia intimal reacional conforme identificado na figura 19. O controle angiográfico no pós operatório não identificou nenhum vazamento, e nenhuma migração distal da endoprótese.

A aorta e o esôfago não apresentavam qualquer sinal de lesão isquêmica externa. Os tecidos peri-aórticos estavam preservados, com poucas aderências. Nesse modelo, não identificamos qualquer tipo de alteração na vascularização esofágica. As próteses estavam totalmente integradas na parede aórtica, com uma camada de neoíntima cobrindo toda a superfície interna da endoprótese.

Tabela 1. Descrição dos diâmetros pré e pós operatórios: médias, desvio padrão e valor de p (t -Student).

<i>Diâmetros (mm)</i>	<i>Pré-operatório</i>		<i>Pós-operatório</i>		<i>Valor de p</i>
	Média	DP¹	Média	DP¹	
Pré-Subclávia	21.7	1.84	22.17	1.85	0,013662*
Justa-Subclávia	20.6	1.46	20.71	1.51	0,432246
Pós 5cm	18.04	1.4	17.17	1.28	0,002248*
Pós 10 cm	17.57	1.23	16.71	1.16	0,001560*

DP: desvio padrão¹

Figura 19: Controle angiográfico (30 dias): evidencia imagem sugestiva de hiperplasia intimal, causando diminuição da luz da aorta.

TESTE DO DESTACAMENTO:

Os resultados do teste de “Destacamento” demonstraram que uma maior força foi necessária para remover a endoprótese da aorta torácica nos grupos C e D (tabela 2 e gráfico 3), porém, não houve significância estatística ($p= 0,881204$). A deformação sofrida pela aorta foi similar nos quatro grupos, no entanto, houve ruptura da aorta durante o teste em um caso no Grupo C e um caso no Grupo D. (figura 20 e 21).

Tabela 2. Força de destacamento e deformação do espécime durante o teste de destacamento ($p=0,881204$).

GRUPO	Força de Destacamento (N)	DP ¹	Deformação (mm)	DP ¹
A	42,44	12,4	22	2,9
B	41,33	13,0	26	8,2
C	46,08	11,2	24	3,7
D	45,95	9,2	27	4,6

DP: desvio padrão¹

Gráfico 3: Média da Força de destacamento (N) em cada grupo, com o intervalo de confiança entre 95%.

Figura 20. Ruptura aórtica durante teste em um caso do Grupo D.

Figura 21. Ruptura aórtica durante teste em um caso do Grupo C.

TESTE DE BIOMECÂNICA:

Os fragmentos aórticos removidos para o teste biomecânico foram comparados quanto ao comprimento, largura e espessura. Todos os fragmentos apresentavam comprimento e largura semelhantes nos cinco grupos analisados (tabela 3). A espessura média dos fragmentos do Grupo D foi estatisticamente maior quando comparada a espessura do Grupo A e do Grupo Controle ($p= 0,02927$ e $p= 0,01352$ respectivamente).

Tabela 3. Média e Desvio padrão das medidas dos fragmentos: comprimento, largura e espessura (em mm).

GRUPO	Comprimento	DP ¹	Largura	DP ¹	Espessura	DP ¹
A	22,08	1,33	4,44	0,32	2,32	0,15
B	21,65	0,90	4,52	0,34	2,41	0,27
C	21,66	1,90	4,64	0,43	2,44	0,23
D	22,41	1,26	4,67	0,18	2,58	0,22
Controle	21,10	0,84	4,53	0,23	2,28	0,33

DP: desvio padrão¹

Testes biomecânicos destrutivos uniaxiais de fragmentos da aorta:

Foram analisados três resultados do teste de biomecânica: Força Máxima, Tensão Máxima e Estresse Máximo suportado pelo fragmento. Com relação a força máxima suportada pelo espécime, o grupo Controle apresentou uma resistência maior (11,67 N) quando comparado aos outros quatro grupos (tabela 4), com diferença significativa ($p= 0,0000001$). A conformação do gráfico demonstra uma queda linear na força suportada pelo fragmento nos grupos submetidos a um *oversizing* maior (Gráfico 4). Quando comparados os grupos, o Grupo A (9,31 N) apresenta diferença significativa em relação ao Grupo D (7,46 N), $p= 0,0459$.

Tabela 4. Resultado do teste de biomecânica: Força Máxima, Tensão Máxima e Estresse Máximo suportado pelo fragmento. Média dos valores e Desvio Padrão.

GRUPO	Força Máxima ¹	DP ²	Tensão Máxima ³	DP ²	Estresse ⁴	DP ²
A	9,31	1,13	2,10	0,27	0,90	0,11
B	8,93	1,10	1,98	0,23	0,84	0,17
C	8,12	2,26	1,74	0,42	0,71	0,19
D	7,46	1,72	1,60	0,38	0,62	0,14
Controle	11,67	2,75	2,59	0,269	1,17	0,42

Força Máxima¹: Newtons; DP²: desvio padrão; Tensão Máxima³: N/mm; Estresse⁴: N/mm².

Gráfico 4: Força máxima suportada pelo fragmento (N) em cada grupo, com o intervalo de confiança entre 95%.

O Estresse e a Tensão Máxima suportada pelo fragmento aórtico testado apresentaram resultados semelhantes à Força Máxima, isto é, o grupo controle apresenta uma resistência maior a ruptura do fragmento ($p= 0,0000001$). No entanto, as diferenças notadas entre os grupos e o grupo controle foram mais acentuadas, notando-se a relação linear entre o aumento no *oversizing* com o enfraquecimento da parede aór-

tica. Tanto na análise do Estresse quanto na análise da Tensão Máxima, o Grupo D apresentou diferença significativa quando comparado ao Grupo A e ao Grupo B, $p=0,0000001$ (Tabela 4, e Gráfico 5 e 6).

Gráfico 5: Estresse Máximo suportado pelo fragmento (N/mm^2) em cada grupo, com o intervalo de confiança entre 95%.

Gráfico 6: Tensão Máxima suportado pelo fragmento (N/mm) em cada grupo, com o intervalo de confiança entre 95%.

O *Strain* ($L_1 - L_0/L_0$) e a Deformação absoluta sofrida pelo fragmento refletem as propriedades elásticas da aorta. O Grupo Controle apresentou uma média calculada do *Strain* e de deformação máxima significativamente maior quando comparada a todos os outros grupos, $p=0,0000001$. A comparação entre os grupos A, B, C e D demonstrou resultados muito semelhantes entre eles, sem nenhuma diferença estatística (Tabela 5, Gráfico 7).

Tabela 5. Média dos valores do teste de biomecânica dos fragmentos nos 5 grupos: Deformação e *Strain*.

GRUPO	<i>STRAIN</i>	DP ¹	Deformação (mm)	DP ¹
A	0,84	0,08	18,67	1,53
B	0,82	0,10	17,82	2,10
C	0,83	0,11	18,01	2,39
D	0,79	0,17	17,72	4,05
Controle	1,11	0,17	23,62	3,72

DP: desvio padrão¹

Gráfico 7: Média do *Strain* calculado em cada grupo, com o intervalo de confiança entre 95%.

Os testes de biomecânica da parede aórtica foram realizados em 3 regiões conforme descrição prévia (X, Y e Z). A região Z foi delicadamente dissecada da endoprótese antes do teste do destacamento, pois estava localizada no terço distal (local convencionado para que a endoprótese fosse presa ao sistema de teste). As regiões X e Y estavam no terço proximal e médio, e foram preparadas para o teste biomecânico após o teste do destacamento. O fragmento de aorta preparado para o teste de biomecânica das regiões X e Y foram cuidadosamente selecionados, certificando-se de que não apresentassem lesões macroscópicas após o teste do destacamento. Vale ressaltar que a força aplicada no teste de destacamento é longitudinal à aorta, enquanto que no teste de biomecânica é transversal à aorta.

A fim de validar o teste de biomecânica, comparamos todos os dados das regiões X, Y e Z, e não encontramos diferença estatística significativa entre as 3 regiões conforme demonstrado nas tabelas 6 e 7. Os dados das regiões X, Y e Z também foram comparados ao grupo controle, conforme tabela 8: sem diferença estatística.

Tabela 6. Dados dos testes de biomecânica das regiões X, Y e Z dos Grupos A, B, C e D: Média e Desvio Padrão.

TESTE/REGIÃO	X		Y		Z	
	Média	DP ¹	Média	DP ¹	Média	DP ¹
Força Máxima ²	8,74	1,46	8,81	1,52	7,80	2,06
Tensão Máxima ³	1,95	0,35	1,92	0,34	1,69	0,39
Estresse Máximo ⁴	0,79	0,18	0,81	0,18	0,70	0,19
Strain	0,82	0,11	0,84	0,12	0,80	0,13
Deformação ⁵	23,47	2,88	18,49	2,74	17,16	2,61

DP: desvio padrão¹ Força Máxima²:; Tensão Máxima³: N/mm; Estresse⁴: N/mm², Deformação⁵: mm.

Tabela 7. Teste estatístico ANOVA entre as regiões X, Y e Z dos Grupos A, B, C e D.

Teste Biomecânico	Valor de <i>p</i>
Força Máxima	0,263613
Tensão Máxima	0,119111
Estresse Máximo	0,254030
Strain	0,620348
Deformação	0,259295

Tabela 8. Dados dos testes de biomecânica das regiões X, Y e Z do Grupo Controle: Média e Desvio Padrão.

TESTE/REGIÃO	X		Y		Z	
	Média	DP ¹	Média	DP ¹	Média	DP ¹
Força Máxima ²	12,18	3,74	11,17	1,92	11,66	2,86
Tensão Máxima ³	2,80	1,02	2,41	0,39	2,55	0,58
Estresse Máximo ⁴	1,30	0,60	1,09	0,21	1,12	0,42
Strain	1,08	0,08	1,13	0,22	1,14	0,22
Deformação ⁵	23,47	2,88	24,05	4,36	23,32	4,56

DP: desvio padrão¹ Força Máxima²:: Tensão Máxima³: N/mm; Estresse⁴: N/mm², Deformação⁵: mm.

RESULTADOS DA HISTOLOGIA:

1) Colágeno:

A porcentagem de colágeno presente na parede aórtica apresentou um aumento no grupo A e B comparativamente ao grupo controle (tabela 9 e gráfico 8), porém, sem diferença estatística entre os grupos (teste ANOVA – $p=0,5604$).

Tabela 9. Porcentagem de colágeno na parede aórtica (média e desvio padrão).

GRUPO	Colágeno (média)	DP
A	18,15	13,18
B	15,14	8,73
C	12,69	7,94
D	13,89	9,23
Controle	13,84	6,20

DP: desvio padrão¹

Gráfico 8: Quantidade média de Colágeno (%) na parede aórtica nos cinco grupos (média e I.C.±95%).

2) Fibra Muscular:

A porcentagem de fibra muscular presente na parede aórtica apresentou um declínio importante e gradativo em todos os grupos quando comparados ao grupo controle ($p=0,000198$), como demonstrado nas tabelas 10 e 11. A diferença de colágeno e de fibra muscular entre os grupos pode ser visualizada nos cortes histológicos das figuras 22, 23 e 24. No entanto, apesar da queda linear na quantidade de fibra muscular, não há diferença significativa entre os grupos A,B,C e D (gráfico 9).

Tabela 10. Porcentagem de fibra muscular na parede aórtica (média e desvio padrão).

GRUPO	Fibra Muscular (média)	DP
A	31,74	17,20
B	29,41	13,57
C	27,27	8,66
D	23,25	7,95
Controle	46,18	16,80

DP: desvio padrão¹

Tabela 11. Análise Estatística (teste de Newman-Keuls) - Fibras Musculares: Comparação dos Grupos com os valores de p .

GRUPO / Valor p	A	B	C	D
A	-	0,636028	0,634362	0,315295
B	0,636028	-	0,663619	0,424591
C	0,634362	0,663619	-	0,415489
D	0,315295	0,424591	0,415489	-
Controle	0,004488	0,003046	0,001506	0,000242

*em vermelho: diferença estatística significativa.

Gráfico 9: Quantidade média de Fibras de Musculares (%) na parede aórtica nos cinco grupos (média e I.C.±95%).

Figura 22: Corte histológico (Masson) do grupo Controle, colágeno identificado em azul e fibra muscular em vermelho:

A) Aumento 4x:

**B) Aumento
20x: terço
médio:**

Figura 23: Corte histológico (Masson) de uma aorta do grupo A, colágeno identificado em azul e fibra muscular em vermelho:

A) Aumento 4x: identificado aumento de colágeno e diminuição de fibra muscular na camada média:

B) Aumento 8,6x: terço interno.

Figura 24: Corte histológico (Masson) de uma aorta do grupo D, colágeno identificado em azul e fibra muscular em vermelho:

B) Aumento 4x: identificado aumento de colágeno e diminuição de fibra muscular na camada média.

B) Aumento 8,2x: terço interno.

Na avaliação secundária dos três terços da parede aórtica, identificamos uma maior diminuição de fibra muscular lisa no terço interno da parede aórtica no local de impressão do stent quando comparado ao local de folga do stent ($p=0,006145$).

3) Fibra Elástica:

A análise da quantidade de fibra elástica na parede aórtica demonstrou uma queda acentuada e significativa de todos os 4 grupos quando comparada ao grupo controle; $p=0,0000001$ (tabela 12 e Gráfico 10). Porém, não há diferença na comparação entre os grupos A, B, C e D (tabela 13). Essa mudança no padrão da parede aórtica pode ser visualizada nos cortes histológicos mostrados nas figuras 25 e 26.

Tabela 12. Porcentagem de Fibra Elástica na parede aórtica (média e desvio padrão).

GRUPO	Fibra Elástica (média)	DP ¹
A	23,61	10,15
B	25,46	8,5
C	25,87	12,07
D	22,33	6,48
Controle	55,06	10,82

DP: desvio padrão¹

Tabela 13. Análise Estatística (teste de Newman-Keuls) - Fibra Elástica: Comparação dos Grupos com os valores de p .

GRUPO / Valor p	A	B	C	D
A	-	0,610781	0,806527	0,725010
B	0,610781	-	0,909322	0,664218
C	0,806527	0,909322	-	0,761743
D	0,725010	0,664218	0,761743	-
Controle	<i>0,000151</i>	<i>0,000112</i>	<i>0,000112</i>	<i>0,000125</i>

*em vermelho: diferença estatística significativa

Figura 25: Corte histológico (VanGieson) de uma aorta do grupo controle, fibra elástica identificada na cor negra:

A) Aumento 4x:

B) Aumento 20x: terço médio:

Figura 26: Corte histológico (VanGieson) de uma aorta do grupo D, fibra elástica identificada na cor negra:

A) Aumento 3x:

B) Aumento 20x: terço médio:

Gráfico 10: Quantidade média de Fibras Elásticas (%) na parede aórtica nos cinco grupos (média e I.C.±95%).

A comparação da quantidade de fibras elástica (VanGieson) nos 3 terços da parede aórtica apresentou resultado semelhante à análise das fibras musculares (Masson), isto é, a quantidade de fibra elástica na parede aórtica demonstra uma diminuição significativa no terço interno da parede aórtica no local de impressão do stent quando comparado ao local de folga do stent ($p: 0,025190$).

Além de todos os achados já mencionados, em uma lâmina de aorta do grupo D (*oversizing* maior que 40%), nós identificamos uma imagem sugestiva de formação de um aneurisma na parede aórtica. A análise histológica demonstrou uma intensa desorganização das fibras da parede, diminuição acentuada das fibras musculares e formação de um trombo mural (figura 28)

Figura 27: Corte histológico (Masson) de uma aorta do grupo D - Aneurisma de Parede, fibra elástica identificada na cor negra:

A) Aumento 5x:

B) Aumento 11x: terço interno.

**B) Aumento 11x:
VanGieson terço interno –
fibra elástica em negro**

RESULTADOS DA IMUNOHISTOQUÍMICA:

4) α -Actina:

O método imunohistoquímico para identificação de musculatura lisa na parede aórtica é a α -Actina, conforme visualizado nos cortes histológicos das figuras 29 e 30. A análise da quantidade de α -Actina na parede aórtica demonstrou uma redução significativa de todos os grupos quando comparado ao grupo controle (tabela 14 e 15). Da mesma forma que na avaliação das fibras musculares (Masson), não foi observado mudança significativa entre os 4 grupos (gráfico 11).

Tabela 14. Porcentagem de α -Actina na parede aórtica (média e desvio padrão).

GRUPO	α -Actina (média)	DP ¹
A	18,62	9,29
B	19,29	7,16
C	16,40	8,23
D	17,26	5,86
Controle	29,70	2,76

DP: desvio padrão¹

Tabela 15. Análise Estatística (teste de Newman-Keuls) - α -Actina: Comparação dos Grupos com os valores de p .

GRUPO / Valor p	A	B	C	D
A	-	0,834413	0,763626	0,669535
B	0,834413	-	0,798428	0,798931
C	0,763626	0,798428	-	0,786775
D	0,669535	0,798931	0,786775	-
Controle	<i>0,003059</i>	<i>0,002064</i>	<i>0,001216</i>	<i>0,001694</i>

*em vermelho: diferença estatística significativa

Figura 28: Corte imunohistoquímico (α -Actina) de uma aorta do grupo Controle, fibra muscular lisa e endotélio identificados na coloração amarelada:

A) Aumento 4x:

B) Aumento 8,6x: terço médio:

Figura 29: Corte imunohistoquímico (α -Actina) de uma aorta do grupo C, fibra muscular lisa e endotélio identificados na coloração amarelada:

A) Aumento 5x:
perda do fenô-
tipo da α -
Actina na ca-
mada interna.

**B) Au-
mento
11x:**
terço
médio:

Gráfico 11: Quantidade média de α -Actina (%) na parede aórtica nos cinco grupos (média e I.C. $\pm$ 95%).

5) TUNEL:

A detecção de morte celular *in situ* foi avaliada através do método do TUNEL, que possibilita a identificação de células apoptóticas (visualizadas como verde fluorescente). A frequência de células contabilizadas foi de zero na maioria das lâminas (tabela 16). Apenas o grupo B apresentou uma frequência de células apoptóticas maior que 10 células por campo, conforme identificado na figura 30. O grupo controle foi o grupo que apresentou menor quantidade de células apoptóticas.

Tabela 16. Frequência de células apoptóticas na parede aórtica nos cinco grupos.

GRUPO	0	+	++	+++
A	86,67%	13,33%	0%	0%
B	66,67%	13,33%	6,67%	13,33%
C	80%	13,33%	6,67%	0%
D	80%	20%	0%	0%
Controle	92,31%	7,69%	0%	0%

0= nenhuma célula apoptótica

+ = de 1 a 4 células apoptóticas

++ = de 5 a 10 células apoptóticas

+++ = acima de 10 células apoptóticas

Figura 30: Técnica de TUNEL (grupo B), células apoptóticas identificadas em verde fluorescente:

A) Aumento 4x:

B) Aumento 10x: em aorta do grupo controle, sem nenhuma célula apoptótica identificada:

5. Discussão

Os testes biomecânicos demonstraram que a parede aórtica sofre alteração estrutural com o implante de endopróteses. Independentemente do nível de *oversizing* utilizado, a parede aórtica sofre uma perda considerável da sua elasticidade, conforme demonstrado nos resultados de biomecânica do cálculo do *Strain* e da Deformação Máxima. No entanto, os dados referentes à Força Máxima suportada, à Tensão Máxima suportada e ao Estresse da parede sofreram uma perda progressiva e linear com o aumento do *oversizing*. Este enfraquecimento da aorta torácica ficou evidente com a ruptura da aorta no teste de destacamento em dois casos com *oversizing* maior que 30%. O Estresse da parede reflete a força necessária para romper o fragmento aórtico indexado pela área do fragmento (N/mm^2). Apesar das 3 medidas de força apresentarem um resultado semelhante, o Estresse suportado pelo fragmento é o que melhor representa a resistência da aorta a ruptura, pois incorpora a área de secção transversa no seu cálculo.

Os testes biomecânicos foram realizados em 3 regiões diferentes da aorta torácica: X, Y e Z (próxima a subclávia, após 5 cm e após 10 cm da subclávia respectivamente). As regiões X e Y, foram submetidas ao teste biomecânico com fragmentos que já haviam sido submetidos a uma força de tração durante o teste do destacamento. Todas as 3 regiões apresentaram comportamento similar nos testes de força de ruptura e na avaliação da elasticidade da parede aórtica. Não houve diferença significativa entre as 3 regiões conforme demonstrado previamente nos resultados, o que

valida todos os dados calculados realizados.

Com os resultados da análise histopatológica, podemos inferir que quanto maior o sobredimensionamento da endoprótese, maior a lesão na parede aórtica. A resistência da parede aórtica é determinada pela quantidade adequada e organizada de fibra elástica e de colágeno que se distribui de maneira helicoidal na circunferência da aorta. A força de ruptura da parede apresenta um comportamento similar tanto na disposição transversal quanto longitudinal da aorta devido a esse entrelaçamento das fibras colágenas com as fibras elásticas, apesar de sofrer alterações com pressões muito elevadas.²⁸

A formação de colágeno na camada média é um processo de “cura” da parede aórtica frente à uma injúria.²⁹ Apesar de não encontrarmos diferença estatística na análise quantitativa das fibras colágenas entre os grupos, nossa avaliação subjetiva demonstra um aumento de fibras colágenas nos locais de maior dano da parede, com perda de fibras elástica e desorganização de fibras musculares. Com o aumento do *oversizing*, observamos uma evidente alteração qualitativa e organizacional na estrutura da parede aórtica.

Ocorreu uma redução considerável de quantidade de fibra muscular e de α -Actina de forma gradativa com o aumento do *oversizing*, o que pode estar relacionado com a perda da força suportada pela parede aórtica nos testes de biomecânica. As células musculares não são responsáveis por dar suporte a parede aórtica, no entanto, são provavelmente responsáveis pela reparação da parede danificada. Em nosso estudo, o tempo determinado para avaliação dessas interações foi de 4 semanas, e a quantidade de fibras musculares diminuiu significativamente com o grau de insulto à parede aórtica. Essa alteração quantitativa demonstrada na análise da Histologia e da

Imunohistoquímica pode estar relacionada com uma deficiência no mecanismo de reparo da parede aórtica nos grupos com maior *oversizing*, mesmo após 4 semanas do implante da endoprótese.

A avaliação histológica da quantidade de fibra elástica na parede aórtica foi pareada com os resultados dos teste de biomecânica, isto é, uma perda considerável da quantidade de fibra elástica da parede aórtica com o implante de uma endoprótese, independente do *oversizing* utilizado - perda de elasticidade na biomecânica (Strain e deformação máxima). Uma análise subjetiva demonstra que a integração das fibras elásticas e colágenas perderam seu formato ondulado, evidentes nas lâminas no grupo controle. Além disso, a identificação de um aneurisma de parede aórtica no grupo com maior *oversizing*, é uma forte indicativo de que a diminuição quantitativa de fibra elástica e a alteração da perfeita interação entre o colágeno e a fibra elástica altera a resistência da parede aórtica.

A técnica do TUNEL para avaliação de células apoptóticas não demonstrou diferença significativa entre os grupos, apesar de observarmos menos células apoptóticas no grupo controle. Os resultados dessa técnica ficaram comprometidos pelo tempo de duração do experimento, pois não temos a referência do momento exato em que a injúria celular (apoptose) possa ter ocorrido.

O mecanismo de lesão da parede aórtica com uso de endopróteses pode estar hipoteticamente relacionado à isquemia transmural, tanto por pressão direta quanto por obstrução do fluxo sanguíneo. Da mesma forma que em humanos, a aorta dos porcos depende da perfusão de nutrientes provenientes da vasa vasorum e também por via endoluminal³⁰. A utilização de endopróteses torácicas interrompe a perfusão endoluminal, além de ocluir as colaterais provenientes da aorta (vasa vasorum). A pressão

radial exercida pelo arcabouço metálico pode levar a uma isquemia focal da parede. Na análise histológica de nosso estudo, o local de maior compressão na aorta (stent metálico) apresentou uma redução significativa de fibra muscular e fibra elástica no terço interno da parede, quando comparado ao local que não sofreu essa pressão direta do stent (folga do stent). Nas outras duas regiões (terço médio e terço externo) essas alterações não foram significativas.

Em nosso modelo experimental com porcos, não observamos qualquer evidência macroscópica de lesão isquêmica em órgãos próximos a aorta torácica, incluindo o esôfago.

O reparo endovascular de afecções da aorta torácica é uma opção válida de tratamento com risco relativo baixo quando comparado a cirurgia tradicional, no entanto, pode apresentar algumas complicações como vazamento, migração e colapso do stent.⁸⁻¹⁰ Para o melhor entendimento dos efeitos da endoprótese na aorta torácica faz-se necessário investigar vários aspectos da interação do stent com a parede aórtica (angulação, comprimento do stent e morfologia aórtica) e a influência no mecanismo de fixação, que é essencialmente mecânico e dependente do *oversizing*. Cálculos matemáticos complexos de interações tridimensionais das endopróteses com a parede aórtica infra-renal demonstram que a força de arrasto da prótese da parede aórtica é de 2 a 5 Newtons, podendo sofrer alterações com o tamanho do colo do aneurisma, angulação das artérias e pressão sanguínea³¹. Li et al.³¹ infere que os mecanismos de fixação da prótese devem ter força superior a esses valores para prevenir migração da prótese, sugerindo associação com outros mecanismos de fixação se possível. Além do *oversizing*, existem outras formas de fixação como o *free-flow* (stents proximais), as barbelas e os ganchos.^{15,32} Os ganchos (*barbs*) também sofrem

influência do sobredimensionamento utilizado conforme demonstrado por Kratzberg.³² De forma experimental, outros mecanismos também foram testados e influenciados pelo *oversizing*, como cola de fibrina.³³

Para o tratamento de aneurisma infrarenal, o *oversizing* ideal é definido como 20%.¹⁵ Mas para doenças da aorta torácica, especialmente para trauma, essa indicação é empírica.¹ Além disso, apenas recentemente estão disponíveis endopróteses em tamanho adequado para casos com diâmetro de aorta torácica menor do que 24 mm. Estudos pré-clínicos têm limitações em prever as reais complicações clínicas do *oversizing*, em parte devido as dificuldades em replicar as condições *in vivo*. Mecanismos com tubos plásticos e outros materiais não conseguem reproduzir as propriedades biomecânicas e elásticas da aorta torácica. Canaud et al.¹³ demonstraram em um estudo com aorta de cadáveres que algumas próteses disponíveis no mercado apresentam perda considerável da aposição proximal a medida que a aorta torna-se mais angulada. A prótese com melhor desempenho nos casos de angulação avaliada por Canaud et al.¹³ foi a Valiant. Esta alteração na fixação proximal fica acentuada a medida que se aumenta o *oversizing*, podendo levar, inclusive, a estenose hemodinamicamente significativa.¹³

Em relação ao tamanho relativo das próteses utilizadas, Mohan et al.³⁴ demonstrou que para o tratamento de aneurismas, a chance de vazamento diminui significativamente a medida que o dispositivo utilizado seja 10% maior que a aorta, e o intervalo de confiança fica mais estreito se for utilizado *oversizing* de até 20%. No entanto este *oversizing* pode levar a perda do contato proximal da prótese com a parede aórtica angulada. Além disso, pode levar a um aumento no estresse da parede, risco de dissecação proximal e danificação da parede aórtica friável em casos de trauma.⁶

Alguns autores têm sugerido que um *oversizing* entre 10 e 15% seja suficiente para alcançar ancoramento efetivo sem causar estresse aórtico significativo. No entanto, para casos de trauma, as próteses disponíveis e aprovadas até o momento desse estudo não foram desenhadas de forma dedicada para este fim, além de não terem o diâmetro apropriado para aortas menores.

A conformação mais angulada do arco aórtico em jovens é uma dificuldade anatômica que recebeu atenção apenas recentemente. Uma nova geração de endopróteses está em fase de estudo clínico, e pode vir a solucionar esse problema anatômico do arco.³⁵ A endoprótese *c(conformable)*-TAG® (W. L. Gore, Flagstaff, Ariz, EUA) apresenta como característica principal a adaptação a uma angulação aórtica acentuada. Um estudo clínico com a *c*-TAG® para uso em pacientes vítimas de trauma está em andamento desde novembro de 2009 (anexo 2). A Cook Medical introduziu um sistema de liberação chamado Pro-Form® (Cook Medical, Bloomington, Ind, EUA) em conjunto com uma prótese de baixo perfil (TX2 LP) que pode se adaptar a arcos angulados e com menores diâmetros. A endoprótese Valiant (Medtronic), utilizada nesse estudo, está sendo submetida a um “trial” para uso em casos de trauma com um novo sistema de liberação chamado Captivia (Medtronic, Calif, EUA) que pode melhorar a estabilidade e adaptação da prótese no arco aórtico. Este estudo tem previsão do término da primeira etapa em abril de 2012 (anexo 3).³⁵

Nenhum estudo prévio examinou a influência do *oversizing* de endopróteses torácica na alteração estrutural da parede aórtica. Em nosso estudo, utilizamos um modelo experimental que apresenta um diâmetro da aorta torácica semelhante ao do adulto jovem (19 mm), a vítima mais frequente de acidentes automobilísticos, e consequentemente sob maior risco de lesões da aorta torácica. Nós tentamos reproduzir

de forma controlada o implante de uma endoprótese na aorta torácica com 4 níveis diferentes de *oversizing*, avaliando as alterações biomecânicas e histopatológicas.

Nossos resultados demonstraram que o ancoramento da endoprótese na aorta foi semelhante em todos os grupos conforme os resultados do teste de destacamento. A força necessária para destacar a prótese da parede não apresentou diferença significativa no 4 grupos, sem nenhum caso de migração ou vazamento. A área de contato para o teste foi convencionada em 2/3 do comprimento da prótese (100 mm), e nossos dados sugerem que após 4 semanas de estudo a aderência da prótese na parede aórtica foi suficiente para um ancoramento eficiente com *oversizing* de 10-20%. O teste do “Destacamento” já foi realizado em aorta de cadáveres a fim de se encontrar uma relação entre o *oversizing*, a angulação aórtica e a boa aposição das endopróteses.¹³ Como conclusão, o autor refere uma relação importante entre o aumento do *oversizing* e a falta de aposição com a parede aórtica, apesar dos resultados apresentarem diferença nessa relação de acordo com o tipo de prótese utilizada.

Alguns autores referem que a incorporação das endopróteses na parede aórtica seja insuficiente³⁶⁻³⁷. A incorporação seria importante para integrar a prótese na parede aórtica e impedir a migração. Esses estudos foram realizados a partir de achados de autópsia e de cirurgias para explante de endopróteses em casos de aneurismas. Não há dados suficientes para definir se existe incorporação completa das endopróteses em aortas humanas não-ateroscleróticas e não-aneurismáticas. Estudos experimentais em porcos demonstram a formação de neointima na parede aórtica bem identificada em 4 semanas, e a integração completa da prótese com 12 semanas.³⁸ Nós identificamos uma pseudointima recobrimdo toda a luz da endoprótese, com incorporação completa da quase totalidade das endopróteses. Essa formação é composta de

uma matriz de células musculares, colágeno e fibrina, semelhante a uma neointima verdadeira. Também identificamos trombo mural em organização entre a prótese e a parede aórtica. Essas alterações são decorrentes de um processo de “cura” da parede vascular devido a pressão exercida por stents auto-expansíveis.³⁹

Figura 31: Incorporação da endoprótese e formação de Neoíntima.

A) Colo Proximal:
endoprótese integrada na
maior parte da circunfe-
rência aórtica.

B) Abertura do Colo Proximal:
endoprótese parcialmete aderida na
circunferência aórtica.

C) Colo Distal: Neoín-
tima recobrindo face
interna da endoprótese e
luz da aorta.

5.1. Limitações:

Nosso modelo de estudo foi experimental em porcos, o que nos propiciou um controle adequado de variáveis como raça, tamanho, peso, alimentação. No entanto, o comportamento biológico da aorta de porcos é diferente da aorta humana, evidenciada claramente pela reação intimal da aorta de porcos e da incorporação extremamente rápida da prótese na aorta torácica. Nosso modelo experimental apresenta uma aorta muito semelhante a do adulto jovem, isto é, sem aterosclerose e com diâmetro muito inferior a de aortas aneurismáticas. Utilizamos apenas um tipo de endoprótese (Valiant/Medtronic) que têm força radial suficiente para bom ancoramento e por apresentar resultados experimentais de melhor aposição na parede de aortas mais estreitas e anguladas.¹³

Outra variável é a duração do estudo, que necessitou de eutanásia dos animais após 4 semanas, devido ao rápido aumento de peso e possível crescimento da aorta em nosso modelo, o que poderia alterar os dados obtidos. Adicionalmente, o número total de apenas 25 animais também dificulta a capacidade de extrapolar os dados obtidos para condições clínicas reais.

6. Conclusão

Os quatro níveis de *oversizing* estudados não demonstraram diferença significativa no teste de destacamento.

Os testes biomecânicos destrutivos uniaxiais de fragmentos da aorta, em diferentes posições, mostraram uma diminuição na resistência da parede aórtica proporcional ao aumento do *oversizing*. A elasticidade da parede aórtica sofre alteração significativa independente do *oversizing* utilizado.

Os exames histopatológicos e imunohistoquímicos comprovaram o desarranjo na estrutura da parede aórtica com a utilização de endopróteses, resultando na diminuição da quantidade de fibras elásticas e musculares.

7. Anexos

7.1

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 21/10/2009, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0817/09**, intitulado: **"DETERMINAÇÃO DO IMPACTO DO DIÂMETRO DA ENDOPRÓTESE SOBRE A AORTA TORÁCICA. ESTUDO EXPERIMENTAL EM PORCOS"** apresentado pelo Departamento de **CIRURGIA**.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa [Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Erasma Simão da Silva**
 Pesquisador (a) Executante: **Igor Rafael Sincos**

CAPPesq, 22 de Outubro de 2009

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão de
Ética para Análise de Projetos
de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492 e-mail: cappelq@hcfm.usp.br / secretariacappelq2@hcfm.usp.br

7.2

Evaluation of the GORE Conformable TAG® for Treatment of Traumatic Transection – Full Text View – ClinicalTrials.gov

11/02/12 18:56

[Home](#) [Search](#) [Study Topics](#) [Glossary](#)

Study 1 of 6 for search of: gore trauma

[← Previous Study](#)[Return to Search Results](#)[Next Study →](#)[Full Text View](#)[Tabular View](#)[No Study Results Posted](#)[Related Studies](#)

Evaluation of the GORE Conformable TAG® for Treatment of Traumatic Transection

This study is enrolling participants by invitation only.

First Received on June 8, 2009. Last Updated on September 23, 2011 [History of Changes](#)

Sponsor:	W.L.Gore & Associates
Information provided by (Responsible Party):	W.L.Gore & Associates (W.L.Gore & Associates)
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT00917852

► Purpose

TAG 08-02 is a prospective, multicenter, single-arm study to evaluate the use of the CTAG Device in traumatic transection of the descending thoracic aorta.

Condition	Intervention
Thoracic Injuries	Device: Gore Conformable TAG Thoracic Endoprosthesis

Study Type: Interventional
 Study Design: Allocation: Non-Randomized
 Endpoint Classification: Safety/Efficacy Study
 Intervention Model: Single Group Assignment
 Masking: Open Label
 Primary Purpose: Treatment

Official Title: Evaluation of the **GORE** Conformable TAG® Thoracic Endoprosthesis for Treatment of Traumatic Transection of the Descending Thoracic Aorta

Resource links provided by NLM:

[MedlinePlus](#) related topics: [Chest Injuries and Disorders](#)

[U.S. FDA Resources](#)

Further study details as provided by W.L.Gore & Associates:

Primary Outcome Measures:

- The primary safety endpoint for this study is all-cause mortality incidence through 30 days post-treatment. [Time Frame: 30 days post-treatment] [Designated as safety issue: Yes]

7.3

Study to Determine if the Valiant Stent Graft is Safe and Effective in Treating Patients Who Have a Blunt Thoracic Aortic Injury - Full Text View - ClinicalTrials.gov

11/02/12 18:48

[Home](#) [Search](#) [Study Topics](#) [Glossary](#)

Full Text View

[Tabular View](#)[No Study Results Posted](#)[Related Studies](#)

Study to Determine if the Valiant Stent Graft is Safe and Effective in Treating Patients Who Have a Blunt Thoracic Aortic Injury (RESCUE)

This study is ongoing, but not recruiting participants.

First Received on March 16, 2010. Last Updated on January 26, 2012 [History of Changes](#)

Sponsor:	Medtronic Endovascular
Collaborator:	Medtronic
Information provided by:	Medtronic Endovascular
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT01092767

Purpose

The purpose of this study is to determine if the Valiant stent graft is safe and effective in treating patients who have a blunt thoracic aortic injury (BTAI). BTAI is when the aorta has been injured due to traumatic force to the chest area. It is commonly caused by motor vehicle accidents. In most cases it is life threatening and the standard treatment is surgery. Many times when a person has a BTAI they also have other injuries that can affect the results of the surgery.

Since stent grafting has been an effective way to treat other aortic conditions such as aneurysms (bulge in aorta wall), it is believed that the Valiant stent graft would be effective in treating BTAI. A stent graft is a woven polyester tube (graft) supported by a metal frame of strong but flexible nitinol (type of metal) springs (stent) that is placed in the aorta to help seal the injury and keep it from bleeding.

Condition	Intervention
Blunt Thoracic Aortic Injury	Device: Valiant Thoracic Stent Graft with the Captivia Delivery System

Study Type: Interventional
 Study Design: Allocation: Non-Randomized
 Endpoint Classification: Safety/Efficacy Study
 Intervention Model: Single Group Assignment
 Masking: Open Label
 Primary Purpose: Treatment

Official Title: Evaluation of the Clinical Performance of the Valiant Thoracic Stent Graft With the Captivia Delivery System for the Endovascular Treatment of Blunt Thoracic Aortic Injuries (RESCUE)

Resource links provided by NLM:

[Genetics Home Reference](#) related topics: [familial thoracic aortic aneurysm and dissection](#)

[MedlinePlus](#) related topics: [Aneurysms](#)

[U.S. FDA Resources](#)

8. Referências

1. Svensson LG, Kouchoukos NT, Miller DC, Bavaria JE, et al. Expert consensus document on the treatment of descending thoracic aortic disease. *Ann Thorac Surg* 2008; 85 (1 Suppl.): S1-41.
2. Neschis D, Scalea TM, Flinn WR, et al. Blunt aortic injury. *N Engl J Med*. 2008;359:1708–1716.
3. Midgley PI, MacKenzie KS, Corriveau MM, Obrand DI, Abraham CZ, Fata P, Steinmetz OK. Blunt aortic thoracic injury: A single institution comparison of open and endovascular management. *J Vasc Surg*. 2007;46:662-8, doi: 10.1016/j.jvs.2007.05.061.
4. Xenos ES, Abedi NN, Davenport DL, Minion DJ, Hamdallah O, Sorial EE, Endean ED. Meta-analysis of endovascular vs open repair for traumatic descending thoracic aortic rupture. *J Vasc Surg*. 2008 Nov;48(5):1343-51.
5. Tang GL, Tehrani HY, Usman A, Katariya K, Otero C, Perez E, Eskandari MK. Reduced mortality, paraplegia, and stroke with stent graft repair of blunt aortic transections: a modern meta-analysis. *J Vasc Surg*. 2008 Mar;47(3):671-5. Epub 2007 Nov 5.
6. Sincos IR, Aun R, Belczak SQ, et al. Endovascular and open repair for blunt aortic injury, treated in one clinical institution in Brazil: a case series. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66:267–274.
7. Belczak, S., Silva, E. S. D., Aun, R., Sincos, I. R., Belon, A. R., Casella, I. B., Gornati, V., et al. (2011). Endovascular treatment of peripheral arterial injury with covered stents: an experimental study in pigs *Clinics (São Paulo, Brazil)*, 66(8), 1425–1430.
8. Demetriades, D., Velmahos, G. C., Scalea, T. M., Jurkovich, G. J., Karmy-Jones, R., Teixeira, P. G., Hemmila, M. R., et al. (2008). Operative repair or endovascular stent graft in blunt traumatic thoracic aortic in-

- juries: results of an American Association for the Surgery of Trauma Multicenter Study. *The Journal of trauma*, 64(3), 561–70– discussion 570–1.
9. Tang GL, Tehrani HY, Usman A, Katariya K, Otero C, Perez E, Eskandari MK. Reduced mortality, paraplegia, and stroke with stent graft repair of blunt aortic transections: a modern meta-analysis. *J Vasc Surg*. 2008 Mar;47(3):671-5. Epub 2007 Nov 5.
 10. Idu MM, Reekers JA, Balm R, Ponsen KJ, de Mol BA, Legemate DA. Collapse of a stent-graft following treatment of a traumatic thoracic aortic rupture. *J Endovasc Ther*. 2005 Aug;12(4):503-7.
 11. Muhs BE, Balm R, White GH, Verhagen HJM. Anatomic factors associated with acute endograft collapse after Gore TAG treatment of thoracic aortic dissection or traumatic rupture. *J Vasc Surg*. 2007; 45: 655-61.
 12. Canaud, L., Joyeux, F., Berthet, J.-P., Hireche, K., Marty-Ané, C., & Alric, P. (2011). Impact of stent-graft development on outcome of endovascular repair of acute traumatic transection of the thoracic aorta *Journal of endovascular therapy*, 18(4), 485–490
 13. Canaud L, Alric P, Laurent M, Baum TP, Branchereau P, Marty-Ané CH, Berthet JP. Proximal fixation of thoracic stent-grafts as a function of oversizing and increasing aortic arch angulation in human cadaveric aortas. *J Endovasc Ther*. 2008 Jun; 15 (3):326-34
 14. Bandorski, D., Brück, M., Günther, H.-U., & Manke, C. (2010). Endograft collapse after endovascular treatment for thoracic aortic disease *CardioVascular and Interventional Radiology*, 33(3), 492–497.
 15. Sternbergh WC 3rd, Money SR, Greenberg RK, Chuter TA; Zenith Investigators. Influence of endograft oversizing on device migration, endoleak, aneurysm shrinkage, and aortic neck dilation: results from the Zenith Multicenter Trial. *J Vasc Surg*. 2004 Jan;39 (1):20-6.
 16. Eggebrecht, H., Mehta, R. H., Dechene, A., Tsagakis, K., Kühl, H., Hupstas, S., Gerken, G., et al. (2009). Aorto-esophageal fistula after thoracic aortic stent-graft placement: a rare but catastrophic complication of a

- novel emerging technique *JACC. Cardiovascular interventions*, 2(6), 570–576.
17. Fioranelli, Alexandre et al. “Tratamento Endovascular Para Dissecção De Aorta Torácica Tipo B De Stanford Complicada: Fatores Relacionados À Mortalidade E Seguimento À Médio Prazo Com Angiotomografia De Múltiplos Canais” Santa Casa – São Paulo – 2009.
 18. Fioranelli, Alexandre et al. Mortality within the endovascular treatment in Stanford type B aortic dissections. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, June 2011, vol.26, no.2, p.250-257. ISSN 0102-7638
 19. Raghavan, M. L., Hanaoka, M. M., Kratzberg, J. A., de Lourdes Higuchi, M., & da Silva, E. S. (2011). Biomechanical failure properties and microstructural content of ruptured and unruptured abdominal aortic aneurysms *Journal of biomechanics*, 44(13), 2501–2507.
 20. Raghavan, M. L., Kratzberg, J. A., & Golzarian, J. (2005). Introduction to biomechanics related to endovascular repair of abdominal aortic aneurysm *YTVIR*, 8(1), 50–55.
 21. Raghavan, M. L., Webster, M. W., & Vorp, D. A. (1996). Ex vivo biomechanical behavior of abdominal aortic aneurysm: assessment using a new mathematical model *Annals of biomedical engineering*, 24(5), 573–582.
 22. Raghavan ML, Kratzberg J, Castro de Tolosa EM, Hanaoka MM, Walker P, da Silva ES. (2006). Regional distribution of wall thickness and failure properties of human abdominal aortic aneurysm. *Journal of biomechanics*, 39(16), 3010–3016.
 23. van der Bas, J. M. A., Quax, P. H. A., van den Berg, A. C., Visser, M. J. T., van der Linden, E., & van Bockel, J. H. (2004). Ingrowth of aorta wall into stent grafts impregnated with basic fibroblast growth factor: a porcine in vivo study of blood vessel prosthesis healing. *YMVA*, 39(4), 850–858.
 24. Reis MM, Higuchi Mde L, Aiello VD, Benvenuti LA. Reis MM, Higuchi Mde L, Aiello VD, Benvenuti LA. Growth factors in the myocardium of patients with chronic chagasic cardiomyopathy. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2000 Nov-Dec;33(6):509-18.

25. Koike, M. K., de Carvalho Frimm, C., & de Lourdes Higuchi, M. Bradykinin B2 receptor antagonism attenuates inflammation, mast cell infiltration and fibrosis in remote myocardium after infarction in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*. 2005; 32(12), 1131–1136.
26. Metzger M, Higuchi ML, Moreira LF, Chaves MJ, Castelli JB, Silvestre JM, Bocchi E, Stolf N, Ramires JA. Relevance of apoptosis and cell proliferation for survival of patients with dilated cardiomyopathy undergoing partial left ventriculectomy. *Eur J Clin Invest*. 2002 Jun;32(6):394-9.
27. Higuchi Mde L, Reis MM, Sambiase NV, Palomino SA, Castelli JB, Gutierrez PS, Aiello VD, Ramires JA. Coinfection with *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in ruptured plaques associated with acute myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol*. 2003 Jul;81(1):12-22, 1-11. Epub 2003 Jul 31
28. Mohan, D., & Melvin, J. W. (1982). Failure properties of passive human aortic tissue. I - Uniaxial tension tests. *Journal of biomechanics*, 15(11), 887–902. 1982.
29. White, J. G., Mulligan, N. J., Gorin, D. R., D'Agostino, R., Yucel, E. K., & Menzoian, J. O. (1998). Response of normal aorta to endovascular grafting: a serial histopathological study. *Archives of surgery (Chicago, Ill)*, 133(3), 246–249.
30. Wolinsky, H., & Glagov, S. (1967). Nature of species differences in the medial distribution of aortic vasa vasorum in mammals. *Circulation research*, 20(4), 409–421.
31. Li, Z., & Kleinstreuer, C. (2005). Blood flow and structure interactions in a stented abdominal aortic aneurysm model *Medical engineering & physics*, 27(5), 369–382.
32. Kratzberg, J. A., Golzarian, J., & Raghavan, M. L. (2009). Role of graft oversizing in the fixation strength of barbed endovascular grafts *Journal of vascular surgery*: 49(6), 1543–1553.
33. Almeida, M. J., Yoshida, W. B., Hafner, L., Sequeira, J., Santos, Dos, J. H., Masseno, A. P. B., Moreno, J. B., et al. (2011). Biomechanical and

- histologic analysis in aortic endoprosthesis using fibrin glue, *Journal of vascular surgery*: 53(5), 1368–1374.
34. Mohan IV, Laheij RJF, Harris PL. Risk factor for endoleak and the evidence for stent-graft oversizing in patients undergoing endovascular aneurysm repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2001; 21:344-349.
 35. Lee, W. A., Matsumura, J. S., Mitchell, R. S., Farber, M. A., Greenberg, R. K., Azizzadeh, A., Murad, M. H., et al. (2011). Endovascular repair of traumatic thoracic aortic injury: clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery. *Journal of vascular surgery*, 53(1), 187–192.
doi:10.1016/j.jvs.2010.08.027
 36. Shin CK, Rodino W, Kirwin JD, Ramirez JA, Wisselink W, Papierman G, Panetta TF. Histology and electron microscopy of explanted bifurcated endovascular aortic grafts: evidence of early incorporation and healing. *J Endovasc Surg* 1999;6(3):246—50
 37. Major, A., Guidoin, R., Soulez, G., Gaboury, L. A., Cloutier, G., Sapoval, M., Douville, Y., et al. (2006). Implant degradation and poor healing after endovascular repair of abdominal aortic aneurysms: an analysis of explanted stent-grafts *Journal of endovascular therapy: an official journal of the International Society of Endovascular Specialists*, 13(4), 457–467.
 38. Siegenthaler, MP; Celik, R; Haberstroh, J; et al. Thoracic endovascular stent grafting inhibits aortic growth: an experimental study. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008 Jul;34(1):17-24.
 39. White, J. G., Mulligan, N. J., Gorin, D. R., D'Agostino, R., Yucel, E. K., & Menzoian, J. O. (1998). Response of normal aorta to endovascular grafting: a serial histopathological study. *Archives of surgery (Chicago, Ill. : 1960)*, 133(3), 246–249.