

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA E ANATOMIA

JÉSSYCA MICHELON BARBOSA

Comparação do perfil dos mediadores inflamatórios, metaloproteinases 2 e 9 e seus inibidores teciduais 1 e 2 na aorta e no plasma de pacientes com aneurisma de aorta abdominal e controles

Ribeirão Preto

2022

JÉSSYCA MICHELON BARBOSA

Comparação do perfil dos mediadores inflamatórios, metaloproteinases 2 e 9 e seus inibidores teciduais 1 e 2 na aorta e no plasma de pacientes com aneurisma de aorta abdominal e controles

Versão Corrigida

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

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Clínica Cirúrgica

Orientadora: Prof. Dra. Christiane Becari

Ribeirão Preto

2022

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

Barbosa, Jéssyca Michelon

Comparação do perfil dos mediadores inflamatórios, metaloproteinases 2 e 9 e seus inibidores teciduais 1 e 2 na aorta e no plasma de pacientes com aneurisma de aorta abdominal e controles. Ribeirão Preto, 2022.

91 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Clínica Cirúrgica.

Orientador: Becari, Christiane.

1. Aneurisma de aorta abdominal. 2. Aorta. 3. Metaloproteinases-2.
4. Metaloproteinases-9. 5. TIMP-1. 6. TIMP-2. 7. Mediadores inflamatórios.
8. Doadores de tecido.

FOLHA DE APROVAÇÃO

MICHELON-BARBOSA, Jéssyca

Comparação do perfil dos mediadores inflamatórios, metaloproteinases 2 e 9 e seus inibidores teciduais 1 e 2 na aorta e no plasma de pacientes com aneurisma de aorta abdominal e controles

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em 21/01/22

Banca Examinadora

Prof.(a)Instituição: Edilson Dantas da Silva Júnior/ UFRN

Julgamento: APROVADO

Prof.(a) Instituição: Rita Tostes - Departamento de Farmacologia da FMRP-USP

Julgamento: APROVADO

Trabalho realizado no Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto- USP sob a orientação da Profa. Dra. Christiane Becari, com apoio financeiro da Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - Processos n°2017/21539-6; n°2019/21721-4) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

DEDICATÓRIAS

*Dedico este trabalho ao meu irmão **Sérgio Porto Barbosa Júnior (in memoriam)**, por ter me ensinado o amor, carinho e melhor compreensão da vida.*

“A saudade eterniza a presença de quem se foi. Com o tempo a dor aquieta. Se transforma em silêncio que espera pelos braços da vida um dia reencontrar.”

Pe. Fábio de Melo

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela vida, força, sabedoria, conquistas e o dom de amar à ciência e a fisioterapia.

Aos **meus pais**, especialmente **minha mãe Sônia Maria Michelin Barbosa**, por sempre confiar em meu potencial e estar sempre ao meu lado.

Ao **meu Pai Sérgio Porto Barbosa**, por ser exemplo de caráter e honestidade.

A **minha irmã Ornella Michelin Barbosa**, por estar presente em todos os momentos de minha vida.

Ao **meu irmão Sérgio Porto Barbosa Júnior**, que apesar de separados, sempre estará olhando por mim onde quer que esteja.

Ao **Professor Paulo Roberto Barbosa Évora**, que gentilmente e confiando em meu potencial me acolheu em seu laboratório. Alguns mestres marcam nossa vida e você é um deles. Agradeço por tudo que me ensinou, professor!

À **minha orientadora Christiane Becari**, com prontidão ter me ajudado, ensinado e me guiado no decorrer deste trabalho. Obrigada pela paciência, conselhos e instruções. Meu profundo e eterno agradecimento.

Aos **membros da banca**, pelo apoio. Minha eterna admiração por vocês.

Aos **queridos amigos** Vanessa Nakagi, Agnes Afrodite, Claudia Sares, Vinícius Flora, Rebeca Figueira, Fabíola Mestriner, Lígia Campos, Ariel Couto, Bruno, Pedro, Dani, Carolina, Maria Júlia e Jociany que me acompanharam durante o mestrado e dedicaram tempo e amor contribuindo com minha trajetória. Posso dizer que minha formação não teria sido a mesma sem vocês. Pois nos ensinamentos da ciência, foram amigos, ensinaram a agir com dignidade, honestidade e respeito. Como lição, aprendi ainda a ser grata e humana. Com seus exemplos, aprendi ser perseverante e justa. Acreditaram em mim e hoje sou fruto dessa confiança.

Aos **amigos de alma e vida** Carlos Corsi, Tauana Vasconcelos, Marelaine Prandi e Cecília Jordani por todas as reuniões, discussões, elogios e incentivos, sempre mostrando o meu melhor. “A importância de uma verdadeira amizade não é só quando celebramos. E sim quando

somos abrigo, amigos, irmãos, quando estendemos as mãos e quando doamos nosso coração!”
(PEJJOTA PIRES)

A todos os professores, que compartilharam experiências, conhecimentos e conselhos contribuindo para esta jornada. Minha eterna gratidão. Especialmente à Professora Maria Auxiliadora Martins, Mayra Meneguetti, Paulo Évora e Maurício Ribeiro.

Aos funcionários de toda FMRP-USP, Departamento de Cirurgia e Anatomia e Cirurgia Experimental, especialmente Juliana, Carlos, Daniel, Luciana, Andreia, Clarice e Jorge pela paciência, prontidão e dedicação constantes.

À toda equipe da Cirurgia Vascular, especialmente Professor Maurício Ribeiro e Edwaldo Joviliano pelo apoio, paciência, solidariedade e disposição ao dom de ensinar.

O presente trabalho foi realizado com apoio da FAPESP, e agradeço esta agência de fomento por contribuir com meu estudo e formação!

Por fim, a todos os pacientes e familiares, pois diante de minha inexperiência tornaram-se as pessoas mais importantes para meu aprendizado e avanço da ciência. Hoje o que ficou foi uma magnífica lição de amor e fraternidade.

“Em tudo dai graças em toda e qualquer circunstância, porquanto essa é a vontade de Deus em Cristo Jesus para convosco”

(1 Tessalonicenses 5:18)

“A educação é o passaporte para o futuro, porque o amanhã pertence a quem o prepara hoje.”

(Malcolm X)

RESUMO

MICHELON, J. B. **Comparação do perfil dos mediadores inflamatórios, metaloproteínas 2 e 9 e seus inibidores teciduais 1 e 2 na aorta e no plasma de pacientes com aneurisma de aorta abdominal e controles.** 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências – Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), São Paulo, 2021.

A fisiopatologia do aneurisma da aorta abdominal (AAA) permanece pouco conhecida. A identificação dos mecanismos envolvidos no crescimento, progressão e risco de ruptura da aorta pode trazer uma nova perspectiva de tratamento e melhorar os resultados dos pacientes. Foi demonstrado que mediadores inflamatórios e metaloproteínas (MMPs) 2 e 9 e seus inibidores podem contribuir para a fisiopatologia do AAA. É amplamente reconhecido que esses mediadores produzem respostas locais (tecido) e sistêmicas (circulação). Portanto, neste estudo, buscou-se caracterizar e comparar os perfis inflamatórios, das MMP-2 e MMP-9 e de inibidores teciduais de MMPs (TIMPs) 1 e 2 na aorta e plasma obtidos de pacientes com AAA e controle. O plasma e o tecido da aorta de pacientes com AAA (n = 31) foram obtidos durante cirurgias convencionais de correção do AAA no Hospital da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. As amostras de controle foram obtidas de doadores de órgãos sem AAA (n = 15). Os marcadores inflamatórios (IL-6, IL-8, TNF α e TGF β) e os TIMPs 1 e 2 foram medidos por ensaio imunoenzimático, e as MMPs 2 e 9 foram analisadas por zimografia em plasma e aorta. Este projeto foi aprovado pelo CAAE (n.82879518.6.0000.5440). A análise demográfica e clínica entre o grupo controle e AAA, respectivamente, mostrou que parte da população estudada é do gênero masculino (40% vs 84% , p = 0,002), com idade média (41 \pm 7,14 vs 65 \pm 18,51 , p \leq 0,0001), tabagista (26% vs 97%, p \leq 0,0001) e apresenta obesidade (33% vs 0%, p = 0,0007), hipertensão arterial sistêmica (33% vs 58%, p = 0,11), diabetes (6,6% vs 6,45%, p = 0,97) e doença pulmonar obstrutiva crônica (6% vs 9%, p = 0,73). Os níveis de IL-6 (p = 0,004) e IL-8 (p = 0,009) foram significativamente elevados na aorta de pacientes AAA, mas não no plasma, quando comparados ao grupo controle. Os níveis de MMP-2 e MMP-9 apresentaram aumento no plasma (p = 0,023 e p \leq 0,0001, respectivamente) e na aorta (p = 0,02 e p = 0,03, respectivamente) de pacientes AAA quando comparados aos controles. As análises dos TIMPs mostraram que TIMP-1 não está alterado no plasma e tecido aneurismático, em contrapartida o TIMP-2 está reduzido localmente no tecido no AAA (p \leq 0,0001). Nossos dados mostram que o AAA é caracterizado localmente por fatores de inflamação e MMPs-2 e 9 elevados e TIMP-2 diminuído na aorta, e níveis sistêmicos aumentados das MMPs no plasma. Isso sugere que a resposta local na aorta é uma via importante na fisiopatologia do desenvolvimento de AAA.

Palavras-chave: Aneurisma de aorta abdominal. Aorta. Metaloproteínas-2. Metaloproteínas-9. TIMP-1. TIMP-2. Mediadores inflamatórios. Doadores de tecido.

ABSTRACT

MICHELON, J. B. The inflammatory mediators, metalloproteinases 2 and 9 and their tissue inhibitors 1 and 2 profiles in the aorta and plasma from abdominal aortic aneurysms and controls' subjects. 2021. Dissertation (Masters in Medical Sciences – Department of Surgery and Anatomy, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo (FMRP-USP), São Paulo, 2021.

The pathophysiology of abdominal aortic aneurysm (AAA) remains poorly understood. The identification of the mechanisms involved in growth, progression, and the risk of aortic rupture could bring a novel treatment perspective and improve patient outcomes. Inflammatory mediators and metalloproteinases (MMPs) 2 and 9 have been shown to contribute to the pathophysiology of AAA in humans. It is widely recognized that these mediators produce both local (tissue) and systemic (circulation) responses. Therefore, in this study, we sought to characterize and compare the inflammatory and MMP-2 and MMP-9, and tissue inhibitors of MMPs (TIMPs) 1 and 2 profiles in the aorta and plasma in patients with AAA and control. Plasma and aorta tissue from AAA patients (n=31) were obtained during conventional AAA correction surgeries at Ribeirão Preto Medical School Hospital-University of São Paulo. The control samples were obtained from organ donors without AAA (n=15). The inflammatory markers (IL-6, IL-8, TNF α e TGF β) and TIMPs 1 and 2 were measured by enzyme immunoassay, and MMPs 2 and 9 were analyzed by zymography in plasma and aorta. This project was approved by CAAE (n.82879518.6.0000.5440). Demographics and clinical characteristics analysis between the control group and AAA, respectively, showed gender (40% vs 84% male, p=0.0024), mean age ($41 \pm 7,14$ vs $65 \pm 18,51$, p \leq 0,0001) , smoking (26% vs 97%, p \leq 0.0001), and obesity (33% vs 0%, p=0.0007), and systemic arterial hypertension (33% vs 58%, p=0.11), diabetes (6.6% vs 6.45%, p=0.97) and chronic obstructive pulmonary disease (6% vs 9%, p=0.73). Levels of IL-6 (p=0.0042) and IL-8 (p=0.0094) were significantly elevated in the aorta of AAA patients, but not in plasma, when compared to the control group. MMP-2 and MMP-9 levels were upregulated in plasma (p=0.023 and p \leq 0.0001, respectively) and in aorta (p=0.02 and p=0.03, respectively) of AAA patients when compared to controls. The TIMPs-2 level was downregulated (p \leq 0,0001) in aorta AAA compared with control. The TIMP-1 were not significantly different in plasma and aorta between AAA and control group. Our data show that a profile of AAA patients is characterized by upregulated inflammation factors and MMPs and downregulated TIMP-2 in the aorta and systemically elevated MMPs levels. Together, our data suggest that the local response in the aorta is an essential pathway in the pathophysiology of AAA development.

Keywords: Abdominal aortic aneurysm. Renin - angiotensin system. Matrix metalloproteinase inhibitors. TIMP-1. TIMP-2. Tissue donors.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características demográficas e clínicas de pacientes com AAA e Controle.	45
Tabela 2 - Classificação de risco do grupo AAA.	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da fisiopatologia da aorta no envelhecimento vascular.	
21	
Figura 2 - Representação da Fisiopatologia do AAA, com processos de remodelação e regeneração tecidual.	23
Figura 3 - Representação da infiltração de células inflamatórias e proteases no AAA.	26
Figura 4 - Esquema ilustrativo do estudo com a descrição dos grupos experimentais, coletas e metodologias que foram utilizados no presente trabalho.	35
Figura 5 - A) Fragmento de tecido aórtico após corte. B) Armazenamento em nitrogênio líquido até o momento de catalogar.	37
Figura 6 - Tecidos foram macerados em moinho de disco de aço cromado e posteriormente homogeneizadas a 4°C em tampão de extração.	38
Figura 7 - Tecidos foram macerados em moinho de disco de aço cromado e posteriormente homogeneizadas a 4°C em tampão de extração.	38
Figura 8 - A) Placa para Ensaio de Imunoabsorção Enzimática; B) Pipetagem de amostras e solução de bloqueio da reação; C) Placa pronta para leitura óptica.	39
Figura 9 - Sistema de eletroforese e gel de zimografia	40
Figura 10 - Gel de eletroforese com gelatina- Zimografia.	41
Figura 11 - Concentração dos mediadores inflamatórios no plasma de indivíduos do grupo AAA e pacientes controles analisados por Elisa.	46
Figura 12 - Concentração dos mediadores inflamatórios no tecido aórtico obtido de pacientes com AAA e pacientes controle.	47
Figura 13 - Concentração de MMP- 2 e TIMP-2.	49
Figura 14 - Concentração de metaloproteinases 9 e TIMP-1.	49
Figura 15 - Concentração de MMP-2 e MMP-9 plasmática e tecidual entre Controles e AAA.	51
Figura 16 - Correlação do tamanho do AAA com TIMP 1 e TIMP 2 plasmática e tecidual entre Controles e AAA.	52
Figura 17 - Correlação do tamanho do AAA com MMP-2 e MMP-9 plasmática e tecidual entre Controles e AAA.	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAA	Aneurisma de Aorta Abdominal
ANG II	Angiotensina II
ASA	<i>American Society of Anesthesiology</i>
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BRA	Antagonista do Receptor de Angiotensina II
BSA	Soro Bovino Fetal
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
DM	Diabetes Mellitus
DO	Densidade Ótica
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EUA	Estados Unidos da América
FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HCRP	Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto
iECA	Inibidor da Enzima Conversora de Angiotensina
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IC	Insuficiência Cardíaca
ICC	Inibidor do Canal de Cálcio
IL	Interleucina
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IMC	Índice de Massa Corporal
MEC	Matriz Extracelular
miRNA	MicroRNA
MMPs	Metaloproteinases
MMP-2	Metaloproteinase 2
MMP-9	Metaloproteinase 9
OCT	Solução de Meio de Inclusão de Tecidos Congelados
PMSF	<i>Phenylmethylsulfonyl fluoride (Fenilmetilsulfonilflúor)</i>
SEM	Erro padrão da média
SF 0,9%	Solução Salina Fisiológica
SRA	Sistema Renina-Angiotensina
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TIMPs	<i>Tissue Inhibitors of metalloproteinases</i>
TGF	Fator de Transformação do Crescimento/ <i>Transforming Growth Factor</i>
TNF	Fator de Necrose Tumoral
UPA	Uroquinase
USP	Universidade De São Paulo

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
1.1	DEFINIÇÃO E RACIONAL	17
1.2	FATORES RELACIONADOS AO AAA.....	19
1.3	FISIOPATOLOGIA AAA	20
1.4	METALOPROTEINASES 2 E 9, SEUS INIBIDORES 1 E 2 E AAA	21
1.5	QUANTIFICAÇÃO DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS NO AAA	25
2	HIPÓTESE.....	29
3	OBJETIVOS	31
3.1	OBJETIVO GERAL.....	31
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1	PACIENTES	33
4.1.1	Critério de inclusão	33
4.1.2	Crítérios de exclusão	34
4.1.3	Riscos	34
4.1.4	Confidencialidade.....	34
4.1.5	Estudo do perfil dos voluntários e suas características clínicas	34
4.2	DESENHO EXPERIMENTAL.....	35
4.3	COLETA DO MATERIAL	36
4.4	EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL.....	37
4.5	QUANTIFICAÇÃO DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS	39
4.6	QUANTIFICAÇÃO DE METALOPROTEINASES (MMPS) POR ZIMOGRAFIA.....	39
4.7	QUANTIFICAÇÃO DAS TIMP-1 E TIMP-2	42
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
5	RESULTADOS.....	44
5.1	CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DOS GRUPOS AAA E CONTROLES.....	44
5.2	ANÁLISE PLASMÁTICA DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS OBTIDOS DE PACIENTES CONTROLES E PACIENTES COM AAA	46
5.3	ANÁLISE DAS MMPS E TIMPS PLASMÁTICA E TECIDUAL OBTIDAS DE PACIENTES CONTROLES E PACIENTES AAA	48

5.4 ANÁLISE PLASMÁTICA E TECIDUAL DAS MMPS 2 E 9 OBTIDOS DE PACIENTES CONTROLES E PACIENTES AAA	50
5.5 ANÁLISE DE CORRELAÇÃO PLASMÁTICA E TECIDUAL DAS MMPS 2 E 9, TIMPS 1 E 2 E MEDIADORES INFLAMATÓRIOS OBTIDOS DE PACIENTES CONTROLES E TAMANHO DO ANEURISMA NO GRUPO AAA.	51
6 DISCUSSÃO	56
7 CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS	66
APÊNDICES	82
ANEXO.....	89

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 DEFINIÇÃO E RACIONAL

As principais causas de óbito no mundo são decorrentes de doenças cardiovasculares. Estima-se que 17,9 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares em 2016, representando 31% de todas as mortes em nível global (OPAS, 2021).

Dentre essas doenças, o aneurisma da aorta abdominal (AAA), é uma doença vascular que acomete mais frequentemente a população idosa, com prevalência de 10% na população na faixa etária acima dos 60 anos, sendo três vezes mais prevalente no sexo masculino que corresponde a 90 a 95% dos casos do tipo mais comum de AAA que é o degenerativo (ALTOBELLI *et al.*, 2018). Aneurisma roto é a 13^o causa mais comum de morte nos EUA sendo que a mortalidade pode chegar a 90% (GUIRGUIS *et al.*, 2019). A estimativa é que 1% a 2% da população seja portadora de AAA (ASSIS; DUQUE, 2020).

A mortalidade por AAA foi estimada no Brasil nos anos de 2000 - 2016, e mostraram um total de 69.513 óbitos registrados, correspondendo a taxas de 2,45, óbitos por 100.000 habitantes, sendo 65,4% homens e 34,6% mulheres com 60,6% da população afetada na região Sudeste. As idades médias de mortalidade foram 71 anos no geral e 70 anos para homens e 72.5 anos para mulheres. A ruptura do vaso ocorreu em 64,3% dos óbitos em que AAA foi a causa principal e em 18 % foi uma causa associada. As causas vinculadas que prevaleceram nos aneurismas rotos foram: choque (39,2%), hemorragias (33%) e hipertensão arterial sistêmica (HAS) (26,7%), enquanto doenças hipertensivas (29,4%) foram associadas diretamente aos aneurismas não rotos. Todos esses dados foram extraídos do banco de dados do Mortality Information, os dados anuais de mortalidade por AAA (SANTO; PUECH-LEÃO; KRUTMAN, 2021).

A principal complicação do AAA é a ruptura. Estimam-se que 15.000 óbitos ocorram nos EUA ao ano em decorrência de AAA rotos que chegam a ter atendimento hospitalar, e o dobro ou triplo deste número se incluídos todos os casos de morte súbita que ocorrem fora do ambiente hospitalar (ALBUQUERQUE *et al.*, 2004). Ainda no Brasil, segundo o Ministério da Saúde, entre novembro de 2014 e novembro de 2015 foram registradas 8.939 internações hospitalares para correção cirúrgica do AAA, sendo a maioria para tratamento eletivo.

O diagnóstico de AAA é comumente realizado como um achado acidental detectado por exames de imagem realizados com outros objetivos (AMARAL; FERNANDES; ALVES,

2021). A consequência clínica mais temida da progressão do AAA é a ruptura aguda, sendo que atualmente a única opção de tratamento disponível continua a ser a correção cirúrgica aberta ou endovascular (GOLLEDGE; NORMAN, 2011). O risco de ruptura do AAA aumenta conforme aumenta o diâmetro do vaso (FILARDO *et al.*, 2012) onde a mortalidade após a sua ruptura é elevada: cerca de 80% morrem antes de chegar serem atendidos e, daqueles que são submetidos a uma cirurgia, 50% não sobrevivem (VERHOEVEN *et al.*, 2008; BASNYAT *et al.*, 1999).

O manejo clínico se baseia em se controlar os fatores de risco e seguimento com exames de imagem dos casos assintomáticos até se atingir o diâmetro limítrofe para a indicação cirúrgica. Por ser inicialmente assintomático, o AAA costuma ser subdiagnosticado e, portanto, é necessário uma alta suspeição dos casos prováveis.

O AAA é uma condição degenerativa e progressiva caracterizada por um processo inflamatório crônico, depleção de células musculares lisas e degradação da matriz extracelular, resultando em enfraquecimento gradual e dilatação da parede da aorta resultando em um diâmetro aórtico maior que 1,5 vezes do normal, o que pode evoluir para eventual ruptura, se não tratado a tempo. No AAA a dilatação localizada ou difusa no vaso é maior que 50% do diâmetro normal esperado, acometendo todas as três camadas do vaso (GÓES JUNIOR *et al.*, 2020). Lembrando que o diâmetro normal da aorta abdominal é de cerca de 2,0 cm (SANTO; PUECH-LEÃO; KRUTMAN, 2021; ASSIS; DUQUE, 2020; DAVIS; RATERI; DAUGHERTY, 2014), portanto, dilatações acima de 3,0 cm em adultos já são considerados AAA (ALBUQUERQUE *et al.*, 2004). A indicação atual de correção cirúrgica nos AAA assintomáticos é a partir de 5,0 cm em mulheres e 5,5 cm em homens. Estima-se que entre 80 e 90% dos casos de AAA acometem o segmento infrarrenal e que 75% dos AAA sejam assintomáticos no momento do diagnóstico (BRAVO *et al.*, 2019).

A completa patogênese do AAA é desconhecida, mas sabe-se que está associada a inflamação e fibrose do vaso (FATIMA *et al.*, 2014). Dessa forma, o processo de dilatação da aorta advém de um processo inflamatório crônico cujos desencadeadores parecem ter influência genética, além de apresentarem fatores de risco bem estabelecidos como o tabagismo, hipercolesterolemia e hipertensão arterial. (AMARAL; FERNANDES; ALVES, 2021; ALTOBELLI *et al.*, 2018; REED *et al.*, 1992).

1.2 FATORES RELACIONADOS AO AAA

Segundo as diretrizes da Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular (SBACV, 2015) os fatores de risco mais importantes para o AAA são: idade avançada, gênero masculino, tabagismo e histórico familiar positivo para AAA. Um estudo de caso controle com 98 pacientes diagnosticados com AAA, o histórico familiar para AAA, tabagismo, idade avançada, sexo masculino, aterosclerose e hipertensão foram associados ao desenvolvimento do aneurisma (BLANCHARD *et al.*; 2000). Além disso, outros fatores são citados para o desenvolvimento da dilatação na aorta, como traumas, infecções agudas e crônicas, doenças inflamatórias como *Behçet* e *Takayasu* e alterações genéticas como a Síndrome de Marfan (MILEWICZ *et al.*, 2021; KOBEISSI *et al.*, 2019; ALTOBELLI *et al.*, 2018; ROZADO *et al.*, 2017; GIANFAGNA *et al.*, 2016; MATA; RAMOS, 2008).

As associações genéticas em alguns tipos de aneurismas, como o AAA, estão associadas principalmente à Síndrome de Marfan, doença de distúrbio genético e hereditário, que afeta o tecido conjuntivo, e conseqüentemente o sistema cardiovascular. É causada por mutações na fibrilina-1 e se não tratada pode levar à dissecação aguda da aorta. Ensaios clínicos sobre o uso de losartan em pacientes adultos com síndrome de Marfan, doença genética propensa a degeneração aneurismática, mostraram um efeito notável na redução do aumento do diâmetro em aortas ascendentes (DELEEUW *et al.*, 2021; MILEWICZ *et al.*, 2021; RYSZ *et al.*, 2021; TEHRANI *et al.*, 2021; VAN *et al.*, 2021; GROENINK *et al.*, 2013; RADONIC *et al.*, 2010).

Sabe-se que outro fator de risco é a aterosclerose que pode estar relacionada ao desenvolvimento do AAA. Dietas aterogênicas, ricas em gordura, foram responsáveis pelo enfraquecimento da camada média de artérias, com degradação de fibras de elastina e desenvolvimento de inflamação crônica seguida de calcificação vascular (ARGENTA; PEREIRA, 2009). Vários estudos têm investigado como a aterosclerose age no AAA, porém ainda são necessárias novas investigações que confirmem o envolvimento da aterosclerose diretamente na formação do AAA (IBRAHIM *et al.*, 2021; HARRISSON *et al.*, 2018; WENG *et al.*, 2018; TAKAGI *et al.*, 2010).

Em relação aos fatores de risco apresentados o tabagismo é um dos principais precursores no desenvolvimento do AAA, além do sexo e idade avançada (VILLARD *et al.*, 2021; ZHANG; XU; WANG, 2021; TILSON, 2017; TAKAGI, 2005). Portanto, estudos sobre a fisiopatologia do AAA e seus fatores são necessários.

1.3 FISIOPATOLOGIA AAA

Os vasos sanguíneos, artérias, veias, capilares e coração formam o sistema cardiovascular. Sendo este responsável pela circulação do sangue, oxigenação, remoção de gás carbônico e metabólitos. A artéria aorta é classificada como sendo um vaso de grande calibre e sua parede é formada por três túnicas: túnica íntima, contendo grande quantidade de matriz extracelular (MEC) e o endotélio vascular, a túnica média com presença de fibras elásticas, células musculares lisas, fibras de colágeno, proteoglicanos e glicosaminoglicanos e a túnica adventícia com colágeno, tecido adiposo, fibroblastos e nervos (VEINOT; ACHARYA, 2001; TENÓRIO *et al.*, 2012).

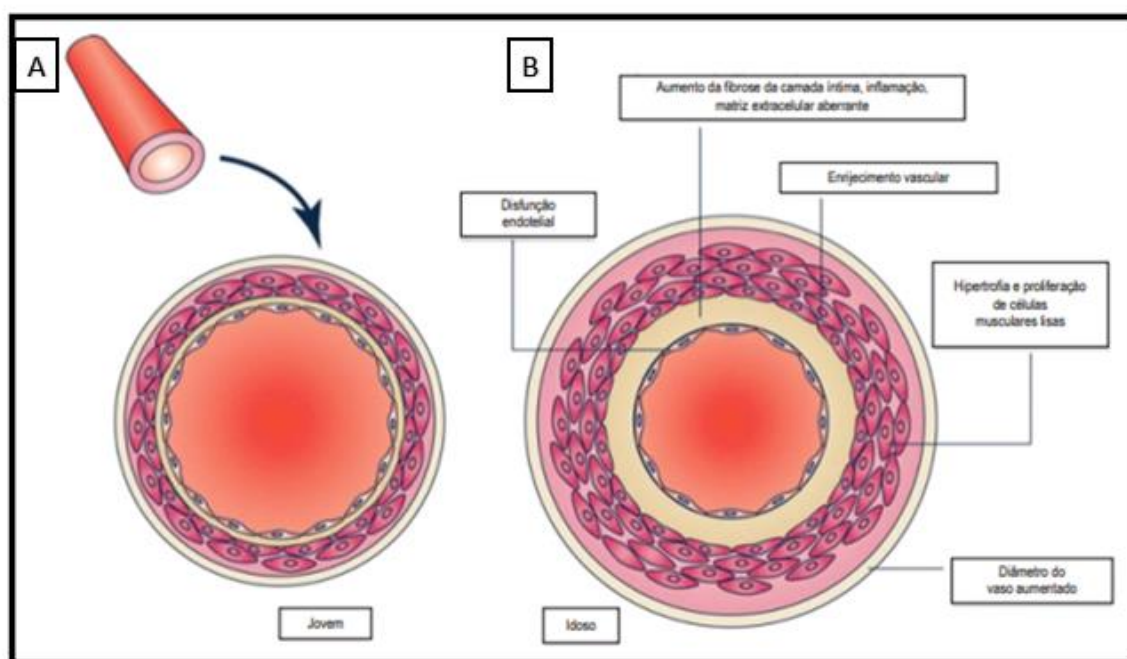
Os três maiores componentes da parede do vaso são o colágeno que promove a sustentação mecânica, as fibras de elastina e os grandes proteoglicanos respondendo às tensões sofridas durante a sístole, fazendo com que haja variação do diâmetro e, conseqüentemente, do volume do vaso a cada ciclo cardíaco (YANAGISHITA, 1993).

Alterações no sistema cardiovascular estão relacionadas aos hábitos de vida, idade e doenças associadas. O envelhecimento provoca mudanças, principalmente relacionadas à estrutura e função do vaso. Há um aumento da rigidez vascular ocasionada pela maior produção e deposição de colágeno e perda de fibras de elastina na camada média (GÓES JUNIOR *et al.*, 2020; UNGVARI *et al.*, 2018; MIKAEL *et al.*, 2017).

O início do AAA também ocorre por mudanças estruturais especificamente na camada média com conseqüente redução da resistência do vaso, fazendo com que haja dilatação. Essa resistência encontrada é devida principalmente à ação dos mediadores inflamatórios e metaloproteinasas (GAO *et al.*, 2016; KUIVANIEMI *et al.*, 2015; TENÓRIO *et al.*, 2012; REEPS *et al.*, 2009).

Um dos fatores de risco para o desenvolvimento do AAA é o próprio envelhecimento, fazendo com que haja alterações endoteliais nas camadas da aorta, como inflamação, fibrose e aumento do diâmetro. Na figura 1 observa-se em A a artéria aorta sem alterações patológicas no jovem e em B alterações relacionadas ao envelhecimento. Na artéria em processo de envelhecimento, haverá disfunção endotelial, aumento da fibrose na camada íntima devido a inflamação e degradação da MEC, conseqüentemente hipertrofia da musculatura lisa com aumento do diâmetro da aorta (PARVIZI *et al.*, 2021; TETI *et al.*, 2021; UMEBAYASHI; UCHIDA; WADA, 2019; UMEBAYASHI; UCHIDA; WADA, 2018, MIKAEL *et al.*, 2017).

Figura 1 - Representação esquemática da fisiopatologia da aorta no envelhecimento vascular.



Fonte: Adaptado de Mikael e colaboradores (2017)

A MEC desempenha um papel importante na manutenção da integridade da parede do vaso por ser componente fundamental e estrutural da camada média (FREESTONE *et al.*, 1995). Estudos mostraram que proteínas estruturais da MEC como a elastina e o colágeno sofrem degradação pela ação das metaloproteinases (MMPs) processo que se acredita ser o responsável pelo enfraquecimento e perda de elasticidade da parede arterial contribuindo para o desenvolvimento do AAA. Dentre todos os tipos de MMPs, metaloproteinase 2 (MMP-2) e metaloproteinase 9 (MMP-9) são consideradas as principais gelatinases responsáveis por esta degradação como mostram alguns estudos (MAGUIRE *et al.*, 2019; AGUIRRE *et al.*, 2017; TENÓRIO *et al.*, 2012).

1.4 METALOPROTEINASES 2 E 9, SEUS INIBIDORES 1 E 2 E AAA

As MMPs são membros de uma subfamília de proteinases, formadas por 25 proteínas com ligação de íons zinco e cálcio. Foram subdivididas em grupos de acordo com o seu substrato. São elas: collagenases (MMPs 1, 8, 13 e 18), as gelatinases (MMP-2, MMP-9), as estromelinas (MMPs 3, 7, 10, 11, 19, 20), matrilisinas (7 e 16) e as de membrana (MMPs 14, 15, 16, 17, 24 e 25). As MMPs juntamente com seus inibidores teciduais de metaloproteinases

do inglês *tissue inhibitors of metalloproteinases* (TIMPs), são os principais reguladores fisiológicos da matriz extracelular, e sua ativação desbalanceada está associado ao desenvolvimento de doenças vasculares como o AAA (LI *et al.*, 2020; MAGUIRE *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2018; RABKIN, 2017; FITRIDGE; THOMPSON; editores, 2011; TENÓRIO *et al.*, 2012).

As MMPs 2 e 9 são proteinases gelatinases secretadas no espaço extracelular em vasos saudáveis e doentes, responsáveis pela manutenção e remodelação tecidual, portanto, produzidas em situação de remodelação vascular como as situações de dilatações ou estenoses por hiperplasia miointimal. Nestas situações observa-se migração acentuada de macrófagos e degradação tanto da elastina quanto do colágeno (MATA; 2008; BENDECK *et al.*, 2002; LI *et al.*, 1996; ZEMPO *et al.*, 1994). A ativação de neutrófilos induz a secreção de uma série de proteases incluindo as MMPs na aorta abdominal em processo de desenvolvimento do AAA sofrendo alterações degenerativas na matriz extracelular, sendo o espaço extracelular a maior parte da parede aórtica (RABKIN, 2017; KUIVANIEMI *et al.*, 2015; REEPS *et al.*, 2009).

Especificamente, a MMP-2 é encontrada na musculatura lisa, fibroblastos e endotélio, apresentando peso molecular em torno de 72 kDa sendo principal enzima elastolítica presente nos aneurismas pequenos. Sua função principal no tecido humano é a degradação do colágeno tipo IV, no AAA sua função vai depender da degradação da parede aórtica (FREESTONE *et al.*, 1995). A MMP-9, por sua vez, é encontrada em macrófagos e neutrófilos, placas ateroscleróticas susceptíveis à ruptura e apresenta peso molecular de 92kDa em sua forma latente e 82 kDa em sua forma ativa. Está proporcionalmente aumentada de acordo com o tamanho do AAA (YAMASHITA *et al.*, 2013; MATA; 2008; VAN *et al.*, 2002; MCMILLAN *et al.*, 1995; GALIS, 1994), (FREESTONE *et al.*, 1995). Ainda é responsável pela degradação das proteínas da MEC, importante papel na resposta inflamatória na camada endotelial, média e adventícia. Uma das teorias é que a ativação do *transforming growth factor* β (TGF β) faz com que haja elevação da ação dessas MMPs, aumentando a síntese de colágeno (SURMA *et al.*, 2021).

A expressão das MMPs pode ser controlada através de TIMPs. Os TIMPs funcionam como guardiões contra a degradação tecidual que advém do desequilíbrio entre a expressão de MMPs (GARDNER; GHORPADE, 2003). Podem ser classificadas como proteínas multifuncionais que, além de inibir MMPs, promovem crescimento celular e apoptose (CRISTINA DO AMARAL WESTIN, 2013). O TIMP-1 atua no controle da MMP-9 e a TIMP-

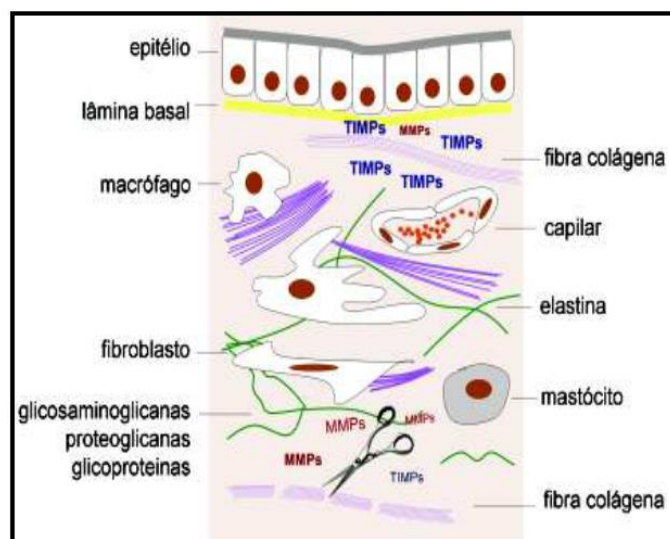
2 no controle de MMP-2, ambos reduzindo a atividade das MMPs e o controle da elevação de células inflamatórias (GUSMÃO, 2013).

De forma semelhante, um estudo avaliou o envolvimento das MMP-2 e 9 e TIMPs em portadores de doença cardíaca com formas clínicas indeterminadas. Concluíram que os níveis séricos de MMP-9 podem ser associados à gravidade do acometimento cardíaco, com maior atividade no soro de pacientes. Os níveis séricos de TIMP-1 não apresentaram diferenças nas amostras dos grupos estudados, porém os níveis de TIMP-2 foram maiores nos pacientes com doença cardíaca. Portanto, observaram uma possível correlação entre TIMP-1, 2 e MMP-9 (GUSMÃO, 2013).

Em uma revisão da literatura enfatizando o papel das MMPs no desenvolvimento do AAA, autores concluíram que além de participarem de forma fisiológica, as MMPs e TIMPs agindo de forma descontrolada podem provocar uma excessiva degradação dos elementos constitutivos da MEC levando a dano patológico (ANDREUCCI *et al.*, 2021; WANG; KHALIL, 2018). Ainda descrevem a necessidade de estudos e investigações sobre essa relação das MMPs e TIMPs no desenvolvimento de doenças cardiovasculares (TENÓRIO *et al.*, 2012).

Essas características de degradação, degeneração que ocorrem no vaso podem ser visualizadas na figura 2, com a demonstração da mudança estrutural no epitélio vascular, ativação de macrófagos, TIMPs, MMPs entre outros mecanismos responsáveis pelo aparecimento do AAA (WANG; KHALIL, 2018; KADOGLU; LIAPIS, 2004; NISHIMURA *et al.*, 2003).

Figura 2 - Representação da Fisiopatologia do AAA, com processos de remodelação e regeneração tecidual.



Fonte: Adaptado de Delabio-Ferraz e colaboradores (2010)

Outros trabalhos mostraram o papel das MMPs no AAA, assim como reportado por (KEISLER; CARTER, 2015) em que observaram aumento de MMP-2 no plasma e tecido aórtico humano de pacientes com AAA. Ainda reforçaram a ideia de que alterações no sistema vascular são controladas pelo equilíbrio entre a ação das MMPs e seus inibidores. Outro estudo descreve que há uma correlação entre a concentração máxima de MMP-9 e o diâmetro do AAA em que aneurismas de 5 - 6 cm de diâmetro apresentam maiores expressões de MMP-9 (SURMA *et al.*, 2021).

Outra questão que vem sendo estudada é o uso dos inibidores das MMPs, como a Doxíciclina no tratamento de pequenos AAA. Em um estudo randomizado conduzido em 22 centros clínicos nos Estados Unidos da América (EUA), entre maio de 2013 e janeiro de 2017, 129 pacientes com diagnóstico de AAA infrarrenal fizeram uso de Doxíciclina de 100 mg (oral) duas vezes ao dia por dois anos e 125 pacientes foram destinados ao grupo placebo, submetidos ao monitoramento do diâmetro da aorta. A idade média foi de 71 anos. Após o uso, 113 pacientes do grupo que usaram Doxíciclina e 112 pacientes do grupo placebo foram avaliados por tomografia computadorizada para verificar o diâmetro do vaso. O resultado do estudo demonstrou que entre os grupos avaliados não houve diferença significativa na redução do crescimento do AAA de pequeno calibre (BAXTER *et al.*, 2020).

Quanto a estudos experimentais sobre AAA, o modelo experimental mais utilizado, é através da infusão de Angiotensina II (AngII) em que a dilatação aneurismática nos camundongos ocorre entre 4 e 8 dias após o seu início. Estudos histológicos mostram que a ruptura da elastina e degradação da MEC na camada média da artéria está presente nas aortas dos animais (SARAFF *et al.*, 2003) e já se sabe que um dos mecanismos pelos quais a AngII induz a dilatação arterial é através do aumento da produção aumentada e atividade das MMPs (EAGLETON *et al.*, 2006; SCHNEIDERMAN *et al.*, 1998; FREESTONE *et al.*, 1995; THOMPSON *et al.*, 1995). Corrobora essa hipótese o fato de que níveis de expressão de MicroRNAs (miRNA) de uroquinase (UPA) /plasmina, um importante ativador de MMPs, estão até 13 vezes aumentados em tecido aneurismático (SARAFF *et al.*, 2003).

Embora todas essas evidências sugiram um papel das MMPs nos AAA induzidos por Ang II em camundongos, estudos mais recentes não conseguiram reproduzir esses resultados (XIE *et al.*, 2012). Estes dados contraditórios, ou não conclusivos, reforçam a necessidade de novos estudos a fim de clarificar a ação das MMPs no AAA. Outra questão em aberto, é a associação do AAA ao processo inflamatório secundário à secreção de citocinas e a migração

de células inflamatórias onde diversas vias estão envolvidas conforme já reportado por alguns autores (DAUGHERTY *et al.*, 2010; GITLIN *et al.*, 2007; LENK *et al.*, 2007; MIDDLETON *et al.*, 2007; FORESTER *et al.*, 2005; GALLE *et al.*, 2005).

1.5 QUANTIFICAÇÃO DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS NO AAA

A resposta do organismo à inflamação é caracterizada por um aumento do fluxo sanguíneo, permeabilidade vascular, acúmulo de leucócitos e mediadores inflamatórios como as citocinas, também chamado fase aguda. Já na fase crônica haverá o desenvolvimento de respostas imunes específicas, para o patógeno presente no local da lesão (FEGHALI; WRIGHT, 1997). Especificamente no aneurisma observa-se uma inflamação crônica composta por macrófagos, células plasmáticas e leucócitos. Essas respostas imunes que ocorrem na aorta abdominal, são fatores importantes relacionados ao desenvolvimento do AAA (GAO *et al.*, 2016; REEPS *et al.*, 2009; LINDHOLT; SHI, 2006). Até o momento a contribuição dos macrófagos no desenvolvimento do AAA ainda é pouco definida e alguns modelos animais demonstram que há uma modificação epigenética em monócitos e macrófagos. Portanto, estudar o papel inflamação no tecido aórtico aneurismático representa um campo ideal para o entendimento dessa doença (DAVIS; GALLAGHER, 2019).

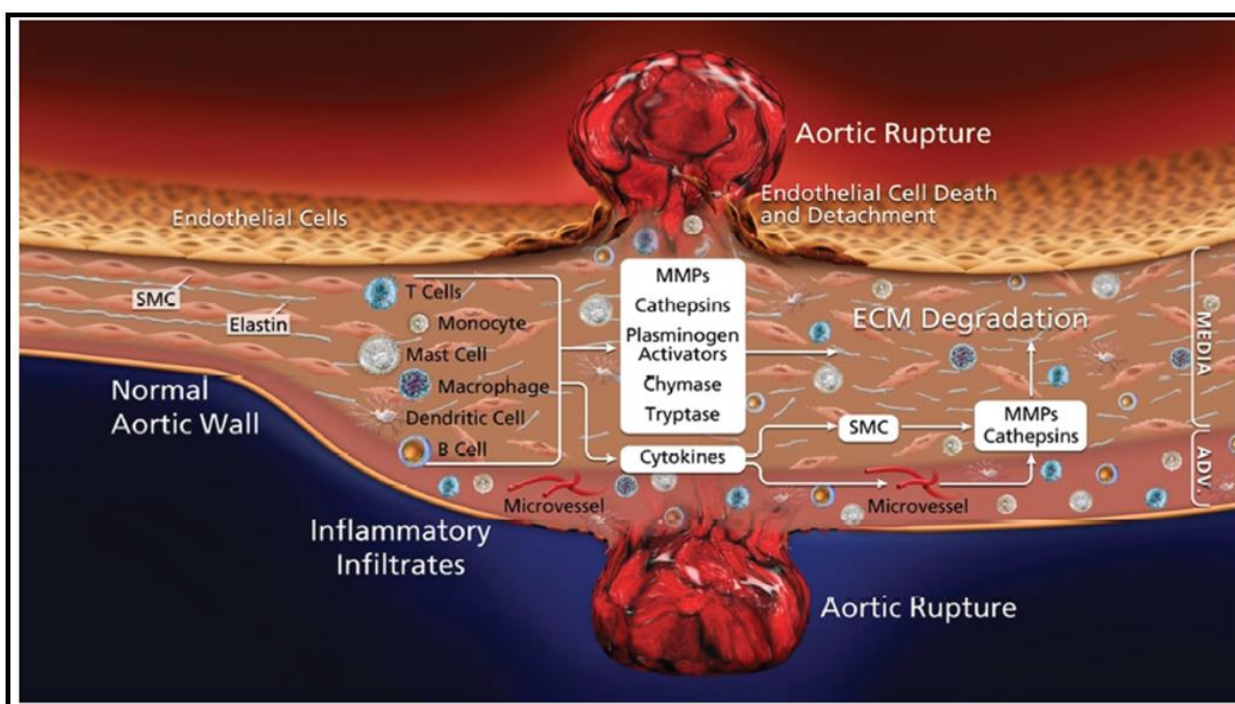
O processo inflamatório ocorre entre as várias substâncias químicas que participam da resposta do organismo à lesão, sendo a histamina e bradicinina, importantes no controle das alterações vasculares do mecanismo inflamatório. Algumas características dessa fase são aumento do fluxo sanguíneo com vasoconstrição seguida de vasodilatação, alteração na permeabilidade vascular e como consequência extravasamento de proteínas plasmáticas, recrutamento e migração de células inflamatórias para o local da lesão (GAO *et al.*, 2016; KUMAR *et al.*, 2005).

Com o quadro inflamatório instalado há a liberação dos mediadores inflamatórios (FRANCISCHETTI *et al.*, 2010). A infiltração de neutrófilos é observada principalmente em locais de dano ao tecido. Sabe-se que há diferentes tipos e famílias de citocinas com reações que afetam o sistema imunológico. Dentre as citocinas pró-inflamatórias destacam-se a Interleucina 1 (IL-1), Interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF α) (TONET; NÓBREGA, 2008). Outras citocinas como Interleucina-8 (IL-8) e fator de crescimento transformador (TGF β) também contribuem no processo inflamatório, aumentam a adesão

leucocitária, a síntese de mediadores químicos e a tentativa de reparo tecidual (KUMAR *et al.*, 2019).

Na Figura 3 observa-se as MMPs, ativadores de plasminogênio, quimases e triptases envolvidas diretamente do desenvolvimento do AAA, sendo os infiltrados inflamatórios os responsáveis pela ativação dessas proteases, além da produção de citocinas e células endoteliais para liberar MMPs.

Figura 3 - Representação da infiltração de células inflamatórias e proteases no AAA.



Fonte: Adaptado de Fitridge; Thompson; editores (2011)

A IL-6 é sintetizada por monócitos, células endoteliais, fibroblastos e outras células como resposta à agressão local por microorganismos e estimulação por outras citocinas, principalmente IL-1 e TNF α . Portanto a IL-6 é uma citocina atuante tanto na resposta imune inata quanto adaptativa, sendo relacionada principalmente a distúrbios crônicos, aumentando a permeabilidade do endotélio em estado de hipoperfusão (SOUZA *et al.*, 2008).

A IL-8 é sintetizada por monócitos em resposta a IL-1 e TNF α . Parece estimular a atividade de metaloproteínases, contribuindo para a destruição de colágeno na área da lesão. Aumenta também o metabolismo oxidativo e estimula a migração das células do sistema imune através da diapedese. É ele quem realiza a adesão permanente do neutrófilo no endotélio (GREGHI, 2012).

O TNF α também reconhecido como uma citocina pró-inflamatória induz outras citocinas como IL-6, favorece o aumento da permeabilidade vascular, ativação de neutrófilos e monócitos. É sintetizado por monócitos e macrófagos, atua como elo entre respostas imunológicas específicas e as respostas de fase aguda. É uma das primeiras citocinas a ser ativada junto a IL-1 de forma precoce ao dano (OLIVEIRA *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2008).

O TGF β aumenta a síntese de proteínas da matriz extracelular, elevando também a síntese de moléculas de adesão intercelular fazendo com que a expressão dessas moléculas module a expressão de genes que codificam a fibronectina, vários colágenos e outras moléculas da matriz extracelular. Pode ser considerado um agente fibrosante promovendo a rápida deposição de colágeno na MEC (LEMAIRE; LYRA, 2008).

Dessa forma, buscamos identificar alguns mecanismos que estão envolvidos no AAA, pois até o momento, nenhuma abordagem farmacológica foi desenvolvida de forma a evitar a progressão da dilatação do AAA ou o seu risco de ruptura (GOLLEDGE *et al.*, 2020). Uma das explicações, provavelmente, decorre da complexa e, ainda em grande parte, desconhecida fisiopatologia da doença aneurismática. Conhecimento mais sólido e aprofundado dos múltiplos mecanismos envolvidos na sua iniciação e expansão são necessários os quais têm sido investigados por diversos centros de pesquisa. Destaca-se, portanto, importância em entender melhor os mecanismos da doença aneurismática para que, assim, possamos ter perspectivas de tratamentos farmacológicos futuros.

HIPÓTESE

2 HIPÓTESE

A hipótese é que as MMP- 2 e MMP- 9, TIMP-1 e 2 e as citocinas inflamatórias IL6, IL8, TNF α e TGF β estejam elevadas localmente no tecido aneurismático da aorta abdominal e que possivelmente não ocorra o mesmo no plasma, constituindo, portanto, marcadores envolvidos nos processos de desenvolvimento do AAA.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar e comparar o perfil dos mediadores inflamatórios, MMP-2, MMP-9 e TIMP-1 e TIMP-2 no plasma e aorta obtidos de pacientes com AAA e pacientes controles.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar os dados demográficos e clínicos de pacientes do grupo AAA e grupo Controle.
- b) Quantificar as citocinas (IL-6, IL-8, TGF β e TNF α) plasmáticos e teciduais obtidas de pacientes com AAA e pacientes controles.
- c) Quantificar a participação das MMP-2 e MMP-9 no plasma e aorta obtidos de pacientes com AAA e pacientes controles.
- d) Quantificar e comparar as TIMPs-1 e TIMPs-2 plasmática e tecidual (aorta) obtidas de pacientes controles e com AAA.
- e) Relacionar o tamanho do AAA com a expressão de TIMPs 1 e 2 e MMPs 2 e 9.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho é um estudo observacional. Os pacientes foram selecionados por amostragem por conveniência (FREITAG, 2018), onde os pesquisadores selecionaram membros (pacientes) da população mais acessíveis (HCRP), com perfil de inclusão para as coletas e aceitação de participação na pesquisa por meio de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). (Apêndice A e B)

4.1 PACIENTES

O grupo estudo denominado AAA, incluiu 31 indivíduos com diagnóstico de AAA, selecionados a partir de casos atendidos no serviço de Cirurgia Vascular e Endovascular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP) que aceitaram participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (Apêndice A). O grupo controle consistiu em 15 indivíduos com diagnóstico de morte encefálica destinados à doação de órgãos com aplicação do termo de consentimento livre esclarecido (Apêndice B) à família e/ou responsável.

Amostras de sangue e tecido aórtico foram coletadas de todos os indivíduos, assim como coleta de dados demográficos. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP (CAAE: 82879518.6.0000.5440).

4.1.1 Critério de inclusão

Foram incluídos no presente estudo indivíduos com diagnóstico de AAA infrarrenal de etiologia degenerativa elegíveis para correção cirúrgica aberta convencional, respeitando as indicações de tratamento vigentes na atualidade. Todos os casos foram recrutados do Ambulatório de Cirurgia Vascular e Endovascular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP após autorização de termo de consentimento livre esclarecido (Apêndice A).

4.1.2 Critérios de exclusão

Indivíduos com aneurisma roto, com aneurisma em qualquer outro território arterial que não a aorta infrarrenal.

4.1.3 Riscos

Os riscos esperados envolvem o manuseio de dados de identificação dos participantes e com relação a coleta de sangue. Quanto ao primeiro foram tomadas todas as medidas para se preservar o sigilo e a confidencialidade dos dados. Os dados foram acessados apenas pelos pesquisadores cadastrados e todas as formas de comunicação científica dos resultados previstos não levaram qualquer dado que possa identificar algum participante. Quanto à coleta de sangue e amostra de aorta, esse estudo não trouxe risco adicional aos indivíduos daquele já existente do procedimento de correção cirúrgico de AAA.

4.1.4 Confidencialidade

A garantia de sigilo dos dados, o direito da confidencialidade dos dados e respeito à privacidade será assegurado de acordo com as normas brasileiras. Os tubos coletados foram numerados, sendo de conhecimento exclusivo do pesquisador principal a que paciente correspondeu o número identificador.

4.1.5 Estudo do perfil dos voluntários e suas características clínicas

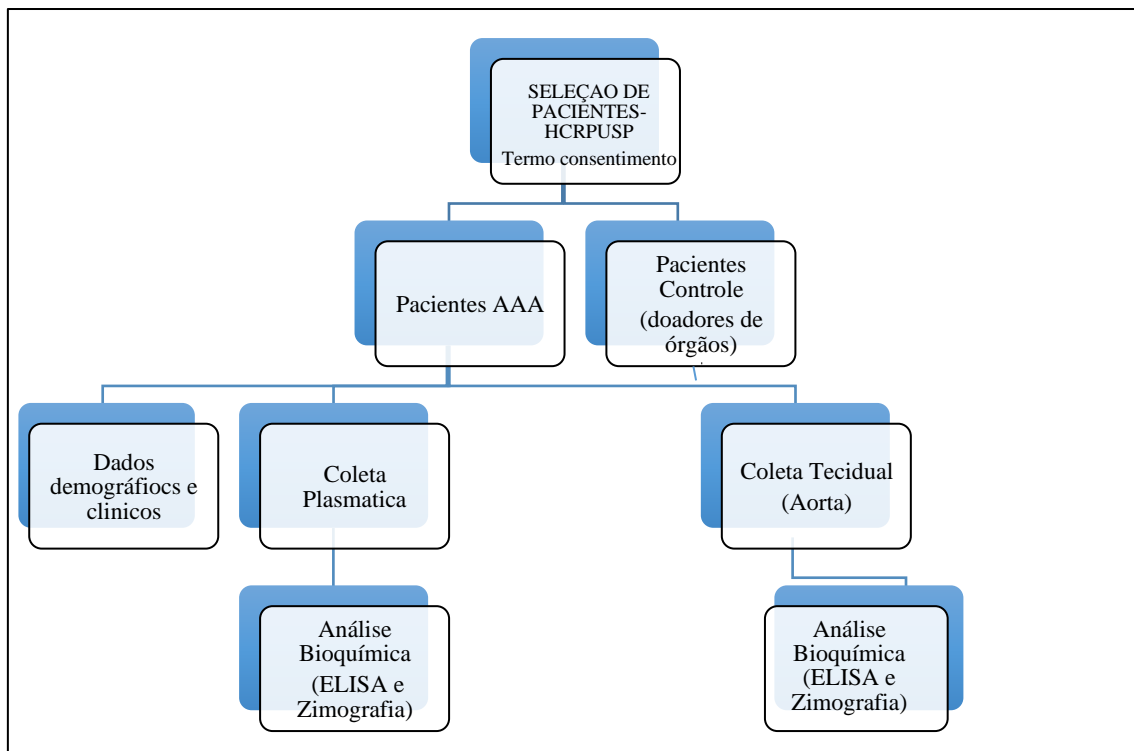
- a) Sexo e Idade;
- b) Tabagismo;
- c) Comorbidades como: Diabetes Mellitus (DM), obesidade, Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC);
- d) Doenças cardiovasculares: HAS, Acidente Vascular Cerebral (AVC), Infarto agudo do miocárdio (IAM), arritmias, insuficiência cardíaca (IC), doença arterial coronariana e doença arterial periférica;

- e) Uso de anti-hipertensivos: inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECA), antagonista de receptores de angiotensina (BRA), betabloqueador, inibidor de canal de cálcio (ICC) e diuréticos;
- f) Classificação de risco e desfecho da cirurgia do grupo AAA.

4.2 DESENHO EXPERIMENTAL

O estudo é composto pelo grupo controle e grupo AAA, conforme ilustrado na figura 4. Foram coletados dados demográficos e clínicos, podendo ser observada a característica de cada grupo na Tabela 1 e 2. Foram realizadas coletas plasmática e tecidual (aorta) de cada grupo e posteriormente foram analisados os mediadores inflamatórios IL-6, IL-8, TGF- β e TNF α , e as TIMPs-1 e TIMPs-2 por ensaio de imunoabsorção enzimática (Elisa). As análises das MMP-9 e MMP-2 foram feitas por Zimografia.

Figura 4 - Esquema ilustrativo do estudo com a descrição dos grupos experimentais, coletas e metodologias que foram utilizados no presente trabalho.



Fonte: do autor, 2021.

4.3 COLETA DO MATERIAL

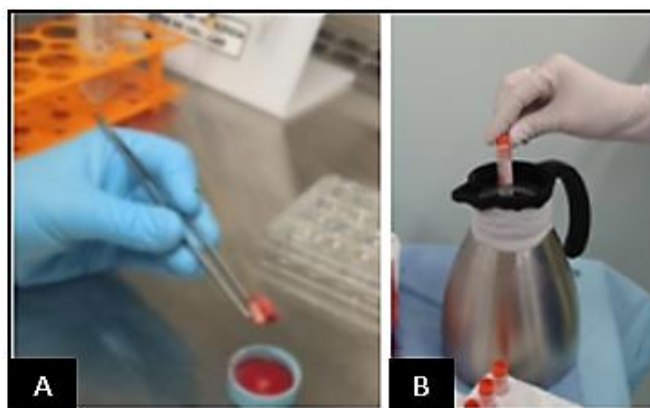
As amostras de plasma e da aorta foram obtidas durante as cirurgias de correção convencional do AAA para o grupo AAA e durante a captação de órgãos para o grupo controle. A coleta de sangue foi feita através de veia periférica (10 mL) que foram distribuídos em alíquotas de tubos plásticos contendo citrato de sódio e tubos contendo EDTA. O sangue foi centrifugado a 1000xg, por 15 minutos, refrigerado, e o plasma/soro armazenado a -70°C até o momento das análises.

Um fragmento da parede da aorta foi dissecado e coletado durante as cirurgias. No grupo AAA, esse segmento é um excedente de parede arterial que normalmente já é retirado e descartado em cirurgias para correção do aneurisma. No grupo controle, durante a cirurgia de captação de órgãos, após a extração dos rins destinados a transplante, um pequeno fragmento de aorta infrarrenal, sem dilatação aneurismática, foi retirado e a aorta suturada em seguida.

O fragmento aórtico após ablação cirúrgica, foi lavado imediatamente com Solução Salina Fisiológica (SF 0,9%) e imerso em solução de Custodiol® para transporte até o laboratório, mantendo-se refrigerado em temperatura entre 2 e 8°C. No laboratório, sob a câmara de fluxo laminar e procedimento estéril, o tecido foi dissecado com auxílio de uma lâmina de bisturi (figura 5 A), seguindo o sentido sagital/longitudinal da aorta, dividindo-a em 6 partes, sendo 4 partes menores preparadas imediatamente: uma em solução de meio inclusão para tecidos Congelados (O.C.T.), destinado à técnica de histologia para pesquisas vinculadas ao projeto e as outras três em nitrogênio líquido (ebulição a 77 K [-196,15°C]), conforme ilustrado na Figura 5 B.

As amostras foram identificadas e catalogadas em caixa própria, separadas por nome e número do doador (exemplo: D01ME para o grupo controle e D01AAA para grupo estudo) e após, guardadas em freezer -70°C até o momento das análises, sendo anotadas todas as informações no “Livro de Registro do Biobanco”, do *Laboratório de Doenças CardioVasculares e Função Endotelial* da FMRP-USP.

Figura 5 - A) Fragmento de tecido aórtico após corte. B) Armazenamento em nitrogênio líquido até o momento de catalogar.



Fonte: do autor, 2021.

4.4 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL

As aortas foram pulverizadas em um moinho de disco de aço cromado com nitrogênio líquido (Figura 6), em seguida, os tecidos foram colocados em eppendorf e posteriormente homogeneizadas a 4°C em tampão de extração contendo ortovanadato de sódio 100mM, NaF 200mM, inibidores proteases 10ml, PMSF 0,1mM (Figura 7). Em seguida as amostras foram centrifugadas em centrífuga refrigerada (Eppendorf AG – Centrifug 5430R) por 35000 rpm a 4°C por 30 minutos, o sobrenadante foi retirado e colocado em outro eppendorf. Uma alíquota de cada amostra do sobrenadante foi utilizada para realizar a quantificação da concentração de proteínas pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976), conforme descrito abaixo.

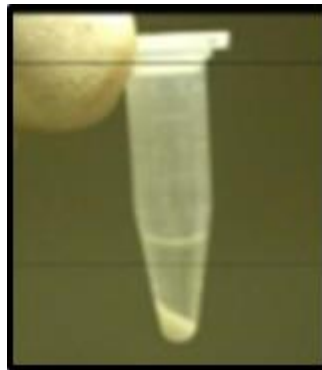
A primeira etapa para a quantificação pelo Método de Bradford foi a realização da curva padrão de calibração com uma solução de soro albumina bovina (BSA) em diferentes concentrações. Após a realização da curva de calibração, as amostras foram analisadas em duplicata. O preparo do ensaio foi realizado adicionando 1µL de cada amostra para cubetas de plástico de 1mL, 800µL de água destilada e 200µL do reagente de Bradford. Após 5 minutos da reação, foi feita a leitura em espectrofotômetro (Hewlett-Packard, model 8453, Palo Alto, CA, USA) em comprimento de onda de 595 nm e os valores foram calculados em µg/µl.

Figura 6 - Tecidos foram macerados em moinho de disco de aço cromado e posteriormente homogeneizadas a 4°C em tampão de extração.



Fonte: do autor, 2021.

Figura 7 - -Tecidos foram macerados em moinho de disco de aço cromado e posteriormente homogeneizadas a 4°C em tampão de extração.



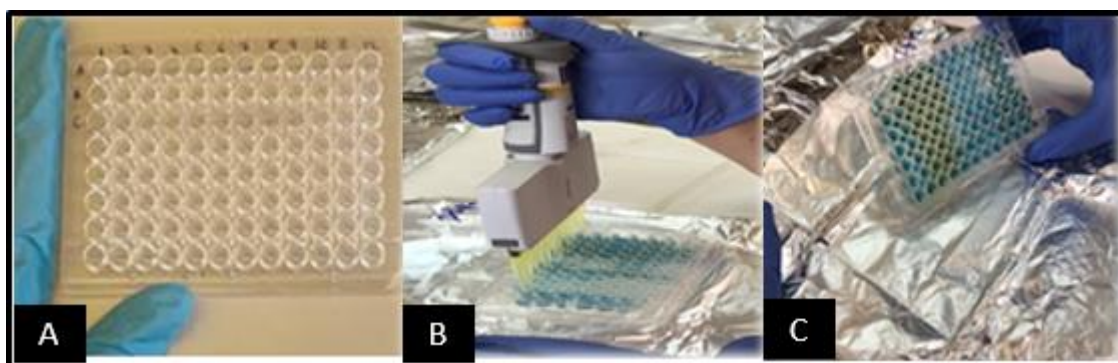
Fonte: do autor, 2021.

4.5 QUANTIFICAÇÃO DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

Foram analisados os mediadores inflamatórios IL-6, IL-8, TNF α e TGF β por ELISA no plasma e no homogenato de aorta. Para: IL-6 plasmático: 18 amostras de AAA e 10 controles; IL-6 tecidual: 23 amostras de AAA e 9 controles; IL-8 plasmático: 18 amostras de AAA e 10 controles; IL-8 tecidual: 23 amostras de AAA e 9 controles; TNF α plasmático: 18 amostras de AAA e 10 controles; TNF α tecidual: 23 amostras de AAA e 9 controles; TGF β plasmático: 18 amostras de AAA e 10 controles; TGF β tecidual: 23 amostras de AAA e 9 controles.

O protocolo foi feito conforme instrução dos kits de quantificação (B&D System): IL-6 (cat. 555220), IL-8 (cat.555244), TNF α (cat. 555212) e TGF β (cat.559119). Os resultados foram obtidos com base na leitura da densidade óptica (D.O.) em espectrofotômetro e a concentração dos mediadores foi analisada usando a OD obtida em relação a curva padrão e os dados obtidos apresentados em em pg/ml. Figura 8 observa-se placa para realização do ELISA, modo de pipetagem das amostras e placa para leitura (D.O.).

Figura 8 - A) Placa para Ensaio de Imunoabsorção Enzimática; B) Pipetagem de amostras e solução de bloqueio da reação; C) Placa pronta para leitura óptica.



Fonte: do autor, 2021.

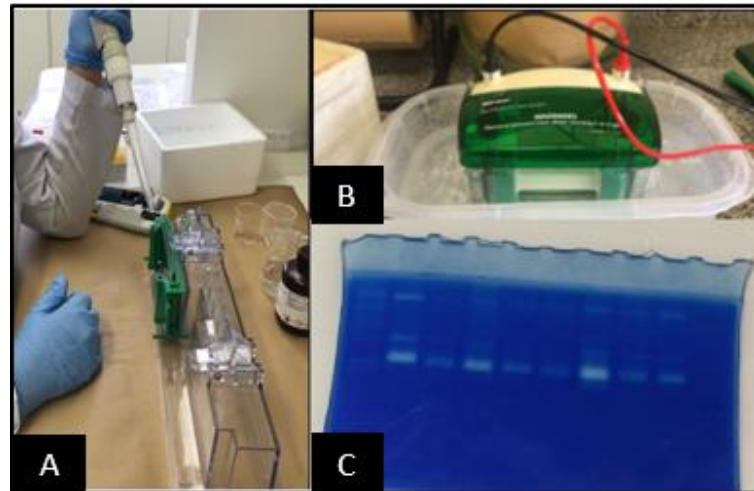
4.6 QUANTIFICAÇÃO DE METALOPROTEINASES (MMPS) POR ZIMOGRRAFIA

A quantificação das MMPs foi realizada em plasma e aorta obtidas de pacientes através da técnica de zimografia. Para: MMP-2 plasmática: 22 amostras de AAA e 10 controles; MMP-2 tecidual: 22 amostras de AAA e 10 controles; MMP-9 plasmático: 17 amostras de AAA e 7 controles; MMP-9 tecidual: 22 amostras de AAA e 10 controles.

Os géis foram corados com Coomassie blue e a atividade enzimática foi demonstrada pela ausência de coloração (bandas brancas) nas áreas onde o substrato (gelatina) foi degradado. Na Figura 10 está ilustrado um gel de zimografia com o plasma de pacientes de cada grupo onde observa-se as bandas das MMP-9 (92 kDa) e MMP-2 (70 kDa). As bandas nas quais aplicou-se amostras de plasma de pacientes com aneurisma apresentaram maior degradação de gelatina do gel, o que pode ser visto como uma maior área descorada na altura, do peso de 92 kDa (MMP-9). As amostras para quantificação de MMP-9 foram preparadas com 15µl de plasma ou homogenato de aorta (10ug) adicionando 35µl de água e desta mistura foi retirado 10µl que por sua vez adicionado 10µl de tampão não redutor 2x e deste aplicado 10µl no gel.

As amostras para quantificação de MMP-2 foram preparadas com 10µl de plasma ou aorta (10ug) adicionando 90µl de água e desta mistura retirado 10µl que por sua vez foi adicionado 10µl de tampão não redutor 2x e deste aplicado 10µl no gel. Os géis de poli-acrilamida a 12% contendo 1% de gelatina foram feitos em placas apropriadas e as amostras acima especificadas foram aplicadas nos géis no sistema de eletroforese (Biorad) e submetidas a corrente elétrica de 13mA e 105V à temperatura de 4°C, (Figura 9). Terminada a corrida, os géis foram retirados das placas e deixados durante à noite em tampão Tris CaCl₂ 50 mM pH 7,4 para a degradação da gelatina contida no gel pelas MMPs. Em seguida, os géis foram corados, descorados e escaneados em impressora Epson (L3110). A quantificação das bandas foi realizada com o auxílio do programa Image J e os valores normalizados em relação ao padrão de soro bovino aplicado em cada gel (10ul), assim como padronizado previamente (D AVILA-MESQUITA *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2014). Os valores finais foram expressos em unidades arbitrárias.

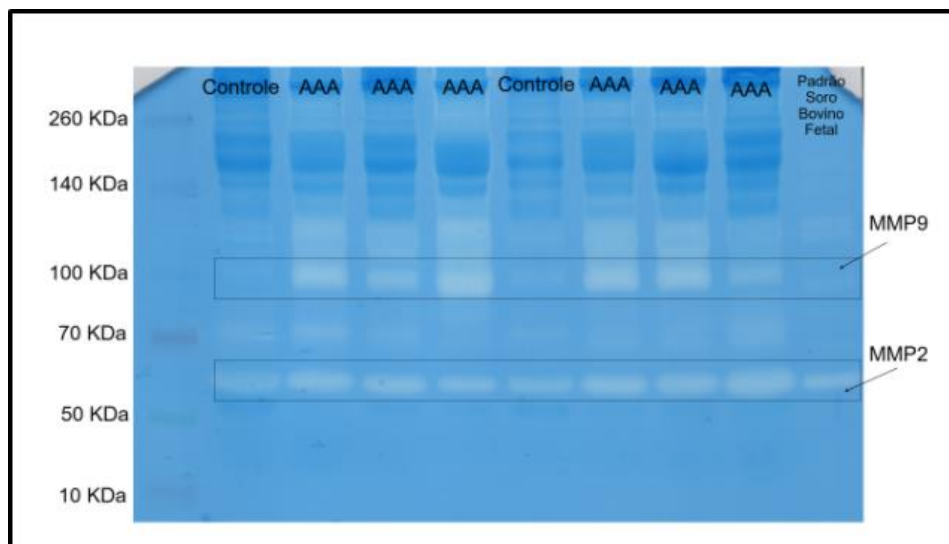
Figura 9 - Sistema de eletroforese e gel de zimografia



Fonte: do autor, 2021.

Notas: A) Preparo do gel de poliacrilamida; B) Sistema de eletroforese (Biorad); C) Gel de poliacrilamida a 12% contendo 1% de gelatina corada.

Figura 10 - Gel de eletroforese com gelatina- Zimografia.



Fonte: do autor, 2021.

Primeira Banda representando o padrão de peso molecular de 10-260 KDa. Posteriormente bandas com plasmas de pacientes do grupo Controle e AAA, em que se observam que bandas com amostras de plasma com aneurisma apresentaram maior degradação da gelatina no gel. Área descolorida na altura aproximada de peso molecular 92 kDa (MMP-9) e

as bandas na altura aproximada de 70kda representam as MMP-2. Última banda destinada ao Padrão de Soro Bovino Fetal como meio autêntico de verificação da altura correta de peso molecular para MMPs.

4.7 QUANTIFICAÇÃO DAS TIMP-1 E TIMP-2

Foram analisados os inibidores de tecido TIMP-1 e TIMP-2 no plasma e no homogenato de aorta por ELISA. Para: TIMP-1 plasmático: 10 amostras de AAA e 10 controles; TIMP-1 tecidual: 21 amostras de AAA e 8 amostras controle; TIMP-2 plasmático: 10 amostras de AAA e 10 controle; TIMP-2 tecidual: 21 amostras de AAA e 8 controles.

O protocolo foi feito conforme instrução dos kits de quantificação (R&D System) TIMP-1 (cat. DY970) e TIMP-2 (cat. DY971). Os resultados foram obtidos com base na leitura da densidade óptica (D.O.) em espectrofotômetro e a concentração dos TIMP's foi analisada usando a OD obtida em relação à curva padrão e os dados obtidos apresentados em pg/ml.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados demográficos/clínicos foram coletados e tabulados em planilhas de Excel, por dupla digitação. Para estatística descritiva e caracterização dos grupos/ amostras, foram calculadas medidas de tendência central como média e desvio padrão da média (SEM) e mediana através do teste Chi-square. Para análise dos mediadores inflamatórios, MMPs e TIMPs utilizamos teste *t de student* não pareado com as variáveis distribuídas parametricamente. Para correlação do tamanho do AAA com as variáveis estudadas realizamos teste de correlação de *Pearson*, **assumindo distribuição Gaussiana. O valor de $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo e analisados por meio do software *GraphPad Prism* versão 8.0.1 (*GraphPad Software Inc.*, La Jolla, Califórnia, EUA).**

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DOS GRUPOS AAA E CONTROLES

Dados demográficos, clínicos e medicamentos de uso contínuo de pacientes do grupo controle e AAA estão apresentados na Tabela 1. No grupo AAA foram incluídos 31 pacientes e no grupo controle 15 pacientes. O grupo controle é composto por 40% dos participantes do sexo masculino e a idade média de 41 anos, enquanto no grupo de AAA os indivíduos do sexo masculino também representam a maioria com 84% e idade média de 65 anos.

Em relação à presença de comorbidades, a HAS foi comum em ambos os grupos, sendo que a incidência do grupo AAA foi em 58% dos pacientes e no grupo controle de 33%. Todos os participantes do grupo AAA apresentaram eutrofia, sem a presença de obesidade (índice de massa corpórea (IMC) maior ou igual a 30Kg/m²), enquanto no grupo controle 33% apresentaram obesidade. O grupo AAA e controle apresentaram incidências iguais ou parecidas em relação ao DM e DPOC.

Para avaliar o tabagismo nos pacientes de ambos os grupos, foram pesquisados o tabagismo prévio e em atividade, como também calculamos a carga tabágica dos pacientes com histórico de tabagismo. Desse modo, 97% dos participantes do grupo AAA tinham histórico de tabagismo comparado com 26% do grupo controle. Sendo o tabagismo um dos principais fatores para desenvolvimento do AAA.

Sobre o uso de anti-hipertensivos, os β -bloqueadores (38%), bloqueadores do receptor de angiotensina, inibidores da ECA, inibidores do canal de cálcio (16%), foram os medicamentos mais utilizados e sob uso de diuréticos (26%), pelo grupo AAA. Já no grupo controle, iECA foi o medicamento mais utilizado pelos pacientes do grupo Controle (20%), que fizeram uso de anti-hipertensivos, enquanto nenhum paciente deste grupo fez uso de β -bloqueadores, bloqueadores do receptor de angiotensina e inibidores dos canais de cálcio. Apenas 7% sob uso de diuréticos.

A classificação de risco e desfecho da cirurgia do grupo AAA foi realizada segundo a classificação da American Society of Anesthesiologists (ASA) e as intercorrências durante o período de assistência estão descritas na Tabela 2.

Os pacientes do grupo AAA se concentram nas classificações 2 e 3 da ASA, ambos com 48% e 38% respectivamente. Esses dados correspondem ao número de 28 pacientes.

Tabela 1 - Características demográficas e clínicas de pacientes com AAA e Controle.

Grupo	Controle	AAA	P valor
Número de indivíduos	15	31	
Sexo (%)			
Masculino	6 (40,00)	26 (83,87)	0,0024
Feminino	9 (60,00)	5 (16,12)	
Idade (%)			
≤ 30 anos	3 (20,00)	0	
31 - 50 anos	8 (53,33)	1 (3,22)	
51 - 70 anos	7 (46,66)	22 (70,96)	
>70 anos	0	8 (25,80)	
Idade Média (anos) ± DP	41,13 ± 7,14	65,79 ± 18,51	<0,0001
Hábitos (%)			
Tabagismo	4 (26,66)	30 (96,77)	<0,0001
Comorbidades (%)			
DM	1 (6,66)	2 (6,45)	0,9779
Obesidade	5 (33,33)	0	0,0007
DPOC	1 (6,66)	3 (9,67)	0,7341
Doenças Cardiovasculares (%)			
HAS	5 (33,33)	18 (58,06)	0,1158
IAM	1 (6,66)	8 (25,80)	0,1250
AVC	8 (53,33)	4 (12,90)	0,0034
Arritmia	1 (6,66)	1 (3,22)	0,5916
IC	0	2 (6,45)	0,3145
Doença coronariana	0	12 (38,70)	0,0051
Doença arterial periférica	0	2 (6,45)	0,3145
Uso de Anti-Hipertensivos (%)			
iECA	3 (20)	5 (16,12)	0,9588
BRA	0	5 (16,12)	0,0200
β-bloqueador	0	12 (38,70)	0,0051
iCC	0	5 (16,12)	0,0994
Diurético	1 (6,66)	8 (25,80)	0,1250

Fonte: do autor, 2021.

Notas: **AAA:** Aneurisma de aorta abdominal, **DM:** Diabetes mellitus, **DPOC:** Doença pulmonar obstrutiva crônica, **HAS:** Hipertensão arterial sistêmica, **IC:** Insuficiência cardíaca, **iECA:** inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), **BRA:** bloqueadores do receptor de angiotensina, **iCC:** inibidores de canais de cálcio, **n/a:** Para avaliar a existência de diferença estatística foi realizado o qui² test, obtendo diferenças significativas em todas as variáveis. Para a idade, foi realizado o teste de normalidade das amostras, o qual demonstrou que se tratava de dados não paramétricos. O teste T não pareado identificou diferença estatística na variável idade, com P Value <0,0001.

Tabela 2 - Classificação de risco do grupo AAA.

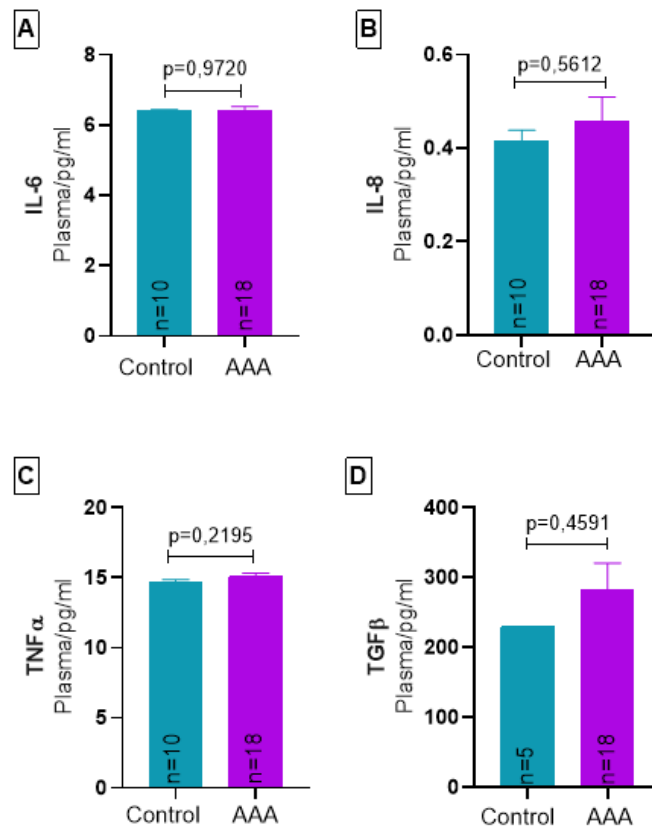
Número de indivíduos	31
Classificação de risco (%)*	
ASA 1	1 (3,22)
ASA 2	15 (48,38)
ASA 3	12 (38,70)
ASA 4	0
ASA 5	0

Fonte: do autor, 2021.

5.2 ANÁLISE PLASMÁTICA DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS OBTIDOS DE PACIENTES CONTROLES E PACIENTES COM AAA

As análises plasmáticas das IL6, IL-8, TNF α , TGF- β não apresentaram diferença significativa entre os grupos AAA e controle conforme mostrado na figura 11. É interessante ressaltar que a análise desses mediadores na amostra tecidual de aorta apresentou aumento significativo da IL-6 e IL-8 (Figura 12 A e B) nas amostras de indivíduos do grupo AAA comparado com o grupo controle e TNF α e TGF- β (figura 12 C e D) não apresentaram diferença significativa no tecido aórtico entre os grupos.

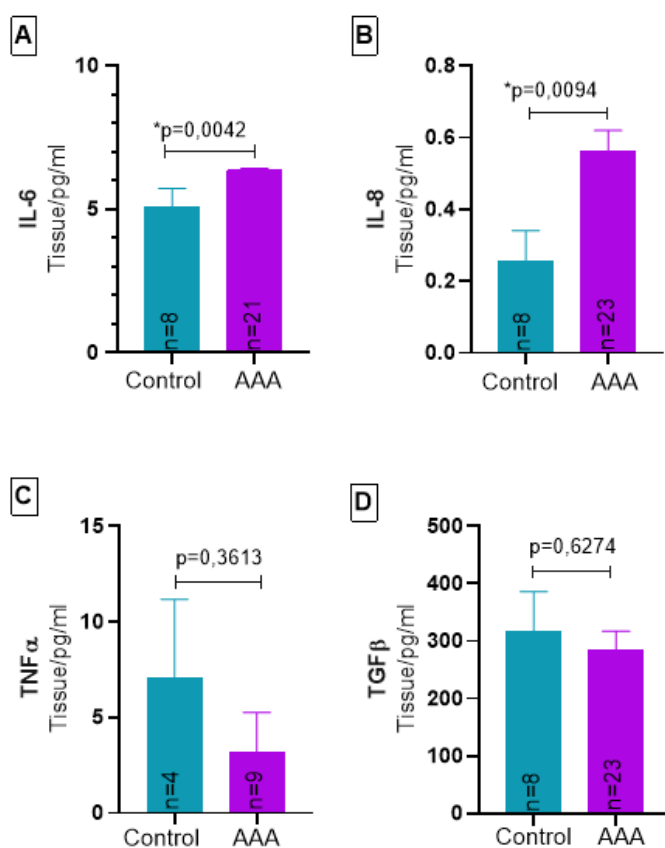
Figura 11 - Concentração dos mediadores inflamatórios no plasma de indivíduos do grupo AAA e pacientes controles analisados por Elisa.



Fonte: do autor, 2021.

Concentração Plasmática de Interleucinas por ELISA. (A) Concentração de IL-6, obtidas de indivíduos do grupo Controle (n=10) e AAA (n=18); p=0,9720. **(B) Concentração de IL-8**, de indivíduos do grupo Controle (n=10) e AAA (n=18); p=0,5612. **(C) Concentração de TNF α** , de indivíduos do grupo Controle (n=10) e AAA (n=18), p=0,2195. **(D) Concentração de TGF β** , de indivíduos do grupo Controle (n=5) e AAA (n=18); p=0,4591. Os dados estão apresentados em média \pm SEM. test-t não pareado.

Figura 12 - Concentração dos mediadores inflamatórios no tecido aórtico obtido de pacientes com AAA e pacientes controle.



Fonte: do autor, 2021.

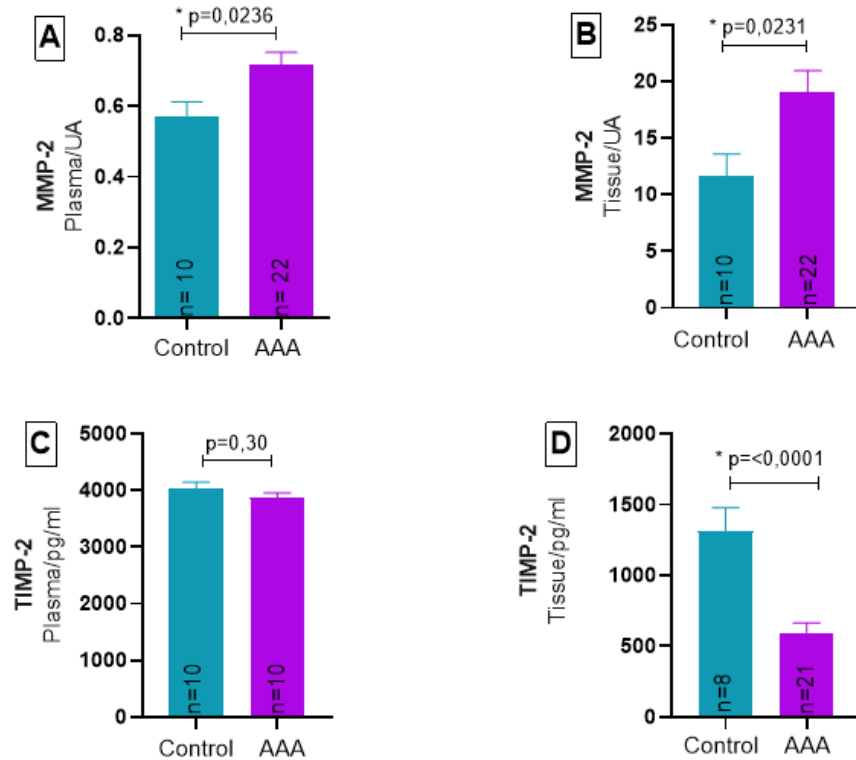
Concentração Tecidual de Interleucinas por ELISA. (A) Concentração de IL-6, obtidas de indivíduos do grupo Controle (n=8) e AAA (n=21); ***p= 0,0042. (B) Concentração de IL-8**, de indivíduos do grupo Controle (n=8) e AAA (n=23); * **p= 0,0094. (C) Concentração de TNF α** , de indivíduos do grupo Controle (n=4) e AAA (n=9); $p= 0.3613$. **(D) Concentração de TGF β** , de indivíduos do grupo Controle (n=8) e AAA (n=23); $p= 0.6274$. Os dados estão apresentados em média \pm SEM test-t não pareado.

5.3 ANÁLISE DAS MMPS E TIMPS PLASMÁTICA E TECIDUAL OBTIDAS DE PACIENTES CONTROLES E PACIENTES AAA

Observou-se aumento significativo da atividade das MMP-2 e MMP-9 no plasma e tecido aórtico do grupo AAA em relação ao grupo controle, conforme apresentado, respectivamente, nas figuras (13 A e B) e (14 A e B). Pensando na associação entre TIMPs e MMPs, nota-se que não houve diferença significativa da atividade de TIMP-1 no plasma e tecido aórtico de indivíduos com AAA em relação a indivíduos do grupo controle (figura 14 C

e D), assim como TIMP-2 plasmática (figura 13 C). O interessante foi em relação a TIMP-2 tecidual, que mostrou-se reduzida no grupo AAA em comparação ao grupo controle (Figura 13 D).

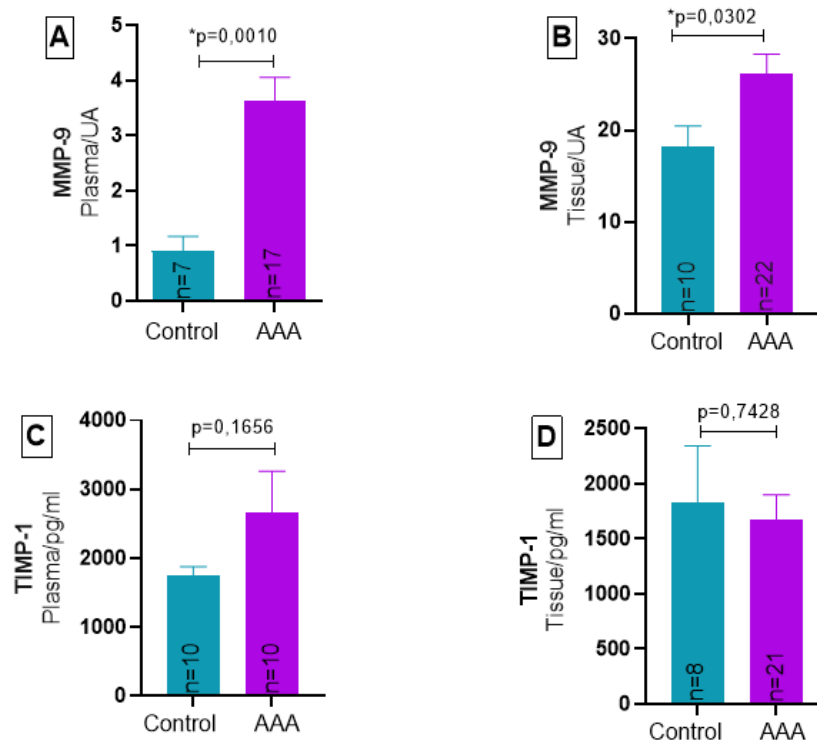
Figura 13 - Concentração de MMP- 2 e TIMP-2.



Fonte: do autor, 2021.

(A e B) **Concentração de MMP-2 plasmática e tecidual**, analisados por Zimografia, de indivíduos do grupo **Controle** (n=10) e **AAA** (n=22) **plasma**; grupo **Controle** (n=10) e **AAA** (n=22) **tecido**; **MMP-2 plasma Controle vs. AAA *p= 0,0236**. **MMP-2 tecido Controle vs. AAA *p= 0.0231**. (C e D) **Concentração de TIMP-2 plasmática e tecidual**, analisados Elisa, em aortas obtidas de indivíduos do grupo **Controle** (n=10) e **AAA** (n=10) **plasma**; grupo **Controle** (n=8) e **AAA** (n=21) **tecido**; **TIMP-2 plasma controle vs. AAA p= 0,30**. **TIMP-2 tecido Controle vs.AA * p=<0,0001**. Os dados estão apresentados em média \pm SEM, test-t não pareado.

Figura 14 - Concentração de metaloproteinases 9 e TIMP-1.



Fonte: do autor, 2021

(A e B) Concentração de MMP-9 plasmática e tecidual, analisados por Zimografia, de indivíduos do grupo Controle (n=7) e AAA (n=17) plasma; grupo Controle (n=10) e AAA (n=22) tecido; MMP-9 plasma Controle vs. AAA *p= 0,0010. MMP-9 tecido Controle vs. AAA *p= 0,0302. (C e D) Concentração de TIMP-1 plasmática e tecidual, analisados Elisa, em aortas obtidas de indivíduos do grupo Controle (n=10) e AAA (n=10) plasma; grupo Controle (n=8) e AAA (n=21) tecido; TIMP-1 plasma Controle vs. AAA p= 0,1656. TIMP-1 tecido Controle vs. AAA p= 0,7428. Os dados estão apresentados em média \pm SEM test-t não pareado.

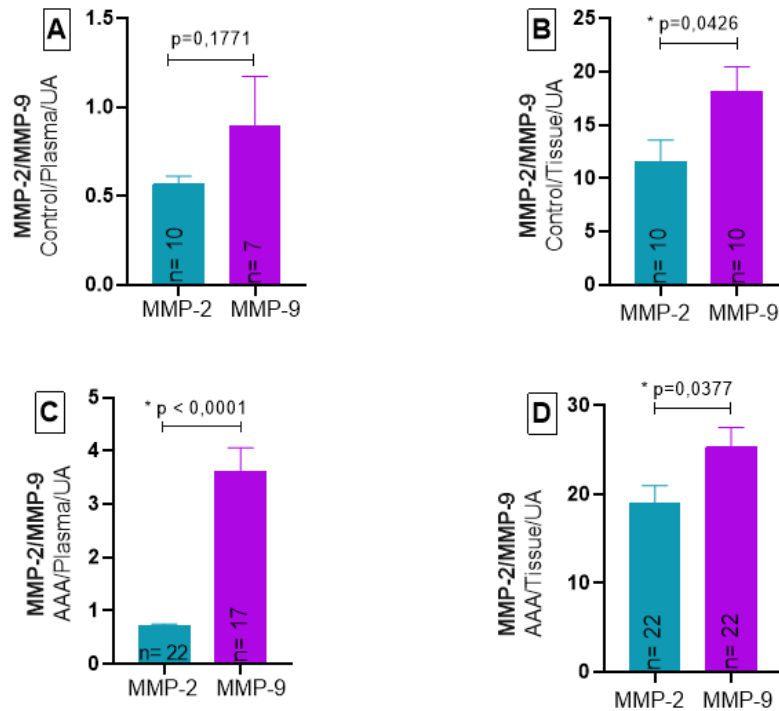
5.4 ANÁLISE PLASMÁTICA E TECIDUAL DAS MMPS 2 E 9 OBTIDOS DE PACIENTES CONTROLES E PACIENTES AAA

Para entender o perfil de expressão entre as MMP-2 e MMP-9 no plasma e tecido, foi feita a comparação intragrupo entre essas enzimas no plasma e tecido. Observa-se que a quantidade de MMP-2 e MMP-9 é semelhante no plasma grupo controle (figura 15A), enquanto a MMP-9 apresenta-se aumentada na aorta do grupo controle quando comparada com a MMP-2 também do grupo controle (figura 15B).

Interessante salientar que a comparação entre a expressão da MMP-2 e MMP-9 no grupo AAA mostrou diferença no plasma e tecido aórtico, sendo a quantidade de MMP-9 maior quando comparada à MMP-2 respectivamente (figura 15 C e D). Destaca-se, portanto, o aspecto

tecidual da MMP-9 no aneurisma de forma importante, pois entre todas as comparações, sejam entre controles ou aneurismas, sua concentração no tecido de AAA foi a de maior impacto (Figura 15 D).

Figura 15 - Concentração de MMP-2 e MMP-9 plasmática e tecidual entre Controles e AAA.



Fonte: do autor, 2021

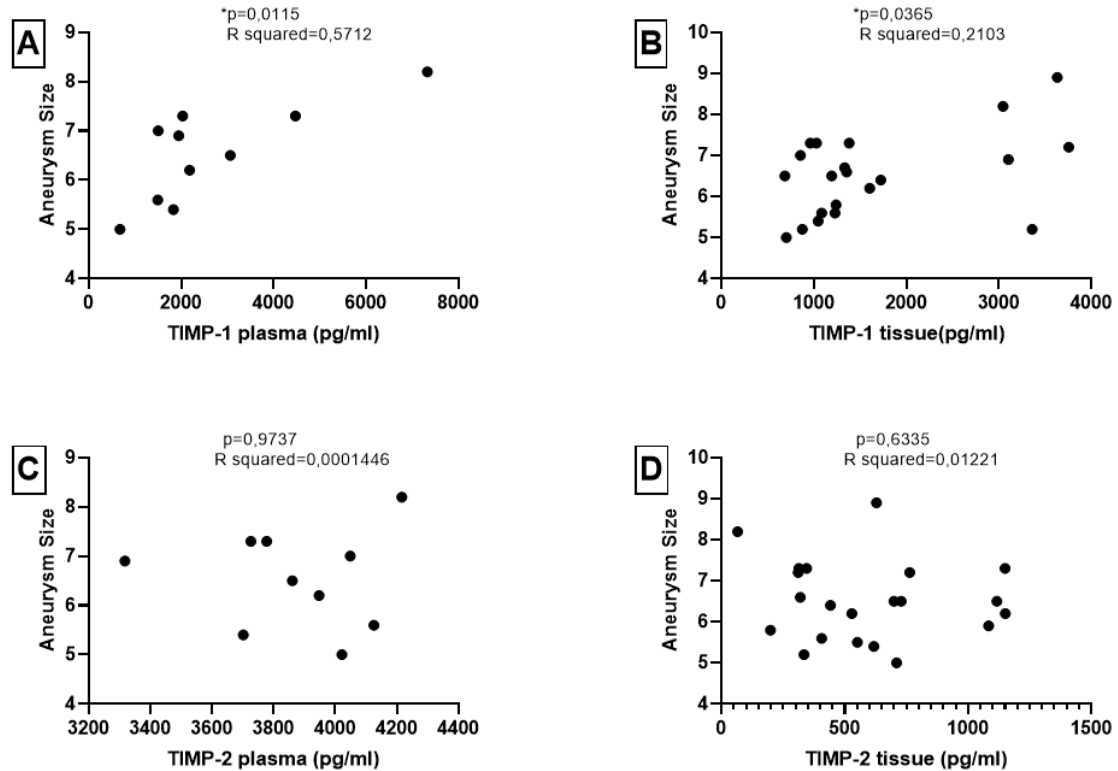
(A e B) Concentração de MMP-2/MMP-9 plasmática e tecidual, analisados por Zimografia, em aortas obtidas de indivíduos do grupo Controle - MMP-2 (n=10) e MMP-9 (n=7) plasma; MMP-2 (n=10) e MMP-9 (n=10) tecido; MMP-2/MMP-9 plasma MMP-2 vs. MMP-9 $p=0,1771$. MMP-2/MMP-9 tecido MMP-2 vs MMP-9 * $p=0,0426$. (C e D) Concentração de MMP-2/MMP-9 plasmática e tecidual, analisados por Zimografia, em aortas obtidas de indivíduos do grupo AAA - MMP-2 (n=22) e MMP-9 (n=17) plasma; MMP-2 (n=22) e MMP-9 (n=22) tecido. MMP-2/MMP-9 plasma MMP-2 vs. MMP-9 * $p<0,0001$. MMP-2/MMP-9 tecido MMP-2 vs MMP-9 * $p=0,0377$. Os dados estão apresentados em média \pm SEM, test-t não pareado.

5.5 ANÁLISE DE CORRELAÇÃO PLASMÁTICA E TECIDUAL DAS MMPS 2 E 9, TIMPS 1 E 2 E MEDIADORES INFLAMATÓRIOS OBTIDOS DE PACIENTES CONTROLES E TAMANHO DO ANEURISMA NO GRUPO AAA.

Para verificar a possibilidade do tamanho do AAA estar relacionado com a alteração das TIMPs 1 e 2 e MMPs 2 e 9, foi feita a correlação do tamanho do mesmo em relação a eles a nível plasmático e tecidual no grupo AAA. Observa-se correlação do tamanho do AAA em relação a TIMP-1 plasmática e tecidual (Figura 16 A e B), sendo associada ao tamanho do AAA, ou seja, quanto maior o diâmetro da artéria aorta maior a quantidade de TIMP-1 plasmática e tecidual, principalmente na faixa de 5 a 8 cm de diâmetro do vaso. Já a TIMP-2 não apresentou significância estatística em relação ao tamanho do AAA (Figura 16 C e D).

Na (Figura 17 A, B, C e D) verificamos que as MMPs plasmáticas e teciduais não estão correlacionadas ao tamanho do AAA, mas observa-se que elas têm uma tendência em estarem mais presentes na faixa de 5 a 8 cm do diâmetro do vaso o que demonstra a ação das mesmas em aortas com AAA.

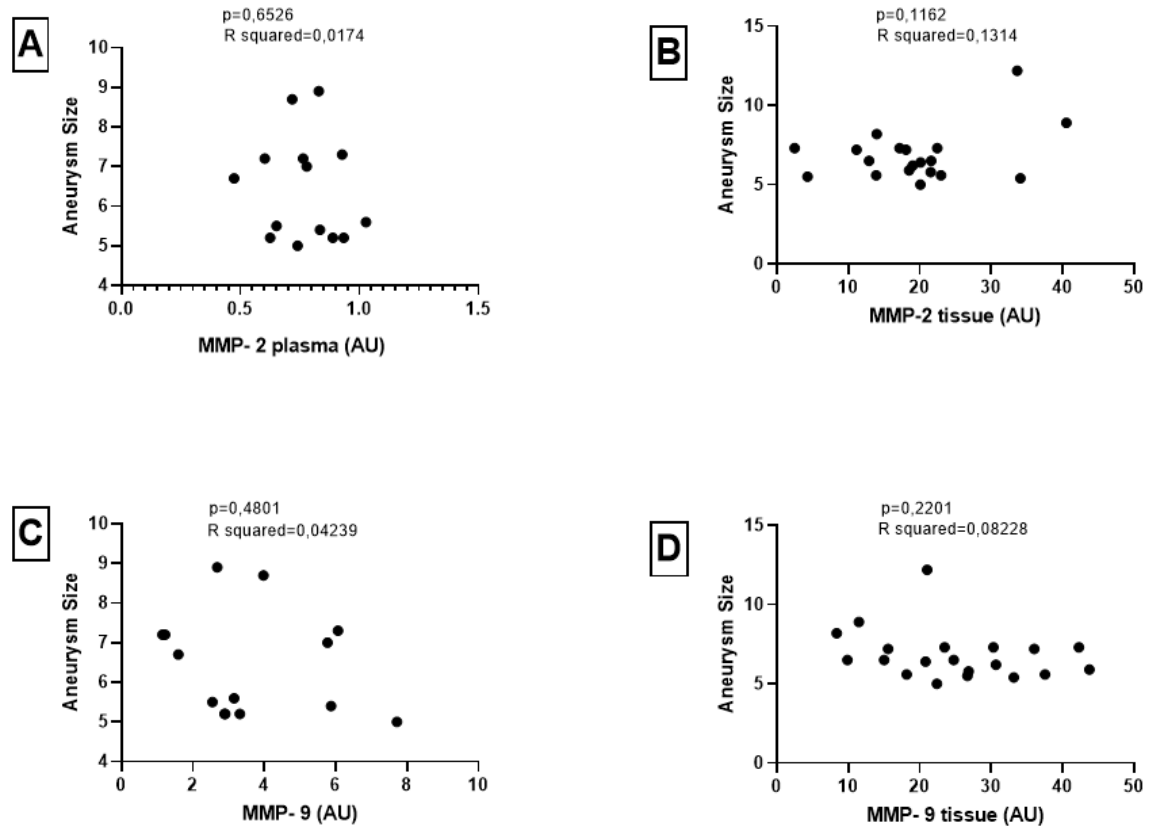
Figura 16 - Correlação do tamanho do AAA com TIMP 1 e TIMP 2 plasmática e tecidual entre Controles e AAA.



Fonte: do autor, 2021

Notas: (A e B) Correlação do tamanho do AAA em relação a TIMP-1 plasmática e tecidual, analisados por ELISA, em amostras obtidas de indivíduos do grupo AAA. TIMP-1 (n=10) plasmática e TIMP-1 (n=21) tecidual. Para TIMP-1 plasmática $*p= 0,0115/ R= 0,5712$. TIMP-1 tecidual $*p= 0,0365/ R= 0,2103$. (C e D) Correlação do tamanho do AAA em relação a TIMP-2 plasmática e tecidual, analisados por ELISA, em amostras obtidas de indivíduos do grupo AAA. TIMP-2 (n=10) tecidual e TIMP-2 (n=21) plasma; Para TIMP-2 plasmática $p= 0,9737/ R= 0,0001446$. TIMP-2 tecidual $p= 0,6335/ R= 0,01221$. Os dados estão em Correlação de Pearson.

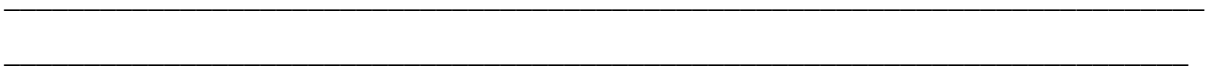
Figura 17 - Correlação do tamanho do AAA com MMP-2 e MMP-9 plasmática e tecidual entre Controles e AAA.



Fonte: do autor, 2021

Notas: (A e B) Correlação do tamanho do AAA em relação a MMP-2 plasmática e tecidual, analisados por ELISA, em amostras obtidas de indivíduos do grupo AAA. MMP-2 (n=14) plasmática e MMP-2 (n=20) tecidual. Para MMP-2 plasmática $p= 0,65/ R= 0,0174$. MMP-2 tecidual $p= 0,11 / R= 0,1314$. (C e D) Correlação do tamanho do AAA em relação a MMP-9 plasmática e tecidual, analisados por ELISA, em amostras obtidas de indivíduos do grupo AAA. MMP-9 (n=14) plasmática e MMP-9 (n=20) tecidual; Para MMP-9 plasmática $p= 0,4801/ R= 0,04239$. MMP-9 tecidual $p= 0,22/ R= 0,082$. Os dados estão apresentados em teste de Correlação de *Pearson*.

DISCUSSÃO



6 DISCUSSÃO

Em conjunto, nossos dados mostraram que o tecido obtido dos pacientes do grupo AAA apresentou aumento de IL-6, IL-8 e MMP-2 e MMP-9 em relação ao grupo controle. Os mediadores inflamatórios IL-6, IL-8, TNF- α e TGF- β não apresentaram diferença em níveis plasmáticos entre o grupo AAA e o grupo controle, enquanto as MMP-2 e MMP-9 plasmáticas estão elevadas no grupo AAA. Interessante observar que TIMP-2 tecidual apresentou-se reduzida nas aortas aneurismáticas, enquanto TIMP-1 plasmática e tecidual e TIMP-2 plasmática apresentaram-se semelhantes entre os grupos controles e AAA. Portanto, nossos achados sugerem uma contribuição local/tecidual na aorta importante dos mediadores inflamatórios, MMPs e TIMP-2 no AAA, ainda sugere que o perfil dos mediadores, MMPs e TIMPs plasmático nem sempre mimetiza o que acontece no tecido local da doença AAA.

Nossa análise de dados clínicos-epidemiológicos demonstrou que dentre os participantes do grupo AAA, 84% dos pacientes são do sexo masculino com idade média de 65 anos segundo descrição feita da literatura por (AMBLER *et al.*, 2015). Além disso, a incidência de AAA foi maior no sexo masculino em relação ao feminino, confirmando os achados na literatura. Carvalho e colaboradores (CARVALHO *et al.*, 2012) descrevem que a idade média de diagnóstico do AAA é em torno dos 65 - 75 anos, o que corrobora com nossos achados. Em 2020, Memon e colaboradores (MEMON *et al.*, 2020), fizeram um estudo de caso-controle na Suécia para diagnóstico de AAA em 24.589 homens com 65 anos ou mais de idade. Dentre os examinados por técnica de ultrassom, 415 (1,7% da população) confirmaram ser portadores AAA. Esses achados são semelhantes aos encontrados nos trabalhos de (CHAN *et al.*, 2021; ALTOBELLI *et al.*, 2018; LADICH *et al.*, 2016; ALBUQUERQUE *et al.*, 2004), em que citam a prevalência de AAA em 2% da população com faixa etária em torno dos 60 anos, sendo mais frequente no sexo masculino. Segundo (MOLL *et al.*, 2011) o tabagismo e o sexo masculino com idade entre 50 e 79 anos é um dos fatores de risco para desenvolvimento de AAA, dentre os fatores de risco, o tabagismo em nossa população apresentou-se em cerca de 97 % dos pacientes.

Um estudo realizado no estado do Espírito Santo para avaliar taxas de prevalência associadas aos fatores de risco para o AAA no Brasil, (BARROS *et al.*, 2015) analisaram ecografias vasculares de 834 pessoas no período de 2002 a 2003 e encontraram 21 pacientes com diagnóstico de AAA (prevalência de 2,5%), sendo 15 do sexo masculino (71,4%), com idade entre 65 a 75 anos (66,7%), fumantes ou ex fumantes (66,7%) e hipertensos (57,1%). No

estudo de coorte retrospectiva de (KENT *et al.*, 2010) com 3,1 milhões de pacientes que responderam a um questionário de estilo de vida e posteriormente examinados por ultrassom para avaliar risco de AAA entre os anos de 2003 e 2008, observaram uma forte associação da incidência de AAA ao tabagismo e HAS.

Ainda (SINGH *et al.*, 2001) e outros trabalhos (VAN *et al.*, 2021; KOBEISSI *et al.*, 2019; TAKAGI; UMEMOTO, 2005) também descrevem a hipertensão arterial como um dos fatores de risco para o desenvolvimento desse tipo de aneurisma. No presente estudo foi encontrada uma taxa de hipertensão em 58% dos indivíduos com AAA incluídos, e doenças coronarianas em cerca de 38% em comparação com o grupo controle em que nenhum paciente apresentou IC, doença coronariana e doença arterial periférica. Ainda quanto à associação de histórico de infarto agudo do miocárdio pacientes com AAA obtiveram histórico de 26% enquanto o grupo controle apenas 6%. Quanto ao aspecto da utilização de fármacos, as drogas usadas como estratégia atuais, são os inibidores da ECA e bloqueadores dos receptores AT1 (WANG *et al.*, 2019). Do total de 31 pacientes do grupo AAA 10 estavam sobre uso de inibidores dos sistemas renina angiotensina, sendo 5 em uso de inibidores da ECA e 5 em uso do antagonista do receptor de angiotensina II, respectivamente 16% da população para cada.

Nossos dados demográficos e clínicos confirmam dados da literatura (SBACV, 2015; BRASIL, 2016) que descrevem, portanto, os fatores de risco para desenvolvimento de AAA, idade avançada, gênero masculino e tabagismo, todos estes presentes como características marcantes nos indivíduos incluídos neste estudo. No grupo controle foram incluídos 15 pacientes com diagnóstico de morte encefálica. Sendo que 40% são do sexo masculino, com idade média de 41 anos. Observa-se que o tabagismo (26%), hipertensão arterial (33%), sobrepeso (33%) e AVC (53%) destacam-se entre os fatores de risco no grupo controle, porém ainda menor comparado ao grupo AAA.

O AAA é uma doença degenerativa e inflamatória que pode levar a complicações fatais. É definido como o aumento de pelo menos 50% do diâmetro local da aorta (JOHNSTON *et al.*, 1991). Esse aumento de diâmetro é resultado de complexa remodelação vascular, caracterizada, entre outros fatores, pela quebra da MEC, devido a atividade proteolítica excessiva, propiciando a potencial ruptura do vaso (MICHEL *et al.*, 2011; JOHNSTON *et al.*, 1991). A elevada estimativa do AAA em idosos do sexo masculino, e sua patogênese voltada aos mecanismos inflamatórios tem sido potencial alvo de investigação científica. O mecanismo até o momento conhecido sobre o AAA envolve a degradação/ destruição do colágeno e elastina da camada média e adventícia, com conseqüente infiltrado inflamatório, levando a destruição da

musculatura lisa (SÁ JUNIOR *et al.*, 2014). Sabendo que o AAA é caracterizado por uma inflamação crônica com conseqüente degradação vascular, a literatura ainda é vaga sobre quais os mecanismos reais que iniciam esse processo inflamatório no vaso. O presente trabalho buscou entender como a inflamação está envolvida no AAA e dentre os achados observados, a alteração dos mediadores inflamatórios, MMPs e TIMPs no local da lesão, tecido aórtico, mostrou-se importante na fisiopatologia aneurismática.

O papel de mediadores inflamatórios e MMPS no AAA vem sendo discutido na literatura. Nordon e colaboradores (NORDON *et al.*, 2011) em revisão da literatura sobre o AAA sugerem uma correlação entre a superprodução de interleucinas e AAA e (NOSALSKI; GUZIK, 2017) também discutem o processo de infiltração de leucócitos, com aumento positivo da expressão de fatores inflamatórios como citocinas e quimiocinas, induzindo a infiltração dessas células como neutrófilos e macrófagos, todos implicando na formação do AAA no microambiente da parede aórtica. Outro trabalho sugere que o processo inflamatório na aorta está relacionado às mudanças vasculares relacionadas à idade, pois há uma redução na capacidade de resposta do sistema imunológico, explicando uma tendência em desenvolver reações inflamatórias e conseqüentemente doenças crônicas como o AAA (CHUNG; LIP, 2006).

Uma outra teoria segue a correlação de que há a ativação dos linfócitos T que estimulam a ativação de interleucinas principalmente IL-6 (NORDON *et al.*, 2009). O aumento da produção de citocinas ativam os receptores de apoptose nas células musculares lisas, fazendo com que haja redução na síntese de colágeno e elastina e conseqüentemente morte celular na MEC. Além disso, devido a destruição da camada do vaso, haverá perda da resistência da túnica média, e componentes inflamatórios contidos na camada adventícia liberam infiltrados inflamatórios para aumentarem ainda mais a adesão na camada média. Esses processos, em conjunto com o acúmulo de plaquetas e coagulação promovem a trombose intraluminal, causando a dilatação da aorta com conseqüente ruptura se não tratado (CAMERON; RUSSELL; OWENS, 2018). Neste estudo observamos um aumento da IL-6 tecidual, enquanto no plasma a IL-6 não estava alterada entre o grupo AAA e o grupo controle. Podendo inferir que IL-6 está relacionada com o processo inflamatório crônico no local da lesão. Outros autores (ANZAI, 2018) demonstraram através de coloração em imunohistoquímica aumento de macrófagos e infiltração de linfócitos T, principalmente na camada média e adventícia, com conseqüente destruição de colágeno e elastina.

Além da IL-6, também foram analisadas as interleucinas IL-8, TGF β e TNF α . A citocina IL-8 também apresentou aumento significativo nas aortas no grupo AAA em relação ao grupo controle, enquanto o TNF α e o TGF β não apresentaram alteração no plasma e tecido aórtico entre os grupos, demonstrando que IL-8 pode estar ligada ao processo de degeneração tecidual, apoptose de células musculares lisas e consequente ativação das MMP 2 e MMP 9 descritas a seguir. É interessante que nenhuma das citocinas investigadas apresentou alteração no plasma, somente foi encontrada diferença no território local, na aorta, mostrando a importância do efeito autócrino e parácrino tecidual. Essas citocinas foram escolhidas por estarem relacionadas com o processo inflamatório no AAA. Nossos achados ainda corroboram com os estudos da literatura (KOKJE *et al.*, 2016; LINDEMAN *et al.*, 2008) que retiraram fragmentos de parede aneurismática da aorta humana e demonstraram que, neste tipo de tecido, existe expressão e ativação elevada de IL-6 e IL-8, em que se nota que esse tecido estava em processo de ativação de células inflamatórias.

No estudo de (JU; PEARCE, 2014), com amostras provenientes de camundongos portadores de AAA, mostra que a IL-6 contribui, como dito anteriormente, na apoptose e modulação da MEC pelo aumento da ação de MMPs, além de apresentar-se elevada no tecido aórtico.

Em relação aos outros tipos de citocinas estudadas, (DOYLE *et al.*, 2012) através do DNA genômico de linfócitos extraídos de coleta de sangue periférico de 10 pacientes com AAA no Hospital Johns Hopkins observaram que o TGF β influenciou nos mecanismos celulares, incluindo proliferação celular, diferenciação e atividade sintética. Podendo contribuir para o desenvolvimento deste tipo de aneurisma. O TGF β também foi relacionado a um papel importante no desenvolvimento do AAA, (LOCKE *et al.*, 2015) obtiveram 8 amostras teciduais de pacientes diagnosticados com AAA infrarrenal e outro grupo sem a doença aneurismática. Como resultado no mRNA encontraram 5,6 vezes de aumento nas taxas teciduais de TGF β entre grupo AAA e o grupo sem a doença. Nossos achados não demonstraram significância estatística nas amostras teciduais de AAA em comparação ao grupo controle, com aumento de TGF β nas mesmas.

Os mediadores inflamatórios fazem uma ligação entre o processo de inflamação com a degeneração do vaso, são eles que modulam a produção das MMPs 2 e 9 através da interação dos receptores de membrana (GIMÉNEZ, 2010; REEPS *et al.*, 2009). Assim, outro ponto importante do presente estudo foram as avaliações das MMPs e TIMPs envolvidos no AAA.

As MMPs são importantes proteases envolvidas na degradação do tecido e sua regulação ocorre por diferentes vias, como a que envolve seus inibidores endógenos, os TIMPs (VISSE; NAGASE, 2003). Entre as proteases envolvidas na degradação da matriz extracelular, estão as gelatinases MMP-2 e MMP-9 e seus respectivos inibidores principais: inibidores teciduais das metaloproteinases-2 (TIMP-2) e inibidores teciduais das metaloproteinases-9 (TIMP-1). São ativadas através de expressões gênicas e níveis de ativadores vs. inibidores podendo levar ao desenvolvimento de condições patológicas como o AAA (MOON; CHUNG, 2006). Visando confirmar estes achados em nossa amostra de estudo e correlacionar os níveis destas enzimas a outros indicadores clínicos e laboratoriais, foram realizadas as análises das MMP-2 e MMP-9, por zimografia de gelatina segundo descrição da literatura (D AVILA-MESQUITA *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2014), nos tecidos aórticos e plasmas de pacientes com AAA e controles. Observou-se aumento significativo da atividade de MMP-2 e MMP-9 no plasma e no tecido de pacientes com AAA em relação a pacientes controle. Nossos achados corroboram com dados da literatura (MAGUIRE *et al.*, 2019; NORDON *et al.*, 2009), pois observaram que MMP-2 plasmática apresentou-se mais expressa em amostras de indivíduos com AAA quando comparada a grupos controles sem doença aneurismática. Além disso, as MMPs são amplamente distribuídas nos tecidos e suas expressões controladas por citocinas (VAFADARI; SALAMIAN; KACZMAREK, 2016) segundo o presente achado em que houve elevação das expressões de IL-6 e IL-8 no tecido concomitante com a elevação de MMPs no grupo AAA. Sendo assim as MMPs são identificadas como reguladores - chave da resposta inflamatória (AGUIRRE *et al.*, 2017).

Em um modelo animal de AAA em camundongos, (ZHANG *et al.*, 2019) através da infusão de angiotensina II por duas semanas para desenvolvimento do AAA, coletaram tecidos da aorta e plasma e analisaram MMPs (2 e 9) e TIMP-1 por *Western Blot* e as citocinas TNF α e IL-6 por ELISA, observaram aumento das citocinas no plasma, além da elevação das MMPs (2 e 9) e redução de TIMP-1 no tecido. Em nosso estudo observamos elevação das MMPs (2 e 9) tanto no plasma quanto no tecido de amostras humanas com AAA, e nenhuma alteração para TIMP-1 tecidual e plasmática. Em contrapartida, nosso trabalho em humanos mostrou diminuição da TIMP-2 tecidual no grupo com AAA.

A MMP-2 pode acelerar a degradação da MEC, por meio do acúmulo da mesma na superfície do vaso promovendo a degradação do colágeno. A TIMP-2 inibe fisiologicamente a MMP-2 e quando há algum fator que impeça essa inibição, a expressão de MMP-2 é positiva no tecido aórtico. Importante salientar que as taxas de MMP-2 são maiores em AAA de pequeno

e médio porte, indicando que a MMP-2 está relacionada ao início da expansão do AAA (NAGASE; VISSE; MURPHY, 2006). Em condições normais a MMP-9 é produzida fisiologicamente, porém quando há infiltrado inflamatório na parede da aorta sua ativação é excessiva, conseqüentemente a elastina da camada média será degradada. Em nossos dados fizemos a comparação no grupo com AAA entre MMP-2 e MMP-9, os níveis de MMP-9 foram significativamente mais elevados no plasma e tecido comparados a MMP-2, no plasma (* $p < 0,0001$) e no tecido (* $p = 0,0251$). Portanto, se não houver controle de MMP-9 o vaso pode evoluir com deterioração e ruptura. Quando a MMP-9 está atuando excessivamente a TIMP-1 não consegue inibi-la. Embora os TIMPs possam inibir as MMPs, sua meia-vida é curta e a inativação pode ocorrer facilmente (LI *et al.*; 2020).

Nosso trabalho também analisou os inibidores das MMP-9 e MMP-2, TIMP-1 e TIMP-2, respectivamente. Observamos que a concentração de TIMP-1 plasmática e tecidual não apresentou diferença estatística entre os pacientes do grupo controle comparado com o grupo AAA. Na análise da TIMP-2 observa-se que a concentração plasmática nos pacientes do grupo AAA é similar com a encontrada nos pacientes do grupo controle. Interessantemente, a concentração tecidual é significativamente menor em pacientes do grupo AAA do que pacientes do grupo controle (* $p < 0,0001$). Diferentemente do relatado por outro estudo, os níveis circulantes de TIMP-2 não foram significativamente menores (ANTONIOU *et al.*, 2011). Ao avaliarmos as TIMPs nos tecidos, observamos que TIMP-1 não apresentou diferença significativa comparado ao controle corroborando com dados prévios de (CROWTHER *et al.*, 2000; PETERSEN; WÅGBERG; ANGQUIST, 2002). TIMP-2, desempenha um papel dúbio na regulação da MMP-2, e estudos diversos demonstraram que sua concentração em tecidos AAA pode estar aumentada, inalterada ou diminuída (GOODALL *et al.*, 2001; HIGASHIKATA *et al.*, 2004; PETERSEN; WÅGBERG; ANGQUIST, 2002; MCMILLAN *et al.*, 1995). Em baixas concentrações, TIMP-2 faz a ativação da MMP-2, enquanto que em concentrações mais altas, ela age inibindo MMP-2 (STRONGIN *et al.*, 1995). Em nosso estudo, observamos que ela estava significativamente menos expressa em tecidos de pacientes do grupo AAA do que em pacientes do grupo controle, o mesmo observado por (WILSON *et al.*, 2005).

Neste estudo também se observou que o tamanho do AAA foi relacionado com a alteração da TIMPs 1 plasmática (* $p = 0,0015/R=0,5712$) e tecidual (* $p = 0,036/R=0,2103$), sendo maior o diâmetro da artéria aorta em relação ao aumento de TIMP-1. Segundo (ROGGÉRIO *et al.*, 2013), em que analisaram 14 fragmentos de aorta abdominal humana não aneurismáticos coletadas após necrópsia e 14 amostras de aorta abdominal com aneurisma de

pacientes submetidos a cirurgia de reparação do mesmo e concluíram que o aumento dos mediadores inflamatórios e a inibição de TIMP-1 aumentou a degradação do vaso e conseqüentemente seu diâmetro.

Assim, em conjunto nosso trabalho mostrou que houve alteração dos mediadores inflamatórios (IL-6 e IL-8) a nível tecidual, MMPs 2 e 9 sistêmica e localmente e redução de TIMP-2 tecidual, indicando que esses componentes estão envolvidos na progressão do AAA. Espera-se que este trabalho possa contribuir com o entendimento desta doença e sirva para pesquisas futuras que esclareçam os mecanismos envolvidos no AAA.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Em conjunto, os dados sugerem que indivíduos com AAA apresentam aumento tecidual dos mediadores inflamatórios (IL-6 e IL-8), elevação dos níveis plasmáticos e teciduais das MMP-2 e MMP-9 e redução tecidual da TIMP-2. Nossos achados confirmaram dados da literatura onde indivíduos com AAA são em maior parte do sexo masculino, com idade média de 65 anos, tabagistas ou ex-tabagistas e hipertensos. Portanto, no presente estudo foi mostrado a contribuição tecidual dos fatores inflamatórios, MMPs e TIMPs na aorta aneurismática, sugerindo que a resposta local na aorta é uma via importante na fisiopatologia do desenvolvimento de AAA.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

AGUIRRE, A. *et al.* Matrix metalloproteinase-14 triggers an anti-inflammatory proteolytic cascade in endotoxemia. **Journal of Molecular Medicine**, Berlin, v. 95, n. 5, p. 487-97, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00109-017-1510-z>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28120021/>. Acesso em: 04 ago. 2021.

ALBUQUERQUE, L. C. *et al.* Diretrizes para a cirurgia das doenças da aorta. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 5, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2004001100003>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/B3G5rVmsngsPnyccksQZy6z/?lang=pt>. Acesso em: 04 ago. 2021.

ALTOBELLI, E. *et al.* Risk Factors for Abdominal Aortic Aneurysm in Population-Based Studies: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Int J Environ Res Public Health** v. 10, n. 15(12), p.2805, 2018. DOI: 10.3390/ijerph15122805. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30544688/>. Acesso em: 19 nov.2021.

AMARAL, G. F. F.; FERNANDES, H. P. M.; ALVES, R. F. ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL: UMA ANÁLISE CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA DO ESTADO DO TOCANTINS NOS ÚLTIMOS 20 ANOS. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 8, n. 1, p. 48–57, 2021. DOI: 10.20873/uft.2446-6492.2021v8n1p48. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/patologia/article/view/11664/18645>. Acesso em: 03 nov.2021.

AMBLER, G. K. *et al.* The Abdominal Aortic Aneurysm Statistically Corrected Operative Risk Evaluation (AAA SCORE) for predicting mortality after open and endovascular interventions. **Journal of Vascular Surgery**, New York, v. 61, n. 1, p. 35-43, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2014.06.002>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24985535/>. Acesso em: 6 out. 2020.

ANDREUCCI, M. *et al.* Aortic Aneurysms, Chronic Kidney Disease and Metalloproteinases. **Biomolecules**. v.30, n.11(2), p.194, 2021. DOI: 10.3390/biom11020194. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33573220/>. Acesso em: 21 nov.2021.

ANTONIOU, G. A. *et al.* Circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors in inguinal hernia and abdominal aortic aneurysm. **International Angiology: A Journal of the International Union of Angiology**, v. 30, n. 2, p. 123–129, 2011. PMID: 21427648. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21427648/>. Acesso em: 9 nov.2021.

ANZAI, T. Inflammatory Mechanisms of Cardiovascular Remodeling. **Circ J**. Japan, v.23, n.82(3), p.629-635, 2018. DOI: 10.1253/circj. CJ-18-0063. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29415911/>. Acesso em: 10 out.2021.

ARGENTA, R.; PEREIRA, A. H. Modelos animais de aneurisma de aorta. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 8, n. 2, p. 148–153, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1677-54492009000200009>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jvb/a/dsLgmNhrwmdtQXXVTyjdjKSf/?lang=pt>. Acesso em: 01 jan.2021.

ASSIS, J. A. C. DE; DUQUE, M. A. A. Aneurisma de aorta abdominal, aspectos, patogenicidade, diagnóstico e terapia. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 93944–93958, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n12-018. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/20857/16651>. Acesso em:

BARROS, F. S. *et al.* Rastreamento do aneurisma da aorta abdominal na população da cidade de Vitória (ES). **Arq Bras Cardiol: Imagem cardiovasc.** v. 28, n. 2, p.60-66p. 7, 2015. DOI: 10.5935/2318-8219.20150013. Disponível em: <https://jvascbras.org/article/5df252c00e8825842fb5f733/pdf/jvb-4-1-59.pdf>. Acesso em: 15 out.2021.

BASNYAT, P. S. *et al.* Mortality from ruptured abdominal aortic aneurysm in Wales. **The British Journal of Surgery**, Oxford, v. 86, n. 6, p. 765–770, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2168.1999.01170.x>. Disponível em: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10383576/#:~:text=Results%3A%20Some%20233%20patients%20with,per%20100%20000%20total%20population.&text=Vascular%20surgeons%20operated%20on%2082,\(69%20per%20cent\)%20died](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10383576/#:~:text=Results%3A%20Some%20233%20patients%20with,per%20100%20000%20total%20population.&text=Vascular%20surgeons%20operated%20on%2082,(69%20per%20cent)%20died). Acesso em: 04 ago. 2021.

BAXTER, B.T. *et al.* Effect of Doxycycline on Aneurysm Growth Among Patients With Small Infrarenal Abdominal Aortic Aneurysms: A Randomized Clinical Trial. **JAMA**.Nebraska, v. 26, n.323(20), p. 2029-2038, 2020. DOI: 10.1001/jama.2020.5230. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32453369/>. Acesso em: 28 out.2021.

BENDECK, M.P. Matrix metalloproteinases: are they antiatherogenic but proaneurysmal? **Circ Res.**, Canada, v. 3, n. 90(8), p. 836-7, 2002. DOI: 10.1161/01.res.0000018141.73992.41. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11988481/>. Acesso em: 05 jun. 2020.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem.** v.72, p.248-54, 1976. DOI: 10.1006/abio.1976.9999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/942051/>. Acesso em: 02 mai. 2020.

BLANCHARD, J. F. *et al.* The Relation between Chlamydia pneumoniae Infection and Abdominal Aortic Aneurysm: Case-Control Study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 30, n. 6, p. 946–947, 1, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1086/313806>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10880309/>. Acesso em: 01 nov.2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Diretriz Brasileira para o tratamento do Aneurisma de Aorta Abdominal. **CONITEC**, n.240, 2016. Disponível em: http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2017/Relatorio_Diretriz_AneurismaAortaAbdominal_Recomendacao.pdf. Acesso em: 03 out.2021.

BRAVO, J.F. *et al.* Factores perioperatorios pronósticos en cirugía abierta de aneurisma de aorta abdominal yuxtarenal. **Angiología**, Madrid, v.71, n.4, p.135-143, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/angiologia.00009>. Disponível em: <https://www.revistaangiologia.es/articles/00027/show#!>. Acesso em: 02 nov. 2021.

CAMERON, S.J., RUSSELL, H.M. OWENS, A.P. 3rd. Antithrombotic therapy in abdominal aortic aneurysm: beneficial or detrimental? **Blood.** v.20, n.132(25), p.2619-2628, 2018. DOI: 10.1182/blood-2017-08-743237. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30228233/>. Acesso em: 21 nov.2021.

CARVALHO, A. T. Y. *et al.* Aneurisma da aorta abdominal infrarrenal: importância do rastreamento em hospitais do Sistema Único de Saúde na região metropolitana de Salvador - Bahia. **Jornal Vascular Brasileiro**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 289-300, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1677-54492012000400007>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-54492012000400007&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 6 out. 2020.

CHAN, W.K. *et al.* Systematic review and meta-analysis of the prevalence of abdominal aortic aneurysm in Asian populations. **J Vasc Surg.** v.73, n.3, p.1069-1074.e1, 2021. DOI: 10.1016/j.jvs.2020.08.140. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32987145/>. Acesso em: 21 nov.2021.

CHUNG, I.; LIP, G.Y. Platelets and heart failure. **Eur Heart J.** v.27, n.22, p.2623-31, 2006. DOI: 10.1093/eurheartj/ehl305. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17028108/>. Acesso em: 3 out.2021.

CRISTINA DO AMARAL WESTIN, M. Expressão das proteínas MMP-2, MMP-9, MMP-14, TIMP-1, TIMP-2 e VEGF-A na NIC 3 e no carcinoma invasor do colo do útero: Expression of the proteins MMP-2, MMP-9, MMP-14, TIMP-1, TIMP-2 and VEGF-A in the CIN 3 and cervical cancer. Doutora em Tocoginecologia—Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 25 jul. 2013.

CROWTHER, M. *et al.* Increased matrix metalloproteinase 2 expression in vascular smooth muscle cells cultured from abdominal aortic aneurysms. **Journal of Vascular Surgery**, v. 32, n. 3, p. 575–583, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1067/mva.2000.108010>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10957667/>. Acesso em: 2 nov.2021.

DAVIS, F.M.; GALLAGHER, K.A. Epigenetic Mechanisms in Monocytes/Macrophages Regulate Inflammation in Cardiometabolic and Vascular Disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** v.39, n.4, p.623-634, 2019. DOI: 10.1161/ATVBAHA.118.312135. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30760015/>. Acesso em: 8 nov.2021.

DAVIS, F. M.; RATERI, D. L.; DAUGHERTY, A. Mechanisms of aortic aneurysm formation: translating preclinical studies into clinical therapies, **Heart**, London, v. 100, n. 19, p. 1498-505, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2014-305648>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25060754/>. Acesso em: 01 ago. 2021.

DAUGHERTY, A. *et al.* Angiotensin II infusion promotes ascending aortic aneurysms: attenuation by CCR2 deficiency in apoE^{-/-} mice. **Clinical Science**, London, v. 118, n. 11, p. 681-89, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1042/CS20090372>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20088827/>. Acesso em: 01 ago. 2021.

D AVILA-MESQUITA, C. *et al.* MMP-2 and MMP-9 levels in plasma are altered and associated with mortality in COVID-19 patients. **Biomed Pharmacother**, v.142, n.112067, 2021. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112067. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34449310/>. Acesso em: 7 nov.2021.

DELABIO-FERRAZ, E. *et al.* Rana catesbeiana, pólvora e modulação supramolecular cicatrização intestinal e prognóstico no câncer de cólon: uma mesma origem biológica para o insucesso? **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v. 30, n. 2, p. 141–151, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-98802010000200004>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbc/a/XfpqKsCkYBCLqBmsBsx8Brs/?lang=pt>. Acesso em: 8 mai.2021.

DELEEUW, V. *et al.* An Overview of Investigational and Experimental Drug Treatment Strategies for Marfan Syndrome. **J Exp Pharmacol.** v.11, n.13, p.755-779, 2021.DOI: 10.2147/JEP.S265271. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34408505/>. Acesso em: 19 nov. 2021.

DOYLE, A.J. *et al.* Mutations in the TGF- β repressor SKI cause Shprintzen-Goldberg syndrome with aortic aneurysm. **Nat Genet.** v.44, n.11, p.1249-54, 2012. DOI: 10.1038/ng.2421. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23023332/>. Acesso em: 21 nov.2021.

EAGLETON, M. J. *et al.* Early increased MT1-MMP expression and late MMP-2 and MMP-9 activity during Angiotensin II induced aneurysm formation. **The Journal of Surgical Research**, Philadelphia, v. 135, n. 2, p. 345-51, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2006.03.026>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16716358/>. Acesso em: 03 ago. 2021.

FATIMA, J. *et al.* Inflammatory Abdominal Aortic Aneurysm With Retroperitoneal Fibrosis. **Circulation**, v. 130, n. 15, p. 1300-02, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010173>. Disponível em: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010173>. Acesso em: 03 ago. 2021.

FEGHALI, C.A.; WRIGHT, T.M. Cytokines in acute and chronic inflammation. **Front Biosci.** v.1, n.2, p.12-26, 1997. DOI: 10.2741/a171. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9159205/>. Acesso em: 8 nov.2021.

FILARDO, G. *et al.* Platelet-rich plasma vs hyaluronic acid to treat knee degenerative pathology: study design and preliminary results of a randomized controlled trial. **BMC Musculoskelet Disord.**, Italy, v.13:229, 2012. DOI: 10.1186/1471-2474-13-229. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23176112/>. Acesso em : 30 abr.2020.

FITRIDGE, R.; THOMPSON, M.; editors. Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists [Internet]. Adelaide (AU): University of Adelaide Press; 2011. PMID: 30484990. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30484990/>. Acesso em: 2 ago.2021.

FORESTER, N. D. *et al.* Functional characterization of T cells in abdominal aortic aneurysms. **Immunology**, v. 115, n. 2, p. 262–270, 2005. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02157.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15885133/>. Acesso em: 4 set.2020.

FRANCISCHETTI, I. *et al.* Os leucócitos e a resposta inflamatória na lesão de isquemia-reperfusão. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 575-84, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-76382010000400023>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbccv/a/KvqDRn3t6dfMfwCK6htsWfH/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 06 jul. 2021.

FREESTONE, T. *et al.* Inflammation and matrix metalloproteinases in the enlarging abdominal aortic aneurysm. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, Dallas, v. 15, n. 8, p.

1145-51, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.atv.15.8.1145>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7627708/>. Acesso em: 06 jul. 2021.

FREITAG, Raquel Meister Ko. Amostras sociolinguísticas: probabilísticas ou por conveniência?. **Revista de estudos da linguagem**, v. 26, n. 2, p. 667-686, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.17851/2237-2083.26.2.667-686>. Acesso em: 14 abr 2021.

GALIS, Z.S. *et al.* Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. **J Clin Invest**. New Jersey, v.94, n.6, p. 2493-503, 1994. DOI: 10.1172/JCI117619. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7989608/>. Acesso em: 05 jul.2021.

GALLE, C. *et al.* Predominance of type 1 CD4+ T cells in human abdominal aortic aneurysm. **Clinical and Experimental Immunology**, Oxford, v. 142, n. 3, p. 519-27, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02938.x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16297165/>. Acesso em: 09 jul. 2021.

GAO, R. *et al.* Advances in the Pathogenesis of Abdominal Aortic Aneurysms and Inflammation. **Sheng Li Ke Xue Jin Zhan**. v.47, n.2, p.88-92, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29671981/>. Acesso em: 21 nov.2021.

GARDNER, J.; GHORPADE, A. Tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1: The TIMPed balance of matrix metalloproteinases in the central nervous system. **Journal of Neuroscience Research**, v. 74, n. 6, p. 801–806, 2003. DOI: 10.1002/jnr.10835. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14648584/>. Acesso em: 16 ago.2020.

GIANFAGNA, F. *et al.* RoCAV Project Investigators. Prevalence of abdominal aortic aneurysms and its relation with cardiovascular risk stratification: protocol of the Risk of Cardiovascular diseases and abdominal aortic Aneurysm in Varese (RoCAV) population based study. **BMC Cardiovasc Disord**. v.6, n.1, p. 243, 2016. DOI: 10.1186/s12872-016-0420-2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27894269/>. Acesso em: 19 nov.2021.

GIMÉNEZ, J. L. Aneurismas da aorta abdominal: Um risco pouco (re)conhecido. **Revista Portuguesa De Medicina Geral E Familiar**. v.26, n.5, p. 476–84, 2010. DOI: <https://doi.org/10.32385/rpmgf.v26i5.10782>. Disponível em: <https://www.rpmgf.pt/ojs/index.php/rpmgf/article/view/10782>. Acesso em: 03 set.2021.

GITLIN, J. M. *et al.* Genetic deficiency of cyclooxygenase-2 attenuates abdominal aortic aneurysm formation in mice. **Cardiovascular Research**, Oxford, v. 73, n. 1, p. 227–236, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.10.015>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17137566/>. Acesso em: 09 jul. 2021.

GÓES JUNIOR, A. M. O. *et al.* Sexo e idade e sua influência sobre a anatomia da aorta abdominal e seus ramos. **Jornal Vascular Brasileiro**, São Paulo, v. 19, p. e20200073, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1677-5449.200073> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jvb/a/jPhRQBzgH98vsCvhPpBfr5C/?lang=pt>. Acesso em: 09 jul. 2021.

GOLLEDGE, J. *et al.* Lack of an effective drug therapy for abdominal aortic aneurysm. **J Intern Med**. v.288, n.1, p.6-22, 2020. DOI: 10.1111/joim.12958. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31278799/>. Acesso em: 19 nov.2021.

GOLLEDGE, J.; NORMAN, P. E. Current status of medical management for abdominal aortic aneurysm. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 217, n. 1, p. 57–63, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.03.006>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21596379/>. Acesso em: 09 jul. 2021.

GOODALL, S. *et al.* Ubiquitous elevation of matrix metalloproteinase-2 expression in the vasculature of patients with abdominal aneurysms. **Circulation**. v.17, n.104(3), p.304-9, 2001. DOI: 10.1161/01.cir.104.3.304. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11457749/>. Acesso em: 2 set.2021.

GREGHI, S. L. A. Avaliação quantitativa das citocinas IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 e do TGF- β 1, presentes na saliva de pacientes com periodontite, antes e após a submissão à psicoterapia: análise comparativa com pacientes controles. null em Periodontia—Bauru: Universidade de São Paulo, 10 fev. 2012. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/livredocencia/25/tde-10022012-154515/publico/SebastiaoLuizAguiarGreghi.pdf>. Acesso em: 24 nov.2021.

GROENINK, M. *et al.* Losartan reduces aortic dilatation rate in adults with Marfan syndrome: a randomized controlled trial. **European Heart Journal**, Oxford, v. 34, n. 45, p. 3491-500, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz334>. Acesso em: 09 jul. 2021.

GUIRGUIS, B.J.M. *et al.* Primary Care Screening for Abdominal Aortic Aneurysm: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. **JAMA**. V.10, n.322(22), p.2219-2238, 2019. DOI: 10.1001/jama.2019.17021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31821436/>. Acesso em: 10 nov.2021.

GUSMÃO, R.C.G.F. Estudo da metaloproteínas 2 e 9 e seus inibidores nas formas clínicas indeterminada e cardíaca da doença de Chagas. 2013. 165 f. Tese (Doutorado em Ciências área de concentração Biologia Celular e Molecular) -Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Belo Horizonte, 2013. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/6767>. Acesso em: 03 ago.2019.

HARRISSON, S.C. *et al.* Genetic Association of Lipids and Lipid Drug Targets With Abdominal Aortic Aneurysm: A Meta-analysis. **JAMA Cardiol**. v.1, n.3(1), p.26-33, 2018. DOI: 10.1001/jamacardio.2017.4293. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29188294/>. Acesso em: 19 nov. 2021.

HIGASHIKATA, T. *et al.* Application of real-time RT-PCR to quantifying gene expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human abdominal aortic aneurysm. **Atherosclerosis**. v.177, n.2, p.353-60, 2004. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2004.07.013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15530910/>. Acesso em: 13 out.2021.

IBRAHIM, M. *et al.* Systematic review and Meta-Analysis of Mendelian randomisation analyses of Abdominal aortic aneurysms. **Int J Cardiol Heart Vasc**. v.8, n.35, p.100836, 2021. DOI: 10.1016/j.ijcha.2021.100836. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34286064/>. Acesso em: 19 nov.2021.

JOHNSTON, K.W. *et al.* Suggested standards for reporting on arterial aneurysms. Subcommittee on Reporting Standards for Arterial Aneurysms, Ad Hoc Committee on Reporting Standards, Society for Vascular Surgery and North American Chapter, International

Society for Cardiovascular Surgery. **J Vasc Surg.**, v.13, n.3, p. 452-8, 1991. DOI: 10.1067/mva.1991.26737. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1999868/>. Acesso em: 3 nov.2021.

JU, M.H.; PEARCE, W.H. Asymptomatic aortic occlusion secondary to abdominal aortic aneurysm. **J Vasc Surg.** v.60, n.2, p. 503, 2014. DOI: 10.1016/j.jvs.2013.08.044. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25064327/>. Acesso em: 2 nov.2021.

KADOGLU, N.P.; LIAPIS, C.D. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis, surveillance and treatment of abdominal aortic aneurysms. **Curr Med Res Opin.** v.20, n.4, p.419-32, 2004. DOI: 10.1185/030079904125003143. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15119978/>. Acesso em: 21 nov. 2021.

KEISLER, B.; CARTER, C. Abdominal Aortic Aneurysm. **Am Fam Physician.**South Carolina, v. 91, n. 8, p. 6, 2015. PMID: 25884861. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25884861/>. Acesso em: 23 out.2021.

KENT, C.K. *et al.* Analysis of risk factors for abdominal aortic aneurysm in a cohort of more than 3 million individuals. *Journal of Vascular Surgery*, v.52, n.3, p. 539-548, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2010.05.090>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0741521410013029>. Acesso em: 3 mai. 2021.

KOBEISSI, E. *et al.* Blood pressure, hypertension and the risk of abdominal aortic aneurysms: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. **Eur J Epidemiol.** v.34, n.6, p. 547-555, 2019. DOI: 10.1007/s10654-019-00510-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30903463/>. Acesso em: 19 nov.2021.

KOKJE, V. B. C. *et al.* IL-6: A Janus-like factor in abdominal aortic aneurysm disease. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 251, p. 139-46, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.06.021>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27318834/>. Acesso em: 03 ago. 2021.

KUIVANIEMI, H. *et al.* Understanding the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. **Expert Rev Cardiovasc Ther.** v.13, n.9, p.975-87, 2015. DOI: 10.1586/14779072.2015.1074861. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26308600/>. Acesso em: 21 nov.2021.

KUMAR, S.; *et al.* Role of Noncoding RNAs in the Pathogenesis of Abdominal Aortic Aneurysm. **Circ Res.** v. 15, n.124(4), p. 619-630, 2019. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312438. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30763215/>. Acesso em: 04 jul.2020.

KUMAR, V; ABBAS AK; FAUSTO N; ROBBINS E COTRAN - Patologia – bases patológicas das doenças. - 7ª ed, elsevier, p. 557, 2005.

LADICH, E. *et al.* Vascular diseases: aortitis, aortic aneurysms, and vascular calcification. **Cardiovasc Pathol.** EUA, v. 25n. 5, p. 432-41, 2016. DOI: 10.1016/j.carpath.2016.07.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27526100/>. Acesso em: 20 out.2021.

LENK, G. M.; *et al.* Whole genome expression profiling reveals a significant role for immune function in human abdominal aortic aneurysms. **BMC genomics**, London, v. 8, p. 237, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-237>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17634102/>. Acesso em: 03 ago. 2021.

LI, Gang. *et al.* Ulinastatin inhibits the formation and progression of experimental abdominal aortic aneurysms. **Journal of vascular research**, v. 57, n. 2, p. 58-64, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1159/000504848>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31962313/>. Acesso em: 16 jul. 2021.

LI, L. *et al.* Expression of the SM22alpha promoter in transgenic mice provides evidence for distinct transcriptional regulatory programs in vascular and visceral smooth muscle cells. **J Cell Biol.**Texas, v.132, n.5, p. 849-59, 1996. DOI: 10.1083/jcb.132.5.849. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8603917/>. Acesso em: 02 nov.2021.

LI, T. *et al.* Matrix metalloproteinase family polymorphisms and the risk of aortic aneurysmal diseases: A systematic review and meta-analysis. **Clin Genet.** v.93, n.1, p.15-32, 2018. DOI: 10.1111/cge.13050. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28485889/>. Acesso em: 21 nov. 2021.

LI, Y. *et al.* MMPs and ADAMs/ADAMTS inhibition therapy of abdominal aortic aneurysm. **Life Sciences**, USA, v. 253, p. 117659, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117659>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320520304070>. Acesso em: 02 nov.2021.

LINDHOLT, J.S.; SHI, G.P. Chronic inflammation, immune response, and infection in abdominal aortic aneurysms. **Eur J Vasc Endovasc Surg.** v.31n. 5, p.453-63, 2006. DOI: 10.1016/j.ejvs.2005.10.030. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16414293/>. Acesso em: 8 nov.2021.

LINDEMAN, J. H. N. *et al.* Enhanced expression and activation of pro-inflammatory transcription factors distinguish aneurysmal from atherosclerotic aorta: IL-6- and IL-8-dominated inflammatory responses prevail in the human aneurysm. **Clinical Science**, London, v. 114, n. 11, p. 687-97, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1042/CS20070352>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18078385/>. Acesso em: 03 ago. 2021.

LOCKE, A.E. *et al.* Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. **Nature.** v.12, n.518(7538), p.197-206, 2015. DOI: 10.1038/nature14177. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25673413/>. Acesso em: 2 out.2021.

MCMILLAN, W. D. *et al.* In situ localization and quantification of seventy-two – kilodalton type IV collagenase in aneurysmal, occlusive, and normal aorta. **Journal of Vascular Surgery**, v. 22, n. 3, p. 295–305, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0741-5214\(95\)70144-3](https://doi.org/10.1016/S0741-5214(95)70144-3). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0741521495701443>. Acesso em: 05 jul.2021.

MATA, Karina Magalhães Alves da; RAMOS, Simone Gusmão. **Participação das Metaloprotinases 2 e 9 no desenvolvimento de aneurismas da aorta abdominal em ratos Wistar.** 2008.Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008. Disponível em: < <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17143/tde-18112010-110823/?&lang=pt-br> >. Acesso em: 6 nov.2021.

MAGUIRE, E. M. *et al.* Matrix Metalloproteinase in Abdominal Aortic Aneurysm and Aortic Dissection. **Pharmaceuticals**, Basel, v. 12, n. 3, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph12030118>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6789891/>. Acesso em: 03 ago. 2021.

MEMON, A.A. *et al.* Identification of novel diagnostic and prognostic biomarkers for abdominal aortic aneurysm. **Eur J Prev Cardiol**. Sweden, v.27, n. 2, p.132-142, 2020. DOI: 10.1177/2047487319873062. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31466471/>. Acesso em: 02 nov.2021.

MICHEL, J.B. *et al.* Novel aspects of the pathogenesis of aneurysms of the abdominal aorta in humans. **Cardiovasc Res**. v.1, n.90(1), p.18-27, 2011. DOI: 10.1093/cvr/cvq337. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21037321/>. Acesso em: 2 nov.2021.

MIDDLETON, R. K. *et al.* The pro-inflammatory and chemotactic cytokine microenvironment of the abdominal aortic aneurysm wall: a protein array study. **Journal of Vascular Surgery**, New York, v. 45, n. 3, p. 574-80, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2006.11.020>. Disponível em: [https://www.jvascsurg.org/article/S0741-5214\(06\)02067-2/fulltext](https://www.jvascsurg.org/article/S0741-5214(06)02067-2/fulltext). Acesso em: 03 ago. 2021.

MIKAEL, L. R. *et al.* Vascular Aging and Arterial Stiffness. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 109, n. 3, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5935/abc.20170091>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/X7QnQ6PfFvW7vRq6NRmW5NH/?lang=en#:~:text=%3A507%2D32.,Arterial%20stiffness%20as%20a%20consequence%20of%20vascular%20aging,wave%20back%20to%20the%20heart>. Acesso em: 03 ago. 2021.

MILEWICZ, D.M. *et al.* European Reference Network for Rare Multisystemic Vascular Disease (VASCERN), HTAD Rare Disease Working Group. Marfan syndrome. **Nat Rev Dis Primers**. V. 2, n.7(1), p.64, 2021. DOI: 10.1038/s41572-021-00298-7. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34475413/>. Acesso em: 19 nov.2021.

MOON, H.I.; CHUNG, J.H. Retraction notice to "The effect of 2',4',7-trihydroxyisoflavone on ultraviolet-induced matrix metalloproteinases-1 expression in human skin fibroblasts". **FEBS Lett**. v.29, n.580(13), p. 3341, 2006. DOI: 10.1016/j.febslet.2006.04.071. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16773740/>. Acesso em: 7 out.2021.

MOLL, F. L. *et al.* Management of abdominal aortic aneurysms clinical practice guidelines of the European society for vascular surgery. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery: The Official Journal of the European Society for Vascular Surgery**, London, v. 41 Suppl 1, p. S1–S58, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2010.09.011>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21215940/>. Acesso em: 03 ago. 2021.

NAGASE, H.; VISSE, R.; MURPHY, G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. **Cardiovasc Res**. v.15, n.69(3), p. 562-73, 2006. DOI: 10.1016/j.cardiores.2005.12.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16405877/>. Acesso em: 25 out. 2021.

NISHIMURA, K. *et al.* Relationships between matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in the wall of abdominal aortic aneurysms. **Int Angiol**. v. 22, n. 3, p.229-

38, 2003. PMID: 14612849. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14612849/>. Acesso em: 21 nov. 2021.

NORDON, I. M. *et al.* Endovascular management of chronic aortic dissection in patients with Marfan syndrome. **Journal of Vascular Surgery**, New York, v. 50, n. 5, p. 987-91, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2009.05.056>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19632806/>. Acesso em: 04 ago. 2021.

NORDON, I. M. *et al.* Pathophysiology and epidemiology of abdominal aortic aneurysms. **Nature Reviews. Cardiology**, London, v. 8, n. 2, p. 92–102, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2010.180>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21079638/>. Acesso em: 04 ago. 2021.

NOSALSKI, R.; GUZIK, T.J. Perivascular adipose tissue inflammation in vascular disease. **Br J Pharmacol**. Glasgow, v.174, n.20, p. 3496-3513, 2017. DOI: 10.1111/bph.13705. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28063251/>. Acesso em: 06 agost. 2021.

OLIVEIRA, C.M.B. *et al.* Citocinas e Dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 61, n. 2, p. 6, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0034-70942011000200014>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rba/a/xZBcm3rwxnknt94Gz9yq5Lq/?format=html&lang=pt>. Acesso em: 7 ago.2021.

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde. Doenças Cardiovasculares: estratégia mundial sobre a alimentação saudável, atividade física e saúde. Brasília (DF); 2021.

PARVIZI, M. *et al.* Senolytic agents lessen the severity of abdominal aortic aneurysm in aged mice. **Exp Gerontol**. v.151:111416, 2021. DOI: 10.1016/j.exger.2021.111416. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34022272/>. Acesso em: 21 nov.2021.

PETERSEN, E.; WAGBERG, F.; ANGQUIST, K.A. Proteolysis of the abdominal aortic aneurysm wall and the association with rupture. **Eur J Vasc Endovasc Surg**. v.23, n.2, p.153-7, 2002. DOI: 10.1053/ejvs.2001.1572. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11863333/>. Acesso em: 21 nov.2021.

RABKIN, S.W. The Role Matrix Metalloproteinases in the Production of Aortic Aneurysm. **Prog Mol Biol Transl Sci**. v.147, p.239-265, 2017. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28413030/>. Acesso em: 21 nov.2021.

RADONIC, T. *et al.* Losartan therapy in adults with Marfan syndrome: study protocol of the multi-center randomized controlled COMPARE trial. **Trials**, v. 11, n. 1, p. 3, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1186/1745-6215-11-3>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20067609/>. Acesso em: 5 nov. 2020.

REED, D. *et al.* Are aortic aneurysms caused by atherosclerosis? **Circulation**, California, v. 85 n. 1, p. 205-11, 1992 DOI: 10.1161/01.cir.85.1.205. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1728451/>. Acesso em: 2 nov.2021.

REEPS, C. *et al.* Inflammatory infiltrates and neovessels are relevant sources of MMPs in abdominal aortic aneurysm wall. **Pathobiology**. v.76, n.5, p.243-52, 2009. DOI: 10.1159/000228900. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19816084/>. Acesso em: 21 nov.2021.

RIBEIRO, M. S. *et al.* Characterization of the kallikrein-kinin system, metalloproteinases, and their tissue inhibitors in the in-stent restenosis after peripheral percutaneous angioplasty. **Annals of Vascular Surgery**, Detroit, v. 28, n. 4, p. 1005-15, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2013.11.014>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24440188/>. Acesso em: 04 ago. 2021.

ROGGÉRIO, A. *et al.* Correlation of bacterial coinfection versus matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 expression in aortic aneurysm and atherosclerosis. **Ann Vasc Surg**. v.27, n.7, p. 964-71, 2013. DOI: 10.1016/j.avsg.2013.02.012. Disponível em : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23993112/>. Acesso em: 18 nov.2021.

ROZADO, J. *et al.* Comparing American, European and Asian practice guidelines for aortic diseases. **J Thorac Dis**. v. 9, n. (Suppl 6), p.S551-S560, 2017. DOI: 10.21037/jtd.2017.03.97. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28616354/>. Acesso em: 19 nov. 2021.

RYSZ, J. *et al.* Oxidative Stress-Related Susceptibility to Aneurysm in Marfan's Syndrome. **Biomedicines**. v. 6, n. 9(9), p. 1171, 2021. DOI: 10.3390/biomedicines9091171. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34572356/>. Acesso em: 19 nov. 2021.

SÁ JUNIOR, A.T. *et al.* Estudo retrospectivo: prevalência de aneurismas cerebrais por topografia vascular no Hospital Evangélico Goiano. **Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria**, v.18, n. 3, p. 209-223, 2014. Disponível em: <https://rbnp.emnuvens.com.br/rbnp/article/view/41/51>. Acesso em: 10 out.2021.

SCHNEIDERMAN, J. *et al.* Patterns of expression of fibrinolytic genes and matrix metalloproteinase-9 in dissecting aortic aneurysms. **The American Journal of Pathology**, Oxford, v. 152, n. 3, p. 703-10, 1998. PMID: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc1858402/>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9502412/>. Acesso em: 04 ago. 2021.

SANTO, A. H.; PUECH-LEÃO, P.; KRUTMAN, M. Trends in abdominal aortic aneurysm-related mortality in Brazil, 2000-2016: a multiple-cause-of-death study. **Clinics**, v. 76, p. e2388, 2021. DOI: <https://doi.org/10.6061/clinics/2021/e2388>. Disponível em: https://observatorio.fm.usp.br/bitstream/handle/OPI/39682/art_SANTO_Trends_in_abdominal_aortic_aneurysmrelated_mortality_in_Brazil_2021.PDF?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em : 02 nov.2021.

SARAFF, K. *et al.* Aortic dissection precedes formation of aneurysms and atherosclerosis in angiotensin II-infused, apolipoprotein E-deficient mice. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, Dallas, v. 23, n. 9, p. 1621-26, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000085631.76095.64>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12855482/>. Acesso em: 04 ago. 2021.

SINGH, K. *et al.* Prevalence of and risk factors for abdominal aortic aneurysms in a population-based study: The Tromsø Study. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 154, n. 3, p. 236-44, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1093/aje/154.3.236>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11479188/>. Acesso em: 04 ago. 2021.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANGIOLOGIA E CIRURGIA CARDIOVASCULAR. **Projeto Diretrizes SBACV**. Aneurismas da aorta abdominal,

diagnóstico e tratamento. Dezembro, 2015. Disponível em: <https://sbacv.org.br/profissionais-da-saude/diretrizes/>. Acesso em: 10 ag.2020.

SOUZA, J. R. M. *et al.* Níveis séricos de interleucina-6 (IL-6), interleucina-18 (IL-18) e proteína C reativa (PCR) na síndrome coronariana aguda sem supradesnivelamento do ST em pacientes com diabetes tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 90, n. 2, p. 94–99, fev. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2008000200004>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/hJhtscDkXx3sqfXZQXmnyGR/?lang=pt>. Acesso em: 3 ago.2021.

STRONGIN, A.Y. *et al.* Mechanism of cell surface activation of 72-kDa type IV collagenase. Isolation of the activated form of the membrane metalloprotease. **J Biol Chem**. v.10, n.270(10), p.5331-8, 1995. DOI: 10.1074/jbc.270.10.5331. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7890645/>. Acesso em: 21 nov.2021.

SURMA, S. *et al.* The role of selected metalloproteinases and some genetic factors in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysm. **Acta Angiologica**.Poland, v. 27, n.1, p. 22-31, 2021. DOI: 10.5603/AA.2021.0005. Disponível em: https://journals.viamedica.pl/acta_angiologica/article/view/71154. Acesso em: 01 nov.2021.

TAKAGI, H. *et al.* Serum high-density and low-density lipoprotein cholesterol is associated with abdominal aortic aneurysm presence: a systematic review and meta-analysis. **Int Angiol**. v.9(4), n.371-5, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20671656/>. Acesso em: 19 nov.2021.

TAKAGI, H. ; UMEMOTO, T. How cigarette smoke accelerates abdominal aortic aneurysm. **J Am Coll Surg**. v.201, n.1, p.149-50, 2005. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2005.03.011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15978458/>. Acesso em: 21 nov.2021.

TENÓRIO, P.P. *et al.* O papel das metaloproteinases no desenvolvimento do aneurisma de aorta. **Rev. para med**. v.26, n.4, 2012. ID: lil-670723. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-670723>. Acesso em: 3 nov.2020.

TEHRANI, A.Y. *et al.* Blood pressure-independent inhibition of Marfan aortic root widening by the angiotensin II receptor blocker valsartan. **Physiol Rep**. v.9, n.10, p.e14877, 2021. DOI: 10.14814/phy2.14877. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34042309/>. Acesso em: 19 nov. 2021.

TETI, G. *et al.* Cellular senescence in vascular wall mesenchymal stromal cells, a possible contribution to the development of aortic aneurysm. **Mech Ageing Dev**. v.197:111515, 2021. DOI: 10.1016/j.mad.2021.111515. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34062172/>. Acesso em: 21 nov.2021.

THOMPSON, R. W. *et al.* Production and localization of 92-kilodalton gelatinase in abdominal aortic aneurysms. An elastolytic metalloproteinase expressed by aneurysm-infiltrating macrophages. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 96, n. 1, p. 318-26, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI118037>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7615801/>. Acesso em: 04 ago. 2021.

TILSON, M.D.; Autoimmunity in the Abdominal Aortic Aneurysm and its Association with Smoking. **Aorta (Stamford)**. New York, v. 1; n. 5(6), p.159-167, 2017. DOI:

10.12945/j.aorta.2017.17.693. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29766007/>. Acesso em: 04 nov.2021.

TONET, A. C.; NÓBREGA, O. DE T. Imunossenescência: a relação entre leucócitos, citocinas e doenças crônicas. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 11, n. 2, p. 259–273, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-9823.2008.110210>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbagg/a/hYKx9yM6KfDR7ygsFLJptsR/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 9 set. 2021.

UMEBAYASHI, R.; UCHIDA, H.A.; WADA, J. Abdominal aortic aneurysm in aged population. **Aging (Albany NY)**. v.6, n.10(12), p.3650-3651, 2018. DOI: 10.18632/aging.101702. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30523221/>. Acesso em: 21 nov.2021.

UMEBAYASHI, R.; UCHIDA, H.A.; WADA, J. The Aging Population and Research into Treatments for Abdominal Aortic Aneurysms. **Acta Med Okayama**. v.73, n.6, p.475-477, 2019. DOI: 10.18926/AMO/57710. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31871328/>. Acesso em: 21 nov.2021.

UNGVARI, Z. et al. Mechanisms of Vascular Aging. **Circulation Research**, v. 123, n. 7, p. 849–867, 14 set. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1161/circresaha.118.311378>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30355080/>. Acesso em: 7 out.2021.

VAFADARI, B.; SALAMIAN, A.; KACZMAREK, L. MMP-9 in translation: from molecule to brain physiology, pathology, and therapy. **J Neurochem**. v.139, Suppl 2, p. 91-114, 2016. DOI: 10.1111/jnc.13415. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26525923/>. Acesso em: 8 ago.2021.

VAN, A.M.M. *et al.* Aortic distensibility in Marfan syndrome: a potential predictor of aortic events? **Open Heart**. v.8, n.2, e001775, 2021. DOI: 10.1136/openhrt-2021-001775. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34702778/>. Acesso em: 19 nov.2021.

VAN, D. *et al.* Dietary fat and meat intake in relation to risk of type 2 diabetes in men. **Diabetes Care**. v. 25, n. 3, p. 417-24, 2002. DOI: 10.2337/diacare.25.3.417, 2002. DOI: <https://doi.org/10.2337/diacare.25.3.417>. Disponível em: <https://care.diabetesjournals.org/content/25/3/417.full-text.pdf>. Acesso em: 04 ago. 2020.

VAN, L.C.J.H.C.M. et al. Systematic Review of the Co-Prevalence of Arterial Aneurysms Within the Vasculature. **Eur J Vasc Endovasc Surg**. v.61, n.3, p.473-483, 2021. DOI: 10.1016/j.ejvs.2020.10.002. Disponível em: https://docs.google.com/document/d/1IXF4Ktlx40O5vLEsi6C5V_5JZWlq0V36/edit#. Acesso em: 21 nov. 2021.

VEINOT, J.P.; ACHARYA, V. Post-traumatic left ventricular false aneurysm. **J Forensic Sci**. v.46, n.2, p. 396-8, 2001. PMID: 11305450. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11305450/>. Acesso em: 20 mar.2021.

VERHOEVEN, E. L. *et al.* Mortality of ruptured abdominal aortic aneurysm treated with open or endovascular repair. **Journal of Vascular Surgery**, New York, v. 48, n. 6, p. 1396-400, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2008.07.054>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18829222/>. Acesso em: 04 ago. 2021.

VISSE, R.; NAGASE, H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. **Circ Res.** v.2, n.92(8), p.827-39, 2003. DOI: 10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12730128/>. Acesso em: 17 set.2021.

VILLARD, C. *et al.* Sex hormones in men with abdominal aortic aneurysm. **J Vasc Surg.** v.26, S0741-5214(21)00995-2, 2021. DOI: 10.1016/j.jvs.2021.06.020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34182029/>. Acesso em: 21 nov.2021.

WANG, X; KHALIL, R.A. Matrix Metalloproteinases, Vascular Remodeling, and Vascular Disease. **Adv Pharmacol.** v.81, p.241-330, 2019. DOI: 10.1016/bs.apha.2017.08.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29310800/>. Acesso em: 21 nov. 2021.

WENG, G.Q. *et al.* Giant pulmonary artery aneurysm. **J. Vasc. Surg. Cases Innov. Tech,** v.5, n.3, p.293, 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.jvscit.2019.04.003>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6614703/>. Acesso em: 9 set.2021.

WENG, L.C. *et al.* Evaluation of the relationship between plasma lipids and abdominal aortic aneurysm: A Mendelian randomization study. **PLoS One.** v.12, n.13(4), p.e0195719, 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0195719. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29649275/>. Acesso em: 19 nov. 2021.

WILSON, M.A. *et al.* Genetic interactions between [PSI+] and nonstop mRNA decay affect phenotypic variation. **Proc Natl Acad Sci U S A.** v.102, n.29, p.10244-9, 2005. Disponível em: <https://www.yeastgenome.org/reference/S000082470>. Acesso em: 21 nov.2021.

XIE, X. *et al.* Doxycycline does not influence established abdominal aortic aneurysms in angiotensin II-infused mice. **PloS One,** v. 7, n. 9, p. e46411, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046411>. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0046411>. Acesso em: 03 ago. 2021.

YAMASHITA, O. *et al.* Periostin Links Mechanical Strain to Inflammation in Abdominal Aortic Aneurysm. **PLoS ONE,** USA, v. 8, n. 11, p. e79753, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0079753. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0079753>. Acesso em: 10 ago.2021.

YANAGISHITA, M. Função dos proteoglicanos na matriz extracelular. **Pathology International,** v.43, n.6, p.283-293, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.1993.tb02569.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1440-1827.1993.tb02569.x>. Acesso em: 10 nov.2020.

ZEMPO, N. *et al.* Matrix metalloproteinases of vascular wall cells are increased in balloon-injured rat carotid artery. **Journal of Vascular Surgery,** New York, v. 20, n. 2, p. 209-17, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/0741-5214\(94\)90008-6](https://doi.org/10.1016/0741-5214(94)90008-6). Disponível em: [https://www.jvascsurg.org/article/0741-5214\(94\)90008-6/fulltext](https://www.jvascsurg.org/article/0741-5214(94)90008-6/fulltext). Acesso em: 03 ago. 2021.

ZHANG, Y.; XU, G.; WANG, P. Smoking, Hypertension, and GG Genotype of the IL-6 rs1800796 Polymorphism are Independent Risk Factors for Abdominal Aortic Aneurysm in Han Population. **Pharmgenomics Pers Med.**v.7, n.14, p.1115-1121, 2021. DOI:

10.2147/PGPM.S328894. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34522122/>. Acesso em: 21 nov.2021.

ZHANG, Z. *et al.* Knockdown of lncRNA *PVT1* Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Apoptosis and Extracellular Matrix Disruption in a Murine Abdominal Aortic Aneurysm Model. **Mol Cells**. China, v. 31, n.42(3), p. 218-227, 2019. DOI: 10.14348/molcells.2018.0162. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30726659/>. Acesso em: 20 out.2021.

APÊNDICES

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido (Grupo estudo)

Título do estudo: *“Contribuição do Sistema Renina Angiotensina na Fisiopatologia em Aneurisma de Aorta Abdominal”*

Marcadores em investigação: Componentes do Sistema Renina Angiotensina, Citocinas e Metaloproteinases.

Nome do investigador principal: Christiane Becari

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

Natureza e objetivo do estudo: O aneurisma de aorta abdominal que corresponde ao enfraquecimento da parede da artéria aorta o que resulta na dilatação da mesma com risco de estourar e de entupimento das artérias dos membros inferiores devido à saída de coágulos de sangue que estão dentro no aneurisma. Ao participar desse trabalho você estará contribuindo para entender melhor a doença e para a verificação de possíveis tratamentos do aneurisma de aorta abdominal.

Participação voluntária: Sua participação neste estudo é totalmente voluntária; você não é obrigado a participar. Seu tratamento e relacionamento com seu médico não serão afetados pela sua decisão de participar ou não deste estudo. Caso aceite participar, a sua participação será encerrada após a cirurgia, porém se necessário, você poderá ser chamado para fornecer informações adicionais. Caso você se recuse a participar deste estudo, você não será penalizado de nenhuma forma e sua decisão não prejudicará qualquer cuidado médico ao qual você tem direito.

Não haverá remuneração e nem ressarcimento de despesas com transporte e/ou alimentação, uma vez que você virá nos retornos regulares e não por causa da pesquisa.

Procedimentos do estudo: Você deverá comparecer para internação 1 dia antes do procedimento para preparo adequado para realização da cirurgia, sendo aproveitada a oportunidade para coleta de sangue. No dia seguinte, durante a cirurgia será extraído um pequeno fragmento do aneurisma conforme já mencionado. A coleta de sangue trará dor leve e pode deixar um hematoma (marca roxa) no local da picada.

Riscos e benefícios: esse estudo não trará risco adicional a você além do risco próprio do procedimento cirúrgico. O estudo não trará benefício direto para você. No entanto, existe uma

possibilidade de que as informações obtidas neste estudo possam ajudar no desenvolvimento futuro de um novo tratamento para pacientes que sofrem da mesma condição que a sua. Assim, a sociedade beneficiada com este estudo. Esse pequeno fragmento da aorta abdominal é um excedente de tecido rotineiramente retirado em cirurgias deste tipo portanto, o Sr. não será submetido a nenhum risco adicional por conta disso. O senhor terá direito a indenização neste estudo relacionado à uma eventual perda de confidencialidade.

Confidencialidade: A garantia de sigilo dos seus dados, o direito da confidencialidade dos dados e respeito a privacidade será assegurado de acordo com as leis vigentes no país. Os tubos coletados serão numerados, sendo de conhecimento exclusivo do pesquisador principal a que paciente corresponderá o número identificador (por exemplo: tubos 1 são amostras de sangue do paciente José Antônio). No entanto, existem riscos mínimos de quebra de privacidade e/ou confiabilidade.

Outras informações importantes:

O investigador principal deste estudo é a Dra. Christiane Becari que pode ser encontrada no seguinte endereço: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – HCFMRP-USP – Av. Bandeirantes, 3900 – 9º andar – Departamento de Cirurgia e Anatomia – Campus Universitário – Monte Alegre – CEP: 14049-900 – Ribeirão Preto/SP e telefone (horário comercial) (16) 3602 2593 e celular: (16) 981298433

1. Eu li ou leram para mim o termo de consentimento livre e esclarecido para esse estudo. Recebi todas as explicações sobre a natureza, objetivo, duração, efeitos e riscos previsíveis do estudo, assim como sobre as minhas responsabilidades. As minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente.
2. Concordo em participar do estudo. Concordo em cooperar totalmente com o médico e entrar em contato com ele/ela quando necessário para esclarecimento de dúvidas ou dos próximos passos do estudo.
3. Entendo que minha participação no estudo é voluntária e que posso me recusar a participar ou posso sair do estudo a qualquer momento. Caso eu me recuse a participar deste estudo, não serei penalizado e minha decisão não prejudicará qualquer cuidado médico ao qual eu tenha direito.
4. Será feita uma revisão do seu prontuário médico para buscar dados quanto ao procedimento cirúrgico realizado e resultado de exames de seguimento após o tratamento.
5. Receberei uma via assinada deste consentimento.

Nome do paciente: _____

(preenchimento pelo paciente ou representante legal)

Nome do representante legal

(Se aplicável): _____

Assinatura do paciente: _____

(ou representante legal, se aplicável)

Data: _____

Nome da testemunha: _____

Assinatura da testemunha: _____

Data: _____

Investigador / subinvestigador ou pessoa que conduziu a discussão sobre o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido: “Confirmo que expliquei pessoalmente a natureza, propósito, duração, efeitos e riscos previsíveis do estudo ao paciente acima mencionado”.

Nome: _____

Assinatura: _____

Data: _____

APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido (Grupo controle/doadores de órgãos)

Título do estudo: “Contribuição do Sistema Renina Angiotensina na Fisiopatologia em Aneurisma de Aorta Abdominal”

Marcadores em investigação: Componentes do Sistema Renina Angiotensina, Citocinas e Metaloproteinases.

Nome do investigador principal: Christiane Becari

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

Este é uma proposta de participação em uma pesquisa que tem por finalidade estudar aneurisma de aorta abdominal endereçado ao familiar ou responsável legal do paciente: **Sr.**_____ o qual apresentou morte cerebral e autorizou (ou seu representante legal) a sua doação de órgãos e tecidos. Solicitamos a autorização para a extração de um pequeno fragmento da parede da artéria aorta durante a cirurgia de captação de órgãos. Esta coleta de amostra será realizada após o explante de todos os órgãos e tecidos destinados a transplante. Este documento descreve o estudo para o qual você está sendo convidado a participar e o que o estudo envolverá. Leia este documento com cuidado e não hesite em fazer qualquer pergunta.

Natureza e objetivo do estudo: você está sendo convidado a participar deste estudo de pesquisa clínica porque seu familiar apresentou morte cerebral e não é portador de aneurisma de aorta abdominal. O tecido coletado, portanto, será destinado ao grupo controle do estudo sobre aneurisma de aorta abdominal que corresponde ao enfraquecimento da parede da artéria aorta o que resulta na dilatação da mesma com risco de romper e de entupimento das artérias dos membros inferiores devido à saída de coágulos de sangue que estão dentro no aneurisma. Ao participar desse trabalho você estará contribuindo para entender melhor a doença e para a verificação de possíveis tratamentos do aneurisma de aorta abdominal.

Participação voluntária: Sua participação neste estudo é totalmente voluntária; você não é obrigado a participar. Caso aceite participar, a duração do estudo se encerrará logo após a cirurgia, porém você poderá ser chamado para fornecer informações adicionais do doador que porventura forem necessárias.

Não haverá remuneração e nem ressarcimento de despesas com transporte e/ou alimentação.

Risco e benefícios: É possível que a sociedade possa se beneficiar deste estudo. Existe uma possibilidade de que as informações obtidas neste estudo possam ajudar no desenvolvimento futuro de um novo tratamento para aneurisma de aorta abdominal.

Confidencialidade: a garantia de sigilo dos dados, o direito da confidencialidade dos dados e respeito a privacidade será assegurado de acordo com as normas brasileiras. No entanto, existem riscos mínimos de quebra de privacidade e/ou confiabilidade.

Outras informações importantes:

O investigador principal deste estudo médico é o Dr. Christiane Becari que pode ser encontrada no seguinte endereço: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – HCFMRP-USP – Av. Bandeirantes, 3900 – 9º andar – Departamento de Cirurgia e Anatomia – Campus Universitário – Monte Alegre – CEP: 14049-900 – Ribeirão Preto/SP e telefone (horário comercial) 16 3602 2593 e celular: 16 981298433

1. Eu li ou leram para mim o termo de consentimento livre e esclarecido para esse estudo. Recebi todas as explicações sobre a natureza, objetivo, duração, efeitos e riscos previsíveis do estudo, assim como sobre as minhas responsabilidades. As minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente.
2. Concordo em participar do estudo e autorizo a coleta da amostra de aorta do Sr _____ . Concordo em cooperar totalmente com o médico e entrar em contato com ele/ela quando necessário para esclarecimento de dúvidas ou dos próximos passos do estudo.
3. Entendo que a participação no estudo é voluntária e que posso me recusar a participar a qualquer momento. Caso eu me recuse a participar deste estudo, não serei penalizado de nenhuma forma e minha decisão.
4. Receberei uma via assinada deste consentimento.

Nome _____ do _____ paciente/doador:

Assinatura _____ do _____ familiar _____ ou _____ representante _____ legal:

Grau de parentesco:

Data: _____

Nome _____ **da** _____ **testemunha:**

Assinatura _____ **da** _____ **testemunha:**

Data: _____

Investigador ou pessoa que conduziu a discussão sobre o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:

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

Nome: _____

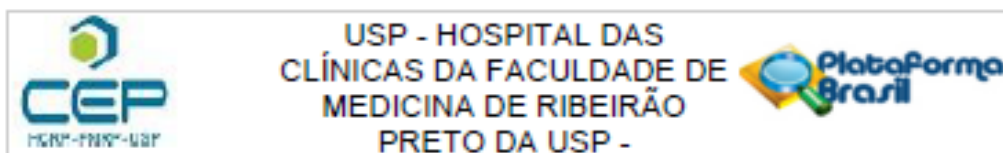
Assinatura: _____

Data: _____

ANEXOS

ANEXO

ANEXO A – Parecer CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Contribuição do Sistema Renina Angiotensina na Fisiopatologia do Aneurisma de Aorta Abdominal.

Pesquisador: CHRISTIANE BECARI

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 82879518.6.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.277.610

Apresentação do Projeto:

Aneurisma da aorta é uma doença progressiva caracterizada pela deterioração estrutural, expansão gradual e eventual ruptura do vaso. O tipo mais comum de aneurisma da aorta é o que acomete seu segmento abdominal. A incidência e mortalidade do aneurisma de aorta abdominal (AAA) são altas e estima-se que, atualmente, 1,5 milhões de pessoas nos Estados Unidos sejam portadores de AAA. O tratamento existente para AAA é a abordagem cirúrgica aberta convencional ou correção endovascular. Até o momento nenhum tratamento farmacológico eficaz para o tratamento de AAA foi identificado, o qual possa, portanto, inibir seu crescimento, progressão ou o risco de ruptura em seres humanos

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a contribuição dos componentes do SRA na fisiopatologia de aneurisma de aorta abdominal em humanos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

não se aplica

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de encaminhamento de emenda para a Inserção dos membros Fabíola Mestriner, Carlos Corsi, Jessyca Michelin Barbosa, Carolina D'Ávila Mesquita, Ariel Emiliano Souza do Couto, Ligia

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
 Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
 UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
 Telefone: (16)3802-2228 Fax: (16)3833-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP -



Continuação do Parecer: 4.277.610

Cristina Borges Campo como parte da equipe do projeto de pesquisa "Contribuição do Sistema Renina Angiotensina na Fisiopatologia do Aneurisma de Aorta Abdominal". Outro ponto importante refere-se ao tempo de inclusão de pacientes e ao número amostral. Como ainda não incluímos o número total de pacientes, solicito a extensão do período do estudo até 31 de Dezembro de 2023. Além disso, será necessário a inclusão de um número amostral maior que inicialmente propusemos, especialmente para o grupo controle.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

documentos devidamente apresentados

Recomendações:

não se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O CEP tomou ciência e aprovou a emenda, assim como o projeto de pesquisa Versão 3 _ 27-05-2020

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB INFORMações_BÁSICAS_156644_1_É1.pdf	10/09/2020 10:44:21		Acelto
Orçamento	ORÇAMENTO_JP_Plataforma_Brasil_27_05_2020.pdf	10/09/2020 10:43:17	CHRISTIANE BECARI	Acelto
Outros	RelatorioParcial1_CEP_ProjetoSRA_AA_A_27_05_2020.pdf	10/09/2020 10:39:28	CHRISTIANE BECARI	Acelto
Outros	CartaemendaCEP_ProjetoSRA_AAA_27_05_2020.pdf	10/09/2020 10:39:03	CHRISTIANE BECARI	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto de Pesquisa_JP_PlataformaBrasil_ChristianeBecari_27_05_2018v3.pdf	10/09/2020 10:38:38	CHRISTIANE BECARI	Acelto
Cronograma	CRONOGRAMA de ATIVIDADES_PlataformaBrasil_JP_27_05_2020.pdf	10/09/2020 10:38:22	CHRISTIANE BECARI	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_update_JP_27_02_2018_marked.pdf	21/03/2018 15:22:52	CHRISTIANE BECARI	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_update_JP_27_02_2018_clean.pdf	21/03/2018 15:22:20	CHRISTIANE BECARI	Acelto

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (18)3833-2228 Fax: (18)3833-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP -



Continuação do Parecer: 4.277.610

Ausência	TCLE_update_JP_27_02_2018_clean.pdf	21/03/2018 15:22:20	CHRISTIANE BECARI	Acelto
Folha de Rosto	folhaderostoJP_Becari_update.pdf	21/03/2018 14:47:55	CHRISTIANE BECARI	Acelto
Orçamento	UPC_Orçamento_aprovadoJP.pdf	05/02/2018 13:11:20	CHRISTIANE BECARI	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 15 de Setembro de 2020

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador(a))

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3800-2228 Fax: (16)3833-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br