



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**Universitat Autònoma  
de Barcelona**

**TESIS DOCTORAL**

**“IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES PARA EL  
DIAGNÓSTICO DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL Y LA  
EVALUACIÓN DEL RIESGO DE ROTURA”**

Doctoranda: Begoña Soto Carricas

**DIRECTORES DE LA TESIS DOCTORAL:**

Dra. Mercedes Camacho Pérez de Madrid

Dr. Sergi Bellmunt Montoya

**TUTOR DE LA TESIS DOCTORAL:**

Dr. Viçens Artigas Raventós

Departament de Cirurgia

Programa de Doctorat en Cirurgia i Ciències Morfològiques

Universitat Autònoma de Barcelona, 2019



*“Dedico este trabajo a Pere, mi compañero de vida, a Ane que la hace más maravillosa y a quienes me han hecho llegar hasta aquí, mi familia, en especial a mis padres”*



## **INFORME DE LOS DIRECTORES DE TESIS**

Barcelona septiembre 2019-09-09

Mercedes Camacho Pérez de Madrid, Investigadora del Laboratorio de Angiología, Biología Vascular e Inflamación, Instituto de Investigaciones Biomédicas (II-B Sant Pau), Hospital de la Santa Creu i Sant Pau y Sergi Bellmunt Montoya, Jefe de Servicio de Angiología, Cirugía Vascular y Endovascular del Hospital Vall d'Hebrón;

Certifican:

Que la tesis doctoral

**“IDENTIFICACION DE BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL Y LA EVALUACIÓN DEL RIESGO DE ROTURA”**

presentada por Begoña Soto Carricas para optar al título de Doctor de la Universidad Autónoma de Barcelona se ha realizado bajo nuestra dirección y cumple todos los requisitos necesarios para ser defendida delante del tribunal de evaluación correspondiente.

Dra. Mercedes Camacho Pérez de Madrid

Dr. Sergi Bellmunt Montoya



**INDICE**





<b>INDICE</b>	<b>7</b>
<b>FINANCIACIÓN Y CONFLICTOS DE INTERES</b>	<b>11</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>15</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>19</b>
<b>RELACIÓN DE ABREVIATURAS</b>	<b>25</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>29</b>
<b>1. LA AORTA</b>	<b>31</b>
1.1 ANATOMÍA DE LA AORTA	31
1.2 ESTRUCTURA DE LA PARED DE LA AORTA	32
<b>2. EL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL</b>	<b>33</b>
2.1 CLASIFICACIÓN DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL	34
<b>3. EPIDEMIOLOGÍA DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL</b>	<b>36</b>
<b>4. HISTORIA NATURAL DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL</b>	<b>38</b>
4.1 FACTORES DE RIESGO DEL CRECIMIENTO Y ROTURA	38
<b>5. CLINICA DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL</b>	<b>42</b>
<b>6. PATOGENIA DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL</b>	<b>43</b>
6.1 FACTORES ESTRUCTURALES	44
6.2 FACTORES PATOGENICOS	46
<b>7. DIAGNÓSTICO DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL</b>	<b>47</b>
7.1 DIAGNÓSTICO DEL AAA ASINTOMÁTICO:	48
7.2 DIAGNÓSTICO DEL AAA COMPLICADO:	52
<b>8. MARCADORES PLASMÁTICOS, BIOMECÁNICOS Y GENÉTICOS</b>	<b>53</b>
8.1 BIOMARCADORES CIRCULANTES	54
8.2 MARCADORES GENETICOS	58
8.3 MARCADORES BIOMECÁNICOS	59
<b>9. TRATAMIENTO DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL</b>	<b>63</b>
9.1 TRATAMIENTO ELECTIVO	63
9.2 TRATAMIENTO URGENTE	66
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>67</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>69</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>69</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>70</b>
<b>PRESENTACIÓN GLOBAL DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>71</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>87</b>
<b>TRABAJOS PUBLICADOS</b>	<b>91</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>109</b>
<b>ANEXO</b>	<b>135</b>



## **FINANCIACIÓN Y CONFLICTOS DE INTERÉS**



Esta Tesis Doctoral ha sido parcialmente financiada por las becas SAF2010-21392, SAF2013-6707-R (MINECO) y Red de Investigación Cardiovascular RD12/0042/005 del Instituto de Salud Carlos III.

El autor de esta tesis doctoral y sus directores, expresan que no ha existido ningún conflicto de interés directo o indirecto durante la realización de la misma.



## **AGRADECIMIENTOS**





Gracias a mis actuales directores de tesis, Mercedes Camacho y Sergi Bellmunt, así como a Luis Vila que fue director en el inicio del proyecto. Gracias por la ayuda en cuestiones científicas pero también por vuestra paciencia, dedicación y motivación que me ha ayudado a publicar los manuscritos y completar la tesis doctoral. Gracias a mi tutor, Viçens Artigas por ayudarme a completar y mejorar este trabajo.

Gracias al servicio de Cirugía Vascular del Hospital Sant Pau, quienes me han acompañado todos estos años, me han enseñado lo que hoy sé de medicina y cirugía vascular y me han ayudado siempre que lo he necesitado.

Gracias a mis compañeras de enfermería del quirófano, así como el personal de consultas y administrativo, que han estado ahí desde el primer día de residente. Gracias por hacer sencillo lo complicado.

Gracias al personal del laboratorio de investigación, sin su esfuerzo este trabajo no hubiera sido posible.

Y gracias a los amigos de aquí y de allí, los que han hecho más divertido todo este camino y que han estado cuando los he necesitado.



## **RESUMEN**



El aneurisma de aorta abdominal es una patología asintomática en la mayoría de los casos por lo que el diagnóstico temprano es complicado. Es de gran importancia un diagnóstico precoz para iniciar el tratamiento médico y realizar un seguimiento que permita plantear la intervención en el momento en que el riesgo de rotura del AAA aumente. En la práctica clínica habitual, la indicación de la intervención de un AAA asintomático se decide por el diámetro máximo de la aorta o la velocidad de crecimiento. Sin embargo es conocido que no son los únicos factores que determinan el riesgo de rotura del AAA, complicación con una mortalidad muy elevada.

Para mejorar el diagnóstico del AAA nuestro objetivo ha sido encontrar un biomarcador plasmático que se relacione de manera específica con la patología aneurismática de la aorta, en nuestro caso infrarrenal. Hemos evaluado marcadores relacionados con el proceso inmunoinflamatorio que se produce en el desarrollo del AAA tanto en pacientes con AAA como en pacientes con aterosclerosis no aneurismática y en controles sanos. Por otro lado, con el objetivo de mejorar la evaluación del riesgo de rotura hemos evaluado variables biomecánicas calculadas con un análisis por elementos finitos. Para evaluar el valor pronóstico de las variables biomecánicas hemos utilizado pacientes con aneurismas sintomáticos (SAAA) que son un grupo de pacientes con riesgo de rotura elevado.

Hemos observado que los niveles plasmáticos de CCL20 son más elevados en pacientes con AAA respecto a los pacientes con patología aterosclerótica no aneurismática y controles. El CCL20 se encuentra elevado desde fases iniciales de la enfermedad aunque no presenta una correlación con el diámetro máximo de la aorta. En muestras de tejido aórtico, tanto el CCL20 como su receptor CCR6 se encuentran elevados en el AAA respecto a los controles.

De las variables biomecánicas, tanto el PWS como el PWS normalizada por el diámetro (dnPWS) se encuentran incrementadas en pacientes con aneurismas sintomáticos, siendo las únicas variables capaces de identificar los sAAA en aneurismas mayores de 65 mm.

---

Estos resultados nos indican que el CCL20 plasmático podría ser un biomarcador de la presencia de AAA con una especificidad elevada. Además la cuatificación de las variables biomecánicas podría identificar aneurismas con elevado riesgo de rotura.

Abdominal aortic aneurysm is a mostly silent disease, which makes early diagnosis difficult. A prompt diagnosis is important in order to start medical treatment and follow-up, which will allow vascular surgeons to perform intervention at the point that AAA rupture risk rises. In daily clinical practise, asymptomatic AAA intervention is indicated according to maximal aortic diameter or growth speed. Despite of that, it is well known that these are not the only factors that define AAA rupture risk, a medical complication with high mortality rates.

In order to improve AAA diagnosis our aim was to find a plasmatic biomarker that could specifically relate with aortic infrarenal aneurysmatic disease. We have assessed biomarkers related with AAA development's immunoinflammatory process in AAA patients, atherosclerotic non-aneurysmatic patients and healthy control patients. On the other hand, with the aim of improving rupture risk assessment we studied biomechanical variables calculated through a finite elements analysis. To evaluate biomechanical variable's prognostic value we used patients with symptomatic aneurysms (SAAA) wich are a patient subgroup with high rupture risk.

We have noticed that CCL20 plasmatic levels are higher in AAA patients when compared to only atherosclerotic patients and controls. CCL20 is elevated since initial disease stages, although it does not correlate with maximal aortic diameter. In aortic tissue samples, both CCL20 and its receptor CCR6 show high levels in AAA patients when compared to controls.

When analysing biomechanical variables, both PWS and diameter-normalized PWS (dnPWS) are elevated in symptomatic aneurysm patients, thus being the only variables allowing to identify SAAA in aneurysms above 65mm.

These results indicate plasmatic CCL20 could be a biomarker of AAA presence with high specificity. Furthermore, biomechanical variable quantification could help to identify aneurysms with a high rupture risk.





## **RELACIÓN DE ABREVIATURAS**



- AAA. Aneurisma de Aorta Abdominal
- aAAA. Aneurisma de Aorta Abdominal Asintomático
- ANA. Ateroscleróticos No Aneurismáticos
- AngioTC. Tomografía Computerizada con contraste endovenoso
- ARN. Acido Ribo Nucléico
- ARNm. Acido Ribo Nucléico Mensajero.
- CART. Árboles de clasificación y regresión (del inglés: *Classification and Regression Trees*)
- CCL20. CC Quemocina Ligando 20
- CCR6. CC Quemocina Receptor 6
- Células NK. Célula asesina natural (del inglés *Natural Killer*)
- CMLV. Células Musculares Lisas Vasculares
- DnPWS. Presión máxima de pared normalizada por diámetro (del inglés; *Diameter Normalized Peak Wall Stress*)
- DMax. Diámetro máximo del AAA
- EPOC. Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
- ESVS. Sociedad Europea de Cirugía Vasculare (del inglés: *European Society for Vascular Surgery*)
- EVAR. Reparación endovascular aórtica (del inglés; *Endo Vascular Aortic Repair*)
- FEA, análisis de elementos finitos (del inglés: *Finite Element Analysis*)
- IFN- $\gamma$ . Interferón  $\gamma$
- Ig. Inmunoglobulina
- IL. Interleucina
- miARN. Micro Acido Ribo Nucléico
- MMP. Metaloproteasas
- MPO. Mieloperoxidasa
- PA. Presión Arterial
- PAI-1. Inhibidor del plasminógeno activado (del inglés: *Plasminogen Activator Inhibitor*)
- PCR. Proteína C Reactiva
- PWS. Presión máxima de pared (del inglés; *Peak Wall Stress*)

---

PWRR. Índice de riesgo asociado a la presión máxima de pared (del inglés; *Peak Wall Rupture Risk Index*)

ROC. Característica operativa del Receptor (del inglés; *Receiver Operating Characteristic*)

RRED. Diámetro Equivalente al Riesgo de Rotura (del inglés; *Rupture Risk Equivalent Diameter*)

sAAA. Aneurisma de Aorta Abdominal Sintomático

SEACV. Sociedad Española de Angiología y Cirugía Vascolar

TC. Tomografía Computerizada

Th. Linfocitos T helper

TIL. Trombo Intra Luminal

TNF $\alpha$ . Factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (del inglés; *Tumoral Necrosis Factor  $\alpha$* )

Treg. Linfocitos T regulador

## INTRODUCCIÓN



## **1. LA AORTA**

La arteria aorta es el vaso de mayor calibre y volumen de sangre circulante del cuerpo humano cuya función es transportar y distribuir sangre rica en oxígeno en cada ciclo cardíaco al resto del organismo a través de la red arterial. Es un conducto elástico con la capacidad de convertir en flujo continuo la sangre que de manera intermitente sale del corazón. Cuando se produce la sístole cardíaca la aorta se distiende, absorbiendo la onda de presión sistólica por su expansión elástica, acumulando un volumen que es impulsado después durante la diástole cardíaca, manteniendo así el flujo periférico.

### **1.1 Anatomía de la aorta**

De la arteria aorta nacen todas las arterias del organismo a excepción de las arterias pulmonares, que nacen del ventrículo derecho. La aorta surge de la porción superior del ventrículo izquierdo del corazón. En la porción inicial se originan las arterias coronarias. En su reflexión, forma el cayado aórtico donde se originan los troncos supraaórticos (tronco braquicefálico, arteria carótida común izquierda y arteria subclavia izquierda). En su trayecto descendente por el tórax, se originan ramas bronquiales, esofágicas, mediastínicas e intercostales(1).

La aorta abdominal se extiende desde el diafragma hasta la bifurcación aórtica (2). Ocupa una posición central en la cavidad abdominal, en el espacio retroperitoneal, posición antero-lateral izquierda con respecto a los cuerpos vertebrales. Desde su origen a nivel del hiato aórtico en el diafragma, hasta su bifurcación en las arterias ilíacas a nivel de la cuarta vértebra lumbar, el diámetro aórtico va disminuyendo de calibre, siendo su diámetro infrarrenal 2mm menor que el suprarrenal. El diámetro medio de la aorta abdominal infrarrenal varía en función de diversos factores (edad, sexo, tamaño corporal..) y es de entre 12-19 mm en mujeres y 14-21 mm en hombres (3-5).

Sus ramas pueden dividirse en dos grupos según su distribución. El primer grupo son las arterias parietales o ramas menores, y se compone de las arterias frénicas inferiores que



---

irrigan la cara inferior del diafragma, las arterias lumbares (L1 - L4) y la arteria sacra media. Por otra parte, están las arterias viscerales como son el tronco celíaco, las arterias mesentérica superior e inferior que emergen de la cara anterior de la aorta y las arterias renales que son dos y emergen de los laterales de la aorta. Son las encargadas de la irrigación de órganos abdominales digestivos y del sistema excretor.

## **1.2 Estructura de la pared de la aorta**

La pared de la aorta presenta una composición y organización estructural común a la de las otras arterias, y diferente de venas o arteriolas, y está formada por tres capas concéntricas;

- Capa íntima: la capa más interna de la pared arterial. Formada por una capa de células endoteliales, en contacto directo con el flujo sanguíneo, la lámina basal y un tejido subendotelial laxo. La capa endotelial participa en procesos fisiológicos y patológicos, reacciona a fuerzas físicas, señalización química, mediadores inmunológicos y es un importante regulador del tono vasomotor.
- Capa media: es la capa más desarrollada de la aorta y su elasticidad es responsable de la distensibilidad de la pared arterial. Está formada principalmente por capas concéntricas de células musculares lisas (CMLV), elastina, colágeno y proteoglicanos. Las CMLV son células metabólicamente muy activas y su función principal consiste en la síntesis y depósito de las proteínas que componen la matriz extracelular. La composición de la capa media no es uniforme a lo largo de toda la aorta, de forma que el contenido en elastina (y el número de láminas elásticas) es mayor en la aorta ascendente y va disminuyendo progresivamente conforme nos alejamos de la raíz aórtica. Por ello, en la capa media de la aorta torácica predomina la elastina y en la de la aorta abdominal el colágeno. Esta disminución del contenido de elastina supone un adelgazamiento de la capa media y engrosamiento de la íntima(6,7). Hay un punto de descenso máximo de las fibras de elastina de hasta un 58% en la transición de aorta supra a infra renal.
- Capa Adventicia: la más externa, formada por fibras de colágeno y elastina. La composición celular de la adventicia es escasa, y consiste principalmente en fibro-

blastos. En esta capa se encuentran los vasa vasorum que desempeñan una función principalmente nutritiva del propio vaso.

## **2. EL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL**

Un aneurisma es una dilatación localizada y permanente de la pared de los vasos, tanto arteriales como venosos. La palabra aneurisma proviene de la palabra griega *aneurynein*, que significa “dilatar”. La primera descripción conocida de aneurisma es la de Galeno en el 130-200 dC, al describir que “Cuando las arterias se agrandan, esta enfermedad se denomina aneurisma”. Leriche en 1976 lo definió en el tratado de Michans como “una dilatación arterial localizada, pulsátil, expandible, que evoluciona por su propia cuenta como una enfermedad autónoma, cualquiera que sea su causa”. También se ha descrito como “una dilatación circunscrita de una arteria que se desarrolla debido a una lesión de su pared”. Define la dilatación como circunscrita para diferenciarlo de las lesiones alargadas, fenómeno que se conoce como arteriomegalia, dolicomegaarteria, arteriectasia o varice arterial.

La Sociedad Internacional de Cirugía Vascular en 1991 definió el aneurisma como “una dilatación permanente y localizada de una arteria que tiene, al menos, el 50% de aumento en el diámetro, comparado con el diámetro normal de la arteria en cuestión” (8,9).

Las guías para el manejo del Aneurisma de Aorta Abdominal (AAA) de la Sociedad Europea de Cirugía vascular (European Society for Vascular Surgery, ESVS)(10) definen el AAA como una dilatación de la aorta abdominal de más de 3 cm de diámetro transversal. El término ectasia se reserva para definir dilataciones aórticas por debajo de los 3 cm y el término arteriomegalia es utilizado para definir una ectasia difusa de la aorta (9,11).

Los aneurismas se pueden desarrollar tanto en la aorta torácica afectando a su porción ascendente, cayado o descendente como en la aorta abdominal, siendo estos últimos más frecuentes y en su mayoría localizados en la zona infra-renal. Por su situación, la aorta abdominal está expuesta a fuerzas hemodinámicas únicas. La onda de presión sanguínea aumenta a medida que se propaga desde el cayado aórtico hasta la bifurcación de la aorta,

---

debido a la disminución del diámetro. Además existe la disminución de las fibras de elastina en la aorta abdominal (6,7). Ambas razones podrían explicar la predilección de la aparición de aneurismas en la zona infrarrenal. La aorta del adulto no es capaz de sintetizar elastina, que tiene una vida media de 40-70 años, así la disminución de este componente de la matriz extracelular asociado a la edad podría justificar que la aparición de AAA se produzca en individuos añosos (12).

## **2.1 Clasificación del Aneurisma de Aorta Abdominal**

Los AAA pueden ser clasificados según su localización, morfología, estructura, o etiología.

### **2.1.1 Por la localización del aneurisma**

El AAA puede afectar o no a la porción de aorta de donde nacen las arterias renales. Es un AAA suprarrenal si comienza por encima de al menos una de las arterias renales, pararrenal cuando comienza a nivel de las arterias renales englobándolas, yuxtarenal, cuando comienza inmediatamente inferior a las arterias renales, sin afectar el origen de las mismas o infrarrenal cuando se extiende distalmente a las arterias renales.

La mayoría de los AAA afectan a la aorta infrarrenal y tan sólo en el 5% de los que se someten a una reparación quirúrgica está afectada la aorta suprarrenal (13).

Si el aneurisma crece por encima de la salida del tronco celíaco se denominan tóraco-abdominales y se dividen en cinco tipos, cuatro descritos por el Dr. Crawford y ampliado con un quinto descrito por el Dr. H. Safi (14).

### **2.1.2 Por la morfología**

Morfológicamente los AAA se clasifican en fusiformes o saculares. En los aneurismas fusiformes la dilatación arterial tiene forma de huso y afecta a toda la circunferencia del vaso, mientras que en la morfología sacular sólo una porción de la pared arterial está afectada, por lo que la tensión que soporta dicha pared es mayor que en los fusiformes. La ma-

yoría de AAA son fusiformes, empezando en la zona infrarenal y terminando antes de la bifurcación ilíaca, y en general se acepta que los saculares tienen un mayor riesgo de rotura.

### 2.1.3 Por la estructura de la pared

Los aneurismas se clasifican en aneurismas verdaderos o pseudoaneurismas. En el aneurisma verdadero la dilatación afecta a las tres capas de la pared arterial (íntima, media y adventicia), a diferencia de los pseudoaneurismas que no poseen ninguna de dichas capas. Habitualmente los pseudoaneurismas son secundarios a roturas de la pared arterial en las que la hemorragia queda retenida por la adventicia y/o fascia circundante que genera una pared muy fina, y el hematoma que se forma queda contenido por una capa de tejido fibroso. El riesgo de complicación de los pseudoaneurismas es muy elevado. Las causas de este tipo de lesión pueden ser: traumatismo, zona de anastomosis quirúrgica por degeneración local o rotura de la propia sutura, inflamación, infección o neoplasia.

### 2.1.4 Por su etiología

En función de la etiología podemos clasificar los AAA en: congénitos, degenerativos, infecciosos, inflamatorios, traumáticos, por enfermedad del tejido conectivo, post-disección y post-estenóticos.

La etiología más frecuente y de la que trataremos en esta tesis es la degenerativa de causa arterioesclerótica(15). En segundo lugar se encuentran los aneurismas micóticos, debidos a procesos infecciosos de la pared aórtica. Los AAA congénitos son excepcionales y también son poco frecuentes los traumáticos que se producen tras una rotura parcial contenida de la pared de la aorta y posterior dilatación.

### 3. EPIDEMIOLOGÍA DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL

El AAA es una patología relativamente común, de aparición tardía, que afecta a un alto porcentaje de la población de los países industrializados y cuya rotura tiene una alta mortalidad. La prevalencia real del AAA es desconocida, debido a su propia naturaleza, en su mayoría asintomático (16,17). En varones mayores de 55 años la rotura de un AAA es la causa del 1% de los fallecimientos, lo que supone la décima causa de muerte en este grupo de edad (18).

A partir de estudios de cribado poblacional se ha estimado que la prevalencia del AAA es del 4-8,9 % en varones entre 55 y 75 años y del 0.7-2,2 % en mujeres del mismo rango de edad(17,19).

En un meta-análisis del año 2013, que incluyó 56 estudios mundiales en población general se obtuvo una prevalencia general del AAA del 4.8%, siendo del 6% en varones y 1.6% en mujeres y la edad con mayor prevalencia los 65-74 años. En el análisis por subgrupos se comprobó que existen diferencias geográficas, siendo la prevalencia del AAA por continentes muy diferente (tabla 1).

<b>Prevalencia AAA según:</b>				
<b>Distribución</b>	América: 2,2%	Europa :2,5%	Australia: 6,7%	Asia 0,5%
<b>Género</b>	Hombre: 6%	Mujer:1,6%		
<b>Edad (años)</b>	55-64: 1,3%	65-74: 2,8%	75-84: 1,2%	>80: 0,6%
<b>Diámetro</b>	30-39mm: 3,3%	40-49mm: 0,7%	>50mm: 0,4%	

Tabla 1 prevalencia de AAA a nivel mundial (20).

En la población Española los datos epidemiológicos son limitados, y están basados en estudios realizados en diferentes comunidades con un número bajo de participantes, cifrándose la prevalencia del AAA en varones mayores de 65 años entre el 3,3-4,7%(21–23).

La incidencia anual del AAA se ha estimado en un 3,5-6,5 por 1000 personas/año para varones mayores de 50 años en estudios realizados en Estados Unidos y Reino Unido (24,25).

A finales del siglo XX se observó un incremento de la incidencia del AAA, probablemente debido al envejecimiento de la población(26) y al aumento del número de fumadores (27). Sin embargo en el siglo XXI se ha producido un descenso de la incidencia de AAA, sobre todo en el grupo de individuos menores de 75 años (28) que podría deberse a la reducción en el consumo de tabaco (29), la mejora en la atención pública y el manejo general de los factores cardiovasculares (30).

Además de la edad, sexo masculino y raza caucásica, el tabaco también es un factor de riesgo que aumenta la prevalencia del AAA (31) así como la hipercolesterolemia (31,32) y la hipertensión (32,33). En un estudio de cribado poblacional el 18-25% de los pacientes diagnosticados de AAA pequeños eran fumadores activos (25,34,35).

Existe una base genética del AAA ya que personas con una historia familiar positiva, especialmente en familiares varones de primer grado, presentan mayor riesgo de desarrollar AAA (36,37). La prevalencia entre familiares, especialmente hermanos, puede aumentar hasta un 15-27% (38,39). Esta predisposición genética de desarrollar un AAA se describió por primera vez en un trabajo de 1977 en tres hermanos intervenidos de un AAA roto (40). Pacientes con aneurismas en otras localizaciones, (aneurismas de arterias ilíacas, femorales, poplíteas o carotídeos) presentan una prevalencia de AAA del 20-40% (41-45). Un 85 % de pacientes con un aneurisma femoral presentan AAA y hasta un 60% los pacientes con un aneurisma de poplítea (43,46).

También se observa una elevada prevalencia de enfermedad aneurismática en pacientes afectos de enfermedad arterial periférica, donde aumenta su prevalencia hasta a un 20% en varones (32,42,47) de enfermedad aterosclerótica a nivel coronario (32,48), así como en pacientes que han presentado algún evento neurológico isquémico (49,50). Por el contrario, se han descrito factores con asociación negativa con el AAA, como la diabetes. Se estima una odds ratio de AAA en diabéticos comparada con los no diabéticos de entre 0.52 y 0.75 (35).

---

## 4. HISTORIA NATURAL DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL

De forma general podemos resumir que la evolución natural de un AAA es una dilatación progresiva en el tiempo, que si no se trata puede culminar en la rotura de la pared vascular. La rotura de un aneurisma está asociada a una alta mortalidad, hasta un 90% en pacientes que no llegan a intervenir. Los pacientes que son intervenidos presentan una cifra de mortalidad del 40-50% (51,52).

### 4.1 Factores de riesgo del crecimiento y rotura

#### 4.1.1 Diámetro

El diámetro máximo es uno de los principales factores de riesgo para el crecimiento y rotura del AAA (53–61). La tasa de crecimiento de los AAA de entre 30 y 55 mm es de 0.2 a 0.3 cm/año. Los AAA de mayor tamaño presentan una tasa de crecimiento mayor (62,63), aumentando así su riesgo de rotura. La tabla 2 muestra el riesgo de rotura a los 12 meses según el diámetro máximo del AAA.

<b>DIÁMETRO DEL AAA</b>	<b>RIESGO DE ROTURA (% A LOS 12MESES)</b>
<b>30-39mm</b>	0
<b>40-49mm</b>	1
<b>50-59mm</b>	1.0-11
<b>60-69mm</b>	10-22
<b>&gt;70</b>	30-33

Tabla 2. Riesgo de rotura a los 12 meses según diámetro máximo del AAA (58–60).

En la práctica clínica las decisiones terapéuticas se basan en este riesgo de rotura. Un paciente asintomático es considerado tributario a tratamiento cuando el AAA es igual o ma-

yor de 55mm y/o crece más de 0.5cm al año. La velocidad rápida de crecimiento (55,61,64–67) (más de 5mm en 6 meses o de más de 10mm en un año) se ha relacionado también con un aumento del riesgo de rotura del AAA.

#### 4.1.2 Tabaquismo

El tabaquismo tiene un papel importante tanto en la etiopatogenia de los AAA como en su evolución y pronóstico. El hábito tabáquico es el mayor factor de riesgo de crecimiento (62,68–71) y rotura (72) de AAA. El abandono de este hábito representa la intervención no quirúrgica más efectiva para reducir el riesgo de complicaciones de los AAA (73). Hay datos que sugieren que el tabaquismo incrementa la expansión del aneurisma 0.35 cm/año, llegando a duplicar el riesgo de rotura (74).

El tabaquismo es la principal causa de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) que se ha asociado con el AAA. Los pacientes con EPOC presentan un elevado riesgo de rotura (54,56), aunque no se ha descrito un mayor crecimiento del AAA (75–77).

#### 4.1.3 Hipertensión arterial

No queda bien establecida la relación entre la hipertensión arterial y la aparición y el crecimiento del AAA (78–81), aunque se acepta que los pacientes hipertensos son más propensos a desarrollar aneurismas que la población general. Sin embargo la relación entre la hipertensión y la rotura del AAA sí está consistentemente descrita (54).

#### 4.1.4 Edad

La incidencia del AAA aumenta con la edad. Sin embargo los datos sobre la tasa de crecimiento de los AAA en relación con la edad no son consistentes (24,69,76,78,82,83).



---

#### 4.1.5 Diabetes mellitus

En contraste con su papel como factor de riesgo de la enfermedad aterosclerótica, la diabetes mellitus se ha descrito como un factor protector frente al desarrollo de AAA. Se ha demostrado una asociación negativa entre diabetes y el crecimiento del aneurisma (76,78,79,82).

#### 4.1.6 Dislipemia

La dislipemia, a pesar de ser un claro factor de riesgo cardiovascular, no se ha relacionado con el crecimiento del AAA (78,79,81). Hay varios estudios que asocian el tratamiento con estatinas con un menor crecimiento del AAA (78,84,85) pero el estudio con mayor número de pacientes y cuidadosamente diseñado no demuestra ninguna asociación entre las estatinas y el crecimiento de los AAA (86,87).

Aunque los resultados son contradictorios, se ha asociado la presencia de AAA con niveles elevados de triglicéridos, Apo A-I y Lipoproteína a, así como con niveles bajos de colesterol HDL.

#### 4.1.7 Sexo

El sexo masculino es uno de los factores de riesgo fundamentales para desarrollar un AAA. La prevalencia de AAA en mujeres es menor (54–57), pero la enfermedad cursa de manera más severa: crecimiento más rápido y mayor riesgo de rotura a menor diámetro respecto a los hombres. El riesgo de muerte por rotura de un AAA se calcula hasta cuatro veces superior en mujeres comparado con hombres del mismo diámetro de AAA (54). No hay datos consistentes de la relación entre el género femenino y el crecimiento del AAA (75,82,83).

#### 4.1.8 Otros

La calcificación mural aórtica se ha descrito como un factor de riesgo para la rotura del AAA (88).

Pacientes que han recibido un trasplante cardíaco o de órganos abdominales, presentan una mayor prevalencia de AAA, con mayor tasa de crecimiento y de rotura post-trasplante (89,90).

En la siguiente tabla se muestra un resumen de los factores de riesgo de desarrollo crecimiento y rotura del AAA. (tabla 3)

	<b>Factores de riesgo para desarrollar AAA</b>	<b>Factores de riesgo para crecimiento del AAA</b>	<b>Factores de riesgo para rotura del AAA</b>
<b>Mayor evidencia:</b>			
	Hábito tabáquico	Hábito tabáquico	Hábito tabáquico
	Género masculino	Mayor diámetro máximo	Género femenino
	Raza blanca		Mayor diámetro máximo
	Edad		Velocidad de crecimiento
	Historia familiar positiva		Hipertensión arterial
<b>Menor evidencia:</b>			
	Hipertensión arterial	Hipertensión arterial	Peak wall Stress
	Hipercolesterolemia	Edad	Trasplantados
	Aneurisma otra localización	Uso de b-bloqueantes	EPOC
	Enfermedad aterosclerosa periférica, coronaria, cerebral	Género femenino	Calcificación mural aórtica
	Trasplantados	Trasplantados	
	<b>FACTOR PROTECTOR:</b> Diabetes Mellitus	<b>FACTOR NEGATIVO:</b> Diabetes Mellitus y estatinas	

Tabla 3. Factores de riesgo de desarrollo, crecimiento y rotura del AAA

---

## 5. CLINICA DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL

La mayoría de los AAA son absolutamente asintomáticos, hecho que plantea problemas para su detección. Si presentan un tamaño muy grande pueden llegar a comprimir órganos vecinos como los uréteres, y presentar hidronefrosis, o incluso la vena cava inferior, aumentando el riesgo de trombosis de la misma. Estas compresiones se observan de manera excepcional. La práctica totalidad de los AAA no complicados son asintomáticos. Debido a la ausencia de manifestación clínica y a la poca sensibilidad de la exploración física no encaminada, un alto porcentaje de los AAA se detectan de forma incidental en el transcurso de pruebas de imagen realizadas por otra causa, como veremos más adelante.

Los síntomas asociados a un AAA generalmente están relacionados con la complicación del mismo. La complicación más grave de un aneurisma es su rotura. La rotura del AAA es un fenómeno complejo, que implica procesos celulares proteolíticos además de factores biomecánicos y se produce habitualmente de manera repentina (91,92). Los pacientes con un AAA roto pueden presentar sintomatología diversa: aparición súbita de un intenso dolor abdominal o lumbar con irradiación a región lumbar o inguinal, distensión abdominal, hipotensión y masa abdominal pulsátil. Sólo un 50% de los pacientes manifiestan de manera simultánea los tres síntomas clásicos de hipotensión, masa pulsátil palpable supraumbilical y dolor abdominal o lumbar severo (93).

Cuando un AAA se rompe, se produce una extravasación de sangre cuya magnitud determinará la gravedad de la hipotensión y el shock hipovolémico asociado. Esta rotura aórtica puede manifestarse de manera más larvada si el sangrado queda temporalmente contenido por el retroperitoneo o puede evolucionar de forma más rápida si el sangrado entra libremente en cavidad abdominal, con una hipotensión transitoria que evoluciona a shock en corto plazo de tiempo. La rotura de un aneurisma tiene un riesgo de mortalidad asociada de un 50 a un 80%.

Otra presentación clínica de los AAA, aunque menos frecuente, son los denominados AAA sintomáticos (sAAA). Este término se refiere a pacientes con AAA que presentan una serie de síntomas como dolor abdominal, o embolizaciones que producen isquemia en las extremidades inferiores. El dolor es la manifestación clínica más frecuente y puede estar lo-

calizado en el abdomen, pero también lumbar, en flancos, pelvis o irradiado hacia la ingle (94). La presencia de estos síntomas en un paciente con un AAA que no presenta ninguna complicación del AAA en la prueba de imagen y con otras causas del dolor descartadas, constituyen un diagnóstico de AAA sintomático (95).

Los aneurismas sintomáticos presentan un incremento del riesgo de rotura. Según las guías para el manejo de los AAA de la Sociedad Europea de Cirugía Vasculat (10), los AAA sintomáticos deben ser reparados de manera preferente por su elevado riesgo de complicación. La intervención emergente suele asociar una preparación deficiente del paciente y equipos menos experimentados que pueden aumentar el riesgo de complicaciones peroperatorias. Por esta razón se recomienda intervención lo más rápida posible con las condiciones de una cirugía electiva.

## **6. PATOGENIA DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL**

El AAA es una patología compleja y dinámica que representa un proceso degenerativo irreversible cuya etiopatogenia se había atribuido históricamente a la degeneración aterosclerótica de la pared aórtica. Sin embargo, estudios recientes basados en las diferencias que se encuentran entre la arterioesclerosis aórtica y los AAA han demostrado que estas patologías son entidades distintas y que la etiopatogenia del AAA es mucho más compleja (96).

El desarrollo de un AAA implica una respuesta inflamatoria local que conduce a la infiltración de macrófagos, neutrófilos y linfocitos. Esta respuesta inflamatoria es retroalimentada por citoquinas y proteasas extracelulares que combinadas producen la apoptosis de las CMLV y degradación de la matriz extracelular. Así, a nivel histológico, los principales procesos que se asocian al desarrollo de un AAA son: un proceso inmuno-inflamatorio crónico de la pared aórtica, la apoptosis de las CMLV, la degradación proteolítica de la matriz extracelular y el aumento del estrés oxidante y de la neovascularización del tejido aórtico (97,98).

---

## 6.1 Factores estructurales

### 6.1.1 Anatomopatología de la pared aórtica

Desde el punto de vista anatomopatológico, hay diferencias claras entre la arterioesclerosis aórtica y los AAA. En ambas patologías se desarrolla un proceso inflamatorio crónico en la pared del vaso, que presenta diferencias a nivel histológico. La placa aterosclerótica se caracteriza por la infiltración de leucocitos en el lumen y la proliferación de las CMLV que provoca una hiperplasia de la capa media con reducción de la luz arterial. En el AAA se produce una marcada disminución de las CMLV de la capa media por apoptosis, una infiltración leucocitaria (macrófagos y linfocitos) principalmente en la capa adventicia y la expansión de la aorta por la degradación del tejido estructural. No está establecido si la apoptosis de CMLV es un proceso activo o consecuencia del deterioro del tejido circundante.

### 6.1.2 Degradación proteolítica de las fibras elásticas de la capa media

En el AAA se produce un proceso de degradación proteolítica del tejido conectivo de la capa media arterial, principalmente de la elastina, y como consecuencia la capa media pierde su estructura y propiedades elásticas provocando la dilatación arterial. Las metaloproteinasas (MMP) son endopeptidasas secretadas por distintos tipos celulares, entre ellos células inflamatorias y CMLV, que juegan un papel muy importante en los procesos de remodelación de los componentes de la matriz extracelular. Numerosos estudios han demostrado el aumento de la expresión y actividad de las MMP y su importancia en la formación de los AAA, actuando en la pared de los mismos, alterando los patrones normales de colágeno y elastina y produciendo por tanto la debilidad de la pared. Las MMP más relacionadas con el AAA son la MMP-2, producida por células mesenquimales, y la MMP-9, producida por neutrófilos, macrófagos y osteoclastos (99).

### 6.1.3 Hipervascularización del tejido aórtico

Los principales factores que inducen angiogénesis son la hipoxia y la inflamación, ambos presentes en el AAA. En el tejido aneurismático se observa un gran incremento de microvasos en las capas adventicia y media, siendo éste mayor que el observado en las lesiones ateromatosas (100,101). Holmes et al (102) observaron que la densidad de microvasos en la pared del AAA era 15 veces superior que en la aorta normal y que la hipervascularización se correlacionaba con la destrucción de las fibras elásticas y con el infiltrado inflamatorio. También se ha observado que la hipervascularización se exagera en las zonas de rotura (103) y se ha postulado que la neovascularización es un proceso continuo que se inicia en las fases tempranas del desarrollo del AAA (104,105).

Las MMP 2 y 9 están implicadas en la neovascularización ya que la degradación de la matriz favorece la progresión de los nuevos vasos. Tanto los infiltrados inflamatorios como los nuevos vasos que se generan son fuente de MMPs en la pared del AAA creando de esta manera un proceso de retroalimentación que incrementa los niveles de MMPs, por lo tanto, la degradación de la matriz extracelular, lo que a su vez favorece la neovascularización que facilita la formación de nuevos infiltrados inflamatorios locales.

Los procesos etiopatogénicos en el AAA no son aislados, están conectados entre sí por mecanismos aún desconocidos.

### 6.1.4 Presencia de trombo intraluminal

La implicación del trombo intraluminal (TIL) en la patogenia de un AAA es aún desconocida y controvertida. El TIL es un tejido activo, compuesto por una red fibrosa con infiltración de leucocitos, producción de citoquinas proinflamatorias y enzimas proteolíticas (106,107) y está relacionado con la disminución de CMLV y elastina (108). Tiene una estructura porosa con cavidades interconectadas producidas probablemente por microfisuras del trombo y la actividad de los macrófagos.

Hay diferentes teorías sobre el TIL y su relación con la presión de pared del AAA. El TIL se ha considerado como un material que podría tener capacidad de amortiguar la presión

---

que la sangre ejerce sobre la pared aórtica. Sin embargo se ha observado que la presión en el poro de trombo es similar a la presión sanguínea (109,110) y por esto algunos concluyen que el TIL no reduce la presión de pared (109).

Por el contrario, otras teorías apuntan que la presencia de TIL sí que disminuye la presión de pared aórtica. Esto se explicaría si se considera el trombo como una red de fibras conectadas a la pared del aneurisma en las que a pesar que la sangre penetra con una presión elevada, si son capaces de amortiguar la presión y disminuir así la presión sobre la pared de la aorta (111–113).

Otros estudios concluyen que independientemente de la presión máxima de pared, la presencia de TIL aumenta el riesgo de rotura del AAA. Se ha observado que el incremento del volumen de TIL aumenta la tasa de crecimiento (114) y la de rotura (115,116) del AAA. Behr Andersen C et al (117) han asociado la porosidad del trombo y la alta concentración de proteínas plasmáticas en el trombo con el crecimiento del AAA.

## **6.2 Factores patogénicos**

Cada vez existen más indicios que hacen pensar que los AAA son la manifestación local de una enfermedad vascular sistémica y el motivo por el que se produce la reacción inmunoinflamatoria que desencadena el proceso es desconocido. El estudio del perfil transcripcional mediante microarrays de alta densidad ha demostrado que los niveles de ARN mensajero (mARN) de un gran número de genes están alterados en el tejido de aorta del AAA. Las vías modificadas en el AAA están relacionadas con la respuesta inmune (118–120) inflamatoria (120), la remodelación tisular (121) y el estrés oxidante (122).

La respuesta inmune mediante la regulación de la inflamación, pero también modulando la respuesta inmune innata, juega un papel importante en el desarrollo del AAA, pero los eventos patológicos que contribuyen a la evolución del AAA no están bien establecidos. Se ha propuesto que un agente infeccioso viral o bacteriano podría iniciar o acelerar el proceso de formación y expansión aneurismática. Tras la infección se produciría un fallo en los

mecanismos inmunorreguladores y en general de la tolerancia que podría generar una respuesta autoinmune contra antígenos propios (123).

Existen cada vez más evidencias de que la respuesta inmune celular participa en la modulación de la patogénesis de los AAA. Los linfocitos CD4+Th (helper) son prevalentes en el AAA. Incluyen dos tipos celulares mayoritarios, Th1 y Th2. Las células Th1 secretan mayoritariamente Interleucina (IL)-2 e interferón  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), mientras que entre las citoquinas características de las Th2 se encuentran la IL-4 y la IL-5. Ambos tipos se regulan entre ellos mediante estas citoquinas y la relación Th1/Th2 depende del ambiente y de la respuesta inflamatoria. Tanto las Th1 como las Th2 contribuyen a la inflamación vascular, aunque en muchos casos las células Th1 juegan un papel antiinflamatorio y las Th2 proinflamatorio. En el AAA se ha observado una mayor proporción de células Th2 (124) y que la desregulación de la expresión de IL-4 reduce la formación de AAA (125). Por otro lado, se cree que las células Treg (reguladoras) funcionales limitan el desarrollo del AAA mediante la secreción de citoquinas antiinflamatorias como la IL-10 (126) que juega un papel en la reducción de la muerte celular, en la inhibición de la proliferación de las CMLV y en la reducción de la actividad de los macrófagos y reclutamiento de células inflamatorias. En el AAA se detectan depósitos de Inmunoglobulina (Ig) M, IgG y C3c en la zona fibrosa, lo que indica que en la patogénesis del AAA está implicada la respuesta patológica de las células B (127).

En resumen, la etiopatogenia del AAA es muy compleja y aún desconocida. Según los estudios realizados, es posible identificar algunos de los procesos patológicos implicados de manera aislada. Es importante no perder de vista que se desconoce la relación entre todos ellos y todas las posibles interacciones que muy probablemente los entrelazan.

## **7. DIAGNÓSTICO DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL**

La mayoría de los pacientes con AAA son asintomáticos y desconocen que padecen esta enfermedad. Estos aneurismas pueden ser diagnosticados tras el hallazgo de una masa pulsátil abdominal en una exploración física de rutina, de forma casual tras una prueba de



---

imagen solicitada por otro motivo o en un programa de cribado poblacional para AAA (128).

El diagnóstico se acelera cuando los pacientes con AAA presentan síntomas. Como ya hemos comentado anteriormente, los aneurismas que producen síntomas tienen un riesgo elevado de rotura, y están asociados con tasas de mortalidad más elevadas.

## **7.1 Diagnóstico del AAA asintomático:**

### **7.1.1 Diagnóstico por exploración física de rutina**

Aproximadamente un 30% de los pacientes con un AAA asintomático son diagnosticados con una exploración física de rutina (129). Esta incluye una palpación abdominal profunda en la línea media abdominal. La capacidad de evaluar el diámetro máximo del AAA depende de la anatomía del paciente, el tamaño del aneurisma y de la experiencia del explorador. Según el tamaño del aneurisma, la sensibilidad puede variar desde un 30-60% según la serie cuando el AAA presenta un diámetro de 3 a 3,9 cm, hasta un 76-82% cuando el AAA tiene un diámetro mayor de 5 cm (129,130) Si la circunferencia abdominal es mayor de 100cm la sensibilidad baja de una manera importante (129).

### **7.1.2 Diagnóstico como hallazgo casual en exploración radiológica**

Los AAA son diagnosticados frecuentemente de forma casual tras una exploración radiológica por otro motivo (131–134).

Un estudio realizado en 2011 en cerca de 80000 pacientes a los que se les había realizado una tomografía computerizada (TC) de abdomen, ecografía o resonancia magnética mostró que el 1% presentaban un AAA con una media de 4 cm de diámetro. Además, se describió que estos pacientes diagnosticados de una manera casual tienen un seguimiento posterior inadecuado ya que únicamente el 15% fue derivado a su médico de atención primaria por este motivo (135).

### 7.1.3 Diagnóstico como resultado de cribado poblacional

Los programas de cribado poblacional son una aplicación sistemática de una prueba que se realiza en personas asintomáticas para distinguir las que probablemente están enfermas de las que no lo están y cuya finalidad es reducir la mortalidad o morbilidad asociada a una patología determinada.

El eco doppler abdominal es la prueba utilizada para llevar a cabo los programas de cribado de AAA, ya que es una técnica no invasiva, barata, puede realizarse en centros de atención no especializada y tiene una sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de esta patología cercana al 100% (136,137).

Los principales estudios de screening poblacional de AAA son los que se muestran en la tabla 4:

	<b>Chichester R Unido (138)</b>	<b>Viborg, Dinamarca (139)</b>	<b>Western Australia (18)</b>	<b>MASS, R.Unido (140)</b>	<b>Rotterdam Holanda (31)</b>	<b>Tromso, Noruega (141)</b>
<b>N</b>	15775	12628	41000	67800	5419	6386
<b>Género</b>	M y H	H	H	H	M y H	M y H
<b>Edad (años)</b>	65-80	65-73	65-79	65-74	>55	55-74
<b>Fecha</b>	1988-90	1994-8	1996-8	1997-9	1994-5	1994-5
<b>Publicación</b>	1995	2002	2004	2002	1995	2001
<b>Prevalencia AAA</b>	4.0% total 7.6% H 1.3% M	4.0%	7.2%	4.9%	4.1% H 0.7% M	8.9% H 2.2% M

Tabla 4: Prevalencia de AAA detectada en screening poblacional. M: mujeres/H: Hombres

Estos trabajos son ensayos clínicos aleatorizados sobre población europea y australiana, que comparan la población de sujetos incluidos en el screening con sujetos no incluidos,

---

que se consideran controles. Según un trabajo que analiza estos ensayos (142), se observa una reducción significativa de la mortalidad específica por AAA. Tan sólo en el estudio Danés se observaba una reducción de la mortalidad por todas las causas.

Los resultados a largo plazo del estudio MASS con un seguimiento de 13 años muestran un 42% de reducción de mortalidad por AAA y también una pequeña reducción en la mortalidad por todas las causas (143). Sobre población norteamericana una revisión sistemática mostró un beneficio similar para hombres (144).

En la última guía de manejo de AAA de la Sociedad Europea de Cirugía Vascul ar, hay una recomendación con máximo nivel de evidencia del cribado poblacional en hombres para AAA, ya que reduce la mortalidad asociada al AAA de los varones de más de 65 años a casi la mitad en cuatro años en regiones donde la prevalencia global de AAA es superior al 4%. Esta disminución se debe principalmente a la reducción de la tasa de rotura aneurismática (10).

En mujeres no existen evidencias para el cribado del AAA, posiblemente por su menor prevalencia. En el estudio "Chichester" no se observó reducción en la incidencia de aneurismas rotos en mujeres tras 5-10 años de seguimiento (145).

No existen datos definitivos acerca de la aplicación del cribado en subgrupos poblacionales específicos. La realización del cribado en personas con antecedente de tabaquismo (146), con antecedentes familiares de aneurismas (147), o con enfermedad arterial periférica (50,148), podría mejorar la relación coste efectividad. En la última guía Americana para el manejo de AAA se ofrece una recomendación de nivel fuerte y calidad de la evidencia alto para la realización de una prueba de cribado a hombres y mujeres de 65-75 años con historia de hábito tabáquico (30).

Un informe sobre la población gallega (149) indica que un programa de cribado en esta Comunidad los 4 primeros años de su implantación evitaría 37 muertes por AAA y 263 roturas, disminuyendo el número de cirugías urgentes. Antes de la implantación de un programa real de cribado poblacional, debería hacerse un estudio piloto en en el área geográfica específica para conocer los datos reales en dicha población.

Una de las limitaciones del cribado de AAA es el porcentaje de participación de la población a la realización de la eco doppler abdominal. En el estudio MASS hubo un 37% de pérdidas a partir de la aleatorización.

Otro punto discutible es la edad a la que se realiza la prueba. Todos los estudios realizan el cribado a una edad de 65 años o superior. En el estudio MASS se han observado muertes por AAA en el grupo ya cribado. En la última guía americana para el manejo del AAA (30) se recomienda, con calidad de la evidencia baja, que con un diámetro aórtico inicial de 2,5-3 cm, se vuelva a repetir el cribado en 10 años.

Por otra parte, en pacientes obesos o con múltiples cirugías abdominales previas la ecografía puede ser no concluyente. Profesionales expertos tienen problemas para el diagnóstico en aproximadamente 1-2% de los casos (150), cifra que aumenta si la exploración se realiza por personal menos experimentado (151).

Estas limitaciones relacionadas con los métodos actuales de diagnóstico precoz de AAA asintomáticos hacen pensar que actualmente el diagnóstico del AAA asintomático es subóptimo, siendo necesaria una mejora en el diagnóstico precoz de esta enfermedad.

#### 7.1.4 Diagnóstico anatómico

Una vez diagnosticada la presencia de un AAA, se ha de realizar un estudio anatómico. Se ha de obtener una imagen que incluya toda la aorta, desde el cayado aórtico hasta las arterias femorales que permita valorar la presencia de aneurismas u otras lesiones en cualquier localización. Para ello se realiza una TC con contraste endovenoso, una técnica con una alta sensibilidad y especificidad para establecer el diagnóstico de AAA (32,152,153).

Existen otro tipo de exploraciones pero son menos utilizadas como la angio-resonancia magnética, indicada en pacientes que no pueden recibir contraste yodado endovenoso (154), o la arteriografía convencional, que dejó de utilizarse tras la generalización del an-

---

gioTC. Ésta última solo muestra la luz de la arteria, perdiéndose mucha información del AAA, como el diámetro máximo o la disposición del trombo intraluminal.

## **7.2 Diagnóstico del AAA complicado:**

Se considera AAA complicado tanto el sintomático como el roto. Los pacientes sintomáticos se diagnostican normalmente de manera urgente, cuando el individuo presenta alguno de los síntomas comentados anteriormente y se asocia con el diagnóstico de AAA. Se ha de realizar un diagnóstico diferencial con otras posibles causas del dolor. Mediante pruebas analíticas o de imagen si es necesario se ha de descartar patología digestiva, nefrourológica o ginecológica si procede. Con otras causas del dolor descartadas, y un angioTC que confirma la presencia de un AAA sin signos de rotura, se puede preparar al paciente para una reparación preferente. Como ya hemos comentado los AAA sintomáticos han de intervenirse de manera preferente, pero asegurando las condiciones de una cirugía electiva y con una correcta optimización del paciente (10).

En pacientes con AAA roto la situación es muy urgente y la actuación a nivel diagnóstico depende de la estabilidad hemodinámica del paciente. Si se sospecha un AAA roto, pero no se tiene la certeza, se debe realizar un eco doppler de urgencia mientras al paciente se le administran las pertinentes medidas de resucitación. Además de observarse una dilatación aneurismática, puede constatarse la presencia de hematoma retroperitoneal, aunque el lugar de la rotura no suele ser identificado. Actualmente, con los equipos de urgencias entrenados en el examen "FAST" (Focussed Assessment with Sonography in Trauma), esta exploración puede ser hecha por el personal de urgencias (155).

Si el paciente está hemodinámicamente inestable, sólo con el diagnóstico de confirmación con eco doppler puede ser trasladado a quirófano para un tratamiento quirúrgico de emergencia.

Para pacientes hemodinámicamente estables, la realización de un angioTC tóraco abdominal con contraste el fase arterial y venosa es recomendado. En esta prueba de imagen se confirma el diagnóstico de AAA. Se confirma si observamos hematoma retroperitoneal,

pérdida de plano entre la aorta y el tejido circundante, o extravasación de contraste fuera de la aorta (a retroperitoneo, a vena cava o a intestino). Además, con este tipo de exploración se dispone de la información necesaria para poder decidir la técnica quirúrgica ideal.

## **8. MARCADORES PLASMÁTICOS, BIOMECÁNICOS Y GENÉTICOS**

Uno de los mayores retos de la medicina actual es intentar predecir o estimar el riesgo de sufrir un evento patológico en una persona sana o un paciente concreto. De ahí el interés creciente en el papel de los biomarcadores diagnósticos y pronósticos que puedan ser identificados en sangre (156).

El *National Institutes Health* definió biomarcador como “aquellas características objetivamente mensurables, capaces de identificar procesos fisiológicos, patológicos, o bien una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica” (157,158). Existen diferentes tipos de biomarcadores: diagnósticos, pronósticos o terapéuticos (156). El biomarcador ideal debe ser específico, sensible, rápido y económico, estable *in vivo* e *in vitro*, no invasivo, y tener suficiente relevancia preclínica y clínica para modificar las decisiones relativas al proceso patológico en que se aplica (156,159).

La identificación de biomarcadores implicados en la patogénesis del AAA haría posible su uso para la inhibición farmacológica del crecimiento del AAA. Estos biomarcadores permitirían estratificar el riesgo y evaluar el grado de enfermedad y en consecuencia aplicar un tratamiento adecuado al nivel de enfermedad, para evitar tanto el crecimiento como la rotura del aneurisma.

Actualmente el único tratamiento del AAA es la reparación quirúrgica y la decisión de realizar una cirugía se basa en 3 características: el diámetro aórtico (mayor de 5.0 cm en mujeres y 5.5 cm en hombres), la presencia de síntomas y la velocidad de crecimiento. Los dos primeros parámetros son relativamente fáciles de identificar por técnicas de imagen o interrogando al paciente, sin embargo, la velocidad de crecimiento del AAA sólo puede

---

analizarse retrospectivamente, ya que todavía no se ha identificado ningún factor pronóstico de la expansión.

Aunque se han examinado numerosos marcadores potenciales del crecimiento y rotura del aneurisma, circulantes, biomecánicos y genéticos, ninguno se ha implementado como práctica común en el manejo del AAA (160).

## **8.1 Biomarcadores circulantes**

La identificación de biomarcadores circulantes con valor diagnóstico y pronóstico en el AAA es un reto. Es necesario encontrar marcadores biológicos que permitan diagnosticar la enfermedad, valorar la progresión y el riesgo de rotura del aneurisma y conocer la respuesta al tratamiento de los pacientes.

### **8.1.1 Marcadores relacionados con la hemostasia**

Varios trabajos han demostrado que marcadores circulantes de la hemostasis están elevados en pacientes con AAA y se ha estudiado su utilidad como posibles biomarcadores del AAA. Sidloff et al (161) realizaron un metaanálisis de los trabajos que investigaban la asociación entre marcadores circulantes de la hemostasis y la presencia de AAA y tamaño. El estudio sugiere que la presencia de AAA está asociada con el recambio de fibrina, la fibrinólisis y la generación de trombina, como muestran los niveles elevados de fibrinógeno, de dímero-D y del complejo trombina-antitrombina III. Esto es clínicamente relevante puesto que los marcadores de la hemostasis son factores de riesgo independientes de riesgo cardiovascular, destacando la necesidad de abordar todos los factores de riesgo cardiovascular modificables en pacientes con AAA. La conclusión es que estos marcadores presentan baja sensibilidad y especificidad ya que también están elevados en otras situaciones protrombóticas e incluso simplemente por la edad. Únicamente el dímero-D, cuya concentración plasmática se correlaciona con el diámetro del aneurisma, podría ser un candidato a biomarcador de AAA. Ya en 2011 se había propuesto que la medida de dímero-D seriada podría ser útil en el seguimiento de los pacientes diagnosticados de AAA (162,163). También los niveles de homocisteína total se ha asociado con la presencia de

AAA y se ha correlacionado con el diámetro aórtico (164). Sin embargo un reciente meta-análisis mostró que la asociación entre homocisteína circulante y AAA no era significativa (165).

La alteración de varios biomarcadores relacionados con la hemostasia de manera sincrónica está relacionado también con la presencia de AAA (166); estos marcadores incluyen el recuento de serie blanca en hemograma, fibrinógeno, dímero D, troponina T, péptido natriurético y proteína C reactiva (PCR) ultrasensible. Sin embargo, no llegan a ser válidos para diagnosticar un AAA debido a su inespecificidad, aunque se deja la puerta abierta a que puedan ser útiles en el futuro para el seguimiento de aneurismas asintomáticos.

En el último meta-análisis publicado sobre marcadores de predicción de crecimiento y ruptura del AAA (160) se presenta además el activador tisular del plasminógeno como biomarcador circulante relacionado con la expansión y rotura del AAA, y el inhibidor del plasminógeno activado (Plasminogen activator inhibitor, PAI-1) relacionado con la rotura. Como en estudios anteriores se pone de manifiesto la dificultad de realizar el meta-análisis por la heterogeneidad de los estudios existentes y la debilidad de las conclusiones que pueden extraerse.

### 8.1.2 Marcadores relacionados con la degradación de la pared

Los biomarcadores ideales son aquellos que están directamente relacionados con la fisiología de la enfermedad, así, los primeros biomarcadores de AAA que se estudiaron estaban relacionados con la degradación proteolítica de la matriz extracelular. Se han visto alteraciones en marcadores de remodelación de la matriz extracelular en pacientes con aneurismas pequeños (167).

Los péptidos de elastina y el propéptido aminoterminal del procolágeno tipo III están elevados en el suero de pacientes con AAA, aunque presentan una baja sensibilidad y especificidad. También se han analizado los niveles niveles circulantes de las enzimas proteolíticas como de MMP-9 que se encuentra aumentada en pacientes con AAA. Sin embargo, el



---

estudio de mayor tamaño muestral realizado no encontró correlación entre los niveles de esta MMP y la expansión del AAA (160,168).

Un meta-análisis de 2014 (99) muestra que existen diferencias en los niveles circulantes de MMP-9 y TIMP-1 (Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases) entre pacientes con y sin AAA, pero no en los de MMP-2, que si aparecen incrementados en el tejido aórtico. Ninguno de ellos se correlaciona con el tamaño aórtico. Sólo un número limitado de estudios han publicado información sobre otras MMPs y los resultados son inconsistentes. También se han encontrado niveles de expresión elevados de otras proteasas en el AAA como la mieloperoxidasa (MPO), cistatinas, catepsinas y  $\alpha$ 1-antitripsina.

### 8.1.3 Marcadores relacionados con la respuesta inmunoinflamatoria

El AAA está asociada con el incremento de numerosos marcadores inmunoinflamatorios. Las células infiltradas en el aneurisma liberan numerosas citoquinas, que producen la activación y expresión de proteasas. Varios estudios han observado niveles elevados de IL-1b, IL-6, factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) e IFN- $\gamma$  en pacientes con AAA, citoquinas implicadas en el desarrollo y patogénesis del aneurisma (99).

Se han descrito marcadores circulantes relacionados con la activación de los neutrófilos en el AAA como los complejos  $\alpha$ 1 antitripsina, elastasa, mieloperoxidasa o  $\alpha$ -defensina. Los niveles de Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin, NGAL, liberada por los neutrófilos se han relacionado con la presencia de AAA (169). La presencia de anticuerpos frente a *Chlamydomphila pneumoniae* se ha relacionado con la expansión del AAA, aunque no con la rotura del mismo y una reciente revisión sistemática (160) lo propone como posible marcador de expansión, aunque con una limitada calidad de los estudios que lo sustentan.

Los estudios proteómicos han sido útiles para la identificación de posibles biomarcadores. En un estudio, se encontró que los niveles de la quimioquina CCL20 estaban incrementados en pacientes con AAA en comparación con individuos sanos (170).

La CCL20 (CC chemokine ligando 20, Liver Activation Regulated Chemokine (LARC), Macrophage Inflammatory Protein-3 $\alpha$  (MIP-3 $\alpha$ ) o exodus-1) se expresa en una variedad de tejidos humanos y en diferentes tipos de células inmunes. Si bien la expresión de CCL20 se observó mayoritariamente en la mucosa asociada a tejidos linfoides (nódulos linfáticos o Parches de Peyer) también se expresa constitutivamente en tejidos de órganos periféricos como pulmón o hígado (171,172). Debido a su expresión constitutiva se ha postulado que la CCL20 juega un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis inmunológica (173).

La expresión de la CCL20 se ha demostrado en células relacionadas con la inflamación como las células endoteliales, neutrófilos y en células NK, linfocitos Th17 y células B entre otras células inmunes (173–181). Participa en las respuestas inmunes innata y adaptativa ya que es un potente quimiotáctico para linfocitos y neutrófilos (171) contribuyendo al reclutamiento de células inmunoinflamatorias en los tejidos inflamados (182).

La CCL20 es codificada por el gen *scya20* localizado en el cromosoma 2 en humanos, su expresión es inducida en distintos tipos celulares por lipopolisacárido y citocinas inflamatorias como el TNF- $\alpha$ , o el IFN- $\gamma$  e inhibida por la IL-10 (183).

El CCR6 (CC chemokine receptor 6) ha sido identificado como el único receptor para la CCL20 (184). Este hecho es inusual ya que es uno de los pocos receptores de quimioquinas en formar un par exclusivo con una quimioquina, por lo que se ha identificado como el eje CCL20-CCR6. El CCR6 es un receptor acoplado a proteína G, y se encuentra mayoritariamente en células dendríticas CD34+, linfocitos T y B (173,185,186). Se ha descrito que el eje CCL20-CCR6 está implicado en varias condiciones autoinmunes, como asma, psoriasis y artritis reumatoide (179,187,188).

En modelos experimentales de ratón se ha observado que el CCL20 puede tener un papel clave en la patogénesis de enfermedades consideradas neuroinmunes como la esclerosis múltiple (189). La CCL20 también parece estar implicada en la patogenia de la EPOC donde su expresión está elevada y favorece el reclutamiento de células dendríticas, fenómeno observado en enfermedades fibroinflamatorias (190).

---

La implicación del CCL20 en el desarrollo del AAA es desconocida. Creemos que puede jugar un importante papel en esta enfermedad debido a que como se ha comentado anteriormente esta enfermedad presenta un componente autoinmune. Aunque se ha descrito que los niveles de CCL20 plasmático en pacientes con AAA están incrementados (170) el escaso número de pacientes incluidos en el estudio no permite obtener conclusiones.

En conclusión, estos marcadores circulantes describen un estado inflamatorio que puede asociarse con la propia patología aneurismática, así como a cualquier otro proceso inflamatorio tanto crónico como agudo que el paciente esté sufriendo en el momento de la medición analítica, siendo la baja especificidad la principal limitación de los biomarcadores. Además, existe una gran heterogeneidad entre los estudios por lo que es necesaria más investigación para que estos biomarcadores puedan ser de utilidad clínica.

## **8.2 Marcadores genéticos**

Los ARNs no codificantes son ARNs que no codifican proteínas y regulan la expresión de genes diana a nivel postranscripcional. Se ha demostrado su potencial como biomarcadores en las enfermedades humanas, ya que dejan firmas específicas en los biofluidos que pueden contener información sobre la agresividad de la enfermedad y la respuesta a la terapia. Los microARN (miARN), son los más estudiados y están implicados en numerosas vías de señalización: transformación, inflamación, angiogénesis, apoptosis y ciclo celular. Su importancia biológica se demostró inicialmente en cáncer y enfermedades víricas y más recientemente se ha investigado en la fisiología y patología cardiovascular. Los miARNs son muy estables en la circulación lo que los convierte en potenciales biomarcadores de enfermedad.

Se ha investigado la expresión de miARNs en modelos animales de AAA y se han encontrado miARNs significativamente regulados (191,192). Una revisión sistemática reciente evalúa los miARN y su relación con la presencia de AAA (193) mostrando que existe una gran diversidad de resultados y en ocasiones contradictorios. En 4 de 11 estudios el miR-21 se encuentra sobreexpresado en tejido aórtico y en uno infraexpresado. Algunos miARN se han encontrado expresados en tejido aórtico en solo unos o dos de los estudios

incluidos. Únicamente el miARN-155 y el miARN-29b se han determinado tanto en tejido como en plasma en dos estudios independientes. En conclusión, aunque existen numerosos estudios que relacionan la expresión de miARNs con la presencia de AAA en humanos, su papel en el AAA no se ha esclarecido y es necesaria más investigación para determinar su utilidad como biomarcadores.

### 8.3 Marcadores Biomecánicos

Tradicionalmente se han utilizado el diámetro máximo del saco aneurismático y la tasa de crecimiento como predictores de rotura, para tomar la decisión de si se debe operar o continuar con el seguimiento del paciente. Sin embargo, en la práctica estos indicadores no son totalmente precisos ya que hasta un 10-15% de los AAA de diámetro inferior a 55mm sufren una rotura (194) y, por el contrario, aneurismas de mayor tamaño que el crítico permanecen durante años sin romperse. Así, cabe pensar que el diámetro máximo no sea el único factor influyente en el riesgo de rotura y que son necesarias otras variables para aumentar la precisión en la predicción del riesgo de rotura.

Es por ello que para valorar el riesgo potencial de rotura están adquiriendo importancia otros factores anatómicos y morfológicos, los llamados factores biomecánicos estructurales. La premisa del enfoque biomecánico para estimar el riesgo de rotura del AAA, es que un aneurisma sigue los principios de la falla de material, rompe cuando las tensiones que actúan sobre la pared arterial superan su resistencia, reflejando la interacción existente entre el remodelado estructural de la pared arterial y la acción que sobre ella ejerce el flujo sanguíneo. El método para estimar el riesgo de rotura se basa en el empleo de los principales parámetros geométricos (diámetro, longitud, asimetría, espesor de la pared arterial, existencia del trombo intraluminal.) que pueden ser obtenidos fácilmente a partir de las tomografías computerizadas.

Se han establecido diversos factores biomecánicos, como la medición de la presión máxima de pared aórtica (Peak Wall Stress) (195–199), la implicación del trombo intraluminal (TIL) (115), además de la tensión (200) y la rigidez (201–203) de la pared.

---

Para determinar la distribución de la tensión de pared en el AAA se puede utilizar el análisis por elementos finitos (FEA). Estos modelos se utilizan en el diseño y mejora de productos y aplicaciones industriales, así como en la simulación de sistemas físicos y biológicos, y son utilizados habitualmente para determinar la distribución del estrés en los componentes complejos. El método de los elementos finitos permite obtener una solución numérica aproximada sobre un cuerpo o estructura dividiéndolo en un número elevado de regiones no intersectantes entre sí, denominadas “Elementos finitos”. Las características de estos elementos se expresan matemáticamente y se combinan para expresar las características de la geometría global. Los datos de imagen, de propiedades y características de los materiales se procesan para obtener unos determinantes geométricos y mecánicos. Esta tecnología se ha extrapolado desde la ingeniería hasta la investigación médica del AAA, con el objetivo de poder evaluar el estrés al que la pared aórtica aneurismática está sometida.

Para comprender la valoración biomecánica de un AAA, hemos de tener en cuenta leyes físicas básicas como la ley de Laplace. Esta ley explica el aumento progresivo de la tensión en la pared al dilatarse la arteria ya que la tensión que sufre la pared es directamente proporcional a la presión arterial y al radio del vaso. Sin embargo, esta ley física sólo explica parcialmente el comportamiento de un AAA ya que su morfología es compleja y existen variables añadidas como son la presencia de trombo intraluminal o la composición de la pared arterial. Es aquí donde radica la importancia de evaluar un aneurisma como una formación compleja, no como una estructura geométrica básica de la que parte la ley de Laplace (194).

La rotura de un AAA se produce cuando las fuerzas por unidad de área sobre la pared aórtica (stress), superan la fuerza de la propia pared. Por eso, para comprender la biomecánica de un AAA es necesario estudiar tanto la geometría del aneurisma como las propiedades de la pared aórtica. Algunas propiedades de la pared aórtica como el grosor de la misma, pueden medirse de manera no invasiva, pero otras no, como la elasticidad. Se han realizado medidas ex vivo para determinar estas propiedades y a partir de estos estudios se han determinado medias aceptables para el grosor aórtico y la fuerza de la pared. Estas variables se incluyen en los análisis biomecánicos pero son siempre estimaciones y no datos individuales reales (204).

El análisis mediante el método de elementos finitos sigue un proceso ordenado que engloba los siguientes pasos:

- Generación de la geometría. La geometría se genera mediante la lectura del angioTC de alta definición del paciente mediante un software de procesamiento de imagen. A partir de él se obtienen reconstrucciones tridimensionales de la geometría real del aneurisma que afecta a cada paciente concreto.
- Discretización del dominio o mallado. Esta geometría resultante es subdividida y modelada como una malla de elementos finitos.
- Análisis biomecánico. Tras especificar las propiedades del tejido e introducir parámetros específicos del paciente (presión arterial, edad, sexo e historia familiar) se pueden calcular las tensiones y deformaciones realizando el análisis complejo de estos elementos con un software específico, obteniéndose finalmente la distribución del estrés de pared en los diferentes puntos del aneurisma. De este modo el programa estima el riesgo de rotura del AAA específico del paciente individual. Este tipo de software no están certificados para su utilización en la práctica médica habitual y el algoritmo que emplea no es público.

El A4 clinics-Research Edition software<sup>®</sup> (VASCOPS Vascular Diagnosis Company, Graz, Austria) es un software comercial que realiza una evaluación del riesgo de ruptura específica del AAA del paciente mediante el FEA. El análisis proporciona las siguientes variables:

- la presión máxima de pared (Peak Wall Stress, PWS) definida como la máxima presión que la pared del AAA soporta.
- el índice de riesgo asociado a presión máxima de pared (Peak Wall Rupture Risk Index, PWRR) computado como el ratio entre la presión de pared y la fuerza de la propia pared.
- el diámetro equivalente al PWRR (Rupture Risk Equivalent Diameter RRED), variable que expresa el índice de riesgo equivalente en diámetro. Por ejemplo: un AAA de 5 cm tiene su riesgo medio asociado clásicamente por diámetro; si tiene un

---

PWRR de 7cm significa que, a pesar de tener un diámetro de 5 cm, en realidad tiene un riesgo de rotura equivalente a uno de 7cm. Esta variable fue creada y validada (205) como una medida más visual y clínicamente más accesible.

- variables morfológicas: diámetro máximo, máximo grosor del TIL, volumen total del AAA y volumen total del TIL.

Varios estudios han mostrado que tanto el PWS como el PWRR, son mejores predictores de rotura que el diámetro máximo en solitario como mostramos a continuación.

Un meta-análisis publicado en 2014 (206) evaluaba el riesgo de rotura en AAA rotos, sintomáticos y asintomáticos utilizando la variable PWS. Se revisaron nueve artículos, que incluían 204 AAA asintomáticos y 144 suma de rotos y sintomáticos. El PWS fue significativamente más elevado en el grupo de AAA complicado, sugiriendo que esta medida es mejor predictora que el diámetro máximo para la evaluación del riesgo de rotura de los AAA. Otra revisión sistemática publicada en el año 2016 (207) muestra conclusiones similares a la descrita anteriormente pero también reconoce sesgos de confusión, heterogeneidad clínica y falta de estandarización entre estudios, lo que impide la realización de un correcto meta-análisis.

En 2015 otro trabajo (208) estudió el valor predictivo del FEA en la evaluación del riesgo de rotura de los AAA. De los diferentes parámetros evaluados el PWRR era el que diferenciaba de una manera más precisa entre AAA sintomáticos y asintomáticos, asumiendo que, si el índice está elevado, representa un pronóstico negativo para un AAA asintomático. En la última guía Americana para el manejo de los AAA, (30) el PWRR es considerado como mejor predictor de rotura que el PWS en solitario.

El papel del trombo intraluminal en la rotura de un AAA es controvertido. Se ha asociado con aneurismas de mayor diámetro, (209) observándose que a mayor diámetro máximo (DMax), aumentan el TIL y la tasa de expansión de un AAA (210). También se ha observado que si se observan fisuras en el trombo aumenta la presión de pared en esas zonas, que podría causar un aumento del riesgo de rotura, pero estos estudios son demasiado preliminares para confirmar los resultados (211).

La evaluación morfológica compleja que obtenemos tras un FEA puede mejorar la evaluación del riesgo del aneurisma. El volumen del AAA puede predecir mejor el crecimiento del mismo y se correlaciona mejor que el diámetro con el riesgo de rotura estimado con algunos estudios biomecánicos (212).

El software para el FEA que está comercializado hoy en día es semiautomático, con la posibilidad de realizar correcciones manuales sobre un primer análisis automático del sistema. Se ha evaluado la variabilidad intraobservador e interobservador de la técnica, sin encontrar diferencias significativas en ninguna de las dos variables (213).

## **9. TRATAMIENTO DEL ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL**

No disponemos de ningún método eficaz para evitar la aparición o el crecimiento de un AAA. Los AAA se tratan una vez están desarrollados y la intervención tiene por objetivo evitar una complicación, principalmente la rotura. Se trata de una intervención profiláctica para evitar complicaciones a medio o largo plazo; si la intervención es sobre un aneurisma sintomático o roto se realiza para evitar la complicación inmediata.

### **9.1 Tratamiento electivo**

En los aneurismas asintomáticos, se ha de realizar un tratamiento médico con antiagregación simple, uso de estatinas, control de la tensión arterial y abandono del hábito tabáquico desde el momento en que el aneurisma se diagnostica (214).

Se recomienda realizar un tratamiento quirúrgico en aneurismas fusiformes asintomáticos con un diámetro mayor o igual a 5,5 cm en varones y mayor de 5 cm en mujeres, o un crecimiento rápido de más de 1 cm anual o más de 0,5cm en 6 meses tanto en hombres como en mujeres (10,30). Las opciones para el tratamiento de un AAA son la cirugía abierta o la cirugía endovascular.



---

### 9.1.1 Cirugía abierta:

La cirugía abierta es la técnica clásica y ha sido tradicionalmente el tratamiento de elección en pacientes sin alto riesgo quirúrgico. Es una cirugía mayor que requiere de una técnica depurada tanto quirúrgica como anestésica. Se ha de administrar una profilaxis antibiótica habitualmente una cefalosporina penicilina o aminoglucósidos (215), es importante mantener una temperatura corporal de más de 36 grados durante la intervención, ser muy cuidadoso en la reposición de líquidos y hemoderivados así como realizar una heparinización sistémica mientras dure el clampaje. El acceso puede llevarse a cabo vía transperitoneal o retroperitoneal sin haberse descrito un claro beneficio de una sobre otra (214). Tras un control, clampaje y apertura del aneurisma, se realiza una interposición de un injerto protésico. El injerto puede ser de politetrafluoruro expandido- (PTFE)/Gore-Tex<sup>®</sup> o Dacron<sup>®</sup>; no existiendo evidencias claras respecto a las ventajas de la utilización de una u otra prótesis (30).

### 9.1.2 Cirugía endovascular

La técnica endovascular de reparación de los AAA, comúnmente conocida como EVAR (Endo Vascular Aortic Repair) se inició en los años 80 por el ucraniano Dr. Volodos (216), aunque el Dr. Parodi (217), que colocó la primera endoprótesis en 1990 en Buenos Aires, ha recibido mayor reconocimiento internacional. De manera endovascular y habitualmente con acceso femoral se colocan stents metálicos autoexpandibles cubiertos de tejido impermeable. Se introducen plegados sobre si mismos y se liberan una vez colocados en posición definitiva bajo control radiológico y con utilización de contraste yodado intraarterial. De esta manera se excluye el AAA del circuito sanguíneo evitando así su presurización y las posibles complicaciones.

El diseño de las prótesis para cada caso es diferente y debe estar decidido de antemano. Es necesario disponer de un angioTC para la planificación. Se disponen de muchas casas comerciales que comercializan endoprótesis, sin evidencia suficiente para avalar una prótesis en concreto (218).

A diferencia de la cirugía aórtica abierta, los EVAR requieren de un control más intensivo ya que pueden presentar fugas durante su seguimiento. Las fugas son una complicación específica e implican un defecto en la exclusión del saco aneurismático, con una anómala presurización del mismo. Por esto es necesario un protocolo de seguimiento que incluye eco doppler abdominal y angioTC seriados, lo que implica una radiación acumulada a lo largo de la vida del paciente no despreciable (219).

### 9.1.3 Elección de la técnica

Desde la aparición de la tecnología endovascular, es un debate intenso el que se mantiene acerca de la decisión de la técnica ideal para la reparación de AAA. Inicialmente el EVAR se utilizó para el tratamiento de los pacientes más añosos y con más comorbilidades al tratarse de una técnica menos agresiva. Tras obtener cada vez mejores resultados conforme la tecnología avanza, se crea la duda de ampliar las indicaciones del EVAR a la población general.

Disponemos de los resultados de varios grandes estudios que han comparado cirugía endovascular con abierta, principalmente recogemos los resultados a 15 años del estudio EVAR-1(220) que compara pacientes tratados con EVAR frente a cirugía convencional. La mortalidad a menos de 30 días es de 1,7% para EVAR frente a 4,7% para cirugía, pero tras una media de 12,7 años de seguimiento es de 9,3% para EVAR frente a 8,9% en cirugía. El EVAR tiene un beneficio en la supervivencia temprana pero no hay diferencias ni en mortalidad total ni relacionada con el AAA a largo plazo. El número de complicaciones y necesidad de reparación de las mismas es más elevado en el grupo EVAR a causa de las endofugas principalmente.

La decisión de una técnica u otra cuando ambas son posibles según criterios anatómicos, depende del estado general del paciente y su esperanza de vida ya que básicamente el EVAR ofrece mejores resultados a corto plazo, aunque con mayor tasa de reintervenciones y la cirugía convencional ofrece mejores resultados a largo plazo.

---

## 9.2 Tratamiento urgente

Una mención especial se ha de realizar cuando el tratamiento se realiza en pacientes sintomáticos o rotos. La técnica quirúrgica es similar pero los resultados difieren de manera importante. Es muy importante un protocolo de actuación claro ya que son situaciones de mucha urgencia, y un retraso en los pasos a seguir puede tener consecuencias fatales (30). La reparación clásica es la cirugía abierta, habitualmente por laparotomía media. Sin embargo, desde la introducción de las endoprótesis ha de evaluarse si pueden mejorar la supervivencia de estos pacientes tan críticos. El estudio IMPROVE (221) muestra una mortalidad a 30 días similar para ambas técnicas y a un año se demuestra la coste efectividad del EVAR sin beneficio en la supervivencia. En Estados Unidos, las endoprótesis se están utilizando cada vez más en estos pacientes complejos, con una tendencia a la disminución de la mortalidad (222,223).

Tanto en la última guía Americana (30) como Europea (10) para el manejo del AAA, se recomienda EVAR frente a reparación abierta para el tratamiento de los AAA rotos si anatómicamente es posible. En la última guía de la SEACV (214) también se recomienda el uso del EVAR, pero cuando el estado hemodinámico del paciente y las características anatómicas lo permitan. Si hay inestabilidad o la anatomía es desfavorable, se recomienda un tratamiento abierto convencional.

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## JUSTIFICACIÓN

El AAA es una enfermedad asintomática que se diagnostica en muchos casos de forma casual y cuya mayor complicación es la rotura con consecuencias mortales en la mayoría de los pacientes. La identificación de biomarcadores diagnósticos y pronósticos del AAA que podrían utilizarse como un complemento o alternativa al diagnóstico y control actual de la enfermedad, es de particular interés.

Ningún marcador plasmático es útil en la actualidad en el diagnóstico del AAA. La quimiocina CCL20 ha estado involucrada en enfermedades autoinmunes y la autoinmunidad parece jugar un papel importante en la patología del AAA. Sin embargo, la relación de la CCL20 con la patogénesis del AAA no está clara. Por otra parte, en la actualidad el diámetro máximo es el parámetro utilizado para predecir el riesgo de ruptura del aneurisma. Sin embargo, la práctica clínica demuestra que el riesgo de rotura no está determinado únicamente por el tamaño del aneurisma. Las técnicas de evaluación del riesgo de rotura de un AAA con FEA, se han mostrado prometedoras, pero estudios con un mayor número de pacientes, y con una cuidadosa selección de los participantes son necesarios para confirmar su posible utilidad clínica.

## HIPÓTESIS

Por lo tanto, nuestra hipótesis es que la CCL20 podría ser un marcador plasmático para el diagnóstico y/o pronóstico de la enfermedad y que el análisis biomecánico del AAA, mejorará la fiabilidad de la evaluación del riesgo de rotura.

---

## OBJETIVOS

El objetivo global del presente trabajo es identificar biomarcadores que permitan mejorar el diagnóstico del AAA y evaluar el riesgo de rotura.

Como objetivos concretos nos planteamos:

1. Analizar los niveles plasmáticos de CCL20 en individuos con AAA en comparación con individuos sanos y pacientes con enfermedad arteriosclerótica no aneurismática.
2. Evaluar los niveles plasmáticos de CCL20 como biomarcador con valor diagnóstico y/o pronóstico del aneurisma de aorta abdominal.
3. Evaluar las diferencias en los niveles de expresión de CCL20 y su receptor CCR6 entre el tejido aórtico aneurismático y la pared aórtica sana.
4. Evaluar si existen diferencias morfológicas y biomecánicas entre AAA sintomáticos y asintomáticos.
5. Evaluar los parámetros obtenidos del análisis de elementos finitos como biomarcador pronóstico de rotura del aneurisma de aorta abdominal.

**PRESENTACIÓN GLOBAL DE RESULTADOS Y  
DISCUSIÓN**





Los resultados de esta tesis doctoral han sido publicados en tres trabajos cuyas referencias son las siguientes.

1. Circulating CCL20 as a New Biomarker of Abdominal Aortic Aneurysm. Soto B, Gallastegi-Mozos T, Rodríguez C, Martínez-González J, Escudero JR, Vila L, Camacho M. Sci Rep. 2017 Dec 11;7(1):17331.
2. Finite element analysis in symptomatic and asymptomatic abdominal aortic aneurysms for aortic disease risk stratification. Soto B, Vila L, Dilmé J, Escudero JR, Bellmunt S, Camacho M. Int Angiol. 2018 Dec;37(6):479-485. (incluído en anexo)
3. Increased Peak Wall Stress, but Not Maximum Diameter, Is Associated with Symptomatic Abdominal Aortic Aneurysm. Soto B, Vila L, Dilmé JF, Escudero JR, Bellmunt S, Camacho M. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2017 Dec;54(6):706-711.

### **Primera parte: Valor diagnóstico y/o pronóstico del CCL20:**

#### *Artículo 1. "Circulating CCL20 as a New Biomarker of Abdominal Aortic Aneurysm"*

Hemos identificado la molécula CCL20 como un posible biomarcador plasmático de la presencia de AAA.

Para estudiar los niveles de CCL20, se incluyeron dos grupos de pacientes: pacientes diagnosticados de AAA intervenidos quirúrgicamente en nuestro centro tanto por cirugía abierta como endovascular y pacientes con enfermedad aterosclerótica periférica no aneurismática (ANA). Los controles de plasma se obtuvieron de donantes del banco de sangre y el tejido aórtico control se obtuvo de donantes multiorgánicos. La aterosclerosis y el AAA son patologías multifactoriales y poligénicas con factores de riesgo ambientales y genéticos implicados. La aterosclerosis representa un importante factor de riesgo independiente para el AAA, ya que las personas con AAA a menudo también presentan aterosclerosis. El hecho de que en ambas patologías se desarrolle un proceso inmunoinflamatorio nos llevó a

---

cuantificar en los pacientes con AAA y ANA los niveles plasmáticos de 15 proteínas relacionadas con la respuesta inmunoinflamatoria. La intención del trabajo es identificar moléculas específicas de la patología aneurismática, no de arteriopatía en general.

Se han descrito otros posibles biomarcadores para el AAA, entre ellos proteínas relacionados con la hemostasis, como el fibrinógeno, dímero-D o el factor trombina-antitrombina III entre otras que se han encontrado aumentadas en el AAA. Sin embargo, estas moléculas han demostrado ser muy poco específicas ya que también se encuentran elevadas en enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, fumadores o en pacientes con una infección activa.

De las proteínas analizadas en nuestro trabajo, no encontramos diferencias significativas entre ambos grupos de pacientes en los niveles plasmáticos de IL-1 $\beta$ , RANTES, VEGF, MPO, IL-8, ICAM soluble e IP-10. Los niveles de CCL20, TNF $\alpha$ , MMP-9, IL-2, IGFBP-1, Fractalkina soluble, IL-10 y TWEAK soluble se encontraron significativamente más elevados en el grupo AAA, mientras que los niveles de MMP-2 fueron significativamente más altos en el grupo ANA. De las proteínas que se encontraron elevadas en los pacientes con AAA, seleccionamos aquellas cuyo incremento de la mediana era dos veces superior: CCL20, TNF- $\alpha$  y MMP-9. Considerando la presencia de AAA como variable dependiente y los niveles de CCL20, TNF- $\alpha$  y MMP-9 como variables independientes, realizamos una regresión logística múltiple y observamos que únicamente la CCL20 nos permitía discriminar la presencia de AAA en nuestro grupo de pacientes. A la vista de estos resultados, investigamos la expresión del sistema CCL20/CCR6 en AAA en comparación con enfermos ateroscleróticos sin AAA e individuos sanos.

Al comparar los datos demográficos de los pacientes incluidos en el estudio del análisis de los niveles de CCL20 en plasma, se observaron diferencias significativas en algunas variables que fueron descartadas como factores confusores mediante un análisis de regresión lineal múltiple.

Los niveles de CCL20 circulantes fueron significativamente más elevados en los pacientes con AAA que en los pacientes ANA y en los controles sanos. Cabe destacar que no existieron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de CCL20 entre los pacientes

ANA y los controles sanos. Este hecho es de gran importancia, ya que el CCL20 circulante no únicamente es diferente entre AAA e individuos sanos, sino que también se diferencia de los pacientes con afectación arterial de tipo isquémica. Esta característica del CCL20 no ha sido observada en otras citoquinas que también se han encontrado incrementadas en el AAA, lo que sugiere que el CCL20 es particularmente relevante en los pacientes afectados de AAA.

A la vista de estos resultados, para determinar si los niveles de CCL20 discriminaban los pacientes que presentaban AAA de los que no presentaban, analizamos los niveles de CCL20 mediante una curva ROC incluyendo los pacientes AAA y ANA. El área bajo la curva fue significativa y su valor fue 0.768. Así mismo, realizamos un árbol de clasificación por el método CART, usando la presencia de AAA como variable dependiente. El análisis CART (árboles de clasificación y regresión) clasificó a los pacientes en dos niveles, y en el nodo final encontramos que los pacientes que presentaban niveles de CCL20 mayores de 5.6 pg/ml, el 100% presentaban un AAA. Se calculó con un análisis de regresión logística que la probabilidad de tener un AAA es del 92% si se encuentra un resultado de CCL20 plasmático de más de 5.6pg/ml.

A diferencia de otros autores (170), no encontramos correlación estadística entre el DM<sub>áx</sub> y ninguna de las moléculas testadas en los pacientes con AAA. Una explicación posible, es que cuando nosotros analizamos la correlación estadística entre el DM<sub>áx</sub> y los niveles plasmáticos, sólo consideramos a los pacientes con AAA, mientras que otros autores incluyen en el análisis los individuos control. En particular, no encontramos correlación entre los niveles plasmáticos de CCL20 y el DM<sub>áx</sub>. Sin embargo, si estratificamos a los pacientes en tres grupos de acuerdo con el DM<sub>áx</sub> (DM<sub>áx</sub>≤55 mm; 55<DM<sub>áx</sub>≤65 mm; DM<sub>áx</sub>>65 mm) aunque no observamos diferencias significativas entre los tres grupos, sí que observamos que los niveles de CCL20 del grupo DM<sub>áx</sub>≤55 mm ya eran significativamente más altos que en los pacientes ANA. El CCL20 estaría ya elevado en las fases tempranas de la enfermedad aneurismática.

La falta de correlación entre la concentración plasmática de CCL20 y el diámetro aórtico no es sorprendente ya que los niveles plasmáticos de la quimiocina reflejan una situación inmunitaria sistémica, mientras que el diámetro aórtico refleja la evolución de la lesión. Es

---

de suponer que la extensión de la lesión depende del tiempo durante el cual el tejido ha estado en condiciones inflamatorias no de la concentración en un momento dado de un mediador inmunitario específico en ese tejido y aún menos probable de sus niveles plasmáticos. De hecho, algunos mediadores inflamatorios alcanzan un máximo en pacientes con DMáx intermedio y luego disminuyen a mayor DMáx (105,224–226).

Disponer de un marcador plasmático útil para el diagnóstico de la enfermedad en fases tempranas, permitiría iniciar el tratamiento médico habitual de prevención secundaria, planificar controles pertinentes y/o el tratamiento quirúrgico cuando sea necesario.

Otra cuestión es la relación de los niveles plasmáticos con la tasa de progresión de la lesión que probablemente esté estrictamente relacionada con la intensidad de la respuesta inmune. En este sentido, no hemos medido la tasa de crecimiento de AAA, lo cual es una limitación del presente estudio. Sin embargo, encontramos una correlación significativa entre los niveles de CCL20 y los de los fragmentos solubles de elastina (sELAF), que están relacionados con la degradación de la pared vascular y tienen actividad proinflamatoria (227).

Además de los niveles circulantes de CCL20, analizamos su expresión y la de su receptor CCR6 en tejido aórtico de pacientes con AAA y de controles. Observamos que la expresión de ambas proteínas estaba más elevada en el de tejido de AAA que en el tejido aórtico normal. Por otra parte, en los tejidos de aorta normales, la expresión de CCL20 local se correlacionaba con la expresión de su receptor CCR6, mientras que en las muestras de AAA no. Mediante inmunohistoquímica, observamos que las células vasculares de la aorta normal, endoteliales y musculares de la capa media, expresaban ambas proteínas. Sin embargo, en las muestras de aneurisma, además de en las células vasculares, el CCL20 y el CCR6 también se expresaban abundantemente en los leucocitos infiltrados, lo que explicaba los resultados de los estudios de correlación, no todos los leucocitos coexpresaban las dos proteínas y únicamente un número escaso de células eran positivas para ambas.

Pocos trabajos han analizado la expresión del CCL20 en relación con el AAA. En 2012 Ramos-Mozo P et al (170), analizaron el patrón de expresión de citoquinas en 5 pacientes con AAA y 5 controles utilizando una matriz de 20-citoquinas. Aunque encuentran que los niveles de CCL20 en plasma están aumentados en los pacientes con AAA, la diferencia no

alcanza significación estadística debido probablemente al bajo número de muestras analizadas y a la baja sensibilidad del método.

Las citocinas son elementos fundamentales de la respuesta inmunológica, orquestando la comunicación intercelular y el tipo de respuesta que se desencadena frente a un determinado estímulo. Entre ellas, la CCL20 es una citocina que juega un papel clave en la respuesta inmune e inflamatoria. Los linfocitos Th participan en la inmunidad adaptativa. De los linfocitos Th, los linfocitos Th-17, que producen entre otras moléculas CCL20, están íntimamente relacionados con enfermedades autoinmunes crónicas como la esclerosis múltiple (228), la artritis reumatoide (229), o la hidrosadenitis supurativa (230). Niveles circulantes elevados de CCL20 se han relacionado con enfermedades autoinmunes crónicas como la esclerosis múltiple (231) y la artritis psoriásica (232).

Nosotros encontramos que el CCL20 está elevado en pacientes con AAA, tanto en plasma como en tejido aórtico. Este hecho apoya la teoría de que la autoinmunidad puede jugar un importante papel en la etiopatogenia de la enfermedad aneurismática. La autoinmunidad podría ser el desencadenante del proceso inmuno-inflamatorio presente en la pared de la aorta en el desarrollo del aneurisma, que desencadena la apoptosis de las células musculares lisas, degradación de las fibras elásticas de la capa media y la hipervascularización. A su vez esta respuesta inmuno-inflamatoria mediada por el CCL20 es específica de la patología del aneurisma y diferencia a esta enfermedad de la enfermedad arterial isquémica, en el que no encontramos implicación de esta molécula.

Relacionar la autoinmunidad con la patología del AAA puede abrir la vía a nuevas dianas terapéuticas, como ha sucedido en otras enfermedades también relacionadas con la alteración de la respuesta inmune como la EPOC. En la etiopatogenia de la EPOC se produce una respuesta inmune excesiva cuyo estímulo podría ser el tabaco o alguna infección (233). Se ha relacionado la CCL20 y su receptor en el mecanismo de acumulación de células dendríticas en tejido pulmonar de pacientes con EPOC (234). Utilizando un modelo de EPOC en rata, se ha demostrado que el bloqueo mediante un anticuerpo monoclonal del CCL20 impide la acumulación de células dendríticas en el pulmón. Esto indica que la interacción del CCR6 con su ligando CCL20 contribuye a la patogénesis de la EPOC y que un anticuerpo monoclonal contra la CCL20 podría ser una opción terapéutica para los pa-

---

cientes que padecen esta enfermedad (235). Así, ¿podríamos plantear anticuerpos específicos CCL20-CCR6 como tratamiento para la patología aneurismática? Responder a esta pregunta escapa de los objetivos planteados para este trabajo de tesis doctoral, pero abre nuevas vías de investigación.

Una de las limitaciones de la CCL20 como marcador de AAA podría ser la presencia de una enfermedad autoinmune crónica que podría determinar niveles de CCL20 elevados en el paciente debidos a su patología de base. Sin embargo, la prevalencia de este tipo de enfermedades es limitada y en el caso de los pacientes con AAA no se ha descrito una prevalencia especialmente importante. Así, posiblemente no represente un problema real a la práctica clínica y en cualquier caso daría falsos positivos, que tras la prueba de imagen quedarían descartados como patología aneurismática.

La EPOC, enfermedad en la que como acabamos de comentar el eje CCL20/CCR6 juega un importante papel, sí es una enfermedad prevalente entre los pacientes afectos de AAA por lo que podría plantearse como un factor de confusión. En nuestra serie no encontramos diferencias significativas en la prevalencia de EPOC entre los pacientes con AAA y los ANA por lo que no es un factor confusor.

Una limitación de nuestro estudio es el diseño transversal. Se han determinado los niveles de CCL20 circulantes en un sólo punto, sin un seguimiento en el tiempo. Actualmente estamos desarrollando un nuevo proyecto, fruto de los resultados de este trabajo, en el que evaluaremos el CCL20 y otros marcadores plasmáticos en pacientes con AAA, ateroscleróticos sin AAA y controles sanos, pero incluyendo la variable tiempo con una recogida de datos prospectiva y seguimiento a largo plazo. De esta manera nos proponemos evaluar la relación de estas moléculas con la progresión de la enfermedad.

Disponer de un biomarcador circulante específico de una enfermedad desde sus fases más tempranas mejora las posibilidades diagnósticas. En los estudios de cribado poblacional, una de las principales limitaciones es la relación coste efectividad. Las pruebas de imagen que se utilizan en la actualidad, requieren centros y personal especializado con el coste asociado que conllevan. Medir el CCL20 en una muestra de sangre, es una prueba sencilla que podría identificar individuos con alta probabilidad de padecer un AAA, patología que

posteriormente se confirmaría mediante una prueba de imagen. Son necesario estudios diseñados específicamente para confirmar esta hipótesis.

En conclusión, hemos demostrado que la concentración plasmática de CCL20 es significativamente mayor en pacientes con AAA que en individuos sanos y, lo que es más importante, que en pacientes con patología aterosclerótica sin AAA. El análisis estadístico muestra que los niveles plasmáticos de CCL20 predicen con alta sensibilidad la presencia de AAA. Los niveles de CCL20 también están incrementados en los pacientes con AAA respecto a los individuos sanos en términos de transcripción local. Aunque el presente estudio muestra una asociación del CCL20 con el AAA, el papel de CCL20 en la patogénesis y progresión del AAA sigue siendo incierto.

### **Segunda parte: Valor pronóstico del Análisis por Elementos Finitos:**

Hemos trabajado con pacientes con aneurismas de aorta abdominal sintomáticos (sAAA). Este grupo de pacientes está asociado a un elevado riesgo de rotura por lo que los hemos utilizado como grupo de riesgo para evaluar el valor pronóstico de las variables biomecánicas.

Para estos dos estudios se incluyeron pacientes diagnosticados de AAA infrarrenal en nuestro centro que se agruparon en asintomáticos (aAAA) y sAAA según la presentación clínica en el momento de la inclusión. La inclusión de los pacientes en el grupo sintomáticos fue muy estricta. De todos los pacientes se recogieron datos demográficos y se obtuvieron los datos derivados del análisis biomecánico realizado con el software A4clinics-Research Edition software (VASCOPS Vascular Diagnosis Company, Graz, Austria)

#### *Artículo 2. "Finite element analysis in symptomatic and asymptomatic abdominal aortic aneurysms for aortic disease risk stratification"*

En este estudio de caso-control retrospectivo, comparamos los parámetros del FEA de pacientes sAAA (pacientes con alto riesgo de rotura) con los parámetros del FEA de pacientes con aAAA. Para cada paciente sAAA se seleccionaron de forma aleatoria dos pacientes



---

sAAA apareados por edad y diámetro máximo para que estas dos variables no actuaran como factores de confusión. Las variables biomecánicas que se determinaron fueron: PWS, PWRR y RRED.

Los datos clínicos y demográficos de los dos grupos de pacientes fueron similares, excepto el porcentaje de fumadores que fue mayor y el de diabéticos menor en el grupo sAAA. Así mismo, los valores de presión arterial (PA) fueron significativamente más elevados en el grupo de sAAA.

La PA elevada se relaciona con un aumento del riesgo de rotura del AAA (55). Para evitar la PA como variable confusora, realizamos el FEA en diferentes supuestos de PA; el primer análisis se realizó usando los valores de PA en el momento que se realizó la angioTC, el segundo simulando una PA 140/170 y finalmente el tercer análisis simulando una crisis hipertensiva, 200/100 mmHg.

De las variables biomecánicas calculadas, únicamente el PWS fue significativamente más elevado en el grupo de sAAA que en el de aAAA y aunque el volumen del TIL también fue más alto en el grupo sAAA la diferencia no alcanzó significación estadística. Cuando realizamos la modelización suponiendo una crisis hipertensiva, en ambos grupos aumenta el PWS, pero el incremento fue significativamente mayor en los sAAA, lo que sugiere que, aunque una subida de PA incrementa el riesgo en todos los pacientes, los sintomáticos son más sensibles. Este dato es clínicamente muy relevante ya que nos indica que el manejo de la PA en estos pacientes es de vital importancia.

De acuerdo con los estudios anteriores sobre el riesgo de ruptura de AAA (195–197,206), observamos una relación entre los valores de PWS y la aparición de síntomas. Al aceptar que los sintomáticos son AAA de alto riesgo, un PWS alto estaría asociado a un alto riesgo de rotura del AAA. El análisis CART, usando la condición de sintomático como variable dependiente, clasificó a los pacientes en dos categorías: PWS alto ( $PWS > 305$  KPa) y PWS bajo ( $PWS \leq 305$  KPa). Así, con nuestros resultados limitados, un AAA con un PWS superior a 305.15 kPa podría considerarse que presenta un alto riesgo de ruptura, y un PWS por debajo de 305.15 kPa podría estar relacionado con un AAA de bajo riesgo. Estos resultados son muy preliminares para poder ser utilizados en la práctica clínica entre otras causas,

porque no tenemos un seguimiento de pacientes asintomáticos que podrían volverse sintomáticos en el futuro.

Como hemos comentado en la introducción, el papel del trombo intraluminal (TIL) en la evaluación del riesgo de un AAA es aún desconocido y controvertido. Nuestros resultados muestran que el volumen de TIL es más elevado en el grupo sAAA, con una diferencia media de 52 cm<sup>3</sup>. Sin embargo, la diferencia no alcanzó significación estadística, lo que podría deberse al limitado número de pacientes.

La principal limitación de este estudio es el tamaño pequeño de la muestra, pero la posibilidad de lograr un tamaño mayor de pacientes sAAA es limitada. Otro factor a tener en cuenta es que en nuestro grupo de sAAA el porcentaje de fumadores fue mayor que en el grupo aAAA. Sabemos que el tabaquismo constituye un factor de riesgo para desarrollar AAA y para tener mayor tasa de crecimiento y riesgo de rotura (72,236). Por lo tanto, el tabaquismo podría ser un factor de confusión. La diabetes melitus en nuestra serie fue por el contrario menos frecuente en el grupo de sAAA que en aAAA y también podría ser un factor de confusión, teniendo en cuenta que se ha demostrado una asociación negativa entre la diabetes mellitus y el crecimiento del aneurisma (79,82).

### *Artículo 3. "Increased Peak Wall Stress, but not Maximum Diameter, is associated with Symptomatic Abdominal Aortic Aneurysm"*

Debido a que la presencia de síntomas está muy relacionada con el riesgo de rotura, comparamos pacientes con sAAA y aAAA con el objetivo de analizar la capacidad para identificar los sAAA de los parámetros más comúnmente utilizados para diagnosticar el riesgo de rotura del aneurisma, DMax y FEA. En el estudio se incluyeron datos clínicos, variables morfológicas (DMax) y las variables biomecánicas PWS y PWS normalizado por el DMax (dnPWS=PWS/DMax).

No observamos diferencias respecto a los datos clínicos y demográficos entre los pacientes sintomáticos y asintomáticos, excepto el peso, que fue ligeramente superior en el grupo de pacientes asintomáticos. Muy probablemente esta diferencia es clínicamente irrelevante, el peso no ha sido relacionado previamente con la presencia de AAA, su crecimiento o el

---

riesgo de rotura.

Como la presencia de síntomas está asociada con los aneurismas grandes, estratificamos la muestra en dos grupos; aneurismas de diámetro pequeño–mediano ( $DMax < 65\text{mm}$ ) y aneurismas de diámetro grande ( $DMax \geq 65\text{mm}$ ). Se eligió este umbral arbitrario porque la mediana de la distribución de  $DMax$  de los pacientes con  $DMax > 55\text{mm}$  fue 65 mm. Únicamente se pudo realizar el estudio tanto de las variables demográficas y clínicas como de las biomecánicas en el grupo de  $DMax \geq 65\text{mm}$ , ya que en el grupo de pacientes con AAA  $DMax < 65\text{mm}$  el número de sAAA fue muy bajo lo que imposibilita el análisis estadístico.

Cuando todos los pacientes se incluyeron en el análisis de FEA, el  $DMax$ , PWS,  $dnPWS$ ,  $PWRR$  y  $RRED$  fueron significativamente más elevados en los pacientes sintomáticos. Sin embargo, el análisis estadístico del grupo de  $DMax \geq 65$ , mostró que no había diferencias en las variables morfológicas y únicamente el PWS y  $dnPWS$  fueron significativamente más elevados en el grupo sAAA.

En consecuencia, comparamos la capacidad predictiva de estas dos variables biomecánicas utilizando curvas ROC. Cuando todos los pacientes fueron incluidos en el análisis, las tres variables,  $DMax$ , PWS y  $dnPWS$  tuvieron la capacidad de predecir qué aneurisma era sintomático, con resultados estadísticos similares. Sin embargo, las curvas ROC obtenidas con los pacientes de  $DMax \geq 65\text{mm}$  mostraron que el  $DMax$  pierde su capacidad predictiva mientras que el PWS y  $dnPWS$  la mantienen, no existiendo diferencias significativas entre ambos parámetros.

Para encontrar un punto de corte que permitiera la clasificación de los pacientes, realizamos un análisis CART. La condición sintomática fue la variable dicotómica de estado y, basándonos en los datos de la curva ROC de los pacientes con  $DMax > 65\text{ mm}$ , se usó la variable  $dnPWS$  como prueba diagnóstica. Cuando se incluyeron todos los pacientes, el análisis CART clasificó a los pacientes en dos categorías:  $dnPWS \leq 4.3\text{ kPa/mm}$  y  $dnPWS > 4.3\text{ KPa/mm}$  con una sensibilidad del 52.9% y una especificidad del 87.6%. El análisis CART realizado con los pacientes con un aneurisma con  $DMax \geq 65\text{ mm}$ , también clasificó a los pacientes en dos categorías:  $dnPWS \leq 3.8\text{ kPa/mm}$  y  $dnPWS > 3.8\text{ KPa/mm}$  con una sensibilidad de 64.3% y una especificidad del 88.4%.

Discusión valor pronóstico del Análisis por Elementos Finitos del AAA, artículos 2 y 3:

Encontramos que la PWS es capaz de identificar los sAAA y en consecuencia de identificar AAA de riesgo elevado. Estos resultados son similares a los observados en la literatura (195,197,206,237). Sin embargo, la principal aportación de nuestro tercer trabajo radica en que en los pacientes con AAA de  $>65$  mm, el análisis de PWS y dnPWS mejora la detección del riesgo de rotura, ya que la evaluación habitual, el DMax, pierde su capacidad predictiva.

No pretendemos que el análisis biomecánico sea el único valor que se utilice en la práctica clínica habitual, sino que sea un dato más a tener en cuenta. Por ejemplo, un AAA de 68 mm, según las tablas clásicas de riesgo de rotura calculadas a partir del DMax, tiene un riesgo de rotura anual de entre el 10 y el 20%. Si además realizamos el análisis biomecánico y el PWS está por encima de 305 kPa o el dnPWS está por encima de 3,8 kPa/mm, podemos considerarlo un AAA de muy alto riesgo, y plantear su intervención de manera más urgente. Por otro lado, si el PWS o el dnPWS son bajos, aunque no cambiemos la indicación quirúrgica podríamos disponer del tiempo necesario para estudiar el caso sin tanta urgencia.

Según un meta-análisis publicado en 2010 (238) y otro en 2014 (206), el PWS está elevado en pacientes con AAA sintomáticos o rotos. Sin embargo, existen limitaciones en estas publicaciones, debidas fundamentalmente a la heterogeneidad de los estudios en cuanto al número y selección de pacientes y al método de análisis de elementos finitos utilizado. Nuestros resultados van en la misma dirección que los encontrados en la literatura con la ventaja de que disponemos de una muestra de pacientes en los que se han utilizado unos criterios de inclusión muy estrictos y se han excluido los AAA rotos. Los AAA rotos no fueron incluidos porque creemos que cuando un AAA se rompe, las fuerzas que se ejercían sobre la pared cambian y el análisis puede verse alterado. Además, la presencia de sangre en el espacio retroperitoneal o cavidad abdominal provoca limitaciones técnicas del software. De hecho, en una serie de Erhart et al (208) 6 de los 15 AAA rotos que se incluyeron tuvieron que ser excluidos por morfología compleja de los vasos que imposibilitaba el análisis.

---

El valor como predictor de rotura que se otorga a las diferentes variables biomecánicas no está consensuado. Dos revisiones sistemáticas (206,207) otorgan más valor predictivo al PWS, coincidiendo con nuestros resultados. Sin embargo en la última guía Americana para el manejo de los AAA (30), el PWRR es considerado mejor predictor de rotura que el PWS en solitario. Esta afirmación se basa en dos estudios realizados en un número limitado de pacientes; el primero es un estudio publicado por Erhart et al en 2014 (239) en 15 pacientes y el otro una publicación del mismo grupo de 2015 (208) realizado con 60 pacientes entre sintomáticos, asintomáticos y rotos. Nuestro estudio realizado en una serie de un total de 170 pacientes creemos que proporciona resultados más fiables que los de los estudios incluidos en la guía americana para el manejo de los AAA publicada en 2018.

En ambos estudios observamos que el volumen de TIL es más elevado en el grupo de sintomáticos cuando comparamos todos los pacientes incluidos, alcanzándose significación estadística al aumentar el tamaño de la muestra. Estos resultados están en la misma línea que trabajos recientes, que asocian la presencia de TIL a un aumento de riesgo para el AAA posiblemente debido a la actividad inflamatoria de este tejido. El posible beneficio mecánico que podría ejercer el trombo sobre la pared de la aorta puede ser contrarrestado con el efecto negativo del metabolismo del TIL sobre la pared adyacente. La última guía americana para el manejo de AAA considera que el valor del volumen de TIL como predictor de la rotura del AAA es aún incierto.

En nuestra serie el número de sAAA en general y de sAAA de diámetro pequeño en particular es limitada. Sería muy interesante ampliar el número de pacientes para establecer conclusiones fiables, sin embargo, la baja prevalencia de los sAAA y en concreto de los de sAAA de diámetro menor de 65 mm lo hace realmente complicado. En el grupo de pacientes asintomáticos sería de gran utilidad clínica que los análisis biomecánicos ayudaran a identificar aquellos pacientes que teniendo un AAA de diámetro infraterapéutico o incluso entre 55-65 mm presentasen un elevado riesgo de rotura. En nuestro estudio las conclusiones obtenidas a partir de un número bajo de pacientes no permiten generalizar, pero aportan conocimiento que en la línea de mejorar el pronóstico del riesgo del AAA.

La principal limitación de los estudios sobre análisis biomecánico de la aorta con FEA

radica en demostrar que es una herramienta válida para evaluar el riesgo de rotura de un AAA. Un parámetro que identifica los sAAA tiene una utilidad limitada ya que los síntomas en sí mismos nos muestran el diagnóstico. La hipótesis sobre la que trabajamos es que si un parámetro puede identificar una característica de alto riesgo como son los síntomas, puede identificar el riesgo de un AAA en general. En nuestro estudio basándonos en que tanto el PWS como el dnPWS predicen sAAA, asumimos que estos parámetros son capaces de identificar el riesgo de rotura en cualquier AAA. La manera de validar definitivamente estos parámetros sería realizar un estudio prospectivo de pacientes con AAA a los que se ha realizado FEA. En el caso de los pacientes sintomáticos no es posible ya que son intervenidos de urgencia. Sin embargo, sería interesante hacer el seguimiento de una cohorte de pacientes asintomáticos y evaluar su evolución y si aparece alguna complicación en el tiempo. No hemos encontrado estudios prospectivos de este tipo y como consecuencia de este trabajo de tesis doctoral es una de las propuestas de trabajo que se ha planteado en nuestro grupo.

Una limitación metodológica de los estudios de FEA es la estimación que se realiza de las características de la pared arterial. El grosor medio y la rigidez de la pared del AAA son valores estimados que se determinaron a partir de estudios que realizaron medidas in-vivo y ex-vivo (240). Estos estudios ofrecen unos valores medios aceptables que son incluidos en el análisis. Sin embargo, cualquier valor estimado y no real constituye una limitación del análisis.

En este sentido, un trabajo realizado en un pequeño número de pacientes, muestra que la inclusión en los análisis de elementos finitos de un grosor variable de pared aórtica podría mejorar la correlación entre el PWS y la expansión del AAA (241). El programa informático que hemos utilizado en nuestros trabajos no considera un valor variable de grosor de pared y establecimos este criterio de decisión basándonos en dos razones: primero, que es complicado extraer esta información de las imágenes clínicas habituales y aumenta la probabilidad de error al ser observador dependiente; en segundo lugar, el grosor de la pared y la resistencia están íntimamente relacionadas; visualmente podemos corregir el grosor pero no podemos corregir la resistencia, y si la corrección no es paralela, se puede introducir un error en el cálculo de la presión de pared. El grosor de la pared no es uniforme en todo el AAA y está influenciado por diferentes factores. Los estudios biomecánicos de AAA aportan

---

diferentes promedios del espesor de la pared que puede explicarse por la utilización de métodos de medición diferentes y la dificultad de especificar el borde exterior de la adventicia (204).

Por último, podría considerarse una limitación a nuestros estudios el posible sesgo de selección debido a un diseño transversal.

En conclusión, hemos mostrado que con un análisis de elementos finitos se observan diferencias tanto morfológicas como biomecánicas entre pacientes con AAA sintomáticos y asintomáticos. Sin embargo, cuando observamos solamente los AAA grandes, el diámetro máximo no es capaz de evaluar el riesgo de rotura mientras PWS y particularmente dnPWS si lo son. Aunque los presentes estudios muestran que un aAAA con un elevado dnPWS puede presentar un riesgo elevado de complicación, se necesitan más estudios que incluyan seguimiento individual para confirmarlo.

### Relación entre CCL20 y análisis por elementos finitos

En el meta-análisis sobre marcadores circulantes, biomecánicos y genéticos para la predicción del riesgo de crecimiento y rotura del AAA comentado en la introducción se sugieren como marcadores de expansión diversos parámetros como ser seropositivo para *chlamydomphila pneumonia* o el volumen de TIL. También proponen como marcadores de rotura aórtica la PWS y el DMax del AAA. Las conclusiones siempre destacan la necesidad de estudios prospectivos que confirmen estos hallazgos y la necesidad de encontrar puntos de corte que hagan a estos marcadores clínicamente útiles (160). Creemos que la verdadera utilidad clínica se conseguiría con un algoritmo diagnóstico de varios marcadores que aumente la sensibilidad y especificidad como prueba diagnóstica. En el análisis de los datos presentados en esta tesis doctoral no se ha encontrado asociación entre los niveles circulantes de las proteínas relacionadas con la respuesta inmunoinflamatoria analizadas y las variables biomecánicas obtenidas del análisis FEA. Por lo tanto, proponemos el CCL20 circulante como prueba diagnóstica del AAA sin relación con la expansión ni la rotura y el PWS/dnPWS como marcador de riesgo de rotura del AAA.

## **CONCLUSIONES**





1. Los niveles plasmáticos de CCL20 son significativamente más elevados en pacientes con AAA que en controles sanos y que en pacientes con patología vascular aterosclerótica no aneurismática.

2. El análisis estadístico muestra que los niveles plasmáticos de CCL20 podrían ser un biomarcador diagnóstico que predice la presencia de AAA desde las fases tempranas de la enfermedad.

3. Los niveles de CCL20, y de su receptor CCR6 están incrementados en el tejido de AAA. Tanto en los controles como en los AAA, ambas proteínas se coexpresan en las células vasculares, mientras que en el AAA sólo una parte del infiltrado inflamatorio las coexpresa.

4. El análisis por elementos finitos del AAA muestra diferencias morfológicas y biomecánicas significativas entre los AAA sintomáticos y los asintomáticos. El diámetro máximo, El PWS y el dnPWS son más elevados en sAAA. Si consideramos los AAA de gran tamaño (>65mm), el diámetro máximo no diferencia entre AAA sintomáticos y asintomáticos, mientras que el PWS y dnPWS sí.


5. El análisis por elementos finitos del AAA identifica AAA con alto riesgo de rotura por lo que podría ser un biomarcador pronóstico de rotura del AAA.



**TRABAJOS PUBLICADOS**



# SCIENTIFIC REPORTS



OPEN

## Circulating CCL20 as a New Biomarker of Abdominal Aortic Aneurysm

B. Soto<sup>1,2</sup>, T. Gallastegi-Mozos<sup>1</sup>, C. Rodríguez<sup>3,4</sup>, J. Martínez-González<sup>4,5</sup>, J.-R. Escudero<sup>1,2,4</sup>, L. Vila<sup>1,4</sup> & M. Camacho<sup>1,4</sup>

Autoimmunity appears to play a role in abdominal aortic aneurysm (AAA) pathology. Although the chemokine CCL20 has been involved in autoimmune diseases, its relationship with the pathogenesis of AAA is unclear. We investigated CCL20 expression in AAA and evaluated it as a potential biomarker for AAA. CCL20 was measured in plasma of AAA patients ( $n = 96$ ), atherosclerotic disease (AD) patients ( $n = 28$ ) and controls ( $n = 45$ ). AAA presence was associated with higher plasma levels of CCL20 after adjustments for confounders in the linear regression analysis. Diagnostic performance of plasma CCL20 was assessed by ROC curve analysis, AUC 0.768 (CI:0.678–0.858;  $p < 0.001$ ). Classification and regression tree analysis classified patients into two CCL20 plasma level groups. The high-CCL20 group had a higher number of AAA than the low-CCL20 group (91% vs 54.3%,  $p < 0.001$ ). mRNA of CCL20 and its receptor CCR6 were higher in AAA ( $n = 89$ ) than in control aortas ( $n = 17$ ,  $p < 0.001$ ). A positive correlation was found between both mRNA in controls ( $R = 0.674$ ;  $p = 0.003$ ), but not in AAA. Immunohistochemistry showed that CCR6 and CCL20 colocalized in the media and endothelial cells. Infiltrating leukocytes immunostained for both proteins but only colocalized in some of them. Our data shows that CCL20 is increased in AAA and circulating CCL20 is a high sensitive biomarker of AAA

Abdominal aortic aneurysm (AAA) is a progressive focal dilatation and weakening of the abdominal aorta, being the most common arterial aneurysm. AAA affects a high percentage of the aged population in industrialized countries. AAA is a complex multifactorial disease with genetic and environmental risk factors<sup>1</sup>. The disease is progressive, with growth and even rupture<sup>2</sup>. Mortality from ruptured AAA is as high as 90%<sup>3</sup> and currently open surgery or endovascular repair are the unique available treatment for.

AAA is characterized by chronic inflammation, apoptosis of vascular smooth muscle cells and neovascularisation. Extracellular matrix degradation, microcalcification and oxidative stress are biological processes that contribute to the degeneration of the aorta. The concept of autoimmunity should be taken into account in the AAA pathogenesis and progression, although the precise cause of autoimmunity is not known and the sequence of pathological events and their direct contribution to AAA still remain unexplained (reviewed in<sup>4,5</sup>).

The identification of specific AAA biomarkers that detect high risk patients and monitor disease progression is a challenge. Several serum biomarkers of inflammatory and proteolytic activity have been investigated in patients with AAA including MMPs, interleukins, CRP and other potential mediators such as TNF- $\alpha$  and TIMP-1 that may contribute to connective tissue degradation and collagen and elastin degeneration. However, measurement of plasma concentrations of these biomarkers has not been demonstrated to be of value predicting clinical risk, probably reflecting a lack of sensitivity<sup>6,7</sup>. Proteomic studies have been useful to find new candidate biomarkers<sup>8</sup> but ultimately plasma concentration could represent the activity of the entire vasculature rather than that of small areas of focal vascular injury. This circumstance coupled with the fact that atherosclerosis in most cases co-exists with AAA, limits the sensitivity and specificity of currently proposed AAA biomarkers. Further, identification of new biomarkers could help to find out new pathways involved in the pathophysiology of AAA and thus to

<sup>1</sup>Angiology, Vascular Biology and Inflammation Laboratory, Biomedical Research Institute Sant Pau, (IIB-Sant Pau), Barcelona, Spain. <sup>2</sup>Servicios Mancomunados de Angiología, Cirugía Vasculosa y Endovascular, Hospitales de la Santa Creu i Sant Pau/Dos de Mayo, Universitat Autònoma de Barcelona, Biomedical Research Institute Sant Pau (IIB Sant Pau), Barcelona, Spain. <sup>3</sup>Institut Català de Ciències Cardiovasculars (ICCC), Biomedical Research Institute Sant Pau (IIB Sant Pau), Barcelona, Spain. <sup>4</sup>CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCIV), Madrid, Spain. <sup>5</sup>Institute of Biomedical Research of Barcelona (IIBB-CSIC), Biomedical Research Institute Sant Pau, Barcelona, Spain. Correspondence and requests for materials should be addressed to M.C. (email: [mcamacho@santpau.cat](mailto:mcamacho@santpau.cat))

Received: 4 May 2017

Accepted: 29 November 2017

Published online: 11 December 2017

	AAA	AD	p	Blood donors
n	96	28	—	45
Age (years)	73.2 ± 7.2	71.6 ± 10.3	0.499	63.0 ± 2.9
Women	4.2	28.6	<0.001	13.3
Aortic diameter (mm)	64.7 ± 12.2	—	—	—
Dyslipidemia	52.1	46.4	0.752	2.2
HTN	79.2	89.3	0.350	31.1
Diabetes	20.8	46.4	0.014	2.2
Smokers	25.0	25.0	0.804	13.3
PAD	43.8	75.0	0.007	0.0
BVD	9.4	39.3	<0.001	0.0
IHD	28.1	32.1	0.862	0.0
COPD	16.7	7.1	0.335	0.0
Antiplatelet users	62.5	96.4	0.001	0.0
Statin users	72.9	85.7	0.254	15.6
NSAID users	1.04	0.0	0.509	0.0
Corticoid users	2.1	10.7	0.137	0.0
Immuno-suppressors users	3.1	3.6	0.633	0.0

**Table 1.** Demographics of individuals included in the plasma levels study. Nominal variables are presented as %. Continuous variables are presented as mean ± SD. p, refers comparison AAA vs AD. BVD, brain-vascular disease; COPD, chronic occlusive pulmonary disease; HTN, chronic hypertension; IHD, ischemic heart disease; PAD, peripheral artery disease.

discover new targets for pharmacological intervention. Therefore, it is essential to find new, more specific biomarkers for early detection of the disease and risk stratification.

The C-C chemokine CCL20 (chemokine (C-C motif) ligand 20) is a chemokine expressed mainly in the lymphatic tissue, lung and liver<sup>9–11</sup> produced by cells related with inflammation and autoimmune response such as endothelial cells, neutrophils, natural killer (NK), Th17 cells and B cells among others<sup>11–19</sup>. It is well established that CCL20 contributes to inflammatory cell recruitment<sup>20</sup>. This chemokine selectively signals through its receptor CCR6 (C-C chemokine receptor type 6) that was originally described in both lymphoid and not lymphoid tissues<sup>11</sup> and is expressed by several leukocyte subsets, including immature dendritic cells (iDC), B cells, T cells (proinflammatory Th17 cells, regulatory Treg cells), NKT cells and neutrophils<sup>11,21,22</sup>. CCR6 is a key mediator in iDC recruitment during adaptive immune responses<sup>23</sup>. The involvement of CCL20/CCR6 axis in the autoimmune response is sustained by its relation with rheumatoid arthritis, psoriasis and other autoimmune pathologies<sup>17,24–26</sup>. However, to date, the exact role of the CCL20/CCR6 axis in the dynamics of the immune system has yet to be elucidated, despite evidence points to a regulatory role in the balance of activation and suppression of immune and autoimmune responses<sup>17,24</sup>.

The possible contribution of CCL20 to AAA development and progression is currently uncertain. It has been reported an increase in CCL20 levels in plasma samples from AAA patients compared with normal subjects, but the limited number of patients included in this study does not allow to draw definitive conclusions<sup>27</sup>. In view of the foregoing, we have assessed CCL20 expression in AAA patients and compared its prognostic ability with other proteins, which are already postulated as AAA biomarkers.

## Results

**Assessment of plasma levels of pro-inflammatory proteins in AAA and atherosclerotic patients.** To study plasma levels of CCL20, 96 patients consecutively admitted to the Angiology and Vascular Surgery Service of our hospital from January 2012 to December 2015 with AAA were included. Also, 28 patients admitted during the same period with diagnosis of ischemic pathology of either lower limbs or carotid territory were included (AD).

Table 1 shows the demographic data of patients included in this study. There were significant differences in the percentage of women, diabetics, patients with peripheral artery disease (PAD), patients with brain vascular disease (BVD), and antiplatelet drug users between both groups of patients. In order to assess whether these variables were confounders, we first analysed them in each group separately. None of these variables influenced statistically CCL20 plasma levels in either group of patients. Afterwards, multiple linear regression analysis was performed in all patients, using plasma levels of CCL20 (logarithmic transformation to normalize the distribution) as the dependent variable and the presence of AAA, sex, diabetes, PAD, BVD and antiplatelet treatment as independent variables. In this case only the presence or absence of AAA significantly influenced the levels of CCL20 ( $\text{LOG [CCL20]} = -0.993 + (0.574 * \text{sex}) - (0.292 * \text{diabetes}) - (0.118 * \text{PAD}) - (0.437 * \text{BVD}) + (0.058 * \text{Anti-platelet}) + (1.107 * \text{AAA presence})$ ;  $N = 124$ ,  $R = 0.439$ ;  $P$  of Coefficients: Constant = 0.021, Sex = 0.131, Diabetes = 0.270, PAD = 0.609, BVD = 0.171, Anti-platelet = 0.817 and AAA presence < 0.001). None of these parameters were then taken into account as confounding variables. In addition to CCL20, we analysed plasma levels of other 15 proteins in AAA and AD patients. Plasma levels data did not fit a normal distribution in any case. Results in Table 2 show that there were no statistically significant differences between both groups of patients

Protein	Protein levels (pg/mL)						Ratio	P value
	AAA n = 96			AD n = 28				
	Median	25%	75%	Median	25%	75%		
CCL20	3.16	0.22	6.84	0.11	0.01	0.94	28.73	<0.001
TNF $\alpha$	7.06	1.475	13.677	1.41	0.69	2.635	5.01	<0.001
MMP-9	49955	29082	71751	15705	12138.5	26944	3.18	<0.001
IL-2	0.25	0.11	2.16	0.13	0.09	0.21	1.92	0.004
IGFBP-1	3.21	2.055	8.455	2.14	1.33	4.72	1.50	0.016
Fractalkine	37.15	26.108	63.995	25.915	14.535	35.555	1.43	<0.001
IL-10	2.03	0.97	8.742	1.52	0.74	2.32	1.34	0.002
TWEAK	0.58	0.422	0.957	0.465	0.35	0.585	1.25	0.007
MMP-2	62221	45878.25	77264.5	84112	66031.5	106996	0.74	<0.001
VEGF	88.47	5.912	244.965	31.23	1.835	219.51	2.83	n.s.
IL1- $\beta$	0.63	0.255	2.002	0.32	0.225	0.51	1.97	n.s.
RANTES	9776	4498.75	17181.25	7912.5	5733.5	13704	1.24	n.s.
MPO	14211.9	10603.3	22032.8	14109.9	10312.626	19054.9	1.01	n.s.
IP-10	483.09	372.102	644.22	478.725	378.285	1019	1.01	n.s.
IL-8	3.35	2.115	6.345	3.395	2.28	5.35	0.99	n.s.
ICAM	81204	58957	144202.25	88842.5	74749	106742	0.91	n.s.

**Table 2.** Plasma levels of proteins associated with immunoinflammatory response. Plasma levels of proteins associated with immunoinflammatory response were determined in aneurysmal patients (AAA) and patients with atherosclerotic disease (AD). Data did not fit a normal distribution and are expressed as the median with 25 and 75 percentiles. Ratio: median AAA/median AD.

regarding plasma levels of IL1- $\beta$ , RANTES, VEGF, MPO, IL-8, soluble ICAM and IP-10. Levels of CCL20, TNF $\alpha$ , MMP-9, IL-2, IGFBP-1, soluble Fractalkine, IL-10, soluble TWEAK were significantly higher in patients with AAA, whereas plasma levels of MMP-2 were significantly higher in AD patients.

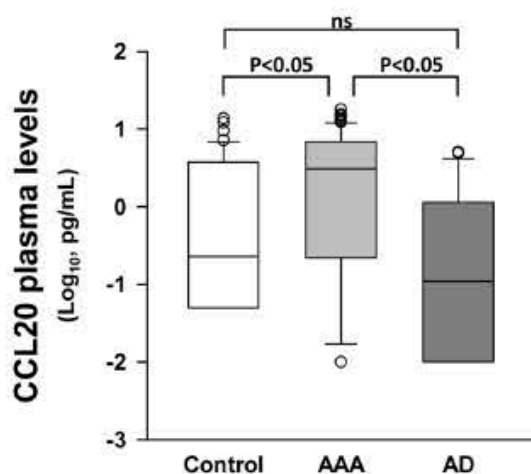
We then performed a multiple logistic regression analysis considering occurrence of AAA as dependent dichotomous variable. We included in the study those proteins that were increased in AAA more than two-fold in terms of the median, namely CCL20, TNF $\alpha$  and MMP-9 (see Table 2). There was a statistically correlation between plasma levels of CCL20 and TNF $\alpha$  ( $R = 0.369$ ,  $p = 2.5 \cdot 10^{-4}$ ,  $n = 95$ ) and MMP-9 ( $R = 0.351$ ,  $p = 4.9 \cdot 10^{-4}$ ). We then included plasma levels of CCL20, TNF $\alpha$  and MMP-9 as independent variables. Results of the analysis produces the function  $\text{Logit } P = -0.791 + 1.736 \cdot \log [\text{CCL20}] + 0.0239 \cdot \log [\text{TNF}] + 0.368 \cdot \log [\text{MMP9}]$  (brackets indicate plasma concentration in pg/mL). Details of the Logistic Regression Equation were: [CCL20] coefficient: Wald statistics 6.550 ( $p = 0.01$ ) and an odds ratio of 5.7 (CI 1.5–21.5); [TNF $\alpha$ ] coefficient: Wald statistics 0.00087 ( $p = 0.976$ ) and an odds ratio of 1.024 (CI 0.21–5.03); for [MMP-9] coefficient: Wald statistics 0.337 and an odds ratio of 1.45 (CI 0.42–5.01). Consequently CCL20 was the only protein later considered in the study.

**Enhanced CCL20 expression in plasma of AAA patients.** Figure 1 shows that CCL20 plasma levels of AAA patients were significantly higher than those of AD and healthy individuals (control). Interestingly, there were no statistically significant differences in CCL20 plasma levels between AD patients and healthy individuals. In view of these results, we analysed CCL20 levels through the receiver operating characteristics (ROC) curve including AAA and AD patients. The area under the curve (AUC) for CCL20 was 0.768 (CI 0.678–0.858;  $p < 0.001$ ) (Fig. 2A). Using AAA condition as the dependent variable, we performed classification and regression tree (CART) analysis and patients were classified into two categories, low ( $\leq 0.65$  pg/mL) and high ( $> 0.65$  pg/mL) plasma level of CCL20 (Fig. 2B). The low plasma CCL20 group included 54.3% of AAA patients while the high CCL20 group was constituted by a significantly higher percentage of AAA patients (91%,  $p < 0.001$ ). In turn, CART analysis divided the high CCL20 group into two categories  $\leq 5.6$  pg/mL and  $> 5.6$  pg/mL (Fig. 2B). Although the difference in the percentage of patients with AAA did not reach statistical significance ( $p = 0.074$ ), it is noteworthy that the 100% of patients with CCL20 levels  $> 5.6$  pg/mL had AAA. Logistic regression analysis, considering [CCL20] as independent variable and occurrence of AAA as the dependent dichotomous variable, yields the following equation  $\text{Logit } P = 0.901 + 2.006 \cdot \log_{10} [\text{CCL20}]$  ([CCL20] coefficient  $p < 0.001$ ). Calculating the probability of having AAA for the two cut-offs we obtained 62.8% for 0.65 pg/mL and 91.7% for 5.6 pg/mL. The graph showing the calculated probability of AAA occurrence as a function of CCL20 plasma concentration is depicted in Fig. 2C.

We found no correlation between plasma levels of CCL20 with maximum aneurysm diameter (MD) (not shown). Patients were stratified into three groups according to the MD ( $\text{MD} \leq 55$  mm,  $55 < \text{MD} \leq 65$  mm and  $\text{MD} > 65$  mm) and there were no significant differences among the three groups with regards to CCL20 plasma concentration. However, it is noteworthy that even the group of  $\text{MD} \leq 55$  mm had significantly higher level of CCL20 than AD patients (Fig. 3A).

Since plasma levels of soluble elastin fragments (sELAF) were associated with vascular wall deterioration, we analysed their plasma levels in AAA and AD patients. No significant differences were found in sELAF plasma





**Figure 1.** CCL20 plasma concentration in healthy subjects ( $n = 45$ ), abdominal aortic aneurysm patients (AAA,  $n = 96$ ) and patients with atherosclerotic disease and without AAA (AD,  $n = 28$ ). No group fit normal distribution; ns, means no significant differences ( $p > 0.05$ ).

levels between AAA and AD or correlation between them and MD (data not shown). However, AAA patients exhibited a poor but significant correlation between CCL20 and sELAF plasma levels (Fig. 3B). When AAA patients were stratified by MD in the same manner as CCL20, no significant differences were observed among the three groups  $\leq 55$  mm, 55.1–65 mm and  $> 65$  mm regarding sELAF.

**CCL20 expression in AAA tissues.** Thereafter we quantified CCL20 local expression in AAA aorta tissue samples in terms of mRNA compared with normal aorta. The demographic data of the individuals included in mRNA analysis are shown in Table 3. There were significant differences in age, percentage of women, patients with dyslipemia, hypertension, PAD, ischemic heart disease, antiplatelet drug users and statin users between both groups. The influence of age on the CCL20 local mRNA levels was explored by multiple linear regression analysis after logarithmic transformation of CCL20 mRNA levels.  $\text{Log}_{10}$  of CCL20 was considered dependent variable and age and  $\text{age}^2$  as independent variables. No dependence of CCL20 local expression on age was observed in any of the groups, AAA or normal aorta (AAA:  $\text{Log}_{10}$  CCL20 =  $-3.119 + 0.101 * \text{age} - 0.000758 * \text{age}^2$ , age coefficient  $p = 0.549$ ,  $\text{age}^2$  coefficient  $p = 0.523$ ,  $R = 0.099$ ; Controls:  $\text{Log}_{10}$  CCL20 =  $-1.292 + 0.0297 * \text{age} - 0.000326 * \text{age}^2$ , age coefficient  $p = 0.777$ ,  $\text{age}^2$  coefficient  $p = 0.739$ ,  $R = 0.124$ ). No differences in CCL20 local mRNA levels between positive and negative individuals for women, dyslipemia, hypertension, PAD, ischemic heart disease, antiplatelet drug user and statin user in neither normal aorta nor AAA groups were also found. Then, none of these parameters were taken into account as confounding variables for the statistics.

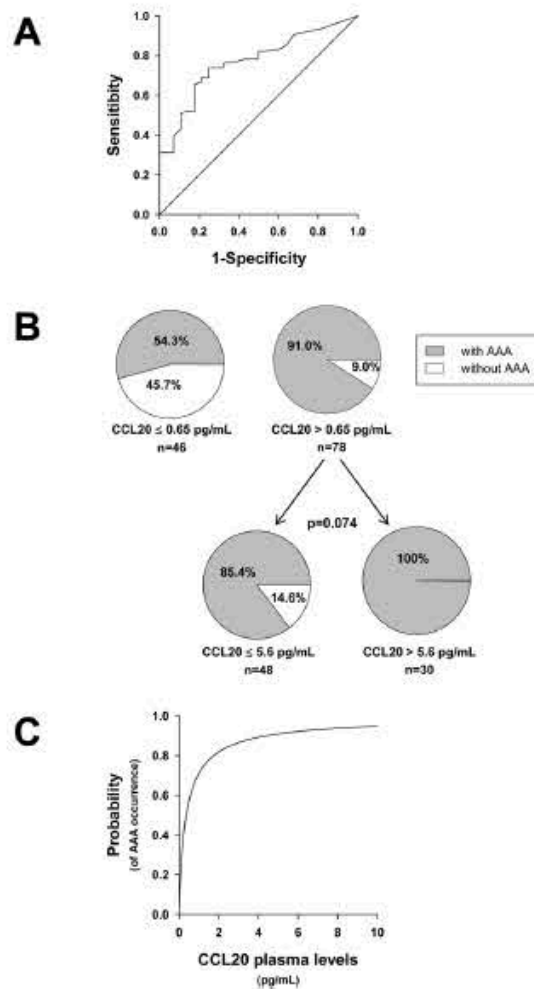
Results depicted in Fig. 4A show that expression of both CCL20 and its receptor CCR6 were significantly higher in AAA samples than in normal aorta. Nevertheless, there was not statistical correlation between CCL20 and CCR6 mRNA expression in AAA samples. In contrast, there was a significant correlation between CCL20 and CCR6 local expression in normal aorta samples ( $R = 0.674$ ;  $p = 0.003$ , Fig. 4B). Immunohistochemical studies showed that CCR6 and CCL20 were widely expressed in normal aorta, in the medial layer and endothelial cells from the microvasculature in which they were often co-expressed (Fig. 5A and B). Further, in aneurysmatic samples CCL20 and CCR6 were also abundantly expressed by infiltrating leukocytes. However, and consistently with correlation studies, such co-expression did not occur in all infiltrating leukocytes and only few cells were clearly positive for both proteins (Fig. 5B).

## Discussion

AAA is a multifactorial disease with genetic and environmental risk factors. AAA is an immuno-inflammatory disease associated with atherosclerosis<sup>3</sup> and, like other autoimmune pathologies, AAA progressively degenerates until the destruction of normal tissue. CCL20 has been associated with several autoimmune diseases<sup>17,24–26</sup> and this fact led us to investigate the association between CCL20 and AAA.

Here, we comparatively investigated the expression of the CCL20/CCR6 system in AAA as well as in non-AAA atherosclerotic patients and healthy individuals. Our results show that circulating CCL20 is significantly increased in AAA when compared with healthy individuals. Most importantly, CCL20 is also increased when compared with individuals with atherosclerotic vascular pathology without AAA. It should be highlighted that this is a unique feature of CCL20, not observed for other cytokines also increased in the AAA, suggesting that CCL20 is particularly relevant in patients suffering from AAA.

We must point out that unlike other authors<sup>27</sup>, we found no statistical correlation between the aortic diameter and plasma levels of any of the cytokine tested (results not shown) in aneurysmatic patients. One possible explanation for this discrepancy could be that when we analyzed the statistical correlations of MD and plasma levels, only patients with AAA were taken into account. Particularly, we did not find a statistical correlation between the aortic maximum diameter and plasma levels of CCL20. If we assume that the aortic diameter somehow represents the chronology of AAA and considering that CCL20 is significantly higher even in patients with

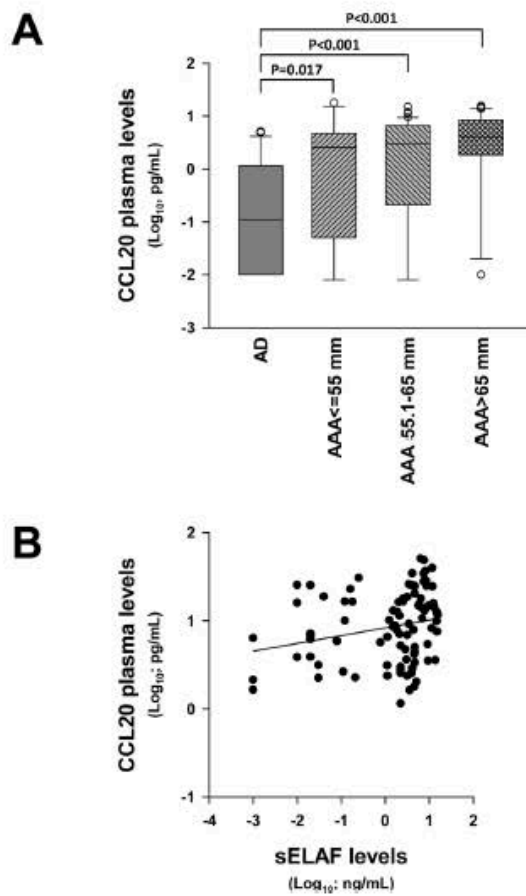


**Figure 2.** (A) Receiver-operating-characteristic (ROC) curve for CCL20 plasma levels in abdominal aortic aneurysm patients (AAA,  $n = 96$ ). The area under the curve was 0.768 (CI 0.678–0.858;  $p < 0.001$ ). (B) CART analysis classification regarding CCL20 plasma levels as independent variable and using AAA condition as the dependent variable; including all patients in the statistics. (C) Calculated probability from the equation  $\text{Logit } P = 0.901 + 2.006 * \log_{10} [\text{CCL20}]$  obtained in the Logistic Regression Analysis, considering CCL20 plasma concentration ([CCL20]) as independent variable and occurrence of AAA as the dependent dichotomous variable ([CCL20] coefficient  $p < 0.001$ ).

the smallest diameter, our results suggest that CCL20 is increased from the early stages of the disease. The lack of correlation between plasma concentration of CCL20 and the aortic diameter is not surprising since, in our view, plasma levels of a chemokine reflect a systemic immune situation while the aortic diameter might reflect the evolution of the injury. *A priori*, there is no reason in our view, to suppose a correlation between systemic levels of a protein involved in the immune response measured in a particular moment with the degree of evolution of a related injury. Presumably, the extent of injury depends on how long tissue states under inflammatory condition rather than at a given time concentration of a specific immune mediator in that tissue and still less likely on its plasma levels. Indeed, some inflammatory mediators reach a maximum in patients with intermediate MD and then decreases at higher MD<sup>28–31</sup>. Another issue is the relationship of plasma levels with the rate of progression of the injury that is probably strictly related to the intensity of the immune response. In this regard we have not measured the AAA growth rate, which is a limitation of the present study. However, we found a significant correlation between CCL20 and sELAF, which is related to the degradation of the vascular wall and exhibit pro-inflammatory activity<sup>32</sup>.

In addition, we observed that CCL20 levels are a sensitive marker for AAA, CCL20 high levels are associated with AAA presence. The statistical study shows that plasma concentrations above 5.6 pg/mL imply a likelihood of AAA higher than 90%.

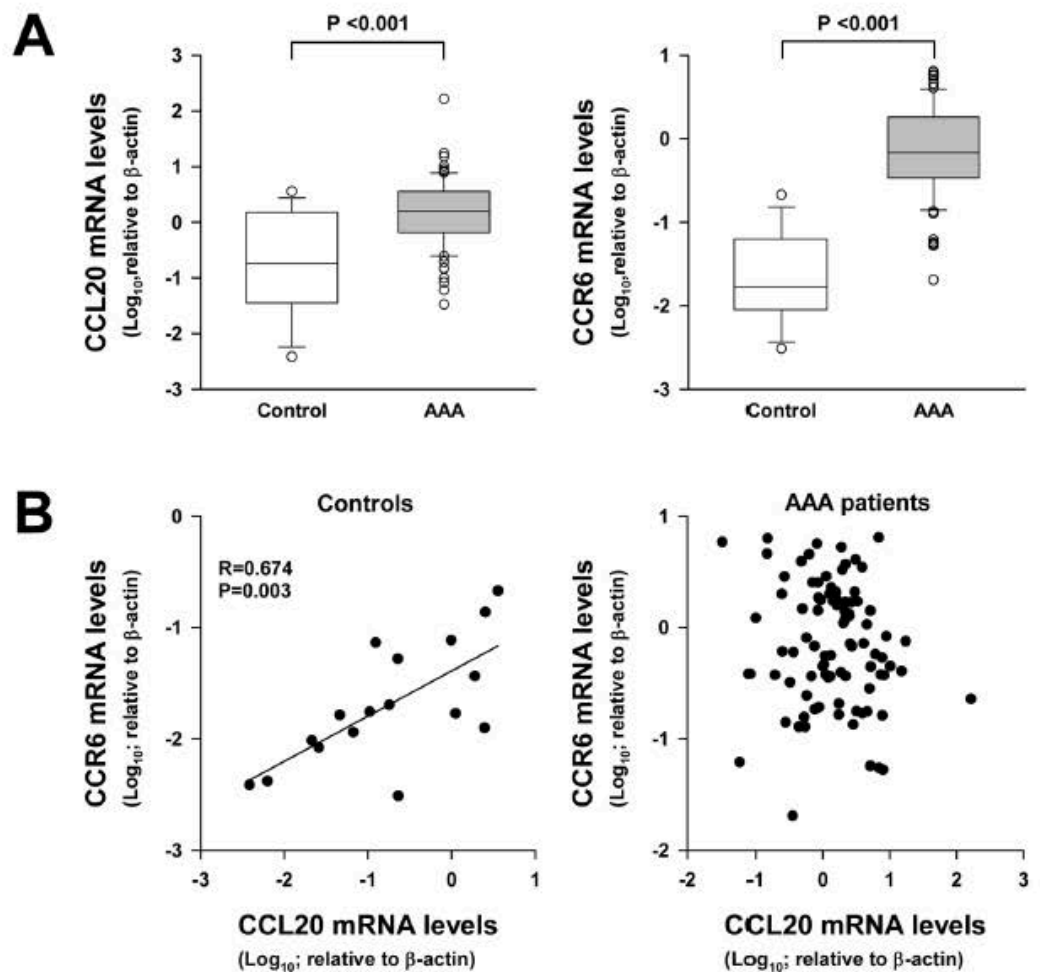
Both atherosclerosis and AAA are diseases characterized by a great inflammatory infiltrate. However, our results reveal that significant differences exist regarding factors involved in the recruitment of immune-inflammatory cells to the aortic wall and their local activation between these two disorders.



**Figure 3.** (A) CCL20 plasma concentration in abdominal aortic aneurysm patients stratified by MD (AAA) and patients with atherosclerotic disease without AAA (AD). No group fit normal distribution. (B) Statistical correlation of between CCL20 and sELAF in AAA samples.

	AAA	Normal Aorta	p
n	89	17	—
Age (years)	71.0 ± 6.6	57.5 ± 15.9	<0.001
Women	5.6	58.8	<0.001
Aortic diameter (mm)	65.0 ± 13.0	—	—
Dyslipidemia	60.7	17.6	0.003
HTN	71.9	17.6	<0.001
Diabetes	23.6	11.8	0.447
Smokers	27.0	11.8	0.305
PAD	49.4	0.0	<0.001
BVD	7.9	11.8	0.957
IHD	24.7	0.0	0.048
COPD	19.1	0.0	0.108
Antiplatelet users	59.6	11.8	<0.001
Statin users	68.5	5.9	<0.001
NSAID users	4.5	0.0	0.843
Corticoid users	4.5	0.0	0.843
Immuno-suppressors users	4.5	0.0	0.843

**Table 3.** Demographics of individuals included in the local mRNA levels study. Nominal variables are presented as %. Continuous variables are presented as mean ± SD. Due to the nature of normal aorta samples some of the clinical characteristics are not always recorded and infra-evaluation of them is probable. BVD, brain-vascular disease; COPD, chronic occlusive pulmonary disease; HTN, chronic hypertension; IHD, ischemic heart disease; PAD, peripheral artery disease.



**Figure 4.** (A) CCL20 and its receptor (CCR6) transcription levels in normal aorta from healthy donors (control,  $n = 17$ ) and abdominal aortic aneurysm lesions (AAA,  $n = 89$ ). No group fit normal distribution. (B) Statistical correlation between CCL20 and its receptor transcription levels in normal aortas (control) and AAA samples.

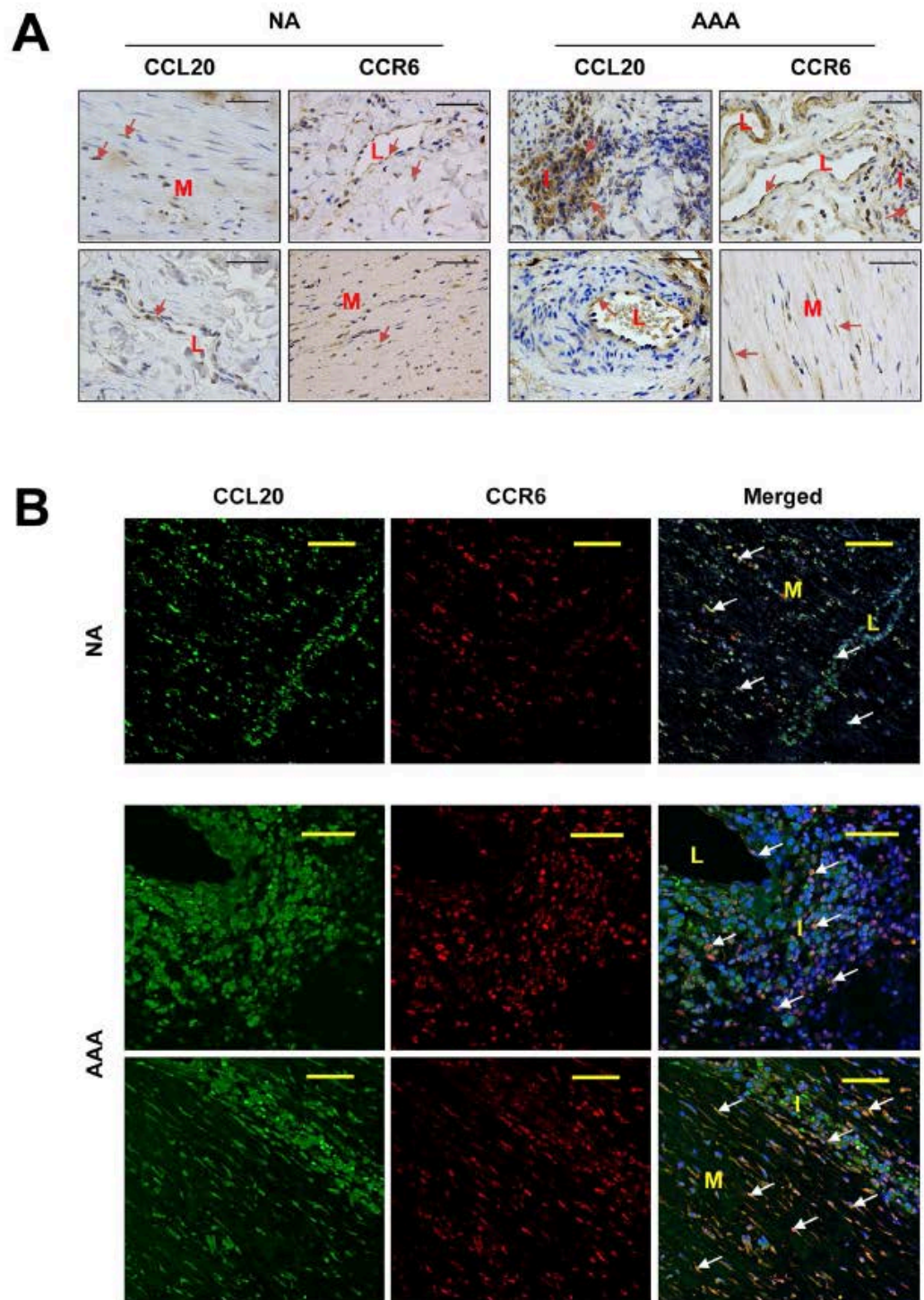
We also report a significant CCL20/CCR6 up-regulation in AAA tissues compared to normal aortic tissues. It is noteworthy that in normal aortas local CCL20 expression correlates with the expression of its receptor CCR6, which is not the case in AAA samples. Immunohistochemical studies revealed that both proteins were expressed by vascular cells, while only part of the massive inflammatory infiltrate in AAA samples co-expresses CCL20 and its receptor. This could explain why correlation between CCL20 and its receptor could only be observed in normal aorta.

In summary, we showed that plasma concentration of CCL20 was significantly higher in patients with AAA when compared with healthy individuals and, more importantly, with patients having atherosclerotic pathology without AAA. The statistical analysis shows that CCL20 plasma levels predict with high sensitivity the presence of AAA. CCL20 was also overexpressed in patients with AAA in terms of local transcript levels compared with healthy individuals. The role and the nature of the immune-mediated mechanisms in AAA have recently started to be addressed<sup>4,5</sup>. The present study shows an association of CCL20 with AAA, but the role of CCL20 in the pathogenesis and progression of AAA still remains uncertain. To assess this point, further research is needed.

### Material and Methods

**Patients.** The study was approved by the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau Ethics Committee (13/103/1491), and patients gave written informed consent prior to surgery. The study conformed to the principles of the Declaration of Helsinki. Clinical outcomes were taken from the clinical database.

We defined two groups of patients as follows, patients with AAA and patients with atherosclerotic disease without AAA (AD). Inclusion criteria of AAA group were patients undergoing elective open or endovascular repair for atherosclerotic AAA. Exclusion criteria were patients with pseudoaneurysms, or infectious or inflammatory aneurysms. When possible an infrarenal aorta biopsy was taken during the intervention. All AAA patients underwent surgery at Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. AD group was constituted by patients



**Figure 5.** (A) Representative immunohistochemistry images of CCL20 and its receptor (CCR6) in normal aorta (NA) and in AAA samples. Arrows show some immunostained cells. (B) Representative immunofluorescent double staining for CCL20 and CCR6 in normal aorta (NA) and in AAA samples. Arrows show double immunostained cells. Bars are 50  $\mu$ m; L, indicates the light of microvessels; I, indicates leukocyte infiltration areas; and M, indicates media layer.

admitted during the same period in our centre with ischemic pathology diagnosis of either lower limbs or carotid territory. Patients with aortic or peripheral aneurismal pathology were excluded from this group. Blood was collected before anaesthesia in the operating room. A sample of 10 mL of peripheral blood was collected from

the individuals in heparin-containing tubes. It was centrifuged immediately and plasma aliquoted and frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until CCL20 analysis.

**Tissue samples.** Biopsies were systematically performed on the anterolateral wall of the remaining mid-infrarenal aortic wall after the exclusion and prosthetic replacement of AAA, at the level of the inferior mesenteric artery. Intraluminal thrombi, if present, were separated before the aorta biopsy was taken. Normal aortas (Controls) were obtained from healthy aorta from multiorgan donors and samples were also taken from the mid-portion of the infrarenal abdominal aorta at organ harvest. Biopsies were processed immediately, a portion of each sample was placed in RNAlater solution (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) and stored for 24 hours at  $4^{\circ}\text{C}$  before long-term storage at  $-80^{\circ}\text{C}$  until further processing for RNA isolation.

**Risk factors.** The definition of the risk factors used in this study were: diabetes mellitus: glycated haemoglobin  $>5.8\%$  or use of oral antidiabetic drugs or insulin; arterial hypertension: systolic blood pressure  $\geq 140$  mm Hg, diastolic blood pressure  $\geq 90$  mm Hg or use of antihypertensive medication; dyslipidemia: a total cholesterol  $>6.2$  mmol/L, LDL cholesterol  $>4.13$  mmol/L, HDL cholesterol  $<1$  mmol/L or triglycerides  $>1.65$  mmol/L; smoking was categorized into 2 groups: smokers: smokers and ex-smokers stopped smoking  $<1$  year, and non-smokers: never-smoked and ex-smokers stopped smoking  $>1$  year; COPD: FEV1/FVC  $<0.7$ , brain-vascular disease: history of stroke, transient ischemic attack or major neurological deficit; ischemic heart disease: history of myocardial infarction, angina pectoris or previous coronary intervention; peripheral artery disease: including any stage of Fontaine classification or previous revascularization intervention or ischemic amputation.

**RNA extraction and mRNA analysis.** Tissues were homogenized in the FastPrep-24 homogenizer and Lysing Matrix D tubes (MP Biomedicals, Solon, OH). RNA was extracted using Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA) following the manufacturer's instructions. cDNA was prepared by reverse transcribing  $1\ \mu\text{g}$  RNA with the High-Capacity cDNA Archive Kit with random hexamers (Applied Biosystems, Foster City, CA). mRNA levels of CCL20 and CCR6 were studied by real-time PCR in an ABI Prism 7900HT using pre-designed validated assays (TaqMan Gene Expression Assays; Applied Biosystems) and universal thermal cycling parameters. Relative expression was expressed as transcript/ $\beta$ -actin ratios.

**Plasma measurements.** CCL20, IL-1- $\beta$ , RANTES, VEGF, MPO, IL-8, soluble ICAM, IP-10, CCL20, TNF $\alpha$ , MMP-9, IL-2, IGFBP-1, soluble Fractalkine, IL-10 and soluble TWEAK protein levels in plasma were analyzed in a Luminex using xMAP<sup>®</sup> technology (Millipore Corporation, Billerica, MA), and sELAF levels were analyzed using ELISA (MyBiosource, San Diego, CA, USA) following manufacturer's instructions.

**Immunohistochemistry.** Immunohistochemical studies were performed using a goat polyclonal antibody against human CCL20 (diluted 1:100) and a mouse monoclonal anti human CCR6 (diluted 1:200) both from R&D Systems (Minneapolis, MN). Three-micrometer sections of paraffin-embedded tissue samples were stained in a Dako Autostainer Link 48 using the Dako EnVision Flex Kit. Diaminobenzidine was used as chromogen.

**Double immunofluorescence.** For co-localization studies, double immunofluorescence staining was performed. After deparaffinization, rehydration and antigen retrieval, blocking for unspecific binding was performed for 1 hour at room temperature. A mixture of two primary antibodies, CCL20 and CCR6, in 1% BSA was then applied for 1 hour at room temperature. After washing with PBS, the sections were incubated with a mixture of two secondary antibodies in 1% BSA for 1 hr at room temperature in dark (Alexa Fluor 488 conjugated rabbit-antigoat IgG (H + L) and biotinylated horse-antimouse IgG (H + L) both diluted 1/250, Invitrogen, Life Technologies Co, Eugene, OR) followed by 45 minutes incubation with Streptavidin protein Alexa Fluor 594. Nuclei were counterstained with Hoechst 33258 for 10 minutes. As a negative control, sections were incubated omitting primary antibodies. Samples were then mounted with ProLong Gold antifade reagent (Molecular Probes, Life Technologies Co). Images were obtained using an SP5 Leica confocal microscope.

**Statistical analysis.** SPSS and Sigma-Plot software were used for statistical analysis. To evaluate the statistical differences in the demographic variables between two groups the t-test was used for those continuous variables that fit a normal distribution and Mann-Whitney U test for those continuous variables that did not have a normal distribution. To observe differences in the demographic dichotomous variables between two groups we used z-test. Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks was used to compare CCL20 levels in more than two groups since they did not fit normal distribution. Spearman Rank Order Correlation was used for correlation between variables. Multiple linear regression was used to study the association of CCL20 plasma levels with quantitative demographic variables and multiple logistic regression was used to study the likelihood of the occurrence of AAA as a function of CCL20 plasma levels. We used ROC curves to evaluate capacity of CCL20 to discriminate between AAA and AD patients. Continuous value parameters were analyzed using a classification and regression tree (CART) analysis, considering AAA condition as a dependent variable. The CART analysis split the continuous data into segments that were as heterogeneous as possible, according to the dependent variable. A p value  $<0.05$  was considered significant.

## References

- 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* **13**, 452 (1991).
- Stather, P. W. *et al.* Meta-analysis and meta-regression analysis of biomarkers for abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg* **101**, 1358–1372 (2014).
- Moxon, J. V. *et al.* Diagnosis and monitoring of abdominal aortic aneurysm: current status and future prospects. *Curr Probl Cardiol* **35**, 512–548 (2010).
- Kuivaniemi, H., Platsoucas, C. D. & Tilson, M. D. III Aortic aneurysms: an immune disease with a strong genetic component. *Circulation* **117**, 242–252 (2008).
- Kuivaniemi, H., Ryer, E. J., Elmore, J. R. & Tromp, G. Understanding the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Expert Rev Cardiovasc Ther* **13**, 975–987 (2015).
- Urbanavicius, S. *et al.* Potential circulating biomarkers for abdominal aortic aneurysm expansion and rupture—a systematic review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **36**, 273–80 (2008).
- Golledge, J., Tsao, P. S., Dalman, R. L. & Norman, P. E. Circulating markers of abdominal aortic aneurysm presence and progression. *Circulation* **118**, 2382–2392 (2008).
- Bylund, D. & Henriksson, A. E. Proteomic approaches to identify circulating biomarkers in patients with abdominal aortic aneurysm. *Am J Cardiovasc Dis* **5**, 140–145 (2015).
- Hromas, R. *et al.* Cloning and characterization of exodus, a novel beta-chemokine. *Blood* **89**, 3315–3322 (1997).
- Hieshima, K. *et al.* Molecular cloning of a novel human CC chemokine liver and activation-regulated chemokine (LARC) expressed in liver. Chemotactic activity for lymphocytes and gene localization on chromosome 2. *J Biol Chem* **272**, 5846–5853 (1997).
- Schutysse, E., Struyf, S. & Van Damme, J. The CC chemokine CCL20 and its receptor CCR6. *Cytokine Growth Factor Rev* **14**, 409–426 (2003).
- Hromas, R. *et al.* Isolation and characterization of Exodus-2, a novel C-C chemokine with a unique 37-amino acid carboxyl-terminal extension. *J Immunol* **159**, 2554–2558 (1997).
- Meissner, A. *et al.* CC chemokine ligand 20 partially controls adhesion of naive B cells to activated endothelial cells under shear stress. *Blood* **102**, 2724–2727 (2003).
- Kriehuber, E. *et al.* Isolation and characterization of dermal lymphatic and blood endothelial cells reveal stable and functionally specialized cell lineages. *J Exp Med* **194**, 797–808 (2001).
- Scapini, P. *et al.* Neutrophils produce biologically active macrophage inflammatory protein-3alpha (MIP-3alpha)/CCL20 and MIP-3beta/CCL19. *Eur J Immunol* **31**, 1981–1988 (2001).
- Cella, M. *et al.* A human natural killer cell subset provides an innate source of IL-22 for mucosal immunity. *Nature* **457**, 722–725 (2009).
- Yamazaki, T. *et al.* CCR6 regulates the migration of inflammatory and regulatory T cells. *J Immunol* **181**, 8391–8401 (2008).
- Bowman, E. P. *et al.* Developmental switches in chemokine response profiles during B cell differentiation and maturation. *J Exp Med* **191**, 1303–1318 (2000).
- Shimizu, Y. *et al.* CC-chemokine receptor 6 and its ligand macrophage inflammatory protein 3alpha might be involved in the amplification of local necroinflammatory response in the liver. *Hepatology* **34**, 311–319 (2001).
- Caux, C. *et al.* Regulation of dendritic cell recruitment by chemokines. *Transplantation* **15**, S7–11 (2002).
- Ito, T., Carson, W. F., Cavassani, K. A., Connett, J. M. & Kunkel, S. L. CCR6 as a mediator of immunity in the lung and gut. *Exp Cell Res* **317**, 613–619 (2011).
- Lee, A. Y., Eri, R., Lyons, A. B., Grimm, M. C. & Korner, H. C. C. Chemokine Ligand 20 and Its Cognate Receptor CCR6 in Mucosal T Cell Immunology and Inflammatory Bowel Disease: Odd Couple or Axis of Evil? *Front Immunol* **4**, 194 (2013).
- Dieu, M. C. *et al.* Selective recruitment of immature and mature dendritic cells by distinct chemokines expressed in different anatomic sites. *J Exp Med* **188**, 373–386 (1998).
- Comerford, I. *et al.* An immune paradox: how can the same chemokine axis regulate both immune tolerance and activation?: CCR6/CCL20: a chemokine axis balancing immunological tolerance and inflammation in autoimmune disease. *Bioessays* **32**, 1067–1076 (2010).
- Stahl, E. A. *et al.* BIRAC Consortium; YEAR Consortium. Genomewide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nat Genet* **42**, 508–514 (2010).
- Hedrick, M. N., Lonsdorf, A. S., Hwang, S. T. & Farber, J. M. CCR6 as a possible therapeutic target in psoriasis. *Expert Opin Ther Targets* **14**, 911–922 (2010).
- Ramos-Mozo, P. *et al.* Plasma profiling by a protein array approach identifies IGFBP-1 as a novel biomarker of abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis* **221**, 544–550 (2012).
- Freestone, T. *et al.* Inflammation and matrix metalloproteinases in the enlarging abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **15**, 1145–1151 (1995).
- McMillan, W. D. *et al.* The relationship between MMP-9 expression and aortic diameter. *Circulation* **96**, 2228–2232 (1997).
- Camacho, M. *et al.* Microvascular COX-2/mPGES-1/EP-4 axis in human abdominal aortic aneurysm. *J Lipid Res* **54**, 3506–3515 (2013).
- Dilmé, J. F. *et al.* Influence of Cardiovascular Risk Factors on Levels of Matrix Metalloproteinases 2 and 9 in Human Abdominal Aortic Aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **48**, 374–381 (2014).
- Duca, L. *et al.* Matrix ageing and vascular impacts: focus on elastin fragmentation. *Cardiovasc Res* **110**, 2998–308 (2016).

## Acknowledgements

Authors are grateful to Sonia Alcolea for her technical support. This study was supported by grants from the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO), SAF2013-46707-R and SAF2015-64767-R and from the Instituto de Salud Carlos III, PI15/01016 and CIBERCV. The study was co-founded by Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Supported by CERCA Programme/Generalitat de Catalunya.

## Author Contributions

B.S. collected human samples, analyzed data and provided intellectual input. T.G.-M. performed plasma measurements and the immunohistochemical studies, analyzed data and provided intellectual input. C.R., J.M.-G. edited and contributed to the discussion of the paper and provided intellectual input. J.-R.E. collected human samples, critically revised the intellectual content. L.V. concept and design the study, performed the statistics analysis and interpretation of data and wrote/edit the paper. M.C. performed RNA studies, design the study, analysis and interpretation of data and wrote/edit the paper. All authors read and gave final approval of the manuscript.

## Increased Peak Wall Stress, but Not Maximum Diameter, Is Associated with Symptomatic Abdominal Aortic Aneurysm

Begoña Soto<sup>a,b</sup>, Luis Vila<sup>a,c</sup>, Jaime F. Dilmé<sup>a,b,c</sup>, Jose R. Escudero<sup>a,b,c</sup>, Sergi Bellmunt<sup>d</sup>, Mercedes Camacho<sup>a,c,\*</sup>

<sup>a</sup>Angiology, Vascular Biology and Inflammation Laboratory, Institute of Biomedical Research (II-B Sant Pau), Barcelona, Spain

<sup>b</sup>Department of Vascular and Endovascular Surgery, Universitat Autònoma de Barcelona, Institute of Biomedical Research (II-B Sant Pau), Barcelona, Spain

<sup>c</sup>CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCIV), Madrid, Spain

<sup>d</sup>Department of Vascular and Endovascular Surgery and Angiology, University Hospital of Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

### WHAT THIS PAPER ADDS

Because the presence of symptoms is strongly associated with the risk of rupture, this fact was used to assess the differences between the most commonly used parameter, the AAA maximum diameter, and finite element analysis calculated PWS in identifying symptomatic patients. This study indicates that maximum diameter and PWS are greater in symptomatic than in asymptomatic AAA. However considering patients with a maximum diameter  $\geq 65$  mm alone, only PWS was useful in differentiating symptomatic from asymptomatic AAA.

**Objective:** Maximum diameter (MD) is the established rupture predictor for abdominal aortic aneurysm (AAA). However, biomechanical markers from finite element analysis (FEA) could be more accurate predictors for these patients. In this study, the association between peak wall stress (PWS) and MD with symptoms of AAA was evaluated.

**Methods:** Patients diagnosed with infrarenal non-ruptured AAA at the centre between 2009 and 2015 were included. Clinical data, morphological variables (including MD), and the biomechanical variables PWS and diameter normalised PWS (dnPWS) in symptomatic (sAAA) and asymptomatic AAA patients (aAAA) were included.

**Results:** A total of 170 patients were analysed, 153 aAAA and 17 sAAA. MD was significantly greater in sAAA patients than in aAAA patients (70.4 mm, 95% CI 66.4–86.0 vs. 59.1 mm, 95% CI 53.7–67.8, respectively;  $p = .002$ ). PWS was also significantly higher in the sAAA group (324.6 kPa, 95% CI 217.4–399.5 vs. 199.2 kPa, 95% CI 165.6–239.5;  $p < .01$ ). No differences in MD were found in patients with an AAA  $\geq 65$  mm (43 aAAA and 14 sAAA); however, both PWS (327.4 kPa, 95% CI 239.0–473.3 vs. 229.4 kPa, 95% CI 210.0 to 289.4;  $p = .020$ ) and dnPWS (4.3, 95% CI 3.17–4.67 vs. 3.03, 95% CI 2.8–3.49;  $p = .004$ ) were higher in sAAA than in aAAA.

**Conclusions:** This study suggests that MD and the biomechanical parameters obtained by finite element analysis are greater in sAAA than in aAAA. However, considering patients with MD  $\geq 65$  mm alone, only PWS, and particularly dnPWS, were able to differentiate sAAA from aAAA.

© 2017 European Society for Vascular Surgery. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Article history: Received 26 June 2017, Accepted 16 September 2017, Available online 16 October 2017

**Keywords:** Abdominal aortic aneurysm, Morphological variables, Biomechanical variables, Finite element analysis, Symptomatic aneurysm

### INTRODUCTION

An abdominal aortic aneurysm (AAA) is a progressive focal dilatation and weakening of the abdominal aorta and it is the most common type of arterial aneurysm. In adults, an aortic diameter  $> 3.0$  cm is generally considered aneurysmal. The disease is progressive, with growth and rupture.<sup>1,2</sup> A ruptured AAA is life threatening with a high

mortality rate and requires immediate repair.<sup>3</sup> Open surgery or endovascular repair are the only treatments currently available for AAA.

Although AAA are usually asymptomatic (aAAA), between 5 and 22% of patients manifest clinical symptoms such as abdominal or back pain, and are termed symptomatic AAA (sAAA).<sup>4</sup> The presence of a symptomatic abdominal aortic aneurysm is generally a harbinger of rupture, and sAAA patients require urgent AAA repair.<sup>5</sup> Regarding aAAA, the decision to proceed with surgical repair is generally determined by assessing the maximum AAA diameter (MD), which is routinely monitored by medical imaging.<sup>6</sup> Elective repair is usually considered when the MD is greater than 55 mm. However, rupture of aneurysms less than 55 mm

\* Corresponding author. Angiology, Vascular Biology and Inflammation Laboratory of the Institute of Research of Hospital Santa Creu i Sant Pau, c/ Antonio M<sup>o</sup> Claret 167, 08025 Barcelona, Spain.

E-mail address: [mcamacho@santpau.cat](mailto:mcamacho@santpau.cat) (Mercedes Camacho).

1078-5884/© 2017 European Society for Vascular Surgery. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

<https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2017.09.010>



**Table 1.** AAA demographics.

	All patients		<i>p</i>	Patients with MD $\geq$ 65 mm		<i>p</i>
	aAAA	sAAA		aAAA	sAAA	
<i>n</i>	153	17		43	14	
Age	74 (68–79) <sup>a</sup>	77 (69–81)	.29	75 (67–80)	78 (72–83)	.17
Weight (Kg)	75 (70–85)	70 (61–80)	.047	73 (67–82)	67 (60–80)	.082
Height (m)	1.7 (1.65–1.74)	1.7 (1.66–1.71)	.69	1.70 (1.67–1.73)	1.7 (1.66–1.71)	.42
Sex, % (women)	3.9	5.9	.80	2.3	7.1	.99
CSBP (mmHg)	140 (130–146)	140 (138–141)	.92	140 (130–140)	140 (130–140)	.68
CDBP (mmHg)	80 (70–80)	70 (70–80)	.35	70 (70–80)	70 (70–80)	.61
Dyslipidaemia (%)	54.9	41.2	.41	55.8	35.7	.32
HTN (%)	76.5	76.5	.76	69.8	71.4	.82
Diabetes (%)	21.6	17.6	.94	23.3	14.3	.73
Smokers (%)	25.5	18.8	.78	2.9	15.4	.97
PAD (%)	37.9	38.5	.80	46.5	4.0	.99
BVD (%)	7.2	11.8	.85	7.0	14.3	.77
IHD (%)	26.8	35.3	.65	16.3	35.7	.24
COPD (%)	15.7	17.6	.88	18.6	21.4	.87

BVD = brain vascular disease; CDBP = chronic diastolic blood pressure; COPD = chronic obstructive pulmonary disease; CSBP = chronic systolic blood pressure; HTN = chronic hypertension; IHD = ischaemic heart disease; PAD = peripheral artery disease.

<sup>a</sup> Non-normally distributed quantitative absolute data are expressed as median (25–75%).

diameter has been reported, suggesting that the risk of aneurysm rupture is not determined by MD alone.<sup>7,8</sup>

Mechanisms leading to AAA rupture remain unclear. Many studies report that the difference between complicated AAA (sAAA and ruptured AAA) and aAAA is primarily biomechanical wall stress. Peak wall stress (PWS) evaluated using computer modelling through finite element analysis (FEA) is a useful parameter for predicting the risk of rupture,<sup>9–12</sup> with PWS being greater in symptomatic or ruptured AAA than in asymptomatic intact AAA.

Since symptomatic aneurysms harbour an increased risk of rupture, the aim of this study was to compare the ability of biomechanical parameters from FEA and MD to differentiate between symptomatic and asymptomatic AAA patients.

## METHODS

### Patients

Between 2009 and 2015, consecutive patients diagnosed with infrarenal AAA were included in the study. The diagnosis of AAA was confirmed by computed tomography (CT) scan. Exclusion criteria included unsuitable computed tomography angiography (CTA) for FEA analysis, juxtarenal aneurysms (since the presence of adjacent visceral arteries on the imaging studies can complicate FEA analysis), mycotic aneurysms, and ruptured aneurysms (confirmed by the presence of free blood in the abdominal space on CTA). Patients with symptoms were included in the sAAA non-ruptured group. sAAA was considered when the patient had an intact AAA on CT scanning and current onset back, abdominal, or groin pain not identified to be from other causes.<sup>5</sup> To exclude other causes of pain, blood analysis, radiological, or ultrasound examinations were obtained when needed. An emergency physician also confirmed the differential diagnosis.

Only strictly necessary clinical data from patients were used, obtained from the informatics database of the hospital. All data were collected by the same investigator, and

were stored on a computer using a personal key. The data included the clinical history of various comorbidities, including diabetes mellitus (DM, all types), systolic and diastolic blood pressure, dyslipidaemia (total cholesterol >200 mg/dL), cerebrovascular disease (history of stroke, transient ischaemic attack, or major neurological deficit), heart disease (history of myocardial infarction, angina pectoris, or previous coronary intervention), lung disease (chronic obstructive pulmonary disease), smoking (during the last year), and peripheral artery disease. Each patient's weight and height were also recorded (see Table 1).

The protocol was approved by the institution's review board (protocol code, IIBS-FIN-2013-89). As this was a retrospective case series analysis, informed consent was not deemed necessary.

### Finite element analysis

FEA was performed on the CTA of all patients, using A4clinics-Research Edition software (VASCOPS Vascular Diagnosis Company, Graz, Austria). The analysis was performed by a single member of the group (B.S.) to avoid inter-observer errors.

The three dimensional AAA geometry was acquired from routine CTA imaging data. The lumen, intraluminal thrombus, and external wall data were acquired separately and semi-automatically. The program includes a manual correction feature if some special point is found, such as a penetrating ulcer or some other unusual anatomy. The resultant geometry is subdivided into multiple contiguous elements that form a fine mesh. The AAA is ready for wall stress computation after the appropriate material properties of the AAA wall and components have been specified by using the computational software. The end result is aneurysm specific wall stress distribution.<sup>9,12</sup>

In all cases, the segment from the infrarenal aorta to the iliac bifurcation was analysed. The morphological variables

determined were MD, maximum lumen diameter, maximum thickness of intraluminal thrombus, total volume of the aneurysm, total volume of lumen, and total volume of intraluminal thrombus.

The biomechanical variable determined was PWS: the maximal stress on the surface of the AAA wall based on aneurysm shape, diameter, and blood pressure values. The diameter normalised PWS (dnPWS), PWS divided by MD, was also analysed.

### Statistical analysis

SPSS and Sigma-Plot software were used for statistical analysis. To compare the demographic variables between symptomatic and non-symptomatic patients, the Student *t* test was used for those continuous variables with a normal distribution and the Mann–Whitney U test was used for those continuous variables that did not have a normal distribution. To compare demographic dichotomous variables between symptomatic and non-symptomatic patients, the *z* test was used. To compare symptomatic and non-symptomatic patients with regard to morphological and FEA calculated parameters the Mann–Whitney U test was used because the data did not adjust to a normal distribution.

Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to evaluate the capacity of morphological and biomechanical parameters to discriminate between symptomatic and asymptomatic patients. To compare the area under the curve (AUC), the method of Hanley and McNeil<sup>13</sup> with the Bonferroni correction for multiple comparisons was used. In addition to the ROC study, to choose the cutoff point that identified sAAA, continuous value parameters were analysed using classification and a regression tree (CART). The CART analysis split the continuous data into segments that were as heterogeneous as possible, according to the dependent variable. For CART analysis, the symptomatic condition (positive) was considered as a dichotomous state variable, and based on data from the ROC curves; dnPWS was chosen as the test variable. A *p* value < .05 was considered significant.

To calculate the sample size, the results of the paper by Erhart et al.<sup>14</sup> were taken into account. The ratio of

asymptomatic/symptomatic patients in the database was 9:1. The common standard deviation was assumed to be 34. Accepting an alpha risk of 0.05 and a beta risk of 0.2 in a two sided test, 153 subjects were necessary in the first group and 17 in the second group in order to reach 80% power to detect a difference greater than or equal to 25 units. GRANMO (7.12) software was used (<https://www.imim.cat/ofertadeserveis/software-public/granmo>)

### RESULTS

Table 1 shows the patient demographic and clinical data. Of the 170 patients included in the study, 17 were symptomatic and 153 asymptomatic. Patient MD values ranged from 32.6 to 120 mm. With regard to demographic and clinical data, no significant differences were observed between symptomatic and asymptomatic patients, except for weight, which was slightly higher in the aAAA group.

As the presence of symptoms was clearly associated with large aneurysms, patients were stratified into two groups: small–medium diameter (MD < 65 mm), and large diameter (MD ≥ 65 mm). This arbitrary threshold diameter was used because the median of the distribution of MD for patients with MD > 55 mm was 65 mm. Nevertheless, only the large MD group could be studied because only three of 105 patients in the MD < 65 mm group were sAAA, so the statistic was not reliable in this group. Table 1 shows the demographic and clinical data of patients with MD ≥ 65 mm (57 patients: 43 aAAA and 14 sAAA); no statistically significant differences were observed between the two groups.

Table 2 shows morphological and FEA calculated parameters. When all patients were included in the statistics, the MD, lumen volume, AAA volume, intraluminal thrombus volume, PWS, and dnPWS were significantly greater in sAAA patients.

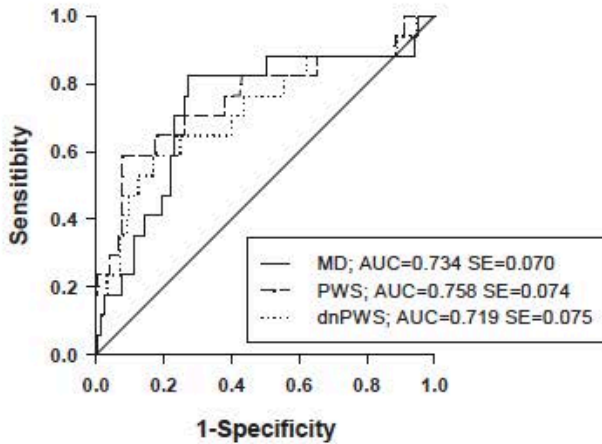
Since both MD and PWS were statistically different when comparing the sAAA and aAAA groups (Table 2), the predictive ability of these parameters and dnPWS using the ROC curve were compared. When all patients were included, the AUCs for the ROC curve based on MD, PWS, and dnPWS showed no significant differences (Fig. 1). Thus,

**Table 2.** Morphological and FEA calculated parameters.

	All patients		<i>p</i>	Patients with MD ≥ 65 mm		<i>p</i>
	aAAA	sAAA		aAAA	sAAA	
n	153	17		43	14	
MD (mm)	59.1 (53.7–67.8) <sup>a</sup>	7.4 (6.4–86.0)	.002	78.0 (72.1–88.2)	75.7 (69.1–87.5)	.66
LMD (mm)	38.2 (32.9–47.0)	42.3 (38.3–6.7)	.07	47.2 (41.1–63.6)	49.3 (41.8–64.2)	.93
ILTMD (mm)	23.4 (15.6–28.3)	25.6 (2.8–37.4)	.16	29.9 (22.5–38.0)	26.4 (21.2–38.4)	.95
LV (cm <sup>3</sup> )	68.6 (47.1–104.1)	89.5 (56.8–184.8)	.030	114.3 (79.4–181.5)	133.3 (86.9–215.5)	.89
AAAV (cm <sup>3</sup> )	178.2 (134.0–234.0)	233.5 (201.8–455.0)	.003	333.7 (24.5–453.9)	323.1 (223.6–524.8)	.82
ILTV (cm <sup>3</sup> )	79.9 (5.0–111.4)	155.8 (86.5–241.6)	.008	148.3 (104.4–233.4)	165.7 (102.3–273.5)	.68
PWS (KPa)	199.2 (165.6–239.5)	324.6 (217.4–399.5)	<.001	229.4 (21.0–289.4)	327.4 (239.0–473.3)	.020
dnPWS (KPa/mm)	3.30 (2.88–3.87)	4.41 (3.35–4.86)	.003	3.03 (2.80–3.49)	4.30 (3.17–4.67)	.004

AAAV = AAA volume; dnPWS = diameter-normalised peak wall stress; ILTMD = ILT maximum diameter; ILTV = ILT volume; LMD = lumen maximum diameter; LV = lumen volume; MD = maximum AAA diameter; PWS = peak wall stress.

<sup>a</sup> Non-normally distributed quantitative data are expressed as median (25–75%).



**Figure 1.** Receiver operating characteristic (ROC) curves and the corresponding areas under the curve for MD (maximum diameter), PWS (peak wall stress), and dnPWS (diameter normalised PWS) related to sAAA including all patients in the statistics. MD: CI 0.597–0.871;  $p = .002$ ; PWS: CI 0.614–0.902;  $p > .001$ ; and dnPWS CI 0.572–0.865;  $p = .003$ .

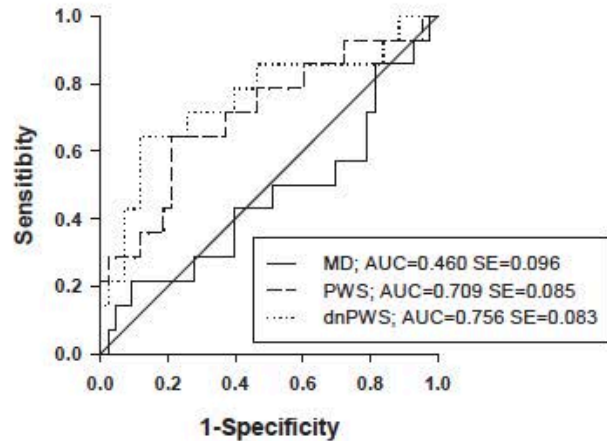
MD, PWS, and dnPWS were useful to predict sAAA and had similar statistical outcomes (Table 2 and Fig. 1).

The statistical analysis in the patient cohort who had an aneurysm with a MD  $\geq 65$  mm, as stated above, showed no differences in the demographic characteristics between sAAA and aAAA patients. Results in Table 2 show that, unlike when all patients were included, there were no statistical differences in the morphological parameters between sAAA and aAAA, while PWS and dnPWS were significantly greater in the sAAA group. The ROC curves of patients with a MD  $\geq 65$  mm showed that the AUCs of PWS and dnPWS were significantly greater than MD ( $p = .018$  and  $p = .033$ , respectively, after Bonferroni correction) whereas there were no significant differences between PWS and dnPWS (Fig. 2). To find a cutoff point that allowed the classification of the sample, a CART analysis was performed in addition to the ROC study. The symptomatic condition was the dichotomous state variable and, based on data from the ROC curves of the patients with MD  $> 65$  mm, dnPWS as the test variable was used.

When all patients were included, CART analysis classified patients into two categories: dnPWS  $\leq 4.3$  kPa/mm and dnPWS  $> 4.3$  kPa/mm (Fig. 3). Furthermore, CART analysis using symptomatic condition as the dependent variable and dnPWS as the independent variable analysing only patients having an aneurysm with MD  $\geq 65$  mm, also classified patients into two categories: dnPWS  $\leq 3.8$  kPa/mm and dnPWS  $> 3.8$  kPa/mm (Fig. 4).

## DISCUSSION

One of the biggest challenges facing the vascular surgeon is the ability to predict the risk of rupture of a particular AAA given the associated high mortality rate.<sup>3</sup> Several reports suggest biomechanical analysis is an effective tool for predicting the risk of AAA rupture. Because the presence of

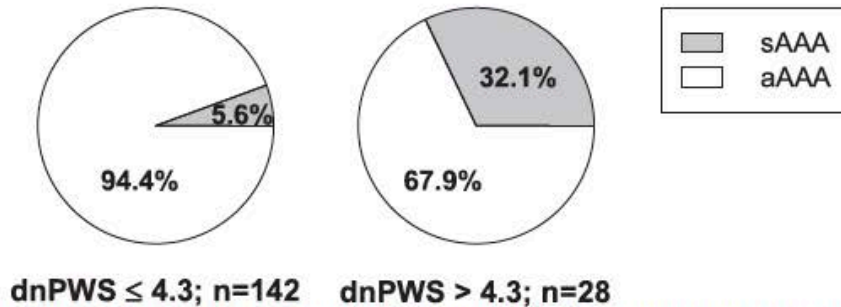


**Figure 2.** Receiver operating characteristic (ROC) curves and the corresponding areas under the curve for MD (maximum diameter), PWS (peak wall stress), and dnPWS (diameter normalised PWS) related to sAAA including patients with MD  $\geq 65$  mm in the statistics. MD: CI 0.273–0.648;  $p = .66$ ; PWS: CI 0.543–0.875;  $p = .019$ ; and dnPWS: CI 0.593–0.919;  $p = .004$ .

symptoms is strongly associated with the risk of rupture,<sup>4</sup> this fact was used to assess the differences between the most commonly used parameter, the AAA MD and FEA calculated PWS and dnPWS in identifying symptomatic patients. Biomechanical differences between aAAA and sAAA were found.

A meta-analysis published in 2010 by Malkawi et al.<sup>9</sup> and another in 2014 by Khosla et al.<sup>10</sup> suggested that PWS was significantly greater in patients with symptomatic or ruptured AAA than in those with an asymptomatic intact AAA. Khosla's review included nine studies, with a combined population of 348 individuals: 204 with asymptomatic intact AAA and 144 with symptomatic/ruptured AAA. The main limitation of this analysis was the heterogeneity between the included studies regarding participant selection, the FEA software used and the FEA calculations applied. Consistently with these previous reports this study observed that PWS and dnPWS were significantly higher in the sAAA group. Of note, a large number of patients (153 aAAA and 17 sAAA) were included in the study and uniform criteria for patient inclusion and data collection were applied. However, although the series is large, the group of symptomatic AAA is relatively small. This low sAAA patient number may be related to strict inclusion criteria (see Methods). Ruptured AAA were not included in the study for two main reasons: FEA is difficult to perform in this group of patients and FEA is not validated for ruptured AAA because when this occurs, blood enters the abdominal space and the CTA structure and pressure on the aortic wall changes. In effect, in the study of Erhart et al.,<sup>14</sup> only nine of 15 patients with ruptured AAA were finally included in their analysis due to complex vessel morphology or contrast extravasation.

When all patients were included in the analysis, both MD and PWS or dnPWS were able to predict that an aneurysm was symptomatic, with PWS being a slightly better predictor parameter than dnPWS. These results are consistent with



**Figure 3.** CART analysis classification regarding dnPWS (diameter normalised PWS) as independent variable and sAAA as dependent variable; including all patients in the statistics. Sensitivity, 52.9%; CI 95%, 26.3–79.6. Specificity, 87.6%; CI 95%, 82.0–93.1. PPV, 32.1%; CI 95%, 13.1–51.2. NPV, 94.4%; CI 95%, 90.2–98.5.

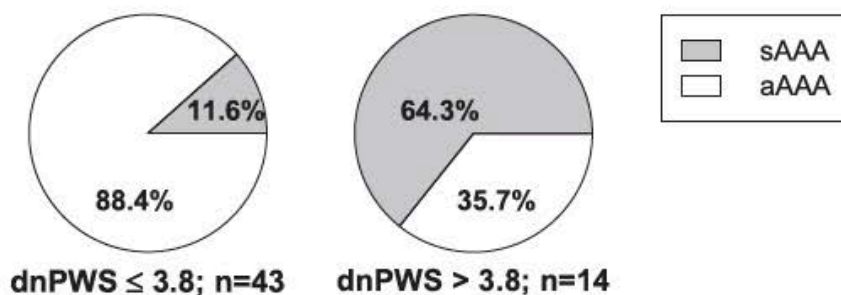
previous reports showing that both MD and PWS predicted rupture, although PWS was superior in differentiating patients who would present catastrophic outcomes.<sup>10,15–17</sup>

However, when only the most developed aneurysms were considered, the scenario changed dramatically: the MD completely lost its ability to predict sAAA while the PWS and the dnPWS (the latter being the better predictor) retained this ability. CART analysis showed that biomechanical analysis became more important when the AAA diameter was  $\geq 65$  mm, since it is the only data that differ between aAAA and sAAA. Nevertheless, it would have been even more valuable to predict sAAA in patients with MD  $< 55$  mm, the diameter at which surgery is recommended. In addition, when the patients were stratified into three groups, small MD  $< 55$ , medium MD = (55–64.9 mm) and large MD  $\geq 65$  mm, in all three groups dnPWS best predicted the presence of symptoms in terms of AUCs (not shown). However, the limitation was that only two of 45 in the  $< 55$  mm group and one of 65 in the 55–65 mm group were sAAA, so the validity of the statistics is highly questionable in these groups.

It is interesting to note that only FEA showed differences between sAAA and aAAA in the group of large AAA. In routine clinical practice, every AAA with a MD  $\geq 65$  mm is considered for surgery. Although biomechanical parameters would not change the final indications, they would help clinicians limit indications in cases of complex anatomy, and in elderly patients or those with high comorbidity. These findings are also useful to prioritise those operations that

may be considered urgent due to a high risk, and therefore an objective criterion is necessary. It was found that this criterion cannot be fully based on the MD but rather on the dnPWS, at least regarding AAA with a MD  $\geq 65$  mm. However, as in other studies, the main limitation of this work is the difficulty demonstrating that stress analysis is a valid tool to predict the risk of AAA rupture. Of course, additional studies would be desirable to find a threshold value to identify asymptomatic patients at increased risk of rupture. Follow-up studies would be necessary but are not an option in all patients because treatment is immediate after diagnosis by MD, it might be an option only in patients unsuitable for immediate surgery. A parameter to predict sAAA is of limited use as the symptoms themselves are predictive, the hypothesis and the putative usefulness of this work is that if a parameter can predict a high risk characteristic such as the presence of symptoms it will be able to predict AAA at risk in general. This study adds value in the sense that PWS and dnPWS predict sAAA. It is therefore legitimate to assume that these parameters can also predict the risk of rupture of any AAA. A limitation of this study is the possible selection bias because of its retrospective design with consecutive recruitment.

In conclusion, using the FEA model significant morphological and biomechanical differences between symptomatic and asymptomatic AAA were observed. However, when AAA patients with MD  $\geq 65$  mm were considered separately, the MD was unable to recognise sAAA, while PWS,



**Figure 4.** CART analysis classification regarding dnPWS (diameter normalised PWS) as independent variable and sAAA as dependent variable; including patients with maximum diameter  $\geq 65$  mm in the statistics. Sensitivity, 64.3%; CI 95%, 35.6–93.0. Specificity, 88.4%; CI 95%, 77.6–99.1. PPV, 64.3%; CI 95%, 35.6–93.0. NPV, 88.4%; CI 95%, 77.6–99.1.

and particularly dnPWS, were able to do so. aAAA with increased dnPWS may be at a high risk of becoming symptomatic or even complicated cases, but further studies are needed based on individual follow-up to confirm this.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported partially by grants SAF2010-21392 and SAF2013-46707-R and Red de Investigación Cardiovascular RD12/0042/0051 from the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO).

#### CONFLICT OF INTEREST

None.

#### FUNDING

None.

#### REFERENCES

- Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzner NR, Bakal CW, Creager MA, Halperin JL, et al. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): A collaborative report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease): Endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; National Heart, Lung, and Blood Institute; Society for Vascular Nursing; TransAtlantic Inter-Society Consensus; and Vascular Disease Foundation. *Circulation* 2006;**113**:e463.
- Stather PW, Sidloff DA, Dattani N, Gokani VJ, Choke E, Sayers RD, et al. Meta-analysis and meta-regression analysis of biomarkers for abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg* 2014;**101**:1358–72.
- Moxon JV, Parr A, Emeto TI, Walker P, Norman PE, Golledge J. Diagnosis and monitoring of abdominal aortic aneurysm: Current status and future prospects. *Curr Probl Cardiol* 2010;**35**:512–48.
- Nevala T, Perälä J, Aho P, Matsi P, Ylönen K, Roth WD, et al. Outcome of symptomatic, unruptured abdominal aortic aneurysms after endovascular repair with the Zenith stent-graft system. *Scand cardiovasc J* 2008;**42**:178–81.
- Franks S, Lloyd G, Fishwick G, Bown M, Sayers R. Endovascular treatment of ruptures and symptomatic Abdominal Aortic Aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006;**31**:345–50.
- Golledge J, Muller J, Daugherty A, Norman P. Abdominal aortic aneurysm: pathogenesis and implications for management. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;**26**:2605–13.
- UK small Aneurysm Trial Participants. Mortality results for randomized controlled trial of early elective surgery or ultrasonographic surveillance for small abdominal aortic aneurysms. *Lancet* 1998;**352**:649–55.
- Moll FL, Powell JT, Fraedrich G, Verzini F, Haulon S, Waltham M, et al. Management of abdominal aortic aneurysms clinical practice guidelines of the European Society for Vascular Surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2011;**41**:S1–58.
- Malkawi AH, Hinchliffe RJ, Xu Y, Holt PJ, Loftus IM, Thompson MM. Patient-specific biomechanical profiling in abdominal aortic aneurysm development and rupture. *J Vasc Surg* 2010;**52**:480–8.
- Khosla S, Morris DR, Moxon JV, Walker PJ, Gasser TC, Golledge J. Meta-analysis of peak wall stress in ruptured, symptomatic and intact abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg* 2014;**101**:1350–7.
- Indrakusuma R, Jalalzadeh H, Planken RN, Marquering HA, Legemate DA, Koelemay MJ, et al. Biomechanical imaging markers as predictors of abdominal aortic aneurysm growth or rupture: A systematic review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2016;**52**:475–86.
- Gasser TC, Auer M, Labruto F, Swedenborg J, Roy J. Biomechanical rupture risk assessment of abdominal aortic aneurysms: Model complexity versus predictability of finite element simulations. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2010;**40**:176–85.
- Hanley JA, McNeil BJ. A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology* 1983;**148**:839–43.
- Erhart P, Hyhlik-Dürr A, Geisbüsch P, Kotelis D, Müller-Eschener M, Gasser TC, et al. Finite elements analysis in asymptomatic, symptomatic, and ruptured abdominal aortic aneurysms: In search of new rupture risk predictors. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2015;**49**:239–45.
- Fillinger MF, Marra SP, Raghavan ML, Kennedy FE. Prediction of rupture risk in abdominal aortic aneurysm during observation: Wall stress versus diameter. *J Vasc Surg* 2003;**37**:724–32.
- Venkatasubramaniam AK, Fagan MJ, Mehta T. A comparative study of aortic wall stress using finite element analysis for ruptured and non-ruptured abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2004;**28**:168–76.
- Heng MS, Fagan MJ, Collier JW, Desai G, McPollum PT, Chetter IC. Peak wall stress measurement in elective and acute abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg* 2008;**47**:17–22.

**BIBLIOGRAFÍA**



1. Dagenais F. Anatomy of the Thoracic Aorta and of Its Branches. *Thorac Surg Clin*. 2011;21(2):219–27.
2. Feller I, Woodburne RT. Surgical Anatomy of Abdominal Aorta. *Ann Surg*. 1961;154(Suppl 6):239.
3. Pearce WH, Slaughter MS, LeMaire S, Salyapongse AN, Feinglass J, McCarthy WJ, et al. Aortic diameter as a function of age, gender, and body surface area. *Surgery* [Internet]. 1993;114(4):691–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8211683>
4. Liddington MI, Heather BP. The relationship between aortic diameter and body habitus. *Eur J Vasc Surg*. 1992;6(1):89–92.
5. Hoogendam IJ, Van Rinsum AC OJ. The diameter of the distal abdominal aorta and the aetiology of local atheroma. *J Cardiovasc Surg*. 1984;25(5):408–13.
6. Halloran BG, Davis VA, McManus BM, Lynch TG, Baxter BT. Localization of aortic disease is associated with intrinsic differences in aortic structure. *J Surg Res* [Internet]. 1995;59(1):17–22. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022480485711262>
7. Wolinsky H, Glagov S. Comparison of abdominal and thoracic aortic medial structure in mammals. Deviation of man from the usual pattern. *Circ Res*. 1969;25(6):677–86.
8. Hollier LH, Stanson a W, Gloviczki P, Pairolero PC, Joyce JW, Bernatz PE, et al. Arteriomegaly: classification and morbid implications of diffuse aneurysmal disease. *Surgery* [Internet]. 1983;93(5):700–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6845177>
9. Johnston KW, Rutherford RB, Tilson MD, Shah DM, Hollier L, Stanley JC. Suggested standards for reporting on arterial aneurysms. *J Vasc Surg*. 1991;13(3):452–8.
10. Wanhainen A, Verzini F, Van Herzele I, Allaire E, Bown M, Cohnert T, et al. Editor's Choice – European Society for Vascular Surgery (ESVS) 2019 Clinical Practice Guidelines on the Management of Abdominal Aorto-iliac Artery Aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2019;57(1):8–93.
11. Evans GH, Stansby G HG. Suggested standards for reporting on arterial aneurysms.



- 
- J Vasc Surg. 1992;15(2):456.
12. PK S. Inflammation, metalloproteinases, and increased proteolysis: an emerging pathophysiological paradigm in aortic aneurysm. *Circulation*. 1997;96(7):2115–7.
  13. Skov Olsen P, Schroeder T, Agerskov K, Roder O, Sorensen S, Perko M, et al. Surgery for abdominal aortic aneurysms. A survey of 656 patients. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 1991;32(5):636–42.
  14. Conrad MF, Crawford RS, Davison JK, Cambria RP. Thoracoabdominal Aneurysm Repair: A 20-Year Perspective. *Ann Thorac Surg*. 2007;83(2):S856-61.
  15. Ailawadi G, Eliason JL UGJ. Current concepts in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysm 2003. *J Vasc Surg*. 2003;38(3):584–8.
  16. van der Vliet A, Boll A. Abdominal aortic aneurysm. *Lancet* [Internet]. 1997;349(9055):863–6. Available from:  
[http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736\(96\)07282-0.pdf](http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736(96)07282-0.pdf)
  17. Vega de Céniga M, Gómez R, Estallo L, de la Fuente N, Viviens B, Barba A. Analysis of Expansion Patterns in 4-4.9 cm Abdominal Aortic Aneurysms. *Ann Vasc Surg*. 2008;22(1):37–44.
  18. Norman PE, Jamrozik K, Lawrence-Brown MM, Le MTQ, Spencer C a, Tuohy RJ, et al. Population based randomised controlled trial on impact of screening on mortality from abdominal aortic aneurysm. *BMJ*. 2004;329(7477):1259.
  19. Wilmink TBM, Quick CRG, Hubbard CS, Day NE. The influence of screening on the incidence of ruptured abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 1999;30(2):203–8.
  20. Li X, Zhao G, Zhang J, Duan Z, Xin S. Prevalence and Trends of the Abdominal Aortic Aneurysms Epidemic in General Population - A Meta-Analysis. *PLoS One* [Internet]. 2013;8(12):e81260. Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.pone.0081260>
  21. Salcedo Jódar L, Alcázar Carmona P, Tenías Burillo JM, García Tejada R. Prevalencia del aneurisma de aorta abdominal en varones de 65-80 años de una población rural. *Semergen*. 2014;40(8):425–30.
  22. Sisó-Almirall A, Gilabert Solé R, Bru Saumell C, Kostov B, Mas Heredia M, González-de Paz L, et al. Utilidad de la ecografía portátil en el cribado del aneurisma de aorta abdominal y de la ateromatosis de aorta abdominal. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2013;141(10):417–22. Available from:

- <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025775313003205>
23. Barba Á, De Céniga MV, Estallo L, De La Fuente N, Viviens B, Izagirre M. Prevalence of abdominal aortic aneurysm is still high in certain areas of southern Europe. *Ann Vasc Surg.* 2013;27(8):1068–73.
  24. Wilmink ABM, Hubbard CS, Day NE, Quick CRG. The incidence of small abdominal aortic aneurysms and the change in normal infrarenal aortic diameter: Implications for screening. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2001;21(2):165–70.
  25. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Chute EP, Hye RJ, Makaroun MS, et al. The aneurysm detection and management study screening program: validation cohort and final results. Aneurysm Detection and Management Veterans Affairs Cooperative Study Investigators. *Arch Intern Med [Internet].* 2000;160(10):1425–30. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=485324>
  26. Wilmink ABM, Quick CRG. Epidemiology and potential for prevention of abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg.* 1998;85(2):155–62.
  27. Lilienfeld DE, Gunderson PD, Sprafka JM VC. Epidemiology of aortic aneurysms: I. Mortality trends in the United States , 1951 to 1981. *Arteriosclerosis.* 1987;7:637–43.
  28. Forsdahl SH, Singh K, Solberg S, Jacobsen BK. Risk factors for abdominal aortic aneurysms: a 7-year prospective study: the tromsø study, 1994 2001. *Circulation.* 2009;119(16):2202–8.
  29. Norman PE, Spilsbury K, Semmens JB. Falling rates of hospitalization and mortality from abdominal aortic aneurysms in Australia. *J Vasc Surg.* 2011;53(2):274–7.
  30. Elliot L, Chaikof, Ronald L, Dalman, Mark K, Eskandari, Benjamin M Jackson, W. Anthony Lee, M. Ashraf Mansour, Tara M. Mastracci, Matthew Mell, M. Hassan Murad, Louis L. Nguyen, Gustavo S. Oderich, Madhukar S. Patel MLS and BWS, Chaikof EL, Dalman RL, Eskandari MK, Jackson BM, Lee WA, et al. The Society for Vascular Surgery practice guidelines on the care of patients with an abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2018;67(1):2–77.
  31. Pleumeekers HJ, Hoes a W, van der Does E, van Urk H, Hofman a, de Jong PT, et al. Aneurysms of the abdominal aorta in older adults. The Rotterdam Study. *Am J Epidemiol.* 1995;142(12):1291–9.
  32. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Chute EP, Littooy FN, Bandyk D, et al.

- 
- Prevalence and associations of abdominal aortic aneurysm detected through screening. Aneurysm Detection and Management (ADAM) Veterans Affairs Cooperative Study Group. *Ann Intern Med* [Internet]. 1997;126(6):441–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9072929>
33. Baxter BT, Terrin MC, Dalman RL. Medical management of small abdominal aortic aneurysms. *Circulation*. 2008;117(14):1883–9.
  34. Lederle FA, Nelson DB, Joseph AM. Smokers' relative risk for aortic aneurysm compared with other smoking-related diseases: A systematic review. *J Vasc Surg*. 2003;38(2):329–34.
  35. Kent K, Zwolak R, Egorova N, Riles T, Manganaro A, Moskowitz A, et al. Analysis of risk factors for abdominal aortic aneurysm in a cohort of more than 3 million individuals. *J Vasc Surg* [Internet]. 2010;52(3):539–48. Available from: [http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med5&AN=20630687%5Cnhttp://gw2jh3xr2c.search.serialssolutions.com?url\\_ver=Z39.88-2004&rft\\_val\\_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:journal&rft\\_id=info:sid/Ovid:med5&rft.genre=article&rft\\_id=info:doi](http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med5&AN=20630687%5Cnhttp://gw2jh3xr2c.search.serialssolutions.com?url_ver=Z39.88-2004&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:journal&rft_id=info:sid/Ovid:med5&rft.genre=article&rft_id=info:doi)
  36. Johansen K, Koepsell T. Familial tendency for abdominal aortic aneurysms. *Jama* [Internet]. 1986;256(14):1934–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3761500>
  37. Larsson E, Granath F, Swedenborg J, Hultgren R. A population-based case-control study of the familial risk of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*. 2009;49(1):47–51.
  38. Adams DCR, Tulloh BR, Galloway SW, Shaw E, Tulloh AJ, Poskitt KR. Familial abdominal aortic aneurysm: Prevalence and implications for screening. *Eur J Vasc Surg*. 1993;7(6):709–12.
  39. Darling RC, Brewster DC, Darling RC, LaMuraglia GM, Moncure AC, Cambria RP, et al. Are familial abdominal aortic aneurysms different? *J Vasc Surg*. 1989;10(1):39–43.
  40. Clifton MA. Familial abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg* [Internet]. 1977;64(11):765–6. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=588966](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=588966)

41. Arnell TD, De Virgilio C, Donayre C, Grant E, Dennis Baker J, White R. Abdominal aortic aneurysm screening in elderly males with atherosclerosis: The value of physical exam. *Am Surg*. 1996;62(10):861–4.
42. Allardice JT, Allwright GJ, Wafula JM, Wyatt AP. High prevalence of abdominal aortic aneurysm in men with peripheral vascular disease: screening by ultrasonography. *Br J Surg*. 1988;75(3):240–2.
43. Graham LM, Zelenock GB, Whitehouse WM, Erlandson EE, Dent TL, Lindenauer SM, et al. Clinical significance of arteriosclerotic femoral artery aneurysms. *Arch Surg [Internet]*. 1980;115(4):502–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7362460>
44. Hak E, Balm R, Eikelboom BC, Akkersdijk GJM, Van der Graaf Y. Abdominal aortic aneurysm screening: An epidemiological point of view. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1996;11(3):270–8.
45. Deriu GP, Ballotta E. Natural history of ascending thrombosis of the abdominal aorta. *Am J Surg*. 1983;145(5):652–7.
46. Whitehouse WM, Wakefield TW, Graham LM, Kazmers a, Zelenock GB, Cronenwett JL, et al. Limb-threatening potential of arteriosclerotic popliteal artery aneurysms. *Surgery [Internet]*. 1983;93(5):694–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6845176>
47. Shapira OM, Pasik S, Wassermann JP, Barzilai N, Mashiah A. Ultrasound screening for abdominal aortic aneurysms in patients with atherosclerotic peripheral vascular disease. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 1990;31(2):170–2.
48. Long A, Bui HT, Barbe C, Henni AH, Journet J, Metz D, et al. Prevalence of Abdominal Aortic Aneurysm and Large Infrarenal Aorta in Patients With Acute Coronary Syndrome and Proven Coronary Stenosis: A Prospective Monocenter Study. *Ann Vasc Surg*. 2010;24(5):602–8.
49. van Lindert NH a, Bienfait HP, Gratama JWC, Vriesema H, Ten Hove W, Vermeulen EGJ, et al. Screening for aneurysm of the abdominal aorta: prevalence in patients with stroke or TIA. *Eur J Neurol [Internet]*. 2009;16(5):602–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19236464>
50. MacSweeney STR, O’Meara M, Alexander C, O’Malley MK, Powell JT, Greenhalgh RM. High prevalence of unsuspected abdominal aortic aneurysm in patients with confirmed symptomatic peripheral or cerebral arterial disease. *Br J*

- 
- Surg. 1993;80(5):582–4.
51. Bown MJ, Sutton AJ, Bell PRF, Sayers RD. A meta-analysis of 50 years of ruptured abdominal aortic aneurysm repair. *Br J Surg.* 2002;
  52. Hoornweg LL, Storm-Versloot MN, Ubbink DT, Koelemay MJW, Legemate DA, Balm R. Meta Analysis on Mortality of Ruptured Abdominal Aortic Aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2008;35(5):558–70.
  53. Darling RC, Messina CR, Brewster DC, Ottinger LW. Autopsy study of unoperated abdominal aortic aneurysms. The case for early resection. *Circulation [Internet].* 1977;56(3 Suppl):II161-4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/884821>
  54. Brown LC, Powell JT. Risk factors for aneurysm rupture in patients kept under ultrasound surveillance. UK Small Aneurysm Trial Participants. *Ann Surg.* 1999;230(3):287–9.
  55. Brown PM, Zelt DT, Sobolev B, Hallett JW, Sternbach Y. The risk of rupture in untreated aneurysms: The impact of size, gender, and expansion rate. *J Vasc Surg.* 2003;37(2):280–4.
  56. Cronenwett JL, Murphy TF, Zelenock GB, Whitehouse WM, Lindenauer SM, Graham LM, et al. Actuarial analysis of variables associated with rupture of small abdominal aortic aneurysms. *Surgery [Internet].* 1985;98(3):472–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3898453>
  57. Norman PE, Powell JT. Abdominal aortic aneurysm: The prognosis in women is worse than in men. *Circulation.* 2007;115(22):2865–9.
  58. Reed WW, Hallett JW, Damiano MA, Ballard DJ. Learning from the last ultrasound. A population-based study of patients with abdominal aortic aneurysm. *Arch Intern Med [Internet].* 1997;157(18):2064–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9382661>
  59. Scott RAP, Tisi P V., Ashton HA, Allen DR. Abdominal aortic aneurysm rupture rates: A 7-year follow-up of the entire abdominal aortic aneurysm population detected by screening. *J Vasc Surg.* 1998;28(1):124–8.
  60. Conway KP, Byrne J, Townsend M, Lane IF. Prognosis of patients turned down for conventional abdominal aortic aneurysm repair in the endovascular and sonographic era: Szilagyi revisited? *J Vasc Surg.* 2001;33(4):752–7.
  61. Lederle F a, Johnson GR, Wilson SE, Ballard DJ, Jordan WD, Blebea J, et al.

- Rupture rate of large abdominal aortic aneurysms in patients refusing or unfit for elective repair. *JAMA*. 2002;287(22):2968–72.
62. Thompson a R, Cooper J a, Ashton H a, Hafez H. Growth rates of small abdominal aortic aneurysms correlate with clinical events. *Br J Surg* [Internet]. 2010;97(1):37–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20013940>
  63. Stonebridge P a, Draper T, Kelman J, Howlett J, Allan PL, Prescott R, et al. Growth rate of infrarenal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1996;11(1):70–3.
  64. Sofi F, Marcucci R, Giusti B, Pratesi G, Lari B, Sestini I, et al. High levels of homocysteine, lipoprotein (a) and plasminogen activator inhibitor-1 are present in patients with abdominal aortic aneurysm. *Thromb Haemost*. 2005;94(5):1094–8.
  65. Powell JT, Brown LC, Greenhalgh RM, Thompson SG. The rupture rate of large abdominal aortic aneurysms: is this modified by anatomical suitability for endovascular repair? *Ann Surg* [Internet]. 2008;247(1):173–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18156938>
  66. Limet R, Sakalihassan N, Albert A. Determination of the expansion rate and incidence of rupture of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 1991;14(4):540–8.
  67. Hatakeyama T, Shigematsu H, Muto T. Risk factors for rupture of abdominal aortic aneurysm based on three-dimensional study. *J Vasc Surg*. 2001;33(3):453–61.
  68. Lindholt JS, Heegaard NHH, Vammen S, Fasting H, Henneberg EW, Heickendorff L. Smoking, but not lipids, lipoprotein (a) and antibodies against oxidised LDL, is correlated to the expansion of abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2001;21(1):51–6.
  69. Lindholt JS, Juul S, Vammen S, Lind I, Fasting H, Henneberg EW. Immunoglobulin A antibodies against *Chlamydia pneumoniae* are associated with expansion of abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg*. 1999;86(5):634–8.
  70. Brady AR, Thompson SG, Greenhalgh RM PJ. Cardio-vascular risk factors and abdominal aortic aneurysm expansion: only smoking counts. US small aneurysm trial participants. *Br J Surg*. 2003;90:491–2.
  71. Eriksson P, Jones KG, Brown LC, Greenhalgh RM, Hamsten a, Powell JT. Genetic approach to the role of cysteine proteases in the expansion of abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg* [Internet]. 2004;91(1):86–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14716800>
  72. Dalman RL, Tedesco MM, Myers J, Taylor CA. AAA disease: Mechanism,

- 
- stratification, and treatment. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1085:92–109.
73. Mani K, Wanhainen A, Lundkvist J, Lindström D. Cost-effectiveness of intensive smoking cessation therapy among patients with small abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 2011;54(3):628–36.
  74. Sweeting MJ, Thompson SG, Brown LC, Powell JT. Meta-analysis of individual patient data to examine factors affecting growth and rupture of small abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg.* 2012;99(5):655–65.
  75. Brown PM, Sobolev B, Zelt DT. Selective management of abdominal aortic aneurysms smaller than 5.0 cm in a prospective sizing program with gender-specific analysis. *J Vasc Surg.* 2003;38(4):762–5.
  76. Chang JB, Stein TA, Liu JP, Dunn ME. Risk factors associated with rapid growth of small abdominal aortic aneurysms. *Surgery.* 1997;121(2):117–22.
  77. Spencer C, Jamrozik K, Kelly S, Bremner P, Norman P. Is there an association between chronic lung disease and abdominal aortic aneurysm expansion? *ANZ J Surg.* 2003;73(10):787–9.
  78. Schouten O, van Laanen JHH, Boersma E, Vidakovic R, Feringa HHH, Dunkelgrün M, et al. Statins are associated with a reduced infrarenal abdominal aortic aneurysm growth. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006;32(1):21–6.
  79. Vega de Ceniga M, Gomez R, Estallo L, Rodriguez L, Baquer M, Barba A. Growth rate and associated factors in small abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006;31(3):231–6.
  80. Simoni G, Beghello A, Buscaglia M, Ermirio D, Caprio J. [Growth rate of abdominal aortic aneurysms. Ultrasounds study and clinical outcome]. *Minerva Cardioangiol.* 2002;50(4):371–7.
  81. Schewe CK, Schweikart HP, Hammel G, Spengel FA, Zöllner N, Zoller WG. Influence of selective management on the prognosis and the risk of rupture of abdominal aortic aneurysms. *Clin Investig.* 1994;72(8):585–91.
  82. Brady AR, Thompson SG, Fowkes FGR, Greenhalgh RM, Powell JT. Abdominal aortic aneurysm expansion: Risk factors and time intervals for surveillance. *Circulation.* 2004;110(1):16–21.
  83. Solberg S, Singh K, Wilsgaard T, Jacobsen BK. Increased growth rate of abdominal aortic aneurysms in women. The Tromsø study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* [Internet]. 2005;29(2):145–9. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15649720>
84. Sukhija R, Aronow WS, Sandhu R, Kakar P, Babu S, Kertai MD, et al. Mortality and size of abdominal aortic aneurysm at long-term follow-up of patients not treated surgically and treated with and without statins. *Am J Cardiol* [Internet]. 2006;97(2):279–80. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16442379>
  85. Schlösser FJ V, Tangelder MJD, Verhagen HJM, van der Heijden GJMG, Muhs BE, van der Graaf Y, et al. Growth predictors and prognosis of small abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 2008;47(6):1127–33.
  86. Ferguson CD, Clancy P, Bourke B, Walker PJ, Dear A, Buckenham T, et al. Association of statin prescription with small abdominal aortic aneurysm progression. *Am Heart J*. 2010;159(2):307–13.
  87. Periard D, Guessous I, Mazzolai L, Haesler E, Monney P, Hayoz D. Reduction of small infrarenal abdominal aortic aneurysm expansion rate by statins. *Vasa* [Internet]. 2012;41(1):35–42. Available from:  
<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=medl&NEWS=N&AN=22247058>
  88. Buijs RVC, Willems TP, Tio RA, Boersma HH, Tielliu IFJ, Slart RHJA, et al. Calcification as a risk factor for rupture of abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2013;46(5):542–8.
  89. Vantrimpont PJMJ, van Dalen BM, van Riemsdijk-van Overbeeke IC, Maat APWM, Balk AHMM. Abdominal aortic aneurysms after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2004;23(2):171–7.
  90. Cron DC, Coleman DM, Sheetz KH, Englesbe MJ, Waits SA. Aneurysms in abdominal organ transplant recipients. *J Vasc Surg*. 2014;59(3):594–8.
  91. Collin J. The epidemiology of abdominal aortic aneurysm. *Br J Hosp Med*. 1988;40:64–7.
  92. Castleden WM, Mercer JC. Abdominal aortic aneurysms in Western Australia: Descriptive epidemiology and patterns of rupture. *Br J Surg*. 1985;72(2):109–12.
  93. Rinckenbach S, Albertini JN, Thaveau F, Steinmetz E, Camin A, Ohanessian L, et al. Prehospital Treatment of Infrarenal Ruptured Abdominal Aortic Aneurysms: A Multicentric Analysis. *Ann Vasc Surg*. 2010;24(3):308–14.
  94. Assar AN, Zarins CK. Ruptured abdominal aortic aneurysm: a surgical emergency



- 
- with many clinical presentations. *Postgrad Med J* [Internet]. 2009;85(1003):268–73. Available from: <http://pmj.bmj.com/cgi/doi/10.1136/pgmj.2008.074666>
95. Chaikof EL, Brewster DC, Dalman RL, Makaroun MS, Illig KA, Sicard GA, et al. The care of patients with an abdominal aortic aneurysm: The Society for Vascular Surgery practice guidelines. *J Vasc Surg*. 2009;50(4 SUPPL.).
  96. Tromp G, Kuivaniemi H, Hinterseher I, Carey DJ. Novel genetic mechanisms for aortic aneurysms. *Curr Atheroscler Rep*. 2010;12(4):259–66.
  97. Boddy AM, Lenk GM, Lillvis JH, Nischan J, Kyo Y, Kuivaniemi H. Basic research studies to understand aneurysm disease. *Drug News Perspect* [Internet]. 2008;21(3):142–8. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=medc&NEWS=N&AN=18560612>
  98. Kuivaniemi H, Tromp G, Carey DJ, Elmore JR. The molecular biology and genetics of aneurysms. In: *Molecular and Translational Vascular Medicine*. 2012. p. 3–33.
  99. Stather PW, Sidloff DA, Dattani N, Gokani VJ, Choke E, Sayers RD, et al. Meta-analysis and meta-regression analysis of biomarkers for abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg*. 2014;101(11):1358–72.
  100. Kobayashi M, Matsubara J, Matsushita M, Nishikimi N, Sakurai T NY. Expression of angiogenesis and angiogenic factors in human aortic vascular disease. *J Surg Res*. 2002;106:239–45.
  101. Thompson MM, Jones L, Nasim A, Sayers RD, Bell PR. Angiogenesis in abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1996;11(4):464–9.
  102. Holmes DR, Liao S, Parks WC, Hompson RW. Medial neovascularization in abdominal aortic aneurysms: A histopathologic marker of aneurysmal degeneration with pathophysiologic implications. *J Vasc Surg*. 1995;21(5):761–71.
  103. Choke E, Thompson MM, Dawson J, Wilson WRW, Sayed S, Loftus IM, et al. Abdominal aortic aneurysm rupture is associated with increased medial neovascularization and overexpression of proangiogenic cytokines. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(9):2077–82.
  104. Paik DC, Fu C, Bhattacharya J, Tilson MD. Ongoing angiogenesis in blood vessels of the abdominal aortic aneurysm. *Exp Mol Med*. 2004;36(6):524–33.
  105. Camacho M, Dilmé J, Solà-Vilà D, Rodríguez C, Bellmunt S, Sigüero L, et al. Microvascular COX-2/mPGES-1/EP-4 axis in human abdominal aortic aneurysm. *J*

- Lipid Res. 2013;54(12):3506–15.
106. Sagan A, Mrowiecki W, Mikolajczyk TP, Urbanski K, Siedlinski M, Nosalski R, et al. Local inflammation is associated with aortic thrombus formation in abdominal aortic aneurysms relationship to clinical risk factors. *Thromb Haemost.* 2012;108(5):812–23.
  107. Golledge J, Iyer V, Jenkins J, Bradshaw B, Cronin O, Walker PJ. Thrombus volume is similar in patients with ruptured and intact abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 2014;59(2):315–20.
  108. Koole D, Zandvoort HJA, Schoneveld A, Vink A, Vos JA, Van Den Hoogen LL, et al. Intraluminal abdominal aortic aneurysm thrombus is associated with disruption of wall integrity. *J Vasc Surg.* 2013;57(1):77–83.
  109. Schurink GWH, Van Baalen JM, Visser MJT, Van Bockel JH. Thrombus within an aortic aneurysm does not reduce pressure on the aneurysmal wall. *J Vasc Surg.* 2000;31(3):501–6.
  110. Hinnen JW, Koning OHJ, Visser MJT, Van Bockel HJ. Effect of intraluminal thrombus on pressure transmission in the abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2005;42(6):1176–82.
  111. Li ZY, U-King-Im J, Tang TY, Soh E, See TC, Gillard JH. Impact of calcification and intraluminal thrombus on the computed wall stresses of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2008;47(5):928–35.
  112. Wang DHJ, Makaroun MS, Webster MW, Vorp DA. Effect of intraluminal thrombus on wall stress in patient-specific models of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2002;36(3):598–604.
  113. Thubrikar MJ, Robicsek F, Labrosse M, Chervenkov V, Fowler BL. Effect of thrombus on abdominal aortic aneurysm wall dilation and stress. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2003;44(1):67–77.
  114. Speelman L, Schurink GWH, Bosboom EMH, Buth J, Breeuwer M, van de Vosse FN, et al. The mechanical role of thrombus on the growth rate of an abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2010;51(1):19–26.
  115. Stenbaek J, Kalin B, Swedenborg J. Growth of thrombus may be a better predictor of rupture than diameter in patients with abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2000;20(5):466–9.
  116. Haller SJ, Crawford JD, Courchaine KM, Bohannon CJ, Landry GJ, Moneta GL, et

- 
- al. Intraluminal thrombus is associated with early rupture of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*. 2018;67(4):1051–8.
117. Behr Andersen C, Lindholt JS, Urbonavicius S, Halekoh U, Jensen PS, Stubbe J, et al. Abdominal Aortic Aneurysms Growth Is Associated With High Concentrations of Plasma Proteins in the Intraluminal Thrombus and Diseased Arterial Tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018;38(9):2254–67.
118. Hinterseher I, Schworer CM, Lillvis JH, Stahl E, Erdman R, Gatalica Z, et al. Immunohistochemical analysis of the natural killer cell cytotoxicity pathway in human abdominal aortic aneurysms. *Int J Mol Sci*. 2015;16(5):11196–212.
119. Lenk GM, Tromp G, Weinsheimer S, Gatalica Z, Berguer R, Kuivaniemi H. Whole genome expression profiling reveals a significant role for immune function in human abdominal aortic aneurysms. *BMC Genomics*. 2007;16(8):237.
120. Choke E, Cockerill GW, Laing K, Dawson J, Wilson WRW, Loftus IM, et al. Whole Genome-expression Profiling Reveals a Role for Immune and Inflammatory Response in Abdominal Aortic Aneurysm Rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009;37(3):305–10.
121. Pahl MC, Erdman R, Kuivaniemi H, Lillvis JH, Elmore JR, Tromp G. Transcriptional (ChIP-Chip) analysis of ELF1, ETS2, RUNX1 and STAT5 in human abdominal aortic aneurysm. *Int J Mol Sci*. 2015;16(5):11229–58.
122. Lei XF, Kim-Kaneyama JR, Arita-Okubo S, Offermanns S, Itabe H, Miyazaki T, et al. Identification of Hic-5 as a novel scaffold for the MKK4/p54 JNK pathway in the development of abdominal aortic aneurysms. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(3).
123. Kuivaniemi H, Platsoucas CD, Tilson MD. Aortic aneurysms: An immune disease with a strong genetic component. *Circulation*. 2008;117(2):242–52.
124. Shimizu K, Shichiri M, Libby P, Lee RT, Mitchell RN. Th2-predominant inflammation and blockade of IFN- $\gamma$  signaling induce aneurysms in allografted aortas. *J Clin Invest*. 2004;114(2):300–8.
125. Schönbeck U, Sukhova GK, Gerdes N, Libby P. TH2 predominant immune responses prevail in human abdominal aortic aneurysm. *Am J Pathol*. 2002;161(2):499–506.
126. Ait-Oufella H, Wang Y, Herbin O, Bourcier S, Potteaux S, Joffre J, et al. Natural regulatory T cells limit angiotensin II-induced aneurysm formation and rupture in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(10):2374–9.

127. Pasquinelli G, Preda P, Gargiulo M, Vici M, Cenacchi G, Stella A, et al. An immunohistochemical study of inflammatory abdominal aortic aneurysms 2. *J SubmicroscCytolPathol*. 1993;25(1):103–12.
128. Shreibati JB, Baker LC, Hlatky MA, Mell MW. Impact of the Screening Abdominal Aortic Aneurysms Very Efficiently (SAAAVE) Act on Abdominal Ultrasonography Use Among Medicare Beneficiaries. *Arch Intern Med* [Internet]. 2012;172(19):1456. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinternmed.2012.4268>
129. Fink H, Lederle F, Roth C, Bowles C, Nelson D, Haas M. The accuracy of physical examination to detect abdominal aortic aneurysm. *Arch Intern Med* [Internet]. 2000;160(6):833–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10737283>
130. Lederle FA, Simel DL. The rational clinical examination. Does this patient have abdominal aortic aneurysm? . *JAMA* [Internet]. 1999;281(1):77–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9892455>
131. Van Walraven C, Wong J, Morant K, Jennings A, Jetty P, Forster AJ. Incidence, follow-up, and outcomes of incidental abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 2010;52(2).
132. Van Walraven C, Wong J, Morant K, Jennings A, Austin PC, Jetty P, et al. The influence of incidental abdominal aortic aneurysm monitoring on patient outcomes. *J Vasc Surg*. 2011;54(5).
133. Muzaffar R, Kudva G, Nguyen NC, Osman MM. Incidental diagnosis of thrombus within an aneurysm on 18F-FDG PET/CT: frequency in 926 patients. *J Nucl Med* [Internet]. 2011;52(9):1408–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21816969>
134. Lanitis S, Zacharioudakis C, Zafeiriadou P, Armoutides V, Karaliotas C, Sgourakis G. Incidental findings in trauma patients during focused assessment with sonography for trauma. *Am Surg* [Internet]. 2012;78(3):366–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22524779>
135. van Walraven C, Wong J, Morant K, Jennings A, Austin PC, Jetty P, et al. Radiographic monitoring of incidental abdominal aortic aneurysms: a retrospective population-based cohort study. *Open Med* [Internet]. 2011;5(2):e67-76. Available

- 
- from:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3147999&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
136. Lederle FA, Reinke DB, WJM, Lederle FA, Walker JM, Reinke DB. Selective screening for abdominal aortic aneurysms with physical examination and ultrasound. *Arch Intern Med* [Internet]. 1988;148(8):1753–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.1988.00380080049015>
  137. Lindholt JS, Vammen S, Juul S, Henneberg EW, Fasting H. The validity of ultrasonographic scanning as screening method for abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1999;17(6):472–5.
  138. Scott RA, Wilson NM, Ashton HA, KD. Influence of screening on the incidence of ruptured abdominal aortic aneurysm: 5-year results of a randomized controlled study. *Br J Surg*. 1995;82:1066–70.
  139. Lindholt JS, Juul S, Fasting H, Henneberg EW. Screening for abdominal aortic aneurysms: single centre randomised controlled trial. *BMJ* [Internet]. 2005;330(7494):750. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=555873&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  140. Ashton HA, Buxton MJ, Day NE, Kim LG, Marteau TM, Scott RA, et al. The Multicentre Aneurysm Screening Study (MASS) into the effect of abdominal aortic aneurysm screening on mortality in men: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002;360(9345):1531–9.
  141. Singh K, Bønaa KH, Jacobsen BK, Bjørk L, Solberg S. Prevalence of and risk factors for abdominal aortic aneurysms in a population-based study: The Tromsø Study. *Am J Epidemiol* [Internet]. 2001;154(3):236–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11479188>
  142. Medical Advisory Secretariat. Ultrasound screening for abdominal aortic aneurysm: an evidence-based analysis. *Ontario Health Technol Assessment Ser*. 2006;6:2.
  143. Thompson SG, Ashton HA, Gao L, Buxton MJ, Scott RAP. Final follow-up of the Multicentre Aneurysm Screening Study (MASS) randomized trial of abdominal aortic aneurysm screening. *Br J Surg*. 2012;99(12):1649–56.
  144. Fleming C, Whitlock EP, Beil TL, Lederle FA. Screening for abdominal aortic

- aneurysm: A best-evidence systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2005;142(3):203–11.
145. Scott R a P, Bridgewater SG, Ashton H a. Randomized clinical trial of screening for abdominal aortic aneurysm in women. *Br J Surg [Internet].* 2002;89(3):283–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11872050>
146. LeFevre ML. Screening for abdominal aortic aneurysm: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med.* 2014;161(4):281–90.
147. Kent KC, Zwolak RM, Jaff MR, Hollenbeck ST, Thompson RW, Schermerhorn ML, et al. Screening for abdominal aortic aneurysm: A consensus statement. *J Vasc Surg.* 2004;39(1):267–9.
148. Alund M, Mani K, Wanhainen A. Selective Screening for Abdominal Aortic Aneurysm among Patients Referred to the Vascular Laboratory. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2008;35(6):669–74.
149. Xunta de Galicia. Eficacia y efectividad del cribado de aneurisma de aorta abdominal en población de riesgo. Análisis coste-efectividad. Aplicabilidad en el Sistema Nacional de Salud. *Inf 2007/1.* 2007.
150. Beales L, Wolstenhulme S, Evans JA, West R, Scott DJA. Reproducibility of ultrasound measurement of the abdominal aorta. *Br J Surg.* 2011;98(11):1517–25.
151. Chiu KWH, Ling L, Tripathi V, Ahmed M, Shrivastava V. Ultrasound measurement for abdominal aortic aneurysm screening: A direct comparison of the three leading methods. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2014;47(4):367–73.
152. LaRoy LL, Cormier PJ, Matalon TA, Patel SK, Turner DA, Silver B. Imaging of abdominal aortic aneurysms. *AJR Am J Roentgenol.* 1989;152(4):785–92.
153. Mohler ER, Gornik HL, Gerhard-Herman M, Misra S, Olin JW, Zierler RE. ACCF/ACR/AIUM/ASE/ASN/ICAVL/SCAI/SCCT/SIR/SVM/SVS 2012 Appropriate use criteria for peripheral vascular ultrasound and physiological testing part I: Arterial ultrasound and physiological testing. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(3):242–76.
154. Petersen MJ, Cambria RP, Kaufman JA, LaMuraglia GM, Gertler JP, Brewster DC, et al. Magnetic resonance angiography in the preoperative evaluation of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 1995;21(6):891–9.
155. Lee SI, Mueller PR TJ. Managing incidental findings on abdominal CT: White Paper of the ACR Incidental Findings Committee. *J AM Coll Radiol.* 2011;8(2):3–

- 
- 4.
156. Martín-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Tuñón J, Muñoz-García B, Madrigal-Matute J, Moreno JA, et al. Biomarkers in Cardiovascular Medicine. *Rev Esp Cardiol*. 2009;62(6):677–88.
157. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010;5(6):463–6.
158. Mark Richards A. New Biomarkers in Heart Failure: Applications in Diagnosis, Prognosis, and Guidance of Therapy. *Rev Española Cardiol (English Ed)*. 2010;63(6):635–9.
159. Iqbal N, Alim KS, Aramin H, Iqbal F, Green E, Higginbotham E, et al. Novel biomarkers for heart failure. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2013;11(9):1155–69.
160. Groeneveld ME, Meekel JP, Rubinstein SM, Merkestein LR, Tangelder GJ, Wisselink W, et al. Systematic review of circulating, biomechanical, and genetic markers for the prediction of abdominal aortic aneurysm growth and rupture. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(13).
161. Sidloff DA, Stather PW, Choke E, Bown MJ, Sayers RD. A systematic review and meta-analysis of the association between markers of hemostasis and abdominal aortic aneurysm presence and size. *J Vasc Surg*. 2014;59(2):528–35.
162. Diehm N, Baumgartner I. D-dimer measurement: A useful prognostic marker in surveillance of patients with abdominal aortic aneurysm? *Eur Heart J*. 2011;32(3):258–60.
163. Golledge J, Muller R, Clancy P, McCann M, Norman PE. Evaluation of the diagnostic and prognostic value of plasma D-dimer for abdominal aortic aneurysm. *Eur Heart J*. 2011;32(3):354–64.
164. Wong YYE, Golledge J, Flicker L, McCaul KA, Hankey GJ, Van Bockxmeer FM, et al. Plasma total homocysteine is associated with abdominal aortic aneurysm and aortic diameter in older men. *J Vasc Surg*. 2013;58(2):364–70.
165. Cao H, Hu X, Zhang Q, Li J, Wang J, Shao Y, et al. Homocysteine level and risk of abdominal aortic aneurysm: A meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(1).
166. Folsom AR, Yao L, Alonso A, Lutsey PL, Missov E, Lederle FA, et al. Circulating Biomarkers and Abdominal Aortic Aneurysm Incidence: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation [Internet]*. 2015;132(7):578–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26085454>

167. Hellenthal FAMVI, Pulinx B, Welten RJTJ, Teijink JAW, Van Dieijen-Visser MP, Wodzig WKWH, et al. Circulating biomarkers and abdominal aortic aneurysm size. *J Surg Res.* 2012;176(2):672–8.
168. Flondell-Sí D, Lindblad B, Kölbel T, Gottsäter A. Markers of proteolysis, fibrinolysis, and coagulation in relation to size and growth rate of abdominal aortic aneurysms. *Vasc Endovascular Surg.* 2010;44(4):262–8.
169. Karaolanis G, Moris D, Palla VV, Karanikola E, Bakoyiannis C, Georgopoulos S. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL) as a Biomarker. Does It Apply in Abdominal Aortic Aneurysms? A Review of Literature. *Indian J Surg.* 2015;77(s3):1313–7.
170. Ramos-Mozo P, Rodriguez C, Pastor-Vargas C, Blanco-Colio LM, Martinez-Gonzalez J, Meilhac O, et al. Plasma profiling by a protein array approach identifies IGFBP-1 as a novel biomarker of abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis.* 2012;221(2):544–50.
171. Hieshima K, Imai T, Opdenakker G, Van Damme J, Kusuda J, Tei H, et al. Molecular Cloning of a Novel Human CC Chemokine Liver and Activation-regulated Chemokine (LARC) Expressed in Liver. *J Biol Chem* [Internet]. 1997;272(9):5846–53. Available from: <http://www.jbc.org/content/272/9/5846>
172. Rossi DL, Vicari AP, Franz-Bacon K, McClanahan TK, Zlotnik A. Identification through bioinformatics of two new macrophage proinflammatory human chemokines: MIP-3alpha and MIP-3beta. *J Immunol* [Internet]. 1997;158(3):1033–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9013939>
173. Schutyser E, Struyf S, Van Damme J. The CC chemokine CCL20 and its receptor CCR6. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14(5):409–26.
174. Hromas R, Kim CH, Klemsz M, Krathwohl M, Fife K, Cooper S, et al. Isolation and characterization of Exodus-2, a novel C-C chemokine with a unique 37-amino acid carboxyl-terminal extension. *J Immunol (Baltimore, Md 1950).* 1997;158(6):2554–8.
175. Meissner A, Zilles O, Varona R, Jozefowski K, Ritter U, Marquez G, et al. CC chemokine ligand 20 partially controls adhesion of naive B cells to activated endothelial cells under shear stress. *Blood.* 2003;102(8):2724–7.
176. Kriehuber E, Breiteneder-Geleff S, Groeger M, Soleiman A, Schoppmann SF, Stingl G, et al. Isolation and Characterization of Dermal Lymphatic and Blood Endothelial Cells Reveal Stable and Functionally Specialized Cell Lineages. *J Exp Med.*



- 
- 2001;194(6):797–808.
177. Scapini P, Laudanna C, Pinardi C, Allavena P, Mantovani A, Sozzani S, et al. Neutrophils produce biologically active macrophage inflammatory protein-3 $\alpha$  (MIP-3 $\alpha$ )/CCL20 and MIP-3 $\beta$ /CCL19. *Eur J Immunol.* 2001;31(7):1981–8.
  178. Cella M, Fuchs A, Vermi W, Facchetti F, Otero K, Lennerz JKM, et al. A human natural killer cell subset provides an innate source of IL-22 for mucosal immunity. *Nature.* 2009;457(7230):722–5.
  179. Yamazaki T, Yang XO, Chung Y, Fukunaga A, Nurieva R, Pappu B, et al. CCR6 Regulates the Migration of Inflammatory and Regulatory T Cells. *J Immunol.* 2008;181(12):8391–401.
  180. Bowman EP, Campbell JJ, Soler D, Dong Z, Manlongat N, Picarella D, et al. Developmental switches in chemokine response profiles during B cell differentiation and maturation. *J Exp Med.* 2000;191(8):1303–18.
  181. Shimizu Y, Murata H, Kashii Y, Hirano K, Kunitani H, Higuchi K, et al. CC-chemokine receptor 6 and its ligand macrophage inflammatory protein 3 $\alpha$  might be involved in the amplification of local necroinflammatory response in the liver. *Hepatology.* 2001;34(2):311–9.
  182. Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C. Regulation of dendritic cell recruitment by chemokines. *Transplantation.* 2002;73(1 Suppl):S7-11.
  183. Schutyser E, Struyf S, Menten P, Lenaerts J-P, Conings R, Put W, et al. Regulated Production and Molecular Diversity of Human Liver and Activation-Regulated Chemokine/Macrophage Inflammatory Protein-3 from Normal and Transformed Cells. *J Immunol.* 2000;165(8):4470–7.
  184. Baba M, Imai T, Nishimura M, Kakizaki M, Takagi S, Hieshima K, et al. Identification of CCR6, the specific receptor for a novel lymphocyte- directed CC chemokine LARC. *J Biol Chem.* 1997;272(23):14893–8.
  185. Ito T, Carson WF, Cavassani KA, Connett JM, Kunkel SL. CCR6 as a mediator of immunity in the lung and gut. *Exp Cell Res.* 2011;317(5):613–9.
  186. Lee AYS, Eri R, Lyons AB, Grimm MC, Korner H. CC chemokine ligand 20 and its cognate receptor CCR6 in mucosal T cell immunology and inflammatory bowel disease: Odd couple or axis of evil? *Front Immunol.* 2013;15(4):194.
  187. Comerford I, Bunting M, Fenix K, Haylock-Jacobs S, Litchfield W, Harata-Lee Y, et al. An immune paradox: How can the same chemokine axis regulate both immune

- tolerance and activation?: CCR6/CCL20: A chemokine axis balancing immunological tolerance and inflammation in autoimmune disease. *BioEssays*. 2010;32(12):1067–76.
188. Hedrick MN, Lonsdorf AS, Hwang ST, Farber JM. CCR6 as a possible therapeutic target in psoriasis. *Expert Opin Ther Targets*. 2010;14(9):911–22.
189. Arima Y, Harada M, Kamimura D, Park JH, Kawano F, Yull FE, et al. Regional neural activation defines a gateway for autoreactive T cells to cross the blood-brain barrier. *Cell*. 2012;148(3):447–57.
190. Brand OJ, Somanath S, Moermans C, Yanagisawa H, Hashimoto M, Cambier S, et al. Transforming growth factor- $\beta$  and interleukin-1 $\beta$  signaling pathways converge on the chemokine CCL20 promoter. *J Biol Chem*. 2015;290(23):14717–28.
191. Maegdefessel L, Spin JM, Raaz U, Eken SM, Toh R, Azuma J, et al. MiR-24 limits aortic vascular inflammation and murine abdominal aneurysm development. *Nat Commun*. 2014;31(5):5214.
192. Kim CW, Kumar S, Son DJ, Jang IH, Griendling KK, Jo H. Prevention of abdominal aortic aneurysm by anti-MicroRNA-712 or anti-MicroRNA-205 in angiotensin II-infused mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(7):1412–21.
193. Iyer V, Rowbotham S, Biros E, Bingley J, Golledge J. A systematic review investigating the association of microRNAs with human abdominal aortic aneurysms. *Atherosclerosis*. 2017;261:78–89.
194. Vorp DA. Biomechanics of abdominal aortic aneurysm. *J Biomech*. 2007;40(9):1887–902.
195. Fillinger MF, Marra SP, Raghavan ML, Kennedy FE. Prediction of rupture risk in abdominal aortic aneurysm during observation: Wall stress versus diameter. *J Vasc Surg*. 2003;37(4):724–32.
196. Fillinger MF, Raghavan ML, Marra SP, Cronenwett JL, Kennedy FE. In vivo analysis of mechanical wall stress and abdominal aortic aneurysm rupture risk. *J Vasc Surg*. 2002;36(3):589–97.
197. Venkatasubramaniam AK, Fagan MJ, Mehta T, Mylankal KJ, Ray B, Kuhan G, et al. A comparative study of aortic wall stress using finite element analysis for ruptured and non-ruptured abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Surg*. 2004;28(2):168–76.
198. Vande Geest JP, Wang DHJ, Wisniewski SR, Makaroun MS, Vorp DA. Towards a

- 
- noninvasive method for determination of patient-specific wall strength distribution in abdominal aortic aneurysms. *Ann Biomed Eng.* 2006;34(7):1098–106.
199. Truijers M, Pol JA, SchultzeKool LJ, van Sterkenburg SM, Fillinger MF, Blankensteijn JD. Wall Stress Analysis in Small Asymptomatic, Symptomatic and Ruptured Abdominal Aortic Aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2007;33(4):401–7.
200. Hall AJ, Busse EF, McCarville DJ BJ. Aortic wall tension as a predictive factor for abdominal aortic aneurysm rupture: improving the selection of patients for abdominal aortic aneurysm repair. *Ann Vasc Surg.* 2000;14:152–7.
201. Sonesson B, Sandgren T LT. Abdominal aortic aneurysm wall mechanics and their relation to risk of rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1999;18:487–93.
202. Roccabianca S, Figueroa CA, Tellides G HJ. Quantification of regional differences in aortic stiffness in the aging human. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2014;29:618–34.
203. Raaz U, Zollner AM, Schellinger IN, Toh R, Nakagami F BM et al. Segmental aortic stiffening contributes to experimental abdominal aortic aneurysm development. *Circulation.* 2015;131:1783–95.
204. Gasser TC. Biomechanical Rupture Risk Assessment - A consistent and objective decision-making tool for Abdominal Aortic Aneurysm patients. *Aorta.* 2016;4(2):42–60.
205. Gasser TC, Nchimi A, Swedenborg J, Roy J, Sakalihasan N, Böckler D, et al. A novel strategy to translate the biomechanical rupture risk of abdominal aortic aneurysms to their equivalent diameter risk: Method and retrospective validation. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2014;47(3):288–95.
206. Khosla S, Morris DR, Moxon JV, Walker PJ, Gasser TC GJ. Meta-analysis of peak wall stress in ruptured, symptomatic and intact abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg.* 2014;101(11):1350–7.
207. Indrakusuma R, Jalalzadeh H, Planken RN, Marquering HA, Legemate DA, Koelemay MJW, et al. Biomechanical Imaging Markers as Predictors of Abdominal Aortic Aneurysm Growth or Rupture: A Systematic Review. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2016;52(4):475–86.
208. P- Erhat, A Hyhlik-Dürr, P Geisbüsch, D. Kotelis, M.Müller-Eschner, TC Gasser, H von Tengg-Kobligk DB, Erhart P, Hyhlik-Dürr A, Geisbüsch P, Kotelis D, Müller-

- Eschner M, et al. Finite Element Analysis in Asymptomatic, Symptomatic, and Ruptured Abdominal Aortic Aneurysms: In search of New Rupture Risk Predictors. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2015;49(3):239–45.
209. Tong J, Cohnert T HG. Diameter-related variations of geometrical, mechanical, and mass fraction data in the anterior portion of abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2015;49(3):262–70.
210. Martufi G, Lindquist Liljeqvist M, Sakalihan N, Panuccio G, Hultgren R, Roy J, et al. Local Diameter, Wall Stress, and Thrombus Thickness Influence the Local Growth of Abdominal Aortic Aneurysms. *J Endovasc Ther.* 2016;23(6):957–66.
211. Polzer S, Gasser TC, Swedenborg J, Bursa J. The impact of intraluminal thrombus failure on the mechanical stress in the wall of abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2011;41(4):467–73.
212. Lindquist Liljeqvist M, Hultgren R, Gasser TC, Roy J. Volume growth of abdominal aortic aneurysms correlates with baseline volume and increasing finite element analysis-derived rupture risk. *J Vasc Surg.* 2016;63(6):1434e3-1442e3.
213. Teutelink A, Cancrinus E, Van De Heuvel D, Moll F, De Vries JP. Preliminary intraobserver and interobserver variability in wall stress and rupture risk assessment of abdominal aortic aneurysms using a semiautomatic finite element model. *J Vasc Surg.* 2012;55(2):326–30.
214. Lahoz C, Esteban Gracia C, Reinares García L, Bellmunt Montoya S, Brea Hernando Á, Fernández Heredero Á, et al. Recomendaciones de la guía para el diagnóstico y tratamiento del aneurisma de aorta abdominal. *Clin e Investig en Arterioscler.* 2015;27(3):159–65.
215. Stewart A, Evers Paul S, Earnshaw Jonathan J. Prevention of infection in arterial reconstruction. *Cochrane Database Syst Rev [Internet].* 2006;19(3):CD003073. Available from:  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD003073.pub2/abstract>
216. Volodos NL, Karpovich IP, Troyan VI, Kalashnikova Y V., Shekhanin VE, Ternyuk NE, et al. Clinical experience of the use of self-fixing synthetic prostheses for remote endoprosthetics of the thoracic and the abdominal aorta and iliac arteries through the femoral artery and as intraoperative endoprosthesis for aorta reconstruction. *Vasa - J Vasc Dis.* 1991;20(SUPPL. 33):93–5.
217. Parodi JC, Palmaz JC, Barone HD. Transfemoral Intraluminal Graft Implantation

- 
- for Abdominal Aortic Aneurysms. *Ann Vasc Surg.* 1991;5(6):491–9.
218. Duffy JMN, Rolph R, Clough RE, Modarai B, Taylor P, Waltham M. Stent graft types for endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. *Cochrane database Syst Rev [Internet]*. 2013;3(APRIL):CD008447. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23543563>
219. Koole D, Moll FL, Buth J, Hobo R, Zandvoort HJA, Bots ML, et al. Annual rupture risk of abdominal aortic aneurysm enlargement without detectable endoleak after endovascular abdominal aortic repair. *J Vasc Surg.* 2011;54(6):1614–22.
220. Patel R1, Sweeting MJ2, Powell JT1 GRE trial investigators. Endovascular versus open repair of abdominal aortic aneurysm in 15-years' follow-up of the UK endovascular aneurysm repair trial 1 (EVAR trial 1): a randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;12(388):2366–74.
221. Powell JT, Sweeting MJ, Thompson MM, Ashleigh R, Bell R, Gomes M, et al. Endovascular or open repair strategy for ruptured abdominal aortic aneurysm: 30 day outcomes from IMPROVE randomised trial. *BMJ.* 2014;348:f7661.
222. Lesperance K, Andersen C, Singh N, Starnes B, Martin MJ. Expanding use of emergency endovascular repair for ruptured abdominal aortic aneurysms: Disparities in outcomes from a nationwide perspective. *J Vasc Surg.* 2008;47(6):1165–71.
223. Mureebe L, Egorova N, Giacobelli JK, Gelijns A, Kent KC, McKinsey JF. National trends in the repair of ruptured abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 2008;48(5):1101–7.
224. Freestone T, Turner RJ, Coady A, Higman DJ, Greenhalgh RM, Powell JT. Inflammation and matrix metalloproteinases in the enlarging abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15(8):1145–51.
225. McMillan WD, Tamarina NA, Cipollone M, Johnson DA, Parker MA, Pearce WH. Size matters: The relationship between MMP-9 expression and aortic diameter. *Circulation.* 1997;96(7):228–32.
226. Dilmé JF, Bellmunt S, Camacho M, Solà-Vilà D, Romero JM, Escudero JR, et al. Influence of cardiovascular risk factors on levels of matrix metalloproteinases 2 and 9 in human abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2014;48(4):374–81.
227. Duca L, Blaise S, Romier B, Laffargue M, Gayral S, El Btaouri H, et al. Matrix

- ageing and vascular impacts: Focus on elastin fragmentation. *Cardiovasc Res*. 2016;110(3):298–308.
228. Li Y-F, Zhang S-X, Ma X-W, Xue Y-L, Gao C, Li X-Y. Levels of peripheral Th17 cells and serum Th17-related cytokines in patients with multiple sclerosis: A meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord* [Internet]. 2017;18:20–5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211034817302067>
229. Kosmaczewska A, Swierkot J, Cizak L, Wiland P. The role of Th1, Th17, and Treg cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis including anti-inflammatory action of Th1 cytokines. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2011;65:397–403.
230. Melnik BC1, John SM1, Chen W2 PG. Th17/Treg imbalance in hidradentitis suppurativa/acne inversa: the link to hair follicle dissection, obesity, smoking, and autoimmune comorbidities. *Br J Dermatol*. 2018;179(2):260–72.
231. Jafarzadeh A, Bagherzadeh S, Ebrahimi HA, Hajghani H, Bazrafshani MR, Khosravimashizi A, et al. Higher circulating levels of chemokine CCL20 in patients with multiple sclerosis: Evaluation of the influences of chemokine gene polymorphism, gender, treatment and disease pattern. *J Mol Neurosci*. 2014;53(3):500–5.
232. Abii F, Pollock RA, Liang K, Chandran V GD. Th17 gene expression in psoriatic arthritis synovial fluid and peripheral blood compared to osteoarthritis and cutaneous psoriasis. *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36(3):486–9.
233. Maciejewski BA, Jamieson KC, Arnason JW, Kooi C, Wiehler S, Traves SL, et al. Rhinovirus-bacteria coexposure synergistically induces CCL20 production from human bronchial epithelial cells. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol* [Internet]. 2017;312(5):L731–40. Available from: <http://ajplung.physiology.org/lookup/doi/10.1152/ajplung.00362.2016>
234. Demedts IK, Bracke KR, Van Pottelberge G, Testelmans D, Verleden GM, Vermassen FE, et al. Accumulation of dendritic cells and increased CCL20 levels in the airways of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175(10):998–1005.
235. Sun D, Ouyang Y, Gu Y LX. Cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease is attenuated by CCL20-blocker: a rat model. *Croat Med J*. 2016;57(4):363–70.
236. Badger SA, O'Donnell ME, Sharif MA, McMaster C, Young IS SC. The role of

- 
- smoking in abdominal aortic aneurysm development. *Angiology*. 2009;60(1):115–9.
237. Heng MS, Fagan MJ, Collier JW, Desai G, McCollum PT, Chetter IC. Peak wall stress measurement in elective and acute abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 2008;47(1):17–22.
238. Malkawi AH, Hinchliffe RJ, Xu Y, Holt PJ, Loftus IM, Thompson MM. Patient-specific biomechanical profiling in abdominal aortic aneurysm development and rupture. *J Vasc Surg*. 2010;52(2):480–8.
239. Erhart P, Grond-Ginsbach C, Hakimi M, Lasitschka F, Dihlmann S, Böckler D, et al. Finite Element Analysis of Abdominal Aortic Aneurysms: Predicted Rupture Risk Correlates With Aortic Wall Histology in Individual Patients. *J Endovasc Ther*. 2014;21(4):556–64.
240. Raghavan ML, Vorp DA, Federle MP, Makaroun MS, Webster MW. Wall stress distribution on three-dimensionally reconstructed models of human abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*. 2000;31(4):760–9.
241. Shang EK, Nathan DP, Woo EY, Fairman RM, Wang GJ, Gorman RC, Gorman JH 3rd JB. Local wall thickness in finite element models improves prediction of abdominal aortic aneurysm growth. *J Vasc Surg*. 2015;61(1):217–23.

**ANEXO**





## ORIGINAL ARTICLE

## Finite element analysis in symptomatic and asymptomatic abdominal aortic aneurysms for aortic disease risk stratification

Begoña SOTO <sup>1</sup>, Luis VILA <sup>1</sup>, Jaume DILMÉ <sup>1</sup>, Jose-Román ESCUDERO <sup>1</sup>,  
Sergi BELLMUNT <sup>2</sup>\*, Mercedes CAMACHO <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Angiology, Vascular Biology and Inflammation, Department of Angiology, Vascular and Endovascular Surgery, Institute of Biomedical Research (II-B Sant Pau), Santa Creu i Sant Pau/Dos de Mayo Hospital, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; <sup>2</sup>Department of Vascular and Endovascular Surgery, Vall d'Hebron Hospital, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

\*Corresponding author: Sergi Bellmunt, Department of Angiology, Vascular and Endovascular Surgery, Vall d'Hebron Hospital, Universitat Autònoma de Barcelona, Passeig de la Vall d'Hebron, 119-129 Barcelona, Spain. E-mail: [sbellmunt@vhebron.net](mailto:sbellmunt@vhebron.net)

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Advanced biomechanical models can provide additional information concerning rupture risk in abdominal aortic aneurysms (AAA). Here we evaluated the predictive value of finite element analysis (FEA) to assess AAA rupture risk.

**METHODS:** In a case-control study, we compared FEA parameters in a group of symptomatic AAA (sAAA) patients, considered as a high risk of rupture group, with FEA parameters in asymptomatic AAA patients (aAAA).

**RESULTS:** We included 15 sAAA and 28 aAAA patients matched for age- and maximum diameter diagnosed with infrarenal non-ruptured AAA at our center between 2009 and 2013. Mean age was 75±69 years and mean maximum diameter was 77±17 mm. Peak wall stress (PWS) was significantly higher in sAAA patients than in aAAA patients (354.3±139.6 kPa vs. 248.6±81.9 kPa; P=0.001). The C statistic for the ROC curve based on PWS was 0.748 (95% CI: 0.592-0.903; P=0.008). CART analysis classified patients into high and low PWS groups. The high-PWS group (>305.15 kPa; N=15) had a higher incidence of sAAA (33.3% aAAA, 66.7% sAAA) than the low-PWS-group (≤305.15 kPa; N=28. 82.1% aAAA, 17.9% sAAA).

**CONCLUSIONS:** In conclusion, PWS was significantly higher in sAAA patients. Measuring PWS may help estimate the individual rupture risk in patients with AAA, but larger studies are needed to confirm our results.

(Cite this article as: Soto B, Vila L, Dilmé J, Escudero JR, Bellmunt S, Camacho M. Finite element analysis in symptomatic and asymptomatic abdominal aortic aneurysms for aortic disease risk stratification. *Int Angiol* 2018;37:479-85. DOI: 10.23736/S0392-9590.18.03994-9)

**KEY WORDS:** Finite element analysis - Abdominal aortic aneurysms - Risk assessment.

Abdominal aortic aneurysms are usually asymptomatic (aAAA),<sup>1</sup> but between 5% and 22% of patients present with clinical symptoms (sAAA) such as abdominal pain, back pain, or embolic events. As the presence of symptoms increase the risk of AAA rupture, patients with symptomatic AAA should undergo repair.<sup>2,4</sup> Management of these cases is urgent surgical repair. Endovascular repair appears to be the preferable option when anatomically suitable.<sup>5,6</sup>

Management of elective infra-renal asymptomatic AAA depends on the size and aims to achieve a balance between

the risk of rupture and possible surgical mortality. A surveillance policy has shown to be safe for small aneurysms (maximum diameter of 4.0-5.5 cm)<sup>7</sup> but rapidly expanding aneurysms (more than 0.5 cm over six months or 1 cm over 1 year) and those with a maximum diameter of over 5.5 cm are considered at high risk of rupture, so surgical repair is indicated.<sup>5, 8, 9</sup>

The maximum diameter of an aortic aneurysm, however, is not the only predictor of rupture risk. Ruptured AAA do not always have a maximum diameter greater than 5.5 cm, and smaller AAA may also have complications.<sup>10</sup> Further-

more, among patients with a similar maximum diameter, some develop symptoms and others do not. sAAA have a higher risk of rupture than aAAA but the factors involved in increasing the risk of rupture in sAAA patients are not fully understood. Understanding these factors could be useful to determine the risk of rupture in AAA.

Finite elements analysis (FEA) may help understand these questions. Using FEA, three-dimensional geometry of an AAA can be reconstructed from computed tomography angiogram (CTA) data. Such simulation allows to combine geometrical information (from CTA) with data from biomechanical testing (properties) and use the data provided to calculate stress for any individual aneurysm at a given blood pressure. We can thus obtain geometrical variables such as lumen, intraluminal thrombus (ILT), total diameters and volumes.<sup>11</sup> We may also calculate biomechanical variables such as peak wall stress (PWS), which is defined as the maximum stress that the aortic wall can support. Evaluating geometric and biomechanical variables using FEA could provide a better prediction of the rupture risk of an AAA than the maximum diameter.<sup>12</sup> There is increasing evidence that biomechanical factors may be more reliable in predicting AAA rupture than maximum diameter alone.<sup>13</sup>

The aim of our study was to compare biomechanical parameters from FEA in patients with asymptomatic and symptomatic AAAs with a comparable maximum AAA diameter and age.

## Materials and methods

### Patient selection and design

In this case control study, all consecutive patients admitted to our center from July 2009 until December 2013 with infrarenal AAA associated symptoms were considered for the study as sAAA. Patients were defined as symptomatic if they had an intact, non-ruptured AAA on CT scanning accompanied by abdominal, back or groin pain not justified for other causes. In order to discard other causes of pain we got blood analytics, radiological or ultrasound exams when needed. We also dispose of the evaluation of an emergency physician that confirms the differential diagnosis. Using data from the hospital database, we created a matched control group of consecutive patients with aAAA. For each sAAA we selected two aAAA controls based on age and maximum diameter, in order to avoid these two parameters as confounding variables. As a first step, we selected for each symptomatic patient all asymptomatic patients with

the most similar maximum diameter. At a later stage, we selected the pair of patients that fit better for age. In case of multiple coincidence in terms of diameter and age, we selected the patients treated as close as possible to the date of our sAAA. The control patients were matched for age and maximum diameter AAA. We chose the patients with the closest match for these two variables. Exclusion criteria were juxtarenal aneurysms and thoracic-abdominal aneurysms (we excluded visceral arteries on the FEA analysis as they can be a discordant factor), mycotic aneurysms, ruptured aneurysms, and lack of available CTA images.

### Evaluation

The clinical data obtained were: comorbidities, including diabetes mellitus (DM, all types), regular blood pressure (from the hospital database) and blood pressure immediately before CTA, dyslipidemia (total cholesterol >200 mg/dL), renal insufficiency (creatinine >150 µmol/L), cerebrovascular disease (history of stroke, transient ischemic attack, or a major neurological deficit), heart disease (history of myocardial infarction, angina pectoris, or previous coronary intervention), lung disease (chronic obstructive pulmonary disease), smoking (in the last year), and peripheral artery disease. Patients' weight and height were also recorded.

### Finite elements analysis

We performed FEA using the A4clinics-Research Edition™ VASCOPS® Vascular Diagnosis software on CTA from all patients. The analysis was performed by a single experienced investigator. The process was divided into three steps. The first step was to reconstruct the vessel wall from CTA data. In all cases, analysis was performed from the infrarenal aorta to the iliac bifurcation. This reconstruction was semi-automatic, capturing internal and external surfaces of the vessel. Also, the intraluminal thrombus is reconstructed if present. We controlled this step and the image was corrected when necessary. The software showed us a tridimensional image of the AAA with AAA layers in different colors (Figure 1A, B). The second step was the segmentation. This step was automatic, the software generated a mesh on the AAA surfaces in order to create a finite number of elements allowing the mathematical calculations (Figure 1C). The third step was also automatic, performing the calculation of the morphological and biomechanical parameters. The mathematical formulas used in this step are property of A4clinics-Research Edition™ VASCOPS® Vascular Diagnosis company.

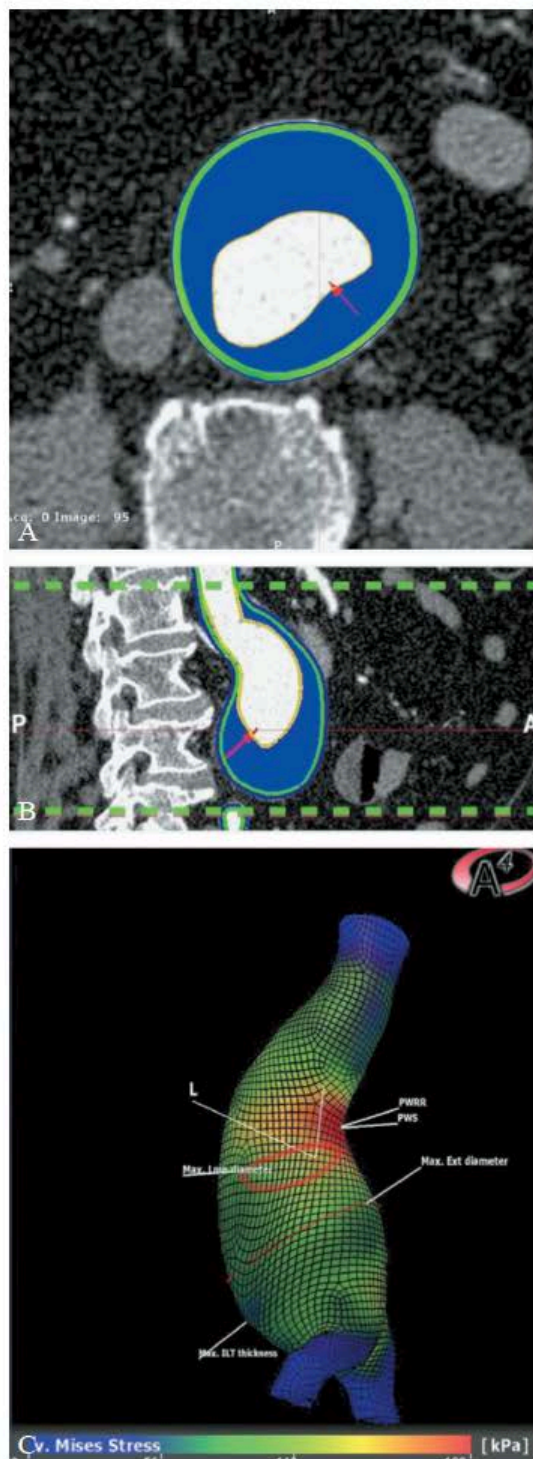


Figure 1.—Images from FEA; Transversal CTA slice (A), sagittal slice (B), and color-coded distribution of the wall stress (C).

The geometric variables determined were: maximum aneurysm diameter, maximum lumen diameter, maximum thickness of intraluminal thrombus (ILT), total volume of the aneurysm, total volume of lumen, and total volume of ILT.

The biomechanical variables determined were: peak wall stress (PWS), peak wall rupture risk (PWRR), and the rupture risk equivalent diameter (RRED). PSW was calculated as the maximal stress on the surface of the AAA wall based on aneurysm shape, diameter and blood pressure values. PWRR was computed as the local wall stress to local wall strength ratio. It included specific risk factors such as gender and intraluminal thrombus volume. The RRED reflects the diameter of an average AAA that undergoes the same Peak Wall Rupture Index (PWRI) as the individual case.

To avoid blood pressure as a confounder, we performed FEA assuming three pressure conditions in all cases. The first analysis was performed using blood pressure values at the moment of the CTA. The second analysis was performed simulating that all patients had a standard chronic arterial pressure of 140/70 mmHg. The third analysis simulated that patients had a hypertensive crisis; 200/100 mmHg.

#### Statistical analysis

SPSS and Sigma-Plot software were used for statistical analysis. The groups were compared using the chi-square test for categorical variables and the t-student test for normally distributed quantitative variables. The Mann-Whitney U-test was used for non-parametric data. The geometric and biomechanical variables were analyzed as covariances (ANCOVA). Lineal regression analysis was performed to identify independent predictors of the result of biomechanical variables. With the ROC curves, we calculate a cutoff point in the biomechanical parameters to evaluate their capacity to discriminate between symptomatic and asymptomatic patients. The continuous value of the parameters was analyzed using a classification and regression tree (CART) analysis, considering the symptomatic condition as a dependent variable. The CART analysis split the continuous data into segments that were as homogeneous as possible according to the dependent variable.

#### Data management

All clinical data were extracted from the electronic database at our center. All data were collected by the same investigator and stored on a computer with a personal key. The protocol was approved by the institutional review

This document is protected by international copyright laws. No additional reproduction is authorized. It is permitted for personal use to download and save only one file and print only one copy of this Article. It is not permitted to make additional copies (either sporadically or systematically, either printed or electronic) of the Article for any purpose. It is not permitted to distribute the electronic copy of the article through online internet and/or intranet file sharing systems, electronic mailing or any other means which may allow access to the Article. The use of all or any part of the Article for any Commercial Use is not permitted. The creation of derivative works from the Article is not permitted. It is not permitted to remove, cover, overlay, obscure, block, or change any copyright notices or terms of use which the Publisher may post on the Article. It is not permitted to frame or use framing techniques to enclose any trademark, logo, or other proprietary information of the Publisher.

board (protocol code: IIBS-FIN-2013-89). As this was a retrospective case series analysis, informed consent was not deemed necessary.

### Results

Data concerning 15 patients with sAAA and 28 patients with aAAA as controls were used in this study. Of the 15 symptomatic patients, 13 underwent AAA repair within 24 hours of admission, one declined treatment in a family and patient decision and one died from a ruptured AAA before undergoing open repair. Thirteen sAAA patients were matched to two controls in terms of age and maximum diameter. The remaining two sAAA patients were individually matched to only one control patient due to difficulties in finding two matched controls: one patient was 93 years old, and the other had an AAA with a diameter of 120 mm.

Table I shows the demographic and clinical data of all patients included in the study. Age, maximum diameter, weight, height, prevalence of dyslipidemia, chronic blood pressure, peripheral artery disease, ischemic heart disease and cerebrovascular disease were similar in both groups. The proportion of smokers was higher, and the proportion of diabetics was lower in the sAAA group. The punctual systolic and diastolic blood pressures were significantly higher in the sAAA patients. The values were 164.7±24.3 mmHg/91.6±17.2 mmHg in the sAAA group and 136.9±11.2 mmHg/74±7.9 mmHg in the aAAA group (P=0.001 and P=0.030, respectively).

TABLE I.—Demographics of the AAA patients included in the study.

Demographics	aAAA	sAAA	P value
Weight	78.25±12.71	70.40±10.33	0.589
Size, cm	169.07±6.38	168.27±4.85	0.609
Age, years	74.36±9.13	75.93±10.56	0.711
MD, mm	76.41±16.24	77.667±17.48	0.623
RSBP, mmHg	136.86±11.15	138.33±7.94	0.130
RDBP, mmHg	73.96±7.91	74.00±6.33	0.388
PSBP, mmHg	136.86±11.15	164.67±24.34	0.001*
PDBP, mmHg	73.96±7.91	91.60±17.18	0.030*
Dyslipidemia	60.7%	40%	0.194
HTN	71%	73%	0.894
Diabetes	36%	7%	0.037*
Smokers †	7%	21%	0.003*
PAD	11%	20%	0.402
BVD	11%	7%	0.663
IHD	25%	40%	0.307

Data presented as mean±SD or as percentage.

\*Statistically significant difference; † smoking during the last year. BVD: brain-vascular disease; HTN: chronic hypertension; IHD: ischemic heart disease; MD: maximum diameter; PAD: peripheral artery disease; PDBP: punctual diastolic blood pressure; PSBP: punctual systolic blood pressure; RDBP: regular diastolic blood pressure; RSBP: regular systolic blood pressure.

TABLE II.—Results of finite elements analysis.

Variable	aAAA	sAAA	P value
MD, mm	76.41±16.24	77.67±17.48	0.876
MDL, mm	51.35±19.92	52.65±20.48	0.977
MILT, mm	27.29±10.99	30.85±12.54	0.359
LV, cm <sup>3</sup>	161.62±168.27	165.38±119.85	0.886
AAAV, cm <sup>3</sup>	338.09±188.50	394.65±233.26	0.122
ILTV, cm <sup>3</sup>	140.81±81.92	192.49±123.37	0.067
PWS, kPa	248.60±81.85	354.25±139.62	0.001*
PWRR	0.712±0.45	0.927±0.55	0.090
RRED, mm	73.23±36.33	90.96±43.95	0.078

Data presented as mean±SD.

\*Statistically significant difference.

AAAV: AAA volume; ILTV: ILT volume; MD: maximum diameter AAA; MDL: maximum diameter lumen; MILT: maximum ILT; PWRR: peak wall rupture risk; PWS: peak wall stress; RRED: rupture risk equivalent diameter.

Table II shows the results of the FEA. From among the different parameters calculated by FEA, only PWS achieved statistically significant differences between the sAAA and aAAA patient groups; the PWS in the sAAA group was a mean of 106 kPa higher than in the aAAA group. The volume of ILT was higher in the sAAA group, with a mean difference of 51.68 cm<sup>3</sup>. However, this difference was not statistically different (P=0.067).

The FEA allowed us to simulate the PWS under different blood pressure conditions. In order to control the punctual blood pressure as a confounding factor, we performed the modelling under the assumption of a hypertensive crisis in both groups. PWS increased with a simulated hypertensive crisis 147±67 kPa in the sAAA group and 111±43 kPa in the aAAA group. The increase in the PWS value caused by the hypertensive crisis assumption was significantly higher (P=0.017) in the sAAA group.

As PWS was the only parameter from FEA that was statistically significant when comparing the sAAA and aAAA groups (Table II), we analyzed this parameter through the ROC curve in order to identify cut-off points related to sAAA. The C statistic for the ROC curve (Figure 2) based on PWS was 0.748 (CI 0.592-0.903; P=0.008). Using symptomatic condition as a dependent variable, we found the CART method classified patients into two categories: high PWS (PWS>305.15 kPa; N.=15, 35% [33% aAAA, 67% sAAA]), and low PWS (PWS≤305.15 kPa; N.=28, 65% [82% aAAA, 18% sAAA]).

### Discussion

The FEA was first developed and used in engineering and architecture but it has been increasingly applied in the medical field. FEA consists of computational modeling

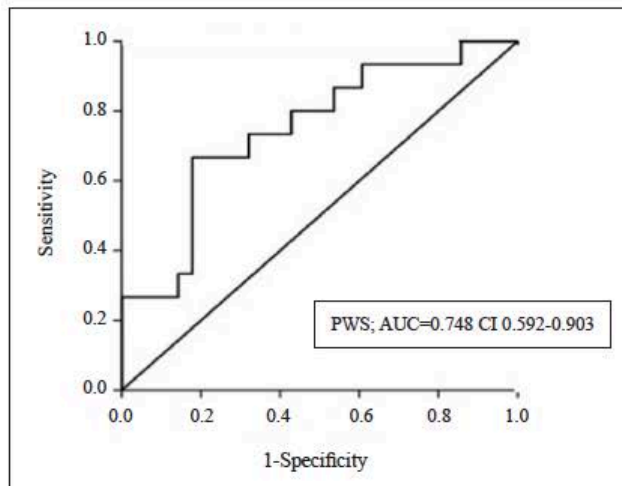


Figure 2. Receiver operating characteristic (ROC) curve for peak wall stress (PWS) related to symptomatic AAA (sAAA).

studies of AAA to examine the effect of mechanical wall stress and to reveal features that affect AAA mechanics. According to recent literature, it is a very promising tool and could potentially clarify many of the questions that we face in our practice. In a systematic review of the literature published in 2010, the authors considered that there is increasing evidence to support the use of patient-specific biomechanical profiling in AAA development and rupture, but validation of patient-specific biomechanical profiling has yet to occur in large population-based studies.<sup>13</sup>

Here, we applied FEA to symptomatic and asymptomatic patients with AAA. The sAAA is an infrequent but interesting group of patients that are considered to be at high risk of rupture. In patients with symptomatic AAA, the question always arises as to whether the aneurysm is the source of the symptoms. Symptomatic AAA patients were included with a carefully criteria. We considered sAAA when the patient has an intact AAA on CT scanning and current onset back, abdominal or groin pain not justified for other causes. In order to discard digestive, nephrourological, gynecological pathologies or others causes of pain we got blood analytics, radiological or ultrasound exams when needed. We also dispose of the evaluation of an emergency physician that confirms the differential diagnosis. Consistent with previous reports regarding the risk of AAA rupture,<sup>12, 14-16</sup> we provide evidence of a presumable relationship between PWS levels and the appearance of symptoms. Recent evidence supports PWS as the only parameter able to differentiate sAAA from aAAA in patients with a maximum diameter of over 65 mm.<sup>17</sup> Therefore,

high PWS could be associated with high risk of AAA rupture. Thus, accepting that sAAA are high risk AAA, we found PWS levels that could discriminate AAA at risk. With our limited results, an AAA with a PWS higher than 305.15 kPa could be considered a high risk of rupture, and a PWS under 305.15 kPa could be related to a low risk AAA. We cannot yet use these preliminary results in our clinical practice because we do not have a follow up of asymptomatic patients that might become symptomatic in the future. However, we consider it is an interesting field to continue investigating to evaluate the individual risk of each patient with an AAA. Currently, the main indication for treatment for asymptomatic patients is the maximum diameter of the AAA. Providing cut-off points could be very interesting and helpful in some aneurysms. The risk associated with the PWS value could help us confirm the treatment and it could also help prioritization of patients waiting for surgery.

In previous literature, ruptured aneurysms were included on the analysis. We did not include these patients for two reasons. The main reason refers to the concept of the PWS. When an AAA ruptures and we find free blood in the abdominal space on the CTA, the structure and probably the pressures on the aortic wall may have changed, and we are not sure if the methodology is validated for this situation. For this reason, we only included symptomatic AAA with a normal CTA.

The second reason for excluding ruptured AAA is the difficulties in performing FEA in these patients. In an article published in 2015,<sup>18</sup> the authors compared biomechanical rupture risk parameters in asymptomatic, symptomatic and ruptured AAA, using FEA. Although they included 15 patients with a ruptured AAA, six patients were excluded because of complex vessel morphology or contrast extravasation.

ILT is seen in most aneurysms of a relevant size. Its presence influences the proteolytic degradation of the aneurysmal wall. Clinical studies<sup>19</sup> have shown that increasing ILT heightens the risk of rupture with aneurysm. The ILT has mechanical properties that can affect the biomechanics of an aneurysm by influencing the magnitude and distribution of wall stress and thereby the resistance of the aneurysm. Gasser *et al.*<sup>20</sup> evaluated 50 patients; 20 had ruptured aneurysms and the control group of 30 patients had no complicated aneurysms. All the patients had a pre-emergent or elective CTA. Among their findings, the authors considered that the inclusion of ILT in the analysis increases the ability to predict the biomechanical simulation. Consistently, our results showed a higher volume of

ILT in sAAA, but the statistics failed to achieve significance to confirm this concept. The small sample size may have limited the possibility to demonstrate this difference.

As confirmed by the literature, systemic hypertension is associated with a high risk of rupture of AAA; the effective control of blood pressure is likely to diminish the risk of rupture.<sup>21</sup> In our series, when we performed the simulation of a hypertensive crisis, we found that PWS increased in all patients. With this result, we should consider the importance of correct blood pressure control in patients with AAA. Furthermore, the elevation of PWS was higher in the sAAA group than in the aAAA group, so blood pressure control could be crucial in this group of patients.

#### Limitations of the study

Several limitations of this study should be considered. As stated earlier, the main limitation is the small sample size, but the possibility to achieve a larger group of patients with sAAA is limited. Another factor of note is that our sAAA patient group included a higher number of smokers than the aAAA group. We know that smokers constitute an at-risk group for developing AAA and for having higher growth rates and a higher risk of rupture.<sup>22, 23</sup> Smoking could therefore be a confounding factor. DM was also less frequent in the sAAA group than in aAAA in our series. DM could also be a confounding factor, taking into account that some studies have reported a negative association between DM and aneurysm growth.<sup>24, 25</sup>

Regarding FEA, we must be aware of some limitations of the software used. The thickness and stiffness of the wall are estimated values that were determined on the basis of *ex-vivo* measurement studies.<sup>26</sup> These studies provided acceptable means for aortic thickness and wall strength to be included in the analysis for more realistic assessments. However, this estimate may be the weakness of this kind of analysis.

Although we found biomechanical differences between symptomatic and asymptomatic AAAs, further studies are needed to confirm a cut-off value of PWS to identify asymptomatic patients with an increased rupture risk.

#### Conclusions

In conclusion, finite element analysis revealed differences between symptomatic and asymptomatic AAA patients with comparable maximum AAA diameters and age. The parameter we found to be different between groups was PWS, being significantly elevated in the symptomatic

group. PWS also appeared to be the most sensitive parameter to differentiate asymptomatic from symptomatic AAAs. These values could perhaps discriminate patients with a high rupture risk, but larger studies are needed to confirm our results in individual patients.

#### References

1. Moll FL, Powell JT, Fraedrich G, Verzini F, Haulon S, Waltham M, *et al.*; European Society for Vascular Surgery. Management of abdominal aortic aneurysms clinical practice guidelines of the European society for vascular surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2011;41(Suppl 1):S1–58.
2. Sullivan CA, Rohrer MJ, Cutler BS. Clinical management of the symptomatic but unruptured abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg* 1990;11:799–803.
3. Franks S, Lloyd G, Fishwick G, Bown M, Sayers R. Endovascular treatment of ruptured and symptomatic abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006;31:345–50.
4. Leo E, Biancari F, Kechagias A, Ylönen K, Rainio P, Romsis P, *et al.* Outcome after emergency repair of symptomatic, unruptured abdominal aortic aneurysm: results in 42 patients and review of the literature. *Scand Cardiovasc J* 2005;39:91–5.
5. Chaikof EL, Brewster DC, Dalman RL, Makaroun MS, Illig KA, Sicard GA, *et al.*; Society for Vascular Surgery. The care of patients with an abdominal aortic aneurysm: the Society for Vascular Surgery practice guidelines. *J Vasc Surg* 2009;50(Suppl):S2–49.
6. Giles KA, Pomposelli FB, Hamdan AD, Wyers MC, Schermerhorn ML. Comparison of open and endovascular repair of ruptured abdominal aortic aneurysms from the ACS-NSQIP 2005-07. *J Endovasc Ther* 2009;16:365–72.
7. Filardo G, Powell JT, Martinez MA, Ballard DJ. Surgery for small asymptomatic abdominal aortic aneurysms. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;8:CD001835.
8. Conway KP, Byrne J, Townsend M, Lane IF. Prognosis of patients turned down for conventional abdominal aortic aneurysm repair in the endovascular and sonographic era: szilagyi revisited? *J Vasc Surg* 2001;33:752–7.
9. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Ballard DJ, Jordan WD Jr, Blebea J, *et al.*; Veterans Affairs Cooperative Study #417 Investigators. Rupture rate of large abdominal aortic aneurysms in patients refusing or unfit for elective repair. *JAMA* 2002;287:2968–72.
10. Darling RC, Messina CR, Brewster DC, Ottinger LW. Autopsy study of unoperated abdominal aortic aneurysms. The case for early resection. *Circulation* 1977;56(Suppl):III161–4.
11. Giannoglou G, Giannakoulas G, Soulis J, Chatzizisis Y, Perdikides T, Melas N, *et al.* Predicting the risk of rupture of abdominal aortic aneurysms by utilizing various geometrical parameters: revisiting the diameter criterion. *Angiology* 2006;57:487–94.
12. Venkatasubramanian AK, Fagan MJ, Mehta T, Mylankal KJ, Ray B, Kuhan G, *et al.* A comparative study of aortic wall stress using finite element analysis for ruptured and non-ruptured abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2004;28:168–76.
13. Malkawi AH, Hinchliffe RJ, Xu Y, Holt PJ, Loftus IM, Thompson MM. Patient-specific biomechanical profiling in abdominal aortic aneurysm development and rupture. *J Vasc Surg* 2010;52:480–8.
14. Fillinger MF, Raghavan ML, Marra SP, Cronenwett JL, Kennedy FE. In vivo analysis of mechanical wall stress and abdominal aortic aneurysm rupture risk. *J Vasc Surg* 2002;36:589–97.
15. Fillinger MF, Marra SP, Raghavan ML, Kennedy FE. Prediction of rupture risk in abdominal aortic aneurysm during observation: wall stress versus diameter. *J Vasc Surg* 2003;37:724–32.

16. Khosla S, Morris DR, Moxon JV, Walker PJ, Gasser TC, Golledge J. Meta-analysis of peak wall stress in ruptured, symptomatic and intact abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg* 2014;101:1350–7.
17. Soto B, Vila L, Dilmé JF, Escudero JR, Bellmunt S, Camacho M. Increased Peak Wall Stress, but Not Maximum Diameter, Is Associated with Symptomatic Abdominal Aortic Aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2017;54:706–11.
18. Erhart P, Hyhlik-Dürr A, Geisbüsch P, Kotelis D, Müller-Eschner M, Gasser TC, *et al.* Finite element analysis in asymptomatic, symptomatic, and ruptured abdominal aortic aneurysms: in search of new rupture risk predictors. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2015;49:239–45.
19. Stenbaek J, Kalin B, Swedenborg J. Growth of thrombus may be a better predictor of rupture than diameter in patients with abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000;20:466–9.
20. Gasser TC, Auer M, Labruto F, Swedenborg J, Roy J. Biomechanical rupture risk assessment of abdominal aortic aneurysms: model complexity versus predictability of finite element simulations. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2010;40:176–85.
21. Brown LC, Powell JT. Risk factors for aneurysm rupture in patients kept under ultrasound surveillance. UK Small Aneurysm Trial Participants. *Ann Surg* 1999;230:289–96.
22. Dalman RL, Tedesco MM, Myers J, Taylor CA. AAA disease: mechanism, stratification, and treatment. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1085:92–109.
23. Badger SA, O'Donnell ME, Sharif MA, McMaster C, Young IS, Soong CV. The role of smoking in abdominal aortic aneurysm development. *Angiology* 2009;60:115–9.
24. Brady AR, Thompson SG, Fowkes FG, Greenhalgh RM, Powell JT, UK Small Aneurysm Trial Participants. Abdominal aortic aneurysm expansion: risk factors and time intervals for surveillance. *Circulation* 2004;110:16–21.
25. Vega de Céniga M, Gómez R, Estallo L, Rodríguez L, Baquer M, Barba A, Vega de CM. Growth rate and associated factors in small abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006;31:231–6.
26. Raghavan ML, Vorp DA, Federle MP, Makaroun MS, Webster MW. Wall stress distribution on three-dimensionally reconstructed models of human abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg* 2000;31:760–9.

*Conflicts of interest.*—The authors certify that there is no conflict of interest with any financial organization regarding the material discussed in the manuscript.

*Funding.*—This study was partially supported by grants SAF2010-21392 and SAF2013-46707-R from the Spanish Ministry of Economy, Industry and Competitiveness (MINECO) and the Cardiovascular Research Network RD12/0042/0051 from the Instituto de Salud Carlos III. This research work was conducted as part of the Doctorate in Surgery Program of the Universidad Autónoma de Barcelona (UAB).

*Authors' contributions.*—Begoña Soto contributed to the design, interpretation of data, collected patients, wrote the article and approved the final version of the article. Luis Vila contributed to the design, analysis and interpretation of data, and approved the final version of the article. Jaume Dilmé contributed to the interpretation of data and approved the final version of the article. José-Román Escudero contributed to the interpretation of data and approved the final version of the article. Sergi Bellmunt contributed to the design, analysis and interpretation of data, wrote the article and approved the final version of the article. Mercedes Camacho contributed to the design, analysis and interpretation of data, and approved the final version of the article.

Article first published online: September 10, 2018. - Manuscript accepted: August 17, 2018. - Manuscript revised: August 16, 2018. - Manuscript received: March 11, 2018.