

Upalne stanice u stijenci aneurizme trbušne aorte aterosklerotskoga podrijetla

Pažur, Vedran

Doctoral thesis / Disertacija

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:444569>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Vedran Pažur

**Upalne stanice u stijenci aneurizme
trbušne aorte aterosklerotskoga podrijetla**

DISERTACIJA



Zagreb, 2018.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Vedran Pažur

**Upalne stanice u stijenci aneurizme
trbušne aorte aterosklerotskoga podrijetla**

DISERTACIJA

Zagreb, 2018.

Disertacija je izrađena u Zavodu za vaskularnu kirurgiju Klinike za kirurgiju i Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju Kliničke bolnice Merkur u Zagrebu

Voditelj rada: dr. sc. Ana Borovečki dr.med.

Hvala mojoj mentorici dr. sc. Ani Borovečki, dr.med., na volji, strpljenju, trudu i vremenu uloženom u pomoći izrade ovog rada.

Hvala prof.dr.sc. Slavku Gašparovu dr.med. i Suzani na pripremi preparata i izvedenoj imunohistokemiji.

Zahvaljujem se dr.sc. Sandi Šitić dr.med. na pomoći oko analize gotovih preparata.

Hvala prof.dr.sc. Branku Kolariću dr.med na pomoći oko analize dobivenih rezultata.

Hvala prof.dr.sc. Iki Kardum Skelin.

Hvala mojim kolegama sa Zavoda za vaskularnu kirurgiju KB Merkur.

Veliko hvala Marini, mami i obitelji na potpori.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Aneurizma trbušne aorte	1
1.1.1 Definicija, anatomija i epidemiologija aneurizme trbušne aorte	1
1.1.2 Uzroci nastanka aneurizme trbušne aorte	2
1.1.3 Praćenje i liječenje aneurizme trbušne aorte	2
1.2 Ateroskleroza	6
1.2.1 Čimbenici rizika i patogeneza ateroskleroze	9
1.2.2 Uloga endotelnog oštećenja u nastanku ateroskleroze	11
1.2.3 Uloga lipida u nastanku ateroskleroze	11
1.2.4 Uloga glatko mišićnih stanica u nastanku ateroskleroze	12
1.3 Uloga upale u nastanku ateroskleroze i aneurizme trbušne aorte	13
2. HIPOTEZA	17
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	18
3.1 Opći cilj	18
3.2 Specifični ciljevi	18
4. ISPITANICI I METODE	20
4.1 Ispitanici	20
4.2 Uzimanje uzoraka stijenske ATA i tkiva aorte	22
4.3 Obrada uzoraka ispitivanih skupina bolesnika i imunohistokemijsko bojenje	23
4.4 Određivanje broja upalnih stanica u ispitivanim uzorcima	24
4.5 Statistička analiza	25
5. REZULTATI	26
5.1 Vrsta i količina upalnih stanica – makrofaga, mastocita, limfocita B, plazma stanica, pomoćničkih CD4+ limfocita T, citotoksičnih CD8+ limfocita T i regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T u stijenci ATA	26
5.2 Morfološke karakteristike ATA	44
5.3 Usporedba vrste i količine ispitivanih upalnih stanica i morfoloških karakteristika ATA	45

5.4. Usporedba vrste i količine ispitivanih upalnih stanica ATA s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima i kliničkim čimbenicima rizika ateroskleroze	46
5.5 Usporedba morfoloških karakteristika ATA s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima i kliničkim čimbenicima rizika ateroskleroze	47
6. RASPRAVA	49
7. ZAKLJUČCI	56
8. SAŽETAK	58
9. SUMMARY	60
10. LITERATURA	63
11. ŽIVOTOPIS	73

Popis kratica

18F-FDG – *fluorodeoxyglucose 18*

AHA – *American Heart Association*

APC – stanice koje prezentiraju antigen (*Antigen Presenting Cells*)

ATA – aneurizma trbušne aorte

CAESAR - *Comparison of surveillance vs Aortic Endografting for Small Aneurysm Repair Trial*

CRP – C-reaktivni protein

CT – kompjuterizirana tomografija (*computerised tomography*)

DC – *Dendritic Cell*

DM – diabetes mellitus

DSA - digitalna subtrakcijska angiografija

ECM – ekstracelularni matriks

EVAR – *Endovascular Aortic Repair*, endovaskularni popravak aorte

FGF – *Fibroblast Growth Factor*

HDL - *High Density Lipoprotein*

IFN- γ – interferon gamma

IL-x - Interleukin X

ITM – indeks tjelesne mase

KOPB – kronična opstruktivna bolest pluća

LDL – *Low Density Lipoprotein*

MDCT – multidetektorski CT

MR – magnetska rezonanca

MSCT – *multislice CT*

NK stanice – Natural killer stanice

NO - dušikov monoksid

PDGF - *Platelet-Derived Growth Factor*

PIVOTAL - *Positive Impact of endoVascular Options for Treating Aneurysm earLy*

TGF- α - *Transforming Growth Factor Alpha*

TNF - *Tumor Necrosis Factor*

UZV – ultrazvuk

VCAM-1 - *Vascular Cell Adhesion Molecule-1*

1.UVOD

1.1 Aneurizma trbušne aorte

1.1.1 Definicija, anatomija i epidemiologija aneurizme trbušne aorte

Arterijska aneurizma je lokalno proširenje krvne žile u odnosu na nepromijenjenu arteriju. Aneurizma trbušne aorte (ATA) je patološko stanje definirano kao lokalno proširenje aorte koje prelazi više od 1.5x normalnog aortalnog promjera na razini bubrežnih arterija (1,2,3,4). Sam pojam riječi aneurizma dolazi iz grčkog jezika (grčki: „*aneuryno*“) i znači proširenje. Normalni arterijski promjer je varijabilan i ovisi o spolu, dobi i tjelesnoj visini. Ukoliko nema normalnog susjednog segmenta arterije definicija aneurizme tada se određuje primjenom procjene očekivanog promjera arterije. Difuzno arterijsko proširenje koje obuhvaća više segmenata s proširenjem u promjeru većim od 0.5x normalnog aortalnog promjera zove se „*arteriomegalia*“. Ovo stanje se razlikuje od višestrukih aneurizmi koje su odvojene od arterija normalnog promjera „*aneurismosis*“ (5,6,7,8). Arterijska dilatacija manja od 0.5x normalnog aortalnog promjera je „*ectasia*“.

Promjer aorte se smanjuje od prsnog dijela prema završnom dijelu u zdjelici. U većini slučajeva ATA počinju ispod bubrežnih arterija i završavaju iznad zdjelčnih arterija (9,10,11). Veličina, oblik i opseg ATA značajno varira. ATA mogu biti fuziformne (vretenaste) ili sakularne (vrećaste) (1,2,3,4). ATA mogu zahvaćati bubrežne arterije, ogranke za visceralne organe i zdjelčne arterije, odnosno ATA može biti i iznad bubrežnih arterija.

ATA najčešće zahvaća muškarce starije životne dobi. Prevalencija u muškaraca je 3 puta veća nego u žena. U Republici Hrvatskoj godišnje se zabilježi oko 2000 slučajeva aneurizmi abdominalne aorte, a prema europskim i svjetskim

epidemiološkim podacima u odnosu na broj stanovnika trebalo bi ih biti oko 7000 (12,13,14).

1.1.2 Uzroci nastanka aneurizme trbušne aorte

ATA obično nastaju uslijed propadanja medije arterijske stijenke, što dovodi s vremenom do proširenja lumena krvne žile (15,16,17,18). ATA se smatra stanje povezano s aterosklerozom i predstavlja jednu od komplikacija ateroskleroze (12,13,19,20)

U rijetkim slučajevima ATA mogu biti kongenitalne, povezane s bolestima vezivnog tkiva, infektivne, postdilatacijske i miješane (21,22,23,24).

Infekcije koje se najviše povezuju kao mogući uzročnik ateroskleroze su bakterija *Chlamidia pneumoniae* i virus Cytomegalovirus (25,26). Oba su uzročnika vrlo raširena i mogu inficirati stanice stijenke krvne žile i biti uzrokom latentne, perzistentne, ili rekurentne infekcije (26,27). Sam mehanizam kojim bakterije ili virusi utječu na nastanak ateroskleroze nije u potpunosti jasan (28,29). Pretpostavlja se da se radi o sekundarnoj infekciji lezije koja dalje doprinosi progresiji te lezije (29). Ekstravaskularna infekcija može utjecati na metabolizam lipida ili na otpuštanje cirkulirajućih upalnih medijatora (endotoksin, pro-inflamatorni citokini kao IL-6) (30,31). Infektivni organizmi mogu još i dodatno potencirati komplikacije postojećih aterosklerotskih lezija.

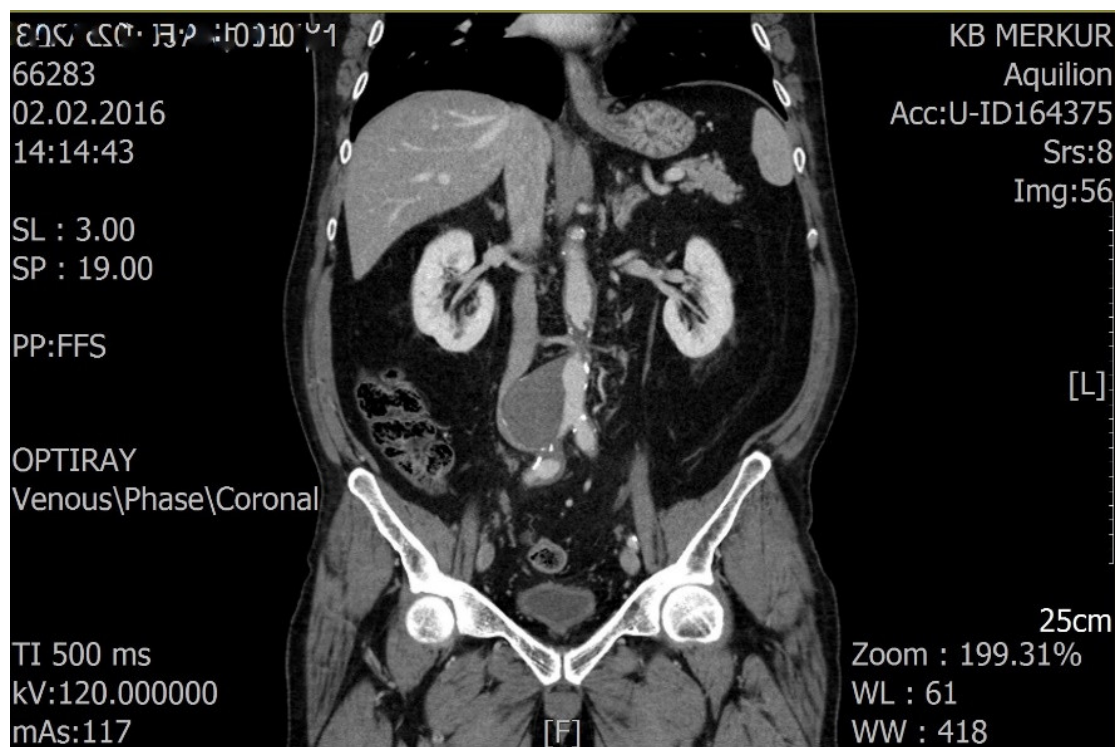
1.1.3 Praćenje i liječenje aneurizme trbušne aorte

Većina ATA je asimptomatskog tipa i mnoge aneurizme se otkriju slučajno prilikom različitih nevezanih dijagnostičkih postupaka (32,33,34).

Veličina aneurizme, njen morfološki tip i početak aneurizme u odnosu na nezahvaćeni dio aorte određuje daljnji pristup liječenju.

ATA se otkrivaju kliničkim pregledom i potvrđuju dijagnostičkim pretragama: ultrazvuk (UZV), kompjuteriziranom tomografijom (CT), magnetskom rezonancom (MR) i digitalnom subtrakcijskom aortografijom (DSA) (4,6,8,35,36,37). (Slika1) Navedenim pretragama ATA se prate do veličine kada ulaze u indikaciju za popravak, a to je najveći poprečni promjer aneurizme 5.5 cm kod muškaraca i 5 cm kod žena i progresija rasta aneurizme preko 0.5cm u 6 mjeseci. Metoda liječenja odabire se prema karakteristikama same aneurizmatske bolesti i općeg kliničkog stanja bolesnika. ATA se liječe kirurškim popravkom i endovaskularnim metodama liječenja aneurizme aorte EVAR (eng. „*Endovascular Aortic Repair*“) (38,39,40,41,42). (Slika 2) Kirurško liječenje aneurizme uključuje resekciju aneurizme i rekonstrukciju sintetskim graftom, dok endovaskularno liječenje podrazumijeva postavljanje endovaskularnog grafta perkutano uz minimalnu traumu za bolesnika (43,44,45).

Slika 1 - MSCT angiografija s prikazom ATA



Slika 2 - MSCT angiografija s prikazom stanja nakon popravka aneurizme postupkom EVAR (eng. „Endovascular Aortic Repair“)



1.2 Ateroskleroza

Aterosklerozu karakterizira prisustvo intimalne lezije zvane aterom. Ateroskleroza je kronično upalno-degenerativno stanje obilježeno stvaranjem lipidno vezivnog plaka intime prožetog upalnim stanicama i novostvorenim krvnim žilama, s posljedičnom destrukcijom i remodeliranjem izvanstaničnog matriksa i slojeva krvne žile (46,47,48,49). Aterosklerotski plakovi mogu mehanički ometati žilni lumen i imaju sklonost rupture, što rezultira trombozom žile. Plak također oslabljuje mediju i ponekad dovodi do formiranja aneurizme.

Aterosklerotski plakovi se najviše stvaraju u elastičnim arterijama i najčešće se javljaju u aorti, zdjeličnim arterijama, koronarnim arterijama, poplitealnim arterijama, karotidnim arterijama te arterijama Willisovog kruga. Trbušna aorta je znatno češće zahvaćena od prsne aorte.

Morfološki ateroskleroza označuje zadebljanje intime i nakupljanje lipida. Aterosklerotski plak je žarišna lezija intime. Plak je sastavljen od mekane žute lipidne srži (kolesterol i kolesterolski esteri) koja je pokrivena čvrstom bijelom fibroznom naslagom. Plakovi obično zahvaćaju dio opsega arterijske stijenke (ekscentrične lezije). Fokalni i rijetko raspoređeni na početku, postaju brojne difuzne lezije daljnjim napredovanjem bolesti. Komponente aterosklerotskog plaka su stanice (glatkomišićne stanice, makrofazi i drugi leukociti), ekstracelularna tvar (kolagen, elastična vlakna i proteoglikani), te intracelularni i ekstracelularni lipidi. U različitim plakovima ove komponente nalaze se u različitim omjerima. Površinski vezivni sloj čine glatkomišićne stanice i relativno gusta ekstracelularna tvar. Celularno područje ispod u kojem su makrofazi, glatkomišićne stanice i limfociti T. U središtu se nalazi nekrotična srž, u kojoj je amorfn masa lipida (prvenstveno kolesterol i kolesterolski esteri), kolesterolske pukotine, detritus mrtvih stanica, pjenušave stanice, fibrin, više ili manje organizirani tromb i drugi plazmatski proteini. Aterom ima relativno mnogo lipida, a fibrozni plakovi se pretežno sastoje od glatkomišićnih stanica i vezivnog tkiva (50). Aterosklerotski plak se progresivno mijenja, remodelira i povećava putem stanične smrti, sinteze i remodeliranja ekstracelularne tvari.

Aterosklerotske lezije smatraju se naprednim prema histološkim kriterijima kada su akumulacije lipida, stanica i komponenata matriksa, uključujući i minerale, povezane

sa strukturnom dezorganizacijom, popravkom i zadebljanjem intime, kao i deformacijom arterijskog zida. Lezije koje se smatraju naprednima mogu ili ne moraju suziti arterijski lumen, mogu ili ne moraju biti vidljive angiografijom i mogu ili ne moraju proizvesti kliničke manifestacije. Takve lezije mogu biti klinički značajne iako arterijski lumen nije sužen jer se iznenada mogu pojaviti komplikacije. Inicijalne, masne linije i međufazne lezije se klasificiraju kao vrste lezija I, II i III. Napredne aterosklerotske lezije također se mogu podijeliti u tri glavne histološki karakteristične vrste: IV, V i VI. Lezije tip I su inicijalne lezije s pokojom pjenušavom stanicom, tip II lezije su lezije s mnogo intracelularnog nakupljanja lipida tzv. masne crte. Lezije tipa III su kombinacija lezija tipa II i malog nakupljanja ekstracelularnog lipida. Ateromatske lezije tipa IV su kombinacija lezija tipa II i većeg nakupljanja izvanstaničnog lipida. Fibroaterom su lezije tipa V koje karakterizira nakupljanje lipida i fibroza uz moguće kalcifikacije. Lezije tipa VI su komplicirane lezije s površinskom degradacijom stijenke, formiranjem tromba i krvarenjem u tromb. Lezije I i II tipa se nalaze u ranoj fazi života, tip III se javlja od treće dekade života na dalje (Tablica 1.) (51). *American Heart Association* klasificira humanu aterosklerotsku leziju od masnog tračka (tip I) do komplikacija lezije (tip VI). Tablica 1. također uključuje mehanizme rasta i kliničke korelacije.

Komplikacije ateroskleroze javljaju se u najčešće u lezijama tipa VI koje karakterizira slabljenja zida arterije, muralna tromboza i embolizacija uz formiranje aneurizmatškog proširenja. Ruptura, erozija i hemoragija u plak, te muralna tromboza i embolizacija dovode do okluzije lumena arterije trombom. Progresivni rast plaka dovodi do stenookluzivne komplikacije lumena arterije (51).

Tablica 1. - Klasifikacija aterosklerotskih lezija prema *American Heart Association* (AHA)

Nomenklatura i osnovna histologija	sekvence u progresiji	osnovni mehanizam rasta	najraniji početak	klinička korelacija
TIP I (inicijalna) lezija izolirane makrofagne pjenušave stanice	I	rast pretežno akumulacijom lipida	od prve dekade	klinički bez simptoma
TIP II (masni tračak) lezija pretežito unutarstanična akumulacija lipida	II			
TIP III (intermedijarna) lezija promjene tipa II i male izvanstanične nakupine lipida	III			
TIP IV (ateroma) lezija promjene tipa II i srž od izvanstaničnih lipida	IV			
TIP V (fibroateroma) lezija lipidna srž i vezivni sloj ili multiple lipidne srži i vezivni slojevi, ili pretežno kalcificirano, ili pretežno vezivna	V			
TIP VI (komplikacijska) lezija površinski defekt, hematoma, hemoragija, tromb	VI			
	ili	akcelerirano povećanje glatkomišićnih stanica i kolagena	od treće dekade	klinički bez simptoma ili sa simptomima
	I	tromboza, hematoma	od četvrte dekade	
	II			
	III			
	IV			
	VI			

1.2.1 Čimbenici rizika i patogeneza ateroskleroze

Čimbenici rizika za aterosklerozu su mnogobrojni, uz nepromjenjive konstitucijske čimbenike - starija životna dob, muški spol, naslijeđe, ključnu ulogu imaju promjenjivi čimbenici rizika hiperlipidemija, povišeni krvni tlak, pušenje i šećerna bolest.

Dob - infarkt miokarda se pet puta češće javlja u dobi od 40-60 godina. Spol - do menopauze žene su rijetko pogođene aterosklerotskom bolešću, nakon menopauze najvjerojatnije zbog promijene hormonske ravnoteže i smanjenja estrogena, raste progresija aterosklerotskih komplikacija, a u sedmoj i osmoj dekadi se izjednačuju s muškarcima. Genetika - postoji obiteljska sklonost za razvoj ateroskleroze. Najčešće je genetika u odnosu sa skupinom ostalih rizičnih čimbenika kao što su povišeni krvni tlak i šećerna bolest, dok rjeđe genetika podrazumijeva dobro definirane nasljedne poremećaje metabolizma lipoproteina koji dovode do izrazito visokih razina lipida u krvi (48).

Hiperlipidemija, povišeni krvni tlak, pušenje i šećerna bolest su čimbenici na koje možemo utjecati. Više rizičnih čimbenika daju višestruki učinak (48). Povišeni krvni tlak ubrzava stvaranje ateroskleroze i uzrokuje degenerativne promjene u stijenci velikih i srednjih arterija. Povišeni krvni tlak je također povezan s dva oblika bolesti malih krvnih žila: hijalinom arteriolosklerozom i hiperplastičnom arteriolosklerozom.

Šećerna bolest je jedan od uzročnika ozljeda endotela i rizični čimbenik ateroskleroze (26,28). Postoji nekoliko mogućih objašnjenja žilnih oštećenja kod dijabetičara. Bolesnici sa šećernom bolesti tip II imaju povišene vrijednosti inzulina i glukoze, što je dokazano neovisan stimulans proliferacije glatkih mišićnih stanica. Visoka koncentracija glukoze potiče proizvodnju endotelnog kolagena tip IV i fibronektina i aktivnost enzima uključenih u sintezu kolagena (52). Kao i kod pušenja tako i šećerna bolest ne uzrokuje samo oštećenje endotela, nego smanjuje sposobnost regeneracije endotelih stanica. Bolesnici sa šećernom bolesti često imaju pridružene bolesti, kao što su povišeni krvni tlak i hiperlipidemija, a koji i sami predstavljaju rizične čimbenike ateroskleroze. Prisutnost više uzročnika endotelnog oštećenja može imati dodatni poticajni učinak i dovesti do većeg i bržeg napredovanja aterosklerotskog procesa (25,26).

U patogenezi ateroskleroza se prikazuje kao kronični upalni odgovor na niz zbivanja koji počinju rano tijekom života i čiji mehanizmi doprinose formiranju i progresiji aterosklerotskog plaka. Ti mehanizmi uključuju: endotelnu disfunkciju, adheziju i infiltraciju monocita, akumulaciju i potom oksidaciju lipida, proliferaciju glatkomišićnih stanica i odlaganje ekstracelularnog matriksa i tromba (31,53,54,55). Kronično oštećenje endotela dovodi do povećane permeabilnosti leukocita, adhezije leukocita i povećanog potencijala na mjestu lezije. U ranoj fazi aterogeneze na svojoj površini endotelne stanice počinju stvarati selektivne adhezijske molekule koje vežu različite skupine leukocita. Molekula VCAM-1 (eng. „*Vascular Cell Adhesion Molecule-1*“) potiče vezanje one tipova upalnih stanica koji su nađene u raznim ateromima (50,56). Nakon prijanjanja monocita na endotel dolazi do migracije monocita između endotelnih stanica da bi se lokalizirali u intimi i transformirali u makrofage koji fagocitiraju lipoproteine većinom oksidirane LDL-om. Samo privlačenje monocita i njihovo pretvaranje u makrofage i pjenušave stanice primarno ima protektivnu ulogu u smislu uklanjanja potencijalno opasnih lipidnih čestica. Progresivna akumulacija lipidnih čestica rezultira progresijom aterosklerotske lezije. Makrofazi produciraju IL-1 (Interleukin 1) i TNF (eng. „*Tumor Necrosis Factor*“) koji povećava adheziju leukocita (25). Citokini koje stvaraju makrofazi privlače još više leukocita u plak. Makrofazi produciraju oksidativne molekule kisika koji također uzrokuju oksidaciju LDL u leziji i stvaraju faktore rasta koji mogu doprinijeti proliferaciji glatkomišićnih stanica (25,26). Limfociti T se također citokemijski privlače u intimu. Interakcijom između makrofaga i limfocita T dolazi do celularnih i humoralnih kronično upalnih reakcija. Na kraju dolazi do umnožavanja glatkomišićnih stanica koje stvaraju ekstracelularni matriks koji je karakterističan za uznapredovalu aterosklerotsku leziju (26). Napredovanje aterosklerotskog oštećenja podržava se interakcijom između modificiranih lipoproteina, makrofaga nastalih od monocita, limfocita T i normalnih stanica arterijske stijenke (57,58,59). Upalne stanice (polimorfonuklearni neutrofil, limfociti T, limfociti B, makrofazi, mastociti, NK stanice itd.) prolaze kroz intraluminalni tromb i sve slojeve stijenke aorte (60,61). Vaza vazorum omogućava puteve pomoću kojih upalne stanice imaju pristup aortalnoj intimi i mediji (62). Neovaskularizacija medije i smanjene vaskularne glatke mišićne stanice također karakteriziraju lezije ATA. Intraluminalni tromb može doprinijeti procesu uzrokujući funkcionalnu hipoksiju na

luminalnoj intimi i unutarnjoj mediji, čime se inducira naknadna neovaskularizacija i upala (63).

1.2.2 Uloga endotelnog oštećenja u nastanku ateroskleroze

U nastanku ateroskleroze je ključno kronično ili opetovano oštećenje endotela (57). U pokusima na životinjama do oštećenja može doći mehanički hemodinamskim silama, odlaganjem imunih kompleksa, zračenjem i kemijski (57). Rane lezije počinju i na mjestima intaktnog endotela. Početna abnormalnost je endotelna disfunkcija koja uzrokuje povećanu propusnost endotela, povećanu adheziju leukocita i alteriranje u ekspresiji gena endotelnih stanica (57,59). Također potencijalni uzroci endotelne disfunkcije u ranoj aterosklerozi su derivati cirkulirajućeg cigaretnog dima, homocistein, virusi i drugi infektivni agensi. Upalni citokini, kao eng. „*Tumor Necrosis Factor*“ (TNF) stimuliraju ekspresiju endotelnih gena koji potiču aterosklerozu (56). Dvije najvažnije determinante su združene: hemodinamske smetnje u normalnoj cirkulaciji i štetni efekti hiperkolesterolemije. Plakovi su zato češći na ušćima velikih grana u aorti i duž stražnje stijenke gdje dolazi do otežanog protoka. Područja pošteđena od lezije imaju normalni laminarni protok. On sprečava upalni mehanizam koji potiče endotelnu disfunkciju i apoptozu endotelnih stanica značajnih u stvaranju erozije endotela (57).

1.2.3 Uloga lipida u nastanku ateroskleroze

Najčešći poremećaji kod bolesnika koji su povezani s lipoproteinima su: povećani LDL kolesterol (eng. „*Low Density Lipoprotein*“), smanjeni HDL kolesterol (eng. „*High Density Lipoprotein*“) i povećani abnormalni lipoproteini.

Dosadašnje spoznaje koje govore u prilog hiperkolesterolemije kao uzroku ateroskleroze, potvrđuju da su glavni lipidi u ateromskom plaku kolesterol i kolesterolski esteri podrijetlom iz plazme (48,49,52). Oksidirani LDL se pronalazi u makrofazima arterija i na mjestima masnih tračaka (antioksidansi štite od razvoja ateroskleroze u hiperkolesterolemičnih eksperimentalnih životinja). Genetski defekti metabolizma lipoproteina koji uzrokuju hiperlipoproteinemiju povezani su s ubrzanom aterosklerozom. Kod eksperimentalnih životinja s visokim unosom kolesterola se često nađe ateroskleroza. Dosadašnje epidemiološke analize pokazuju značajnu povezanost između težine ateroskleroze i razine ukupnog kolesterola u plazmi i LDL kolesterola. Snižavanjem razine kolesterola u serumu putem prehrane ili lijekovima se usporava ateroskleroza, dolazi do regresije mekih plakova i reducira se rizik razvoja komplikacija ateroskleroze.

Hiperlipidemija kroničnog tipa, osobito hiperkolesterolemija može oslabiti funkciju endotelnih stanica putem povećane produkcije slobodnih radikala kisika koji zatim deaktiviraju dušikov monoksid (NO) (49,52). U kroničnoj hiperlipidemiji lipoproteini se akumuliraju unutar intime na mjestima povećane endotelne propusnosti. Promjene lipida inducirane su slobodnim radikalima koji nastaju u makrofazima ili endotelnim stanicama i dovode do oksidacije i modifikacije LDL (49,52).

Oksidirani LDL fagocitiraju makrofazi i tako nastaju pjenušave stanice, koje povećavaju akumulaciju monocita u leziji, te stimuliraju oslobađanje faktora rasta i citokina koji su citotoksični za endotelne i glatkomišićne stanice (57).

1.2.4 Uloga glatkomišićnih stanica u nastanku ateroskleroze

Glatkomišićne stanice migriraju iz medije u intimu gdje proliferiraju i odlažu ekstracelularne komponente glatkomišićnih stanica, pretvarajući masni tračak u zreli vezivno-masni aterom i doprinose progresivnom rastu aterosklerotske lezije (52). Nekoliko faktora rasta je uključeno u proliferiranju glatkomišićnih stanica uključujući PDGF (eng. „*Platelet-Derived Growth Factor*“), kojeg oslobađaju trombociti adherirani na mjesto endotelnog oštećenja te makrofazi, FGF (eng. „*Fibroblast*

Growth Factor“) i TGF- α (eng. „*Transforming Growth Factor Alpha*“) (56,57,58,59). Također glatkomišićne stanice mogu unositi modificirane lipide i tako doprinose nastanku pjenušavih stanica. Ekstracelularni matriks također producira glatkomišićne stanice. Aktivirane upalne stanice u aterosklerotskom plaku mogu izazvati smrt glatkomišićnih stanica i nastaje aterom. Aterom se sastoji od stanica kronične upalne reakcije: makrofazi, limfociti, endotelne stanice i glatkomišićne stanice. Sve te stanice produciraju niz staničnih faktora koji dalje utječu na stanične funkcije i daljnji tijek upalne reakcije u aterosklerozi (56,58). U početku se plak sastoji od pjenušavih stanica, podrijetlom od makrofaga i glatkomišićnih stanica, od kojih su neke odumrle i oslobodile lipide i detritus. Napredovanjem upale aterom se modificira kolagenom i proteoglikanima koje sintetiziraju glatkomišićne stanice. Vezivno tkivo je osobito izraženo u intimi i stvara se tvrda fibrozna kapa, no mnoge lezije zadržavaju središnju meku srž od stanica punih lipida i masnog detritusa (49,52,64).

1.3 Uloga upale u nastanku ateroskleroze i aneurizme trbušne aorte

Mehanizmi upale su bitni za početak, napredak i razvoj komplikacija aterosklerotske lezije i smatraju se glavnim regulatornim mehanizmom u patogenezi ateroskleroze. U obiteljskom ATA, bolesnici s abnormalnim komponentama ekstracelularnog matriksa (ECM) mogu rano razviti ATA bez popratne ateroskleroze. U sporadičnom ATA, međutim, aneurizmske lezije zahtijevaju inicijalno započinjanje upalnih stanica, posebice uključujući makrofage koji će doprinijeti daljnjoj degradaciji ECM-a. Primijećeno je da upala i fibroza aneurizmske stijenke postoje kod svih tipova aneurizmi i da se razlikuje 5 histoloških tipova, ovisno o izgledu infiltrata upalnih stanica u stijenci (65).

Upalna reakcija je karakterizirana infiltracijom različitih stanica i oslobađanjem citokina u aterosklerozi i dijeli se na primarnu i stečenu (66). Najvažnija komponenta primarnog upalnog odgovora su monociti, mastociti i dendritičke stanice. Monociti infiltriraju stijenku krvne žile već u početnoj fazi ateroskleroze, hvataju se za

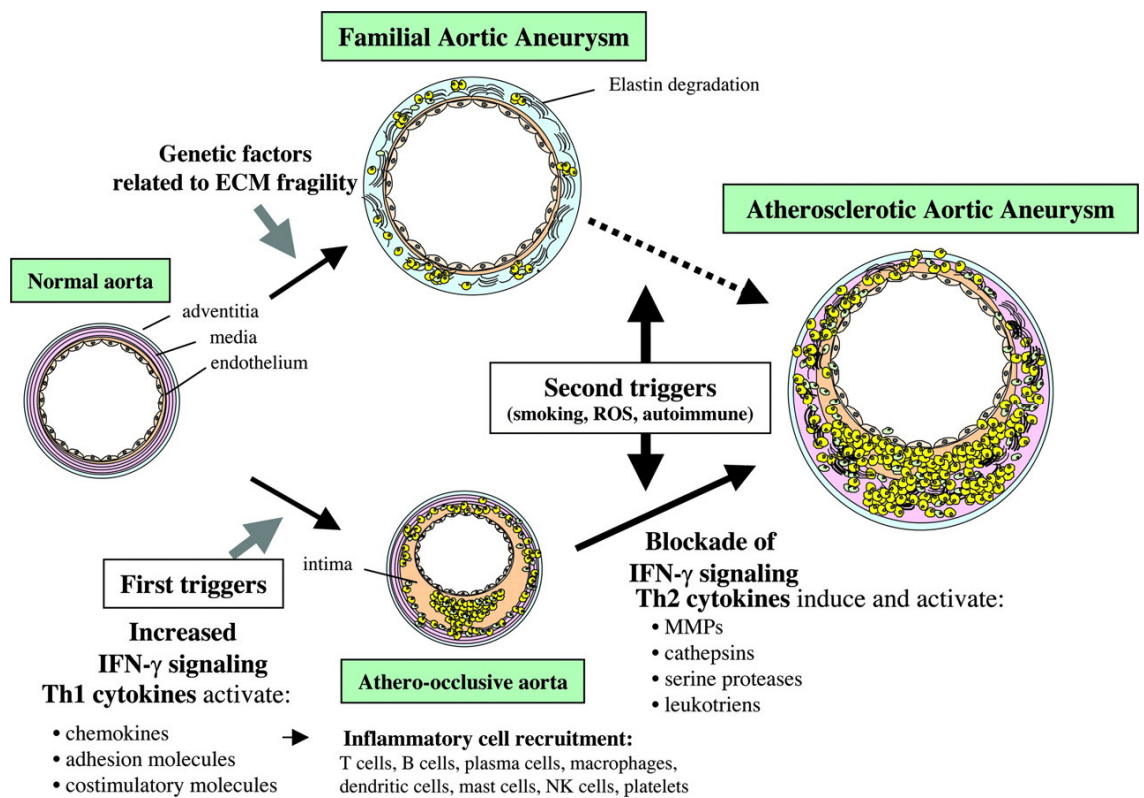
aktivirane endotelne stanice. Dolazi do migracije u intimu koja je uvjetovana prisutnim citokinima gdje sazrijevaju u makrofage i otpuštaju daljnje proupalne citokine i ostale čimbenike uključujući i matriks metaloproteinaze koje remete strukturu ekstracelularnog matriksa arterijske stijenke (67,68). Makrofazi fagocitiraju modificirani LDL i pretvaraju se u pjenušave stanice. Broj mastocita je značajno povišen na mjestu nakupljanja pjenušavih stanica. Mastociti pojačavaju stvaranje pjenušavih stanica i fagocitozu LDL od strane makrofaga. Nakon aktivacije mastociti otpuštaju male vazoaktivne molekule histamin, leukotriene, serin proteaze i heparin, kofaktore rasta i angiogeneze. (66,67,69,70). Brojni lezijski monociti i makrofazi mogu funkcionirati u prirođenim ili adaptivnim imunološkim ulogama ne samo kao stanice koje prezentiraju antigen (APC) nego pridonose patogenezi ATA izlučivanjem kolagenaza i elastaza (71). Dendritičke stanice (DC) i makrofazi prezentiraju antigene. Antigeni koji se prezentiraju u aterosklerozi su modificirani dijelovi stijenke arterije (lipoproteini, proteini, nekrotski detritus). DC se akumuliraju unutar intime arterija u dijelovima osjetljivim na aterosklerozu koji su karakterizirani poremećenom dinamikom protoka. Njihova kontinuirana akumulacija tijekom razvoja lezije povezana je s progresijom lezija i upalom, a njihovo grupiranje s limfocitima T unutar lezija ukazuje na važnu ulogu u modulaciji imuniteta limfocita T.

Ključnu ulogu u regulaciji imunog odgovora u aterosklerozi ima stečena upalna reakcija. Limfociti T pokreću specifičnu upalnu reakciju ovisno o prezentiranim antigenima. Limfociti T se nalaze u adventiciji arterije i luče citokine ovisno o prezentiranom antigenu, potiču ili smanjuju upalu, a imaju i mehanizme kojima mogu ubijati stanice. Razlikujemo pomoćničke CD4+ limfocite T (CD4+ limfocite T), citotoksične CD8+ limfocite T (CD8+ limfocite T) i regulacijske CD4+Foxp3+ limfocite T (Tregs). Podjela T limfocitnih upalnih odgovora pomogla je razumijevanju brojnih osnovnih imunoloških puteva i bolesti. Pomoćnički CD4+ T podskupovi uključuju T pomoćnički tip 1 (Th1), T pomoćnički tip 2 (Th2) i T pomoćnički tip 17 (Th17). Ravnoteža između Th1 i Th2 odgovora čvrsto se kontrolira s Tregs, koji su kritični u održavanju imunološke tolerancije. Ateroskleroza se može smatrati i autoimunom bolesti (71). Pomoćnički Th1 CD4+ limfociti T općenito djeluju proupalno preko izlučenih citokina (npr. interferon-gama), dok pomoćnički Th2 CD4+ limfociti T mogu lučiti citokine koji imaju modulatorni učinak (npr. interleukin 4) (72,73,74). Th1 i Th17 stanice igraju glavne uloge u autoimunim bolestima, dok su

Th2 stanice obilježje atopičnih bolesti. Citokini koje luče Th1, Th2 i Th17 stanice odgovorne su za njihove funkcionalne uloge, no razumijevanje raznih citokina uključenih u pomoćnički CD4+ T podskupove nije potpuno. CD4 + T stanice luče IL-2 i uzrokuju aktivaciju i proliferaciju limfocita T i B (67). Potencijalne razlike i imuni upalni putevi prema aneurizmatskoj manifestaciji ateroskleroze ostaju neobjašnjeni. U većini slučajeva, prevladavajući Th1 put uključen je u nastanak opstruktivne aterosklerotske lezije, dok Th2 put ima ulogu u nastanku aneurizme (Dijagram 1). Razni čimbenici upale mogu privući CD8+ limfocite T, koji mogu oštetiti stanice glatkog mišića i pospješiti napredovanje promjene. Tregs imaju inhibitorni učinak na upalnu reakciju u aterosklerozi (75). Stoga je bitna ravnoteža između Tregs i Th2 pomoćničkih CD4+ limfocita T kao antiupalnih i Th1 pomoćničkih CD4+ limfocita T. Tregs predstavljaju tip CD4+ limfocita T koje mogu biti uključene u regulaciju i atenuiranje aktivnosti tri podskupine pomoćničkih CD4+ T limfocita. Prirodni Tregs se razvijaju u timusu i prepoznaju specifičan antigen. Oni su karakterizirani ekspresijom CD4, visokim razinama CD25 i faktorom transkripcije Foxp3.

Postoji i humoralna komponenta imunosti, limfociti B, za koju se vidjelo da više inhibira upalnu reakciju u aterosklerozi (66). Limfociti B su također prisutni kao humoralna komponenta imunosti u aterosklerotskoj leziji, prema dosadašnjim istraživanjima njihova je uloga posrednička. Pokazalo se da postoje limfociti B1 za koje se sumnja da sprečavaju stvaranje lezije i limfociti B2 koji su uključeni u poticanje lezije. Dokazano je da prirodna IgM antitijela, uglavnom iz limfocita B1 posreduju u ateroprotektivnim učincima, ali funkcionalna uloga drugih klasa imunoglobulina, naročito IgG, i dalje je nedovoljno istražena. Limfociti B se rijetko nalaze u okluzivnim aterosklerotski promijenjenim aortama (76,77). Kod ATA se često nalazi lokalno taloženje imunoglobulina (78) i pokretanje humoralnog imunog odgovora. Limfociti B mogu poslužiti i kao stanice koje prezentiraju antigen (APC) (76).

Dijagram 1 - Hipotetska shema Th1/Th2 paradigme aortalne bolesti (izvor : Shimizu K, Mitchell RN, Libby P. Inflammation and cellular immune responses in abdominal aortic aneurysms. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006;26(5):987-94.)



2. HIPOTEZA

Povećan broj regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T i limfocita B povezan je sa smanjenom staničnom upalom, stabilizacijom aterosklerotskog plaka i manjom učestalošću pojave ATA i intraluminalnog tromba.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

3.1 Opći cilj

Opći cilj istraživanja je dokazati da upalna reakcija u aterosklerotski promijenjenoj stijenci aorte dovodi do slabljenja stijenke i stvara sklonost razvoju aneurizme, te da je upalni proces u aneurizmatički promijenjenoj stijenci aorte izraženiji nego u samo aterosklerotski promijenjenoj stijenci.

3.2. Specifični ciljevi

1. Odrediti vrstu i količinu upalnih stanica – makrofaga, mastocita, limfocita B, plazma stanica, pomoćničkih CD4+ limfocita T, citotoksičnih CD8+ limfocita T i regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T u stijenci ATA.

2. Utvrditi morfološke karakteristike ATA – najveći promjer, morfološki tip (fuziformna, sakularna), izolirana aneurizma trbušne aorte ili proširena sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima, prisutnost intraluminalnog tromba.

3. Usporediti vrstu i količinu ispitivanih upalnih stanica i morfološke karakteristike ATA.

4. Rezultate vrste i količine ispitivanih upalnih stanica i morfoloških karakteristika ATA usporediti s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima - C reaktivni protein (CRP), D-dimer, ukupni kolesterol, HDL, LDL, trigliceridi i kliničkim čimbenicima rizika za aterosklerozu - dob, spol, tjelesna visina, tjelesna težina, indeks tjelesne

mase (ITM), pušenje, krvni tlak (sistolički i dijastolički tlak), šećerna bolest, prisutnost znakova periferne ateroskleroze, druga periferna aneurizma, uzimanje lijekova (statini).

4. ISPITANICI I METODE

4.1 Ispitanici

U istraživanje je uključeno ukupno 60 bolesnika podijeljenih u dvije skupine: bolesnici s ATA (40 ispitanika) i kontrolna skupina (20 ispitanika). Bolesnici kontrolne skupine nisu bolovali od ATA, niti od aneurizmatičke bolesti neke druge lokalizacije, a njihova dobna i spolna raspodjela odgovara skupini bolesnika s ATA. Bolesnici su liječeni u Kliničkoj bolnici Merkur u razdoblju 2014. – 2017. godine.

U tablici 2. prikazane su osnovne kliničke karakteristike i ispitivani laboratorijski pokazatelji bolesnika s ATA. Kod bolesnika uključenih u ispitivanje bili su praćeni klinički i laboratorijski pokazatelji koji su povezani sa razvojem ateroskleroze i za koje se pretpostavlja da utječu na razvoj aneurizmatičke bolesti. Analizirane su slijedeće kliničke karakteristike bolesnika – dob, spol, tjelesna visina, tjelesna težina, krvni tlak (sistolčki i dijastolički tlak), pušenje, šećerna bolest, prisutnost znakova periferne ateroskleroze, druga periferna aneurizma, uzimanje lijekova statina. Od laboratorijskih pokazatelja praćene su vrijednosti CRP, D-dimer i lipidogram (ukupni kolesterol, HDL, LDL, ukupni trigliceridi).

Tablica 2. Kliničke karakteristike i laboratorijski pokazatelji bolesnika s anurizmom trbušne aorte

Bolesnici s aneurizmom trbušne aorte	
dob	70.4/70/7.4*
spol	29/11**
tjelesna visina	172.6/173/6.7*
tjelesna težina	77.5/78/11.7*
sistolički tlak	136.9/140/16.0*
dijastolički tlak	79.9/80/11.1*
pušenje	22/18***
šećerna bolest	8/31***
znakovi periferne ateroskleroze	26/14***
prisutnost drugih aneurizmi	7/33***
liječenje statinima	12/28***
C reaktivni protein	5.1/3/12.4*
D-dimer	2.2/2/1.8*
ukupni kolesterol	5.1/5/0.9*
LDL	3.4/4/0.8*
HDL	1.2/1/0.3*
ukupni trigliceridi	1.1/1/0.3*

*srednja vrijednost/medijan/standardna devijacija, **muški/ženski, ***da/ne

Morfološke karakteristike ATA ispitivanih bolesnika određene su preoperativnim mjerenjima i analizom slikovnog prikaza MSCT-angiografijom. Kod svakog bolesnika određen je najveći promjer anurizme, morfološki tip (fuziformna, sakularna), da li se radi o izoliranoj ATA ili proširenoj sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima, te je utvrđena prisutnost intraluminalnog tromba. MSCT-angiografija radi

se na suvremenim višeslojnim (engleski „*multislice*“, MSCT) ili multidetektorskim (MDCT) uređajima. Prije pretrage nužno je postavljanje venskog puta kroz koji se intravenski primjenjuje jodno kontrastno sredstvo automatskim injektorom. Vrijeme snimanja usklađuje se s ubrizgavanjem kontrastnog sredstva te se arterije prikazuju tijekom prvog prolaza kontrastnog sredstva kroz plućni odnosno sistemski krvotok, a vene u kasnijoj fazi. MSCT-angiografijom precizno se mogu prikazati bolesti aorte: disekcija, aneurizma, traumatska lezija aorte, kao i kongenitalne bolesti poput koarktacije aorte. Prije primjene jodnih kontrastnih sredstava potrebno je imati podatke o bubrežnoj funkciji, ranijim alergijskim reakcijama na kontrastna sredstva, lijekove i ostale alergene, te bolestima pluća, srca i štitnjače. U osoba s oštećenom bubrežnom funkcijom i osobito dijabetičkom nefropatijom, nakon primjene kontrasta moguće je pogoršanje bubrežne funkcije. MSCT-angiografija je minimalno invazivna metoda kojom je moguće prikazati patološke promjene svih segmenata arterijskog i venskog sustava, te planirati liječenje (79).

4.2 Uzimanje uzoraka stijenke ATA i tkiva aorte

Uzorci stijenke ATA su uzeti prema smjernicama dobivenim od etičkog povjerenstva, uz potpisani pismeni pristanak bolesnika za sudjelovanje u istraživanju. Svi uzorci su dobiveni pri otvorenom kirurškom popravku ATA. Indikacije za popravak su postavljene prema međunarodnim standardima, u slučaju ATA s promjerom koji premašuje 5,5 cm ili se ubrzano širi, ATA s prisutnim simptomima i ona koja je pred rupturom ili je već rupturirala (79). Otvoreni kirurški popravak ATA se sastoji u isključenju aneurizme iz cirkulacije korištenjem sintetskog grafta, te njegovo šivanje tzv. "*inlay*" tehnikom. Dio ventralne stijenke aneurizme na mjestu najvećeg promjera uzet je ekscizijom tijekom operativnog zahvata, nakon čega se odmah pohranio u fiksativ 10%-tni puferirani formalin.

Uzorci tkiva aorte kontrolne skupine uzeti su prilikom kliničke obdukcije bolesnika s prisutnim aterosklerotskim promjenama tipa IV, V i/ili VI trbušne aorte, prema klasifikaciji stupnjeva aterosklerotskih promjena Američkog kardiološkog društva

(80). Uzet je isječak ventralne stijenke aorte između izlazišta bubrežnih arterija i račvišta aorte i također odmah pohranjen u fiksativ 10%-tni puferirani formalin.

4.3 Obrada uzoraka ispitivanih skupina bolesnika i imunohistokemijsko bojenje

Nakon fiksacije tkiva, uzeta su 3-5 reza tkiva kroz čitavu debljinu stijenke aneurizmatkog proširenja, odnosno stijenke aorte, koji su na rutinski način uklopljeni u parafin i rezani na rezove debljine 0,4 µm. Jedan od rezova je obojen rutinski, metodom hemalaun-eozin za prikaz osnovnih morfoloških karakteristika stijenke aorte. Za obilježavanje i prikaz pojedinih vrsta upalnih stanica korištena je imunohistokemijska metoda obilježavanja stanica specifičnim protutijelima na histološkim rezovima tkiva. U imunohistokemijskoj metodi korištena su sljedeća primarna protutijela: za obilježavanje limfocita B protutijelo CD20 (*DakoCytomation, Denmark*, monoklonalno, klon L26, razrjeđenje 1:200), za obilježavanje pomoćničkih limfocita T protutijelo CD4 (*DakoCytomation, Denmark*, monoklonalno, klon 4B12, unaprijed razrijeđen za upotrebu), za obilježavanje citotoksičnih limfocita T protutijelo CD8 (*DakoCytomation, Denmark*, monoklonalno, klon C8/144B, unaprijed razrijeđen za upotrebu), za obilježavanje regulacijskih limfocita T protutijelo FOXP3 (*Abcam, England*, monoklonalno, klon 236A/E7, razrjeđenje 1:100), za obilježavanje plazma stanica protutijelo CD138 (*DakoCytomation, Denmark*, monoklonalno, klon MI15, razrjeđenje 1:25), za obilježavanje mastocita protutijelo CD117 (*DakoCytomation, Denmark*, poliklonalno, razrjeđenje 1:50) i za obilježavanje makrofaga protutijelo CD68 (*DakoCytomation, Denmark*, monoklonalno, klon PG-M1, unaprijed razrijeđen za upotrebu). Rezovi tkiva debljine 0,4 µm su deparafinirani. Nakon postupka demaskiranja antigena u PT-modulu (*DakoCytomation, Denmark*) na 97°C, 20 minuta u puferu iz *EnVision flex* komercijalnog „3 u 1“ seta (K8010, *DakoCytomation, Denmark*) rezovi tkiva su obrađeni standardnim automatiziranim postupkom u *Autostainer+* aparatu (*DakoCytomation, Denmark*) te kontrastirani hematoxylinom. Rezovi tkiva s poznatom pozitivnom izraženosti navedenih biljega koristili su se kao pozitivna kontrola. Kao negativna kontrola koristili su se rezovi koji nisu bili inkubirani

primarnim protutijelima. Pozitivnim rezultatom smatran je nalaz specifičnog obojenja u svakoj pojedinoj vrsti analiziranih upalnih stanica.

4.4 Određivanje broja upalnih stanica u ispitivanim uzorcima

Za određivanje broja pojedinih vrsta upalnih stanica u uzorcima stijenke aorte korišten je binokularni mikroskop Olympus BX51 i informatički program za analizu slike „AnalySIS“ (*Olympus, Soft Imaging System, GmbH, Germany*). Brojane su pojedine vrste upalnih stanica sa specifičnim imunohistokemijski pozitivnim obojenjem u stanici. U svakom uzorku pregledano je najmanje sedam reprezentativnih vidnih polja, objektivom povećanja 40x, površine 0.1444 mm², te se odredio ukupan broj pojedinih vrsta upalnih stanica na 1mm².

Pri brojanju stanica korištena je mrežica „AnalySIS“ programa kojom se površina cijelog vidnog polja podijelila u deset podpolja.

4.5 Statistička analiza

Distribucija podataka prikazana je mjerama centralne tendencije i raspršenosti, odnosno raspodjelom frekvencija kvalitativnih podataka. Numeričke varijable testirane su Kolmogorov-Smirnov testom na normalnost distribucije. Neparametrijski Mann-Whitney test korišten je za ispitivanje razlike između skupina. Razina statističke značajnosti određena je na $\alpha=0,05$.

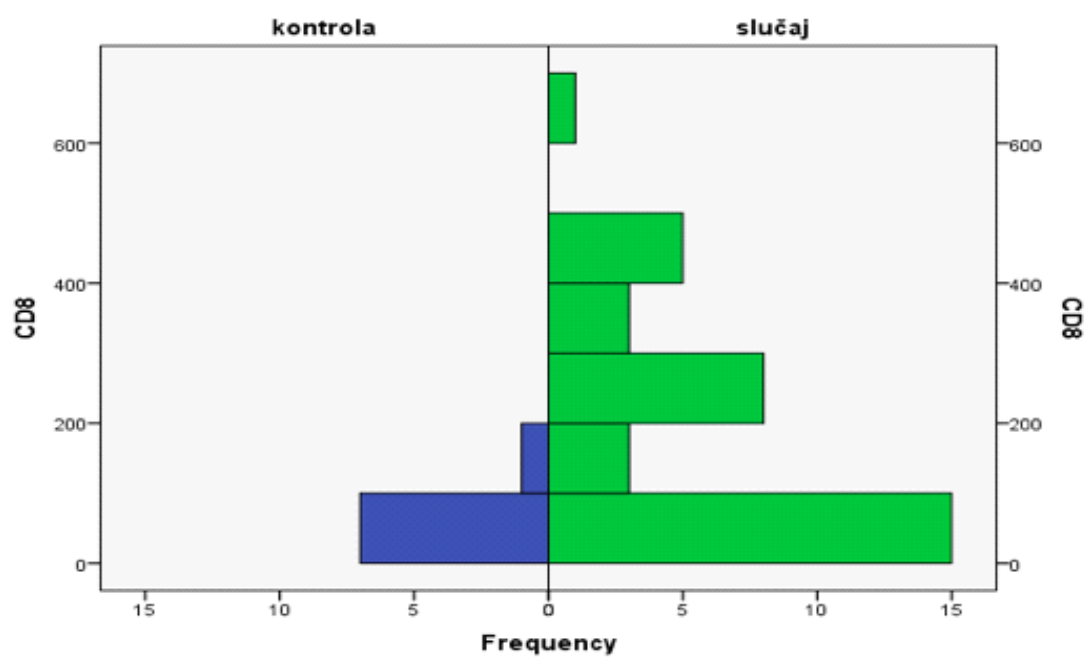
Obrada podataka učinjena je pomoću programskog paketa STATA SE v.11.01.

5. REZULTATI

5.1 Vrsta i količina upalnih stanica – makrofaga, mastocita, limfocita B, plazma stanica, pomoćničkih CD4+ limfocita T, citotoksičnih CD8+ limfocita T i regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T u stijenci ATA

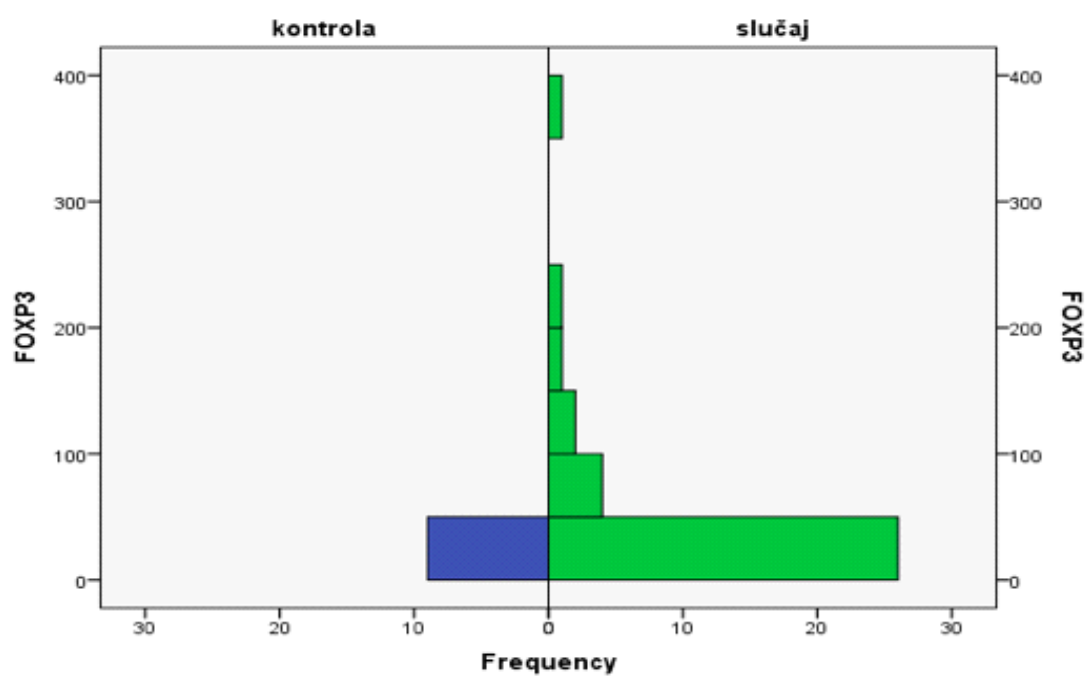
Rezultati analize vrsta i količine ispitivanih upalnih stanica u stijenci ATA i kontrolne skupine bolesnika prikazani su na slikama 3-11. U stijenci ATA nađen je značajno veći broj citotoksičnih CD8+ limfocita T ($p=0.043$) (slika 3,6,7), regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T ($p=0.004$) (slika 4,8,9) i plazma stanica ($p=0.028$) (slika 5,10,11) u odnosu na broj navedenih stanica u stijenci trbušne aorte kontrolne skupine.

Slika 3. Učestalost citotoksičnih CD8+ limfocita T u stijenci ATA i stijenci aorte kontrolne skupine



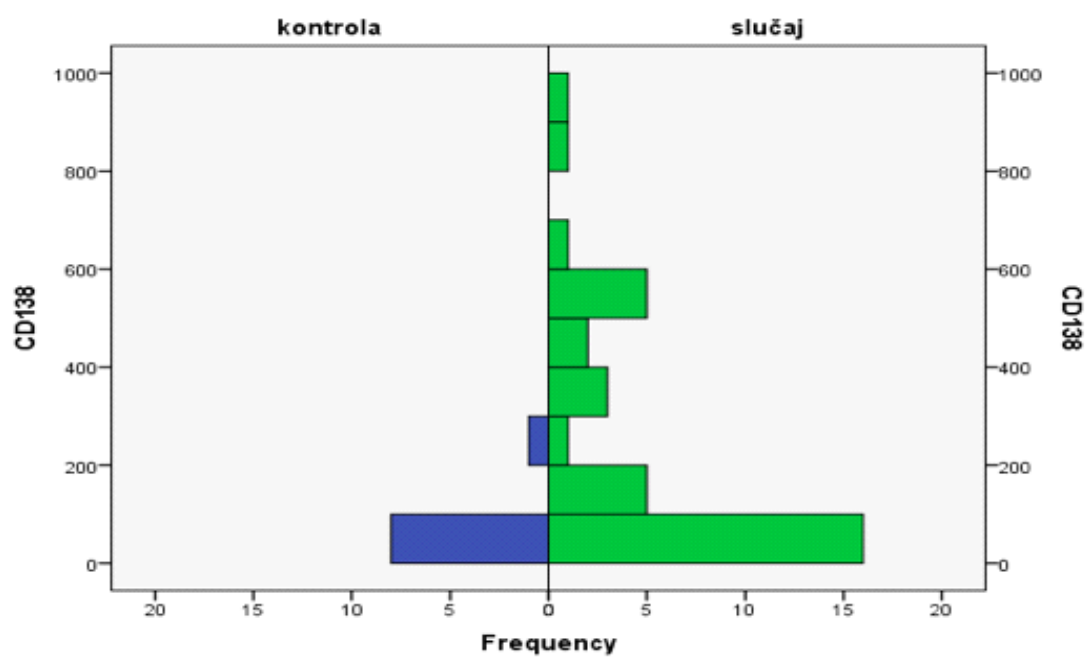
Mann-Whitney test, $p=0.043$

Slika 4. Učestalost regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T u stijenci ATA i stijenci aorte kontrolne skupine



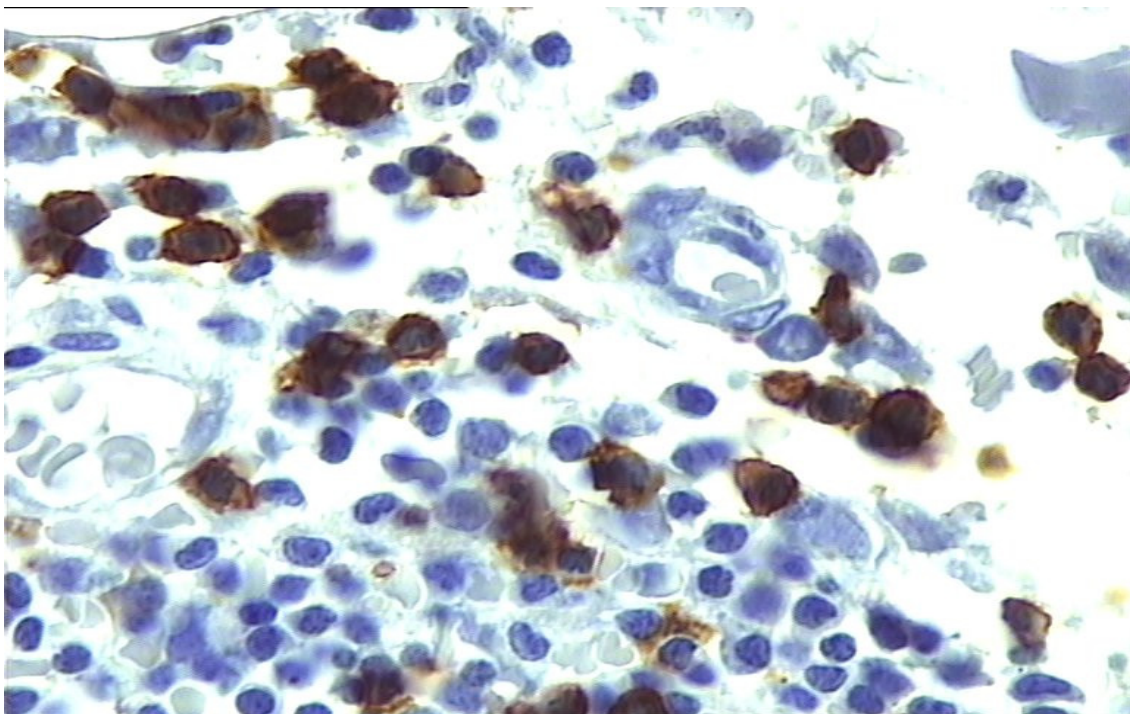
Mann-Whitney test, $p=0.004$

Slika 5. Učestalost plazma stanica u stijenci ATA i stijenci aorte kontrolne skupine

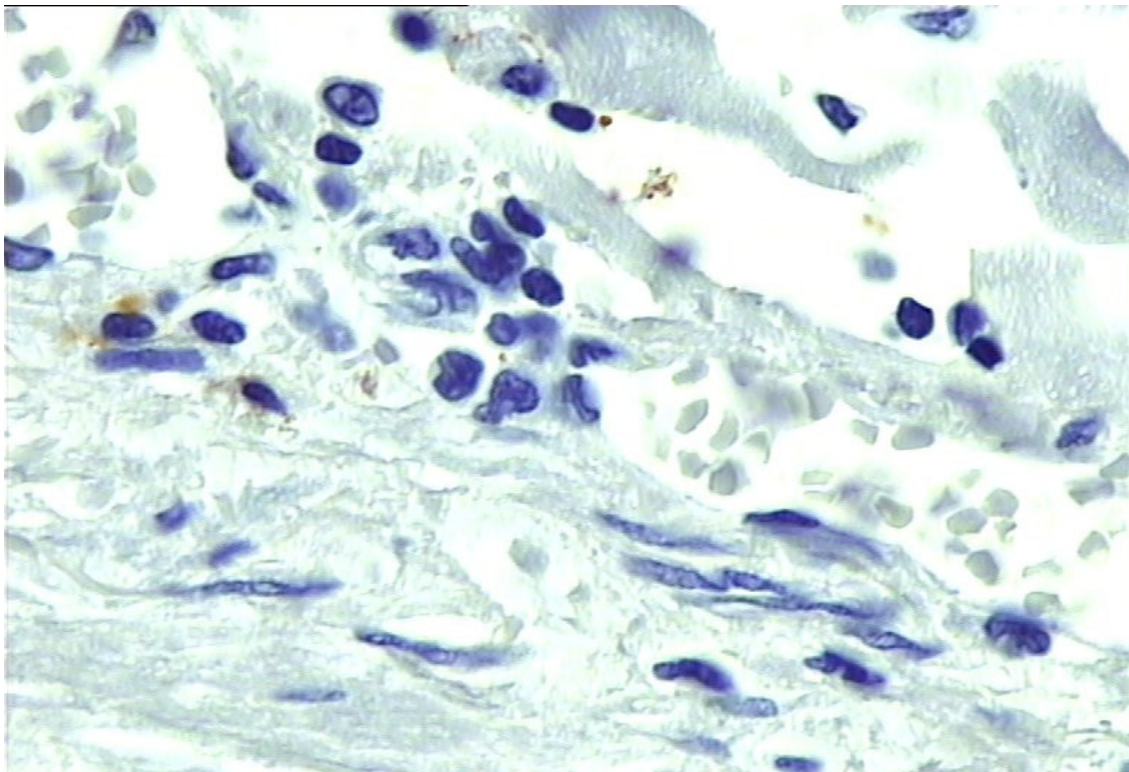


Mann-Whitney test, $p=0.028$

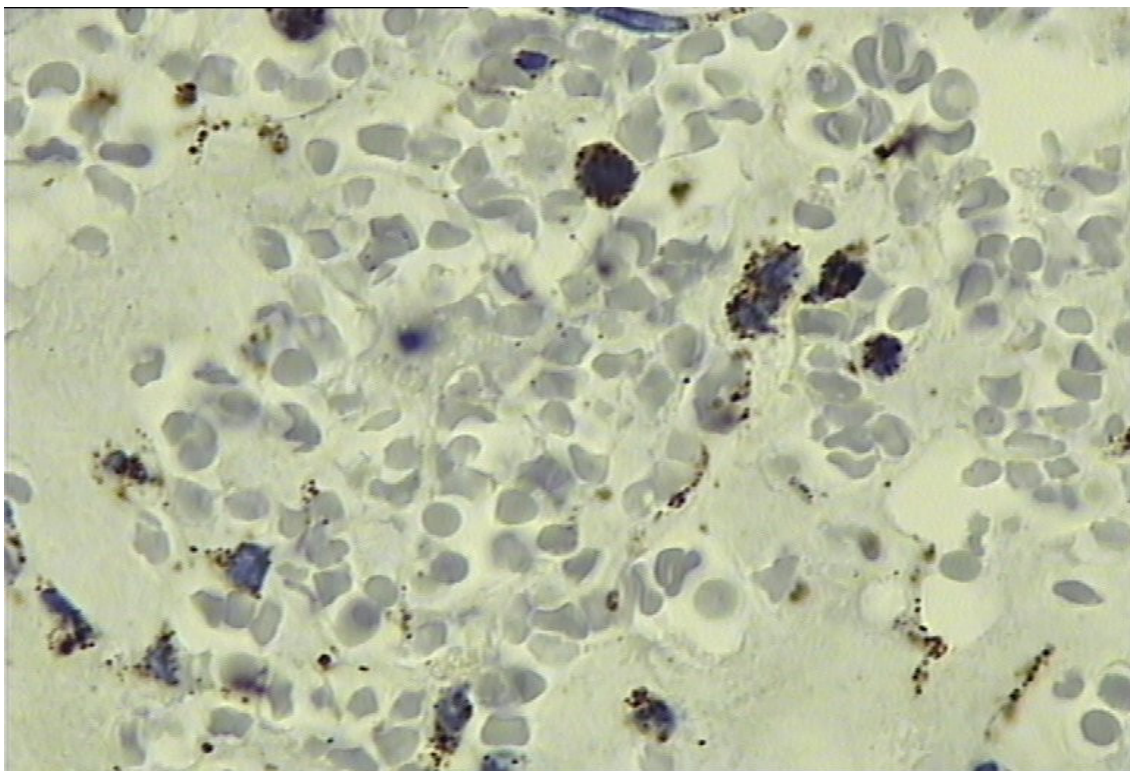
**Slika 6. Pozitivna izraženost citotoksičnih CD8+ limfocita T u stijenci ATA
(povećanje 400x)**



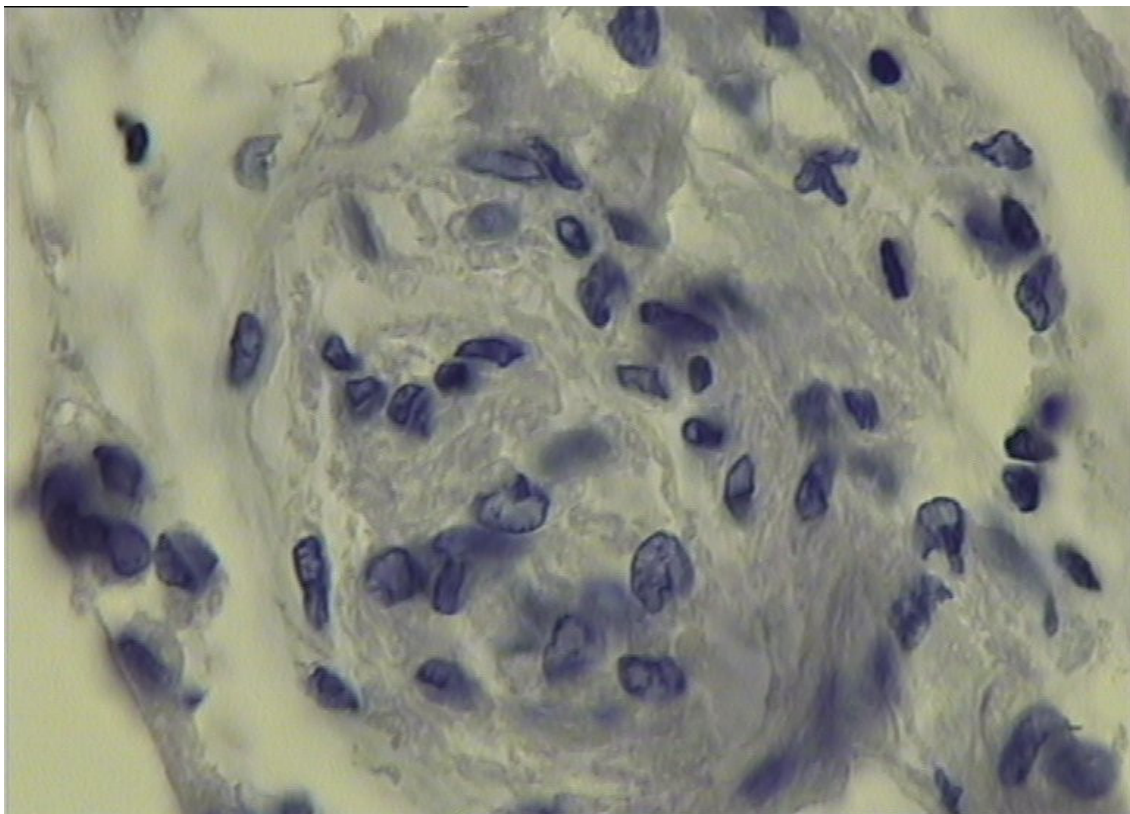
Slika 7. Negativna izraženost citotoksičnih CD8+ limfocita T u stijenci aorte kontrolne skupine (povećanje 400x)



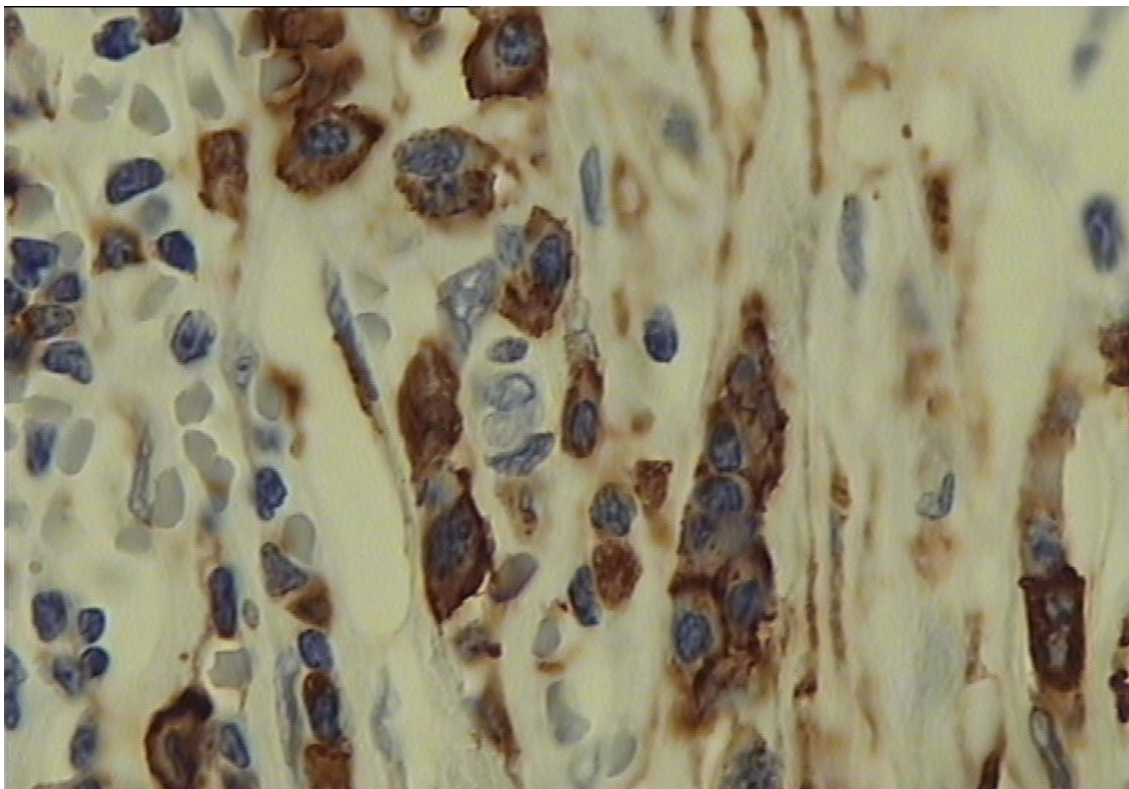
Slika 8. Pozitivna izraženost regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T u stijenci ATA (povećanje 400x)



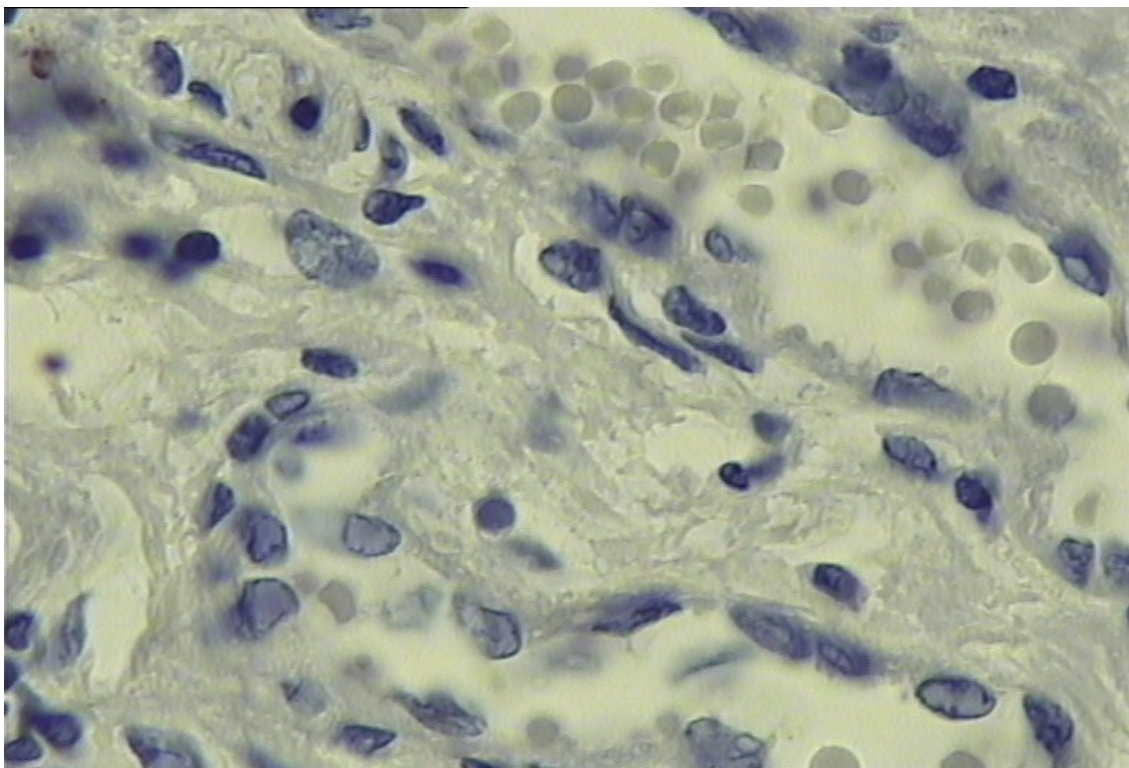
Slika 9. Negativna izraženost regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T u stijenci aorte kontrolne skupine (povećanje 400x)



**Slika 10. Pozitivna izraženost CD138+ plazma stanica u stijenci ATA
(povećanje 400x)**

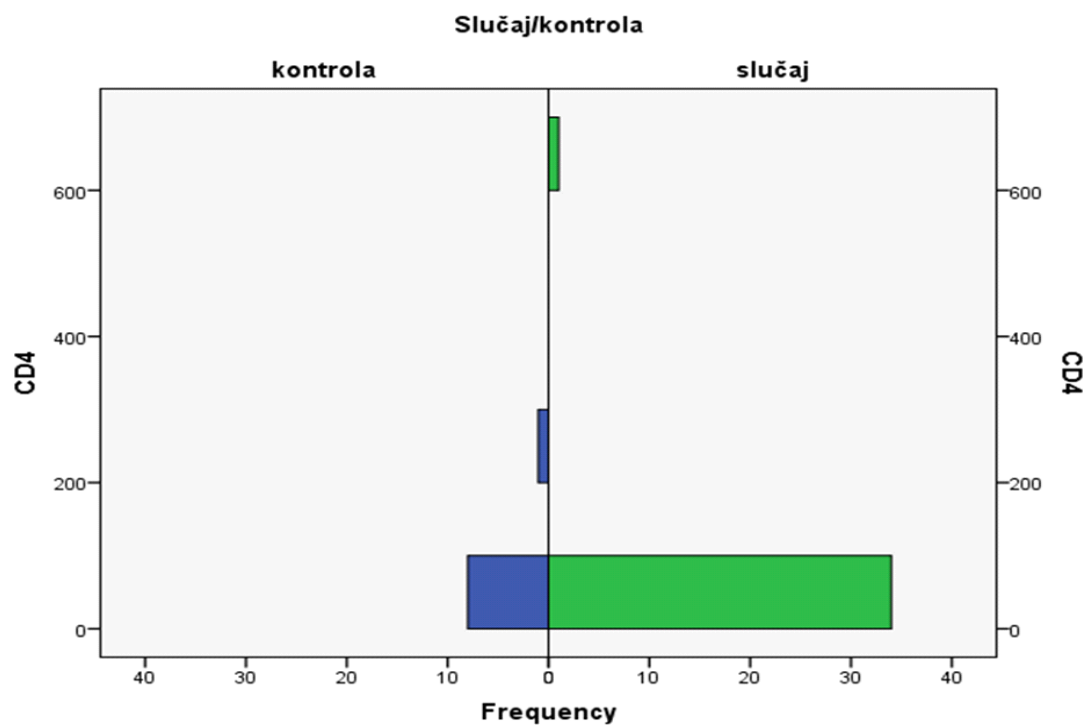


Slika 11. Negativna izraženost CD138+ plazma stanica u stijenci aorte kontrolne skupine (povećanje 400x)



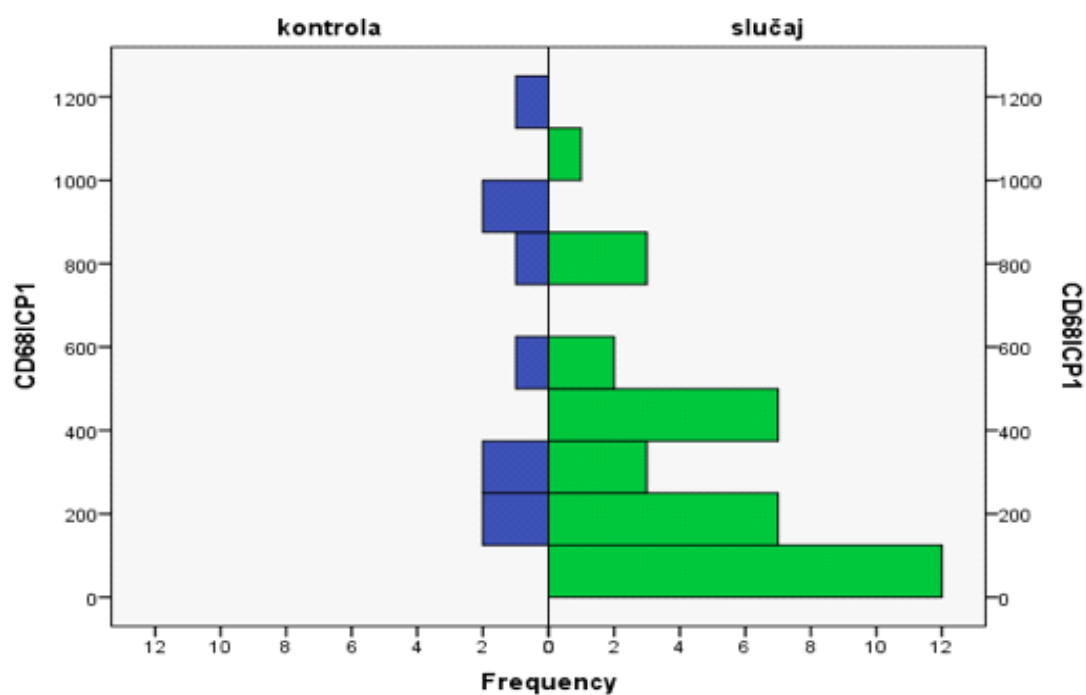
Značajno veći broj pomoćničkih CD4+ limfocita T ($p < 0.001$) (slika 12,14,15) i makrofaga ($p = 0.011$) (slika 13,16,17) nađen je u stijenci trbušne aorte kontrolne skupine.

Slika 12. Učestalost pomoćničkih CD4+ limfocita T u stijenci ATA i stijenci aorte kontrolne skupine



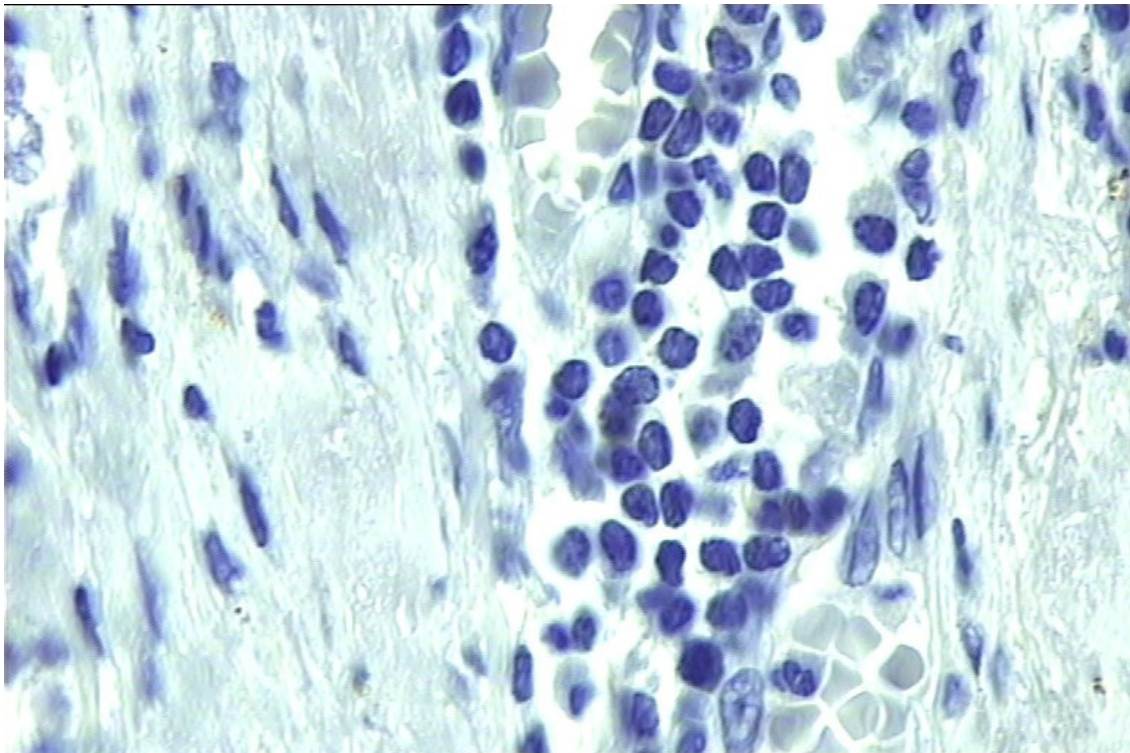
Mann-Whitney test, $p < 0.001$

Slika 13. Učestalost makrofaga u stijenci ATA i stijenci aorte kontrolne skupine

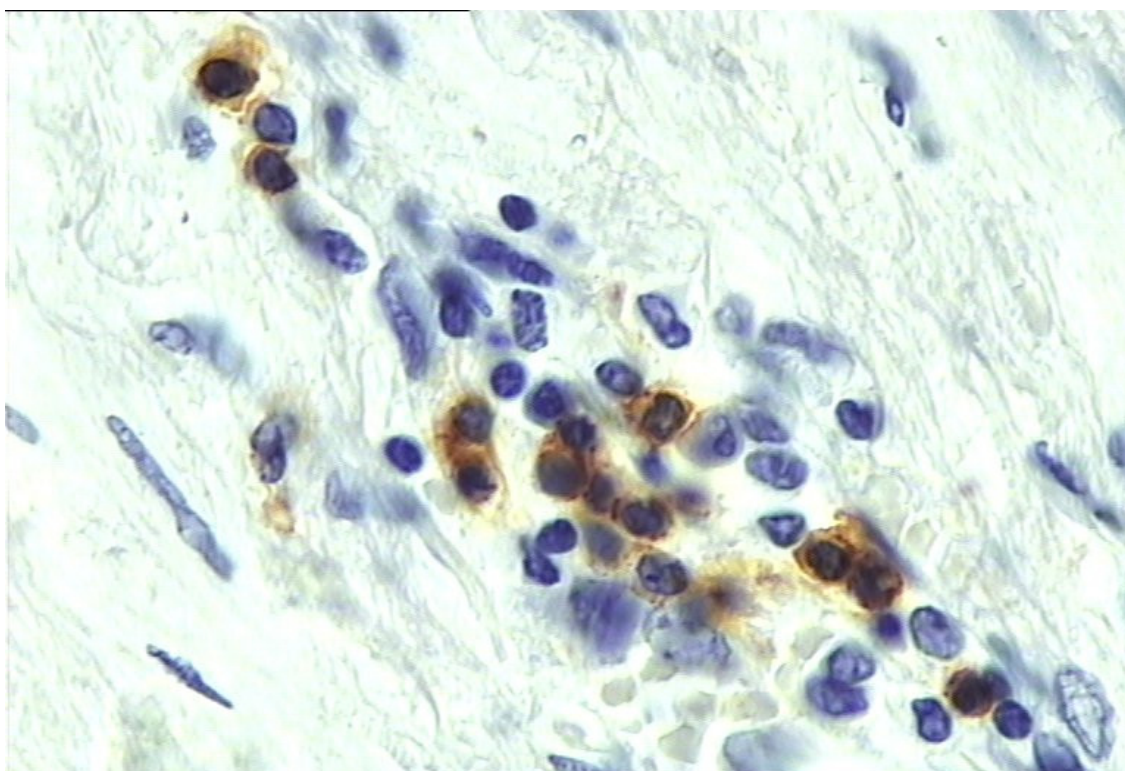


Mann-Whitney test, $p=0.011$

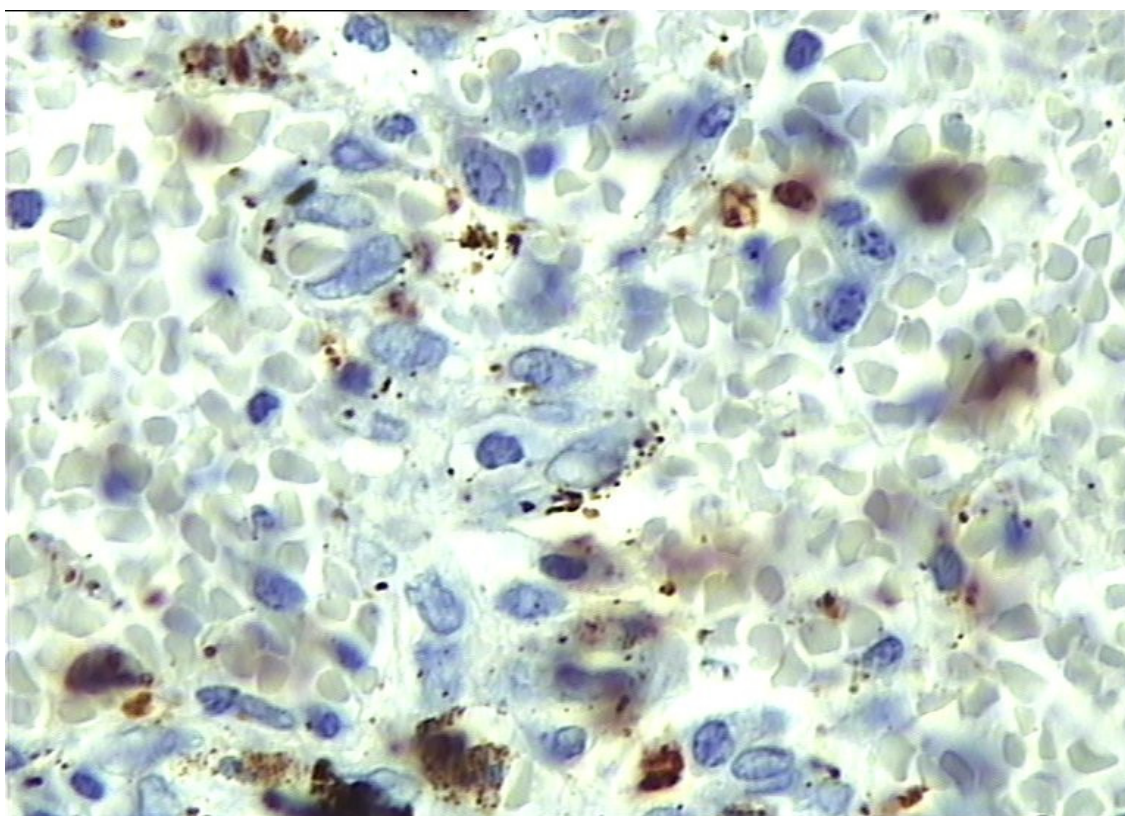
**Slika 14. Negativna izraženost pomoćničkih CD4+ limfocita T u stijenci ATA
(povećanje 400x)**



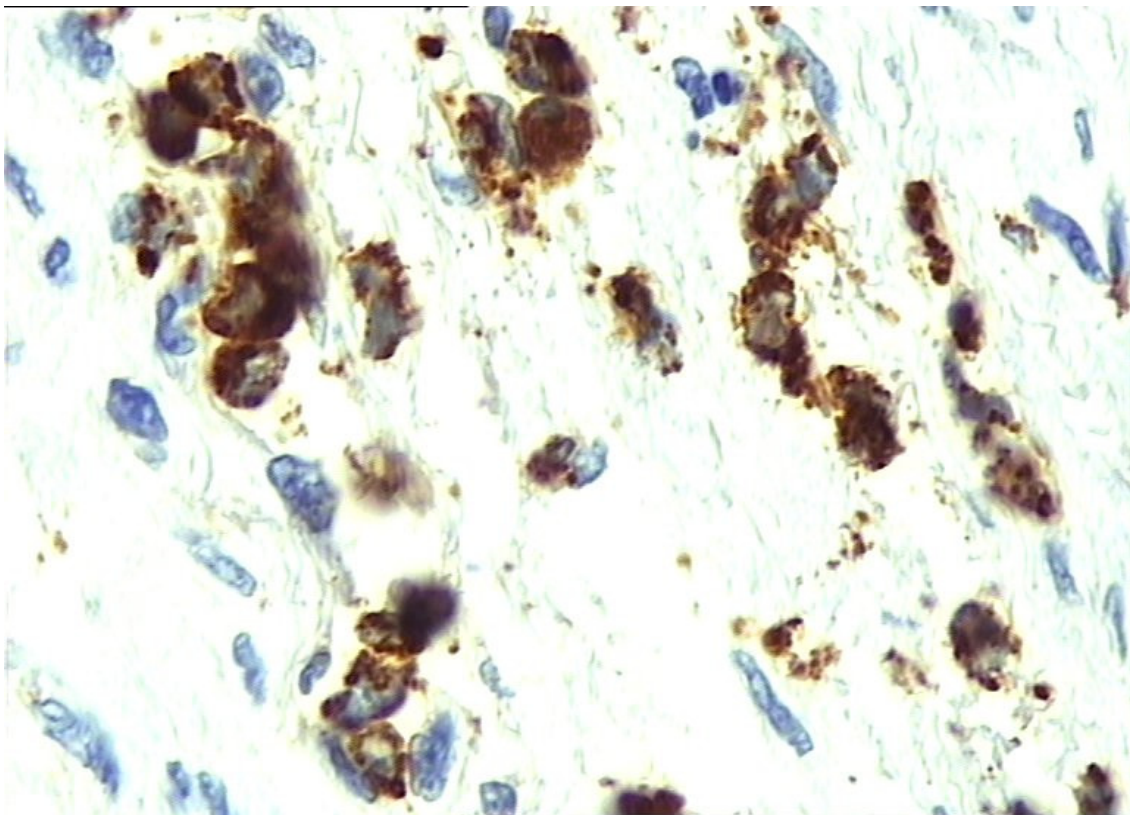
Slika 15. Pozitivna izraženost pomoćničkih CD4+ limfocita T u stijenci aorte kontrolne skupine (povećanje 400x)



Slika 16. Negativna izraženost CD68+ makrofaga u stijenci ATA (povećanje 400x)

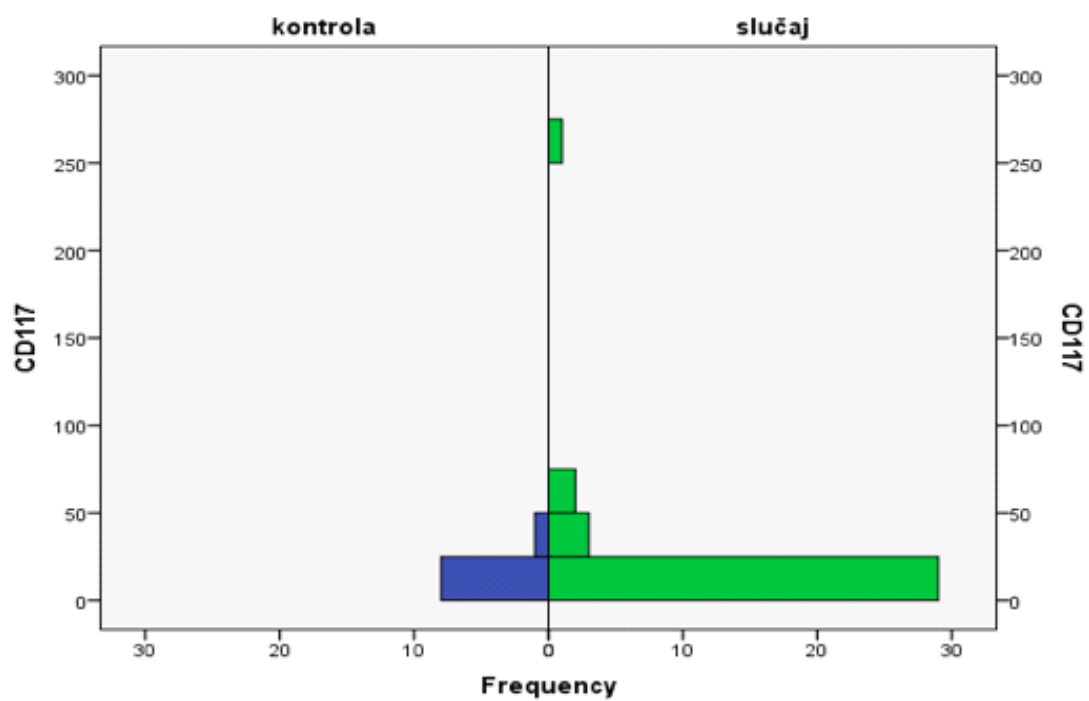


Slika 17. Pozitivna izraženost CD68+ makrofaga u stijenci aorte kontrolne skupine (povećanje 400x)



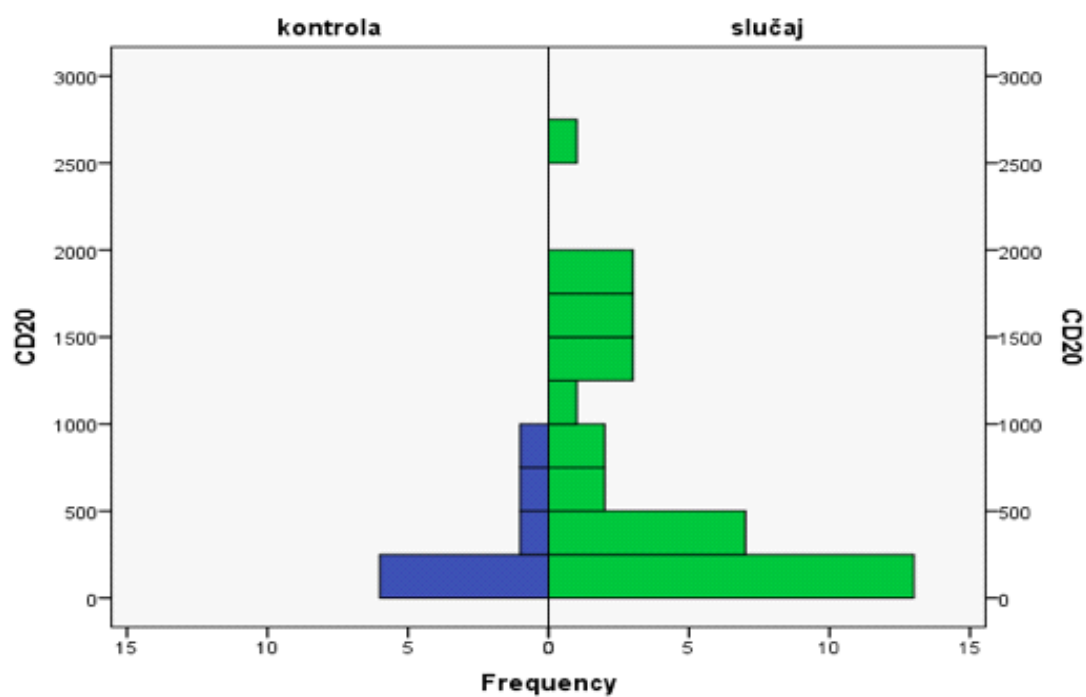
Količina mastocita ($p=0.055$) (slika 18) i limfocita B ($p=0.185$) (slika 19) nije se značajno razlikovala u ispitivanim skupinama bolesnika.

Slika 18. Učestalost mastocita u stijenci ATA i stijenci aorte kontrolne skupine



Mann-Whitney test, $p=0.055$

Slika 19. Učestalost limfocita B u stijenci ATA i stijenci aorte kontrolne skupine

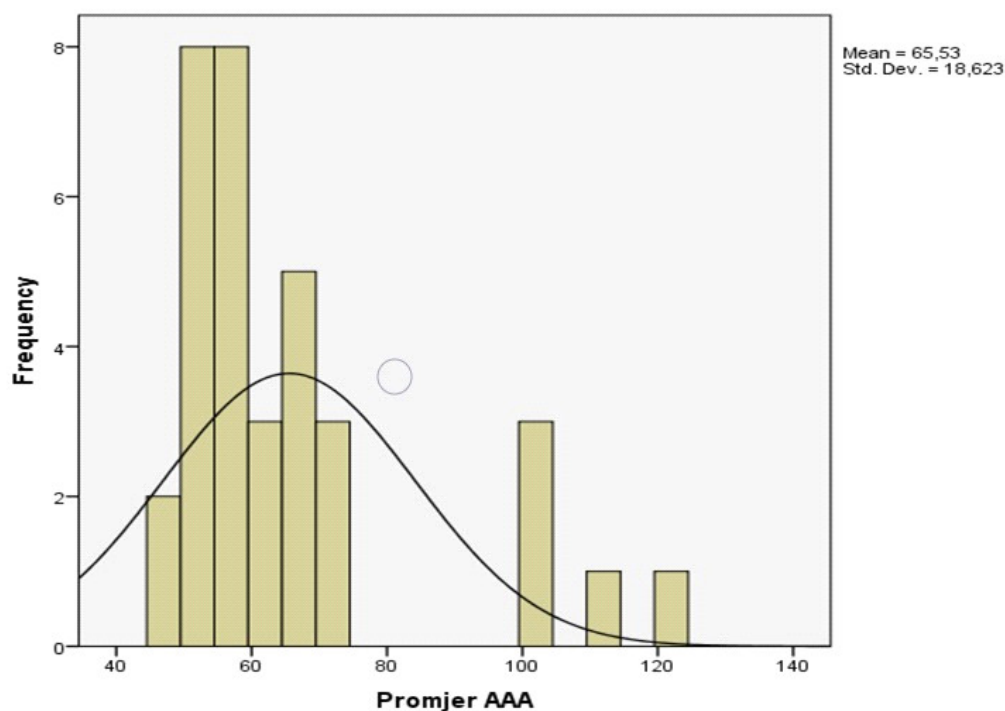


Mann-Whitney test, $p=0.185$

5.2 Morfološke karakteristike ATA

Morfološke karakteristike ATA određene su preoperativnim mjerenjima i analizom slikovnog prikaza MSCT-angiografije kod ukupno 40 analiziranih bolesnika. Na slici 20 prikazana je učestalost najvećeg promjera ATA u ispitivanoj skupini bolesnika. Kod najvećeg broja bolesnika promjer ATA je iznosio 45-75 mm. U tablici 3. navedene su ostale analizirane morfološke karakteristike ATA. Kod ispitivanih bolesnika aneurizme su bile češće sakularnog oblika (32/40), izolirane bez zahvaćanja jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima (36/40) i s prisutnim intraluminalnim trombom (28/40).

Slika 20. Prikaz učestalosti najvećeg promjera ATA



Tablica 3. Morfološke karakteristike ATA

Morfološke karakteristike ATA	Učestalost morfoloških karakteristika ATA
<ul style="list-style-type: none">Morfološki tip sakularna fuziformna	 32/40 8/40
<ul style="list-style-type: none">IzoliranaProširena sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima	 36/40 4/40
<ul style="list-style-type: none">Intraluminalni tromb prisutan odsutan	 28/40 12/40

5.3 Usporedba vrste i količine ispitivanih upalnih stanica i morfoloških karakteristika ATA

Kod bolesnika s ATA uspoređena je učestalost ispitivanih upalnih stanica - makrofaga, mastocita, limfocita B, plazma stanica, pomoćničkih CD4+ limfocita T, citotoksičnih CD8+ limfocita T i regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T u stijenci ATA i

analiziranih morfoloških karakteristika ATA - promjer, morfološki tip, izolirana ili proširena aneurizma sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima i prisutnost intraluminalnog tromba.

Nađena je statistički značajna veća učestalost limfocita B u fuziformnom tipu ATA ($p=0.017$). Učestalost ispitivanih upalnih stanica nije se pokazala statistički značajno povezana niti sa jednom drugom analiziranom morfološkom karakteristikom ATA. Učestalost najbliža statističkom značenju nađena je u povezanosti pomoćničkih CD4+ limfocita s promjerom ATA ($p=0.065$).

5.4. Usporedba vrste i količine ispitivanih upalnih stanica ATA s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima i kliničkim čimbenicima rizika ateroskleroze

Učestalosti ispitivanih upalnih stanica - makrofaga, mastocita, limfocita B, plazma stanica, pomoćničkih CD4+ limfocita T, citotoksičnih CD8+ limfocita T i regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T u stijenci ATA uspoređene su s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima - CRP, D-dimer, ukupni kolesterol, HDL, LDL, trigliceridi i kliničkim čimbenicima rizika za aterosklerozu - dob, spol, tjelesna visina, tjelesna težina, ITM, pušenje, krvni tlak (sistolčki i dijastolički tlak), šećerna bolest, prisutnost znakova periferne ateroskleroze, druga periferna aneurizma, uzimanje lijekova (statini).

Učestalost makrofaga, mastocita, limfocita B i pomoćničkih CD4+ limfocita T nije se pokazala statistički značajno povezanom niti s jednim ispitivanim laboratorijskim pokazateljem i kliničkim čimbenikom rizika za aterosklerozu.

Nađena je statistički značajna povećana učestalost plazma stanica s vrijednostima LDL ($p=0.003$), ukupnog kolesterola ($p=0.006$) i vrijednostima dijastoličkog tlaka ($p=0.029$). Ostali ispitivani laboratorijski pokazatelji i klinički čimbenici rizika za aterosklerozu nisu pokazali značajnu povezanost s učestalosti plazma stanica.

Učestalost citotoksičnih CD8+ limfocita T statistički je značajno povezana s vrijednošću dijastoličkog tlaka ($p=0.043$). Ostali ispitivani laboratorijski pokazatelji i klinički čimbenici rizika za aterosklerozu nisu pokazali značajnu povezanost s učestalosti citotoksičnih CD8+ limfocita T.

Regulacijski CD4+Foxp3+ limfociti T svojom brojnošću bili su statistički značajno povezani s ITM ($p=0.012$) i tjelesnom težinom ($p=0.004$) bolesnika s ATA. Ostali ispitivani laboratorijski pokazatelji i klinički čimbenici rizika za aterosklerozu nisu pokazali značajnu povezanost s učestalošću regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T u stijenci ATA.

5.5 Usporedba morfoloških karakteristika ATA s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima i kliničkim čimbenicima rizika ateroskleroze

Analizirane morfološke karakteristike aneurizma aorte - promjer, morfološki tip, izolirana ili proširena aneurizma sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima i prisutnost intraluminalnog tromba, uspoređene su s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima - CRP, D-dimer, ukupni kolesterol, HDL, LDL, trigliceridi i kliničkim čimbenicima rizika za aterosklerozu - dob, spol, tjelesna visina, tjelesna težina, ITM, pušenje, krvni tlak (sistolički i dijastolički tlak), šećerna bolest, prisutnost znakova periferne ateroskleroze, druga periferna aneurizma, uzimanje lijekova (statini).

Promjer ATA statistički značajno je povezan s povišenom vrijednosti CRP ($p=0.002$). Korelacijski koeficijent za CRP je 0.307. Ostali ispitivani laboratorijski pokazatelji i klinički čimbenici rizika za aterosklerozu nisu pokazali statističku značajnu povezanost s promjerom ATA.

U usporedbi morfološkog tipa ATA i ispitivanih laboratorijskih pokazatelja nađene su statistički značajno više vrijednosti HDL ($p=0.040$) i potencijalno statistički značajne više vrijednosti ukupnog kolesterola ($p=0.054$) kod sakularnog tipa ATA. Sakularni tip ATA statistički značajno češće je bio prisutan u starijih bolesnika s ATA ($p=0.027$).

Ostali ispitivani klinički čimbenici rizika ateroskleroze nisu pokazali značajnu povezanost s morfološkim tipom ATA.

Prošireni tip ATA sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima bio je statistički značajno češće prisutan u bolesnika starije životne dobi ($p=0,045$). Ostali ispitivani laboratorijski pokazatelji i klinički čimbenici rizika za aterosklerozu nisu pokazali statističku značajnu povezanost s proširenošću ATA.

Također prisutnost intraluminalnog tromba u ATA nije bila statistički značajno povezana niti s jednim ispitivanim laboratorijskim pokazateljem i kliničkim čimbenikom rizika za aterosklerozu.

6. RASPRAVA

U stijenci ATA (40 bolesnika liječenih otvorenim kirurškim popravkom anurizme) i stijenci samo aterosklerotski promijenjene trbušne aorte (20 bolesnika) rađena je usporedba vrste i količine upalnih stanica - makrofaga, mastocita, limfocita B, plazma stanica, pomoćničkih CD4+ limfocita T, citotoksičnih CD8+ limfocita T i regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T. Upalne stanice obilježene su prikazom specifičnih staničnih biljega imunohistokemijskom metodom na parafinskim rezovima tkiva. Također su analizirane morfološke karakteristike ATA, laboratorijski pokazatelji i klinički čimbenici rizika ateroskleroze.

U stijenci ATA nađen je statistički značajno veći broj citotoksičnih CD8+ limfocita T odgovornih za oštećenje glatkomišićnih stanica i destrukciju stijenke aorte. Upalna reakcija u samo aterosklerotski promijenjenoj stijenci trbušne aorte karakterizirana je većom učestalošću pomoćničkih CD4+ limfocita T i makrofaga važnih u početnoj fazi i poticanju upale. Nađen povećan broj regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T i plazma stanica u stijenci ATA ukazuje na prevladavanje inhibitornog upalnog odgovora u ATA. Različite karakteristike upalnog odgovora u stijenci ATA i stijenci samo aterosklerotski promijenjene aorte ukazuju na promjene karakteristika upalne reakcije s napredovanjem ateroskleroze i nastankom aneurizmatičke komplikacije. Utvrđivanjem morfoloških karakteristika ATA preoperativnim mjerenjima i analizom slikovnog prikaza MSCT-angiografije (najveći promjer, morfološki tip (fuziformna, sakularna), izolirana ATA ili proširena sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima, prisutnost intraluminalnog tromba) utvrđeno je da kod najvećeg broja bolesnika promjer ATA je iznosio 45-75 mm, aneurizme su češće bile sakularnog oblika (32/40), izolirane bez zahvaćanja jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima (36/40) i s prisutnim intraluminalnim trombom (28/40). Usporedbom vrste i količine ispitivanih upalnih stanica u stijenci ATA i morfoloških karakteristika ATA nađena je statistički značajna veća učestalost limfocita B u fuziformnom tipu ATA. Vrsta i učestalost ispitivanih upalnih stanica nisu povezane s ostalim analiziranim morfološkim karakteristikama ATA. Usporedbom vrste i količine ispitivanih upalnih stanica s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima (CRP, D-dimer, ukupni kolesterol,

HDL, LDL, trigliceridi) i kliničkim čimbenicima rizika za aterosklerozu (dob, spol, tjelesna visina, tjelesna težina, ITM, pušenje, krvni tlak (sistolčki i dijastolički tlak), šećerna bolest, prisutnost znakova periferne ateroskleroze, druga periferna aneurizma, uzimanje lijekova (statini), nađeni statistički signifikantni rezultati povezanosti plazma stanica s vrijednostima LDL i ukupnog kolesterola, citotoksičnih CD8+ limfocita T i plazma stanica s vrijednostima dijastoličkog tlaka i regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita s ITM i tjelesnom težinom bolesnika nemaju specifičan klinički značaj. Usporedbom morfoloških karakteristika ATA s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima i kliničkim čimbenicima rizika za aterosklerozu vidjelo se da je promjer ATA značajno povezan s povišenom vrijednosti CRP, što ukazuje na važnost upale u progresiji ateroskleroze i razvoju aneurizmatičkih komplikacija. Prošireni tip ATA sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima bio je statistički značajno češće prisutan u bolesnika starije životne dobi, ukazujući na teži klinički oblik ATA kod starijih bolesnika.

Iako je upalna reakcija definirana kao ključni regulatorni proces ateroskleroze, malo je dosadašnjih istraživanja o tipu stanične reakcije, ravnoteži specifičnih citokina s određivanjem utjecaja na ishod promjene – cijeljenje, stvaranje aterosklerotskog plaka ili razvoj aneurizme (81). Prema dosadašnjim istraživanjima upalne stanice koje se akumuliraju u ATA lezijama su dominantno pomoćnički CD4+ limfociti T, 3-20 puta više od citotoksičnih CD8+ limfocita T, limfociti B i makrofazi (67). Ocana i sur su limfocite T definirali kao glavnu limfoidnu populaciju u ATA (82). Uspoređujući fenotipske karakteristike limfocita T i B u stijenci ATA i perifernoj krvi istih bolesnika utvrdili su prisutnost aktiviranih memorijskih limfocita T i specifičnih adhezijskih molekula karakterističnih za kronične autoimune/upalne bolesti u stijenci aneurizme (82). Imunohistokemijskom analizom upalnih stanica stijenke ATA Schonbeck i sur identificirali su većinu limfocita kao pomoćničke Th2 CD4+ limfocite T, dok su limfociti B i pomoćnički Th1 CD4+ limfociti T prisutni u manjem broju. (83). U svom istraživanju Libby i sur su prikazali da regrutacija limfocita T s ekspresijom Th1 citokina obično karakterizira ranu aterogenezu i stenotski aterosklerotski plak (84). U svom istraživanju Schonbeck i sur su prikazali da potencijalne razlike u imunim upalnim putevima kod stenotske ateroskleroze prema onoj s aneurizmom ostaju neobjašnjeni (83). U literaturi se opisuje da u bolesnika s ATA se nalazi povišena razina IL-1, IL-6, faktor nekroze tumora (TNF) ili IFN- γ (85,86). Također neke studije

pokazuju da u ATA prevladavaju citokini tipa Th2 (IL-4, IL-5 ili IL-10), dok u stenotskim aterosklerotskim lezijama prevladava ekspresija Th1 citokina (IL-2 i IFN- γ) (83,87).

U našem istraživanju, u stijenci ATA u odnosu na stijenu samo aterosklerotski promijenjene trbušne aorte, nađen je povećan broj regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T što ukazuje na prevladavanje inhibitornog upalnog odgovora u ATA. Tregs, tzv. prirodne Tregs, smanjuju aterosklerotsku upalu u životinjskim modelima eksperimentalne ateroskleroze (88). Prema ranijim studijama prisutnost Tregs je veća u nestabilnim aterosklerotskim plakovima tj. u kompliciranoj aterosklerotskoj upali. U radu Patel S i sur. su prikazali da je veća količina makrofaga, CD3+ limfocita T i Tregs bila prisutna u simptomatskim karotidnim plakovima i ukazuje na nedovoljnu ateroprotektivnu ulogu Tregs (89). Prisutnost Tregs dokazana je u svim stupnjevima ateroskleroze (90). Yin M i sur u svome radu su pronašli manju učestalost Tregs u perifernoj krvi bolesnika s ATA, što ukazuje na njihovu nedovoljnu imunoregulatornu ulogu u ATA (91).

Uspoređujući upalne stanice u stijenci ATA u odnosu na stijenu samo aterosklerotski promijenjene trbušne aorte našli smo statistički značajno veći broj citotoksičnih CD8+ limfocita T u stijenci ATA. Imunohistokemijska analiza ljudskih karotidnih plakova u studiji Jonassona i sur otkrila je također infiltraciju citotoksičnih CD8+ limfocita T u aterosklerotskim lezijama (92). U radu Cochain i sur je pokazano da je vaskularna upala povezana s povećanim brojem stanica apoptoze (identificiranih kao makrofazi, endotelne i glatke mišićne stanice) kod miševa, te se smatra da citotoksični CD8+ limfociti T pridonose stvaranju apoptotičkih stanica i nekrotične jezgre u aterosklerotskim lezijama, a da su makrofazi ciljane stanice u aterosklerozi za citotoksične CD8+ limfocite T. U eksperimentima s citotoksičnim CD8+ limfocitima T koje nemaju TNF α , otkriveno je da one ne utječu na aterosklerozu i formiranje lezija (93). Citotoksični CD8+ limfociti T izolirani iz ljudskog aterosklerotskog plaka su visoko aktivirani, mnogo više od CD4+ T stanica u plaku ili krvi (94). In vitro, citotoksični CD8+ limfociti T nisu bili u mogućnosti infiltrirati rane aterosklerotske lezije, što upućuje na to da vaskularna upala u uznapredovalim plakovima može podržavati infiltraciju aterosklerotskih lezija cirkulirajućim CD8+ T stanicama (95). U našem istraživanju pronađen veći broj citotoksičnih CD8+ limfocita

T u stijenci ATA potvrđuje njihovu ulogu u procesima slabljenja stijenke abdominalne aorte i napredovanju aterosklerotske lezije.

Ideja da su svi limfociti B kao dio humoralne imunosti ateroprotektivni i protuupalni je revidirana u nedavnim publikacijama koje pokazuju da limfociti B također mogu imati i proaterogenu ulogu. Prema nekim autorima limfociti B ovisno o porijeklu mogu imati i proaterogenu ulogu i to stimulirajući ekspanziju zrelih dendritičkih stanica tako da stimuliraju Th1 stanice i lučenje IFN- γ . Rezultati istraživanja koju su proveli Ait-Oufella i sur izazivaju paradigmu da je ukupna funkcija limfocita B ateroprotektivna i pokazuju da je glavna uloga limfocita B u aterosklerozi potaknuti aktivaciju limfocita T prema povećanom proaterogenom Th1 imunološkom odgovoru i limitirati proizvodnju ateroprotektivnog IL-17. Oni su detektirali i ograničenu infiltraciju limfocita B u ranim stadijima ateroskleroze i prikazali su da se nakupljanje limfocita B znatno povećava s vremenom, te da su limfociti B lokalizirani unutar i oko uznapredovalih aterosklerotskih koronarnih lezija i aterosklerotskih ATA kod miševa i ljudi (96). Regulatorne B stanice imaju modulatornu ulogu preko lučenja IL-10 i izravne interakcije s limfocitima T (97). Plazma stanice kao završne zrele stanice nastale diferencijacijom limfocita B rijetko postoje u okluzivnim aterosklerotskim aortama, dok se često pokazuje lokalno taloženje imunoglobulina i potencijalna aktivacija humoralne upalne reakcije kod ATA (98,99). Plazma stanice su dio kroničnog upalnog infiltrata i nalaze se u povećanom broju u uznapredovalim aterosklerotskim lezijama. U našem istraživanju nađeno statistički značajno veće nakupljanje plazma stanica u stijenci ATA u odnosu na stijenkku samo aterosklerotski promijenjene aorte, također ukazuje na ulogu plazma stanica u uznapredovalim kroničnim upalnim promjenama ateroskleroze.

Kod skupine naših bolesnika kontrolne skupine s uznapredovalim aterosklerotskim promjenama bez ATA nađena je veća učestalost pomoćničkih CD4+ limfocita T i makrofaga koji su važni u početnoj fazi upale i njenom daljnjem poticanju. U svom radu su Hannson i sur prikazali da dvije trećine limfocita T unutar ljudskih aterosklerotskih plakova čine pomoćnički CD4+ limfociti T (100). Također su Arbab-Zadeh i sur opisali da su pomoćnički CD4+ limfociti T među prvim stanicama koje se regrutiraju unutar ateroma i broj im raste u uznapredovalim nestabilnim plakovima, te su tako bitne za početnu fazu i poticanje daljnje upale u aterosklerozi (101). Prema istraživanju koje su objavili Allahverdian i sur lipidno opterećenje makrofaga i

glatkomišićnih stanica dovodi do promjena u ekspresiji i funkciji gena i povezano je s ekspresijom proinflammatoryh citokina. Utvrđeno je također da opterećenje lipidima onemogućava skupljanje kolagena i fibronektina u glatkomišićnim stanicama, koje mogu dovesti do nestabilnih aterosklerotskih plakova. Ekspresija matričnih metaloproteinaza u aterosklerotičnim lezijama također doprinosi nestabilnosti plaka. Makrofazi i pjenaste stanice eksprimiraju matrične metaloproteinaze u aterosklerotskim plakovima (102). Fisherova skupina pokazala je da mišje glatkomišićne stanice, osim ekspresije markera makrofaga, nakon opterećenja kolesterolom steknu i fagocitna svojstva (103). Nakashima i sur su objavili da se u humanoj aterosklerozi ove pjenaste stanice pojavljuju prvo u intimi ranih aterosklerotskih lezija, dok je primijećeno da se u kasnijoj fazi mišje aterosklerotske lezije pjenaste stanice javljaju i u fibroznim plakovima (104).

Rizik od ATA, kao i povećanje aneurizme i ruptura se za svakog bolesnika uvelike može odrediti temeljitom medicinskom, obiteljskom i društvenom anamnezom. Maksimalni promjer ATA ostaje najčešće korišten i potvrđen kriterij za predviđanje rizika rupture. Još su Darling i sur 1977. na retrospektivnom pregledu 24.000 uzastopnih autopsija izvedenih tijekom 23 godine u jednom medicinskom centru usvojili da je maksimalan promjer aneurizmatičke vreće mjera rizika od rupture (105). Trenutne smjernice za liječenje su promjer od 5,5 cm u muškaraca i 5 cm kod žena, s mogućnošću individualizirane procjene rizika na temelju osobne i obiteljske povijesti, te povijesti ranijih intervencija. Rezultati iz PIVOTAL i CAESAR randomiziranih pokusa ne potvrđuju nikakve koristi kod liječenja bolesnika s manjim ATA. Velike analize registara pokazale su veći operativni morbiditet s vrlo velikim ATA (> 6,0 cm), ali nisu pokazale da ima koristi od liječenja ako je promjer ATA manji od 5,5 cm (106). U radu koji su napisali Hall i sur sugerira se da je ruptura neposredna kada stres nad stijenkama dosegne kritičnu razinu, a predviđenim je Laplaceovim zakonom i maksimalnim promjerom ATA. Nekoliko drugih radova naknadno je pokazalo da je stres stijenke vrlo ovisan i o obliku ATA, a ne samo promjeru (107). Daljnje analize također utjelovljuju utjecaj intraluminalnih hemodinamskih stanja na stres stijenke i indekse čvrstoće (108). Vlačna čvrstoća zida aorte nije jednolična i slabija je u područjima povećane proteolitičke aktivnosti, a koja varira duž aneurizmatičke vreće, te biološke žarišne točke predstavljaju područja aortalnog zida koja su sklona daljnjem širenju i rupturi (109). Najvažniji prediktori

smrtnosti bolesnika s ATA i dalje su simptomatska koronarna bolest, kongestivno zatajenje srca, teška kronična plućna bolest i napredna kronična bolest bubrega. Kardiovaskularna i plućna bolest ostaju vodeći uzroci rane i kasne smrti nakon otvorenog kirurškog popravka ATA ili EVAR-a (110). EVAR je povezan s trostruko smanjenjem perioperacijske smrtnosti u usporedbi s bolesnicima podudarnim sklonostima koji su podvrgnuti elektivnom kirurškom zahvatu, uključujući i mlađe bolesnike s manje komorbiditeta (111). Za bolesnike s naprednom kroničnom insuficijencijom bubrega i KOPB ovisnim o kisiku, EVAR je superiornija metoda od onih postignutih s suvremenim kirurškim zahvatom, posebno kada se provodi u lokalnoj ili regionalnoj anesteziji (112). Unatoč smanjenom riziku u usporedbi s kirurškim zahvatom, EVAR ostaje srednji do visokorizični postupak za bolesnike s kardiovaskularnim komplikacijama. Čimbenici koji utječu na smrtnost liječenja (otvorenog kirurškog popravka i EVAR-a) uključuju iskustvo kirurga i bolnički volumen bolesnika s ATA, hitnost postupka, dob bolesnika, prisutnost i težinu komorbiditeta i proksimalno proširenje aneurizme. Schermerhorn i sur su u svome radu ustvrdili da su i dalje najvažniji prediktori smrtnosti liječenja bolesnika s ATA simptomatska koronarna bolest, kongestivno zatajenje srca, teška kronična plućna bolest i kronična bolest bubrega (113). U našem vaskularnom odjelu većina postupaka koji se izvode za popravak ATA su otvoreni, dok oko 20% čine endovaskularni postupci, koji su rezervirani za pacijente s izrazitim komorbiditetima i visokim operativnim rizikom.

Poznato je da fuziformni tip je najčešći morfološki tip ATA i on čini oko 95% svih ATA, te nastaje degeneracijom stijenke aorte. U istraživanju Hafida i sur utvrđeno je da je ukupna funkcija limfocita B ateroprotektivna i da je njihova glavna uloga u aterosklerozi pokretanje aktivacije limfocita T prema proaterogenim Th1 upalnim reakcijama. Ograničena vaskularna infiltracija limfocitima B nađena je u ranim stadijima ateroskleroze, znatno se povećava s vremenom, te se limfociti B lokaliziraju unutar i oko uznapredovalih aterosklerotskih lezija koronarnih žila i stijenke aterosklerotske ATA (96). U rezultatima našeg istraživanja došli smo do zaključka da je fuziformni tip ATA karakteriziran s povećanom inhibitornom upalnom reakcijom limfocita B koji sudjeluju u uznapredovaloj fazi ateroskleroze i modulaciji upale. Druge morfološke karakteristike ATA (promjer, izolirana ili proširena aneurizma sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima i prisutnost

intraluminalnog tromba) koje smo analizirali, nisu bile statistički povezane s vrstom i učestalosti ispitivanih upalnih stanica.

Kronična upala je odavno poznata kao važan faktor u formiranju aneurizme. U svojim radovima su Morel i Kotze pokazali da niska upalna aktivnost prethodi fazi rasta aneurizme (114, 115). Razlog tome može biti smanjen broj stanica u fibroznim ili nekrotičnim područjima zida aneurizme, ali i zbog cikličnih promjena u upalnoj aktivnosti. Morel i sur dalje su pokazali da početni, smanjeni broj upalnih stanica više nije prisutan nakon faze rasta kada upalni infiltrat jača. Proučavajući markere upale kod ATA u svojim su istraživanjima Kotze i Reeps pokazali da je unos ^{18}F -FDG kao markera upale znatno veće u simptomatskim i upalnim ATA nego u asimptomatskim ATA. U našem istraživanju je promjer ATA je statistički značajno povezan s povišenom vrijednosti CRP, što ukazuje na važnost i povezanost upale u progresiji ateroskleroze i razvoju aneurizmatičkih komplikacija. Nepoznanice o uzročnoj ulozi upale u aterosklerozi također su potaknute činjenicom da do danas nikakva terapijska protuupalna intervencija nije mogla utjecati na progresiju ATA (116). Neuspjeh protuupalnih lijekova da zaustave napredovanje ATA dio su šireg pitanja neidentificiranih učinaka upale u patofiziologiji ATA.

U našem istraživanju nađen je u stijenci ATA povećan broj citotoksičnih CD8+ limfocita T, imunoregulatornih regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T i plazma stanica te prevladavanje inhibitornog upalnog odgovora u ATA. Različite karakteristike upalnog odgovora u stijenci ATA i stijenci samo aterosklerotski promijenjene aorte ukazuju na različite karakteristika upalne reakcije s napredovanjem ateroskleroze i nastankom aterosklerotske aneurizmatičke komplikacije.

7. ZAKLJUČCI

1. Upalna reakcija u stijenci ATA karakterizirana je većom učestalošću citotoksičnih CD8+ limfocita T odgovornih za oštećenje glatkomišićnih stanica i destrukciju stijenske aorte
2. Upalna reakcija u samo aterosklerotski promijenjenoj stijenci trbušne aorte karakterizirana je većom učestalošću pomoćničkih CD4+ limfocita T i makrofaga važnih u početnoj fazi i poticanju upale
3. Povećan broj regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T i plazma stanica u stijenci ATA ukazuje na prevladavanje inhibitornog upalnog odgovora u ATA
4. Različite karakteristike upalnog odgovora u stijenci samo aterosklerotski promijenjene aorte i stijenci ATA ukazuju na promjene karakteristika upalne reakcije s napredovanjem ateroskleroze i nastankom aneurizmatске komplikacije
5. Fuziformni tip ATA karakteriziran je povećanom inhibitornom upalnom reakcijom limfocita B. Vrsta i učestalost ispitivanih upalnih stanica nisu povezane s ostalim morfološkim karakteristikama ATA – promjer, izolirana ili proširena aneurizma sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima i prisutnost intraluminalnog tromba.
6. Promjer ATA statistički je značajno povezan s povišenom vrijednosti CRP što ukazuje na važnost upale u progresiji ateroskleroze i razvoju aneurizmatških komplikacija

7. Prošireni tip ATA sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima značajno češće je prisutan u bolesnika starije životne dobi, ukazujući na teži klinički oblik ATA kod starijih bolesnika

8. SAŽETAK

Upalna reakcija definirana je kao ključni regulatorni proces ateroskleroze. Usporedbom vrste i količine upalnih stanica u stijenci aneurizme trbušne aorte (ATA) i stijenci samo aterosklerotski promijenjene trbušne aorte istražen je utjecaj upale na stvaranje aterosklerotskog plaka i razvoj ATA.

U stijenci ATA (40 bolesnika liječenih otvorenim kirurškim popravkom anurizme) i stijenci samo aterosklerotski promijenjene trbušne aorte (20 bolesnika) rađena je usporedba vrste i količine upalnih stanica - makrofaga, mastocita, limfocita B, plazma stanica, pomoćničkih CD4+ limfocita T, citotoksičnih CD8+ limfocita T i regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T. Upalne stanice obilježene su prikazom specifičnih staničnih biljega imunohistokemijskom metodom na parafinskim rezovima tkiva. Također su analizirane morfološke karakteristike ATA (promjer, morfološki tip - fuziformna/sakularna, izolirana aneurizma trbušne aorte ili proširena sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima, prisutnost intraluminalnog tromba), laboratorijski pokazatelji (CRP, D-dimer, ukupni kolesterol, HDL, LDL, trigliceridi) i klinički čimbenici rizika ateroskleroze (dob, spol, tjelesna visina, tjelesna težina, indeks tjelesne mase (ITM), pušenje, krvni tlak – sistolički/dijastolički, šećerna bolest, prisutnost znakova periferne ateroskleroze, druga periferna aneurizma, uzimanje lijekova - statini).

U stijenci ATA nađen je značajno veći broj citotoksičnih CD8+ limfocita T, regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T i plazma stanica u odnosu na stijenu samo aterosklerotski promijenjene trbušne aorte. Značajno veći broj pomoćničkih CD4+ limfocita T i makrofaga nađen je u stijenci trbušne aorte kontrolne skupine. Kod najvećeg broja bolesnika promjer ATA je iznosio 45-75 mm, aneurizme su bile češće sakularnog oblika (32/40), izolirane bez zahvaćanja jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima (36/40) i s prisutnim intraluminalnim trombom (28/40). Usporedbom vrste i količine ispitivanih upalnih stanica u stijenci ATA i morfoloških karakteristika ATA nađena je statistički značajna veća učestalost limfocita B u fuziformnom tipu ATA. Vrsta i učestalost ispitivanih upalnih stanica nisu povezane s ostalim analiziranim morfološkim karakteristikama ATA. Usporedbom vrste i količine ispitivanih upalnih

stanica s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima i kliničkim čimbenicima rizika za aterosklerozu, nađeni statistički signifikantni rezultati povezanosti plazma stanica s vrijednostima LDL i ukupnog kolesterola, citotoksičnih CD8+ limfocita T i plazma stanica s vrijednostima dijastoličkog tlaka i regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita s ITM i tjelesnom težinom bolesnika nemaju specifičan klinički značaj. Usporedbom morfoloških karakteristika ATA s ispitivanim laboratorijskim pokazateljima i kliničkim čimbenicima rizika za aterosklerozu vidjelo se da je promjer ATA značajno povezan s povišenom vrijednosti CRP. Prošireni tip ATA sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima bio je statistički značajno češće prisutan u bolesnika starije životne dobi.

Veća učestalost citotoksičnih CD8+ limfocita T u ATA odgovorna je za oštećenje glatkomišićnih stanica i destrukciju stijenke aorte. Upalna reakcija u samo aterosklerotski promijenjenoj stijenci trbušne aorte karakterizirana je većom učestalošću pomoćničkih CD4+ limfocita T i makrofaga važnih u početnoj fazi i poticanju upale. Povećan broj regulacijskih CD4+Foxp3+ limfocita T i plazma stanica u stijenci ATA ukazuje na prevladavanje inhibitornog upalnog odgovora u ATA. Različite karakteristike upalnog odgovora u stijenci samo aterosklerotski promijenjene aorte i stijenci ATA ukazuju na promjene karakteristika upalne reakcije s napredovanjem ateroskleroze i nastankom aneurizmatске komplikacije. Fuziformni tip ATA karakteriziran je povećanom inhibitornom upalnom reakcijom limfocita B. Vrsta i učestalost ispitivanih upalnih stanica nisu povezane s ostalim morfološkim karakteristikama ATA – promjer, izolirana ili proširena aneurizma sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima i prisutnost intraluminalnog tromba. Promjer ATA statistički je značajno povezan s povišenom vrijednosti CRP što ukazuje na važnost upale u progresiji ateroskleroze i razvoju aneurizmatских komplikacija. Prošireni tip ATA sa zahvaćanjem jedne i/ili dvije ilijakalne arterije s ograncima značajno češće je prisutan u bolesnika starije životne dobi, ukazujući na tezi klinički oblik ATA kod starijih bolesnika.

9. SUMMARY

Inflammatory cells in the atherosclerotic abdominal aortic aneurysm

The inflammatory reaction is defined as the key regulatory atherosclerotic process. By comparing the type and volume of inflammatory cells in the abdominal aortic aneurysm (AAA) walls and the only atherosclerotic abdominal aorta abnormalities, the influence of inflammation on the formation of atherosclerotic plaque and the development of ATA was investigated.

Comparison of the type and volume of inflammatory cells - macrophage, mast cell, lymphocyte B, plasma cells, auxiliary CD4 + lymphocytes T, cytotoxic CD8 + lymphocytes, in the AAA strain (40 patients treated with open surgical aneurysm repair) and rocks only atherosclerotic altered abdominal aorta (20 patients) T and regulatory CD4 + Foxp3 + lymphocytes T. Inflammatory cells are characterized by the representation of specific cellular markers by immunohistochemical method on paraffinic tissue cuts. The morphological characteristics of AAA (diameter, morphological type - fusiform / saccular, isolated abdominal aorta aneurysm or extended with one and / or two iliac arteries , presence of intraluminal thrombus), laboratory parameters (CRP, D-dimer, total cholesterol (age, gender, body weight, body weight, body mass index (ITM), smoking, blood pressure - systolic/diastolic, diabetes mellitus, presence of peripheral atherosclerosis, other peripheral aneurysms), and clinical risk factors of atherosclerosis, taking medicines - statins).

In the AAA strains, a significantly higher number of cytotoxic CD8 + lymphocytes T, regulatory CD4 + Foxp3 + lymphocytes T and plasma cells were found in comparison to the only atherosclerotic abdominal aortic ventricular wall. Significantly larger number of auxiliary CD4 + lymphocytes T and macrophages were found in the abdominal aorta of the control group. In the largest number of patients, the diameter of AAA was 45-75 mm, aneurysms were more often sacrilege (32/40), isolated without the involvement of one and/or two iliac arteries with branches (36/40) and with intraluminal thrombosis (28/40). By comparison of the type and volume of the

examined inflammatory cells in the AAA strain and the morphological characteristics of the AAA, a statistically significant higher incidence of lymphocyte B was found in the fusiform type of AAA. The type and frequency of the examined inflammatory cells are not related to other analyzed morphological characteristics of AAA. By comparing the type and volume of the investigated inflammatory cells with the investigated laboratory indicators and clinical factors of atherosclerosis risk, statistically significant results of plasma cell-related correlation with LDL and total cholesterol, cytotoxic CD8 + lymphocyte T and plasma cells were found with diastolic pressure values and regulatory CD4 + Foxp3 + lymphocytes with ITM and body weight of patients have no specific clinical relevance. By comparing the morphological characteristics of AAA with the investigated laboratory indicators and the clinical factors of atherosclerosis risk, the AAA diameter was significantly associated with elevated CRP values. The extended AAA type with the involvement of one and/or two lipid arteries with the ribs was statistically significantly more frequent in elderly patients.

The higher incidence of cytotoxic CD8 + lymphocytes T in AAA is responsible for damage to smooth muscle cells and the destruction of the aortic wall. The inflammatory reaction in atherosclerotic alteration of the abdominal aorta was characterized by a higher incidence of auxiliary CD4 + lymphocytes T and macrophages important in the initial stage and stimulation of inflammation. An increased number of regulatory CD4 + Foxp3 + T lymphocytes and AAA plasma cells suggests overcoming the inhibitory inflammatory response in AAA. Different characteristics of the inflammatory response in the parts only atherosclerotic aortic and aorta scars indicate changes in the characteristics of the inflammatory reaction with atherosclerosis and the emergence of aneurysmatic complications. The fusiform type of AAA is characterized by an increased inhibitory inflammatory response of lymphocytes B. The type and frequency of the examined inflammatory cells are not related to other morphological characteristics of the AAA diameter, isolated or extended aneurysm with the involvement of one and / or two iliac arteries with the branches and the presence of intraluminal thrombus. The AAA diameter is statistically significantly associated with elevated CRP values, indicating the importance of inflammation in atherosclerosis progression and the development of aneurysmatic complications. The extended AAA type with the involvement of one

and/or two iliac arteries with the branches is significantly more frequent in elderly patients, pointing to the aetiology of AAA in elderly patients.

Vedran Pažur 2018.

10. LITERATURA

1. Parodi JC, Palmaz JC, Barone HD. Transfemoral intraluminal graft implantation for abdominal aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg.* 1991;5(6):491-9.
2. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Chute EP, Littooy FN, Bandyk D. Prevalence and associations of abdominal aortic aneurysm detected through screening. Aneurysm Detection and Management (ADAM) Veterans Affairs Cooperative Study Group. *Ann Intern Med.* Mar 15 1997;126(6):441-9.
3. Majumder PP, St Jean PL, Ferrell RE, Webster MW, Steed DL. On the inheritance of abdominal aortic aneurysm. *Am J Hum Genet.* 1991;48(1):164-70.
4. Tilson MD, Ozsvath KJ, Hirose H, Xia S. A genetic basis for autoimmune manifestations in the abdominal aortic aneurysm resides in the MHC class II locus DR-beta-1. *Ann N Y Acad Sci.* 1996;800:208-15.
5. Wassef M, Baxter BT, Chisholm RL, Dalman RL, Fillinger MF, Heinecke J. Pathogenesis of abdominal aortic aneurysms: a multidisciplinary research program supported by the National Heart, Lung, and Blood Institute. *J Vasc Surg.* 2001;34(4):730-8.
6. Brewster DC, Cronenwett JL, Hallett JW Jr, Johnston KW, Krupski WC, Matsumura JS. Guidelines for the treatment of abdominal aortic aneurysms. Report of a subcommittee of the Joint Council of the American Association for Vascular Surgery and Society for Vascular Surgery. *J Vasc Surg.* 2003;37(5):1106-17.
7. The 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;353:1649-55.
8. Lederle FA, Wilson SE, Johnson GR, Reinke DB, Littooy FN, Acher CW. Immediate repair compared with surveillance of small abdominal aortic aneurysms. *N Engl J Med.* 9 2002;346(19):1437-44.
9. Tung WS, Lee JK, Thompson RW. Simultaneous analysis of 1176 gene products in normal human aorta and abdominal aortic aneurysms using a membrane-based complementary DNA expression array. *J Vasc Surg.* 2001;34(1):143-50.

10. Vohra R, Reid D, Groome J, Abdool-Carrim AT, Pollock JG. Long-term survival in patients undergoing resection of abdominal aortic aneurysm. *Ann Vasc Surg.* 1990;4(5):460-5.
11. Vorp DA, Raghavan ML, Webster MW. Mechanical wall stress in abdominal aortic aneurysm: influence of diameter and asymmetry. *J Vasc Surg.* 1998;27(4):632-9.
12. Breckwoldt WL, Mackey WC, O'Donnell TF Jr. The economic implications of high-risk abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 1991;13(6):798-803.
13. Brown PM, Pattenden R, Gutelius JR. The selective management of small abdominal aortic aneurysms: the Kingston study. *J Vasc Surg.* 1992;15(1):21-5.
14. Brown PM, Pattenden R, Vernooy C, Zelt DT, Gutelius JR. Selective management of abdominal aortic aneurysms in a prospective measurement program. *J Vasc Surg.* 1996;23(2):213-20.
15. Bunt TJ. Synthetic vascular graft infections. I. Graft infections. *Surgery* 1983;93(6):733-46.
16. Bunt TJ. Synthetic vascular graft infections. II. Graft-enteric erosions and graft-enteric fistulas. *Surgery* 1983;94(1):1-9.
17. 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.
18. Crawford ES, Cohen ES. Aortic aneurysm: a multifocal disease. Presidential address. *Arch Surg.* 1982;117(11):1393-400.
19. Bickerstaff LK, Hollier LH, Van Peenen HJ, Melton LJ 3rd, Pairolero PC, Cherry KJ. Abdominal aortic aneurysms: the changing natural history. *J Vasc Surg.* 1984;1(1):6-12.
20. Brady AR, Fowkes FG, Greenhalgh RM, Powell JT, Ruckley CV, Thompson SG. Risk factors for postoperative death following elective surgical repair of abdominal aortic aneurysm: results from the UK Small Aneurysm Trial. On behalf of the UK Small Aneurysm Trial participants. *Br J Surg.* 2000;87(6):742-9.
21. Frame PS, Fryback DG, Patterson C. Screening for abdominal aortic aneurysm in men ages 60 to 80 years. A cost-effectiveness analysis. *Ann Intern Med.* 1993;119(5):411-6.
22. Gadowski GR, Pilcher DB, Ricci MA. Abdominal aortic aneurysm expansion rate: effect of size and beta- adrenergic blockade. *J Vasc Surg.* 1994;19(4):727-31.

23. Gillum RF. Epidemiology of aortic aneurysm in the United States. *J Clin Epidemiol.* 1995;48(11):1289-98.
24. Gomes MN, Choyke PL, Wallace RB. Infected aortic aneurysms. A changing entity. *Ann Surg.* 1992;215(5):435-42.
25. Chiu B, Viira E, Tucker W, Fong IW. Chlamydia pneumoniae, Cytomegalovirus, and Herpes Simplex Virus in atherosclerosis of the carotid artery. *Circulation* 1997;96:2144-2148.
26. Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Blankenberg S i sur. Impact of infectious burden on progression of carotid artery atherosclerosis. *Stroke* 2002;33:2581-2586.
27. Blum A, Peleg A, Weinberg M: Anti-Cytomegalovirus (CMV) IgG antibody titer in patients with risk factor to atherosclerosis. *Clin Exp Med* 2003;3:157-160.
28. Ott SJ, El Mokhtari NE. Detection of diverse bacterial signatures in atherosclerotic lesions of patients with coronary heart disease. *Circulation* 2006;113:929-937.
29. Danesh J, Collins PR: Chronic infections and coronary heart disease: is there a link?. *Lancet* 1997;350:430-436.
30. Di Bonaventura G, Piccolomini R, Pompilio A. Serum and mucosal cytokine profiles in patients with active Helicobacter pylori and ischemic heart disease:is there a relationship?. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2007;20:163-72.
31. Epstein SE, Zhu J, Burnett MS, Zhou YF, Vercellotti G, Hajjar D: Infection and atheroscelosi: potential roles of pathogen burden and molecular mimicry. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1417-1420.
32. Ouriel K, Green RM, Donayre C, Shortell CK, Elliott J, DeWeese JA. An evaluation of new methods of expressing aortic aneurysm size: relationship to rupture. *J Vasc Surg.* 1992;15(1):12-8.
33. 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.
34. Rasmussen TE, Hallett JW Jr. Inflammatory aortic aneurysms. A clinical review with new perspectives in pathogenesis. *Ann Surg.* 1997;225(2):155-64.
35. Ailawadi G, Eliason JL, Upchurch GR Jr. Current concepts in thea pathogenesis of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2003;38(3):584-8.

36. White GH, May J, McGahan T, Yu W, Waugh RC, Stephen MS. Historic control comparison of outcome for matched groups of patients undergoing endoluminal versus open repair of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 1996;23(2):201-11.
37. Zarins CK, Wolf YG, Lee WA, Hill BB, Olcott C IV, Harris EJ. Will endovascular repair replace open surgery for abdominal aortic aneurysm repair? *Ann Surg.* 2000;232(4):501-7.
38. Moore WS, Brewster DC, Bernhard VM. Aorto-uni-iliac endograft for complex aortoiliac aneurysms compared with tube/bifurcation endografts: results of the EVT/Guidant trials. *J Vasc Surg.* 2001;33 Suppl2:11-20.
39. Ouriel K, Geary K, Green RM, Fiore W, Geary JE, DeWeese JA. Factors determining survival after ruptured aortic aneurysm: the hospital, the surgeon, and the patient. *J Vasc Surg.* 1990;11(4):493-6.
40. Rutherford RB, Krupski WC. Current status of open versus endovascular stent-graft repair of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2004;39(5):1129-39.
41. Stella A, Gargiulo M, Faggioli GL, Bertoni F, Cappello I, Brusori S. Postoperative course of inflammatory abdominal aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg.* 1993;7(3):229-38.
42. Tung WS, Lee JK, Thompson RW. Simultaneous analysis of 1176 gene products in normal human aorta and abdominal aortic aneurysms using a membrane-based complementary DNA expression array. *J Vasc Surg.* 2001;34(1):143-50.
43. Hallett JW Jr, Marshall DM, Petterson TM, Gray DT, Bower TC, Cherry KJ Jr. Graft-related complications after abdominal aortic aneurysm repair: reassurance from a 36-year population-based experience. *J Vasc Surg.* 1997;25(2):277-84; discussion 285-6.
44. Johnston KW, Hertzner NR, Rutherford RB. Joint Council guidelines for disclosure of conflict of interest. *J Vasc Surg.* 2000;32(1):213-5.
45. May J, White GH, Yu W, Waugh R, Stephen MS, Chaufour X. Endovascular grafting for abdominal aortic aneurysms: changing incidence and indication for conversion to open operation. *Cardiovasc Surg.* 1998;6(2):194-7.
46. Rosai J. Cardiovascular system. U: Rosai, ur. Rosai and Ackerman's surgical pathology, 9th ed. Philadelphia: Elsevier Inc; 2004:2438-9.
47. Hallet Jr JW. Management of abdominal aortic aneurysm. *Mayo Clin Proc.* 2000;75:395-9.

48. Ross R: Mechanism of disease: Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 340:115-126,1999.
49. Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-809.
50. Jackson LA, Rodriguez DI, Lee A, Kuo C-C, Campbell LA, Grayston JT. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) from carotid atherosclerotic plaque specimen obtained by endarterectomy. *J Infect Dis.* 1997;176(1):292-5.
51. Stary HC1, Chandler AB, Dinsmore RE i sur. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation.* 1995;92(5):1355-74.
52. Ross R: Cell biology of atherosclerosis. *Ann Rev Physiol.* 1996;57:791-804.
53. Arias E, Martinetto H, Schultz M. Seminested polymerase chain reaction (PCR) for detecting *Helicobacter pylori* DNA in carotid atheromas. *Diagn Mol Pathol.* 2006;15:174-9.
54. Weiss TW, Kvakan H, Kaun C. No evidence for direct role of *Helicobacter pylori* and *Mycoplasma pneumoniae* in carotid artery atherosclerosis. *J Clin Pathol.* 2006;59:1186-90.
55. Markus HS, Mendall MA. *Helicobacter pylori* infection: a risk faktor for ischaemic cerebrovascular disease and carotid atheroma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;64:104-7.
56. Schwander J, Hauri C, Zapf F, Froesch ER. Synthesis and secretion of insulin-like growth factor and its binding protein by the perfused rat liver: Dependence on growth hormone status. *Endocrinology* 1983;113:297-305.
57. Boyle EM, Lille ST, Allaire E. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: Atherosclerosis. *Ann Thorac Surg.* 1997;63:885-894.
58. Sidawy AN, Hakim FS, Jones B. Insulin-like growth factor-1 binding in injury induced intimal hyperplasia of rabbit aorta. *J Vasc Surg.* 1996;23:308-313.
59. Gospodarowicz D. Localisation of a fibroblast growth factor and its effect alone and with hydrocortisone on cell growth. *Nature* 1974;249:123-127.
60. Vanderlaan PA, Reardon CA. Thematic review series: the immune system and atherogenesis. The unusual suspects: an overview of the minor leukocyte populations in atherosclerosis. *J Lipid Res.* 2005;46:829 – 838.

61. Ihara M, Urata H, Kinoshita A i sur. Increased chymase-dependent angiotensin II formation in human atherosclerotic aorta. *Hypertension*. 1999;33:1399–1405.
62. Herron GS, Unemori E, Wong M, Rapp JH, Hibbs MH, Stoney RJ. Connective tissue proteinases and inhibitors in abdominal aortic aneurysms. Involvement of the vasa vasorum in the pathogenesis of aorticaneurysms. *Arterioscler Thromb*. 1991;11:1667–1677.
63. Vorp DA, Lee PC, Wang DH, Makaroun MS, Nemoto EM, Ogawa S, Webster MW. Association of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm with local hypoxia and wall weakening. *J Vasc Surg*. 2001;34:291–299.
64. Berliner JA, Territo MC, Sevanian A. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. *J Clin Invest*. 1990;85:1260-1266.
65. Rijbroek A, Moll FL, von Dijk HA, Meijer R, Jansen JW. Inflammation of the abdominal aortic aneurysm wall. *Eur J Vasc Surg*. 1994;8(1):41-6.
66. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in atherosclerosis: From pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(23):2129-2138.
67. Shimizu K, Mitchell RN, Libby P. Inflammation and cellular immune responses in abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(5):987-94.
68. Wang Y, Ait-Oufella H, Herbin O i sur. TGF-beta activity protects against inflammatory aortic aneurysm progression and complications in angiotensin II-infused mice. *J Clin Invest*. 2010;120(2):422-32.
69. Hellenthal FA, Buurman WA, Wodzig WK, Schurink GW. Biomarkers of abdominal aortic aneurysm progression. Part 2: inflammation. *Nat Rev Cardiol* 2009;6(8):543-52.
70. Davies MJ. Aortic aneurysm formation: lessons from human studies and experimental models. *Circulation* 1998;98(3):193-5.
71. Rizzo RJ, McCarthy WJ, Dixit SN i sur. Collagen types and matrix protein content in human abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 1989;10:365–373.
71. Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:165-97.
72. Schonbeck U, Sukhova GK, Gerdes N, Libby P. T(H)2 predominant immune responses prevail in human abdominal aortic aneurysm. *Am J Pathol*. 2002;161:499-506.

73. Shimizu K, Shiciri 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;114:300-08.
74. Tang PC, Yakimov AO, Teesdale MA. Transmural inflammation by interferon-gamma producing T cells correlates with outward vascular remodeling and intimal expansion of ascending thoracic aortic aneurysms. *Faseb J.* 2005;19:1528-30.
75. Ait-Oufella H, Salamon BL, Potteaux S. Natural regulatory T cells control the development of atherosclerosis in mice. *Nat Med.* 2006;12:178-180.
76. Koch AE, Haines GK i sur. Human abdominal aortic aneurysms. Immunophenotypic analysis suggesting an immune-mediated response. *Am J Pathol.* 1990;137:1199–1213.
77. Hansson GK, Jonasson L, Seifert PS, Stemme S. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arteriosclerosis.* 1989;9:567–578.
78. Brophy CM, Reilly JM, Smith GJ, Tilson MD. The role of inflammation in nonspecific abdominal aortic aneurysm disease. *Ann Vasc Surg.* 1991;5:229–233.
79. Hallet Jr JW. Management of abdominal aortic aneurysm. *Mayo Clin Proc.* 2000;75:395-9.
80. Stary HC, Chandler B, Dinsmore RE i sur. A Definition of Advanced Types of Atherosclerotic Lesions and a Histological Classification of Atherosclerosis. *Circulation* 1995;92:1355-74.
81. Eagleton MJ. Inflammation in abdominal aortic aneurysms: cellular infiltrate and cytokine profiles. *Vascular* 2012;20(5):278-283.
82. Ocana E, Bohorquez JC, Perez-Requena J, Brieva JA, Rodriguez C. Characterisation of T and B lymphocytes infiltrating abdominal aortic aneurysms. *Atherosclerosis* 2003;170:39-48.
83. Schonbeck U, Sukhova GK, Gerdes N, Libby P. T(H)2 predominant immune responses prevail in human abdominal aortic aneurysm. *Am J Pathol.* 2002;161:499–506.
84. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420:868–874.
85. Juvonen J, Surcel HM, Satta J i sur. Elevated circulating levels of inflammatory cytokines in patients with abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:2843–2847.

86. Rohde LE, Arroyo LH, Rifai N i sur. Plasma concentrations of interleukin-6 and abdominal aortic diameter among subjects without aortic dilatation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:1695–1699.
87. Davis VA, Persidskaia RN, Baca-Regen LM, Fiotti N, Halloran BG, Baxter BT. Cytokine pattern in aneurysmal and occlusive disease of the aorta. *J Surg Res.* 2001;101:152–156.
88. Koch AE, Haines GK, Rizzo RJ i sur. Human abdominal aortic aneurysms. Immunophenotypic analysis suggesting an immune-mediated response. *Am J Pathol.* 1990;137:1199–1213.
89. Patel S, Chung SH, White G, Bao S, Celermajer DS. The 'atheroprotective' mediators apolipoproteinA-I and Foxp3 are over-abundant in unstable carotid plaques. *Int J Cardiol.* 2010;145:183-87.
90. De Boer OJ, Van der Wal AC. FOXP3+ regulatory T cells in vulnerable atherosclerotic plaques. *Int J Cardiol.* 2010;145(1):161.
91. Yin M, Zhang J, Wang Y i sur. Deficient CD4+CD25+ T regulatory cell function in patients with abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(9):1825-31.
92. Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis* 1986;6:131–138
93. Cochain C, Zerneck A. Protective and pathogenic roles of CD8+ T cells in atherosclerosis. *Basic Res Cardiol.* 2016;111(6):71.
94. Grivel JC, Ivanova O, Pinegina N i sur. Activation of T lymphocytes in atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(12):2929-37.
95. Gewaltig J, Kummer M, Koella C, Cathomas G, Biedermann BC. Requirements for CD8 T-cell migration into the human arterial wall. *Hum Pathol.* 2008;39(12):1756-62.
96. Ait-Oufella H, Herbin O, Bouaziz JD i sur. B cell depletion reduces the development of atherosclerosis in mice. *J Exp Med.* 2010;207(8):1579-87.
97. Tsiantoulas D, Diehl CJ, Witztum JL, Binder CJ. B cells and humoral immunity in atherosclerosis. *Circ Res.* 2014;114(11):1743-56.

98. Koch AE, Haines GK, Rizzo RJ, Radosevich JA, Pope RM, Robinson PG. Human abdominal aortic aneurysms. Immunophenotypic analysis suggesting an immune-mediated response. *Am J Pathol.* 1990;137:1199–1213.
99. Brophy CM, Reilly JM, Smith GJ, Tilson MD. The role of inflammation in nonspecific abdominal aortic aneurysm disease. *Ann Vasc Surg.* 1991;5:229–233.
100. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol.* 2011;12(3):204-12.
101. Arbab-Zadeh A, Nakano M, Virmani R, Fuster V. Acute coronary events. *Circulation* 2012;125(9):1147-56.
102. Allahverdian S, Pannu PS, Francis GA. Contribution of monocyte-derived macrophages and smooth muscle cells to arterial foam cell formation. *Cardiovasc Res.* 2012;95(2):165-72.
103. Rong JX, Shapiro M, Trogan E, Fisher EA. Transdifferentiation of mouse aortic smooth muscle cells to a macrophage-like state after cholesterol loading, *Proc Natl Acad Sci.* 2003;100:13531-13536.
104. Nakashima Y, Plump AS, Raines EW, Breslow JL, Ross R. ApoE-deficient mice develop lesions of all phases of atherosclerosis throughout the arterial tree, *Arterioscler Thromb.* 1994;14:133-140.
105. Darling RC, Messina CR, Brewster DC, Ottinger LW. Autopsy study of unoperated abdominal aortic aneurysms. The case for early resection. *Circulation* 1977;56:161–164.
106. Huang Y, Gloviczki P, Duncan AA, Kalra M, Oderich GS, Fleming MD, Harmsen WS, Bower TC. Maximal aortic diameter affects outcome after endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 2017;65(5):1313-1322.
107. Chaikof EL, Dalman RL, Eskandari MK, Jackson BM, Lee WA, Mansour MA, Mastracci TM, Mell M, Murad MH, Nguyen LL, Oderich GS, Patel MS, Schermerhorn ML, Starnes BW. 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.
108. Xenos M, Labropoulos N, Rambhia S, Alemu Y, Einav S, Tassiopoulos A. Progression of abdominal aortic aneurysm towards rupture: refining clinical risk assessment using a fully coupled fluid-structure interaction method. *Ann Biomed Eng.* 2015;43:139–153.

109. Vallabhaneni SR, Gilling-Smith GL, How TV, Carter SD, Brennan JA, Harris PL. Heterogeneity of tensile strength and matrix metalloproteinase activity in the wall of abdominal aortic aneurysms. *J Endovasc Ther.* 2004;11(4):494-502.
110. Goodney PP, Tavis D, Lucas FL, Gross T, Fisher ES, Finlayson SR. Causes of late mortality after endovascular and open surgical repair of infrarenal abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 2010;51:1340–1347.
111. Siracuse JJ, Gill HL, Graham AR, Schneider DB, Connolly PH, Sedrakyan. Comparative safety of endovascular and open surgical repair of abdominal aortic aneurysms in low-risk male patients. *J Vasc Surg.* 2014;60:1154–1158.
112. Nguyen BN, Neville RF, Rahbar R, Amdur R, Sidawy AN. Comparison of outcomes for open abdominal aortic aneurysm repair and endovascular repair in patients with chronic renal insufficiency. *Ann Surg.* 2013; 258:394–399.
113. Schermerhorn ML, Buck DB, O'Malley AJ, Curran T, McCallum JC, Darling J. Long-term outcomes of abdominal aortic aneurysm in the Medicare population. *N Engl J Med.* 2015; 373:328–338.
114. Kotze CW, Rudd, JHF, Ganeshan B, Menezes LJ, Brookes J, Agu O. CT signal heterogeneity of abdominal aortic aneurysm as a possible predictive biomarker for expansion. *Atherosclerosis* 2014;233:510–517.
115. Morel O, Mandry D, Micard E, Kauffmann C, Lamiral Z, Verger A. Evidence of cyclic changes in the metabolism of abdominal aortic aneurysms during growth phases: 18F-FDG PET Sequential Observational Study. *J Nucl Med.* 2015;56:1030–1035.
116. Kokje VB, Hamming JF, Lindeman JH. Editor's Choice – pharmaceutical management of small abdominal aortic aneurysms: a systematic review of the clinical evidence. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2015;50: 702–713.

11. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 22. rujna 1977. godine u Zagrebu. Oženjen i otac troje djece.

U Velikoj Gorici sam završio osnovnu školu i prirodoslovno-matematičku gimnaziju.

2004. godine diplomirao sam na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Pripravnički staž obavilo sam u KB „Sv. Duh“ i 2005. godine sam položio državni ispit.

Od 2006. do 2010. godine sam na Klinici za kirurgiju KB Merkur obavio specijalističko usavršavanje iz opće kirurgije, te sam od 2011. do 2013. godine obavio uže usavršavanje iz vaskularne kirurgije.

Završio sam Znanstveni poslijediplomski studij Doktorski studij Biomedicina i zdravstvo, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Radim na Zavodu za vaskularnu kirurgiju Klinike za kirurgiju KB Merkur, Zagreb.

Aktivno sudjelujem na međunarodnim i domaćim znanstvenim skupovima kao prvi autor i koautor.

Objavio sam četiri znanstvena rada citirana u *Current Content* i jedan u *Index Medicus*.