

Assessment of pro- and antioxidative balance in the wall and mural thrombus of aortic aneurysm

Ocena równowagi utleniająco-przeciwutleniającej w ścianie i skrzeplinie przyściennej tętniaka aorty

Jerzy Głowiński, Elżbieta Skrzydlewska, Radosław Kowalewski, Roman Ostapowicz, Stanisław Głowiński

Department of Vascular Surgery and Transplantology Medical University, Białystok, Poland
(Klinika Chirurgii Naczyń i Transplantacji Akademii Medycznej w Białymstoku)

Abstract

Background. The aim of the study was to evaluate the activity of the key antioxidative enzyme — superoxide dismutase (SOD) and the content of the lipid peroxidation product — malondialdehyde (MDA) in the wall and mural thrombus of abdominal aortic aneurysms.

Material and methods. The studied material consisted of aneurysm walls and mural thrombi obtained during surgery from 36 patients. The aneurysm wall was stratified into the inner layer and the outer part, which was composed of media and adventitia. Mural thrombus was stratified into the external part — adhering to the aneurysm wall and the internal part — being in touch with blood. Aortas from organ donors served as controls. SOD activity was assessed according to Sykes method, whereas MDA content according to HPLC method in tissue homogenates.

Results. The lowest superoxide dismutase activity was found in the aneurysm wall. Furthermore, its inner layer showed 50% lower enzyme activity than the outer one. Superoxide dismutase activity was significantly higher in thrombus when compared to the aneurysm wall with a particular increase in its internal part. The highest MDA content was found in thrombus (without significant differences between its parts). The inner layer of the aneurysm wall showed more than a twofold higher MDA content than its outer layer. The lowest MDA content was found in the wall of normal aorta.

Conclusions. Diminished activity of the key antioxidant enzyme — SOD in the aneurysm wall, particularly in its inner layer, favours free radical generation, oxidative stress development and consequently intensive lipid peroxidation. This process affects structural changes of the aneurysm wall.

Key words: aneurysm, mural thrombus, reactive oxygen species, antioxidants

Streszczenie

Wstęp. Celem badań było poznanie aktywności podstawowego enzymu antyoksydacyjnego — dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) oraz stężenia produktu peroksydacji lipidów — malonyldialdehydu (MDA) w ścianie oraz skrzeplinie przyściennej tętniaka aorty brzusznej.

Materiał i metody. Materiał do badań stanowiły ściany tętniaków aorty brzusznej oraz skrzepliny przyścienne pobrane podczas operacji od 36 chorych. Ścianę tętniaka dzielono na warstwę wewnętrzną oraz część zewnętrzną zawierającą warstwę środkową i zewnętrzną. Od skrzepliny oddzielano część zewnętrzną — przylegającą do ściany tętniaka oraz wewnętrzną, mającą kontakt z krwią. Grupę kontrolną stanowiły aorty pobrane od dawców narządów.

W homogenatach oznaczono aktywność SOD metodą Sykesa oraz zawartość MDA, wykorzystując HPLC.

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr med. Jerzy Głowiński
ul. Zachodnia 18/5, 15–345 Białystok
tel. (+48 85) 746 82 76, fax: (+48 85) 742 10 04
e-mail: jerzglow@amb.edu.pl

Wyniki. Najniższą aktywność SOD stwierdzono w ścianie tętniaka, przy czym w warstwie wewnętrznej ściany zanotowano aktywność o ponad 50% niższą niż w warstwie zewnętrznej. W skrzeplinie aktywność SOD była istotnie wyższa niż w ścianie tętniaka. W warstwie wewnętrznej skrzepliny aktywność SOD była większa niż w warstwie zewnętrznej.

Najwyższą zawartość MDA stwierdzono w skrzeplinie przyściennej (bez istotnych różnic między warstwami). Warstwa wewnętrzna ściany tętniaka zawierała ponad 2-krotnie więcej MDA niż warstwa zewnętrzna. Najmniejszą zawartość MDA zaobserwowano w ścianie aorty dawcy.

Wnioski. Występowanie obniżonej aktywności kluczowego antyoksydacyjnego enzymu SOD w ścianie tętniaka aorty, zwłaszcza jego warstwy wewnętrznej, sprzyja tworzeniu rodników tlenowych, powstawaniu stresu oksydacyjnego i w konsekwencji — nasilonej peroksydacji lipidów. Wpływa to na zmiany struktury ściany tętniaka.

Słowa kluczowe: tętniak, skrzeplina przyścienne, reaktywne formy tlenu, antyoksydanty

Introduction

The first and, above all, the key process, which leads to aneurysm formation is functional and structural elastin loss in the wall of aorta [1]. The disease pathogenesis is particularly complex and not fully known. It was shown in aneurysm that destruction and pathological remodelling of the vessel wall's extracellular matrix took place. It is infiltrated by numerous cells, such as granulocytes, macrophages and lymphocytes with the ability to secrete not only proteolytic enzymes (elastase, collagenase), but also to generate reactive oxygen species [2, 3]. It was proved, that weakening of the aneurysm wall was developed mainly because of increased activity of proteases in it and/or decreased activity of their inhibitors [4].

The aorta dilatation is often accompanied by mural thrombus deposition, the structure and function of which were very carefully studied during recent years. Thrombi, particularly quickly growing ones, may increase the risk of aneurysm rupture [5]. They cause local hypoxia, which in connection with a high content of cells, such as lymphocytes T, neutrophils, macrophages, blood platelets or erythrocytes, accelerate the inflammatory process [6]. Released proteases do play a role in aneurysm enlargement and rupture [7]. Whereas the abluminal part of the thrombus and its direct contact, as well as interaction with the aneurysm wall, may also have a key importance in the disease pathogenesis.

There is more and more evidence that oxidative stress caused by free radicals participates in the development of vascular diseases, including arteriosclerosis in particular [8–10]. The oxidases: NADPH, xanthine, cyclo- i lipoxygenase, as well as myeloperoxidase and hemoproteins all belong to the most frequently mentioned reactive oxygen species in the vascular system [11]. They play a role in endothelial and smooth muscle

Wstęp

Pierwszym i kluczowym procesem prowadzącym do powstania tętniaka jest czynnościowa i strukturalna utrata elastyny w ścianie aorty [1]. Patogeneza choroby jest bardzo złożona i nie w pełni poznana. Wykazano, że w tętniaku następuje niszczenie i przebudowa patologicznej macierzy pozakomórkowej ściany naczynia, którą naciekają liczne komórki, takie jak granulocyty, makrofagi i limfocyty zdolne do wydzielania nie tylko enzymów proteolitycznych (elastazy, kolagenazy), lecz także do wytwarzania reaktywnych form tlenu [2, 3]. Udowodniono, że osłabienie ściany tętniaka następuje głównie z powodu nadmiernej aktywności proteaz w ścianie i/lub zmniejszonej aktywności ich inhibitorów [4].

Poszerzeniu światła aorty bardzo często towarzyszy odkładanie skrzepliny przyściennej. W ostatnich latach jej skład i funkcję bada się bardzo szczegółowo. Skrzeplina, zwłaszcza szybko narastająca, może zwiększać ryzyko pęknięcia tętniaka [5]. Wywołuje ona miejscową hipoksję, co w połączeniu z dużą zawartością komórek, takich jak limfocyty T, neutrofile, makrofagi, płytki i erythrocyty nasila proces zapalny [6]. Uwalniane proteazy odgrywają rolę w powiększaniu i pękaniu tętniaka [7], a część zewnętrzna i jej bezpośredni kontakt oraz interakcja ze ścianą mogą mieć kluczowe znaczenie w patogenezie choroby.

Coraz więcej danych wskazuje, że stres oksydacyjny wywołany przez wolne rodniki bierze udział w powstawaniu chorób układu krążenia, a szczególnie miażdżycy [8–10]. Najczęściej wymieniane źródła reaktywnych form tlenu w układzie krążenia to oksydazy: NADPH, ksantynowa, cyklo- i lipooksygenaza, a także mieloperoxydaza oraz hemoproteiny [11]. Uczestniczą one w zaburzeniach funkcji komórek śródbłonna i mięśni gładkich oraz przebudowie macierzy pozakomórkowej ściany naczynia. Jednak dane na temat powstawania i dzia-

cell dysfunction, as well as in the vessel wall extracellular matrix remodelling. However, data concerning generation and action of reactive oxygen species, as well as antioxidative potential in the aneurysm wall and mural thrombus in particular, are only fragmentary and still require further studies.

The aim of the study was to evaluate activity of the key antioxidative enzyme — superoxide dismutase (SOD) and concentration of the lipid peroxidation product — malondialdehyde (MDA) in the wall and mural thrombus of abdominal aortic aneurysms.

Material and methods

The study protocol was accepted by the Committee for Ethics and Supervision on Human and Animal Research of the Medical University in Białystok.

The studied material consisted of walls and mural thrombi of abdominal aortic aneurysms obtained during elective surgery in 36 patients, including 31 men and 5 women aged 66 ± 6 years. The aneurysm diameter was 65 ± 7 mm.

Surrounding tissues, blood and fresh thrombi were carefully removed from the obtained material, which was then divided into two parts in each case. One of them was examined as a whole wall or thrombus, whereas the other was stratified into two layers. The aneurysm wall was stratified into the inner layer, which was weakly bound to the remaining part of the wall and easily detached from it, whereas its outer layer was composed of media and adventitia. The mural thrombus was stratified into the external part — adhering to the aneurysm wall and the internal part at the aneurysm luminal surface, which was about 10 mm thick. The control group consisted of normal aortas harvested from 23 organ donors.

Tissues were homogenised (9:1 v/w) in 0.15 M NaCl (for lipid peroxidation product measurements) or in 0.25 M saccharose (for enzyme activity measurements) and centrifuged ($3000 \times g$ at 4°C). The obtained supernatant was used for further procedures. The activity of superoxide dismutase (SOD) was assessed according to Sykes method [12]. The content of malondialdehyde (MDA) was assessed by use of liquid chromatography HPLC [13].

The results were submitted to statistical analysis with U Mann-Whitney test, accepting $p < 0.05$ as significant.

Results

Significantly lower SOD activity was found in the aneurysm wall (308 U/g tissue) than in control aorta (409 U/g tissue). The highest activity was found in the thrombus (438 U/g tissue) — Figure 1. The inner layer showed

łania reaktywnych form tlenu oraz zdolności antyoksydacyjnej w ścianie tętniaka, a zwłaszcza skrzeplinie przyściennej, są jedynie fragmentaryczne i wymagają dalszych badań.

Celem pracy było poznanie aktywności podstawowego enzymu antyoksydacyjnego — dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) oraz stężenia produktu peroksydacji lipidów — malonyldialdehydu (MDA) w ścianie oraz skrzeplinie przyściennej tętniaka aorty brzusznej.

Materiał i metody

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Białymstoku.

Materiał do badań stanowiły ściany tętniaków aorty brzusznej oraz skrzepliny przyścienne pobrane od 36 chorych (31 mężczyzn i 5 kobiet w wieku 66 ± 6 lat) podczas planowych operacji. Średnica tętniaka wynosiła 65 ± 7 mm.

Pobrano materiał oczyszczano z tkanek otaczających, usuwano krew i świeże skrzepliny.

Następnie materiał pochodzący od każdego pacjenta dzielono na 2 części, jedną badano w całości (ściana lub skrzeplina), a drugą po rozdzieleniu na 2 warstwy.

Ścianę tętniaka rozwarstwiano na warstwę wewnętrzną, słabo związaną z resztą ściany i względnie łatwo dającą się od niej oddzielić, oraz część zewnętrzną — zawierającą warstwę środkową i zewnętrzną. Skrzeplinę rozwarstwiano na część zewnętrzną — przylegającą do ściany tętniaka oraz wewnętrzną (grubość 10 mm), od światła tętniaka.

Grupę kontrolną stanowiły aorty pobrane od 23 dawców narządów.

Tkanki homogenizowano (9:1 v/w) w 0,15 M roztworze NaCl (do oznaczeń zawartości produktów peroksydacji lipidów) lub 0,25 M sacharozie (do oznaczeń aktywności enzymów), wirowano przy $3000 g$ w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$. Otrzymany płyn nadosadowy używano do dalszych badań. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) oznaczano metodą Sykesa [12], a zawartość dialdehydu malonowego (MDA) — za pomocą chromatografii cieczowej HPLC [13].

Wyniki oznaczeń poddano analizie statystycznej za pomocą testu U Manna-Whitney'a. Za poziom istotności przyjęto $p < 0,05$.

Wyniki

Istotnie niższą aktywność SOD stwierdzono w ścianie tętniaka (308 U/g tkanki) niż w aorcie dawcy (409 U/g tkanki). W skrzeplinie aktywność ta była najwyższa (438 U/g tkanki) (ryc. 1). W warstwie wewnętrznej ściany zaob-

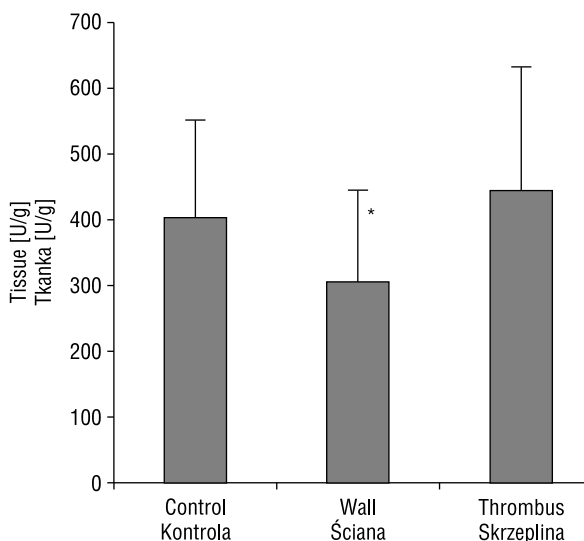


Figure 1. Activity of superoxide dismutase (SOD). Data are expressed as mean and standard deviation, * — $p < 0.01$

Rycina 1. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD). Dane przedstawiono jako średnią i odchylenie standardowe, * — $p < 0,01$

50% lower enzyme activity than the outer one (269 U/g tissue vs. 365 U/g tissue). The internal part of the thrombus revealed significantly higher activity than the external one (514 U/g tissue vs. 383 U/g tissue) — Figure 2. The highest MDA content was found in the thrombus (3.19 nmol/ml), lower in the aneurysm wall (1.56 nmol/ml) and the lowest in the normal aorta (0.51 nmol/ml). All these differences are significant — Figure 3. The studies of the other part of the material showed that the MDA content in the inner part of aneurysm wall (1.86 nmol/ml) was significantly higher than in the outer part (0.82 nmol/ml). Differences in the MDA content in external and internal parts of thrombus were small, the values were 3.02 nmol/ml and 3.44 nmol/ml respectively — Figure 4.

Discussion

The study showed that pro- and antioxidative balance is disturbed to a diverse extent, in individual layers of aneurysms and mural thrombi.

Morphological structure of aneurysm differs from normal aorta because of pathological components in its structure. There are atherosclerotic lesions in its inner layer [14]. Among connective tissue components, aneurysms consist of focal macrophages and lymphocytes infiltrates. External layer of aneurysm consists of fibroblasts, miofibroblasts and blood cells: macrophages, neutrophils and lymphocytes [15]. Because of the significant histological differentiation of individual aneurysm layers, the parameters of pro-antioxidant balance were

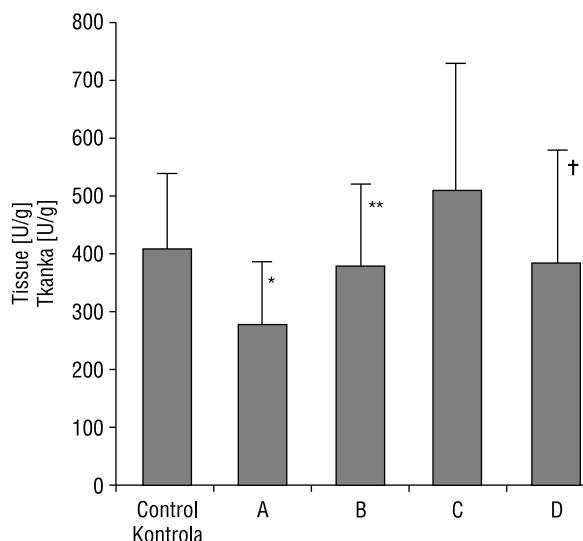


Figure 2. Activity of superoxide dismutase (SOD) in the principal layers of the wall and mural thrombus of aortic aneurysm. A — inner layer of the wall; B — media and adventitia; C — luminal part of thrombus; D — abluminal part of thrombus. Data are expressed as mean and standard deviation, * — $p < 0.001$, ** — $p < 0.01$ comparing to the inner layer, † — $p < 0.05$ comparing to luminal part of thrombus

Rycina 2. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w poszczególnych warstwach ściany i skrzepliny tętniaka. A — warstwa wewnętrzna ściany; B — warstwa środkowa i zewnętrzna ściany; C — część skrzepliny od światła tętniaka; D — część skrzepliny od ściany tętniaka. Dane przedstawione jako średnią i odchylenie standardowe. * — $p < 0,001$, ** — $p < 0,01$ w porównaniu z warstwą wewnętrzną, † — $p < 0,05$ w porównaniu z częścią skrzepliny od światła tętniaka

serwowano aktywność o ponad 50% niższą niż w warstwie zewnętrznej (269 U/g tkanki vs. 365 U/g tkanki). W części wewnętrznej skrzepliny aktywność SOD była istotnie wyższa niż w części zewnętrznej (514 U/g tkanki vs. 383 U/g tkanki) (ryc. 2).

Największą zawartość MDA stwierdzono w skrzeplinie przyściennej (3,19 nmol/ml), mniejszą w ścianie tętniaka (1,56 nmol/ml), a najmniejszą w aorcie prawidłowej (0,51 nmol/ml). Wszystkie różnice były istotne statystycznie (ryc. 3). W badaniach drugiej części materiału zawartość MDA w warstwie wewnętrznej ściany tętniaka (1,86 nmol/ml) była istotnie wyższa od zawartości w części zewnętrznej (0,82 nmol/ml). Różnice w zawartości MDA między częścią zewnętrzną a wewnętrzną skrzepliny były nieznaczne, wynosiły odpowiednio 3,02 nmol/ml i 3,44 nmol/ml (ryc. 4).

Dyskusja

W pracy wykazano, że równowaga utleniająco-przeciwutleniająca jest zaburzona w zróżnicowanym stopniu, w poszczególnych warstwach ściany i skrzepliny przyściennej tętniaka aorty.

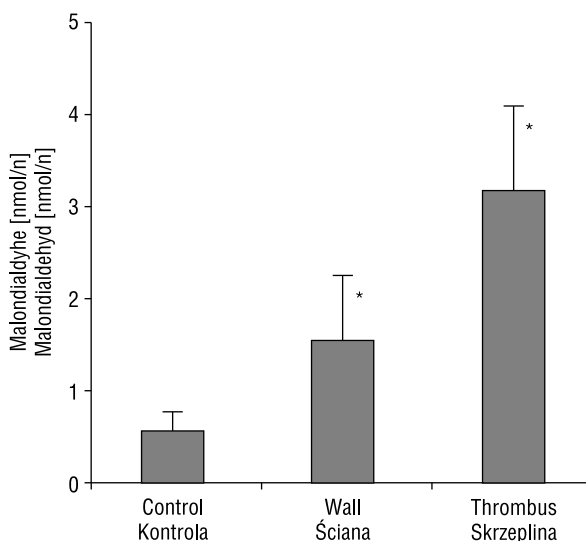


Figure 3. Content of malondialdehyde (MDA). Data are expressed as mean and standard deviation, * — $p < 0.001$

Rycina 3. Zawartość malonyldialdehydu (MDA). Dane przedstawiono jako średnią i odchylenie standardowe, * — $p < 0,001$

compared between layers. The thick inner layer, mostly out of endothelium, was separated from the rest of the wall.

This paper shows that the inner layer consists of a significant quantity of reactive oxygen species markers as products of lipid peroxidation. The studies of aneurysm apoptosis showed the highest accumulation of these process markers in the junction of intima and media [16]. It is well known that reactive oxygen species induce apoptosis [17], which lately is considered one of the beginning links in aneurysm pathogenesis [18].

In the last few years, chemical composition, morphological structure and the function of mural thrombus were investigated [19, 20]. A mural thrombus causes hypoxia of the aneurysm wall, which among other things, starts an inflammatory reaction and neovascularisation [6].

Intensification of these processes is proportional to the thickness of the thrombus. The relation between the risk of aneurysm rupture and morphology of intraluminal thrombus was proven [21]. A layer structure of the thrombus reflects the different time of its formation, and it consists of fibrin, erythrocytes, neutrophils, lymphocytes, macrophages and platelets [22]. A canalicular system was found in the thrombus, which enables diffusion of fluids, oxygen, nutritional compounds and potential toxins. The study shows that cellular penetration appears to be limited to the first 1 cm of the thrombus. It seems that blood cells are the main source of both reactive oxygen species and antioxidants. The abluminal part of the thrombus includes much fewer

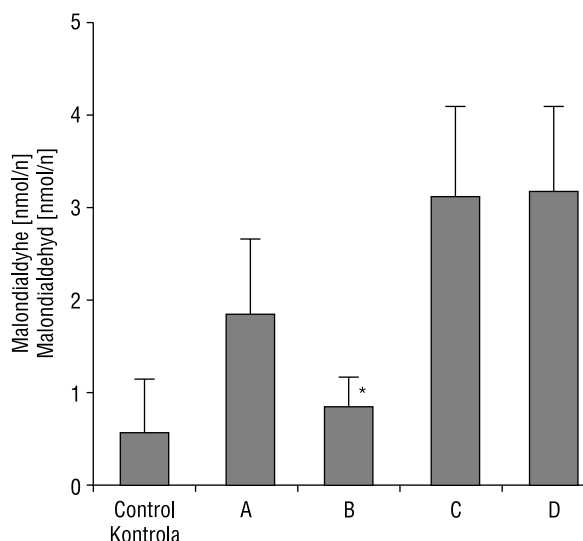


Figure 4. Content of malondialdehyde (MDA) in the principal layers of the wall and thrombus of aortic aneurysm. A — inner layer of the wall; B — media and adventitia; C — luminal part of thrombus; D — abluminal part of thrombus. Data are expressed as mean and standard deviation, * — $p < 0.001$ comparing to the inner layer

Rycina 4. Zawartość malonyldialdehydu (MDA) w poszczególnych warstwach ściany i skrzepliny tętniaka. A — warstwa wewnętrzna ściany; B — warstwa środkowa i zewnętrzna ściany; C — część skrzepliny od światła tętniaka; D — część skrzepliny od ściany tętniaka. Dane przedstawiono jako średnią i odchylenie standardowe, * — $p < 0,001$ w porównaniu z warstwą wewnętrzną

Budowa morfologiczna tętniaka różni się od aorty prawidłowej, ponieważ w jego strukturze znajdują się składniki patologiczne. W warstwie wewnętrznej występują zmiany miażdżycowe [14]. Między elementami tkanki łącznej tętniaka znajdują się ogniskowe nacieczenia makrofagów i limfocytów, a w warstwie zewnętrznej — fibroblasty, miofibroblasty oraz elementy krwi: makrofagi, neutrofile i limfocyty [15]. Ze względu na znaczne zróżnicowanie histologiczne poszczególnych warstw tętniaka porównano parametry równowagi oksydacyjno-redukcyjnej pomiędzy warstwami. Grubą błonę wewnętrzną, w większości pozbawioną śródbłonka, oddzielano od reszty ściany.

W niniejszej pracy wykazano, że błona ta zawiera znaczne ilości markerów reaktywnych form tlenu, jakimi są produkty peroksydacji lipidów. Badania procesu apoptozy w tętniaku wykazały największe nagromadzenie markerów tego procesu na styku błony wewnętrznej i środkowej [16]. Wiadomo, że reaktywne formy tlenu wywołują apoptozę [17], którą ostatnio uważa się za jedno z początkowych ogniw w łańcuchu patogenetycznym tętniaków [18].

W ostatnich latach badano skład chemiczny, budowę morfologiczną i funkcję skrzepliny przyściennej tętniaka [19, 20]. Powoduje ona niedotlenienie ściany tętniaka

cells and shows less proteolytic activity [7]. Our results suggest that the dynamics of oxidation-reduction reactions are also weaker. It confirms the gradient of proteolytic and oxidation activities from the aneurysm lumen to the wall. The abluminal part of the thrombus could serve as a catalyst between the thrombus and the wall. Direct thrombus influence on the wall is out of discussion [15]. It is shown that thrombi make the wall thinner, cause fragmentation of elastic fibres and intensify inflammatory reactions and apoptosis. It seems that reactive oxygen species arising in the thrombus may have a toxic influence on the inner layer of the aneurysm wall and may contribute to the proven high MDA content. Further studies confirming this hypothesis may support free radical theory of atherogenesis and aneurysm pathogenesis. The hypothesis may prove that the destruction of the aneurysm wall is caused by proteolytic enzymes and reactive oxygen species contained in thrombus.

A direct link between pro-antioxidant and proteolytic/inhibitors systems is very important. Reactive oxygen species activate matrix metalloproteinases (MMPs) and inhibit the activity of their tissue inhibitors (TIMPs) [23, 24]. Increased MDA content in the aneurysm confirms oxidative stress, which influences the matrix remodelling and SMC apoptosis [25].

Oxidative stress caused by excessive reactive oxygen species generation activates MMPs and decreases collagen synthesis, which influences the connective tissue remodelling. Experimental studies have shown that Superoxide dismutase activity inhibition in fibroblasts intensifies oxidative stress [26]. Superoxide dismutase protects the connective tissue from deleterious effects of reactive oxygen species, and its deficiency in the aneurysm wall is of significance in the aneurysm pathogenesis.

The inflammatory cells are probably the main source of reactive oxygen species in the aneurysm [27]. It seems that smooth muscle cells (SMC) may also contribute, at least partly, to increased generation of reactive oxygen species [28]. High activity of superoxide dismutase in the thrombus, specially its inner part, mainly originates from erythrocytes.

Conclusions

1. Disturbances of pro/antioxidative balance occur in particular layers of aneurysm wall and mural thrombus.
2. Superoxide dismutase activity is decreased in the aneurysm wall, especially in the inner layer, which favours excessive reactive oxygen species generation.
3. Higher superoxide dismutase activity in the mural thrombus, especially in its luminal part enables reactive oxygen species removal.

niaka, co m.in. zapoczątkowuje reakcję zapalną i tworzenie nowych naczyń [6]. Nasilenie tych procesów jest proporcjonalne do grubości skrzepliny. Wykazano, że ryzyko pęknięcia tętniaka może zależeć od morfologii wypełniającej go skrzepliny [21]. Struktura warstwowa skrzepliny odzwierciedla różny czas jej powstawania, a w skład, oprócz fibryny, wchodzi erytrocyty, neutrofile, limfocyty, makrofagi i płytki krwi [22]. W skrzeplinie wykazano istnienie systemu kanalików, który ułatwia dyfuzję płynów, tlenu, substancji odżywczych i potencjalnie toksycznych. Z badań tych wynika również, że penetracja komórek krwi sięga do 1 cm grubości skrzepliny. Dlatego też wydaje się, że źródłem zarówno reaktywnych form tlenu, jak i aktywności antyoksydacyjnej w części wewnętrznej skrzepliny są elementy morfotyczne krwi. Część zewnętrzna (od ściany tętniaka) jest znacznie uboższa w komórki i wykazuje znacznie mniejszą aktywność proteolityczną [7]. Wyniki niniejszych badań sugerują, że dynamika reakcji oksydacyjno-redukcyjnych również jest mniejsza. Ponadto potwierdza to istnienie gradientu od światła tętniaka na zewnątrz, dotyczącego nie tylko aktywności proteolitycznej, ale również oksydacyjnej. Część zewnętrzna skrzepliny może działać jako swoisty katalizator pomiędzy skrzepliną a ścianą. Nie ulega wątpliwości, że skrzepina ma bezpośredni wpływ na ścianę [15]. Wykazano, że powoduje ona scienńczenie ściany, fragmentację włókien elastynowych, nasila procesy zapalne i apoptozę. Wydaje się również, że powstające w skrzeplinie reaktywne formy tlenu mogą oddziaływać toksycznie na warstwę wewnętrzną ściany tętniaka i przyczyniać się do wykazanego wzrostu zawartości MDA. Dalsze badania, które potwierdziłyby tę hipotezę, byłyby poparciem wolnorodnikowej teorii nie tylko rozwoju miażdżycy, ale również patogenezy tętniaka. Udowodnienie tej hipotezy może potwierdzać, że w niszczeniu ściany tętniaka biorą udział zarówno enzymy proteolityczne zawarte w skrzeplinie, jak i reaktywne formy tlenu.

Ważne jest, że istnieje bezpośrednia zależność pomiędzy układem oksydacyjno-antyoksydacyjnym a proteolityczno-antyproteolitycznym. Reaktywne formy tlenu aktywują metaloproteiny macierzy pozakomórkowej oraz hamują aktywność specyficznych inhibitorów [23, 24]. Zwiększona zawartość MDA w tętniaku potwierdza istnienie stresu oksydacyjnego, który wpływa na przebudowę macierzy pozakomórkowej oraz apoptozę komórek mięśni gładkich [25].

Stres oksydacyjny wywołany nadmierną produkcją reaktywnych form tlenu aktywuje metaloproteiny i zmniejsza syntezę kolagenu, co wpływa na przebudowę tkanki łącznej (remodelling). W badaniach doświadczalnych wy-

4. High lipid peroxidation products content in the mural thrombus, especially in the abluminal part (bordering to the aneurysm wall) with the decreased superoxide dismutase activity, points to cytotoxic effects of oxygen not only in the thrombus but also in the aneurysm wall.

References

- White JV, Haas K, Phillips S, Comerota AJ (1993) Adventitial elastolysis is a primary event in aneurysm formation. *J Vasc Surg*, 17: 371–380.
 - Freestone T, Turner RJ, Coady A et al (1995) Inflammation and matrix metalloproteinases in the enlarging abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 15: 1145–1151.
 - Patel MI, Melrose J, Ghosh P, Appleberg M (1996) Increased synthesis of matrix metalloproteinases by aortic smooth muscle cells is implicated in the etiopathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 24: 82–92.
 - Petersen E, Wagberg F, Angquist KA (2002) Proteolysis of the abdominal aortic aneurysm wall and the association with rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 23: 153–157.
 - Stenbaek J, Kalin B, Swedenborg J (2000) Growth of thrombus may be a better predictor of rupture than diameter in patients with abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 20: 466–469.
 - Vorp DA, Lee PC, Wang DH et al (2001) Association of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm with local hypoxia and wall weakening. *J Vasc Surg*, 34: 291–299.
 - Fontaine V, Jacob MP, Houard X et al (2002) Involvement of the mural thrombus as a site of protease release and activation in human aortic aneurysms. *Am J Pathol*, 161: 1701–1710.
 - Berliner JA, Heinecke JW (1996) The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med*, 20: 707–727.
 - De Bono DP (1994) Free radicals and antioxidants in vascular biology: the roles of reaction kinetics, environment and substrate turnover. *QJM*, 87: 445–453.
 - Rubanyi GM (1988) Vascular effects of oxygen-derived free radicals. *Free Radic Biol Med*, 4: 107–120.
 - Griendling KK, Sorescu D, Lassegue B, Ushio-Fukai M (2000) Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 2175–2183.
 - Sykes JA, McCormax FX, O'Brien TJ (1978) Preliminary study of superoxide dismutase content of some human tumors. *Cancer Res*, 38: 2759–2762.
 - Londero G, Greco PL (1996) Automated HPLC separation with spectrofluorometric detection of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct in plasma. *J Chromatogr A*, 729: 207–210.
 - Zarins CK, Xu C, Glagov S (2001) Atherosclerotic enlargement of the human abdominal aorta. *Atherosclerosis*, 155: 157–164.
 - Kazi M, Thyberg J, Religa P et al (2003) Influence of intraluminal thrombus on structural and cellular composition of abdominal aortic aneurysm wall. *J Vasc Surg*, 38: 1283–1292.
- kazano, że zahamowanie aktywności dysmutaza nadadtlenkowa w fibroblastach powoduje nasilenie stresu oksydacyjnego [26]. Dysmutaza nadadtlenkowa ochrania więc tkankę łączną przed niekorzystnymi efektami reaktywnych formy tlenu, a jej brak w ścianie tętniaka może mieć istotne znaczenie w patogenezie tej choroby.
- Głównym źródłem reaktywnych formy tlenu w tętniaku są najprawdopodobniej komórki zapalne [27]. Wydaje się, że komórki mięśni gładkich (SMC) są również odpowiedzialne choćby częściowo za wzrost produkcji reaktywne formy tlenu [28]. Wysoka aktywność dysmutaza nadadtlenkowa w skrzeplinie, zwłaszcza jej części wewnętrznej, pochodzi głównie z erytrocytów.

Wnioski

- Zaburzenia równowagi utleniająco-przeciwutleniającej występują w zróżnicowanym stopniu w poszczególnych warstwach ściany tętniaka i skrzepliny przyściennej.
 - W ścianie tętniaka, zwłaszcza w warstwie wewnętrznej, występuje znacznie obniżona aktywność dysmutazy nadadtlenkowej, co może powodować wzrost stężenia produktu peroksydacji lipidów (MDA).
 - Podwyższona aktywność SOD w skrzeplinie przyściennej, zwłaszcza w części wewnętrznej, może sprzyjać sprawniejszemu usuwaniu nadmiernych ilości reaktywnych form tlenu.
 - Wysoka zawartość produktu peroksydacji lipidów w skrzeplinie, szczególnie w warstwie sąsiadującej ze ścianą tętniaka, przy obniżonej aktywności dysmutaza nadadtlenkowa, wskazuje na możliwość cytotoksycznego działania tlenu nie tylko w skrzeplinie, ale również w ścianie tętniaka.
-
- Henderson EL, Geng YJ, Sukhova GK et al (1999) Death of smooth muscle cells and expression of mediators of apoptosis by T lymphocytes in human abdominal aortic aneurysms. *Circulation*, 99: 96–104.
 - Anderson KM, Seed T, Ou D, Harris JE (1999) Free radicals and reactive oxygen species in programmed cell death. *Med Hypotheses*, 52: 451–463.
 - Jacob T, Ascher E, Hingorani A, Gunduz Y, Kallakuri S (2001) Initial steps in the unifying theory of the pathogenesis of artery aneurysms. *J Surg Res*, 101: 37–43.
 - Di Martino E, Mantero S, Inzoli F et al (1998) Biomechanics of abdominal aortic aneurysm in the presence of endoluminal thrombus: experimental characterisation and structural static computational analysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 15: 290–299.
 - Wang DH, Makaroun M, Webster MW, Vorp DA (2001) Mechanical properties and microstructure of intraluminal thrombus from abdominal aortic aneurysm. *J Biomech Eng*, 123: 536–539.

21. Wiernicki I, Gutowski P, Górecka-Szyld B, Cyryłowicz L (2004) Streszczenia Kongresu Polskich Towarzystw Naczyniowych, Międzyzdroje, A92.
22. Adolph R, Vorp DA, Steed DL et al (1997) Cellular content and permeability of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*, 25: 916–926.
23. Rajagopalan S, Meng XP, Ramasamy S, Harrison DG, Galis ZS (1996) Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases *in vitro*. Implications for atherosclerotic plaque stability. *J Clin Invest*, 98: 2572–2579.
24. Thompson RW, Baxter BT (1999) MMP inhibition in abdominal aortic aneurysms. Rationale for a prospective randomized clinical trial. *Ann NY Acad Sci*, 878: 159–178.
25. Li PF, Dietz R, von Harsdorf R (1997) Reactive oxygen species induce apoptosis of vascular smooth muscle cell. *FEBS Lett*, 404: 249–252.
26. Siwik DA, Pagano PJ, Colucci WS (2001) Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol*, 280: C53–C60.
27. Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M (2000) NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*, 86: 494–501.
28. Miller FJ, Jr., Gutterman DD, Rios CD, Heistad DD, Davidson BL (1998) Superoxide production in vascular smooth muscle contributes to oxidative stress and impaired relaxation in atherosclerosis. *Circ Res*, 82: 1298–1305.