

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Miloš M. Sladojević

**POVEZANOST KARAKTERISTIKA
INTRALUMINALNOG TROMBA PRIKAZANIH
MAGNETNOM REZONANCIJOM SA
NJEHOVIM BIOHEMIJSKIM ODLIKAMA I
MORFOLOŠKIM OSOBENOSTIMA ZIDA
INFRARENALNE ANEURIZME
ABDOMINALNE AORTE**

doktorska disertacija

Beograd, 2020

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Miloš M. Sladojević

**CORRELATIONS BETWEEN MAGNETIC
RESONANCE IMAGING CHARACTERISTICS
OF THE INTRALUMINAL THROMBUS WITH
ITS BIOCHEMICAL PROPERTIES AND
MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE
INFRARENAL ABDOMINAL AORTIC
ANEURYSM WALL**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2020

Mentor: Prof. dr Lazar Davidović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Komentor: Prof. dr Ružica Maksimović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

1. Prof. dr Dušan Kostić, vaskularnu hirurg, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

2. Doc. dr Igor Končar, vaskularni hirurg, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

3. Doc. dr Marko Dragaš, opšti hirurg, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

4. Doc. dr Željka Stanojević, katedra za medicinsku i kliničku biohemiju, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

5. Puk. prof. dr Aleksandar Tomić, vaskularni hirurg, Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije Univerziteta odbrane u Beogradu

Datum odbrane:

Hteo bih da izrazim svoju veliku zahvalnost:

Mentoru prof. dr Lazaru Davidoviću koji je svojim trudom i energijom svakodnevno podržavao, podsticao i unapređivao moje naučno i hirurško stasavanje.

Komentoru prof. dr Ružici Maksimović i dr Sanji Jovanović na pomoći u pripremi, organizovanju i analiziranju MR pregeda pacijenata uključenih u istraživanje.

Prof. dr Aleksandri Isaković i članovima laboratorije (Doc. dr Željka Stanojević, dr Jelena Tošić i dr Sašenka Vidičević) Instituta za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu za saradnju i pomoć u biohemijskoj analizi uzoraka i izradi naučnih radova.

Doc. dr Igoru Končaru koji je usmerio moje naučno interesovanje za ispitivanje biohemijskih faktora u patogenezi i progresiji aneurizme abdominalne aorte i pružio podršku u određivanju i postavljanju metodologije istraživanja.

Svom bratu i uzoru Nikoli Sladojeviću (Assistant Professor, Cardiovascular Research, Section of Cardiology, Department of Medicine, University of Chicago) čiji su saveti i pomoć bili od velikog značaja.

Dr Petru Zlatanoviću na kolegijalnoj podršci i velikoj pomoći tokom izrade disertacije i naučnih radova.

Kolegama hirurzima i osoblju Klinike za vaskularnu i endovaskularnu hirurgiju za pomoć u prikupljanju uzoraka.

Svojoj porodici na strpljenju i podršci.

Doktorsku disertaciju posvećujem ćerki Anđeli

POVEZANOST KARAKTERISTIKA INTRALUMINALNOG TROMBA PRIKAZANIH MAGNETNOM REZONANCIJOM SA NJEGOVIM BIOHEMIJSKIM ODLIKAMA I MORFOLOŠKIM OSOBENOSTIMA ZIDA INFRARENALNE ANEURIZME ABDOMINALNE AORTE

UVOD

Aneurizma abdominalne aorte (AAA) je najčešće lokalizovana u infrarenalnom segmentu i u najvećem broju slučajeva sadrži intraluminalni tromb (ILT) u aneurizmatskoj kesi. Uprkos decenijama intenzivnog istraživanja, uticaj ILT-a na progresiju AAA ostao je nedovoljno jasan. Mnoge kliničke studije su potvrdile ulogu matriksmetaloproteinaza (MMP-ova), hemokina i elastaza sekretovanih u ILT-u u razvoju AAA. Mijeloperoksidaze, elastase, MMP-2, 8 i 9 i activator plazminogena tipa urokinaze iz ILT-a mogu imati značajnu ulogu u razgradnji elastina i kolagena tip I i III u aortnom zidu. Definisati adekvatnu dijagnostičku metodu u preoperativnoj evaluaciji efekata ILT-a na zid AAA je izuzetno važno u individualnoj proceni rizika od rupture. Ultrazvučni pregled i kompjuterizovana tomografija nisu dovoljno senzitivne da bi procenile razlike u strukturi ILT-ova. Pregled magnetnom rezonancom (MR) omogućava razlikovanje ILT-ova na osnovu različitih intenziteta signala, te je cilj ovog istraživanja bio da se ispita mogućnost MR pregleda u proceni biološke aktivnosti ILT-a i proteolitičkih procesa u zidu infrarenalne AAA.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno u vidu studije preseka u Klinici za vaskularnu i endovaskularnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije u periodu od aprila 2017. do februara 2018. godine. U navedenom periodu otvorenom hirurškom lečenju podvrgnuto je ukupno 155 bolesnika sa asimptomatskom AAA, od kojih je 50 uključeno u studiju na osnovu uključujućih (prisustvo tromba u aneurizmi, degenerativna i fuziformna infrarenalna AAA planirana za otvoreno hirurško lečenje transperitonealnim pristupom) i isključujućih kriterijuma (asimptomatski bolesnici planirani za endovaskularni tretman, bolesnici sa potkovičastim bubregom, inflamatorne i infektivne AAA, sakularne AAA, kontraindikacije za MR pregled i primenu kontrasta). Pre operativnog zahvata, tokom iste hospitalizacije, pacijenti uključeni u studiju ispitani su MR pregledom. Tokom operacije uzimani su uzorci ILT-a i zida AAA za biohemijsku analizu.

Pregled magnetnom rezonancom

Pregled je rađen „3 T Siemens Skyra scanner“ aparatom (Skyra Siemens, Berlin, Nemačka) sa 32-kanalnom matricom i 4-kanalnom zavojnicom za abdomen. Analizirani su aksijalni preseki na nivou najvećeg transversalnog dijametra AAA dobijeni upotrebom T1-weighted (T1W) sekvence nakon intravenske aplikacije paramagnetnog kontrastnog sredstva u arterijskoj fazi pregleda. Podaci dobijeni MR pregledom obrađivani su i analizirani na Syngo (Siemens, Berlin, Nemačka) radnim

stanicama uobičajenim alatom. Mereni su najveći dijametar AAA (D_{max}), ukupna površina ILT-a (P-ILT), površina poprečnog preseka AAA (P-AAA), srednja vrednost intenziteta signala ILT-a (IS - ILT) i srednja vrednost intenziteta signala levog velikog slabinskog mišića (IS - mišića). Količina tromba u aneurizmatškoj kesi izražena je kroz relativnu površinu tromba (r -P-ILT) kao odnos površine tromba i površine poprečnog preseka AAA (P -ILT/ P -AAA). ILT-ovi su međusobno razlikovani na osnovu relativnog intenziteta signala ILT-a (r -IS-ILT) koji predstavlja odnos između srednje vrednosti intenziteta signala intraluminalnog tromba i srednje vrednosti intenziteta signala velikog slabinskog mišića ($IS - ILT / IS - mišića$).

Uzimanje uzoraka tkiva zida AAA i intraluminalnog tromba

Tokom operacije aneurizmatška kesa je otvarana uzdužnom incizijom po srednjoj liniji. Deo tromba u svojoj punoj debljini uzorkovan je sa prednjeg zida na mestu najvećeg dijametra AAA, a potom je uzorkovan i pripadajući deo prednjeg zida AAA, četvorougao oblika dimenzija 2x2cm. Odmah nakon uzimanja uzorci zida AAA i ILT-a su odlagani u tečni azot i čuvani na temperaturi od $-80^{\circ}C$ do biohemijske analize.

Biohemijska analiza

Uzorcima ILT-a i zida AAA su homogenizovani na T 10 basic ULTRA-TURRAX homogenizeru za tkiva (IKA Dispersers, Nemačka) u 1 mL puferovanog fiziološkog rastvora (engl., phosphate buffer saline, PBS). Potom je dobijeni homogenat centrifugiran i u izdvojenim supernatantima merene su koncentracije proteina metodom po Bradfordu. Koncentracije MMP-9, neutrofilne elastase (NE/ELA), kolagena tip III (COL3), proteoglikana 4 (PG4) i elastina (ELN) merene su ELISA testom.

Koncentracije MMP-9 i NE/ELA određivane su u uzorku ILT-a i zida AAA, dok su koncentracije COL3, ELN i PG merene samo u zidu AAA.

REZULTATI

Koncentracije MMP-9 i NE/ELA su bile statistički značajno veće u ILT-u nego u zidu AAA (MMP-9: 1923.71 ± 339.33 vs. 1696.15 ± 489.73 pg/ml, $P=0.007$; NE/ELA: 15.72 vs. 11.28 ng/ml, $P<0.001$). Pokazana je značajna pozitivna korelacija između r -IS-ILT-a i koncentracije NE/ELA u ILT-u ($\rho=0.309$, $P=0.029$) i negativna korelacija sa koncentracijom ELN-a u zidu AAA ($\rho=-0.300$, $P=0.034$).

Značajna korelacija između r -IS-ILT-a i koncentracije MMP-9 u ILT-u nije utvrđena. Takođe, nije nađena značajna povezanost između r -IS-ILT-a i koncentracije MMP-9, NE/ELA, COL3 i PG u zidu AAA. Ostali MR parametri analizirani u ovom istraživanju (D_{max} i r -P-ILT) nisu pokazali značajnu korelaciju sa koncentracijama proteolitičkih enzima i komponentama ekstracelularnog matriksa.

Utvrđena je značajna negativna korelacija između koncentracije MMP-9 ($\rho=-0.449$, $P<0.01$) i NE/ELA ($\rho=-0.306$, $P=0.031$) u ILT-u i koncentracije ELN u zidu AAA.

ZAKLJUČAK

Rezultati ovog istraživanja ukazuju na moguću ulogu intenziteta signala dobijenih MR pregledom ILT-a u evaluaciji koncentracije proteolitičkih enzima i sadržaja zida AAA, pružajući tako dodatne informacije za individualnu procenu rizika od rupture AAA. Od budućih studija se očekuje da ovu dijagnostičku metodu detaljnije utvrde i ispitaju.

Ključne reči: magnetna rezonanca, aneurizma abdominalne aorte, intraluminalni tromb, matriksmetaloproteinaze, neutrofilna elastaza, elastin

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Rekonstruktivna hirurgija

UDK broj:

CORRELATIONS BETWEEN MAGNETIC RESONANCE IMAGING CHARACTERISTICS OF THE INTRALUMINAL THROMBUS WITH ITS BIOCHEMICAL PROPERTIES AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE INFRARENAL ABDOMINAL AORTIC ANEURYSM WALL

INTRODUCTION

Majority of AAAs develop in the infrarenal segment and are associated with the presence of an intraluminal thrombus (ILT). Despite decades of intensive research, the implications of ILT on AAA propagation are still unclear. Many clinical studies have confirmed the role of ILT's locally secreted matrix metalloproteinases (MMPs), chemokines, and elastases in AAA development. ILTs secrete myeloperoxidases, elastases, MMP 2, 8 and 9, and urokinase-type plasminogen activator, all of which are critical for elastin and collagen type I and III degradation in the aortic wall. In the clinical setting, defining the best imaging method for preoperative evaluation of the effects of ILT on the AAA wall is essential for individual assessment of AAA rupture risk. Ultrasonography and computed tomography angiography are not sensitive enough to identify differences in ILT structure. Magnetic resonance imaging (MRI) is a more adequate method of depicting the structural variations of ILT based on differential signal intensity (SI). Therefore, the aim of the present study was to analyze correlation of the SI of ILTs presented on MRI with the biochemical activity of ILTs and their proteolytic effects on the AAA wall.

MATERIAL AND METHODS

From April 12, 2017 to February 5, 2018, a single center, cross-sectional study was conducted at the Clinic for Vascular and Endovascular Surgery in Belgrade, Serbia. The study included asymptomatic patients with infrarenal AAA who underwent open surgical repair. During the study period, 155 patients with asymptomatic AAA underwent open surgical repair. After application of inclusion (degenerative and fusiform infrarenal AAA with ILT inside the sac underwent open surgical repair through a midline transperitoneal approach) and exclusion criteria (asymptomatic patients scheduled for endovascular treatment, AAA associated with horseshoe kidney, inflammatory or mycotic AAA, saccular AAA, contraindications for MRI and contrast administration), a total of 50 patients were included in the study. Before surgery, all patients selected for the study were evaluated with MRI. ILT and AAA wall samples for biochemical analysis were harvested during the surgery.

Measured MRI variables

MRI was conducted with a 3-Tesla whole-body MRI scanner (Skyra, Siemens, Berlin, Germany) using a standard 32-channel surface 4-receiver coil. MRI data were processed and analyzed by Syngo workstations (Siemens, Berlin, Germany). AAA diameter was measured at the level of maximum diameter (D_{max}) on T1w images after contrast administration in the arterial phase.

The relative ILT signal intensity (r-ILT-SI) was determined by the ratio between mean ILT SI and mean left paravertebral psoas muscle SI, at the level of the maximum AAA diameter (ILT SI / muscle SI). The relative ILT area was defined as a ratio between ILT cross-section area (ILT-CS area) and AAA cross-section area (AAA-CS area) at the maximum diameter of AAA.

Harvesting ILT and aortic tissue

During the surgery, aneurysm sac was opened across the midline. A sample containing the full ILT thickness as well as a quadrangular sample of the surrounding aortic wall (anterior aneurysmatic wall section, approximately 2 cm x 2 cm) were harvested at the point of maximum AAA diameter, as evaluated by MRI. All samples were stored at -80°C.

Biochemical analysis

Samples were homogenized in ice cold phosphate-buffer saline (PBS) with the use of a tissue homogenizer (IKA Dispersers, Germany). Samples were centrifuged and the supernatants were collected. The total protein concentration was measured by the Bradford assay, as previously described. Sample concentrations of MMP-9, neutrophil elastase-2 (NE/ELA2), collagen type III (COL3), proteoglycan 4 (PRG4), and elastin (ELN) were analyzed by ELISA.

Concentrations of MMP-9 and NE/ELA were analyzed in ILT and aortic tissue samples while concentrations of COL3, ELN, and PRG4 were measured only in AAA wall tissue samples. Results were normalized to total protein concentrations.

RESULTS

The concentration of MMP-9 and NE/ELA were significantly higher in the ILT compared with the AAA wall (MMP-9: 1923.71 ± 339.33 vs. 1696.15 ± 489.73 pg/ml, $P=0.007$; NE/ELA: 15.72 vs. 11.28 ng/ml, $P<0.001$). Furthermore, the r-ILT-SI showed a positive correlation with NE/ELA concentration in the ILT ($\rho=0.309$, $P=.029$) and a negative correlation with ELN content in the AAA wall ($\rho=-0.300$, $P=.034$).

Between the r-ILT-SI and ILT MMP-9 concentration, no significant correlation was observed. Moreover, there were no correlations between the relative ILT SI and the concentration of MMP-9, NE/ELA, COL3, or PRG4 in the AAA wall. Furthermore, analysis of additional MRI parameters used in this study (Dmax and relative ILT area) did not reveal any correlations with measured proteolytic enzymes and extracellular matrix components.

There was a significant negative correlation between MMP-9 ($\rho=-0.449$, $P<0.01$) and NE/ELA ($\rho=-0.306$, $P=0.031$) concentration in the ILT and ELN in the AAA wall.

CONCLUSION

In conclusion, our findings show a potential novel usage of MRI in evaluation of thrombus proteolytic enzyme concentrations and extracellular matrix content of the AAA wall, thus providing additional information towards the potential assessment of AAA rupture risk.

These findings might indicate a pathway for future studies. However, more studies are required to validate this potential new diagnostic method in AAA rupture risk assessment and in the decision-making process.

Keywords: magnetic resonance imaging, abdominal aortic aneurysm, intraluminal thrombus, matrix metalloproteinase, neutrophil elastase, elastin

Scientific field: Medicine

Subscientific field: Reconstructive surgery

UDK broj:

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Osnovna terminologija, podela i značaj aneurizmske bolesti abdominalne aorte.....	1
1.2. Etiologija i patogeneza AAA.....	2
1.3. Epidemiološke karakteristike AAA, prirodni tok bolesti i socio-ekonomski značaj	4
1.4. Indikacije za hirurški tretman	5
1.5. Ruptura AAA	6
1.6. Faktori rizika za nastanak rupture AAA	6
1.6.1. Dijametar AAA	6
1.6.2. Porast dijametra AAA	7
1.6.3. Pušenje.....	7
1.6.4. Ostali faktori rizika.....	7
1.7. Potreba za individualnom procenom rizika od rupture AAA	7
1.8. Biomehantički aspekt rupture AAA.....	8
1.9. Uloga intraluminalnog tromba u razvoju i progresiji AAA.....	9
1.10. Dijagnostičke metode u evaluaciji ILT-a	11
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	12
3. MATERIJAL I METODE.....	13
3.1. Uključujući i isključujući kriterijumi	13
3.2. Posmatrani parametri	14
3.3. Pregled magnetnom rezonancom.....	16
3.4. Uzimanje uzoraka tkiva zida AAA i intraluminalnog tromba	17
3.5. Biohemijska analiza	18
3.5.1. Homogenizacija tkiva i određivanje koncentracije proteina	18
3.5.2. Direktna „sendvič” ili <i>The double antibody sandwich</i> ELISA	18
3.6. Određivanje parametara oksidativnog stresa	20
3.6.1. Homogenizacija tkiva.....	21
3.6.2. Određivanje sadržaja lipidnih peroksida – MDA.....	21

3.6.3. Određivanje aktivnosti katalaze	22
3.7. Statistička analiza	24
4. Rezultati	25
4.1. Vrednosti MR parametara i biomarkera u zidu AAA i ILT-u	25
4.2. Međusobne korelacije MR parametara i biomarkera u ILT-u i zidu AAA.	28
4.2.1. Korelacija najvećeg dijametra AAA sa ostalim MR parametrima.	28
4.2.2. Korelacije različitih MR parametara sa koncentracijama proteolitičkih enzima u ILT-u i zidu AAA.	29
4.2.3. Korelacije različitih MR parametara sa koncentracijama proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA	30
4.2.4. Korelacije različitih MR parametara sa parametrima oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu AAA.	31
4.3. Korelacije koncentracija ispitivanih biomarkera u ILT-u i zidu AAA.....	32
4.4. Korelacije parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite sa koncentracijama proteolitičkih enzima i proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA.	35
4.5. Ispitivanje razlika u pogledu biološke aktivnosti ILT-a, kao i parametara proteolitičke aktivnosti i sadržaja zida AAA između grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om.....	39
4.5.1. Upoređivanje grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu biološke aktivnosti ILT-a.	40
4.5.2. Upoređivanje grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA.	41
4.5.3. Upoređivanje grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA.	42
4.5.4. Upoređivanje grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu parametara oksidativnog stresa u zidu AAA.	43
4.6. Demografski i klinički parametri u predikciji visokih vrednosti r-IS-ILT-a.	44
4.7. Ispitivanje razlika u pogledu biološke aktivnosti ILT-a, kao i parametara proteolitičke aktivnosti i sadržaja zida AAA između grupe pacijenata koji su uzimali ili nisu uzimali statine.	46
4.7.1. MR parametri kod pacijenata na terapiji i bez terapije statinima.....	48
4.7.2. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima na osnovu biološke aktivnosti ILT-a.	49

4.7.3. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA.....	50
4.7.4. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima na osnovu koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA.	50
4.7.5. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima na osnovu parametara oksidativnog stresa u zidu AAA.	51
4.8. Ispitivanje razlika u pogledu biološke aktivnosti ILT-a, kao i parametara proteolitičke aktivnosti i sadržaja zida AAA između grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije antiagregacionim lekovima.....	51
4.8.1. MR parametri kod pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije.....	53
4.8.2. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije na osnovu biološke aktivnosti ILT-a.	54
4.8.3. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA.....	54
4.8.4. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije na osnovu koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA.	55
4.8.5. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije na osnovu parametara oksidativnog stresa u zidu AAA.	55
4.9. Ispitivanje razlika u pogledu biološke aktivnosti ILT-a, kao i parametara proteolitičke aktivnosti i sadržaja zida AAA između grupe pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova.	56
4.9.1. MR parametri kod pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova.....	57
4.9.2. Upoređivanje grupe pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova na osnovu biološke aktivnosti ILT-a....	57
4.9.3. Upoređivanje grupe pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA.....	58
4.9.4. Upoređivanje grupe pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova na osnovu koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA.	58

4.9.5. Upoređivanje grupe pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova na osnovu parametara oksidativnog stresa u zidu AAA.....	59
5. Diskusija.....	60
6. Zaključci.....	69
7. Literatura.....	70

1. UVOD

1.1. Osnovna terminologija, podela i značaj aneurizmske bolesti abdominalne aorte

Reč aneurizma (ανευρυσμα) je grčkog porekla i znači širenje arterije. Po definiciji aneurizma predstavlja trajno, ireverzibilno i lokalizovano proširenje krvnog suda 1.5 puta veće od očekivanog dijametra (1). Aneurizmska dilatacija aorte može da zahvati sve njene segmente, a približno 80% svih aneurizmi lokalizovano je u infrarenalnom delu (2). Infrarenalna aneurizma abdominalne aorte (AAA) podrazumeva izolovanu aneurizmsku dilataciju infrarenalnog dela koju karakteriše jasno definisan aneurizmski vrat ispod renalnih arterija (tubularni segment aorte ispod renalnih arterija bez dilatacije). Nema apsolutnog konsenzusa o klasifikaciji AAA koje zahvataju renalne i ostale visceralne arterije. U kliničkoj praksi najčešće se koristi sledeća klasifikacija. Ako aneurizmski vrat nije definisan i aneurizma počinje neposredno nakon renalnih arterija, AAA je jukstarenalna. Dakle, jukstarenalne aneurizme ne zahvataju ishodišta renalnih arterija, iako njihovo otvoreno hirurško lečenje zahteva u najmanju ruku klemovanje suprarenalnog dela abdominalne aorte. Aneurizma je pararenalna ako jedna ili obe renalne arterije ishode iz nje. Otvoreno hirurško lečenje ovih aneurizmi zahteva u najmanju ruku klemovanje aorte u suprarenalnom delu, a sa najmanje jednom renalnom arterijom mora se učiniti neka hirurška procedura (reimplantacija ili bypass). Ako su u AAA uključena i ishodišta visceralnih arterija, naziva se suprarenalnom. Aneurizma je torakoabdominalna ako pored abdominalne aorte uključuje i torakalnu aortu. U zavisnosti od morfoloških karakteristika, AAA mogu biti fuziformne kada aneurizmska dilatacija zahvata celu cirkumferenciju aorte ili sakularne ako aneurizmska dilatacija uključuje samo deo zida.

Mc Gregor i sar. su predložili dijametar od 30 mm kao granicu za definisanje infrarenalne AAA (3). Načelno, definicija AAA je ostala nepromenjena do današnjih dana. Poslednji vodič koji je publikovan od strane Evropskog društva za vaskularnu hirurgiju (*European Society for Vascular Surgery*) navodi da se kao AAA kod muškaraca bele rase definiše proširenje infrarenalne aorte čiji je dijametar >30 mm. Takođe, AAA se može definisati i kao dijametar infrarenalne aorte koji je $\geq 50\%$ do dijametra suprarenalne aorte (4). Za žene i osobe koje pripadaju azijskoj populaciji i manji dijametar aorte se može smatrati aneurizmskom dilatacijom (5, 6).

Hemodinamski faktori se smatraju glavnim razlogom zbog čega je infrarenalni deo aorte najpodložniji razvoju aneurizmske bolesti. Naime, posle odvajanja visceralnih i renalnih arterija, periferni otpor je najveći u infrarenalnom delu aorte uzrokujući veći smičući napon u zidu ("wall shear stress"-WSS). Smičući napon u zidu je odgovoran za aktivaciju endotelnih, glatkih mišićnih i inflamatornih ćelija što za posledicu ima povećanu produkciju citokina, parametara oksidativnog stresa i proteolitičkih enzima (među kojima zbog svog značaja posebno mesto imaju matriksmetaloproteinaze - MMP) uzrokujući slabljenje zida i razvoj aneurizme (7). U

eksperimentalnoj studiji na miševima, transpozicijom infrarenalne aorte na mesto torakalne i obrnuto, pokazana je veća ekspresija MMP-9 u zidu aorte koji je u infrarenalnoj poziciji (8). Druge eksperimentalne studije su takođe pokazale značaj hemodinamskih faktora u nastanku infrarenalne AAA (9, 10).

1.2. Etiologija i patogeneza AAA

U etiološkom pogledu infrarenalne AAA su u 90% slučajeva degenerativne i nastaju razgradnjom elastina u aortnom zidu. Zbog ateroskleroze kao dominantnog patoanatomskog supstrata ove aneurizme su se ranije nazivale aterosklerotske aneurizme. Međutim, jasna uzročno-posledična veza između ateroskleroze i aneurizmske dilatacije abdominalne aorte još uvek nije dokazana, a utvrđene su razlike u mehanizmu nastanka aneurizmske bolesti i ateroskleroze kod stenozantno-okluzivne bolesti (11, 12). Redi oblici infrarenalne AAA su inflamatorne i infektivne aneurizme, a urođene bolesti vezivnog tkiva su retko uzrok izolovane infrarenalne AAA (13-16).

U osnovi nastanka i razvoja degenerativnih AAA je degradacija ekstracelularnog matriksa aortnog zida. Pored razgradnje kolagena i elastičnih vlakana koji predstavljaju glavne komponente ekstracelularnog matriksa AAA, bitnu ulogu u građi zida AAA imaju i proteoglikani (PG) (17). Elastična vlakna su građena od elastina (ELN) i fibrilina i zajedno sa glatkim mišićnim ćelijama daju elastičnost aortnom zidu. Kolagen tip I i III (COL 1 i COL 3) prisutni su u mediji i adventiciji i zidu aorte obezbeđuju čvrstinu i otpornost prema pucanju. Razgradnja elastičnih vlakana i progresivno smanjenje koncentracije elastina smatra se ključnim u početnoj fazi aortne dilatacije i nastanku aneurizme, dok se razgradnja kolagena smatra krucijalnom u nastanku rupture (18).

Glavna gradivna komponenta tunike medije aorte je lamelarna jedinica koju čini elastin, glatke mišićne ćelije i kolagen sa matriksnom supstancom (19). Snaga aortnog zida je uslovljena brojem lamelarnih jedinica koji je kod ljudi znatno manji nego kod drugih sisara, te je zbog toga čovek jedini sisar koji oboljeva od AAA. Iako torakalna i abdominalna aorta svojim kontinuitetom predstavljaju jedinstven organ, postoje značajne razlike u njihovoj građi. Pored različitog embrionalnog porekla torakalne (ćelije nervnog grebena) i abdominalne aorte (mezodermalno poreklo) bitnu razliku u histološkoj građi tunuke medije ova dva dela aorte predstavlja broj lamelarnih jedinica. Tokom embrionalnog razvoja tunika medija se uvećava hiperplazijom lamelarnih jedinica u torakalnom delu aorte, a hipertrofijom postojećih lamelarnih jedinica u abdominalnom delu (19). Iz ovog razloga tunika medija abdominalne aorte sadrži 28-32 lamelarne jedinice i gotovo u potpunosti se ishranjuje transintimalnom difuzijom iz lumena aorte. Tunika medija torakalne aorte ima duplo veći broj lamelarnih jedinica (55-60 lamelarnih jedinica) i njen spoljašnji sloj se ishranjuje iz *vasa vasorum* koje iz tunuke adventicije ulaze u tunuku mediju. Usled pulsatilnog pritiska i cikličnog rastezanja aortnog zida dolazi do degradacije ekstracelularnog

matriksa koja je udružena sa apoptozom glatkih mišićnih ćelija i neovaskularizacijom medije uz posledičnu infiltraciju inflamatornim ćelijama kao što su neutrofilni, limfociti i monociti (20, 21). Za razgradnju elastičnih i kolagenih vlakana odgovorni su proteolitički enzimi među kojima su od najvećeg značaja MMP-ovi (poseban značaj imaju MMP-2 i MMP-9) i neutrofilna elastaza (NE/ELA), a pored njih u razgradnji ekstracelularnog matriksa aortnog zida učestvuju i apolipoprotein E (apo E), angiotenzin konvertujući enzim (ACE), cisteinske proteaze katepsin S i K (22, 23). Aktivirani neutrofilni predstavljaju glavni izvor proteolitičkih enzima uključujući mijeloperoksidazu, MMP 8 i 9, NE/ELA i aktivator plazminogena tipa urokinaze (22). Glatke mišićne ćelije se smatraju glavnim izvorom MMP-2 koja se iz ovih ćelija nakon apoptoze oslobađa u zid aneurizme (22). Za proteolitičku aktivnost navedenih MMP-ova od značaja je balans sa modulatorima njihove aktivnosti. Tkivni inhibitori matriksnih metaloproteinaza („The tissue inhibitors of matrix metalloproteinases” - TIMP) sekretovani od strane trombocita i leukocita inhibiraju njihovu aktivnost, dok sa druge strane lipokalin udružen sa neutrofilnom gelatinazom („neutrophil gelatinase-associated lipocalin” - NGAL) potencira aktivnost MMP-9 (24-26). Proteolitička aktivnost elastase kontrolisana je njenim inhibitorom α 1-antitripsinom čiji nedostatak dovodi do posledične elastolize i razvoja AAA (27, 28). Urođeni deficit α 1-antitripsina je posledica brojnih genetskih mutacija, dok se duvanski dim smatra glavnim uzrokom stečenog deficita (28). Homozigotni nosioci genetskih mutacija imaju težak deficit α 1-antitripsina. Takođe, umereni deficit ovog enzima koji postoji kod heterozigota postaje značajan ako su osobe sa heterozigotnom mutacijom pušači (29). Pored navedenog u nastanku i razvoju degenerativnih AAA značajnu ulogu ima i genetska predispozicija. Epidemiološka studija sprovedena od strane *Powell* i *Greenhalgh-a* utvrdila je familijarnu sklonost koja se kreće od 25 do 70% u zavisnosti od rase i nacionalne pripadnosti (30). Veći rizik od pojave AAA među osobama u prvoj liniji srodstva pokazale su i druge studije (31, 32). Familijarna sklonost je udružena sa pojavom AAA u mlađoj životnoj dobi, bržim porastom AAA, većom sklonošću rupturi čak i kod AAA manjeg dijametra (32, 33). U meta analizi objavljenoj 2016. godine nastanak AAA je doveden u vezu sa polimorfizmom sledećih gena: CDKN2BAS, SORT1, LRP1, IL6R, MMP3, AGTR1, ACE, i APOA1 (34).

Takođe je potvrđena uloga oksidativnog stresa u patogenezi AAA. Naime, pojedine studije su pokazale da povišen oksidativni stres u zidu aorte indukuje inflamaciju, povećava aktivnost MMP-ova i utiče na apoptozu glatkih mišićnih ćelija (35, 36). Povećana produkcija reaktivnih vrsta kiseonika (superoksidni anjon i hidroksi radikal) i reaktivnih vrsta azota (azot oksid i peroksinitrit) nađena je u zidu aneurizme, ali ne i u normalnoj aorti bez aneurizmatškog proširenja što upućuje na značajnu ulogu slobodnih radikala u degeneraciji aneurizmatškog zida (36). Kao glavni izvor superoksidnog anjona u zidu AAA smatraju se nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidaza i inducibilna azot-oksida sintaza (iNOS) (37, 38).

Imajući u vidu da je oksidativni stres posledica poremećaja ravnoteže endogenih prooksidativnih faktora i antioksidativne zaštite interesantno je osvrnuti se na ulogu antioksidativnih enzima, kao što je katalaza (antioksidativni enzim koji katalizuje detoksikaciju vodonik peroksida – H₂O₂), u patogenezi AAA. Prethodno je pokazano da katalaza ostvaruje protektivni efekat u razvoju AAA modulacijom aktivnosti MMP-9, enzima koji ima dominantnu ulogu u patogenezi ovog oboljenja (39). Dalje jedan od najčešće korišćenih markera lipidne peroksidacije je malondialdehid (MDA) koji predstavlja produkt peroksidacije polinezasićenih masnih kiselina i kao takav predstavlja sistemski marker oksidativnog stresa. Stoga, nije iznenađujuće što su njegove vrednosti povišene kod pacijenata sa AAA (40, 41).

Inflamatorne AAA predstavljaju 4-7% svih AAA. Karakteriše ih zadebljan fibrozni zid i okolna perianeurizmatička fibroza koja može da angažuje okolne strukture kao što su ureteri, digestivni trakt i leva renalna vena. Iako patogeneza nije dovoljno jasna, pretpostavlja se da najveću ulogu ima hronična autoimunska inflamatorna reakcija na antigene iz aterosklerotskog plaka kao što je tenascin ili u sklopu sistemskih inflamatornih bolesti (42-44). Pacijenti sa inflamatornom AAA su u proseku 5-10 godina mlađi od pacijenata sa degenerativnom aneurizmom i znatno češće razvijaju simptome aneurizmatičke bolesti koji se manifestuju bolom u trbuhu i leđima uz povišene vrednosti inflamatornih parametara (sedimentacija eritrocita i C-reaktivni protein) (4).

Infektivne („mikotične“) AAA karakteriše infekcija aortnog zida gram pozitivnim (najčešće iz roda *Staphylococcus* i *Enterococcus*) ili gram negativnim bakterijama (najčešće iz roda *Salmonella*), a u ređim slučajevima infekcija može biti i gljivične etiologije. Mogu se razlikovati tri osnovna tipa infektivne AAA: 1) klasična mikotična aneurizma koja nastaje kao posledica infektivnog endokarditisa, 2) infektivna pseudoaneurizma koja nastaje kao posledica bakterijskog aortitisa i transmuralne septične nekroze sa posledičnom perforacijom zida aorte i 3) sekundarna infekcija prave aneurizme (45, 46). Klasične mikotične aneurizme se danas retko sreću, a najčešći način infekcije aortnog zida u antibiotskoj eri je hematogenim putem preko *vasa vasorum* ili direktnim širenjem iz endogenog infektivnog žarišta (vertebralni osteomijelitis, periaortni apscesi i sl.). Infektivne AAA su često ekscentrične sakularne i multilobularne morfologije, a karakteriše ih veoma brza progresija i sklonost ka rupturi (47).

Aneurizme usled bolesti vezivnog tkiva najčešće zahvataju torakalnu ili torakoabdominalnu aortu, dok se izolovana AAA ove etiologije veoma retko sreće (48).

1.3. Epidemiološke karakteristike AAA, prirodni tok bolesti i socio-ekonomski značaj

Usled elastolize koja je progresivan i ireverzibilan proces, duži životni vek i veća izloženost populacije poznatim faktorima rizika za nastanak aneurizmatičke bolesti (duvanski dim, gojaznost, hiperlipidemija, sedentarni način života) doveli su do povećanja broja obolelih u opštoj populaciji,

naročito nakon 60. godine života (2, 49, 50). Muškarci oboljevaju ranije i četiri puta češće od žena. Prevalenca AAA većeg dijametra od 4 cm u populaciji muškaraca između 55 i 64 godina je oko 1% sa porastom za 2-4% svake naredne decenije (2, 49, 50). Prirodni tok aneurizmatičke bolesti dovodi do postepenog uvećanja dijametra i brojnih komplikacija: kompresija na okolne strukture i organe, tromboembolijske komplikacije i ruptura zida. Zbog svojih komplikacija AAA je označena kao deseti vodeći uzrok smrti (51). Komplikacije AAA praćene su značajnim morbiditetom, invaliditetom i mortalitetom, a njihovo lečenje podrazumeva značajne troškove. Zbog svega navedenog AAA ima veliki medicinski i socio-ekonomski značaj.

1.4. Indikacije za hirurški tretman

Da bi se sprečile komplikacije, a pre svega ruptura AAA koja je i najopasnija, potrebni su pravovremena dijagnostika i hirurško lečenje. Hirurško lečenje se indikuje u slučaju kada procenjeni rizik od rupture AAA prevazilazi rizik od perioperativnih komplikacija. Aktuelni vodiči hirurški tretman preporučuju na osnovu postojanja simptoma aneurizmatičke bolesti i na osnovu dijametra AAA. Hirurški tretman je indikovano u slučaju simptomatskih AAA (AAA udružena sa bolovima u truhu ili tromboembolijskim komplikacijama koje se ne mogu objasniti drugom etiologijom), a takođe se razmatra u slučaju asimptomatskih AAA ako je njen dijametar ≥ 5.5 cm kod muškaraca i ≥ 5 cm kod osoba ženskog pola ili u slučaju uvećanja dijametra AAA ≥ 1 cm u periodu od godinu dana (4).

Eventualna korist od ranog otvorenog ili endovaskularnog hirurškog tretmana u slučaju malih AAA (dijametra između 4 i 5.5 cm) nije pokazana u do sada sprovedenim randomizovanim studijama (*UK Small Aneurysm Trial - UKSAT, Aneurysm Detection And Management - ADAM Study, Comparison of surveillance vs. Aortic Endografting for Small Aneurysm Repair - CAESAR, Positive Impact of Endovascular Options for Treating Aneurysm early - PIVOTAL study*) (52-58).

Pored redovnog praćenja malih AAA, različite grupe lekova su ispitivane u cilju smanjenja brzine rasta i odlaganja potrebe za hirurškim lečenjem. Najviše su ispitivani beta blokatori, doksiciklin i inhibitori angiotensin konvertujućeg enzima. Međutim, efekti ni jednog od njih nisu dokazani te nisu uključeni u širu upotrebu (59-61). Pored nesumnjive koristi od prestanka pušenja i kontrole krvnog pritiska, u tretmanu malih ili neoperisanih AAA preporučuju se antiagregacioni lekovi i statini. Nevezano za smanjenje lipida u krvi, statini svojim pleiotrofnim dejstvom utiču na funkciju endotela, povećavaju stabilnost aterosklerotskih plakova, smanjuju oksidativni stres i inflamaciju i inhibiraju trombogeni odgovor (62, 63). Stoga se smatra da upotreba statina može imati pozitivne efekte na stabilizaciju progresije AAA i formiranje intraluminalnog tromba (64). Uticaj statina i antiagregacione terapije na koncentraciju proteolitičkih enzima i gradivnih elemenata ekstracelularnog matriksa zida AAA je predmet ispitivanja i u ovom radu.

1.5. Ruptura AAA

Zbog visokog mortaliteta uprkos operativnom lečenju ruptura je najznačajnija komplikacija AAA, a neretko se javlja i kao prva manifestacija aneurizmatičke bolesti. Ruptura podrazumeva pucanje zida AAA sa krvarenjem i formiranjem hematoma u retroperitonealnom prostoru i ovakav oblik rupture predstavlja retroperitonealnu rupturu. Ukoliko dođe do pucanja prednjeg zida aneurizme ili nakon popuštanja zadnjeg lista peritoneuma dolazi do krvarenja u peritonealnu duplu, tj. intraperitonealne rupture. Pored navedenih oblika postoje i ređi oblici rupture AAA u gastrointestinalni trakt ili donju šuplju venu sa formiranjem aorto-enterične ili aorto-kavalne fistule (65-70).

Ukupan mortalitet usled rupture AAA iznosi 65-85% (71). Od pacijenata sa rupturiranom AAA samo 50% preživi put do bolnice, a mortalitet operisanih pacijenata takođe iznosi oko 50% (2, 72).

Iako manje invazivno, uvođenje endovaskularnog tretmana u lečenju rupturirane AAA nije dovelo do boljeg preživljavanja. Prema tri jedine do sada sprovedene multicentrične randomizovane studije (*AJAX* u Holandiji, *IMPROVE* u Velikoj Britaniji i *ECAR* u Francuskoj) nije nađena statistički značajna razlika u tridesetodnevnom mortalitetu u zavisnosti da li je rupturirana aneurizma tretirana otvorenom ili endovaskularnom hirurģijom (73-75).

Od 1991. do 2019. godine u Klinici za vaskularnu i endovaskularnu hirurģiju Kliničkog centra Srbije operisano je preko 1200 bolesnika sa rupturiranom AAA, što se trenutno smatra najvećom pojedinačnom serijom u svetu. Usavršavanjem preoperativne, intraoperativne i rane postoperativne strategije tridesetodnevni mortalitet je sa preko 50% smanjen na 28% (76-78). Suprotno tome, ako se AAA operiše u elektivnom postupku pre nego što dođe do rupture, mortalitet je značajno niži i iznosi oko 1.5% (79). Zbog svega navedenog rupturu AAA je potrebno sprečiti pravovremenom dijagnostikom i hirurģkim lečenjem.

1.6. Faktori rizika za nastanak rupture AAA

1.6.1. Dijametar AAA

Povezanost dijametra AAA sa rizikom od rupture je jasno pokazan i značajno raste kada je dijametar veći od 5.5 cm kod muškaraca i 5 cm kod žena, te su ove dimenzije uzete kao granične kada treba razmotriti hirurģki tretman. Međutim i AAA manjeg dijametra mogu rupturirati. Zajedničko veće Američkog udruženja za vaskularnu hirurģiju i Društva za vaskularnu hirurģiju (*Joint Council of the American Association for Vascular Surgery and Society for Vascular Surgery*) u svom dokumentu su prikazali godišnji rizik od rupture u zavisnosti od dijametra AAA (Tabela 1) (80).

Tabela 1. Godišnji rizik od rupture u zavisnosti od dijametra AAA	
Dijametar AAA (cm)	Godišnji rizik od rupture (%)
<4	0
4-5	0.5-5
5-6	3-15
6-7	10-20
7-8	20-40
>8	30-50

1.6.2. Porast dijametra AAA

Progresivno uvećanje dijametra AAA predstavlja prirodan tok aneurizmatičke bolesti, a stopa rasta je u korelaciji sa dijametrom AAA (81, 82). *RESCAN* studija (83) je utvrdila prosečan porast dijametra AAA od 2.21 mm/godišnje, bez razlike u odnosu na polove. Ista studija je pokazala da je stopa rasta AAA veća kod pušača za 0.35mm/godišnje, a manja kod osoba sa dijabetesom za 0.51mm/godišnje. Brzi porast dijametra se smatra značajnim rizikom od rupture, te je operacija indicirana i u slučaju manjih AAA ukoliko je porast dijametra veći od 1cm za godinu dana (4).

1.6.3. Pušenje

Porast dijametra AAA i rizik od rupture je značajno veći kod pušača (84). Ovo se može objasniti činjenicom da duvanski dim redukuje ili čak inhibira aktivnost α 1-antitripsina, što naročito dolazi do izražaja kod pušača sa heterozigotnim deficitom α 1-antitripsina (85).

1.6.4. Ostali faktori rizika

Pored navedenih u ostale faktore rizika za nastanak rupture AAA ubrajaju se: ženski pol, hronična obstruktivna bolest pluća, arterijska hipertenzija, steroidna i imunosupresivna terapija, pozitivna porodična anamneza za aneurizmatičku bolest i biomehanički faktori (2, 29, 30, 32, 34, 86, 87).

1.7. Potreba za individualnom procenom rizika od rupture AAA

U svakodnevnoj praksi vidimo AAA znatno većeg dijametra koje nisu rupturirale, a sa druge strane nije zanemarljiv procenat malih AAA (dijametar 4-5.5 cm) koje mogu rupturirati. *Darling* i sar. su u autopsijskoj studiju, koja je uključila 473 neoperisana pacijenta sa degenerativnom AAA, pokazali da je incidenca rupture AAA dijametra između 4.1 i 5 cm iznosila 23.4% (88). Takođe, studija *Nicholls-a* i sar. je pokazala da je od 161 pacijenta upućenih zbog rupturirane AAA njih 6.8% imalo dijametar manji od 5 cm (89). Iz navedenog proističe da se nekim pacijentima operacija indikuje prerano zbog čega se izlažu nepotrebnom riziku koji svaka operacija nosi, a sa druge strane operacija se ne indikuje nekim pacijentima kod kojih će ruptura nastati. Stoga postoji potreba za

individualnom procenom rizika od rupture, što je u suprotnosti sa postojećim konceptom gde isti kriterijumi odgovaraju svim pacijentima („one size fits all“).

U ovu svrhu praćeni su nivoi MMP-9 i α 1-antitripsin u serumu kao biomarkeri proteolitičke aktivnosti. Imajući u vidu da nivo cirkulišućeg MMP-9 nije povišen samo kod pacijenata sa AAA i da su podaci koji se odnose na α 1-antitripsin kontradiktorni, određivanje količine navedenih biomarkera u krvi nije uključeno u širu primenu prilikom donošenja odluke o tretmanu AAA (28, 90).

1.8. Biomehanički aspekt rupture AAA

Sa biomehaničkog aspekta do rupture dolazi kada napon u zidu AAA (*“wall stress”*) nadvlada snagu zida koja se ovoj sili odupire (*“wall strength”*) (91, 92). Da bi se odredio individualni rizik od rupture, potrebno je ove biomehaničke parametre detaljno preoperativno evaluirati i dovesti ih u vezu. Dodatne teškoće u preoperativnoj proceni stvara nehomogena distribucija napona i snage zida AAA (tj. različiti delovi zida iste AAA ne trpe isti napon i nemaju istu snagu).

Prema *Laplace*-ovom zakonom ($T = p \times r$, gde je T napon u zidu, p pritisak, a r dijametar) napon u zidu AAA je direktno srazmeran njenom dijametru. Kako ovaj zakon važi samo u slučaju idealnih geometrijskih tela (lopta i valjak), što AAA nije, poslednjih decenija su razvijani kompjuterski programi i modeli radi preciznije procene napona i određivanja mesta na zidu koji trpi najveći napon (*peak wall stress - PWS*). Kompjuterski model konačnih elemenata (*„Finite Element Model“ – FEM*) omogućava adekvatnu preoperativnu evaluaciju distribucije napona i superiornije od dijametra ukazuje na mesto i vrednost *PWS*-a (71, 93-97).

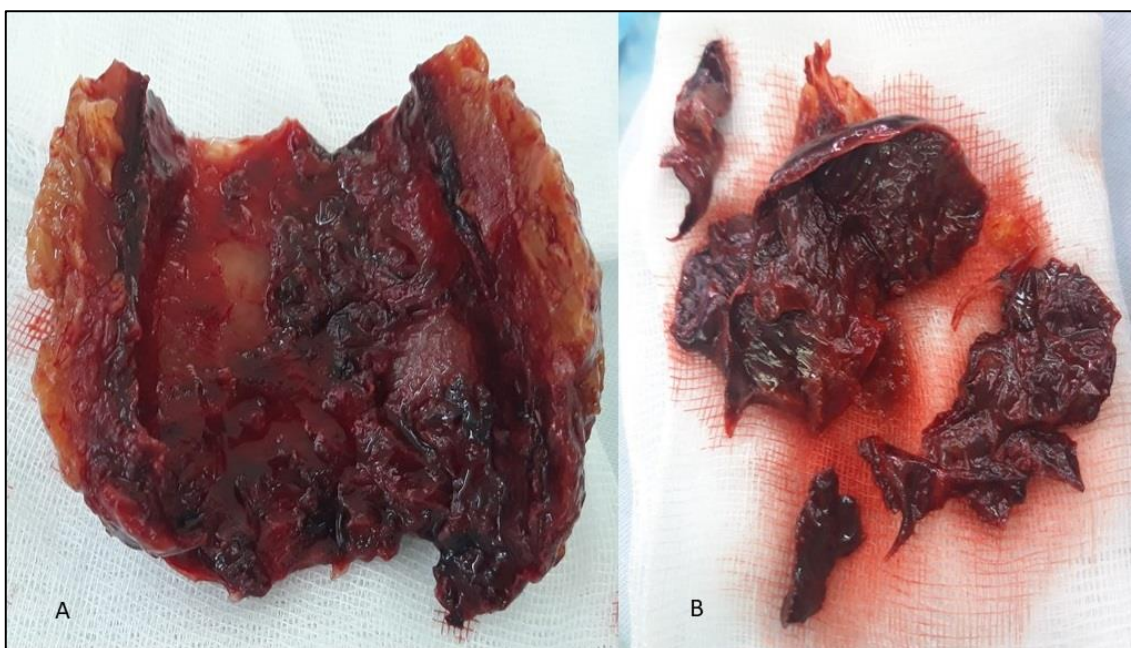
Direktno preoperativno određivanje snage zida nije moguće jer ovaj postupak zahteva uzimanje zida AAA i *“in vitro”* testiranje (97, 98). Iz ovog razloga razmatrani su brojni parametri zida AAA koji bi mogli da ukažu na njegovu sklonost ka rupturi. Najčešće ispitivani parametri su: distenzibilnost, krutost zida (*stiffness*), komplijansa i kalcifikati zida (98-106). Takođe, u cilju otkrivanja AAA koje su sklonije rupturi, različite neinvazivne dijagnostičke metode su korišćene radi procene stepena inflamacije zida AAA kao prediktora bržeg rasta i rupture. *Sakalihan* i sar. (107) su koristili pozitronsku emisionu tomografiju (PET) i pokazali povećano nakupljanje 18-fluor deoksi glukoze ($^{18}\text{F-FDG}$) u zidu AAA sa bržim porastom dijametra, kao i onih sa velikom i bolnom AAA. *Forsythe* i sar. (108) su istakli da poseban pregled magnetnom rezonancom (MR) uz korišćenje ultramalih superparamagnetnih čestica oksida gvožđa (*Ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide - USPIO*) kao specifičnog kontrastnog sredstva, koji fagocituju inflamatorne ćelije, može ukazati na stepen inflamacije zida AAA. Pokazano je da su AAA sa izraženijim preuzimanjem *USPIO* kontrasta u zidu imale brži porast dijametra, kao i veću stopu rupture i potrebe za hirurškim lečenjem. Iako inicijalni rezultati ovih studija predstavljaju korak napred u preoperativnoj evaluaciji

individualnog rizika od rupture, uvođenje ovih metoda u svakodnevnu praksu zahteva dodatna ispitivanja u budućim kliničkim studijama.

1.9. Uloga intraluminalnog tromba u razvoju i progresiji AAA

Treća značajna komponenta sa biohemomehantičkog aspekta je intraluminalni tromb (ILT), struktura koja svojom lokalizacijom odvaja lumen aorte i njen zid. Činjenice da se ILT ne nalazi u svakoj AAA i da često ne prekriva u potpunosti njen zid komplikuje razumevanje i ispitivanje njegove uloge, čineći ovu strukturu enigmatičnom i još nedovoljno jasnom nauci. Iako neki autori smatraju da je njegova uloga u odnosu na rupturu AAA protektivna jer u biomehantičkom pogledu ima ulogu štita i smanjuje napon zida (100, 109-111), drugi autori nalaze da baš porast zapremine ILT-a povećava rizik od rupture jer smanjuje difuziju kiseonika iz cirkulišuće krvi u zid AAA pojačavajući inflamaciju i slabljenja zida (97, 112-115). Zid AAA prekriven tromбом je tanji sa manjom količinom elastina i značajnom apoptozom glatkih mišićnih ćelija (116). Uticaj tromba na snagu zida AAA razmatrali su i *Vande Geest* i sar. (117) u svom statističkom modelu koji pored debljine tromba uključuje još životnu dob, pol, familijarnu sklonost, dijametar i pušenje.

Pored navedene mehaničke uloge ILT-a od izuzetnog značaja je i njegova biološka aktivnost. Naime, ILT je biološki aktivna struktura koja se sastoji od ćelijske komponente i fibrinske mreže prožete kanalicima. Struktura ILT-a nije homogena, već se u trombu najčešće mogu razlikovati tri bolje ili slabije definisane slojeve: luminalni (najbogatiji ćelijama – eritrociti, trombociti i biološki najaktivniji leukociti), medijalni (karakteriše ga gusta fibrinska mreža bez ćelijske komponente) i abluminalni sloj (nalazi se neposredno uz aortni zid, želatinozne je strukture bez prisutnih ćelija) (112, 118). Sveži neorganizovani ILT-ovi u potpunosti imaju luminalni tip građe (Slika 1).



Slika 1. A) Višeslojan organizovani tromb sa definisanim luminalnim, medijalnim i abluminalnim slojem. B) Neorganizovani tromb koji u potpunosti ima luminalni tip građe.

Za biološku aktivnost je odgovorna ćelijska komponenta koju dominantno čine leukociti (neutrofili, makrofagi i limfociti) i nalazi se u luminalnom sloju tromba u debljini do 1cm (119, 120). Leukociti se iz cirkulišuće krvi zadržavaju u luminalnom sloju tromba zahvaljujući ekspresiji P-selektina od strane aktiviranih trombocita i afiniteta neutrofila za vezivanje za fibrin-fibronektin kopolimer u trombu. Dodatno neutrofili u luminalnom sloju proizvode hemotatičke supstance, interleukin-8 i leukotrijen B₄, čime se dalje uvećava neutrofilna invazija tromba (121, 122). Kao što je već pomenuto, neutrofili su biološki veoma aktivne ćelije koje oslobađaju brojne proteolitičke enzime među kojima su MMP-9 i NE/ELA od ključnog značaja za razgradnju ELN i COL 1 i 3 (120, 123, 124). Pored navedenih proteolitičkih enzima, luminalni sloj tromba je bogat i inhibitorima MMP-ova (TIMP- 1 i 2) koje se oslobađaju iz α -granula trombocita, kao i inhibitorom elastaze α 1-antitripsinom (120). Iz ovog razloga, proteolitički enzimi su u najvećoj koncentraciji u luminalnom sloju, ali se uglavnom nalaze u inaktivnoj formi. Idući od luminalnog prema abluminalnom sloju pokazano je da postoji pozitivan gradijent aktivne MMP-9 (123). Značajnu ulogu u aktivaciji proenzima MMP-ova ima fibrinolitička aktivnost koja postoji u trombu i plazmin kao serin-proteaza. Aktivacija proenzima usled fibrinolitičke aktivnosti je najizraženija u abluminalnom sloju zbog oslobađanja tkivnog aktivatora plazminogena (t-PA) iz aortnog zida (125, 126). Ispitivanje biohemijske aktivnosti ILT-a je od velikog značaja u razumevanju patogeneze AAA jer ova struktura aktivno izlaže zid AAA lokalno sekretovanim citokinima, proteazama i slobodnim radikalima doprinoseći degradaciji ekstracelularnog matriksa i progresije AAA (123, 127).

1.10. Dijagnostičke metode u evaluaciji ILT-a

Definisanje najbolje dijagnostičke metode u preoperativnoj evaluaciji efekata koji ILT ima na zid AAA je ključno za individualnu procenu rizika od rupture. Najčešće korišćene dijagnostičke metode u evaluaciji AAA, ultrazvučni pregled i kompjuterizovana tomografija, su brze, jeftine i tehnički jednostavne. Ovim metodama se adekvatno vizualizuje postojanje, distribucija i volumen ILT-a, ali nisu dovoljno senzitivne u pogledu diferencijacije njihovih strukturalnih razlika (128). MR pregled omogućava diferencijaciju morfoloških karakteristika ILT-ova na osnovu razlika u intenzitetu signala (IS). *Castrucci i sar.* (129) su još 1995. godine pokazali odličnu korelaciju između MR kategorizacije ILT-a na osnovu izmerenih IS i intraoperativne makroskopske kategorizacije zasnovane na stepenu njegove organizovanosti (Kategorija 1 – najvećim delom solidni homogeni tromb. Kategorija 2 – dezintegrisan tromb sa relativno tankim slojem solidnog tromba na luminalnoj strani. Kategorija 3 – najvećim delom solidan tromb, ali heterogen i višeslojan). Skoro 20 godina kasnije *de la Motte i sar.* (130) su u svojoj studiji pokazali da kvalitativna evaluacija morfologije ILT-a MR pregledom može biti kvantifikovana na osnovu odnosa IS ILT-a i velikog slabinskog mišića (*signal intensity ratio - SIR*). MR analizu ILT-a i njegov uticaj na porast aneurizme istraživali su *Nguyen i sar.* (131) i zaključili da je porast aneurizme u periodu od 6 i 12 meseci značajniji kod aneurizmi sa ILT-om visokog IS. Takođe, dosadašnje studije su pokazale da nizak IS odgovara solidnom, organizovanom trombu niske celularnosti, dok visok IS ukazuje na svež, neorganizovani tromb bogat eritrocitima (130, 131).

Mnoge studije su analizirale biološku aktivnost ILT-ova, ali jasan uticaj proteolitičkih enzima na zid aneurizme nije objašnjen. Takođe, ako se izuzme rad *Nchimia i sar.* (132) u kome je korišćen specifičan MR pregled sa superparamagnetnim oksidom gvožđa kao kontrastnim sredstvom ("*SPIO-enhanced*" MR), do sada nisu objavljene studije koje su korelirale MR karakteristike ILT-a sa njegovom biološkom aktivnošću i strukturom zida AAA.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja su:

- Utvrđivanje povezanosti intenziteta signala intraluminalnog tromba dobijenog putem magnetne rezonance i njegove biološke aktivnosti

- Utvrđivanje povezanosti intenziteta signala intraluminalnog tromba dobijenog putem magnetne rezonance i sastava zida AAA izražene kroz sadržaj kolagena, elastina i proteoglikana.

- Utvrđivanje povezanosti biološke aktivnosti intraluminalnog tromba i sastava zida AAA

3. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno u vidu studije preseka u Klinici za vaskularnu i endovaskularnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije u periodu od aprila 2017. do februara 2018. godine. U periodu trajanja studije otvorenom hirurškom lečenju podvrgnuto je ukupno 155 bolesnika sa asimptomatskom AAA, od kojih je 50 uključeno u studiju na osnovu uključujućih i isključujućih kriterijuma (Slika 2). Veličina uzorka je utvrđena na osnovu formule za određivanje veličine uzorka. Izračunato je da veličina uzorka za moć studije $1-\beta=0.8$ i nivo greške $\alpha=0.05$ za korelaciju 0.4 iznosi 46 bolesnika (između ispitivanih obeležja posmatranja, jačine intenziteta signala i MMP). Postojeća literatura (132) pokazuje da se radi o korelaciji u nivou 0.3-0.4 za MMP-9. Etički komitet Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu je odobrio istraživanje (No 29/V-18), a pacijenti su uključeni u studiju nakon potpisivanja informisanog pristanka.

3.1. Uključujući i isključujući kriterijumi

A. Kriterijumi za uključivanje u studiju:

-Bolesnici sa asimptomatskom degenerativnom fuziformnom infrarenalnom AAA planirani za otvoreno hirurško lečenje transperitonealnim pristupom

-Postojanje tromba u aneurizmi (dokazano preoperativnim ultrazvučnim ili MDCT pregledom)

-Potpisani pristanak bolesnika za učešće u studiju

B. Kriterijumi za isključivanje iz studije:

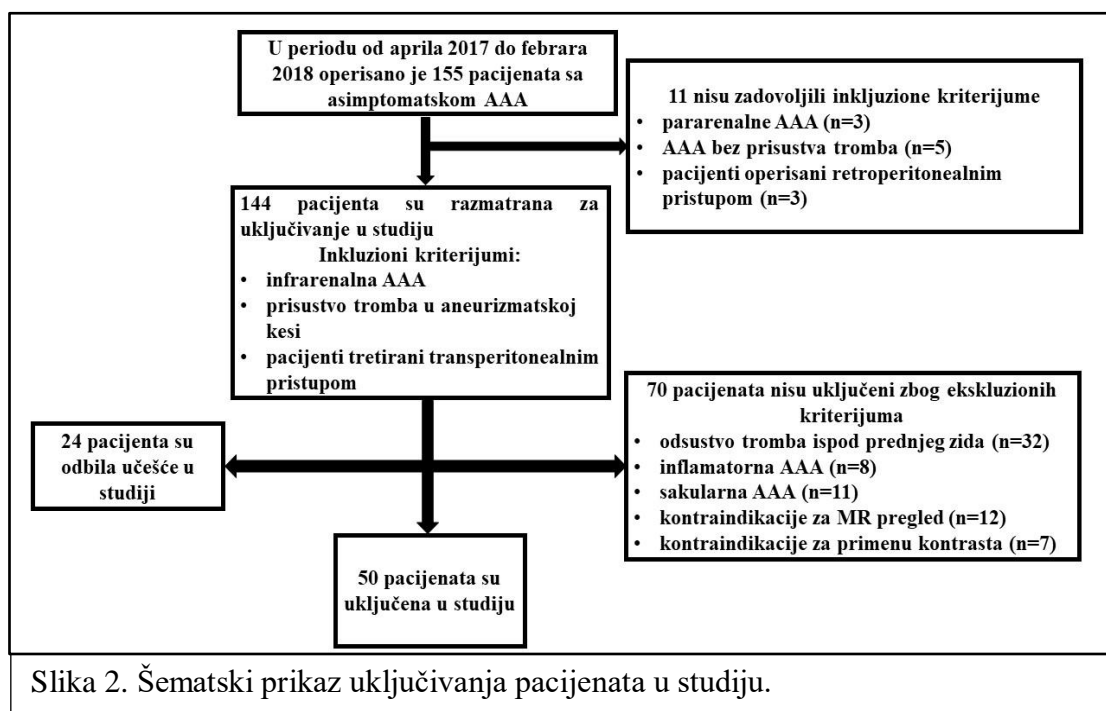
-Bolesnici sa simptomatskom ili rupturiranom AAA, kao i asimptomatski bolesnici planirani za endovaskularni tretman

-Bolesnici sa udruženom AAA i potkovičastim bubregom

-Inflamatorne i infektivne AAA

-Sakularne AAA

-Bolesnici kod kojih je pregled magnetnom rezonancom kontraindikovana (bolesnici sa klaustrofobijom, implantiranim pejsmejerom, insulinskom pumpom, kohlearnim implantom, neurostimulatorom, intrakranijalnim metalnim klipsevima, metalnim stranim telom u oku i drugim metalnim implantima koji su inkompatibilni sa magnetnim poljem, kao i oni kod kojih je kontraindikovana aplikacija kontrastnog sredstva – bolesnici koji su alergični na gadolinijumski kontrast, kao i bolesnici sa akutnom ili hroničnom bubrežnom insuficijencijom kod kojih je brzina glomerularne filtracije <math><30\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2</math> zbog rizika od nastanka nefrogene sistemske fibroze.



Pre operativnog zahvata, tokom iste hospitalizacije, pacijenti uključeni u studiju ispitani su MR pregledom u Centru za radiologiju i magnetnu rezonancu Kliničkog centra Srbije. Tokom operacije uzimani su uzorci ILT-a i zida AAA za biohemijsku analizu koja je rađena u Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta u Beogradu.

3.2. Posmatrani parametri

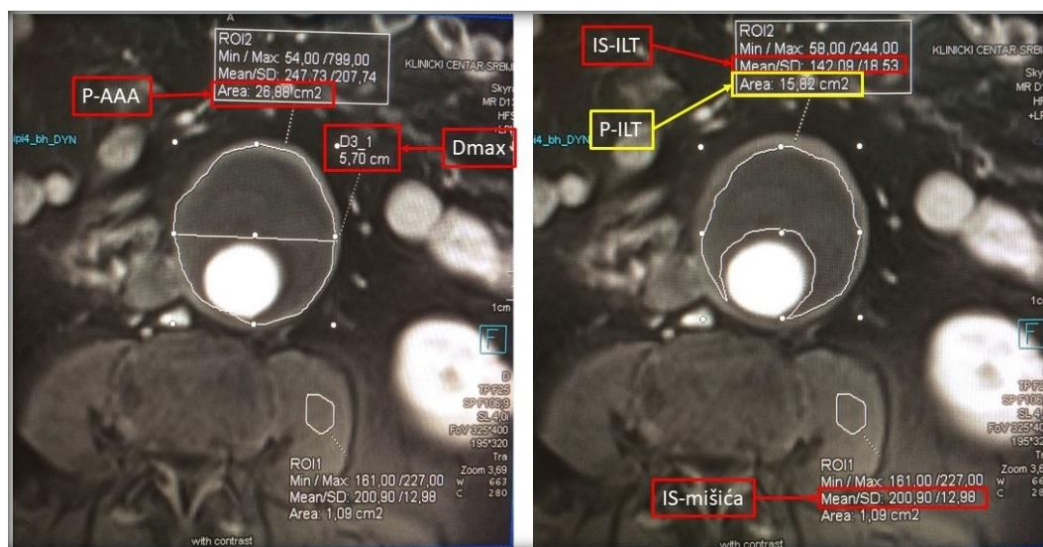
Pre operacije notirane su demografske karakteristike bolesnika (životna dob i pol), klinički značajan komorbiditet [indeks telesne mase (ITM), konzumiranje duvana; prisustvo arterijske hipertenzije koja je definisana kao sistolni pritisak veći od 140 mmHg i/ili dijastolni pritisak veći od 90 mmHg ili upotreba antihipertenzivne terapije; hiperlipidemija; dijabetes melitus; ishemijska bolest srca (IBS) definisana na osnovu medicinske dokumentacije o angini pectoris, preležanom infarktu srca, prethodnom aorto-koronarnom bajpasu ili perkutanoj intervenciji na koronarnim arterijama; srčana insuficijencija definisana je kao ejskciona frakcija manja od 50%, međutim

pacijenti uključeni u studiju nisu imali ejakcionu frakciju manju od 40%; hronična obstruktivna bolest pluća definisana je hroničnom upotrebom bronhodilatatorne terapije ili Tiffeneau-Pinelli indeksom manjim od 0.7 koji je utvrđen preoperativnom spirometrijom; periferna okluzivna arterijska bolest definisana na osnovu nepalpabilnih perifernih pulseva ili na osnovu vrednosti pedo- brahijalnih indeksa manjih od 0.9; karotidna bolest definisana stenozom unutrašnje karotidne arterije većom od 50% na osnovu preoperativnog ultrazvučnog pregleda; hronična bubrežna insuficijencija definisana brzinom glomerularne filtracije manjom od 60ml/min/1.73m² sa prethodno dokumentovanom bubrežnom insuficijencijom] i hronična preoperativna medikamentozna terapija (Beležena je upotreba antiagregacione i antikoagulantne terapije, kao i upotreba statina. Smatrano je da su pacijenti uzimali terapiju ukoliko je ona primenjivana u kontinuitetu najmanje 6 meseci pre prijema u bolnicu.). Demografske i osnovne kliničke karakteristike pacijenata prikazane su u tabeli 2.

Tabela 2. Demografske i osnovne kliničke karakteristike pacijenata (n=50)	
Životna dob	67.71 ± 8.13
Pol (muški)	45 (90%)
ITM (kg/m ²)	26.14 ± 3.00
Pušenje	19 (38%)
Arterijska hipertenzija	44 (88%)
Hiperlipidemija	34 (68%)
Dijabetes melitus	7 (14%)
Ishemijska bolest srca	11 (22%)
Srčana insuficijencija	4 (8%)
Karotidna bolest	8 (16%)
Hronična obstruktivna bolest pluća	22 (44%)
Periferna okluzivna arterijska bolest	5 (10%)
Hronična bubrežna insuficijencija	9 (18%)
Antiagregaciona terapija	24 (48%)
Antikoagulantna terapija	0 (0%)
Upotreba statina	18 (36%)

3.3. Pregled magnetnom rezonancom

Pregled je rađen „3 T Siemens Skyra scanner“ aparatom (*Skyra Siemens*, Berlin, Nemačka) sa 32-kanalnom matricom i 4-kanalnom zavojnicom za abdomen. Analizirani su aksijalni preseki na nivou najvećeg transverzalnog dijametra AAA koji su dobijeni upotrebom T1-weighted (T1W) sekvence nakon intravenske aplikacije paramagnetnog kontrastnog sredstva u arterijskoj fazi pregleda. Podaci dobijeni MR pregledom obrađivani su i analizirani na Syngo (*Siemens*, Berlin, Nemačka) radnim stanicama uobičajenim alatom. Mereni su najveći dijametar AAA (D_{max}), ukupna površina ILT-a (P-ILT), površina poprečnog preseka AAA (P-AAA), srednja vrednost intenziteta signala ILT (IS - ILT) i srednja vrednost intenziteta signala levog velikog slabiskog mišića (IS - mišića) (Slika 3). Količina tromba u aneurizmi izražena je kroz relativnu površinu tromba (r-P-ILT) kao odnos površine tromba i površine poprečnog preseka AAA (P-ILT/P-AAA). ILT su međusobno razlikovani na osnovu relativnog intenziteta signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT) koji predstavlja odnos između srednje vrednosti intenziteta signala intraluminalnog tromba i srednje vrednosti intenziteta signala velikog slabinskog mišića (IS – ILT/ IS - mišića).



Slika 3. Na slici su prikazani parametri dobijeni MR pregledom.

Najveći dijametar AAA (D_{max}); intenzitet signala ILT (IS - ILT); intenzitet signala levog velikog slabiskog mišića (IS - mišića); ukupna površina ILT (P-ILT); površina poprečnog preseka AAA (P-AAA)

MR protokol se sastojao od sledećih sekvenci:

(a) T2-weighted half Fourier akvizicije single-shot turbo spin-echo (HASTE) koja je rađena u koronarnoj ravni sa vremenom repeticije (TR) = 1260 ms, vremenom eha (TE) = 87 ms, protokom radiofrekventnog (RF) talasa (BW) = 700 Hz, flip uglom = 160°, polja posmatranja (FOV) = 400 x 400 mm, veličine matriksa = 268 x 364, debljinom preseka (ST) = 6 mm

(b) T2-w HASTE rađena je u aksijalnoj ravni sa: (TR) = 1300 ms, (TE) = 95 ms, (BW) = 710 Hz, flip uglom = 140°, (FOV) = 321 x 380 mm, veličine matriksa = 221 x 380, (ST) = 6 mm

(c) T2-w HASTE sa saturacijom IS masti (FS) koja je rađena u aksijalnoj ravni upotrebom: (TR) = 1300 ms, (TE) = 95 ms, (BW) = 710 Hz, flip ugla = 140°, (FOV) = 321 x 380 mm, veličine matriksa = 216 x 320, (ST) = 6 mm

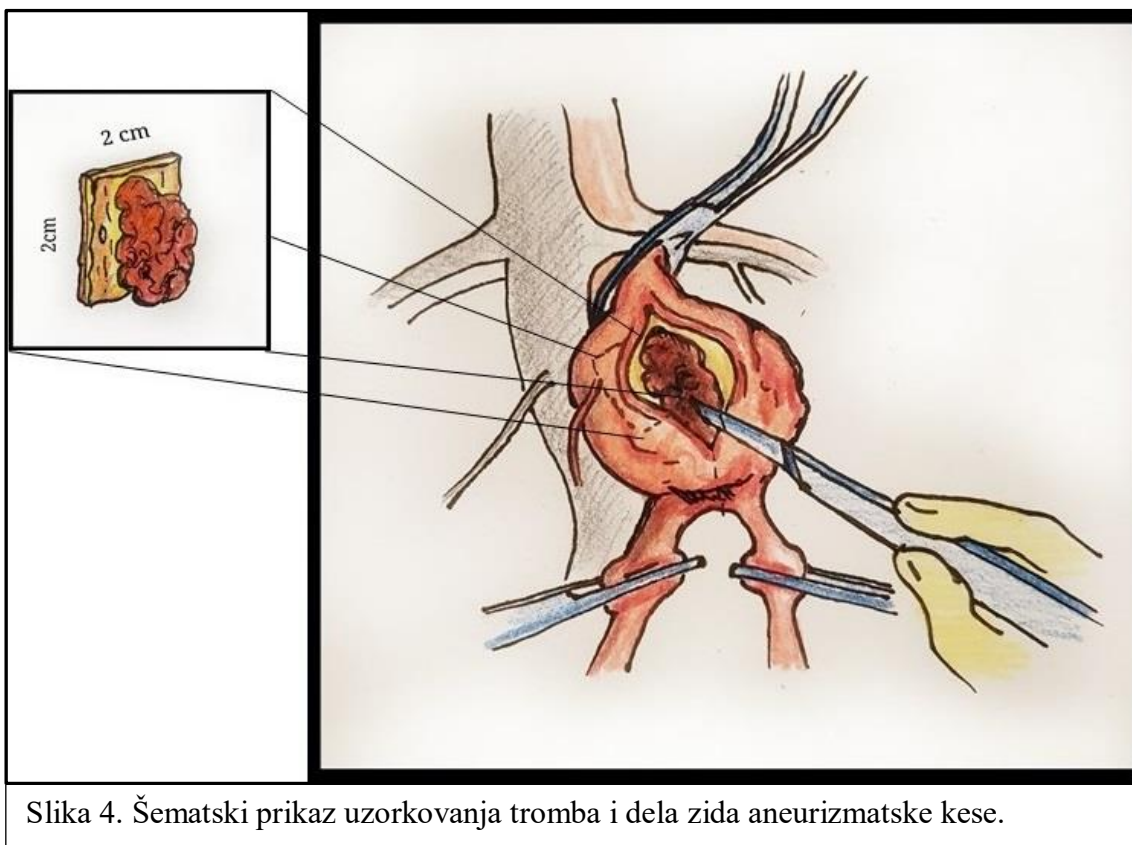
(d) T1-w flash2d (sekvenca hemijskog pomeranja) rađena u aksijalnoj ravni upotrebom: (TR) = 187 ms, (TE) = 1.2 ms, flip ugla = 39°, (FOV) = 309 x 380 mm, veličine matriksa = 208 x 256, (ST) = 6 mm

(e) Difuzija (DWI) rađena u aksijalnoj ravni upotrebom: (TR) = 5800 ms, (TE) = 61 ms, (BW) = 1530 Hz flip ugla = 90°, (FOV) = 297 x 380 mm, veličinom matriksa = 113 x 192, (ST) = 6 mm, sa vrednostima difuzijskog "b" koeficijenta od 40, 400, 800

(f) T1-w gradijent eho 3D (VIBE) rađena u aksijalnoj ravni u arterijskoj, portnoj i hepatičkoj fazi pregleda posle intravenske administracije paramagnetnog kontrastnog sredstva gadobutrola (Gadovist, 1.0 mmol/mL Bayer, Berlin, Nemačka) u količini od 1 mmol/kg telesne mase bolesnika, upotrebom : (TR) = 4.2 ms, (TE) = 2.0 ms, flip ugla = 9°, (FOV) = 309 x 380 mm, veličine matriksa = 195 x 320, (ST) = 4mm.

3.4. Uzimanje uzoraka tkiva zida AAA i intraluminalnog tromba

Nakon izolacije AAA uspostavljanjem proksimalne i distalne kontrole krvarenja, aneurizmataska kesa je otvarana uzdužnom incizijom po srednjoj liniji. Deo tromba u svojoj punoj debljini uzorkovan je sa prednjeg zida na mestu najvećeg dijametra AAA, a potom je uzorkovan i pripadajući deo prednjeg zida AAA, četvorougaoonog oblika dimenzija 2x2cm (Slika 4). Odmah nakon uzimanja uzorci zida AAA i ILT odlagani su u tečni azot i čuvani na temperaturi od -80°C do biohemijske analize.



Slika 4. Šematski prikaz uzorkovanja tromba i dela zida aneurizmske kese.

3.5. Biohemijska analiza

3.5.1. Homogenizacija tkiva i određivanje koncentracije proteina

Za potrebe enzimskih imunotestova – ELISA (engl., *enzyme-linked immunosorbent assay*) tkivo zida AAA i ILT (oko 100 mg) su najpre makazama mehanički usitnjena, a potom homogenizovana na “T 10 basic ULTRA-TURRAX” homogenizeru za tkiva (*IKA Dispersers*, Nemačka) u 1 mL puferovanog fiziološkog rastvora (engl., *phosphate buffer saline*, PBS). Potom je dobijeni homogenat centrifugiran (15 minuta na 14000 g), i u izdvojenim supernatantima određivana je koncentracija proteina metodom po Bradfordu (133). U ovoj metodi za detekciju proteina korišćena je *Coomassie Brilliant Blue G-250* boja koja u prisustvu proteina sa kojima reaguje nekovalentnim vezama menja boju (od braon do različitih nijansi plave boje). Intenzitet dobijene plave boje proporcionalan je koncentraciji proteina u uzorku. Apsorbanca je očitana na čitaču za mikrotitarske ploče (*Sunrise, TECAN, Dorset, Velika Britanija*) na 570 nm. Razblaženje uzoraka je iznosilo 1:1000, u rastvoru 1x koncentrovane *Coomassie Brilliant Blue G-250* boje. Koncentracija proteina određena je sa standardne krive koja je konstruisana primenom standardnih rastvora BSA (engl. *bovine serum albumine*) u koncentracijama od 5-25 µg/mL.

3.5.2. Direktna „sendvič” ili *The double antibody sandwich* ELISA

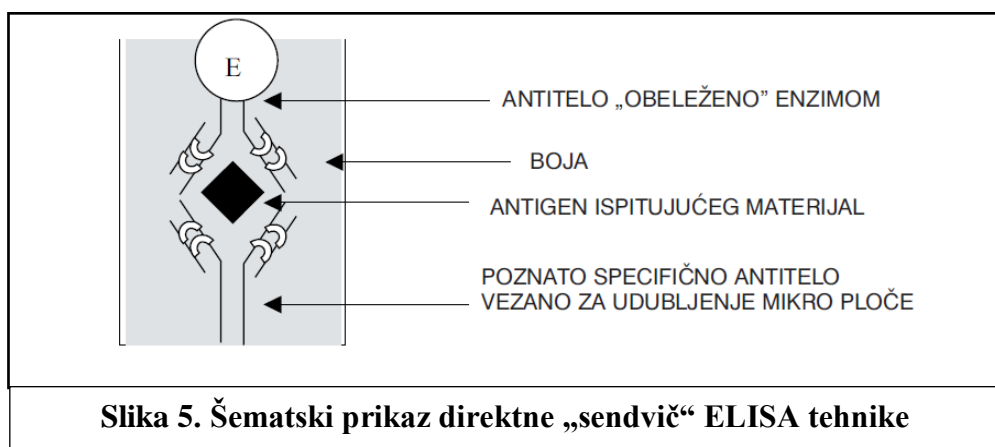
ELISA predstavlja metodu za detekciju i merenje solubilnih antigena ili antitela u telesnim tečnostima i tkivima (134). U osnovi ELISA tehnike postoje dve reakcije: imunološka i hemijska.

Imunološka reakcija predstavlja reakciju antigena i antitela i ona se ne vidi. Reakcija enzima, koji se koristi kao obeleživač sekundarnog antitela, sa njemu specifičnim supstratom predstavlja hemijsku reakciju pri kojoj nastaje obojeni proizvod čineći reakciju vidljivom. Enzimi se najčešće vezuju za antitela koja su specifična za neki antigen ili imunoglobuline (Ig). Količina enzima u antigen-antitelo kompleksu određuje se posredno merenjem količine proizvoda nastalog razgradnjom odgovarajućeg supstrata. Koriste se enzimi čiji supstrati daju obojene proizvode razgradnje i čija se količina lako može kolorimetrijski meriti (alkalna fosfataza ili peroksidaza rena).

Za detekciju enzima i proteina ekstracelularnog matriksa zida AAA i ILT-a korišćena je direktna ili „sendvič“ ELISA tehnika. Korišćeni su komercijalni kompleti monoklonskih antitela za merenje odgovarajućih antigena i to: za matriksmetaloproteinazu 2 (MMP-2), matriksmetaloproteinazu 9 (MMP-9), humani kolagen (*Collagen type III*; COL3), humani elastin (*Human ELN*), humani proteoglikan (*Human PG*) i humanu neutrofilnu elastazu (*Human NE/ELA2*) (svi od *Elabscience, Teksas, SAD*).

Direktna ili „sendvič“ ELISA je tehnika koja koristi dva antitela: prvo kojim se oblaže namenska ploča i koje se naziva *Capture Antibody* i drugo obeleženo enzimom (konjugat) koje se stavlja nakon nalivanja uzorka i vezuje se za antitelo-antigen (iz uzorka) kompleks. U cilju povećanja osetljivosti i specifičnosti metode kao konjugat se koriste monoklonska antitela (135).

Metodološki posmatrano, kod ovog oblika ELISA tehnike poznato specifično antitelo za koje se vezuje antigen iz ispitivanog uzorka je već fiksirano za dno udubljenja (bunara) mikrotitar ploče. Posle uklanjanja uzorka, dodaje se konjugat koga čine specifična antitela za ispitujući antigen obeležena enzimom. Ova antitela se vezuju za antigen, ukoliko se on u prethodnoj fazi vezao za ploču i nije ispran. Po dodavanju specifičnog supstrata, enzim prevodi supstrat u proizvod pri čemu se razvija boja. Pojava boje označava pozitivan nalaz, a intenzitet boje je proporcionalan količini prisutnog antigena u materijalu koji se ispituje. Postupak je šematski prikazan na slici 5.



Slika 5. Šematski prikaz direktne „sendvič“ ELISA tehnike

Sam postupak izvođenja ELISA metode obavljan je reagensima i rastvorima prema protokolima utvrđenim od strane proizvođača. Tipičan protokol se sastojao iz sledećih faza:

- 1) inkubacija uzoraka odnosno standarda (uzorci/standardi su nalivani na ploče koje su već obložene sa primarnim antitelom, 100 μ L/bunaru 90 minuta na 37°C),
- 2) Odlivanje uzorka odnosno standarda
- 3) Inkubacija sa sekundarnim antitelom obeleženim biotinom (100 μ L/bunaru 1h na 37°C),
- 4) Ispiranje (PBS koji sadrži u 0.1 % Tween, 5 puta, 50 μ L/bunarčiću),
- 5) Inkubacija sa avidin-enzimskim kompleksom (peroksidaza rena, 100 μ L/bunaru, 30 minuta na 37°C),
- 6) Ispiranje (PBS koji sadrži u 0.1 % Tween, 7 puta, 50 μ L/bunarčiću),
- 7) Inkubacija sa supstratom (tetrametilbenzidin - TMB, 90 μ L/bunaru, do 15 minuta na 37°C u mraku),
- 8) Zaustavljanje reakcije sa 50 μ L 1M HCl ili H₂SO₄ i
- 9) Očitavanje apsorbance na čitaču za mikrotitarske ploče (*Sunrise, TECAN, Dorset, Velika Britanija*) na 450 nm.

Svaki uzorak je rađen u duplikatu. Koncentracija antigena određivana je korišćenjem standardne krive dobijene na osnovu vrednosti apsorbanci za rekombinantni protein koji je prethodno serijski razblažen (MMP-2 dvostruko opadajuća razblaženja u rasponu od 50 pg/mL do 0 pg/mL; MMP-9 dvostruko opadajuća razblaženja u rasponu od 2000 pg/mL do 0 pg/mL; COL3 dvostruko opadajuća razblaženja u rasponu od 100 ng/mL do 0 ng/mL; Human ELN dvostruko opadajuća razblaženja u rasponu od 30 ng/mL do 0 ng/mL; Human PG dvostruko opadajuća razblaženja od 100 ng/mL do 0 ng/mL; Human NE/ELA2 dvostruko opadajuća razblaženja od 50 ng/mL do 0 ng/mL). Koncentracija antigena je izražavana u ng/mL za COL3, ELN, PG i NE/ELA2, dok je za MMP-9 i MMP-2 koncentracija antigena izražavana u pg/mL.

3.6. Određivanje parametara oksidativnog stresa

Oksidativni stres predstavlja stanje u kome je ravnoteža između prooksidanasa i antioksidanasa pomeren u stranu prooksidanasa. Do nastanka oksidativnog stresa najčešće dolazi usled prekomerne produkcije slobodnih radikala kiseonika. Slobodni radikali kiseonika dovode do oštećenja svih ćelijskih struktura, uključujući i ćelijske membrane. Kao odbranu od slobodnih radikala naše ćelije koriste različite enzimske i neenzimske antioksidanse. Najznačajniji neenzimski antioksidansi su glutation i vitamini E, C i A, dok u neke od najznačajnijih enzimskih antioksidanasa spadaju katalaza, superoksid dizmutaza i glutation peroksidaza. Kako bismo ispitali stepen zastupljenosti oksidativnog stresa u zidu AAA određivan je sadržaj lipidnih peroksida

(malondialdehid, MDA), dok su antioksidativni kapaciteti u ovom tkivu procenjivani na osnovu aktivnosti katalaze.

3.6.1. Homogenizacija tkiva

Za potrebe određivanja aktivnosti katalaze i sadržaja lipidnih peroksida (MDA) oko 300 mg tkiva AAA je homogenizovano u 3 mL kalijum-hlorida (KCl 0.16 mol/L) čime je dobijen 10% homogenat. Za homogenizaciju tkiva primenjivana je ista procedura koja je korišćena za potrebe pripreme uzoraka za ELISA testove. Po završetku homogenizacije homogenat je podeljen na dva dela, pri čemu je 1 mL iskorišćen za određivanje aktivnosti katalaze, dok je u ostatku određen sadržaj lipidnih peroksida.

3.6.2. Određivanje sadržaja lipidnih peroksida – MDA

Lipidna peroksidacija označava oštećenje lipidnih komponenti ćelijske membrane delovanjem slobodnih kiseoničnih radikala. Pri tome, peroksidacijom masnih kiselina sa 3 ili više dvostrukih veza nastaje malondialdehid (MDA).

MDA na povišenoj temperaturi i kiselom pH (trihlorsirćetna kiselina, TCA 150g/L) reaguje sa tiobarbiturnom kiselinom (TBA, 3.75g/L) i daje konjugat crvene boje sa maksimumom apsorpcije na 532 nm. Iako TBA može reagovati i sa drugim aldehidima i nekim šećerima ova reakcija je široko prihvaćena za merenje lipidne peroksidacije.

Za određivanje sadržaja MDA korišćen je 2 puta razblažen homogenat (zid aneurizme). Epruvete uzorka i slepe probe su pripremane na način prikazan u tabeli br. 3.

Tabela 3. Pripremanje epruvete uzorka i slepe probe prilikom određivanja koncentracije MDA u zidu AAA.		
Reagens	Uzorak	Slepa proba
Homogenat	1mL	
dH ₂ O		1mL
TCA	0.5mL	0.5
TBA	0.5mL	0.5mL

Epruvete su zatvorene klikerima i stavljene u vodeno kupatilo na 100°C tokom 15 minuta. Po završetku inkubacije epruvete su ohlađene i centrifugirane na 3000 obrtaja 10 minuta nakon čega je očitana apsorbanca na čitaču za mikrotitarske ploče na 535 nm (*Sunrise, TECAN, Dorset, Velika Britanija*). Koncentracija lipidnih peroksida je određena pomoću nanomolarnog apsorpcionog koeficijenta uz korišćenje sledeće formule:

$$\text{MDA} = \frac{(\text{Auz}-\text{Asp})}{\epsilon} \times \frac{tV}{pV} \times R \times 10$$

Pri čemu je:

- Auz – apsorbancija uzorka
- Asp – apsorbancija slepe probe
- ϵ – molarni apsorpcioni koeficijent za MDA-TBA konjugat – 0.156mL/(nmol x cm)
- tV – ukupna zapremina – 2mL
- pV – zapremina homogenata – 1mL
- R – razblaženje homogenata – 2
- 10 – prevođenje na g tkiva

3.6.3. Određivanje aktivnosti katalaze

Katalaza je jedan od enzima antioksidativne zaštite ćelije i katalizuje prevođenje dva molekula H_2O_2 u H_2O i molekulski kiseonik:



Na ovoj reakciji zasniva se princip najvećeg broja metoda u kojima se aktivnost katalaze određuje kao brzina smanjenja koncentracije vodonik peroksida u inkubacionoj mešavini.

Katalaza iz homogenata tkiva AAA razlaže vodonik peroksid (supstrat). Polazeći od pretpostavke da je aktivnost katalaze proporcionalna količini utrošenog vodonik peroksida u jedinici vremena (min), iz razlike u sadržaju vodonik peroksida u inkubacionoj smeši pre i posle dodavanja enzima, može se izračunati enzimski aktivnost. Koncentracija vodonik peroksida se određuje kolorimetrijski u prisustvu amonijum molibdata ($[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}]$, 34.4 mmol/L). Vodonik peroksid sa amonijum molibdatom gradi kompleksno jedinjenje žute boje čija se apsorbancija meri na 410 nm.

Tkivnom homogenatu (zid AAA) je dodat apsolutni etanol u odgovarajućem odnosu (1 mL homogenata + 10 μL apsolutnog etanola) i ovako pripremljen homogenat je razblažen destilovanom vodom u odnosu 1:200.

Epruvete uzoraka, kontrole i slepe probe su pripremljene na način prikazan u tabeli br. 4.

Tabela 4. Pripremanje epruvete uzoraka, kontrole i slepe probe za određivanje aktivnosti katalaze u zidu AAA.

Reagens	Uzorak	Kontrola	Slepa proba
H ₂ O ₂ (0.3g/L)	1mL	1mL	
dH ₂ O			1mL
Preinkubacija 5 minuta, 37°C			
Homogenat	0.1mL		
dH ₂ O		0.1mL	0.1mL
Inkubacija 10 minuta 37°C			
Amonijum molibdat (34.4mmol/L)	0.5mL	0.5mL	0.5mL

Jedinica katalazne aktivnosti (U) definisana je kao količina enzima koja katalizuje reakciju razgradnje jednog nmol H₂O₂ u minuti. Aktivnost katalaze je izračunata prema sledećoj formuli:

$$\text{Aktivnost katalaze (U/g)} = \frac{(A_k - A_{sp}) - (A_{uz} - A_{sp})}{\epsilon \times t} \times \frac{1,6}{0,1} \times R \times 10$$

Pri čemu je:

- A_k – apsorbanca kontrole
- A_{uz} – apsorbanca uzorka
- A_{sp} – apsorbanca slepe probe
- ε – molarni apsorpcioni koeficijent – 22.2L/(μmol/cm)
- t – vreme, 10 min
- 1,6 – ukupna zapremina reakcione smeše
- 0,1 – zapremina homogenata
- R – razblaženje homogenata – 200
- 10 – prevođenje na g tkiva

3.7. Statistička analiza

Za testiranje distribucije podataka korišćen je *Shapiro Wilk* test. Vrednosti u tabelama za parametre sa normalnom raspodelom prikazane su kao aritmetička srednja vrednost \pm standardna devijacija (SD). Varijable koje nemaju Gausovu raspodelu podataka prikazane su kao medijana i interkvartilno rastojanje (25. i 75. percentil).

Poređenje varijabli sa normalnom distribucijom podataka između dve grupe izvršeno je Studentovim t-testom za dve nezavisne populacije, dok je poređenje varijabli bez normalne distribucije podataka izvršeno Mann-Whitney U testom. Za testiranje međusobne povezanosti između dva parametra korišćena je Pearson regresiona analiza (za varijable sa normalnom distribucijom podataka) ili Spearman korelaciona analiza (za varijable bez normalne distribucije podataka). Kategoričke varijable prikazane su kao apsolutne i relativne frekvence, a za analizu je korišćen χ^2 test homogenosti ili u slučaju kada je dobijena frekvencija manja od 5, *Fisher's exact test*.

Za predviđanje zavisne dihotomne promenljive na osnovu vrednosti jedne ili više nezavisne promenljive korišćena je univarijantna ili multivarijantna logistička regresiona analiza. Nezavisne varijable koje su u univarijantnoj logističkoj regresionoj analizi značajni prediktori zavisne varijable testirane su u multivarijantnoj analizi uz korišćenje „enter“ metoda za selekciju varijabli. Prediktivna vrednost ispitivanih nezavisnih varijabli prikazana je unakrsnim umnoškom ili odds ratio (OR) vrednošću i 95% intervalom pouzdanosti za OR (95 CI%). Nivo značajnosti za odbacivanje nulte hipoteze definisan je kao $p < 0.05$. Statistička analiza urađena je primenom kompjuterskih programa SPSS verzija 25.

4. Rezultati

4.1. Vrednosti MR parametara i biomarkera u zidu AAA i ILT-u

U tabeli 5. prikazane su MR karakteristike AAA kod 50 ispitanih pacijenata.

Tabela 5. MR karakteristie AAA (N=50)	
Dmax (cm)	5.48 (4.98-6.16)
IS - ILT	163.85 (141.01-204.115)
IS - mišića	175.59 ± 33.50
r-IS-ILT	0.93 (0.81-1.15)
P-ILT (cm ²)	10.98 (7.79-16.58)
P-AAA (cm ²)	22.06 (19.06-27.39)
r-P-ILT	0.52 ± 0.19

Najveći dijametar AAA (Dmax); intenzitet signala ILT (IS - ILT); intenzitet signala levog velikog slabiskog mišića (IS - mišića); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT); ukupna površina ILT (P-ILT); površina poprečnog preseka AAA (P-AAA); relativna površina tromba (r-P-ILT)

U zidu AAA određivane su koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa kao i nivo oksidativnog stresa (koncentracija MDA) i antioksidativne zaštite (aktivnost katalaze). Rezultati su prikazani u tabeli 6 i tabeli 7.

Tabela 6. Koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa zida AAA

COL3 (ng/mL)	12.64 ± 5.58
ELN (ng/mL)	0.84 (0.52-1.29)
PG (ng/mL)	5.62 (2.06-8.53)

Kolagen tip 3 (COL3), Elastin (ELN), Proteoglikan (PG)

Tabela 7. Parametri oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu AAA

MDA (nmol/g)	14.36 (11.09-41.80)
Katalaza (U/g)	4.12±1.96

Malondialdehid (MDA)

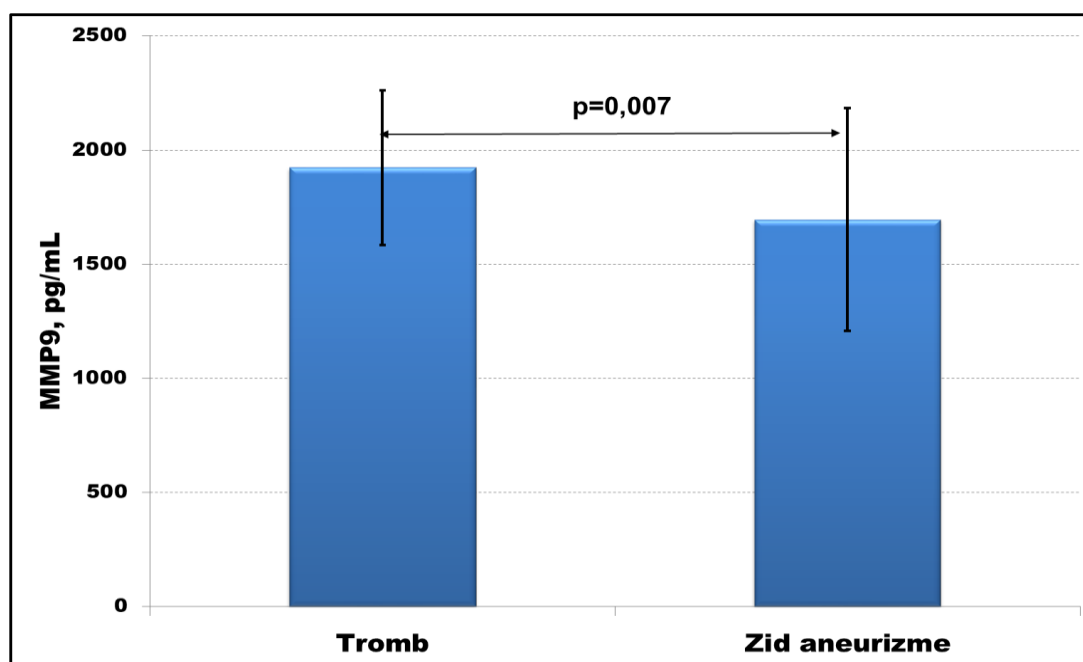
Proteolitička aktivnost u ILT-u i zidu AAA procenjjivana je na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima MMP-9, MMP-2 i NE/ELA. Koncentracije navedenih enzima u ILT-u i zidu AAA kao i njihove međusobne razlike prikazane su u tabeli 8. Koncentracije MMP-9 (slika 6) i NE/ELA2 (slika 7) statistički su značajno veće u ILT-u nego u zidu AAA (MMP-9: 1923.71 ± 339.33 vs. 1696.15 ± 489.73 pg/ml, $P=0.007$; NE/ELA: 15.72 vs. 11.28 ng/ml, $P<0.001$), dok je koncentracija MMP-2 značajno veća u zidu AAA (14.77 vs. 30.69 pg/ml, $P<0.001$) (slika 8).

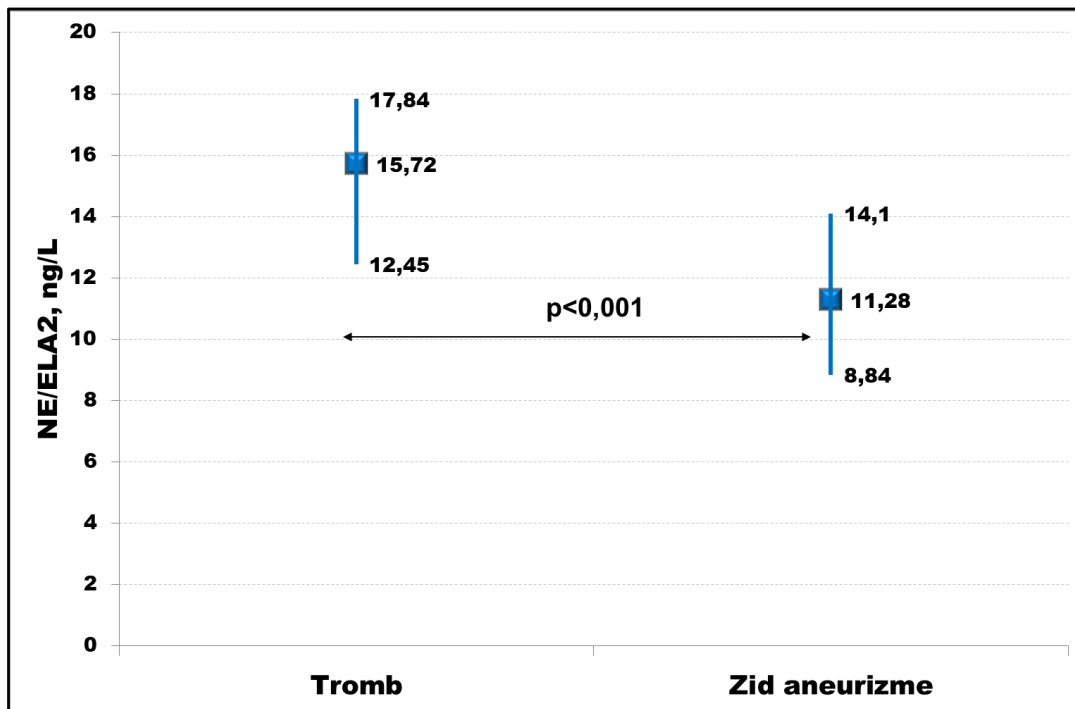
Tabela 8. Koncentracije proteolitičkih enzima u trombu i zidu aneurizme

Proteolitički enzimi	Tromb	Zid aneurizme	P
MMP-9 (pg/mL)	1923 ± 339	1696 ± 489	0.007*
MMP-2 (pg/mL)	14.77 (11.89-18.40)	30.69 (27.17-32.60)	<0.001**
NE/ELA2 (ng/mL)	15.72 (12.45-17.84)	11.28 (8.84-14.10)	<0.001**

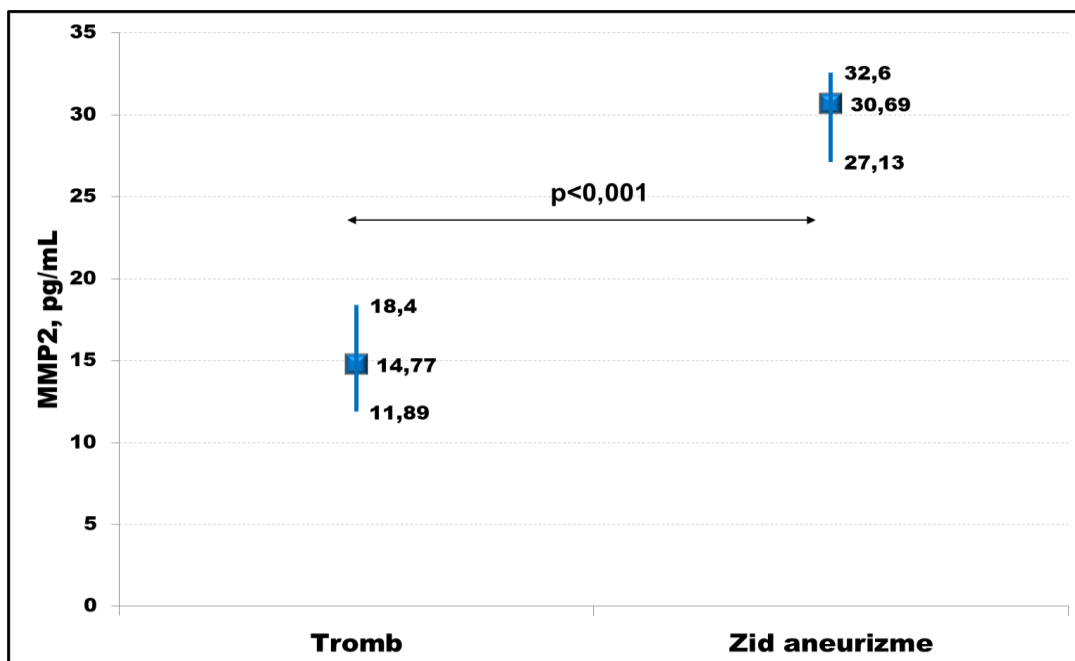
*Poređenje izvršeno Studentovim *t*-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom.

Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2)

**Slika 6. Koncentracija MMP-9 u trombu i zidu aneurizme**



Slika 7. Koncentracija NE/ELA2 u trombu i zidu aneurizme



Slika 8. Koncentracija MMP-2 u trombu i zidu aneurizme

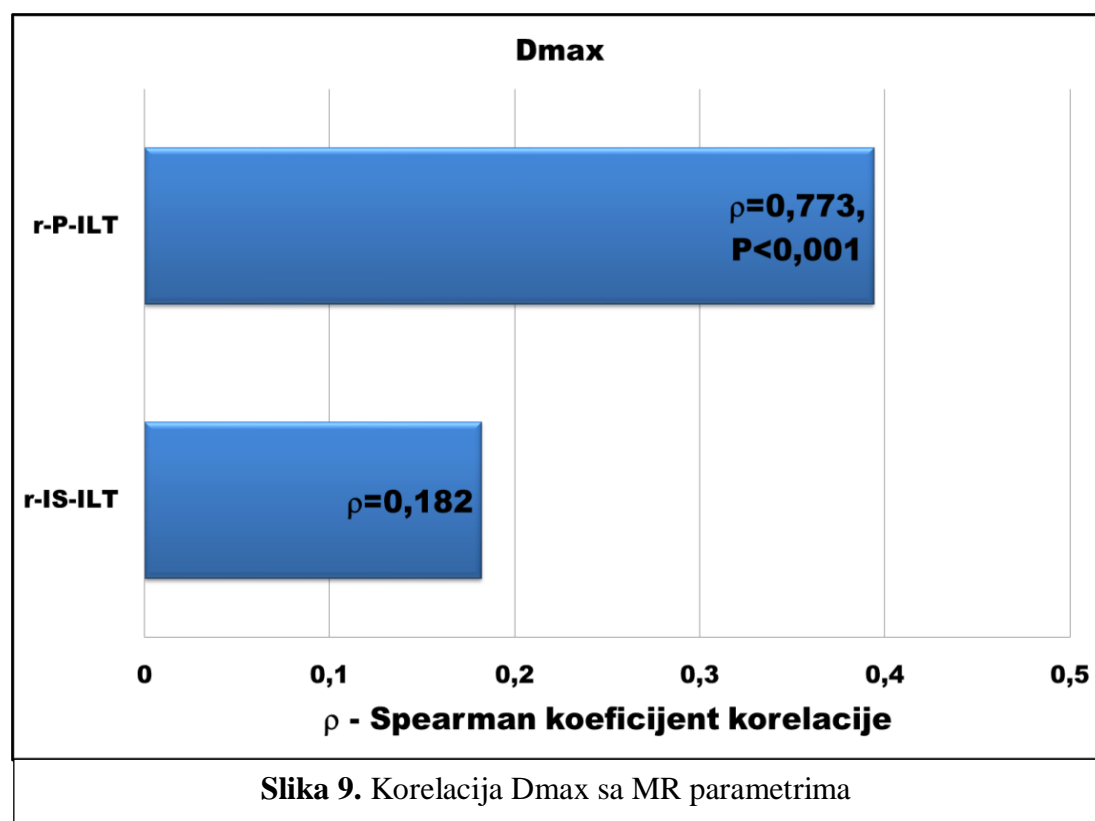
4.2. Međusobne korelacije MR parametara i biomarkera u ILT-u i zidu AAA.

4.2.1. Korelacija najvećeg dijametra AAA sa ostalim MR parametrima.

Utvrđena je pozitivna korelacija između Dmax i r-P-ILT ($\rho=0.394$, $P=0.004$) (Tabela 9, Slika 9).

Tabela 9. Korelacija Dmax sa ostalim MR parametrima		
MR parametri	Dmax	
	ρ	P
r-IS-ILT	0.182	NS
r-P-ILT	0.394	0.004

Najveći dijametar AAA (Dmax); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT); relativna površina tromba (r-P-ILT); ρ – Spearmanov koeficijent korelacije, NS – bez statističke značajnosti

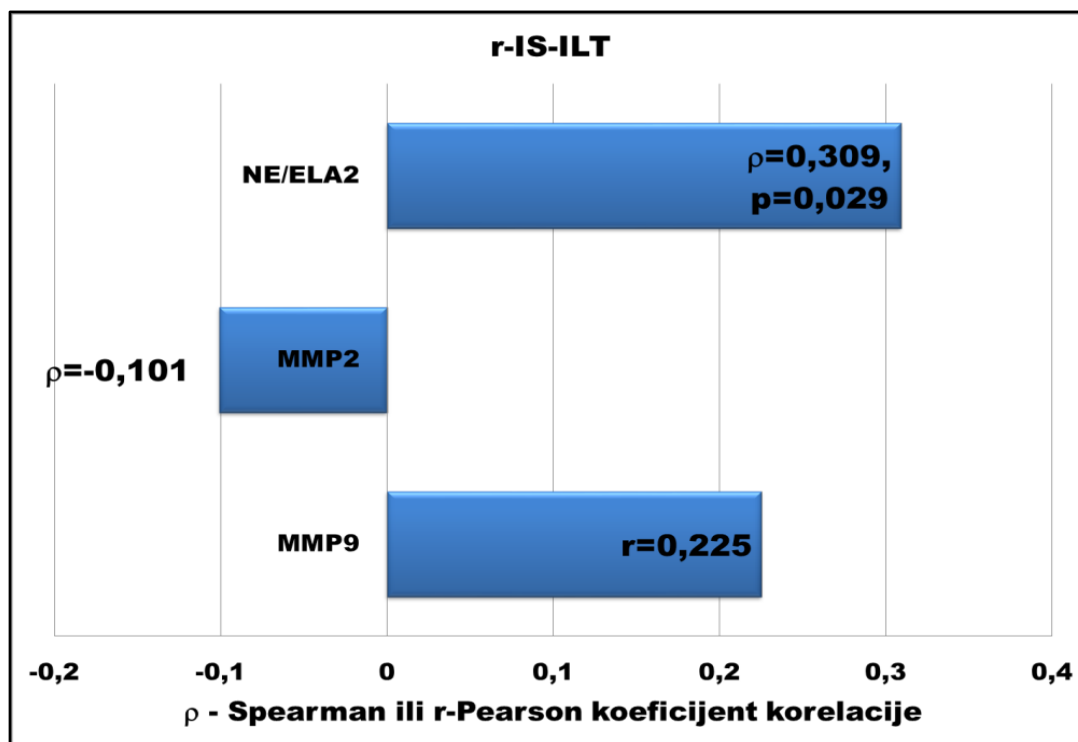


4.2.2. Korelacije različitih MR parametara sa koncentracijama proteolitičkih enzima u ILT-u i zidu AAA.

U tabeli 10 prikazani su rezultati korelacije MR parametara sa koncentracijom proteolitičkih enzima u ILT-u. Pokazana je pozitivna korelacija između r-IS-ILT-a i koncentracija NE/ELA2 u ILT-u ($\rho=0.309$, $P=0.029$) (slika 10). Korelacije između ispitivanih MR parametara i koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA nije dokazana (Tabela 11).

Tabela 10. Korelacija MR parametara i proteolitičkih enzima u trombu										
Proteolitički Enzimi	r-IS-ILT		Dmax		P-ILT		P-AAA		r-P-ILT	
	ρ	P	ρ	P	ρ	P	ρ	P	ρ	P
MMP-9	0.225*	NS	- 0.020	NS	- 0.095	NS	0.003	NS	- 0.102	NS
MMP-2	- 0.101	NS	- 0.261	NS	- 0.263	NS	- 0.177	NS	- 0.166	NS
NE/ELA2	0.309	0.029	- 0.023	NS	0.052	NS	0.003	NS	0.119	NS

*Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2); Najveći dijametar AAA (Dmax); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT); ukupna površina ILT (P-ILT); površina poprečnog preseka AAA (P-AAA); relativna površina tromba (r-P-ILT); ρ – Spearmanov koeficijent korelacije, NS – bez statističke značajnosti. * Pearsonov koeficijent korelacije*



Slika 10. Korelacija r-IS-ILT sa koncentracijom proteolitičkih enzima u trombu

Tabela 11. Korelacija MR parametara sa koncentracijom proteolitičkih enzima u zidu AAA

Proteolitički enzimi	r-IS-ILT		Dmax		P-ILT		P-AAA		r-P-ILT	
	ρ	P	ρ	P	ρ	P	ρ	P	ρ	P
MMP-9	0.105*	NS	0.176	NS	0.245	NS	0.207	NS	0.266	NS
MMP-2	0.138	NS	-0.052	NS	-0.117	NS	0.039	NS	-0.126	NS
NE/ELA2	0.062	NS	-0.030	NS	-0.151	NS	0.055	NS	-0.183	NS

*Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2); Najveći dijametar AAA (Dmax); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT); ukupna površina ILT (P-ILT); površina poprečnog preseka AAA (P-AAA); relativna površina tromba (r-P-ILT); ρ – Spearmanov koeficijent korelacije, * Pearsonov koeficijent korelacije, NS – bez statističke značajnosti.*

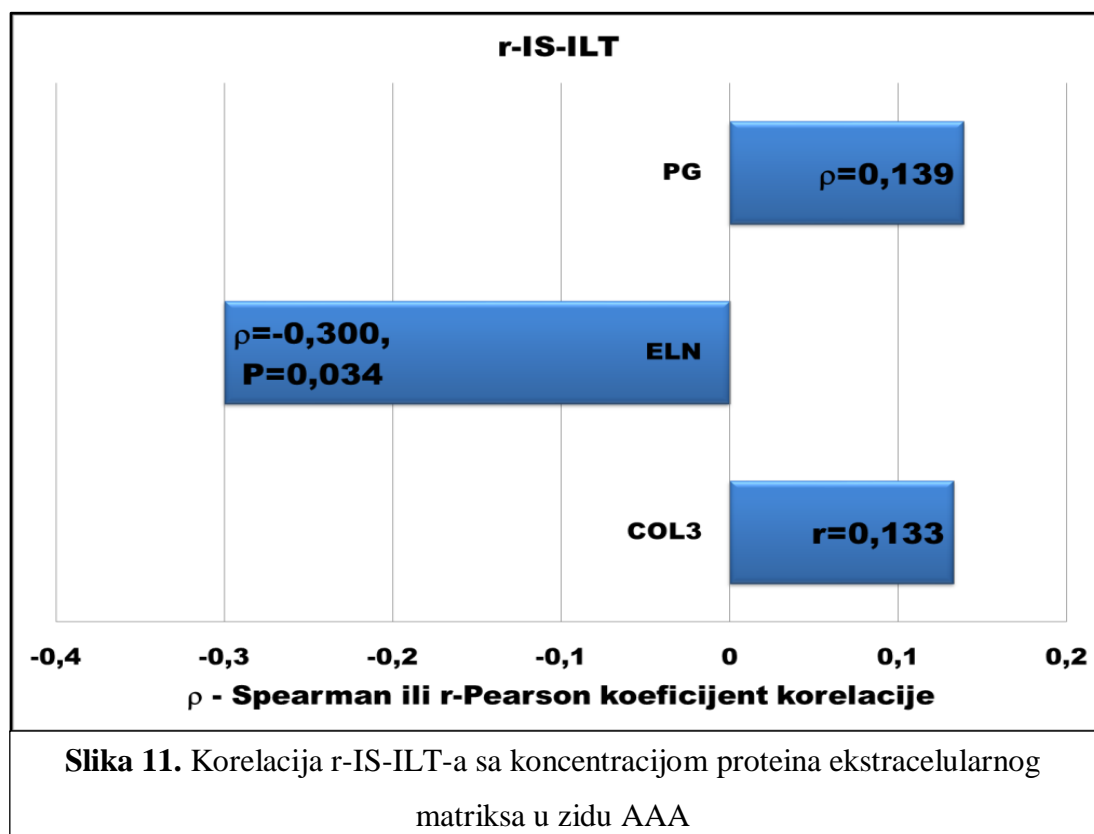
4.2.3. Korelacije različitih MR parametara sa koncentracijama proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA

Korelacije MR parametara sa koncentracijama proteina ekstracelularnog matriksa prikazane su na tabeli 12. Utvrđena je značajna korelacija između r-IS-ILT sa koncentracijom ELN-a u zidu AAA ($\rho=-0.300$, $P=0.034$). Sa porastom r-IS-ILT smanjuje se koncentracija ELN-a (Slika 11).

Tabela 12. Korelacija MR parametara sa koncentracijom proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA

Proteini ekstracelularnog matriksa	r-IS-ILT		Dmax		P-ILT		P-AAA		r-P-ILT	
	ρ	P	ρ	P	ρ	P	ρ	P	ρ	P
COL3	0.133*	NS	-0.147	NS	-0.200	NS	-0.080	NS	-0.155	NS
ELN	-0.300	0.034	-0.206	NS	-0.074	NS	-0.215	NS	0.037	NS
PG	0.139	NS	0.135	NS	0.233	NS	0.171	NS	0.153	NS

*Kolagen tip 3 (COL3); Elastin (ELN); Proteoglikan (PG); Najveći dijametar AAA (Dmax); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT); ukupna površina ILT (P-ILT); površina poprečnog preseka AAA (P-AAA); relativna površina tromba (r-P-ILT); ρ – Spearmanov koeficijent korelacije, NS – bez statističke značajnosti. * Pearsonov koeficijent korelacije*

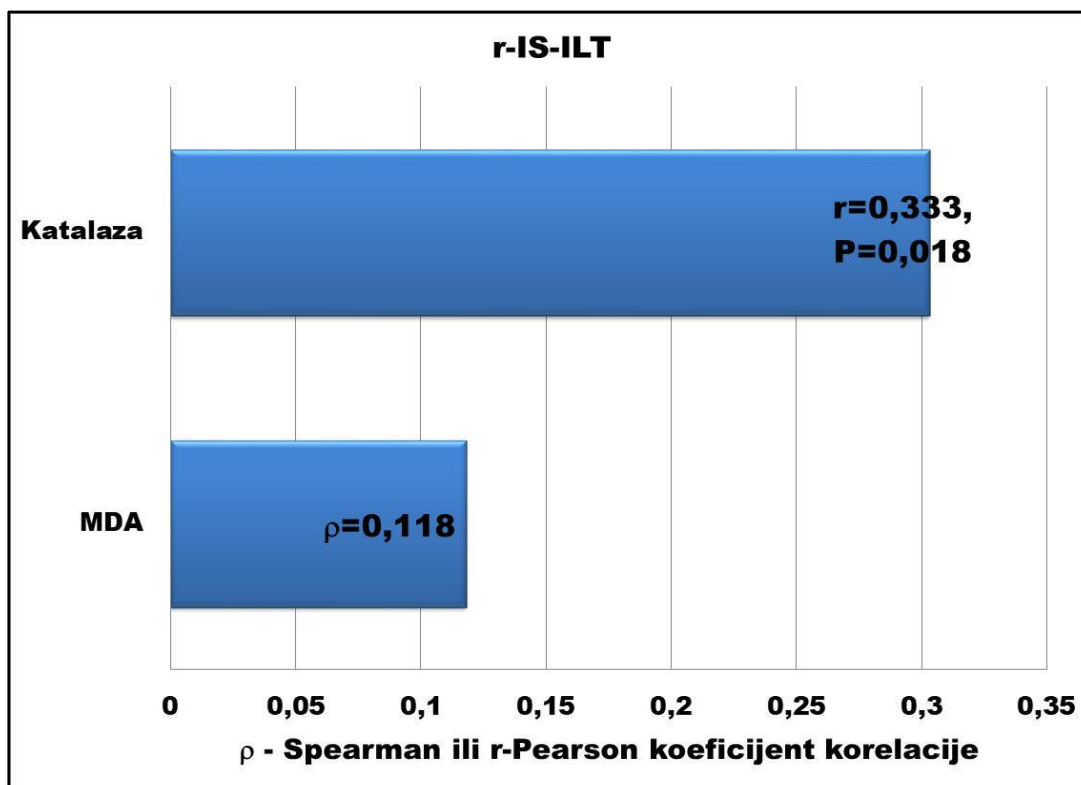


4.2.4. Korelacije različitih MR parametara sa parametrima oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu AAA.

Korelacije MR parametara sa parametrima oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite prikazane su u tabli 13. Uočena je povezanost r-IS-ILT-a i aktivnosti antioksidativnog enzima katalaze ($\rho=0.333$, $P=0.018$). Sa porastom aktivnosti katalaze u zidu aorte raste r-IS-ILT (Tabela 13 i slika 12). Nije dokazana statistički značajna povezanost ostalih MR parametara sa aktivnošću katalaze i količinom stvorenog MDA u zidu AAA.

Tabela 13. Korelacija MR parametara sa parametrima oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu aorte										
	r-IS-ILT		Dmax		P-ILT		P-AAA		r-P-ILT	
	ρ	P	ρ	P	ρ	P	ρ	P	ρ	P
MDA	0.118	NS	0.205	NS	0.143	NS	0.144	NS	0.078	NS
Katalaza	0.333*	0,018	0.144	NS	0.058	NS	0.220	NS	-0.024	NS

*Malondialdehid (MDA); Najveći dijametar AAA (Dmax); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT); ukupna površina ILT (P-ILT); površina poprečnog preseka AAA (P-AAA); relativna površina tromba (r-P-ILT); ρ – Spearmanov koeficijent korelacije, * Pearsonov koeficijent korelacije, NS – bez statističke značajnosti.*



Slika 12. Korelacija r-IS-ILT-a sa parametarima oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite.

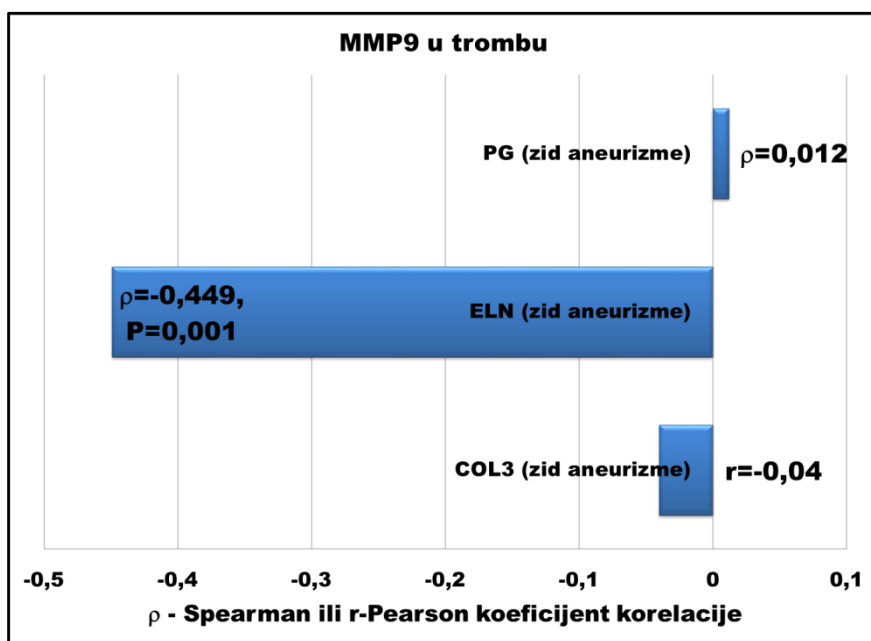
4.3. Korelacije koncentracija ispitivanih biomarkera u ILT-u i zidu AAA.

Ispitivana je korelacija proteolitičkih enzima izolovanih iz ILT-a sa koncentracijom proteina ekstracelularnog matriksa u zidu aneurizme (Tabla 14). Nađena je značajna negativna korelacija između koncentracije MMP-9 ($\rho=-0.449$, $P<0.01$) i NE/ELA2 ($\rho=-0.306$, $P=0.031$) u trombu i ELN-a u zidu AAA. Sa povećanjem koncentracije navedenih proteolitičkih enzima u ILT-u, smanjuje se koncentracija ELN-a u zidu AAA (slike 13 i 14).

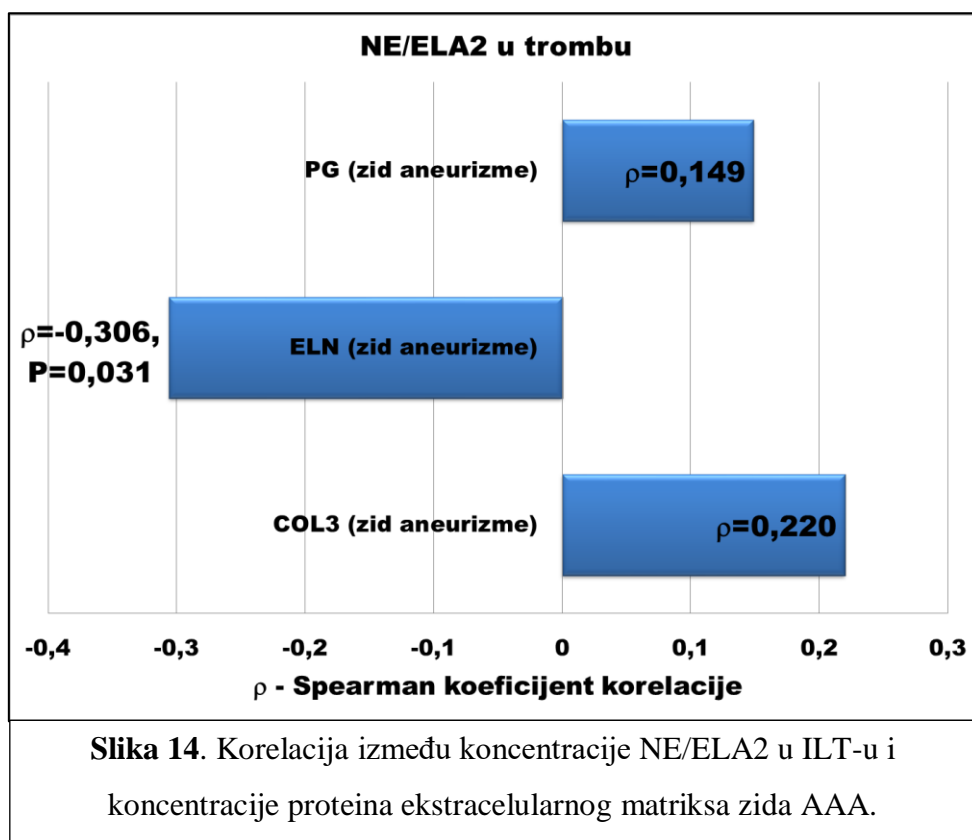
Tabela 14. Korelacija između koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u i koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa zida AAA

Proteini ekstracelularnog matriksa	Tromb					
	MMP-9		MMP-2		NE/ELA2	
	ρ	P	ρ	P	ρ	P
COL3	-0.040*	NS	-0.040	NS	0.220	NS
ELN	-0.449	0.001	-0.099	NS	-0.306	0,031
PG	0.012	NS	-0.155	NS	0.149	NS

*Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2); Kolagen tip 3 (COL3); Elastin (ELN); Proteoglikan (PG); ρ – Spearmanov koeficijent korelacije, * Pearsonov koeficijent korelacije NS – bez statističke značajnosti*



Slika 13. Korelacija između koncentracije MMP-9 u ILT-u i koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa zida AAA.



U ovom istraživanju nisu utvrđene značajne korelacije između koncentracija proteolitičkih enzima u ILT-u i parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu AAA (tabela 15).

Tabela 15. Korelacija između koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u i parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu AAA						
Parametri oksidativnog stresa	Tromb					
	MMP-9		MMP-2		NE/ELA2	
	ρ	P	ρ	P	ρ	P
MDA	-0.104	NS	-0.078	NS	0.129	NS
Katalaza	-0.012*	NS	0.087	NS	-0.008	NS

*Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza 2 (NE/ELA2); Malondialdehid (MDA); ρ – Spearmanov koeficijent korelacije, * Pearsonov koeficijent korelacije NS – bez statističke značajnosti*

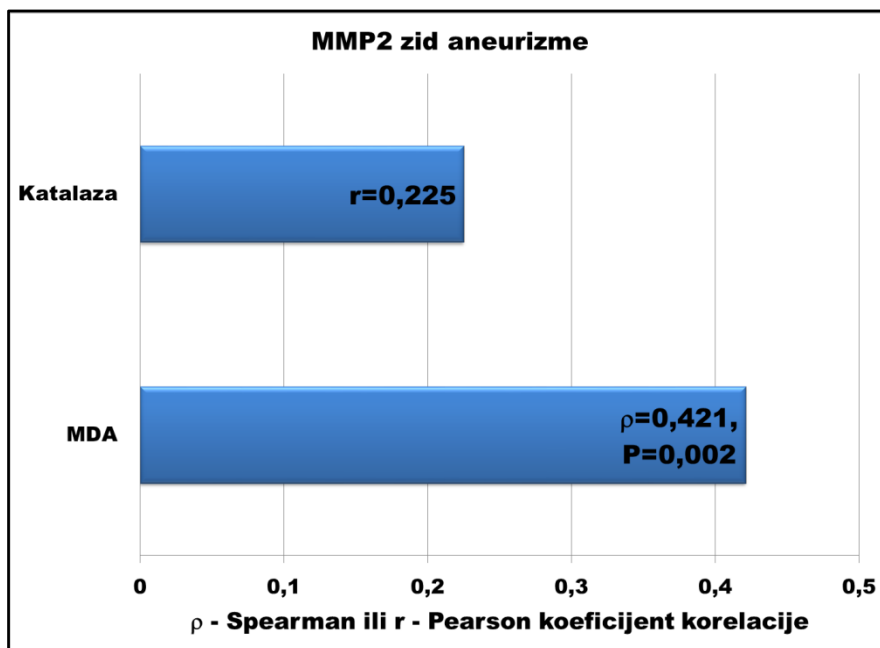
4.4. Korelacije parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite sa koncentracijama proteolitičkih enzima i proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA.

Dokazana je pozitivna korelacije između koncentracije MMP-2 u zidu AAA i markera lipidne peroksidacije MDA ($\rho=0.421$, $P<0.01$), kao i između koncentracije NE/ELA2 i aktivnosti antioksidativnog enzima katalaze ($\rho=0.401$, $P<0.01$) (Tabela 16). Sa porastom navedenih markera oksidativnog stresa dolazi do porasta koncentracije MMP-2 (Slika 15) i NE/ELA2 (Slika 16) u zidu AAA.

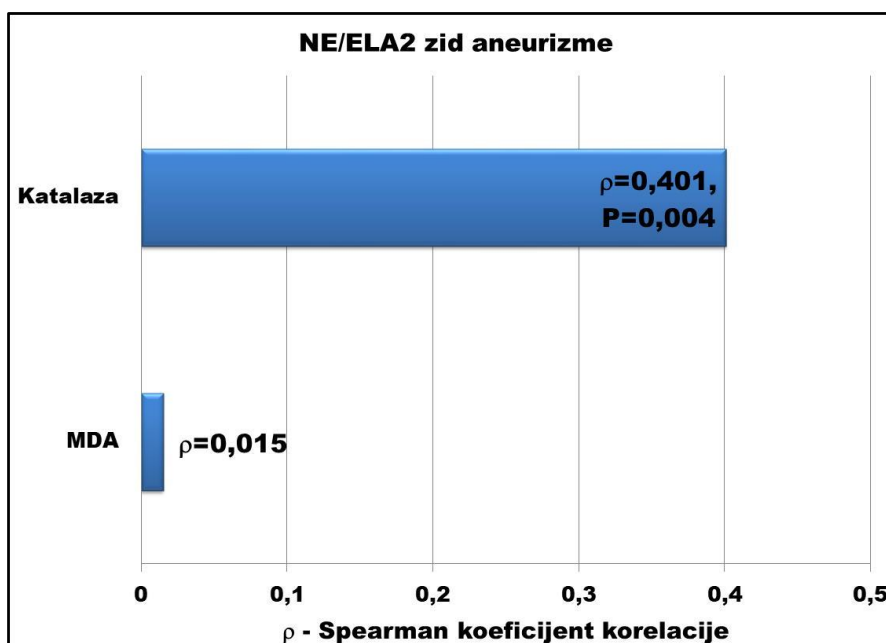
Tabela 16. Korelacija između koncentracije proteolitičkih enzima i markera oksidativnog stresa u zidu AAA

Parametri oksidativnog stresa	Zid aneurizme					
	MMP-9		MMP-2		NE/ELA2	
	ρ	P	ρ	P	ρ	P
MDA	-0.045	NS	0.421	0.002	0.015	NS
Katalaza	0.029*	NS	0.225	NS	0.401	0.004

*Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza 2 (NE/ELA2); Malondialdehid (MDA); ρ – Spearmanov koeficijent korelacije, * Pearsonov koeficijent korelacije NS – bez statističke značajnosti*



Slika 15. Korelacija između koncentracije MMP-2 u zidu AAA i parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite.



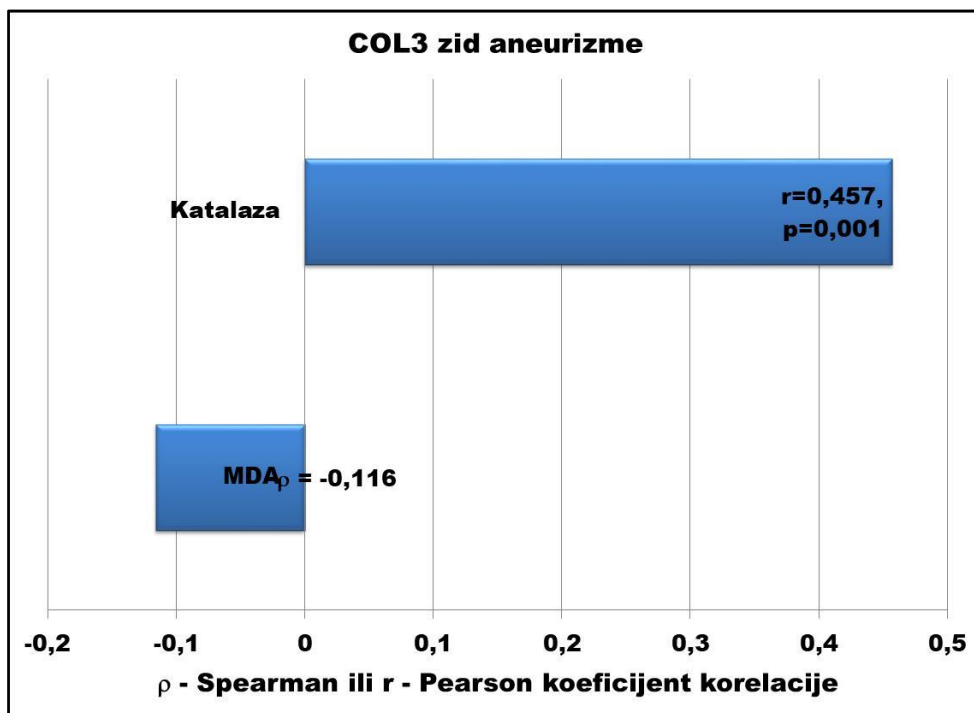
Slika 16. Korelacija između koncentracije NE/ELA2 u zidu AAA i parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite.

Korelacije između markera oksidativnog stresa i koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA prikazane su u tabeli 17. Statistički značajna korelacija je nađena između koncentracije COL3 i aktivnosti katalaze ($\rho=0,457$, $P<0,01$), kao i koncentracije MDA i PG ($\rho=0,331$, $P=0,019$). Porast aktivnosti katalaze praćen je porastom koncentracije COL3 (Slika 17), dok je porast koncentracije MDA povezan sa porastom koncentracije PG (Slika 18).

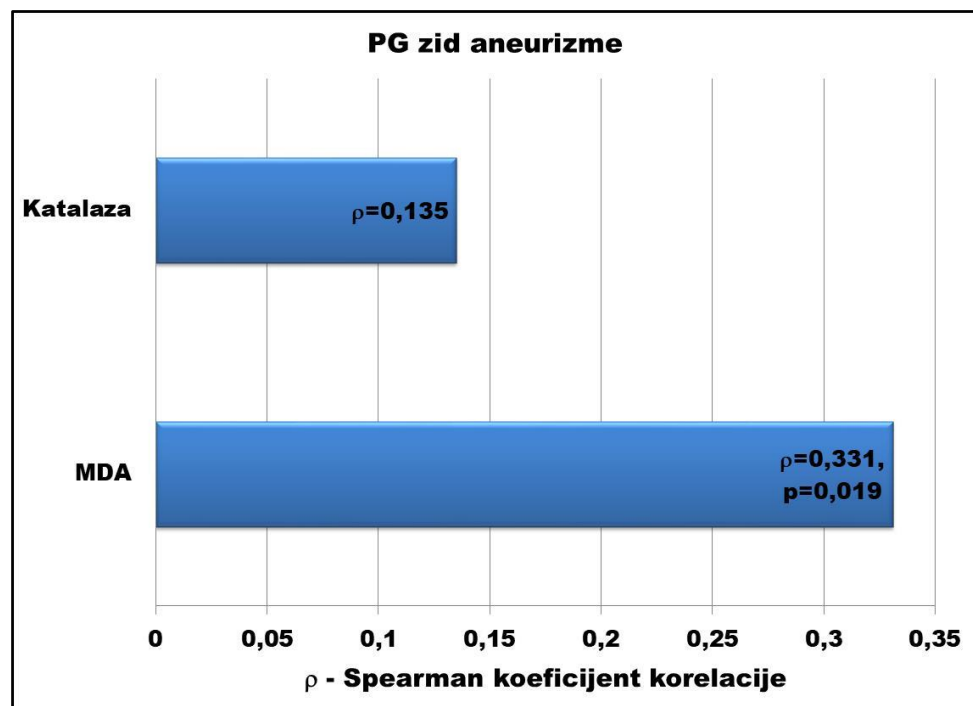
Tabela 17. Korelacija između parametara oksidativnog stresa i koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa zida AAA

Parametri oksidativnog stresa	Zid aneurizme					
	COL3		ELN		PG	
	ρ	P	ρ	P	ρ	P
MDA	-0.116	NS	0.051	NS	0.331	0.019
Katalaza	0.457	0.001*	0.119	NS	0.135	NS

*Kolagen tip 3 (COL3); Elastin (ELN); Proteoglikan (PG); Malondialdehid (MDA); ρ – Spearmanov koeficijent korelacije, * Pearsonov koeficijent korelacije NS – bez statističke značajnosti*



Slika 17. Korelacija između koncentracije COL3 u zidu AAA i parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite.



Slika 18. Korelacija između koncentracije PG u zidu AAA i parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite.

4.5. Ispitivanje razlika u pogledu biološke aktivnosti ILT-a, kao i parametara proteolitičke aktivnosti i sadržaja zida AAA između grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om.

Svi ispitanici su podjeljeni u dve grupe u odnosu na vrednost medijane r-IS-ILT-a. Pacijenti sa r-IS-ILT-om manjim ili jednakim od 0.9250 svrstani su u grupu sa niskim r-IS-ILT-om, dok su pacijenti sa signalom većim od 0.9250 svrstani u grupu sa visokim r-IS-ILT-om.

Grupe su se razlikovale jedino po broju pacijenata sa ishemijskom bolesti srca (40% vs. 9.1%, $P < 0.01$) i upotrebi antiagregacione terapije (64% vs. 32%, $P = 0.046$), njihova učestalost je statistički značajno veća u grupi pacijenata sa niskim r-IS-ILT-om. Značajne razlike u pogledu ostalih demografskih i kliničkih karakteristika između grupa nisu utvrđene (Tabela 18).

Tabela 18. Upoređivanje grupa na osnovu demografskih i osnovnih kliničkih karakteristika pacijenata

Karakteristike pacijenata	Nizak r-IS-ILT (N=25)	Visok r-IS-ILT (N=25)	P
Životna dob	66.3 ± 7.3	69.1 ± 8.9	0.234
Pol (muški)	22 (88%)	23 (92%)	0.999*
ITM (kg/m ²)	26.9 ± 2.7	25.4 ± 3.1	0.081
Pušenje	9 (36%)	10 (40%)	0.770**
Arterijska hipertenzija	22 (88%)	22 (88%)	1.000*
Dijabetes melitus	4 (16%)	3 (12%)	0.999*
Ishemijska bolest srca	10 (40%)	1 (9,1%)	0.005*
Srčana insuficijencija	4 (16%)	0 (0%)	0.110*
Karotidna bolest	3 (12%)	5 (20%)	0.702*
Hronična obstruktivna bolest pluća	10 (40%)	12 (48%)	0.755**
Periferna okluzivna arterijska bolest	2 (8%)	3 (12%)	0.999*
Hronična bubrežna insuficijencija	6 (24%)	3 (12%)	0.463*
Hiperlipidemija	18 (72%)	16 (64%)	0.544**
Antiagregaciona terapija	16 (64%)	8 (32%)	0.046
Upotreba statina	11 (44%)	7 (28%)	0.315**

*Poređenje kontinuiranih varijabli je izvršeno Studentovim t-testom; * Poređenje izvršeno Fisher exact testom; ** Poređenje izvršeno χ^2 testom. Indeks telesne mase (ITM); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT)*

Takođe, navedene grupe se nisu statistički značajno razlikovale na osnovu najvećeg dijametra AAA i r-P-ILT-a (Tabela 19).

Tabela 19. Upoređivanje grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT na osnovu Dmax i r-P-ILT

MR parametri	Nizak r-IS-ILT (N=25)	Visok r-IS-ILT (N=25)	P
Dmax (cm)	5.1 (4.97-5.80)	5.58 (5.03-6.66)	0.151**
r-P-ILT	0.50 ± 0.15	0.55 ± 0.22	0.365*

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Najveći dijametar AAA (Dmax); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT); relativna površina tromba (r-P-ILT)

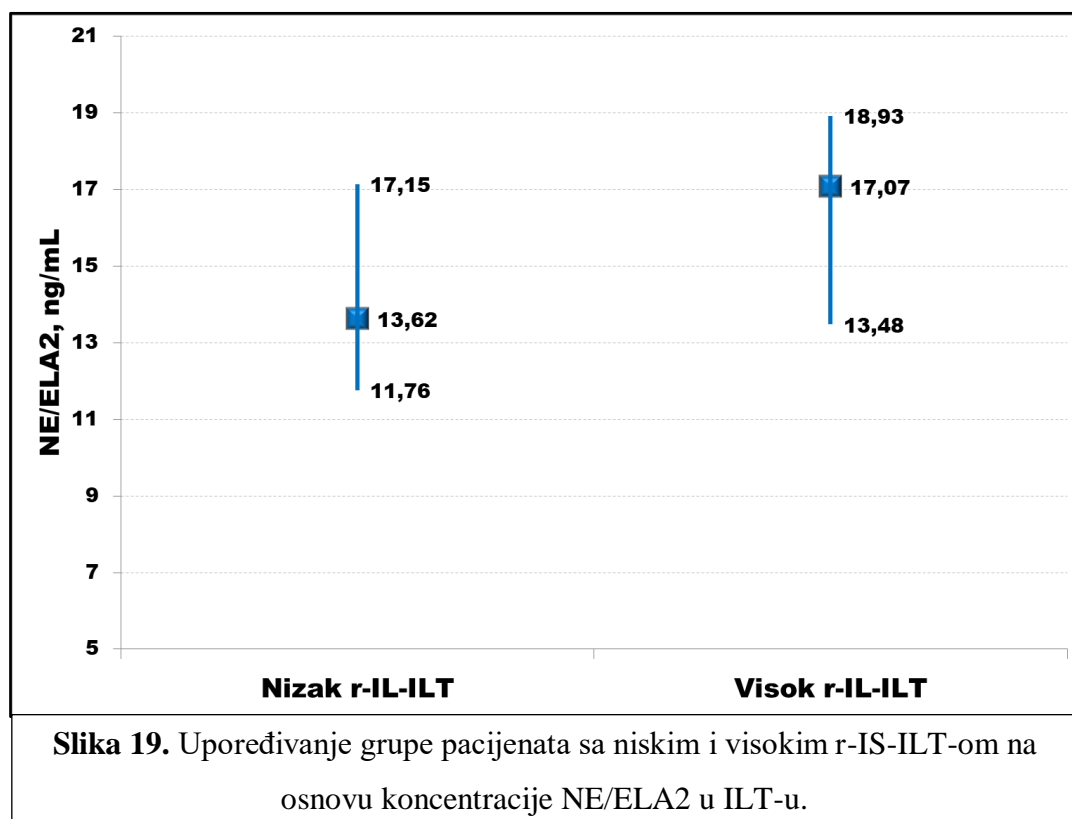
4.5.1. Upoređivanje grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu biološke aktivnosti ILT-a.

Rezultati poređenja pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u prikazani su u tabeli 20. Dokazana je statistički značajna razlika u koncentraciji NE/ELA2 između dve ispitivane grupe. Pacijenti sa visokim r-IS-ILT-om imali su statistički značajno veću koncentraciju NE/ELA2 u ILT-u u poređenju sa pacijentima sa niskim vrednostima r-IS-ILT-a (17.07 ng/mL vs. 13.62 ng/mL; P=0.028) (Slika 19).

Tabela 20. Koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u sa niskim i visokim r-IS-ILT

Proteolitički enzimi	Nizak r-IS-ILT (N=25)	Visok r-IS-ILT (N=25)	P
MMP-9 (pg/mL)	1860 ± 289	1986 ± 378	0.192*
MMP-2 (pg/mL)	15.51 (12.88-19.49)	14.02 (11.08-15.90)	0.174**
NE/ELA2 (ng/mL)	13.62 (11.76-17.15)	17.07 (13.48-18.93)	0.028**

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2)



4.5.2. Upoređivanje grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA.

Koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA nisu se značajnije razlikovale između pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-a (Tabela 21).

Tabela 21. Koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA kod pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om

Proteolitički enzimi	Nizak r-IS-ILT (N=25)	Visok r-IS-ILT (N=25)	P
MMP-9 (pg/mL)	1634 ± 494	1757 ± 487	0.378*
MMP-2 (pg/mL)	29.81 (25.35-32.02)	31.13 (28.15-33.48)	0.184**
NE/ELA2 (ng/mL)	10.43 (6.53-13.07)	12.31 (9.24-15.43)	0.109**

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom.

Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2)

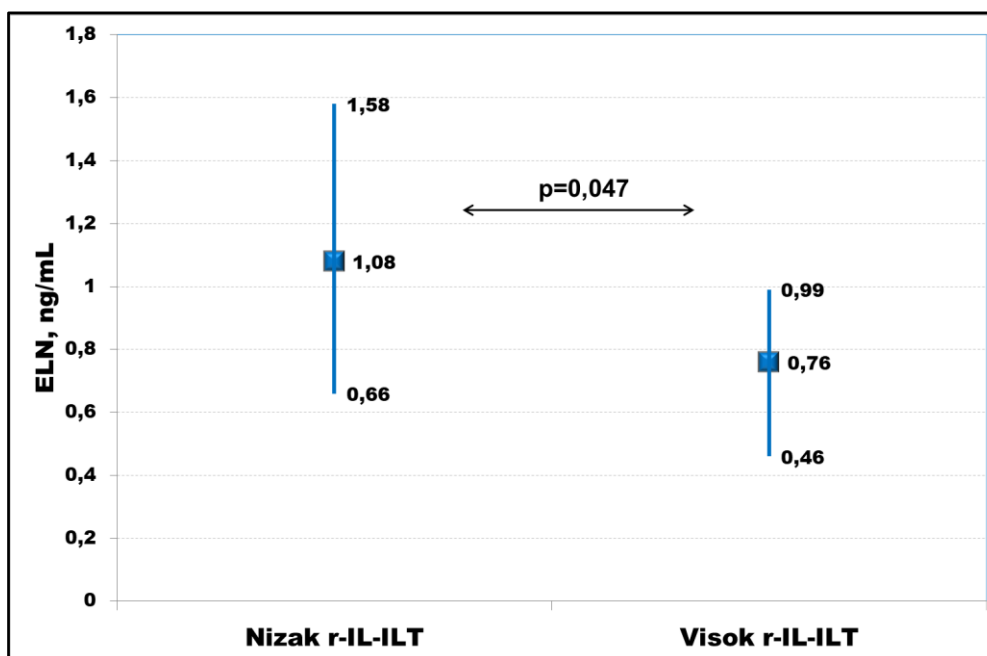
4.5.3. Upoređivanje grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA.

Rezultati poređenja pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA prikazani su u tabeli 22. Pacijenti iz grupe sa visokim r-IS-ILT-om imali su statistički značajno manju koncentraciju ELN-a u zidu AAA (0.76 ng/mL vs. 1.08 ng/mL; P=0.047) (Slika 20). Koncentracije ostalih komponenti ekstracelularnog matriksa se nisu značajno razlikovale između ispitivanih grupa.

Tabela 22. Koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA kod pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om.

Proteini ekstracelularnog matriksa	Nizak r-IS-ILT (N=25)	Visok r-IS-ILT (N=25)	P
COL3 (ng/mL)	11.25 ± 5.23	14.03 ± 5.61	0.078*
ELN (ng/mL)	1.08 (0.66-1.58)	0.76 (0.46-0.99)	0.047**
PG (ng/mL)	5.27 (2.01-7.26)	7.10 (2.09-8.82)	0.372**

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Kolagen tip 3 (COL3), Elastin (ELN), Proteoglikan (PG)



Slika 20. Koncentracija ELN-a u zidu AAA kod pacijenta sa niskim i visokim vrednostima r-IS-ILT-a

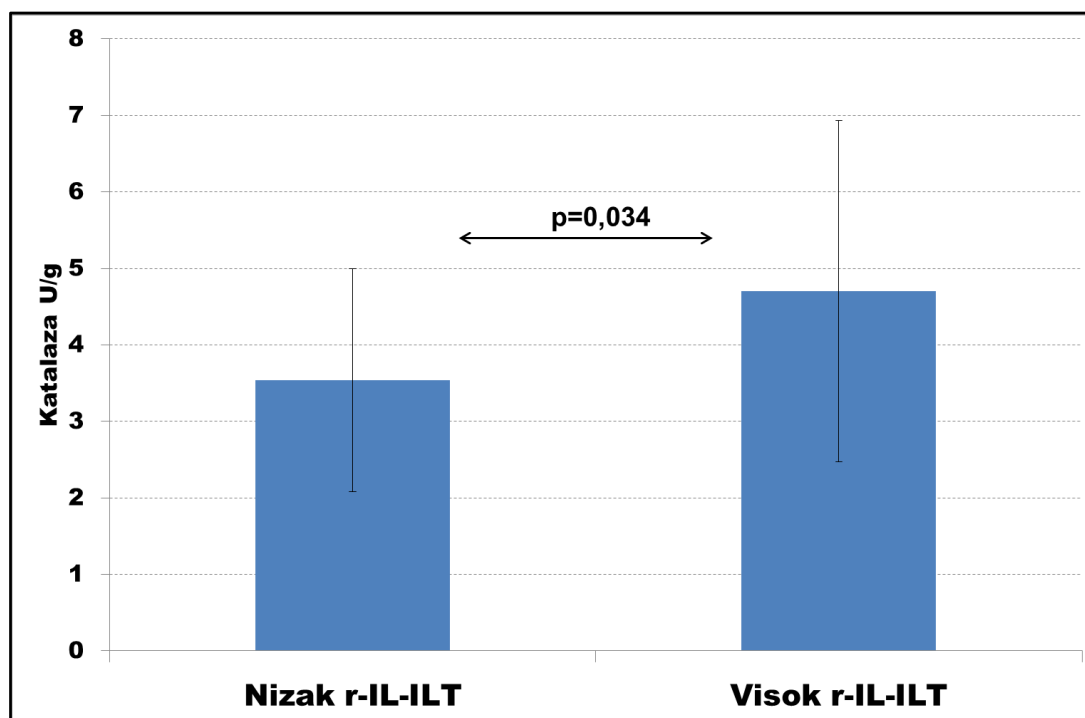
4.5.4. Upoređivanje grupe pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu parametara oksidativnog stresa u zidu AAA.

Rezultati poređenja pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om na osnovu parametara oksidativnog stresa u zidu AAA prikazani su u tabeli 23. Aktivnost antioksidativnog enzima katalaze statistički je značajno veća kod pacijenata sa višim r-IS-ILT-om (4.70 U/g vs. 3.54 U/g; P=0.034) (Slika 21). Nije dokazana značajna razlika u koncentraciji MDA između upoređivanih grupa.

Tabela 23. Parametari oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu AAA kod pacijenata sa niskim i visokim r-IS-ILT-om

Parametri oksidativnog stresa	Nizak r-IS-ILT (N=25)	Visok r-IS-ILT (N=25)	P
MDA (nmol/g)	14.36 (10.39-34.23)	15.38 (11.28-78.33)	0.516**
Katalaza (U/g)	3.54 ± 1.46	4.70 ± 2.23	0.034*

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom.
Malondialdehid (MDA)*



Slika 21. Aktivnost katalaze u zidu AAA kod pacijenta sa niskim i visokim vrednostima r-IS-ILT-a

4.6. Demografski i klinički parametri u predikciji visokih vrednosti r-IS-ILT-a.

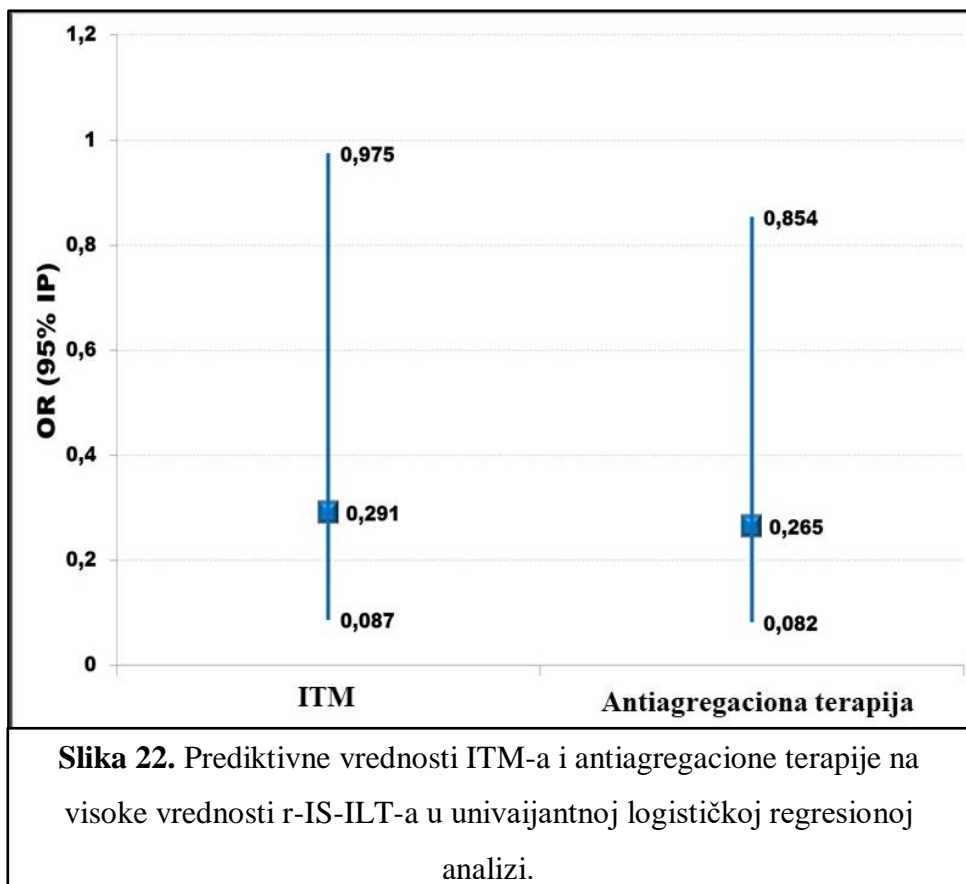
Posmatrana je prediktivna sposobnost pola, starosti, ITM-a, pušenja, upotrebe statina i antiagregacionih lekova u predikciji visokih (>0.925) vrednosti r-IS-ILT-a (Tabela 24). Od svih ispitivanih prediktora ITM i antiagregaciona terapija predviđaju visoke vrednosti r-IS-ILT-a.

Tabela 24. Prediktivne vrednosti demografskih i kliničkih parametara na visoke vrednosti r-IS-ILT

Demografski i klinički parametri	OR (95% IP)	P
Životna dob	1.962 (0.621-6.193)	0.251
Pol (muški)	1.57 (0.239-10.300)	0.639
ITM (kg/m^2)	0.291 (0.087-0.975)	0.045
Pušenje	1.185 (0.378 – 3.718)	0.771
Antiagregaciona terapija	0.265 (0.082-0.854)	0.026
Statini	0.495 (0.153-1.606)	0.242

Univarijantna logistička regresiona analiza. Indeks telesne mase ($\text{ITM} < 25 \text{kg}/\text{m}^2$ obeležene su 0, a vrednosti $\geq 25 \text{kg}/\text{m}^2$ obeležene su 1). Godine starosti pacijenta ≤ 67 obeležene su 0, a godine starosti > 67 obeležene su 1. Vrednosti signala r-IS-ILT ≤ 0.9250 obeležene su 0, a > 0.9250 obeležene su 1. Odds ratio (OR); interval pouzdanosti (IP).

Pacijenti sa ITM-om manjim od 25kg/m^2 imaju 3.4 puta ($1/0.291$) veću šansu da im r-IS-ILT bude veći od 0.9250 u poređenju sa pacijentima sa ITM-om manjim od 25kg/m^2 . Kod osoba koje su na antiagregacionoj terapiji verovatnoća da će vrednost r-IS-ILT-a biti manja od 0.925 je 3.77 ($1/0.265$) puta veća nego kod osobe koje ne uzimaju antiagregacionu terapiju (Slika 22).

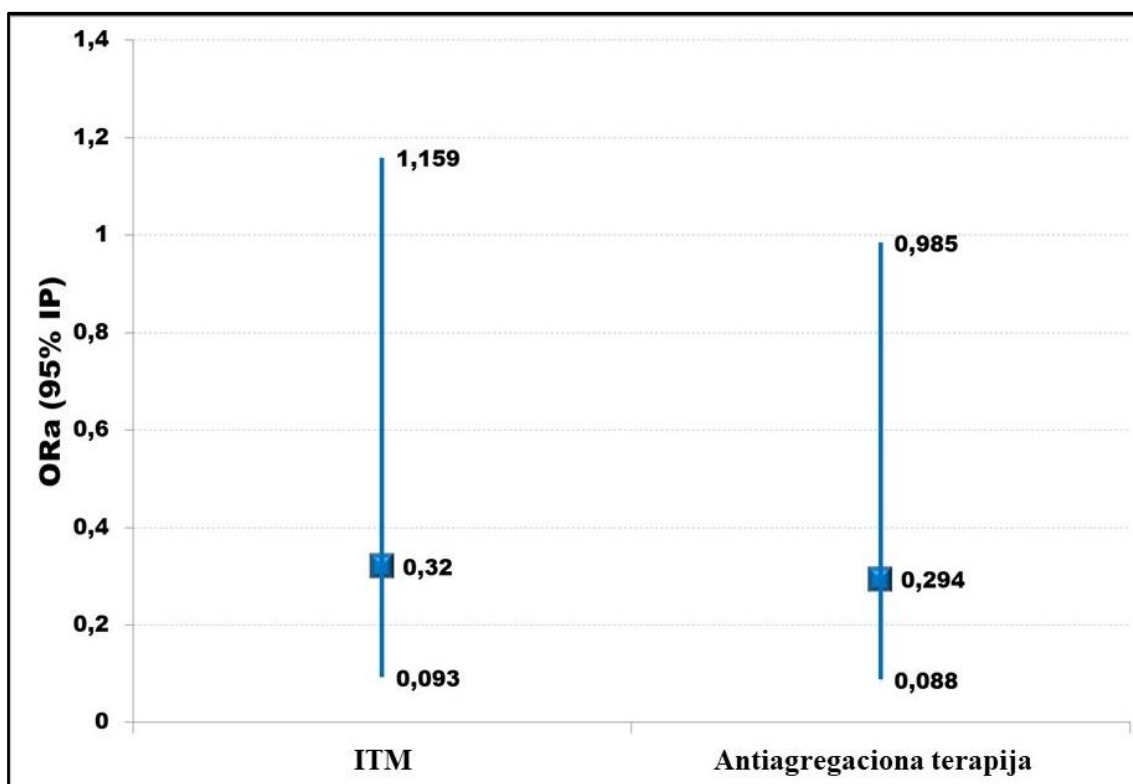


Antiagregaciona terapija i ITM uključeni su u multiplu logističku regresionu analizu kako bi se ispitalo njihov nezavisan uticaj na predikciju visokih vrednosti r-IS-ILT-a. Terapija antiagregacionim lekovima je prediktor visokih vrednosti r-IS-ILT-a nezavisno od ITM-a (Tabela 25). Ukoliko je pacijent na antiagregacionoj terapiji verovatnoća da će se tokom pregleda detektovati visoka vrednost r-IS-ILT-a je 3,4 puta manja (za 71%) u odnosu na osobe koje nisu na navedenoj terapiji i ta prediktivna sposobnost je nezavisna od ITM-a (Slika 23).

Tabela 25. Prediktivne vrednosti demografskih i kliničkih parametara na visoke vrednosti r-IS-ILT-a

Prediktivni parametri	ORa (95% IP)	P
ITM (kg/m ²)	0.320 (0.093-1.159)	0.084
Antiagregaciona terapija	0.294 (0.088-0.985)	0.047

Multipla logistička regresiona analiza. Indeks telesne mase (Vrednosti ITM < 25 kg/m² obeležene su 0, a vrednosti ≥ 25 kg/m² obeležene su 1). Vrednosti r-IS-ILT ≤ 0.9250 obeležene su 0, a vrednosti > 0.9250 obeležene su 1. Korigovani odds ratio (ORa); interval pouzdanosti (IP).



Slika 23. Prediktivne vrednosti ITM-a i antiagregacione terapije na visoke vrednosti r-IS-ILT-a u multiploj logističkoj regresionoj analizi.

4.7. Ispitivanje razlika u pogledu biološke aktivnosti ILT-a, kao i parametara proteolitičke aktivnosti i sadržaja zida AAA između grupe pacijenata koji su uzimali ili nisu uzimali statine.

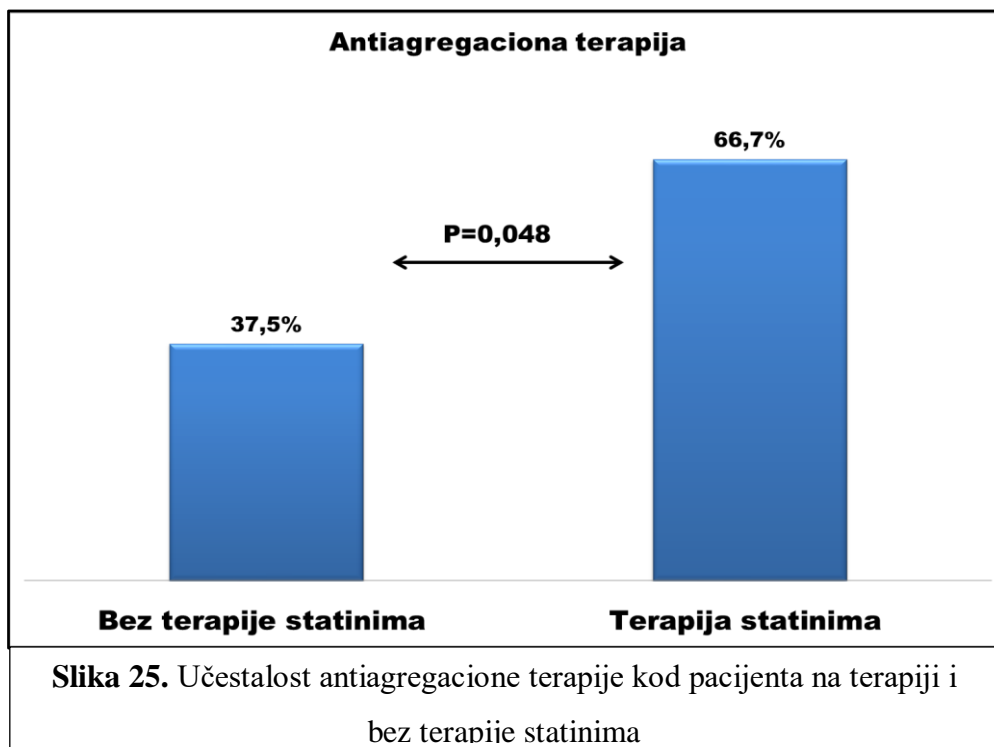
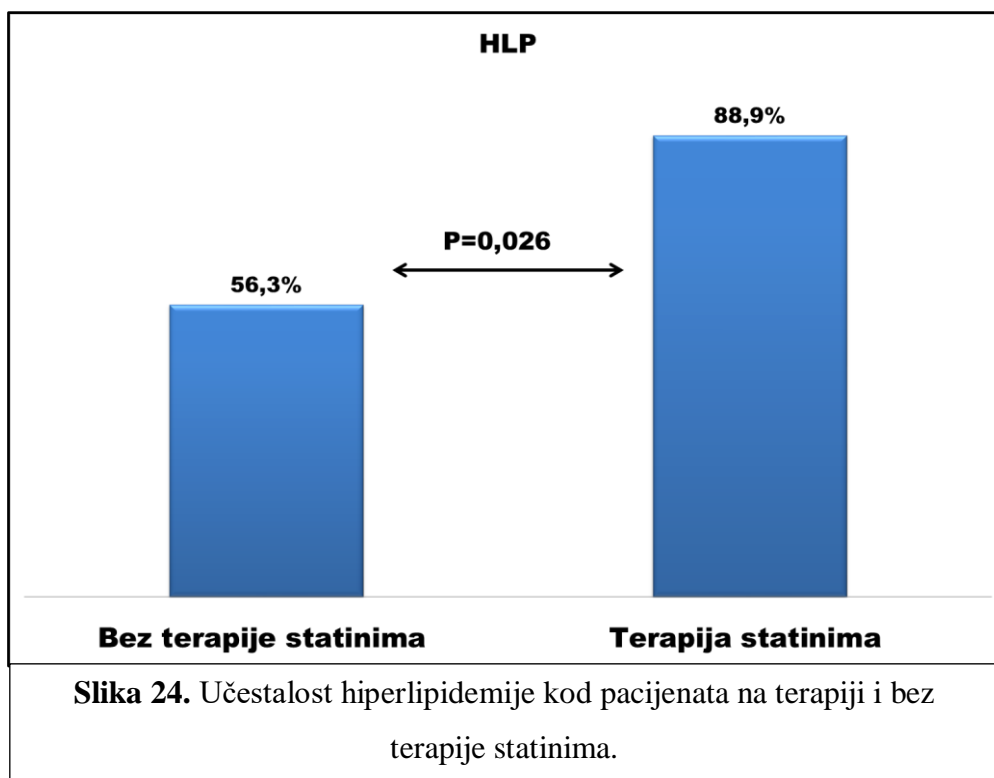
Svi ispitanici su podeljeni u dve grupe na osnovu toga da li su bili na terapiji statinima (Tabela 26). Broj pacijenata sa hiperlipidemijom bio je značajno veći u grupi koja je bila na terapiji statinima (88.9% vs. 56.3%; P=0.026). Međutim, preko 50% pacijenata sa hiperlipidemijom nije uzimao

statine (Slika 24). Procenat pacijenata koji su pored statina uzimali i antiagregacionu terapiju bio je značajno veći od onog koji su uzimali samo antiagregacionu terapiju (66.7% vs. 37.5%; P=0.048) (Slika 25).

Tabela 26. Upoređivanje grupa na osnovu demografskih i osnovnih kliničkih karakteristika pacijenata

Karakteristike pacijenata	Bez terapije statinima (N=32)	Terapija statinima (N=18)	P
Životna dob	68.2 ± 8.2	66.8 ± 8.3	0.577
Pol (muški)	31 (96.9%)	14 (77.8%)	0.050**
ITM (kg/m ²)	25.9 ± 2.9	26.6 ± 3.1	0.469
Pušenje	14 (43.5%)	5 (27.8%)	0.264**
Arterijska hipertenzija	27 (84.4%)	17 (94.4%)	0.399*
Dijabetes melitus	4 (12.5%)	3 (16.7%)	0.692*
Ishemijaska bolest srca	6 (18.8%)	5 (27.8%)	0.459**
Srčana insuficijencija	2 (6.3%)	2 (11.1%)	0.612*
Karotidna bolest	6 (18.8%)	2 (11.1%)	0.694*
Hronična opstruktivna bolest pluća	15 (46.9%)	7 (38.9%)	0.585**
Periferna okluzivna arterijska bolest	4 (12.5%)	1 (5.6%)	0.642*
Hronična bubrežna insuficijencija	5 (15.6%)	4 (22.2%)	0.705*
Antiagregaciona terapija	12 (37.5%)	12 (66.7%)	0.048
Hiperlipidemija	18 (56.3%)	16 (88.9%)	0.026*

*Poređenje kontinuiranih varijabli je izvršeno Studentovim t-testom; * Poređenje izvršeno Fisher exact testom; ** Poređenje izvršeno χ^2 testom. Indeks telesne mase (ITM)*



4.7.1. MR parametri kod pacijenata na terapiji i bez terapije statinima.

Rezultati poređenja grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima na osnovu MR parametara prikazani su u tabeli 27. Kod ispitivanih MR parametara dokazana je razlika u vrednosti r-IS-ILT-a između ispitivanih grupa. Vrednosti r-IS-ILT-a su bile statistički značajno veće kod

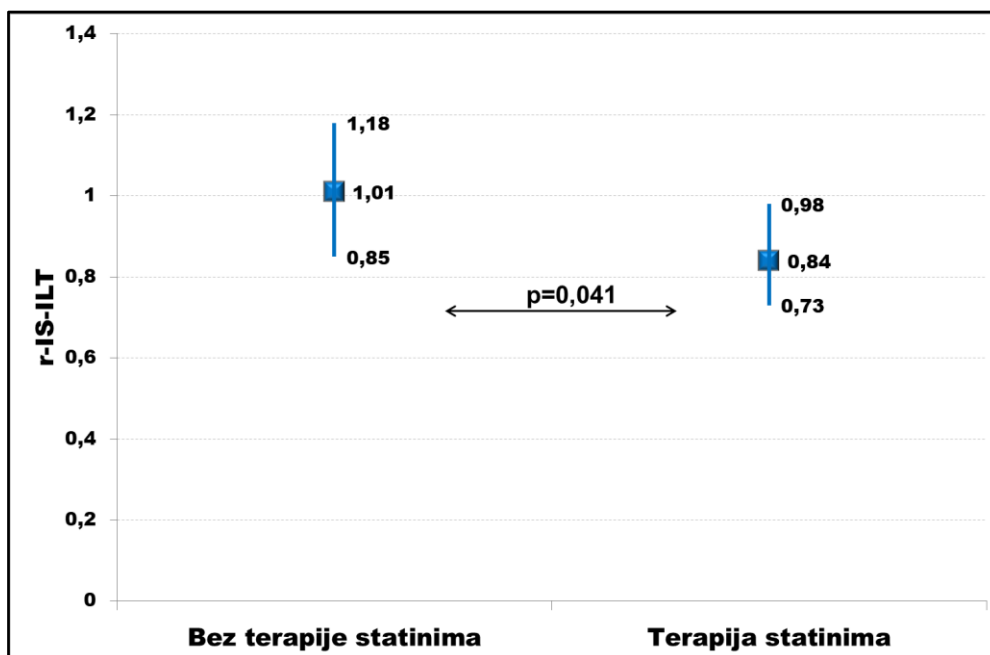
pacijenta koji nisu uzimali statine (1.01 vs. 0.84; P=0.041) (Slika 26). Ispitivane grupe se nisu razlikovale na osnovu ostalih MR parametara.

Tabela 27. MR parametri kod pacijenata na terapiji i bez terapije statinima

MR parametri	Bez terapije statinima (N=32)	Terapija statinima (N=18)	P
Dmax (cm)	5.46 (4.96-6.34)	5.52 (5.01-5.90)	0.808**
r-IS-ILT	1.01 (0.85-1.18)	0.84 (0.73-0.98)	0.041
r-P-ILT	0.51 ± 0.18	0.55 ± 0.20	0.446*

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom.

Najveći dijametar AAA (Dmax); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT); relativna površina tromba (r-P-ILT)



Slika 26. Vrednosti r-IS-ILT-a kod pacijenta na terapiji i bez terapije statinima.

4.7.2. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima na osnovu biološke aktivnosti ILT-a.

Rezultati poređenja grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u prikazani su u tabeli 28. Nije dokazana statistički značajna razlika između ispitivanih grupa u pogledu koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u.

Tabela 28. Koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u kod pacijenata na terapiji i bez terapije statinima

Proteolitički enzimi	Bez terapije statinima (N=32)	Terapija statinima (N=18)	P
MMP-9 (pg/mL)	1966 ± 338	1847 ± 337	0.235*
MMP-2 (pg/mL)	14.58 (11.72-18.50)	14.78 (12.49 – 18.40)	0.895**
NE/ELA2 (ng/mL)	15.72 (12.78 – 18.51)	15.30 (11.21 – 17.46)	0.390**

**Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom.
Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2)*

4.7.3. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA.

Koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA nisu se značajnije razlikovale između pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima (Tabela 29).

Tabela 29. Koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA kod pacijenta koji su na terapiji i bez terapije statinima

Proteolitički enzimi	Bez terapije statinima (N=32)	Terapija statinima (N=18)	P
MMP-9 (pg/mL)	1675 ± 527	1733 ± 426	0.690*
MMP-2 (pg/mL)	30.13 (27.58-32.17)	31.06 (25.47-33.52)	0.455**
NE/ELA2 (ng/mL)	11.28 (9.24 – 13.26)	11.66 (6.46 – 15.58)	0.928**

**Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom.
Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2)*

4.7.4. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima na osnovu koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA.

Koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa se nisu značajno razlikovale između ispitivanih grupa (Tabela 30).

Tabela 30. Koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA kod pacijenta koji su na terapiji i bez terapije statinima

Proteini ekstracelularnog matriksa	Bez terapije statinima (N=32)	Terapija statinima (N=18)	P
COL3 (ng/mL)	12.79 ± 4.98	12.36 ± 6.67	0.797*
ELN (ng/mL)	0.80 (0.46-1.14)	0.89 (0.65-2.08)	0.210**
PG (ng/mL)	5.58 (2.04-7.88)	5.70 (2.63 – 10.09)	0.620**

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Kolagen tip 3 (COL3), Elastin (ELN), Proteoglikan (PG)

4.7.5. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije statinima na osnovu parametara oksidativnog stresa u zidu AAA.

Aktivnost katalaze i koncentracija MDA se nisu značajnije razlikovale u navedenim grupama pacijenata (Tabela 31).

Tabela 31. Parametari oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu AAA kod pacijenta koji su na terapiji i bez terapije statinima

Parametri oksidativnog stresa	Bez terapije statinima (N=32)	Terapija statinima (N=18)	P
MDA (nmol/g)	15.51 (10.71-27.31)	13.98 (11.02-98.72)	0.848**
Katalaza (U/g)	4.09 ± 2.12	4.18 ± 1.69	0.871*

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Malondialdehid (MDA)

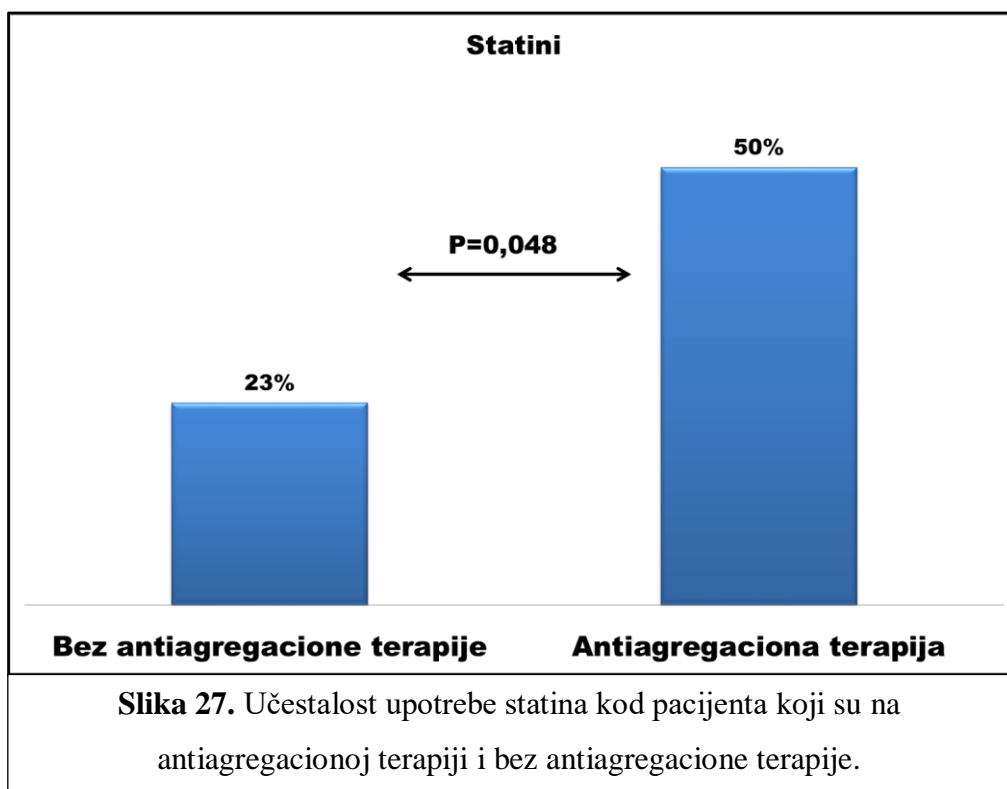
4.8. Ispitivanje razlika u pogledu biološke aktivnosti ILT-a, kao i parametara proteolitičke aktivnosti i sadržaja zida AAA između grupe pacijenata koji su na terapiji i bez terapije antiagregacionim lekovima.

Svi ispitanici su podeljeni u dve grupe na osnovu toga da li su uzimali antiagregacionu terapiju (Tabela 32). Procenat pacijenata koji su pored antiagregacione terapije uzimali i statine bio je značajno veći od onih koji su koristili samo statine (50% vs. 23.1%; P=0.048) (Slika 27). Navedene grupe se nisu razlikovale na osnovu ostalih ispitivanih demografskih i kliničkih parametara.

Tabela 32. Upoređivanje grupa na osnovu demografskih i osnovnih kliničkih karakteristika pacijenata

Karakteristike pacijenata	Bez antiagregacione terapije (N=26)	Antiagregaciona terapija (N=24)	P
Životna dob	68.2 ± 9.3	67.2 ± 6.9	0.661
Pol (muški)	24 (92.3%)	21 (87.5%)	0.461*
ITM (kg/m ²)	25.7 ± 3.3	26.7 ± 2.6	0.237
Pušenje	11 (42.3%)	8 (33.3%)	0.514**
Arterijska hipertenzija	22 (84.6%)	22 (91.7%)	0.373*
Dijabetes melitus	4 (15.4%)	3 (12.5%)	0.547*
Ishemijska bolest srca	3 (11.5%)	8 (33.3%)	0.064*
Srčana insuficijencija	1 (3.8%)	3 (12.5%)	0.275*
Karotidna bolest	3 (11.5%)	5 (20.8%)	0.305*
Hronična obstruktivna bolest pluća	10 (38.5%)	12 (50%)	0.412**
Periferna okluzivna arterijska bolest	3 (11.5%)	2 (8.3%)	0.539*
Hronična bubrežna insuficijencija	6 (19.2%)	4 (16.7%)	0.554*
Terapija statinima	6 (23.1%)	12 (50%)	0.048
Hiperlipidemija	19 (73.1%)	15 (62.5%)	0.423**

*Poređenje kontinuiranih varijabli je izvršeno Studentovim t-testom; * Poređenje izvršeno Fisher exact testom; ** Poređenje izvršeno χ^2 testom. Indeks telesne mase (ITM)*



4.8.1. MR parametri kod pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije.

Rezultati poređenja grupe pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije na osnovu MR parametara prikazani su u tabeli 33. Navedene grupe se nisu razlikovale na osnovu ispitivanih MR parametara.

Tabela 33. MR parametri kod pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije

MR parametri	Bez antiagregacione terapije (N=26)	Antiagregaciona terapija (N=24)	P
Dmax (cm)	5.48 (4.89-6.40)	5.49 (5.13-6.08)	0.689**
r-IS-ILT	1.02 (0.85-1.19)	0.85 (0.74-1.07)	0.905**
r-P-ILT	0.52 ± 0.20	0.53 ± 0.18	0.828*

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom.
Najveći dijаметar AAA (Dmax); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT); relativna površina tromba (r-P-ILT)

4.8.2. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije na osnovu biološke aktivnosti ILT-a.

Rezultati poređenja grupe pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u prikazani su u tabeli 34. Nije dokazana statistički značajna razlika između ispitivanih grupa u pogledu koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u.

Tabela 34. Koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u kod pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije.

Proteolitički enzimi	Bez antiagregacione terapije (N=26)	Antiagregaciona terapija (N=24)	P
MMP-9 (pg/mL)	1942 ± 290	1903 ± 391	0.689*
MMP-2 (pg/mL)	13.93 (11.57-15.78)	15.82 (13.67-19.78)	0.834**
NE/ELA2 (ng/mL)	15.94 (12.68 – 18.39)	15.28 (11.60 – 17.62)	0.889**

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2)

4.8.3. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA.

Koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA nisu se značajnije razlikovale između pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije (Tabela 35).

Tabela 35. Koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA kod pacijenta koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije

Proteolitički enzimi	Bez antiagregacione terapije (N=26)	Antiagregaciona terapija (N=24)	P
MMP-9 (pg/mL)	1729.5 ± 392	1660 ± 584	0.621*
MMP-2 (pg/mL)	29.59 (26.03-32.60)	31.06 (28.09-33.13)	0.374**
NE/ELA2 (ng/mL)	11.89 (9.20 – 13.37)	10.69 (8.08 – 15.91)	0.928**

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2)

4.8.4. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije na osnovu koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA.

Koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa se nisu značajno razlikovale između ispitivanih grupa (Tabela 36).

Tabela 36. Koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA kod pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije

Proteini ekstracelularnog matriksa	Bez antiagregacione terapije (N=26)	Antiagregaciona terapija (N=24)	P
COL3 (ng/mL)	12.47 ± 4.06	12.82 ± 6.96	0.830*
ELN (ng/mL)	0.74 (0.52-1.04)	1.13 (0.52-1.51)	0.219**
PG (ng/mL)	5.62 (2.00-8.53)	5.64 (2.04 – 8.49)	0.156**

**Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Kolagen tip 3 (COL3), Elastin (ELN), Proteoglikan (PG)*

4.8.5. Upoređivanje grupe pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije na osnovu parametara oksidativnog stresa u zidu AAA.

Aktivnost katalaze i koncentracija MDA se nisu značajnije razlikovale u navedenim grupama pacijenata (Tabela 37).

Tabela 37. Parametari oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu AAA kod pacijenata koji su na antiagregacionoj terapiji i bez antiagregacione terapije

Parametri oksidativnog stresa	Bez antiagregacione terapije (N=26)	Antiagregaciona terapija (N=24)	P
MDA (nmol/g)	15.13 (11.03-31.22)	13.59 (10.70-72.88)	0.254**
Katalaza (U/g)	4.11 ± 1.90	4.12 ± 2.06	0.955*

**Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Malondialdehid (MDA)*

4.9. Ispitivanje razlika u pogledu biološke aktivnosti ILT-a, kao i parametara proteolitičke aktivnosti i sadržaja zida AAA između grupe pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova.

Navedene grupe pacijenata se nisu značajnije razlikovale na osnovu ispitivanih demografskih i kliničkih parametara (Tabela 38).

Tabela 38. Upoređivanje grupa na osnovu demografskih i osnovnih kliničkih karakteristika pacijenata

Karakteristike pacijenata	Bez statina i bez antiagregacione terapije (N=20)	Statini i antiagregaciona terapija (N=12)	P
Životna dob	68.6 ± 9.3	66.8 ± 7.8	0.578
Pol (muški)	20 (100%)	10 (83.3%)	0.133*
ITM (kg/m ²)	25.5 ± 3.5	26.7 ± 3.4	0.340
Pušenje	9 (45%)	3 (25%)	0.452*
Arterijska hipertenzija	16 (80%)	11 (91.7%)	0.626*
Dijabetes melitus	3 (15%)	2 (16.7%)	0.999*
Ishemijska bolest srca	3 (15%)	5 (41.7%)	0.116*
Srčana insuficijencija	1 (5%)	2 (16.7%)	0.540*
Karotidna bolest	2 (10%)	1 (8.3%)	0.999*
Hronična obstruktivna bolest pluća	9 (45%)	6 (50%)	0.784**
Periferna okluzivna arterijska bolest	3 (15%)	1 (8.3%)	0.999*
Hronična bubrežna insuficijencija	2 (10%)	1 (8.3%)	0.999*
Hiperlipidemija	13 (65%)	10 (83.3%)	0.422*

*Poređenje kontinuiranih varijabli je izvršeno Studentovim t-testom; * Poređenje izvršeno*

*Fisher exact testom; ** Poređenje izvršeno χ^2 testom. Indeks telesne mase (ITM)*

4.9.1. MR parametri kod pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova.

Upoređivane grupe se nisu razlikovale na osnovu ispitivanih MR parametara (Tabela 39).

Tabela 39. MR parametri kod pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i onih koji nisu uzimali nijedan od navedenih lekova

MR parametri	Bez statina i bez antiagregacione terapije (N=20)	Statini i antiagregaciona terapija (N=12)	P
Dmax (cm)	5.40 (4.91-6.41)	5.55 (5.13-6.07)	0.659**
r-IS-ILT	1.06 (0.86-1.18)	0.82 (0.69-0.94)	0.116
r-P-ILT	0.53 ± 0.21	0.58 ± 0.23	0.462*

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom.

Najveći dijametar AAA (Dmax); relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba (r-IS-ILT); relativna površina tromba (r-P-ILT)

4.9.2. Upoređivanje grupe pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova na osnovu biološke aktivnosti ILT-a.

Nije dokazana statistički značajna razlika između ispitivanih grupa u pogledu koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u (Tabela 40).

Tabela 40. Koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u kod pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i onih koji nisu uzimali nijedan od navedenih lekova

Proteolitički enzimi	Bez statina i bez antiagregacione terapije (N=20)	Statini i antiagregaciona terapija (N=12)	P
MMP-9 (pg/mL)	1907 ± 297	1740 ± 331	0.152*
MMP-2 (pg/mL)	13.93 (11.43-15.93)	16.52 (12.23 – 19.68)	0.256**
NE/ELA2 (ng/mL)	16.29 (13.03 – 16.70)	15.53 (10.80 – 17.32)	0.552**

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom.

Matriksmetaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriksmetaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2)

4.9.3. Upoređivanje grupe pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova na osnovu koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA.

Koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA nisu se značajnije razlikovale između pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i onih koji nisu uzimali nijedan od navedenih lekova (Tabela 41).

Tabela 41. Koncentracije proteolitičkih enzima u zidu AAA kod pacijenta koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i onih koji nisu uzimali nijedan od navedenih lekova

Proteolitički enzimi	Bez statina i bez antiagregacione terapije (N=20)	Statini i antiagregaciona terapija (N=12)	P
MMP-9 (pg/mL)	1751 ± 411	1711 ± 471	0.899*
MMP-2 (pg/mL)	29.59 (27.58-32.52)	31.17 (29.17-34.78)	0.182**
NE/ELA2 (ng/mL)	12.13 (9.48 – 13.26)	13.30 (6.42 – 16.21)	0.552**

*Poređenje izvršeno Studentovim *t*-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney *U* testom.

Matriks Metaloproteinaza 2 (MMP-2); Matriks Metaloproteinaza 9 (MMP-9); Neutrofilna elastaza (NE/ELA2)

4.9.4. Upoređivanje grupe pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova na osnovu koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA.

Rezultati poređenja na osnovu koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA u grupi pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupi u kojoj pacijenti nisu uzimali nijedan od navedenih lekova prikazani su u tabeli 42. Koncentracija ELN-a u zidu AAA bila je statistički značajno veća kod pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacione lekove.

Tabela 42. Koncentracije proteina ekstracelularnog matriksa u zidu AAA kod pacijenta koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i onih koji nisu uzimali nijedan od navedenih lekova

Proteini ekstracelularnog matriksa	Bez statina i bez antiagregacione terapije (N=20)	Statini i antiagregaciona terapija (N=12)	P
COL3 (ng/mL)	13.15 ± 3.83	13.43 ± 7.52	0.887*
ELN (ng/mL)	0.78 (0.49-1.05)	1.21 (0.77-3.02)	0.044**
PG (ng/mL)	5.58 (1.79-7.65)	5.64 (1.98 – 10.62)	0.803**

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Kolagen tip 3 (COL3), Elastin (ELN), Proteoglikan (PG)

4.9.5. Upoređivanje grupe pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i grupe koja nije uzimala nijedan od navedenih lekova na osnovu parametara oksidativnog stresa u zidu AAA.

Aktivnost katalaze i koncentracija MDA se nisu značajnije razlikovale u navedenim grupama pacijenata (Tabela 43).

Tabela 43. Parametari oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu AAA kod pacijenta koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacionu terapiju i onih koji nisu uzimali nijedan od navedenih lekova

Parametri oksidativnog stresa	Bez statina i bez antiagregacione terapije (N=20)	Statini i antiagregaciona terapija (N=12)	P
MDA (nmol/g)	16.16 (11.47-27.31)	13.59 (11.28-80.58)	0.985**
Katalaza (U/g)	3.99 ± 2.03	4.02 ± 1.83	0.959*

*Poređenje izvršeno Studentovim t-testom; ** Poređenje izvršeno Mann – Whitney U testom. Malondialdehid (MDA)

5. Diskusija

Polazeći od hipoteze da ILT visokog intenziteta signala ima veću biološku aktivnost postavljeni su ciljevi istraživanja. U istraživanje je uključeno 50 pacijenata sa asimptomatskom infrarenalnom AAA čije su karakteristike pre operacije ispitivane MR pregledom, a tokom operacije uziman je segment prednjeg zida AAA sa pripadajućim delom ILT-a radi biohemijske analize. Određivana je koncentracije proteolitičkih enzima u oba uzorka, kao i komponente ekstracelularnog matriksa i parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u aortnom zidu. Demografske i kliničke karakteristike pacijenata su bile uobičajene za pacijente sa aneurizmatском bolešću abdominalne aorte (49). Većina ispitanika su bili muškarci (90%) u sedmoj deceniji života sa značajnim procentom aktivnih pušača (38%). Kao najčešće udružene bolesti zabeležene su arterijska hipertenzija (88%), hiperlipidemija (68%) i hronična obstruktivna bolest pluća (44%).

Ova studija je imala za cilj da pokaže moguću ulogu uobičajenog kontrastnog MR pregleda u proceni biološke aktivnosti ILT-a i njegovog uticaja na zid AAA ispitivanjem korelacija MR karakteristika ILT-a sa parametrima njegove proteolitičke aktivnosti i sadržajem osnovnih komponenti ekstracelularnog matriksa. Biološka aktivnost ILT-a je u velikoj meri uslovljena lokalnim inflamatornim odgovorom. Proinflamatorni citokini, reaktivne vrste kiseonika i proteaze oslobođene od strane inflamatornih ćelija koje se nalaze u sastavu ILT-a imaju značajnu ulogu u razvoju AAA (136). Prethodna istraživanja su pokazala da visoke koncentracije NE/ELA i MMP-9 produkovane od strane neutrofila u trombu mogu doprineti razgradnji ekstracelularnog matriksa u zidu AAA (124). Uloga MMP-2 u formiranju i progresiji AAA, kao i prisustvo ovog enzima u ILT-u je dobro poznato (137, 138). Za razliku od MMP-9 i NE/ELA, koje dominantno stvaraju leukociti, glavni izvor MMP-2 predstavljaju glatke mišićne ćelije iz aortnog zida (22). Značajno veća koncentracija MMP-2 enzima u zidu AAA u poređenju sa koncentracijom u ILT-u potvrđena je i ovim istraživanjem. Ovakav nalaz ukazuje da MMP-2 nastala u samom trombu ima zanemarljivu ulogu u razgradnji zida AAA i može se smatrati irelevantnom u proteolitičkoj aktivnosti ILT-a. Imajući u vidu navedeno, u ovoj studiji su koncentracije MMP-9 i NE/ELA uzete kao marker biološke aktivnosti ILT-a.

Kao što je predloženo i od strane drugih autora (130, 131), klasifikacija ILT-ova je vršena na osnovu r-IS-ILT-a koji predstavlja odnos između intenziteta signala ILT-a i levog velikog slabinskog mišića dobijenih na T1W sekvenci MR pregleda. Potencijalna uloga r-IS-ILT-a u predikciji biološke aktivnosti tromba sa mogućim uticajem na aortni zid analizirana je na osnovu korelacije sa koncentracijom proteolitičkih enzima u ILT-u i sadržajem ekstracelularnog matriksa zida. Takođe, ispitanici su podeljeni u dve grupe u odnosu na vrednost medijane r-IS-ILT-a koje su potom upoređivane prema biohemijskim karakteristikama aortnog zida i tromba.

Shodno činjenici da je viši intenzitet signala na T1W sekvenci posledica prisustva methemoglobina, *Nguyen* i sar. (131) su pokazali da sveži trombi sa većom količinom krvnih ćelija imaju veći intenzitet signala. Ista studija apostrofira brži porast dijametra AAA u grupi sa višim intenzitetom signala ILT-a što može biti posledica njegove veće biohemijske aktivnosti. Korišćenjem istog načina diferenciranja ILT-ova, ovim istraživanjem je utvrđeno da ILT sa višim r-IS-ILT-om na T1W sekvenci MR pregleda korelira sa većom koncentracijom NE/ELA u trombu i manjim sadržajem ELN u zidu AAA. Takođe, nađena je veća koncentracija ovog enzima u ILT-u i manja koncentracija ELN u zidu u grupi pacijenata sa visokim r-IS-ILT-om. Pored toga, prikazani rezultati pokazuju značajnu negativnu korelaciju između koncentracije NE/ELA i MMP-9 u trombu i sadržaja ELN-a u zidu AAA. Iako i MMP-9 dominantno proizvode neutrofili, značajna korelacija između koncentracije ovog enzima u ILT-u i zidu AAA sa vrednostima r-IS-ILT-a nije nađena. Uprkos značajnoj korelaciji između navedenih parametara, vrednosti Spirmanovog koeficijenta korelacije između 0.300 i 0.449 ukazuju na povezanost srednje snage te bi buduća istraživanja sa većim brojem ispitanika mogla pokazati snažniju korelaciju. Takođe, primenom MR pregleda koji omogućava preciznije određivanje količine ILT-a i njegovog intenziteta signala može se postići bolja diferencijacija tromba što bi moglo dovesti do veće snage korelacije. U jednoj od nedavno objavljenih studija *Zhu* i sar. su istakli da specijalni “3D black blood” MR pregled uz korišćenje “DANTE-SPACE” sekvence ima veću izotropnu rezoluciju i može obezbediti preciznije određivanje intenziteta signala ILT-a (139). Pored ostalog, u budućim prospektivnim studijama trebalo bi definisati opseg vrednosti r-IS-ILT-a koji bi ukazivao na visoku proteolitičku aktivnost ILT-a povezanu sa bržim porastom AAA.

Detaljnija evaluacija biološke aktivnosti tromba mogla bi se očekivati od specifičnijih dijagnostičkih metoda koje preciznije prikazuju histološku strukturu tromba. Do sada su jedino *Nichmi* i sar. (132) određivali intenzitet neutrofilne infiltracije ILT-a upotrebom MR pregleda uz korišćenje specifičnog SPIO kontrasta koji fagocitovan od strane neutrofila omogućava bolju procenu histološke građe. Pokazano je da preuzimanje SPIO kontrasta u ILT-u korelira sa zastupljenošću leukocita odgovornih za produkciju proteolitičkih enzima. Ovi autori su takođe našli pozitivnu korelaciju sa nivoom MMP-9 u trombu. Infiltracija inflamatornim ćelijama se može proceniti i PET-om na osnovu stepena preuzimanja ¹⁸F-FDG-a (140). Međutim, zbog izlaganja pacijenata jonizujućem zračenju upotreba ove metode ne bi bila adekvatna za rutinsku evaluaciju rizika od rupture u slučaju malih asimptomatskih AAA. Pored navedenih imidžing tehnika, pokazano je da se neutrofilna aktivnost u trombu može proceniti određivanjem nivoa NGAL u plazmi koji pozitivno korelira sa stepenom proteolitičke aktivnosti tromba i porastom AAA (141, 142).

Ovim istraživanjem nije pokazana značajna povezanost između relativnog intenziteta signala i koncentracije MMP-9 u ILT-u niti sa sadržajem COL3 i PG u zidu AAA. Ovakav rezultat može biti

posledica inaktivne forme MMP-9 jer su u studiji određivane koncentracije enzima, a ne njihova aktivnost.

Količina ILT-a u aneurizmatškoj kesi je procenjivana na osnovu r-P-ILT-a na aksijalnom preseku u nivou maksimalnog dijametra AAA. Pokazana je značajna povezanost između maksimalnog dijametra AAA i količine ILT-a. Sličnu pozitivnu korelaciju sa debljinom tromba na prednjem zidu pokazali su *Koole* i sar. (143). Tunika adventicija i spoljašnji sloj tunike medije se ishranjuju preko nutritivnih krvnih sudova (*vasa vasorum*), dok se intima i unutrašnji sloj tunike medije snabdevaju kiseonikom i ostalim hranljivim materijama iz lumena aort. Zbog toga se može pretpostaviti da depozicija i količina ILT-a utiču na ishranu unutrašnjeg sloja zida AAA doprinoseći njegovoj razgradnji i slabljenju. Končar (97) je u svom istraživanju pokazao da apsolutna, a posebno relativna zapremina ILT-a predstavlja značajan parameter u proceni rizika od rupture. Međutim, autor nije našao značajnu korelaciju između količine ILT-a u aneurizmatškoj kesi i koncentracije ispitivanih proteolitičkih enzima u ILT-u i aortnom zidu. Takođe, r-P-ILT nije značajno menjala nivo komponenti ekstracelularnog matriksa u aortnom zidu. U literaturi se mogu naći različiti podaci o uticaju debljine tromba na nivo proteolitičke aktivnosti u zidu AAA. *Wiernicki* i sar. (144) su pokazali veću aktivnost proteolitičkih enzima u zidu AAA koji je prekriven tanjim trombom. Suprotno njihovoj studiji, *Kahn* i sar. (145) su našli pozitivnu korelaciju između debljine ILT-a i aktivnosti MMP-2 i 9 u pripadajućem aortnom zidu, dok je u studiji *Koolea* i sar. (143) pozitivna korelacija primećena samo sa nivoom MMP-2 aktivnosti. Značajna korelacija sa aktivnošću MMP-9 u pomenutoj studiji nije nađena. Pored toga, većina dosadašnjih istraživanja ukazuje na to da je zid AAA prekriven trombom tanji i sa oskudnijim sadržajem elastičnih vlakana (116, 127, 143).

Prethodne studije su ukazale da proinflamatorni citokini (TNF- α , IL-6, IL-1 β , and IFN- γ) imaju važnu ulogu u razvoju aneurizmatške bolesti abdominalne aorte jer stimulišu aktivnost neutrofila i makrofaga (146). Dodatno, proteolitička aktivnost ILT-a u velikoj meri zavisi od modulatora aktivnosti MMP-a kao što su TIMP i NGAL (26, 141, 147). NGAL produkovan od strane neutrofila potencira proteolitičku aktivnost ILT-a nezavisno ili vezivanjem za MMP-9. Osim toga, aktivnost NGAL-a može biti indukovana različitim citokinima i faktorima rasta koji uključuju IL-1 α i β , IL-2, IL-17, insulin sličan factor rasta tip 1, TGF- α i TNF- α (147). U fokusu ovog istraživanja bilo je ispitivanje potencijalne uloge MR pregleda u određivanju koncentracije najbitnijih proteolitičkih enzima ILT-a (NE/ELA i MMP-9) i komponenti ekstracelularnog matriksa aortnog zida (ELN, COL3 i PG). Međutim, u cilju detaljnije evaluacije proteolitičke uloge ILT-a u patogenezi AAA, u budućim studijama dodatno treba ispitati kakav doprinos proinflamatorni citokini i modulatori aktivnosti MMP-ova imaju u biološkoj aktivnosti ILT-a.

Ovim istraživanjem potvrđena je veća koncentraciju MMP-9 i NE/ELA u ILT-u u poređenju sa susednim aortnim zidom, što je pokazano i ranijim istraživanjima (148). Ovakav nalaz sugerise

da navedeni proteolitički enzimi usled veće koncentracije u trombu mogu konveksno difundovati u okolni zid AAA doprinoseći razgradnji ekstracelularnog matriksa. Takođe je poznato da aktivnost MMP-9 u zidu AAA značajno prevazilazi njenu lokalnu ekspresiju što upućuje na to da deo MMP-9 u zid AAA dolazi iz okolnog ILT-a (149).

NE/ELA je od posebnog značaja u proteolitičkoj aktivnosti ILT-a jer direktno aktivira proenzim MMP-9, a pored toga razgrađuje i njegov glavni inhibitor TIMP-1 (150). Dodatno proenzimi MMP-a postaju aktivirani usled fibrinolitičke aktivnosti za koju se može pretpostaviti da je izraženija u svežim trombovima prezentovanim višim intenzitetom signala (151). Ovakva aktivacija proenzima je verovatno najizraženija u sloju koji je postavljen uz sam zid aneurizme, a karakteriše ga najveća aktivnost tPA (126). Ispitivanje efekata i uticaj fibrinolitičke aktivnosti na sastav zida AAA i njenu eventualnu progresiju potrebno je sprovesti u budućim istraživanjima.

Dobro je poznato da aktivnost proteolitičkih enzima nije ujednačena u svim slojevima ILT-a (120). U ovoj studiji je koncentracija proteolitičkih enzima određivana u homogenatu pune debljine tromba, a ne izolovano u abluminalnom sloju gde se očekuje da je proteolitička aktivnost najveća. Puna debljina tromba je uključena u ispitivanje iz nekoliko razloga. Naime, poznato je da nisu svi ILT-ovi strukturisani iz jasno definisanih slojeva (152). Višeslojna struktura je karakteristika solidnih dobro organizovanih ILT-ova, dok neorganizovani u potpunosti imaju luminalni tip građe (112). Pored toga, MR protokolom koji je definisan za ovo istraživanje nije bilo moguće razlikovati specifične slojeve ILT-a na T1W sekvencama. Zbog ovih razloga, dodatno usavršavanja MR tehnika treba da omogući detaljniju evaluaciju strukture tromba što bi omogućilo precizniju procenu proteolitičke aktivnosti u pojedinim slojevima organizovanih višeslojnih ILT-ova.

Uticaj oksidativnog stresa kao važnog patofiziološkog mehanizma u razgradnji zida AAA ispitivan je i od strane autora. Oksidativni stres u aortnom zidu nastaje usled hiperprodukcije slobodnih radikala, za koju su najodgovorniji NADPH oksidaza i iNOS, uprkos suprostavljanju antioksidativnih enzima kao što su katalaza, superoksid dizmutaza, glutation peroksidaza, glutation reduktaza i tioredoksin čija je aktivnost u oksidativnom stresu takođe povišena (37, 38, 153). Nivo oksidativnog stresa je značajno viši u tkivu AAA u poređenju sa zdravim delom iste aorte (36). Poznato je da slobodni radikali, produkovani u aortnom zidu tokom inflamatornog odgovora, direktno oštećuju glatke mišićne ćelije i razgrađuju ekstracelularni matriks (154). Pored toga, slobodni radikali reaguju sa tiolnom grupom latentnih proenzima MMP-ova i njihovom aktivacijom doprinose u razgradnji aortnog zida (155). Uloga oksidativnog stresa je od značaja i u ranoj fazi aneurizmske bolesti što je pokazano i u eksperimentalnom modelu porastom ekspresije superoksid dizmutaze i povećanjem aktivnosti MMP-9 tokom samog formiranja AAA (156). Autor u ovom istraživanju nije utvrdio povezanost nivoa oksidativnog stresa (procenjen na osnovu koncentracije MDA) i antioksidativne zaštite (procenjena na osnovu aktivnosti katalaze) u zidu AAA sa količinom

tromba u njenoj kesi. Ranije studije (113, 157) su pokazale da je parcijalni pritisak kiseonika značajno viši u zidu aorte koji je prekriven tanjim trombom, ali i da uvećanje debljine tromba iznad 5mm više ne doprinosi smanjenju parcijalnog pritiska kiseonika što je moguće obrazloženje i za rezultate ove studije. *Koole* i sar. (143) takođe nisu našli povezanost debljine tromba sa markerima oksidacije lipida, što je u saglasnosti sa rezultatima ovog istraživanja. Drugačije rezultate su našli *Wiernicki* i sar. (153). Analizirajući različite delove zida AAA koje cirkumferentno prekriva ILT. Ovi autori su pokazali da je oksidativni stres veći u onom delu zida koji je prekriven ILT-om debljine manje od 1cm.

U ovom istraživanju nije nađeno da su koncentracije ispitivanih proteolitičkih enzima u ILT-u povezane sa stepenom oksidativnog stresa, tj. sa koncentracijom MDA i aktivnošću katalaze u aortnom zidu. Sa druge strane, autor je našao veću koncentraciju proteolitičkih enzima u zidu AAA u slučaju povišenog oksidativnog stresa. Međutim, nije pokazano da je sadržaj elastina u aortnom zidu u direktnoj korelaciji sa ispitivanim parametrima oksidativnog stresa. O manjem sadržaju elastina se jedino indirektno može pretpostaviti na osnovu nalaza koji ukazuje na povezanost aktivnost katalaze i koncentracije MDA sa većim sadržajem COL3 i PG u aortnom zidu. Slično ovom nalazu, *Wiernicki* i sar. su histološkom analizom aortnog zida pokazali veći sadržaj kolagena i zanemarljivu količinu elastičnih vlakana u delu zida sa izraženijim oksidativnim stresom (153). Iako je uloga katalaze u atenuaciji aktivnosti MMP-ova i inhibiciji razvoja AAA pokazana u prethodnim studijama na animalnim modelima (39, 158), detaljniju evaluaciju oksidativnog stresa u patogenezi i progresiji AAA treba sprovesti u budućim studijama koje će uključiti veći broj prooksidativnih i antioksidativnih parametara i ispitati njihov uticaj na proteolitičku aktivnost i građu aortnog zida.

Pored proteolitičke aktivnosti, od velikog kliničkog značaja su i mehaničke osobine ILT-a koje takođe treba uzeti u obzir prilikom procene individualnog rizika od rupture AAA (159, 160). Od posebnog značaja je procena kompresibilnosti ILT-a jer trombovi veće kompresibilnosti u biomehničkom pogledu mogu imati ulogu amortizera, te smanjujući napon u zidu mogu prevenirati nastanak rupture (161). Dodatno se uticaj tromba na napon zida AAA ogleda promenama u obnavljanju i remodelovanju ekstracelularnog matriksa što je, pored ostalog, direktno uslovljeno naponom koji zid aorte trpi (162). Dinamski MR pregled pod kontrolom EKG-a (*ECG-gated*) pruža mogućnost procene kompresibilnosti tromba i detaljnije ispitivanje njegovog uticaja na zid AAA (163). Zbog svega navedenog, dalja istraživanja u ovoj oblasti treba da uključe istovremenu evaluaciju biomehničkih i biohemijskih osobina ILT-a i njihovo sinergističko delovanje na zid AAA što bi omogućilo bolju predikciju porasta AAA i rizika od rupture.

Mogući uticaj statina i antiagregacionih lekova na biološke karakteristike ILT-a i zida AAA ispitivane su i od strane autora upoređivanjem dve grupe pacijenata podeljenih na osnovu uzimanja navedene terapije. Pacijenti su svrstavani u grupe ako je terapija u kontinuitetu trajala najmanje 6

meseci pre operacije, odnosno ako u istom intervalu lekovi nisu uzimani, što se smatralo dovoljnim periodom da statinska i antiagregaciona terapija ispolje efekte na ILT i zid AAA. Statine je koristilo 36% ispitanika, dok je antiagregacionu terapiju uzimalo njih 48%.

Statini su dobro poznati hipolipemici jer inhibicijom kontrolnog enzima sinteze holesterola HMG-CoA (3-hidroksi-3-metil-glutaril-koenzim A) reduktaze smanjuju biosintezu endogenog holesterola, a povećanjem aktivnosti receptora za LDL (low-density lipoprotein) holesterol na hepatocitima povećavaju klirens holesterola iz krvi. Nezavisno od dejstva na metabolizam holesterola, terapija statinima može biti od koristi u lečenju i prevenciji mnogih vaskularnih oboljenja zbog svojih pleiotropnih efekata (62, 164-167). U nedavno publikovanom sistematskom pregledu i meta-analizi pokazano je da uzimanje statina može smanjiti progresiju AAA, rizik od rupture i perioperativni mortalitet kod elektivno operisanih pacijenata (64). Međutim, efekti statina na patofiziološke mehanizme u razvoju aneurizmske bolesti do sada nisu dovoljno razjašnjeni. U mnogim studijama je utvrđeno da ova grupa lekova redukuje razgradnju kolagena jer smanjuje inflamatorni odgovor (168, 169) i stabilizuje ravnotežu MMP-ova i njihovih inhibitora (170-172). Stoga je u ovom istraživanju analiziran uticaj statina na proteolitičku aktivnost u ILT-u i zidu AAA sa mogućim efektom na strukturu aortnog zida i MR prezentaciju ILT-a.

Koncentracije proteolitičkih enzima u ILT-u i aortnom zidu, kao i sadržaj osnovnih komponenti ekstracelularnog matriksa aortnog zida nije se značajnije razlikovao između ispitivanih grupa. Rezultati ove studije pokazuju da je r-IS-ILT manji u grupi pacijenata koji su uzimali statine.

Kako su veće vrednosti r-IS-ILT-a povezane sa svežim trombom bogatijeg celularnog sadržaja (131), niže vrednosti ovog parametra u statinskoj grupi mogu biti u vezi sa stabilizacijom ILT-a usled antiinflamatornog i antitrombogenog dejstva statina. Antiinflamatorni efekti statina su dokazani u mnogim studijama (168, 169, 173), ali njihov mehanizam nije u potpunosti razjašnjen. Međutim, postoje dokazi da statini mogu uticati na inhibiciju adhezionih molekula, kao što je intercelularni adhezioni molekul 1 (ICAM-1) koji ima važnu ulogu u vezivanju inflamatornih ćelija (174). Pored toga, smanjenjem endotelne produkcije azot-monoksida statini umanjuju ekspresiju P-selektina i adheziju leukocita (175, 176). Smanjenje infiltracije inflamatornim ćelijama i ekspresije MMP-ova u zidu AAA Kajimoto i sar. (177) su objasnili efektom atorvastatina na redukciju ekspresije c-Jun N-terminal kinaze (JNK). Pored redukcije adhezije inflamatornih ćelija, statini svoja antiinflamatorna dejstva ispoljavaju i blokadom ekspresije proinflamatornih gena za IL-1, iNOS i TNF- α (178).

Iako se koncentracija proteolitičkih enzima (MMP-2, MMP-9 i NE/ELA) u ILT-u i aortnom zidu nije razlikovala u terapijskoj i kontrolnoj grupi pacijenata, postoje studije koje pokazuju da statini indirektno dovode do manje ekspresije MMP-ova u zidu AAA usled antiinflamatornog dejstva (172, 179). U manjoj randomizovanoj studiji *Evans* i sar. (170) su utvrdili značajno manju aktivnost

MMP-9 u zidu AAA nakon terapije simvastatinom u poređenju sa placeboom. Efekti simvastatina u redukovanju nivoa MMP-2 i MMP-9 dokazani su i u animalnom modelu AAA (180). Uloga statina u inhibiciji stvaranja hemokina i MMP-9 u zidu AAA kod ljudi objašnjena je blokadom Rac1/NF- κ B puta (179). Iako većina studija potvrđuju značaj statina u smanjivanju nivoa MMP-9 u aortnom zidu, efekat upotrebe statina u regulisanju nivoa drugih proteaza (MMP-1, 2, 8 i 13) je različit (181-183). U navedenim studijama nije nađeno da terapija statinima ima uticaj na nivo inhibitora MMP-ova (TIMP 1,2,3 i 4). Za razliku od ovog istraživanja u kome je autor merio koncentraciju proteolitičkih enzima u uzorcima ILT-a i aortnog zida, u većini drugih studija koje prikazuju pozitivne efekte statina nivo proteolitičkih enzima je određivan na osnovu aktivnosti ili ekspresije.

Pored navedenih pleiotropnih efekata statina, i samo smanjenje nivoa holesterola deluje antiinflamatorno. U vezi sa tim, Dawson i sar. (184) su pokazali da terapija simvastatinom u kombinaciji sa ezetimibom značajnije redukuje nivo MMP-9 i IL-6 u zidu AAA u poređenju sa monoterapijom simvastatinom.

Autor nije našao značajne razlike u koncentraciji elastina, kolagena i proteoglikana u zidu AAA između upoređivanih grupa pacijenata. Shodno tome, rezultati istraživanja ne ukazuju na moguću ulogu statina u supresiji proteolitičkih procesa u aortnom zidu sa efektima na sadržaj ekstracelularnog matriksa. Takođe, histološkom analizom preparata zida AAA *Kalyanasundaram* i sar. (178) nisu pokazali da simvastatin utiče na očuvanje elastina i redukciju infiltracije inflamatornim ćelijama.

Zbog uloge oksidativnog stresa u patogenezi AAA, u ovom istraživanju su ispitivani efekti terapije statinima u regulisanju oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite. Nije pokazan uticaj statina na nivo ispitivanih parametara oksidativnog stresa u zidu AAA, kao ni na količinu ILT-a u aneurizmatskoj kesi.

Međutim, rezultati prethodnih studija ukazuju na to da statini mogu smanjiti oksidativni stres u zidu AAA različitim mehanizmima. Samo smanjenje nivoa lipida u krvi i njihove peroksidacije umanjuje oksidativni stres u krvnim sudovima (185). Postoje i drugi antioksidativni efekti statina koji nisu zavisni od holesterola. Usled Rac1 posredovane inhibicije aktivnosti NADPH oksidaze i smanjenja ekspresije angiotenzin-1 receptora, statini redukuju angiotenzinom II indukovanu produkciju slobodnih radikala u glatkim mišićnim ćelijama krvnih sudova (186). Pored toga, pokazano je da upotreba simvastatina smanjuje produkciju slobodnih radikala u zidu AAA supresijom aktivnosti NF- κ B. (187).

Od ranije je poznato da je nivo MDA povišen u serumu pacijenata sa AAA, kao i tokom operacije AAA (40, 41). Međutim, smanjenje koncentracije MDA u zidu AAA usled eventualnog efekta statina na supresiju lipidne peroksidacije autor u svom istraživanju nije našao. Suprotno rezultatima ovog istraživanja, druge studije su prikazale da statini značajno povećavaju aktivnost

katalaze u zidu AAA (186, 187). Takođe je utvrđeno da statini svoje dejstvo na aktivnost katalaze ostvaruju preko Akt signalnog puta (188). Imajući u vidu da su NADPH oksidaza i iNOS glavni izvor superoksidnog anjona u zidu AAA, ovi enzimi se mogu smatrati značajnijim i senzitivnijim markerima oksidativnog stresa nego što su to MDA i katalaze koje su ispitivane u ovom istraživanju. Mada je pokazano da atorvastatin smanjuje ekspresiju NADPH oksidaze kod pacova (186), buduće studije treba da ispituju uticaj statina na nivo NADPH oksidaze i iNOS-a u zidu AAA kod ljudi. Dosadašnja istraživanja nisu dovoljno razjasnila ulogu statina u kontroli progresije AAA. Međutim, aktuelni vodiči navode da ova grupa lekova može biti od koristi kod pacijenata sa AAA (4, 189).

Agregacija i aktivacija trombocita u luminalnom sloju ILT-a ima ključnu ulogu u formiranju, ekspanziji i modulaciji proteolitičke aktivnosti ILT-a (190). Pretpostavljeno je da inhibicijom funkcije trombocita antiagregaciona terapija može umanjiti ulogu ILT-a u eventualnoj razgradnji aortnog zida (191). U ovom istraživanju autor nije našao razlike u količini ILT-a i njegove proteolitičke aktivnosti kod pacijenata koji su bili na antiagregacionoj terapiji ili bez nje. Takođe, razlike u koncentraciji proteolitičkih enzima i sadržaja ekstracelularnog matriksa aortnog zida nisu uočene između ispitivanih grupa. Evaluacija uloge antiagregacione terapije u patogenezi AAA u ovom istraživanju ima nekoliko ograničenja. Naime, terapijska grupa je bila heterogena u pogledu vrste antiagregacionih lekova i njihovog mehanizma dejstva. Od antiagregacionih lekova pacijenti su uzimali inhibitore ciklooksigenaze-1 (acetilsalicilnu kiselinu u dnevnoj dozi 75-100mg), antagoniste P2Y₁₂ receptora (klopidogrel u dnevnoj dozi od 75mg, tikagrelor 90mg dva puta na dan) ili dvojni antiagregacionu terapiju. Pored toga, antiagregaciona terapija je u najvećem broju slučajeva prekidana 5-7 dana pre prijema u bolnicu te rutinskim testovima za ispitivanje funkcije trombocita nije bilo moguće proceniti da li je efekat lekova u inhibiciji trombocita bio adekvatan. Owens i sar. (192) su na animalnom modelu pokazali da terapija acetilsalicilnom kiselinom i klopidogrelom značajno smanjuje rizik od rupture AAA. Takođe je utvrđeno da ova terapija redukuje akumulaciju trombocita i makrofaga uz smanjenje aktivnosti MMP-2 i 9. I u drugim eksperimentalnim studijama je pokazano da antiagregaciona terapija inhibitorima GPIIb/IIIa i P2Y₁₂ receptora redukuje progresiju AAA smanjujući leukocitnu infiltraciju tromba uz povećanje broja glatkih mišićnih ćelija i manju razgradnje elastičnih vlakana (190, 193). Efekat antiagregacione terapije na progresiju AAA nije potvrđen u svim kliničkim studijama (194). U već pomenutoj studiji Owens i sar. (192) su retrospektivnom analizom 1578 pacijenata sa aneurizmom aorte utvrdili da upotreba acetilsalicilne kiseline i antagonista P2Y₁₂ receptora redukuje rizik od disekcije i rupture. Lindholt i sar. (195) su pokazali da male doze aspirina smanjuju stopu rasta AAA čiji je dijametar između 4 i 4.9cm. Međutim, u drugim studijama korist od antiagregacione terapije u progresiji AAA nije potvrđen (83, 196).

Mogući uticaj ispitivanih lekova na sadržaj ekstracelularnog matriksa AAA autor je jedino pokazao u slučaju istovremene upotrebe statina i antiagregacione terapije. Iako je u ovoj grupi pokazana veća koncentraciju ELN-a u zidu AAA nego u grupi pacijenata koji navedene lekove nisu uzimali, eventualno sinergističko delovanje statina i antiagregacione terapije u prevenciji progresije AAA treba detaljnije ispitati u prospektivnim i randomizovanim studijama.

6. Zaključci

- 1) Rezultati ovog istraživanja pokazuju moguću ulogu MR pregleda u proceni biološke aktivnosti ILT-a i sastava zida AAA jer r-IS-ILT-a veći od 0.925 na T1W sekvenci upućuje na veću koncentraciju NE/ELA u ILT-u i manji sadržaj ELN u aortnom zidu.
- 2) Veća biološka aktivnost ILT-a procenjena na osnovu koncentracije NE/ELA i MMP-9 povezana je sa manjom koncentracijom ELN-a u zidu AAA, te se može pretpostaviti da ove AAA imaju veću sklonost ka širenju i pucanju.
- 3) Koncentracija NE/ELA i MMP-9 značajno je veća u ILT-u nego u okolnom aortnom zidu, što može ukazati da stvaranje ovih enzima od strane ILT-a može doprineti proteolitičkoj razgradnji ekstracelularnog matriksa.
- 4) Količina ILT-a u aneurizmatškoj kesi određena na osnovu r-P-ILT-a ne utiče na nivo proteolitičke aktivnosti i sadržaj ekstracelularnog matriksa aortnog zida.
- 5) Koncentracija MDA i aktivnost katalaze, kao markeri oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u zidu AAA, ne zavise od količine i biološke aktivnosti ILT-a.
- 6) Veći nivo oksidativnog stresa u zidu AAA prati veća koncentracija proteolitičkih enzima, dok njegovu ulogu na sadržaj ELN treba detaljnije ispitati u budućim studijama.
- 7) Na osnovu rezultata ovog istraživanja ne može se reći da antiagregaciona terapija i statini utiču na biološku aktivnost tromba i nivo proteolitičke aktivnosti u zidu AAA. Zbog veće koncentracije ELN-a u aortnom zidu kod pacijenata koji su istovremeno uzimali statine i antiagregacione lekove, ova terapija se može smatrati protektivnom u pogledu dalje progresije aneurizmatške bolesti i njenih komplikacija.

7. Literatura

1. Johnston KW, Rutherford RB, Tilson MD, Shah DM, Hollier L, Stanley JC. Suggested standards for reporting on arterial aneurysms. Subcommittee on Reporting Standards for Arterial Aneurysms, Ad Hoc Committee on Reporting Standards, Society for Vascular Surgery and North American Chapter, International Society for Cardiovascular Surgery. *Journal of vascular surgery*. 1991;13(3):452-8.
2. Aggarwal S, Qamar A, Sharma V, Sharma A. Abdominal aortic aneurysm: A comprehensive review. *Experimental and clinical cardiology*. 2011;16(1):11-5.
3. McGregor JC, Pollock JG, Anton HC. The value of ultrasonography in the diagnosis of abdominal aortic aneurysm. *Scott Med J*. 1975;20(3):133-7.
4. Wanhainen A, Verzini F, Van Herzelee I, Allaire E, Bown M, Cohnert T, et al. Editor's Choice - European Society for Vascular Surgery (ESVS) 2019 Clinical Practice Guidelines on the Management of Abdominal Aorto-iliac Artery Aneurysms. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2019;57(1):8-93.
5. Li K, Zhang K, Li T, Zhai S. Primary results of abdominal aortic aneurysm screening in the at-risk residents in middle China. *BMC Cardiovasc Disord*. 2018;18(1):60.
6. Sweeting MJ, Masconi KL, Jones E, Ulug P, Glover MJ, Michaels JA, et al. Analysis of clinical benefit, harms, and cost-effectiveness of screening women for abdominal aortic aneurysm. *Lancet (London, England)*. 2018;392(10146):487-95.
7. Ramella M, Bertozzi G, Fusaro L, Talmon M, Manfredi M, Catoria MC, et al. Effect of Cyclic Stretch on Vascular Endothelial Cells and Abdominal Aortic Aneurysm (AAA): Role in the Inflammatory Response. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(2).
8. Ailawadi G, Knipp BS, Lu G, Roelofs KJ, Ford JW, Hannawa KK, et al. A nonintrinsic regional basis for increased infrarenal aortic MMP-9 expression and activity. *Journal of vascular surgery*. 2003;37(5):1059-66.
9. Hoshina K, Sho E, Sho M, Nakahashi TK, Dalman RL. Wall shear stress and strain modulate experimental aneurysm cellularity. *Journal of vascular surgery*. 2003;37(5):1067-74.
10. Greve JM, Les AS, Tang BT, Draney Blomme MT, Wilson NM, Dalman RL, et al. Allometric scaling of wall shear stress from mice to humans: quantification using cine phase-contrast MRI and computational fluid dynamics. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2006;291(4):H1700-8.
11. Tilson MD. Aortic aneurysms and atherosclerosis. *Circulation*. 1992;85(1):378-9.

12. Xu C, Zarins CK, Glagov S. Aneurysmal and occlusive atherosclerosis of the human abdominal aorta. *Journal of vascular surgery*. 2001;33(1):91-6.
13. Rasmussen TE, Hallett JW, Jr. Inflammatory aortic aneurysms. A clinical review with new perspectives in pathogenesis. *Annals of surgery*. 1997;225(2):155-64.
14. Paravastu SC, Murray D, Ghosh J, Serracino-Inglott F, Smyth JV, Walker MG. Inflammatory abdominal aortic aneurysms (IAAA): past and present. *Vascular and endovascular surgery*. 2009;43(4):360-3.
15. Sorelius K, di Summa PG. On the Diagnosis of Mycotic Aortic Aneurysms. *Clinical Medicine Insights Cardiology*. 2018;12:1179546818759678.
16. Takayama T, Miyata T, Nagawa H. True abdominal aortic aneurysm in Marfan syndrome. *Journal of vascular surgery*. 2009;49(5):1162-5.
17. Melrose J, Whitelock J, Xu Q, Ghosh P. Pathogenesis of abdominal aortic aneurysms: possible role of differential production of proteoglycans by smooth muscle cells. *Journal of vascular surgery*. 1998;28(4):676-86.
18. Dobrin PB, Mrkvicka R. Failure of elastin or collagen as possible critical connective tissue alterations underlying aneurysmal dilatation. *Cardiovascular surgery (London, England)*. 1994;2(4):484-8.
19. Wolinsky H, Glagov S. A lamellar unit of aortic medial structure and function in mammals. *Circulation research*. 1967;20(1):99-111.
20. Thompson MM, Jones L, Nasim A, Sayers RD, Bell PR. Angiogenesis in abdominal aortic aneurysms. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 1996;11(4):464-9.
21. Lopez-Candales A, Holmes DR, Liao S, Scott MJ, Wickline SA, Thompson RW. Decreased vascular smooth muscle cell density in medial degeneration of human abdominal aortic aneurysms. *The American journal of pathology*. 1997;150(3):993-1007.
22. Lesauskaite V, Epistolato MC, Castagnini M, Urbonavicius S, Tanganelli P. Expression of matrix metalloproteinases, their tissue inhibitors, and osteopontin in the wall of thoracic and abdominal aortas with dilatative pathology. *Human pathology*. 2006;37(8):1076-84.
23. Cvetković S. Uticaj pojedinih genetičkih, biohemijskih i citohistoloških faktora na mogućnost rupture zida aneurizme abdominalne aorte. Doktorska disertacija 2006, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.
24. Tamarina NA, McMillan WD, Shively VP, Pearce WH. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in aneurysms and normal aorta. *Surgery*. 1997;122(2):264-71; discussion 71-2.

25. Mao D, VanVickle SJ, Curci JA, Thompson RW. Expression of matrix metalloproteinases and TIMPs in human abdominal aortic aneurysms. *Annals of vascular surgery*. 1999;13(2):236-7.
26. Groeneveld ME, Struik JA, Musters RJP, Tangelder GJ, Koolwijk P, Niessen HW, et al. The Potential Role of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin in the Development of Abdominal Aortic Aneurysms. *Annals of vascular surgery*. 2019;57:210-9.
27. Cohen JR, Sarfati I, Ratner L, Tilson D. Alpha 1-antitrypsin phenotypes in patients with abdominal aortic aneurysms. *The Journal of surgical research*. 1990;49(4):319-21.
28. Elzouki AN, Ryden Ahlgren A, Lanne T, Sonesson B, Eriksson S. Is there a relationship between abdominal aortic aneurysms and alpha1-antitrypsin deficiency (PiZ)? *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 1999;17(2):149-54.
29. Altobelli E, Rapacchietta L, Profeta VF, Fagnano R. Risk Factors for Abdominal Aortic Aneurysm in Population-Based Studies: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International journal of environmental research and public health*. 2018;15(12).
30. Powell JT, Greenhalgh RM. Multifactorial inheritance of abdominal aortic aneurysm. *European journal of vascular surgery*. 1987;1(1):29-31.
31. Baird PA, Sadovnick AD, Yee IM, Cole CW, Cole L. Sibling risks of abdominal aortic aneurysm. *Lancet (London, England)*. 1995;346(8975):601-4.
32. Verloes A, Sakalihan N, Koulischer L, Limet R. Aneurysms of the abdominal aorta: familial and genetic aspects in three hundred thirteen pedigrees. *Journal of vascular surgery*. 1995;21(4):646-55.
33. Akai A, Watanabe Y, Hoshina K, Obitsu Y, Deguchi J, Sato O, et al. Family history of aortic aneurysm is an independent risk factor for more rapid growth of small abdominal aortic aneurysms in Japan. *Journal of vascular surgery*. 2015;61(2):287-90.
34. Bradley DT, Badger SA, McFarland M, Hughes AE. Abdominal Aortic Aneurysm Genetic Associations: Mostly False? A Systematic Review and Meta-analysis. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2016;51(1):64-75.
35. Ejiri J, Inoue N, Tsukube T, Munezane T, Hino Y, Kobayashi S, et al. Oxidative stress in the pathogenesis of thoracic aortic aneurysm: protective role of statin and angiotensin II type 1 receptor blocker. *Cardiovascular research*. 2003;59(4):988-96.
36. Miller FJ, Jr., Sharp WJ, Fang X, Oberley LW, Oberley TD, Weintraub NL. Oxidative stress in human abdominal aortic aneurysms: a potential mediator of aneurysmal remodeling. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2002;22(4):560-5.

37. Xiong W, Mactaggart J, Knispel R, Worth J, Zhu Z, Li Y, et al. Inhibition of reactive oxygen species attenuates aneurysm formation in a murine model. *Atherosclerosis*. 2009;202(1):128-34.
38. Thomas M, Gavrila D, McCormick ML, Miller FJ, Jr., Daugherty A, Cassis LA, et al. Deletion of p47phox attenuates angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2006;114(5):404-13.
39. Parastatidis I, Weiss D, Joseph G, Taylor WR. Overexpression of catalase in vascular smooth muscle cells prevents the formation of abdominal aortic aneurysms. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2013;33(10):2389-96.
40. Papalambros E, Sigala F, Georgopoulos S, Paraskevas KI, Andreadou I, Menenakos X, et al. Malondialdehyde as an indicator of oxidative stress during abdominal aortic aneurysm repair. *Angiology*. 2007;58(4):477-82.
41. Guzik B, Sagan A, Ludew D, Mrowiecki W, Chwała M, Bujak-Gizycka B, et al. Mechanisms of oxidative stress in human aortic aneurysms--association with clinical risk factors for atherosclerosis and disease severity. *International journal of cardiology*. 2013;168(3):2389-96.
42. Chang TW, Gracon AS, Murphy MP, Wilkes DS. Exploring autoimmunity in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2015;309(5):H719-27.
43. Wakita D, Kurashima Y, Crother TR, Noval Rivas M, Lee Y, Chen S, et al. Role of Interleukin-1 Signaling in a Mouse Model of Kawasaki Disease-Associated Abdominal Aortic Aneurysm. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2016;36(5):886-97.
44. Wang SK, Green LA, Gutwein AR, Drucker NA, Motaganahalli RL, Gupta AK, et al. Description of human AAA by cytokine and immune cell aberrations compared to risk-factor matched controls. *Surgery*. 2018;164(2):354-8.
45. Valentine RJ, Chung J. Primary vascular infection. *Current problems in surgery*. 2012;49(3):128-82.
46. Chaudhary N, Dyde R, Chetter IC, Johnson BF. The consequences of an abdominal aortic aneurysm infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2001;22(6):568-9.
47. Sorelius K, Mani K, Bjorck M, Sedivy P, Wahlgren CM, Taylor P, et al. Endovascular treatment of mycotic aortic aneurysms: a European multicenter study. *Circulation*. 2014;130(24):2136-42.
48. Mutavdzic P, Dragas M, Kukic B, Stevanovic K, Koncar I, Ilic N, et al. An Isolated Aneurysm of the Abdominal Aorta in a Patient with Marfan Syndrome-A Case Report. *Annals of vascular surgery*. 2019.

49. Singh K, Bonna KH, Jacobsen BK, Bjork L, Solberg S. Prevalence of and risk factors for abdominal aortic aneurysms in a population-based study : The Tromso Study. *American journal of epidemiology*. 2001;154(3):236-44.
50. Powell JT, Greenhalgh RM. Clinical practice. Small abdominal aortic aneurysms. *The New England journal of medicine*. 2003;348(19):1895-901.
51. Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2018;137(12):e67-e492.
52. Mortality results for randomised controlled trial of early elective surgery or ultrasonographic surveillance for small abdominal aortic aneurysms. The UK Small Aneurysm Trial Participants. *Lancet (London, England)*. 1998;352(9141):1649-55.
53. Powell JT, Brady AR, Brown LC, Fowkes FG, Greenhalgh RM, Ruckley CV, et al. Long-term outcomes of immediate repair compared with surveillance of small abdominal aortic aneurysms. *The New England journal of medicine*. 2002;346(19):1445-52.
54. Powell JT, Brown LC, Forbes JF, Fowkes FG, Greenhalgh RM, Ruckley CV, et al. Final 12-year follow-up of surgery versus surveillance in the UK Small Aneurysm Trial. *The British journal of surgery*. 2007;94(6):702-8.
55. Lederle FA, Wilson SE, Johnson GR, Littooy FN, Acher C, Messina LM, et al. Design of the abdominal aortic Aneurysm Detection and Management Study. ADAM VA Cooperative Study Group. *Journal of vascular surgery*. 1994;20(2):296-303.
56. Cao P. Comparison of surveillance vs Aortic Endografting for Small Aneurysm Repair (CAESAR) trial: study design and progress. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2005;30(3):245-51.
57. Ouriel K, Clair DG, Kent KC, Zarins CK. Endovascular repair compared with surveillance for patients with small abdominal aortic aneurysms. *Journal of vascular surgery*. 2010;51(5):1081-7.
58. Filardo G, Powell JT, Martinez MA, Ballard DJ. Surgery for small asymptomatic abdominal aortic aneurysms. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2015(2):Cd001835.
59. Kokje VB, Hamming JF, Lindeman JH. Editor's Choice - Pharmaceutical Management of Small Abdominal Aortic Aneurysms: A Systematic Review of the Clinical Evidence. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2015;50(6):702-13.
60. Rughani G, Robertson L, Clarke M. Medical treatment for small abdominal aortic aneurysms. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2012(9):Cd009536.
61. Kiru G, Bicknell C, Falaschetti E, Powell J, Poulter N. An evaluation of the effect of an angiotensin-converting enzyme inhibitor on the growth rate of small abdominal aortic aneurysms: a

randomised placebo-controlled trial (AARDVARK). *Health technology assessment (Winchester, England)*. 2016;20(59):1-180.

62. Liao JK, Laufs U. Pleiotropic effects of statins. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2005;45:89-118.

63. Oesterle A, Laufs U, Liao JK. Pleiotropic Effects of Statins on the Cardiovascular System. *Circulation research*. 2017;120(1):229-43.

64. Salata K, Syed M, Hussain MA, de Mestral C, Greco E, Mamdani M, et al. Statins Reduce Abdominal Aortic Aneurysm Growth, Rupture, and Perioperative Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American Heart Association*. 2018;7(19):e008657.

65. Davidovic LB, Markovic MD, Jakovljevic NS, Cvetkovic D, Kuzmanovic IB, Markovic DM. Unusual forms of ruptured abdominal aortic aneurysms. *Vascular*. 2008;16(1):17-24.

66. Davidovic LB, Spasic DS, Lotina SI, Kostic DM, Cinara IS, Svetkovic SD, et al. [Aorto-enteric fistulas]. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo*. 2001;129(7-8):183-93.

67. Davidovic LB, Kostic DM, Cvetkovic SD, Jakovljevic NS, Stojanov PL, Kacar AS, et al. Aorto-caval fistulas. *Cardiovascular surgery (London, England)*. 2002;10(6):555-60.

68. Cinara IS, Davidovic LB, Kostic DM, Cvetkovic SD, Jakovljevic NS, Koncar IB. Aorto-caval fistulas: a review of eighteen years experience. *Acta chirurgica Belgica*. 2005;105(6):616-20.

69. Davidovic L, Dragas M, Cvetkovic S, Kostic D, Cinara I, Banzic I. Twenty years of experience in the treatment of spontaneous aorto-venous fistulas in a developing country. *World journal of surgery*. 2011;35(8):1829-34.

70. Dragas M, Davidovic L, Pejkić S, Ilic N, Koncar I, Markovic M. Aorto-left renal vein fistula is a rare complication of abdominal aortic aneurysm with unique clinical presentation. *Journal of vascular surgery*. 2010;52(6):1658-61.

71. Malkawi AH, Hinchliffe RJ, Xu Y, Holt PJ, Loftus IM, Thompson MM. Patient-specific biomechanical profiling in abdominal aortic aneurysm development and rupture. *Journal of vascular surgery*. 2010;52(2):480-8.

72. Hoornweg LL, Storm-Versloot MN, Ubbink DT, Koelemay MJ, Legemate DA, Balm R. Meta analysis on mortality of ruptured abdominal aortic aneurysms. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2008;35(5):558-70.

73. Reimerink JJ, Hoornweg LL, Vahl AC, Wisselink W, van den Broek TA, Legemate DA, et al. Endovascular repair versus open repair of ruptured abdominal aortic aneurysms: a multicenter randomized controlled trial. *Annals of surgery*. 2013;258(2):248-56.

74. Endovascular strategy or open repair for ruptured abdominal aortic aneurysm: one-year outcomes from the IMPROVE randomized trial. *European heart journal*. 2015;36(31):2061-9.

75. Desgranges P, Kobeiter H, Katsahian S, Bouffi M, Gouny P, Favre JP, et al. Editor's Choice - ECAR (Endovasculaire ou Chirurgie dans les Aneurysmes aorto-iliaques Rompus): A French Randomized Controlled Trial of Endovascular Versus Open Surgical Repair of Ruptured Aorto-iliac Aneurysms. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2015;50(3):303-10.
76. Markovic M, Davidovic L, Maksimovic Z, Kostic D, Cinara I, Cvetkovic S, et al. Ruptured abdominal aortic aneurysm. Predictors of survival in 229 consecutive surgical patients. *Herz*. 2004;29(1):123-9.
77. Davidovic L, Markovic M, Kostic D, Cinara I, Markovic D, Maksimovic Z, et al. Ruptured abdominal aortic aneurysms: factors influencing early survival. *Annals of vascular surgery*. 2005;19(1):29-34.
78. Markovic M, Tomic I, Ilic N, Dragas M, Koncar I, Bukumiric Z, et al. The Rationale for Continuing Open Repair of Ruptured Abdominal Aortic Aneurysm. *Annals of vascular surgery*. 2016;36:64-73.
79. Davidovic LB, Maksic M, Koncar I, Ilic N, Dragas M, Fatic N, et al. Open Repair of AAA in a High Volume Center. *World journal of surgery*. 2017;41(3):884-91.
80. 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. *Journal of vascular surgery*. 2003;37(5):1106-17.
81. Limet R, Sakalihassan N, Albert A. Determination of the expansion rate and incidence of rupture of abdominal aortic aneurysms. *Journal of vascular surgery*. 1991;14(4):540-8.
82. Glimaker H, Holmberg L, Elvin A, Nybacka O, Almgren B, Bjorck CG, et al. Natural history of patients with abdominal aortic aneurysm. *European journal of vascular surgery*. 1991;5(2):125-30.
83. Sweeting MJ, Thompson SG, Brown LC, Powell JT. Meta-analysis of individual patient data to examine factors affecting growth and rupture of small abdominal aortic aneurysms. *The British journal of surgery*. 2012;99(5):655-65.
84. Lindquist Liljeqvist M, Hultgren R, Siika A, Gasser TC, Roy J. Gender, smoking, body size, and aneurysm geometry influence the biomechanical rupture risk of abdominal aortic aneurysms as estimated by finite element analysis. *Journal of vascular surgery*. 2017;65(4):1014-21.e4.
85. Crystal RG, Brantly ML, Hubbard RC, Curiel DT, States DJ, Holmes MD. The alpha 1-antitrypsin gene and its mutations. Clinical consequences and strategies for therapy. *Chest*. 1989;95(1):196-208.

86. Vande Geest JP, Dillavou ED, Di Martino ES, Oberdier M, Bohra A, Makaroun MS, et al. Gender-related differences in the tensile strength of abdominal aortic aneurysm. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1085:400-2.
87. Siika A, Lindquist Liljeqvist M, Zomporodi S, Nilsson O, Andersson P, Gasser TC, et al. A large proportion of patients with small ruptured abdominal aortic aneurysms are women and have chronic obstructive pulmonary disease. *PloS one*. 2019;14(5):e0216558.
88. Darling RC, Messina CR, Brewster DC, Ottinger LW. Autopsy study of unoperated abdominal aortic aneurysms. The case for early resection. *Circulation*. 1977;56(3 Suppl):Ii161-4.
89. Nicholls SC, Gardner JB, Meissner MH, Johansen HK. Rupture in small abdominal aortic aneurysms. *Journal of vascular surgery*. 1998;28(5):884-8.
90. Lindholt JS, Vammen S, Fasting H, Henneberg EW, Heickendorff L. The plasma level of matrix metalloproteinase 9 may predict the natural history of small abdominal aortic aneurysms. A preliminary study. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2000;20(3):281-5.
91. Vorp DA. Biomechanics of abdominal aortic aneurysm. *Journal of biomechanics*. 2007;40(9):1887-902.
92. Gasser TC. Biomechanical Rupture Risk Assessment: A Consistent and Objective Decision-Making Tool for Abdominal Aortic Aneurysm Patients. *Aorta (Stamford, Conn)*. 2016;4(2):42-60.
93. Indrakusuma R, Jalalzadeh H, Planken RN, Marquering HA, Legemate DA, Koelemay MJ, et al. Biomechanical Imaging Markers as Predictors of Abdominal Aortic Aneurysm Growth or Rupture: A Systematic Review. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2016;52(4):475-86.
94. Fillinger MF, Marra SP, Raghavan ML, Kennedy FE. Prediction of rupture risk in abdominal aortic aneurysm during observation: wall stress versus diameter. *Journal of vascular surgery*. 2003;37(4):724-32.
95. Raut SS, Chandra S, Shum J, Finol EA. The role of geometric and biomechanical factors in abdominal aortic aneurysm rupture risk assessment. *Annals of biomedical engineering*. 2013;41(7):1459-77.
96. Koncar IB, Nikolic D, Milosevic Z, Ilic N, Dragas M, Sladojevic M, et al. Morphological and Biomechanical Features in Abdominal Aortic Aneurysm with Long and Short Neck-Case-Control Study in 64 Abdominal Aortic Aneurysms. *Annals of vascular surgery*. 2017;45:223-30.
97. Končar I. Određivanje biomehaničkih, anatomskih i patomorfoloških parametara koji utiču na snagu aneurizmatkog zida i njihova uloga u proceni rizika od rupture aneurizme abdominalne aorte. Doktorska disertacija 2017, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.

98. Di Martino ES, Bohra A, Vande Geest JP, Gupta N, Makaroun MS, Vorp DA. Biomechanical properties of ruptured versus electively repaired abdominal aortic aneurysm wall tissue. *Journal of vascular surgery*. 2006;43(3):570-6; discussion 6.
99. Speelman L, Bohra A, Bosboom EM, Schurink GW, van de Vosse FN, Makaorun MS, et al. Effects of wall calcifications in patient-specific wall stress analyses of abdominal aortic aneurysms. *Journal of biomechanical engineering*. 2007;129(1):105-9.
100. Inzoli F, Boschetti F, Zappa M, Longo T, Fumero R. Biomechanical factors in abdominal aortic aneurysm rupture. *European journal of vascular surgery*. 1993;7(6):667-74.
101. Hansen F, Bergqvist D, Mangell P, Ryden A, Sonesson B, Lanne T. Non-invasive measurement of pulsatile vessel diameter change and elastic properties in human arteries: a methodological study. *Clinical physiology (Oxford, England)*. 1993;13(6):631-43.
102. Wilson KA, Lee AJ, Lee AJ, Hoskins PR, Fowkes FG, Ruckley CV, et al. The relationship between aortic wall distensibility and rupture of infrarenal abdominal aortic aneurysm. *Journal of vascular surgery*. 2003;37(1):112-7.
103. Hoegh A, Lindholt JS. Basic science review. Vascular distensibility as a predictive tool in the management of small asymptomatic abdominal aortic aneurysms. *Vascular and endovascular surgery*. 2009;43(4):333-8.
104. Wilson K, Bradbury A, Whyman M, Hoskins P, Lee A, Fowkes G, et al. Relationship between abdominal aortic aneurysm wall compliance and clinical outcome: a preliminary analysis. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 1998;15(6):472-7.
105. Sonesson B, Sandgren T, Lanne T. Abdominal aortic aneurysm wall mechanics and their relation to risk of rupture. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 1999;18(6):487-93.
106. Wilson KA, Lindholt JS, Hoskins PR, Heickendorff L, Vammen S, Bradbury AW. The relationship between abdominal aortic aneurysm distensibility and serum markers of elastin and collagen metabolism. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2001;21(2):175-8.
107. Sakalihan N, Van Damme H, Gomez P, Rigo P, Lapiere CM, Nusgens B, et al. Positron emission tomography (PET) evaluation of abdominal aortic aneurysm (AAA). *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2002;23(5):431-6.
108. Forsythe R, McBride O, Robson J, Graham C, Conlisk N, Hoskins P, et al. Efficacy and Mechanism Evaluation. Magnetic resonance imaging using ultrasmall superparamagnetic particles

of iron oxide for abdominal aortic aneurysm: a risk prediction study. Southampton (UK): NIHR Journals Library

Copyright (c) Queen's Printer and Controller of HMSO 2018. This work was produced by Forsythe et al. under the terms of a commissioning contract issued by the Secretary of State for Health and Social Care. This issue may be freely reproduced for the purposes of private research and study and extracts (or indeed, the full report) may be included in professional journals provided that suitable acknowledgement is made and the reproduction is not associated with any form of advertising. Applications for commercial reproduction should be addressed to: NIHR Journals Library, National Institute for Health Research, Evaluation, Trials and Studies Coordinating Centre, Alpha House, University of Southampton Science Park, Southampton SO16 7NS, UK.; 2018.

109. Thubrikar MJ, Robicsek F, Labrosse M, Chervenkov V, Fowler BL. Effect of thrombus on abdominal aortic aneurysm wall dilation and stress. *The Journal of cardiovascular surgery.* 2003;44(1):67-77.

110. Wang DH, Makaroun MS, Webster MW, Vorp DA. Effect of intraluminal thrombus on wall stress in patient-specific models of abdominal aortic aneurysm. *Journal of vascular surgery.* 2002;36(3):598-604.

111. Georgakarakos E, Ioannou CV, Volanis S, Papaharilaou Y, Ekaterinaris J, Katsamouris AN. The influence of intraluminal thrombus on abdominal aortic aneurysm wall stress. *International angiology : a journal of the International Union of Angiology.* 2009;28(4):325-33.

112. Wilson JS, Virag L, Di Achille P, Karsaj I, Humphrey JD. Biochemomechanics of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysms. *Journal of biomechanical engineering.* 2013;135(2):021011.

113. Vorp DA, Lee PC, Wang DH, Makaroun MS, Nemoto EM, Ogawa S, et al. Association of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm with local hypoxia and wall weakening. *Journal of vascular surgery.* 2001;34(2):291-9.

114. Kazi M, Zhu C, Roy J, Paulsson-Berne G, Hamsten A, Swedenborg J, et al. Difference in matrix-degrading protease expression and activity between thrombus-free and thrombus-covered wall of abdominal aortic aneurysm. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 2005;25(7):1341-6.

115. Stenbaek J, Kalin B, Swedenborg J. Growth of thrombus may be a better predictor of rupture than diameter in patients with abdominal aortic aneurysms. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery.* 2000;20(5):466-9.

116. Kazi M, Thyberg J, Religa P, Roy J, Eriksson P, Hedin U, et al. Influence of intraluminal thrombus on structural and cellular composition of abdominal aortic aneurysm wall. *Journal of vascular surgery*. 2003;38(6):1283-92.
117. Vande Geest JP, Wang DH, Wisniewski SR, Makaroun MS, Vorp DA. Towards a noninvasive method for determination of patient-specific wall strength distribution in abdominal aortic aneurysms. *Annals of biomedical engineering*. 2006;34(7):1098-106.
118. Michel JB, Martin-Ventura JL, Egido J, Sakalihasan N, Treska V, Lindholt J, et al. Novel aspects of the pathogenesis of aneurysms of the abdominal aorta in humans. *Cardiovascular research*. 2011;90(1):18-27.
119. Adolph R, Vorp DA, Steed DL, Webster MW, Kameneva MV, Watkins SC. Cellular content and permeability of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm. *Journal of vascular surgery*. 1997;25(5):916-26.
120. Folkesson M, Silveira A, Eriksson P, Swedenborg J. Protease activity in the multi-layered intra-luminal thrombus of abdominal aortic aneurysms. *Atherosclerosis*. 2011;218(2):294-9.
121. Houard X, Touat Z, Ollivier V, Louedec L, Philippe M, Sebbag U, et al. Mediators of neutrophil recruitment in human abdominal aortic aneurysms. *Cardiovascular research*. 2009;82(3):532-41.
122. Houard X, Ollivier V, Louedec L, Michel JB, Back M. Differential inflammatory activity across human abdominal aortic aneurysms reveals neutrophil-derived leukotriene B4 as a major chemotactic factor released from the intraluminal thrombus. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2009;23(5):1376-83.
123. Fontaine V, Jacob MP, Houard X, Rossignol P, Plissonnier D, Angles-Cano E, et al. Involvement of the mural thrombus as a site of protease release and activation in human aortic aneurysms. *The American journal of pathology*. 2002;161(5):1701-10.
124. Fontaine V, Touat Z, Mtairag el M, Vranckx R, Louedec L, Houard X, et al. Role of leukocyte elastase in preventing cellular re-colonization of the mural thrombus. *The American journal of pathology*. 2004;164(6):2077-87.
125. Houard X, Rouzet F, Touat Z, Philippe M, Dominguez M, Fontaine V, et al. Topology of the fibrinolytic system within the mural thrombus of human abdominal aortic aneurysms. *The Journal of pathology*. 2007;212(1):20-8.
126. Carrell TW, Burnand KG, Booth NA, Humphries J, Smith A. Intraluminal thrombus enhances proteolysis in abdominal aortic aneurysms. *Vascular*. 2006;14(1):9-16.
127. Swedenborg J, Eriksson P. The intraluminal thrombus as a source of proteolytic activity. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1085:133-8.

128. Labruto F, Blomqvist L, Swedenborg J. Imaging the intraluminal thrombus of abdominal aortic aneurysms: techniques, findings, and clinical implications. *Journal of vascular and interventional radiology : JVIR*. 2011;22(8):1069-75; quiz 75.
129. Castrucci M, Mellone R, Vanzulli A, De Gaspari A, Castellano R, Astore D, et al. Mural thrombi in abdominal aortic aneurysms: MR imaging characterization--useful before endovascular treatment? *Radiology*. 1995;197(1):135-9.
130. de la Motte L, Pedersen MM, Thomsen C, Vogt K, Schroeder TV, Lonn L. Categorization of aortic aneurysm thrombus morphology by magnetic resonance imaging. *European journal of radiology*. 2013;82(10):e544-9.
131. Nguyen VL, Leiner T, Hellenthal FA, Backes WH, Wishaupt MC, van der Geest RJ, et al. Abdominal aortic aneurysms with high thrombus signal intensity on magnetic resonance imaging are associated with high growth rate. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2014;48(6):676-84.
132. Nchimi A, Defawe O, Brisbois D, Broussaud TK, Defraigne JO, Magotteaux P, et al. MR imaging of iron phagocytosis in intraluminal thrombi of abdominal aortic aneurysms in humans. *Radiology*. 2010;254(3):973-81.
133. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 1976;72:248-54.
134. Vos JG, Krajnc EI, Beekhof P. Use of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in immunotoxicity testing. *Environmental health perspectives*. 1982;43:115-21.
135. Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*. 1971;8(9):871-4.
136. Li H, Bai S, Ao Q, Wang X, Tian X, Li X, et al. Modulation of Immune-Inflammatory Responses in Abdominal Aortic Aneurysm: Emerging Molecular Targets. *Journal of immunology research*. 2018;2018:7213760.
137. Crowther M, Goodall S, Jones JL, Bell PR, Thompson MM. Increased matrix metalloproteinase 2 expression in vascular smooth muscle cells cultured from abdominal aortic aneurysms. *Journal of vascular surgery*. 2000;32(3):575-83.
138. Freestone T, Turner RJ, Coady A, Higman DJ, Greenhalgh RM, Powell JT. Inflammation and matrix metalloproteinases in the enlarging abdominal aortic aneurysm. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1995;15(8):1145-51.
139. Zhu C, Haraldsson H, Faraji F, Owens C, Gasper W, Ahn S, et al. Isotropic 3D black blood MRI of abdominal aortic aneurysm wall and intraluminal thrombus. *Magnetic resonance imaging*. 2016;34(1):18-25.

140. Sakalihan N, Hustinx R, Limet R. Contribution of PET scanning to the evaluation of abdominal aortic aneurysm. *Seminars in vascular surgery*. 2004;17(2):144-53.
141. Serra R, Grande R, Montemurro R, Butrico L, Calio FG, Mastrangelo D, et al. The role of matrix metalloproteinases and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in central and peripheral arterial aneurysms. *Surgery*. 2015;157(1):155-62.
142. Ramos-Mozo P, Madrigal-Matute J, Vega de Ceniga M, Blanco-Colio LM, Meilhac O, Feldman L, et al. Increased plasma levels of NGAL, a marker of neutrophil activation, in patients with abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis*. 2012;220(2):552-6.
143. Koole D, Zandvoort HJ, Schoneveld A, Vink A, Vos JA, van den Hoogen LL, et al. Intraluminal abdominal aortic aneurysm thrombus is associated with disruption of wall integrity. *Journal of vascular surgery*. 2013;57(1):77-83.
144. Wiernicki I, Stachowska E, Safranow K, Cnotliwy M, Rybicka M, Kaczmarczyk M, et al. Enhanced matrix-degrading proteolytic activity within the thin thrombus-covered wall of human abdominal aortic aneurysms. *Atherosclerosis*. 2010;212(1):161-5.
145. Khan JA, Abdul Rahman MN, Mazari FA, Shahin Y, Smith G, Madden L, et al. Intraluminal thrombus has a selective influence on matrix metalloproteinases and their inhibitors (tissue inhibitors of matrix metalloproteinases) in the wall of abdominal aortic aneurysms. *Annals of vascular surgery*. 2012;26(3):322-9.
146. Juvonen J, Surcel HM, Satta J, Teppo AM, Bloigu A, Syrjala H, et al. Elevated circulating levels of inflammatory cytokines in patients with abdominal aortic aneurysm. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1997;17(11):2843-7.
147. de Franciscis S, Mastroberto P, Gallelli L, Buffone G, Montemurro R, Serra R. Increased plasma levels of metalloproteinase-9 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in a rare case of multiple artery aneurysm. *Annals of vascular surgery*. 2013;27(8):1185.e5-7.
148. Piechota-Polanczyk A, Demyanets S, Mittlboeck M, Hofmann M, Domenig CM, Neumayer C, et al. The Influence of Simvastatin on NGAL, Matrix Metalloproteinases and Their Tissue Inhibitors in Human Intraluminal Thrombus and Abdominal Aortic Aneurysm Tissue. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2015;49(5):549-55.
149. Diehm N, Di Santo S, Schaffner T, Schmidli J, Volzmann J, Juni P, et al. Severe structural damage of the seemingly non-diseased infrarenal aortic aneurysm neck. *Journal of vascular surgery*. 2008;48(2):425-34.
150. Itoh Y, Nagase H. Preferential inactivation of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 that is bound to the precursor of matrix metalloproteinase 9 (progelatinase B) by human neutrophil elastase. *The Journal of biological chemistry*. 1995;270(28):16518-21.

151. Lijnen HR. Plasmin and matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *Thrombosis and haemostasis*. 2001;86(1):324-33.
152. O'Leary SA, Kavanagh EG, Grace PA, McGloughlin TM, Doyle BJ. The biaxial mechanical behaviour of abdominal aortic aneurysm intraluminal thrombus: classification of morphology and the determination of layer and region specific properties. *Journal of biomechanics*. 2014;47(6):1430-7.
153. Wiernicki I, Parafiniuk M, Kolasa-Wolosiuk A, Gutowska I, Kazimierczak A, Clark J, et al. Relationship between aortic wall oxidative stress/proteolytic enzyme expression and intraluminal thrombus thickness indicates a novel pathomechanism in the progression of human abdominal aortic aneurysm. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2019;33(1):885-95.
154. Li PF, Dietz R, von Harsdorf R. Reactive oxygen species induce apoptosis of vascular smooth muscle cell. *FEBS letters*. 1997;404(2-3):249-52.
155. Rajagopalan S, Meng XP, Ramasamy S, Harrison DG, Galis ZS. Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro. Implications for atherosclerotic plaque stability. *The Journal of clinical investigation*. 1996;98(11):2572-9.
156. Sinha I, Pearce CG, Cho BS, Hannawa KK, Roelofs KJ, Stanley JC, et al. Differential regulation of the superoxide dismutase family in experimental aortic aneurysms and rat aortic explants. *The Journal of surgical research*. 2007;138(2):156-62.
157. Sun N, Leung JH, Wood NB, Hughes AD, Thom SA, Cheshire NJ, et al. Computational analysis of oxygen transport in a patient-specific model of abdominal aortic aneurysm with intraluminal thrombus. *The British journal of radiology*. 2009;82 Spec No 1:S18-23.
158. Grigoryants V, Hannawa KK, Pearce CG, Sinha I, Roelofs KJ, Ailawadi G, et al. Tamoxifen up-regulates catalase production, inhibits vessel wall neutrophil infiltration, and attenuates development of experimental abdominal aortic aneurysms. *Journal of vascular surgery*. 2005;41(1):108-14.
159. Schurink GW, van Baalen JM, Visser MJ, van Bockel JH. Thrombus within an aortic aneurysm does not reduce pressure on the aneurysmal wall. *Journal of vascular surgery*. 2000;31(3):501-6.
160. Speelman L, Schurink GW, Bosboom EM, Buth J, Breeuwer M, van de Vosse FN, et al. The mechanical role of thrombus on the growth rate of an abdominal aortic aneurysm. *Journal of vascular surgery*. 2010;51(1):19-26.
161. Truijers M, Fillinger MF, Renema KW, Marra SP, Oostveen LJ, Kurvers HA, et al. In-vivo imaging of changes in abdominal aortic aneurysm thrombus volume during the cardiac cycle. *Journal*

- of endovascular therapy : an official journal of the International Society of Endovascular Specialists. 2009;16(3):314-9.
162. Tanios F, Gee MW, Pelisek J, Kehl S, Biehler J, Grabher-Meier V, et al. Interaction of biomechanics with extracellular matrix components in abdominal aortic aneurysm wall. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2015;50(2):167-74.
163. Vos AW, Wisselink W, Marcus JT, Vahl AC, Manoliu RA, Rauwerda JA. Cine MRI assessment of aortic aneurysm dynamics before and after endovascular repair. *Journal of endovascular therapy : an official journal of the International Society of Endovascular Specialists*. 2003;10(3):433-9.
164. Jain MK, Ridker PM. Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. *Nature reviews Drug discovery*. 2005;4(12):977-87.
165. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2001;21(11):1712-9.
166. Schonbeck U, Libby P. Inflammation, immunity, and HMG-CoA reductase inhibitors: statins as antiinflammatory agents? *Circulation*. 2004;109(21 Suppl 1):Ii18-26.
167. Nomura S, Yoshimura K, Akiyama N, Mikamo A, Furutani A, Aoki H, et al. HMG-CoA reductase inhibitors reduce matrix metalloproteinase-9 activity in human varicose veins. *European surgical research Europaische chirurgische Forschung Recherches chirurgicales europeennes*. 2005;37(6):370-8.
168. Verschuren L, Kleemann R, Offerman EH, Szalai AJ, Emeis SJ, Princen HM, et al. Effect of low dose atorvastatin versus diet-induced cholesterol lowering on atherosclerotic lesion progression and inflammation in apolipoprotein E*3-Leiden transgenic mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2005;25(1):161-7.
169. Patel TN, Shishehbor MH, Bhatt DL. A review of high-dose statin therapy: targeting cholesterol and inflammation in atherosclerosis. *European heart journal*. 2007;28(6):664-72.
170. Evans J, Powell JT, Schwalbe E, Loftus IM, Thompson MM. Simvastatin attenuates the activity of matrix metalloprotease-9 in aneurysmal aortic tissue. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2007;34(3):302-3.
171. Steinmetz EF, Buckley C, Shames ML, Ennis TL, Vanvickle-Chavez SJ, Mao D, et al. Treatment with simvastatin suppresses the development of experimental abdominal aortic aneurysms in normal and hypercholesterolemic mice. *Annals of surgery*. 2005;241(1):92-101.

172. van der Meij E, Koning GG, Vriens PW, Peeters MF, Meijer CA, Kortekaas KE, et al. A clinical evaluation of statin pleiotropy: statins selectively and dose-dependently reduce vascular inflammation. *PloS one*. 2013;8(1):e53882.
173. Kleemann R, Princen HM, Emeis JJ, Jukema JW, Fontijn RD, Horrevoets AJ, et al. Rosuvastatin reduces atherosclerosis development beyond and independent of its plasma cholesterol-lowering effect in APOE*3-Leiden transgenic mice: evidence for antiinflammatory effects of rosuvastatin. *Circulation*. 2003;108(11):1368-74.
174. Niwa S, Totsuka T, Hayashi S. Inhibitory effect of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, on the expression of adhesion molecules on human monocyte cell line. *International journal of immunopharmacology*. 1996;18(11):669-75.
175. Lefer AM, Campbell B, Shin YK, Scalia R, Hayward R, Lefer DJ. Simvastatin preserves the ischemic-reperfused myocardium in normocholesterolemic rat hearts. *Circulation*. 1999;100(2):178-84.
176. Scalia R, Gooszen ME, Jones SP, Hoffmeyer M, Rimmer DM, 3rd, Trocha SD, et al. Simvastatin exerts both anti-inflammatory and cardioprotective effects in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2001;103(21):2598-603.
177. Kajimoto K, Miyauchi K, Kasai T, Shimada K, Kojima Y, Shimada A, et al. Short-term 20-mg atorvastatin therapy reduces key inflammatory factors including c-Jun N-terminal kinase and dendritic cells and matrix metalloproteinase expression in human abdominal aortic aneurysmal wall. *Atherosclerosis*. 2009;206(2):505-11.
178. Kalyanasundaram A, Elmore JR, Manazer JR, Golden A, Franklin DP, Galt SW, et al. Simvastatin suppresses experimental aortic aneurysm expansion. *Journal of vascular surgery*. 2006;43(1):117-24.
179. Yoshimura K, Nagasawa A, Kudo J, Onoda M, Morikage N, Furutani A, et al. Inhibitory effect of statins on inflammation-related pathways in human abdominal aortic aneurysm tissue. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(5):11213-28.
180. Mastoraki ST, Toumpoulis IK, Anagnostopoulos CE, Tiniakos D, Papalois A, Chamogeorgakis TP, et al. Treatment with simvastatin inhibits the formation of abdominal aortic aneurysms in rabbits. *Annals of vascular surgery*. 2012;26(2):250-8.
181. Nagashima H, Aoka Y, Sakomura Y, Sakuta A, Aomi S, Ishizuka N, et al. A 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, cerivastatin, suppresses production of matrix metalloproteinase-9 in human abdominal aortic aneurysm wall. *Journal of vascular surgery*. 2002;36(1):158-63.
182. Wilson WR, Evans J, Bell PR, Thompson MM. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) decrease MMP-3 and MMP-9 concentrations in abdominal aortic aneurysms. *European journal of*

vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery. 2005;30(3):259-62.

183. Schweitzer M, Mitmaker B, Obrand D, Sheiner N, Abraham C, Dostanic S, et al. Atorvastatin modulates matrix metalloproteinase expression, activity, and signaling in abdominal aortic aneurysms. *Vascular and endovascular surgery*. 2010;44(2):116-22.

184. Dawson JA, Choke E, Loftus IM, Cockerill GW, Thompson MM. A randomised placebo-controlled double-blind trial to evaluate lipid-lowering pharmacotherapy on proteolysis and inflammation in abdominal aortic aneurysms. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2011;41(1):28-35.

185. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circulation research*. 2000;87(10):840-4.

186. Wassmann S, Laufs U, Baumer AT, Muller K, Ahlbory K, Linz W, et al. HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normocholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2001;37(6):1450-7.

187. Piechota-Polanczyk A, Goraca A, Demyanets S, Mittlboeck M, Domenig C, Neumayer C, et al. Simvastatin decreases free radicals formation in the human abdominal aortic aneurysm wall via NF-kappaB. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2012;44(2):133-7.

188. Ota H, Eto M, Kano MR, Kahyo T, Setou M, Ogawa S, et al. Induction of endothelial nitric oxide synthase, SIRT1, and catalase by statins inhibits endothelial senescence through the Akt pathway. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2010;30(11):2205-11.

189. Anderson TJ, Gregoire J, Pearson GJ, Barry AR, Couture P, Dawes M, et al. 2016 Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Management of Dyslipidemia for the Prevention of Cardiovascular Disease in the Adult. *The Canadian journal of cardiology*. 2016;32(11):1263-82.

190. Touat Z, Ollivier V, Dai J, Huisse MG, Bezeaud A, Sebbag U, et al. Renewal of mural thrombus releases plasma markers and is involved in aortic abdominal aneurysm evolution. *The American journal of pathology*. 2006;168(3):1022-30.

191. Cameron SJ, Russell HM, Owens AP, 3rd. Antithrombotic therapy in abdominal aortic aneurysm: beneficial or detrimental? *Blood*. 2018;132(25):2619-28.

192. Owens AP, 3rd, Edwards TL, Antoniak S, Geddings JE, Jahangir E, Wei WQ, et al. Platelet Inhibitors Reduce Rupture in a Mouse Model of Established Abdominal Aortic Aneurysm. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2015;35(9):2032-41.

193. Dai J, Louedec L, Philippe M, Michel JB, Houard X. Effect of blocking platelet activation with AZD6140 on development of abdominal aortic aneurysm in a rat aneurysmal model. *Journal of vascular surgery*. 2009;49(3):719-27.
194. Lindholt JS, Bjorck M, Michel JB. Anti-platelet treatment of middle-sized abdominal aortic aneurysms. *Current vascular pharmacology*. 2013;11(3):305-13.
195. Lindholt JS, Sorensen HT, Michel JB, Thomsen HF, Henneberg EW. Low-dose aspirin may prevent growth and later surgical repair of medium-sized abdominal aortic aneurysms. *Vascular and endovascular surgery*. 2008;42(4):329-34.
196. Thompson A, Cooper JA, Fabricius M, Humphries SE, Ashton HA, Hafez H. An analysis of drug modulation of abdominal aortic aneurysm growth through 25 years of surveillance. *Journal of vascular surgery*. 2010;52(1):55-61.e2.

Biografija autora

Miloš Sladojević rođen je 10.04.1984. godine u Zaječaru. Završio Negotinsku gimnaziju sa odlučnim uspehom (Vukova diploma) 2003. godine. Diplomirao na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 25.12.2009. godine sa prosečnom ocenom 9.77 (devet i sedamdeset i sedam). Tokom studiranja, u periodu od 2005. do 2009. godine učestvovao je u nastavi kao redovni demonstrator na predmetu anatomija i za svoj rad sa studentima ocenjen je najboljim ocenama. Upisao poslediplomske specijalističke akademske studije iz Vaskularne hirurgije sa angiologijom na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2010. godine, a diplomirao i stekao zvanje specijalista doktor medicine marta 2013. godine (Naslov završnog rada: "Izbor hirurškog pristupa u lečenju aneurizmatске bolesti poplitealne arterije"; komisija: prof. dr Lazar Davidović, prof. dr Đorđe Radak i prof. dr Živan Maksimović - mentor). Specijalistički ispit iz vaskularne hirurgije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, položio je 24. januara 2018. godine sa odličnom ocenom (Komisija: prof. dr Đorđe Radak - predsednik komisije, prof. dr Dragoslav Nenezić, prof. dr Nenad Ilijevski, prof. dr Slobodan Cvetković).

Od januara 2010. godine radi u Klinici za vaskularnu i endovaskularnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije kao volonter, a zaposlen je od juna 2011. godine.

Kao klinički asistent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu na predmetu hirurgija sa anesteziologijom angažovan je od 2019. godine.

Usavršavao se iz oblasti endovaskularne hirurgije u Nemačkoj (St. Franziskus-Hospital, Münster).

Do sada je publikovao 21 naučni rad u bazi Pubmed, h indeks 3, kao i jedno poglavlje u knjizi.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Miloš Sladojević

broj upisa RH-01/13

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Povezanost karakteristika intraluminalnog tromba prikazanih magnetnom rezonancijom sa njegovim biohemijskim odlikama i morfološkim osobenostima zida infrarenalne aneurizme abdominalne aorte

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, 24.02.2020.

Potpis doktoranda

Miloš M. Sladojević

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Miloš Sladojević

Broj upisa RH-01/13

Studijski program rekonstruktivna hirurgija

Naslov rada „Povezanost karakteristika intraluminalnog tromba prikazanih magnetnom rezonancijom sa njegovim biohemijskim odlikama i morfološkim osobenostima zida infrarenalne aneurizme abdominalne aorte“

Mentor Prof. Dr Lazar Davidović

Potpisani Miloš Sladojević

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 24.02.2020.

Potpis doktoranda

Miloš M. Sladojević

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Povezanost karakteristika intraluminalnog tromba prikazanih magnetnom rezonancijom sa njegovim biohemijskim odlikama i morfološkim osobenostima zida infrarenalne aneurizme abdominalne aorte“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

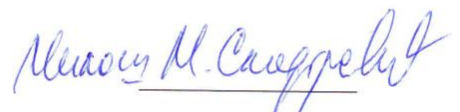
Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

U Beogradu, 24.02.2020.

Potpis doktoranda



1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.