

Piśmiennictwo

- [1] Li S, Vert M. Biodegradable polymers: Polyester. [In:] Mathiowitz E, ed. The Encyclopedia of Controlled Drug Delivery. New York: John Wiley & Sons 1999: pp. 71 – 91.
- [2] Nair LS, Laurencin CT. Polymers as Biomaterials for Tissue Engineering and Controlled Drug Delivery. Adv. Biochem. Engin. Biotechnol. 2006, 102: 47-90.
- [3] Chacón M, Molperces J, Berges L, Guzman M, Aberturas M. R. Stability and freeze – drying of cyclosporine loaded poly(D,L lactide – glycolide) carriers, Eur J Pharm Sci. 1999; 8: 99 – 107.
- [4] Gref R, Quellec P, Sanchez A, Calvo P, Dellacherie E, Alonso MJ. Development and characterization of CyA – loaded poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol) PEG micro- and nanoparticles. Comparison with conventional PLA particulate carriers, Eur J Pharm Biopharm. 2001; 51: 111 – 118.
- [5] Talegaonkar S, Mishra PR. Recent advances in modulated drug delivery systems. Indian J Pharm Sci. 2002, 64: 515- 24.

References

- [6] Charalambopoulou GCH, Kikkinides ES, Papadokostakia KG, Stubos AK, Papaioannou AT. Numerical and experimental investigation of the diffusional release of a dispersed solute from polymeric multilaminate matrices. J Control Rel. 2001, 70: 309–319.
- [7] Ser-shen S, West J. Implantable, polymeric systems for modulated drug delivery. Adv Drug Del Rev. 2002, 54: 1225-1235.
- [8] Loo SCh.J, Tan WLJ, Khoa SM, Chia NK, Venkatraman S, Boey F. Hydrolytic degradation characteristics of irradiated multi-layered PLGA films. Int J Pharm. 2008, 360: 228-230.
- [9] Dobrzyński P, Kasperczyk J. Synthesis of Biodegradable Copolymers with Low-Toxicity Zirconium Compounds.V. Multiblock and Random Copolymers of L-Lactide with Trimethylene Carbonate Obtained in Copolymerizations Initiated with Zirconium (IV) Acetylacetonate. J Polym Sci: Part A: Polym Chem. 2006, 44: 3184-3201.

ANALIZA PORÓWNAWCZA SKŁADU PIERWIASTKOWEGO ŚCIAN AORTY BRZUSZNEJ I TĘTNIĄKA AORTY BRZUSZNEJ

MAGDALENA KOBIELARZ^{1,2}, KRZYSZTOF MARYCZ³, SYLWIA SZOTEK¹, ROMUALD BĘDZIŃSKI^{1,2}

¹ZAKŁAD INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ I MECHANIKI EKSPERYMENTALNEJ, WYDZIAŁ MECHANICZNY, POLITECHNIKA WROCŁAWSKA, WROCŁAW, POLSKA

²WOJEWÓDZKI SZPITAL SPECJALISTYCZNY WE WROCŁAWIU, OŚRODEK BADAWCZO-ROZWOJOWY

³PRACOWNIA MIKROSKOPII ELEKTRONOWEJ, WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ, UNIwersytet PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU, WROCŁAW, POLSKA

Streszczenie

Głównym celem pracy było określenie procentowego składu pierwiastkowego ścian zdrowej aorty brzusznej (NAA) i tętniaka aorty brzusznej (AAA) na podstawie mikroanalizy rentgenowskiej (Rtg) dla dużej populacji materiału badawczego, ażeby sprawdzić użyteczność metody do różnicowania (na poziomie molekularnym) materiału biologicznego pod kątem zmian chorobowych. Dla żadnego z analizowanych pierwiastków nie odnotowano, na poziomie istotności $p=0,05$, istotnych statystycznie zmian w procentowym rozkładzie pierwiastków między preparatami ścian zdrowych aort brzusznych oraz tętniaków. Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, biorąc pod uwagę wielkość grup badawczych, że zastosowana metoda nie umożliwi różnicowania materiału biologicznego na założonym poziomie istotności.

[Inżynieria Biomateriałów, 89-91, (2009), 186-188]

Wprowadzenie

Tętniak aorty brzusznej (AAA) to trwałe i postępujące, lokalne poszerzenie aorty brzusznej o minimum 50%

COMPARISON ANALYSIS OF CHEMICAL ELEMENTS COMPOSITION OF ABDOMINAL AORTIC ANEURYSMS AND NORMAL ABDOMINAL AORTIC WALLS

MAGDALENA KOBIELARZ^{1,2}, KRZYSZTOF MARYCZ³, SYLWIA SZOTEK¹, ROMUALD BĘDZIŃSKI^{1,2}

¹DIVISION OF BIOMEDICAL ENGINEERING AND EXPERIMENTAL MECHANICS, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, WROCLAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, WROCLAW, POLAND

²REGIONAL SPECIALIST HOSPITAL IN WROCLAW, RESEARCH AND DEVELOPMENT CENTRE, POLAND

³ELECTRON MICROSCOPE LABORATORY, WROCLAW UNIVERSITY OF ENVIRONMENTAL AND LIFE SCIENCES, POLAND

Abstract

The main aim of paper was evaluation of chemical elements composition of normal abdominal aortic walls (NAA) and abdominal aortic aneurysms walls (AAA) based on X-ray microanalysis for a numerous and diversified population in order to differentiate (on molecular level) biological materials according pathological changes. For neither of analyzed elements were noticed statistically significant on the confidence level $p=0,05$ differences between NAA walls and AAA walls. On the basis of the obtained results it can be concluded that used methods isn't sufficient to differentiation of biological materials according pathological changes.

[Engineering of Biomaterials, 89-91, (2009), 186-188]

Introduction

An abdominal aortic aneurysm (AAA) is a permanent and progressive dilatation (widening or bulge) of the abdominal aorta by at least 50% relative to its normal diameter [1-3]. AAA arises as a result of the many-factor pathologic remodeling of the aorta's connective tissue [4]. The cause leading

w stosunku do jej prawidłowej średnicy [1-3]. AAA powstaje w wyniku wieloczynnikowej, patologicznej przebudowy tkanki łącznej ściany aorty [4]. Przyczyną prowadzącą do powstania tętniaka nie jest jeszcze znana, ale powoduje obniżeniem wytrzymałości ściany naczynia i wzrost jej sztywności [5,6]. Potencjalnie, proces rozwoju AAA może być wywołany przez deficyt miedzi, cynku lub kwasu askorbinowego [7,8]. Wiele badań przeprowadzonych w ciągu ostatnich kilku lat wskazuje, że inicjację, rozwój oraz pęknięcie tętniaka powoduje proteolityczna degradacja białek strukturalnych ściany aorty, czyli elastyny i kolagenu [9-13]. Pierwiastki śladowe, takie jak miedź (Cu), cynk (Zn) i molibden (Mo) związane są z procesami biodegradacji białek macierzy pozakomórkowej, głównie włókien elastynowych. Ocena procentowego składu pierwiastkowego za pomocą metody mikroanalizy rentgenowskiej (Rtg) może umożliwić różnicowanie, na poziomie molekularnym, materiału biologicznego pod kątem zmian chorobowych. Stąd celem pracy było określenie procentowego składu pierwiastkowego ścian aorty brzusznej i tętniaka aorty brzusznej na dużej grupie materiału badawczego.

Material i metody

Materiał badawczy stanowiły preparaty ścian niezmiennych patologicznie aort brzusznych oraz ścian tętniaków aorty brzusznej. Preparaty ścian tętniaków aorty brzusznej (AAA) oraz ścian niezmiennych patologicznie aort brzusznych (NAA) pobrano odpowiednio: śródoperacyjnie od 96 pacjentów oraz podczas autopsji od 67 dawców (na podstawie decyzji Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej we Wrocławiu na podstawie decyzji nr KB – 764/2004). Każdorazowo z materiału badawczego pobierano przy pomocy skalpela skrawek wielkości około 10 mm² pełnej grubości ściany naczynia w celu przeprowadzenia analizy składu pierwiastkowego analizowanych tkanek. Analiza składu pierwiastkowego wykonana została przy zastosowaniu techniki mikroanalizy rentgenowskiej. Badanie przeprowadzono z zastosowaniem skaningowego mikroskopu elektronowego Leo 435 VP (Zeiss) z przystawką do mikroanalizy (Röntec).

Materiał utrwalał przez okres 7 dni w 2,5% roztworze aldehydu glutarowego na buforze fosforanowym. Następnie utwalony materiał odwadniano w szeregu kąpeli acetonowych o stopniowo rosnących stężeniach; od wartości 50% aż do 100%; po czym suszono je i naklejano na stoliki używając kleju węglowego. Pojedynczy pomiar procentowego udziału pierwiastków w strukturze poszczególnych preparatów prowadzono w punkcie o wymiarach: 0,5µm x 0,5µm. Dla każdego analizowanego przypadku, wykonano 10 pomiarów, w losowo wybranych obszarach badanego preparatu. Wyniki przeprowadzonych badań uśredniano dla każdego preparatu.

Uzyskane wyniki przedstawiono w postaci wartości średnich wraz z odchyleniami standardowymi ($X \pm SD$). Statystyczną analizę danych przeprowadzono na podstawie testu t-Studenta dla prób niezależnych (pakiet Statistica 8.0, StatSoft). Testy prowadzono przy zachowaniu założenia, że wartość graniczna poziomu istotności (p) wynosi 0,05.

Wyniki i dyskusja

Analiza składu pierwiastkowego ścian zdrowych aort brzusznych oraz ścian tętniaków aorty brzusznej wykazała, że zdecydowanie najwyższy procentowy udział w strukturach obu grup mają pierwiastki budujące struktury białkowe (głównie: elastynę i kolagen), tj. węgiel (C) oraz tlen (O) (TABELA 1.), przy czym zakres zmienności

do an AAA is still unknown although causes strength reduction and stiffness increase [5,6]. Potentially, the development of an AAA can be induced by, among other things, copper, zinc or ascorbic acid deficiency [7,8]. Many researches done in recent years indicate that the initiation, development and rupture of the aneurysm are caused by the degradation of the aortic wall structural proteins, i.e. elastin and collagen [9-13]. Vestigial components like cuprum (Cu), zinc (Zn) and molybdenum (Mo) are connected with biodegradation processes of extracellular matrix proteins, mainly elastin fibers. Proportional evaluation of elemental composition by X-ray microanalysis may enable differentiation of biological materials according pathological changes on molecular level. Hence, the main aim of paper was proportional evaluation of elemental composition of normal abdominal aortic walls and abdominal aortic aneurysms walls based on a numerous and diversified population.

Material and methods

The experimental material had the form of preparations of normal abdominal aortas (NAA) and abdominal aorta aneurysm walls (AAA). The abdominal aorta aneurysm walls (AAA) were intraoperatively taken from 96 patients and the normal abdominal aorta walls (NAA) were taken during autopsies from 67 donors (the permission was granted by the Bioethical Committee at Wrocław Medical University on the basis of decision KB – 764/2004). Vascular wall segments 10 mm² in area constituted the material for chemical composition analysis, based on X-ray microanalysis. The investigations were performed on a Leo 435 VP (Zeiss) electron microscope with additional equipment to X-ray microanalysis (Röntec).

The biological material were fixed in a 2,5% phosphate-buffered glutaraldehyde for 7 days. Afterwards fixed materials were dehydrated in an acetone series, then dried and stuck onto microscope stages, using carbon glue. Every single measurement of chemical composition of particular specimen structure was conducted in a point dimension 0,5µm x 0,5µm. For every single case 10 measurements were performed at random chosen areas analyzed specimen. The results were presented in the form of averages with standard deviations ($X \pm SD$). The statistical analysis of the data was based on Student's t-test for independent samples (Statistica 8.0, StatSoft package). The statistical tests were performed assuming the confidence level limit value (p) of 0,05.

Results and conclusions

On the basis of the conducted research on normal abdominal aortic walls and abdominal aortic aneurysms walls, the obtained results indicate the highest proportional contribution had composition constructed protein structures (mainly: elastin and collagen), i.e. carbon (C) and oxygen (O) (TABLE 1.). A change of variability was determinedly wider for abdominal aortic aneurysms walls than for normal abdominal aortic walls. The calcium (Ca) content in analyzed preparations structures was extremely variable; it was indicated on a various development level of atherosclerotic alteration in blood vessels walls; normal and pathologically changed. In AAA walls were noted presence of vestigial chemical element connected with biodegradation of elastin fibers, mainly cuprum (Cu). The contribution of zinc (Zn) and molybdenum (Mo) weren't noticed. Neither of this components were prevailing in NAA walls.

w przypadku ścian tętniaków był zdecydowanie szerszy niż w przypadku ścian zdrowych naczyń krwionośnych. Zawartość wapnia (Ca) w strukturze analizowanych preparatów jest wysoce zmienna, co wskazuje na różny stopień rozwoju zmian miażdżycowych w ścianie zarówno aorty, jak i tętniaka. W przypadku ścian tętniaków, odnotowano obecność pierwiastków śladowych związanych z procesami biodegradacji włókien elastynowych, głównie miedzi (Cu), nie odnotowano natomiast obecności cynku (Zn) i molibdenu (Mo). Żaden z tych pierwiastków nie był obecny w strukturze ścian zdrowych naczyń.

Dla żadnego z analizowanych pierwiastków nie odnotowano, na poziomie istotności $p=0,05$, istotnych statystycznie zmian w procentowym rozkładzie pierwiastków między preparatami ścian zdrowych aort brzusznych oraz tętniaków, aczkolwiek zakres uzyskanych wyników w przypadku tętniaków był zdecydowanie szerszy. Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, biorąc pod uwagę wielkość grup badawczych, że zastosowana metoda nie umożliwiła różnicowania materiału biologicznego (na założonym poziomie istotności).

Pierwiastek Element	Udział / Contribution[%]					
	NAA			AAA		
	rednia Average value	SD	Zakres Range	rednia Average value	SD	Zakres Range
C	55,97	6,88	40,28-70,51	56,53	11,36	20,88-73,95
O	34,70	5,34	22,63-43,90	36,04	9,67	18,72-53,62
Na	1,39	0,94	0,44-3,39	1,20	0,85	0,26-4,48
Si	0,70	0,67	0,23-2,69	0,55	0,30	0,04-1,04
P	2,84	1,72	0,73-7,64	1,81	2,14	0,44-11,50
S	0,98	0,19	0,75-1,44	1,02	0,32	0,48-1,78
Ca	2,44	2,90	0,17-9,34	1,60	4,17	0,11-20,77
Mg	0,24	0,09	0,11-0,44	0,23	0,13	0,01-0,42
Al	0,79	0,75	0,03-2,73	1,52	1,75	0,03-6,61
Fe	6,14	14,83	0,05-39,73	0,15	0,08	0,05-0,37
Cu	0	0	-	0,10	0,02	0,08-0,11
Cl	0,64	0,20	0,44-0,85	0,53	0,15	0,30-0,68
Zn	0,88		-	0	0	-
Cr	4,17	5,62	0,19-8,14	0	0	-
K	0,89		-	0,33	-	-
Ti	0,97	0,93	0,31-1,63	0,08	-	-
Mo	2,74		-	0	0	-
Sn	0	0	-	0	0	-
I	1,19		-	0	0	-
F	4,63		-	0	0	-

TABELA 1. Udział procentowy pierwiastków w strukturze ścian preparatów zdrowych aort brzusznych (NAA) oraz w strukturze preparatów ścian tętniaków aorty brzusznej (AAA).

TABLE 1. Contribution of chemical elements in normal abdominal aortic walls (NAA) and abdominal aortic aneurysms walls (AAA).

For neither of analyzed elements were noticed statistically significant on the confidence level $p=0,05$ differences between normal abdominal aortic walls and abdominal aortic aneurysms walls. Although the range of obtained results for AAA specimens was definitely broader. On the basis of the experimental results including a magnitude of experimental group produce evidence used methods isn't sufficient to differentiation of biological materials according pathological changes.

Podziękowania

Badanie realizowane w ramach projektu „WROVASC-Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo - Naczyniowej”, finansowanego w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego oraz z budżetu państwa - Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka 2007-2013.

Acknowledgments

This work is supported by European Regional Development Fund and the Polish Government (Operational Programme - Innovative Economy) under the grant "WROVASC - Integrated Cardiovascular Centre" which is being realized in years 2007-2013.

Piśmiennictwo

- [1]. Sakalihasan, N., R. Limet, and O. Defawe, Abdominal aortic aneurysm. *Lancet*, 2005; 365: 1577-89.
- [2]. Alexander, J., The pathobiology of aortic aneurysms. *Journal of Surgical Research*, 2004; 117: 163-175.
- [3]. Li, Z. and C. Kleinstreuer, Analysis of biomechanical factors affecting stent-graft migration in an abdominal aortic aneurysm model. *Journal of Biomechanics*, 2006; 39: 2264-2273.
- [4]. Davies, M., Aortic aneurysm formation: lessons from human studies and experimental models. *Circulation*, 1998a; 98: 193-195.
- [5]. Kobielarz, M., R. Będziński, S. Szotek, P. Kuroпка, and J.J. Gnus, In vitro analysis of directional mechanical properties of the walls of abdominal aorta and the abdominal aortic aneurysm. *Meccanica*, w druku.
- [6]. Kobielarz, M., S. Szotek, P. Kuroпка, and K. Kaleta, Właściwości mechaniczne i strukturalne tętniaków aorty brzusznej. *Inżynieria Biomateriałów*, 2008; 11: 98-100.
- [7]. Cooggon, D., C. Martyn, and C. Osmond, Mortality from aortic aneurysms in migrants between countries of England and Wales: evidence for causes acting early in life. *QJM*, 1997; 90: 133-137.

References

- [8]. Rucker, R., T. Kosonen, M. Clegg, A. Mitchell, B. Rucker, J. Uriu-Hare, and C. Keen, Copper, lysyl oxidase, and extracellular matrix protein cross-linking. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1998; Suppl 67: 996-1002.
- [9]. Longo, M., S. Buda, N. Fiotta, W. Xiong, T. Griener, S. Shapiro, and T. Baxter, MMP-12 has a role in abdominal aortic aneurysms in mice. *Surgery*, 2005; 137: 457-462.
- [10]. Brady, A., S. Thompson, G. Fowkes, R. Greenhalgh, and J. Powell, Abdominal aortic aneurysm expansion. Risk factors and time intervals for surveillance. *Circulation*, 2004; 110: 16-21.
- [11]. Lindholt, J., L. Heickendorff, S. Vammen, H. Fasting, and E. Henneberg, Five-year results of elastin and collagen markers as predictive tools in the management of small abdominal aortic aneurysms. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 2001; 21: 235-240.
- [12]. Eriksson, P., K. Jones, L. Brown, R. Greenhalgh, A. Hamsten, and J. Powell, Genetic approach to the role of cysteine proteases in the expansion of abdominal aortic aneurysms. *British Journal of Surgery*, 2004; 91: 86-89.
- [13]. Carmo, M., L. Colombo, A. Bruno, F. Corsi, L. Roncoroni, M. Cuttin, F. Radice, E. Mussini, and P. Settembrini, Alteration of elastin, collagen and their cross-links in abdominal aortic aneurysms. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 2002; 23: 543-549.