

OCENA HISTOLOGICZNA I ULTRA-STRUKTURALNA ŚCIAN TĘTNIAKÓW AORTY BRZUSZNEJ

MAGDALENA KOBIELARZ^{1,5}, KRZYSZTOF MAKSYMOWICZ^{2,5},
KATARZYNA KALETA³, PIOTR KUROPKA³, KRZYSZTOF MARYCZ⁴,
ROMUALD BĘDZIŃSKI^{1,5}

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

²KATEDRA MEDYCYNY SĄDOWEJ, WYDZIAŁ LEKARSKI, AKADEMIA MEDYCZNA IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH, WROCŁAW, POLSKA

³KATEDRA ANATOMII I HISTOLOGII, WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ, UNIWERSYTET PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU, WROCŁAW, POLSKA

⁴PRACOWNIA MIKROSKOPII ELEKTRONOWEJ, WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ, UNIWERSYTET PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU, WROCŁAW, POLSKA

⁵WOJEWÓDZKI SZPITAL SPECJALISTYCZNY WE WROCŁAWIU, OŚRODEK BADAWCZO-ROZWOJOWY

Streszczenie

Rozwój tętniaków, w tym aorty brzusznej (AAA) jest dynamicznym procesem, który zachodzi w wyniku wieloczynnikowego, patologicznego remodelingu tkanki łącznej ściany aorty. Badania strukturalne ścian naczyń tętnicznych (zdrowych i z tętniakiem) przeprowadzono w oparciu o analizę histologiczną i ultrastrukturalną. Analiza porównawcza wyników wykazała, że w przypadku preparatów ścian tętniaków aorty brzusznej odnotowano cały szereg zmian, które są charakterystyczne dla rozważanego schorzenia, w tym: wzmożony proces neowaskularyzacji oraz obecność nacieku zapalnego. Ponadto, odnotowano zatarcie granic między warstwami oraz redukcję ich grubości, co szczególnie zaznaczyło się w przypadku błony wewnętrznej. Zaobserwowano istotny ubytek włókien elastynowych oraz zmienny co do intensywności w poszczególnych przypadkach ubytek włókien kolagenowych. Wykazano także, że zmiany w liczbie włókien tkanki łącznej odgrywają kluczową rolę w procesie rozwoju AAA.

Słowa kluczowe: aorta brzuszna, tętniak, włókna elastynowe, włókna kolagenowe
[Inżynieria Biomateriałów, 99-101, (2010), 83-87]

Wprowadzenie

Tętniak aorty brzusznej (AAA) to trwałe i postępujące, lokalne poszerzenie aorty brzusznej o minimum 50% w stosunku do jej prawidłowej średnicy. AAA występuje głównie w podnerkowej części aorty brzusznej [1,2]. Tętniak aorty brzusznej powstaje w wyniku wieloczynnikowego, patologicznego remodelingu tkanki łącznej ściany aorty [3]. Przyczyna prowadząca do powstania tętniaka nie jest jeszcze znana. Potencjalnie, proces rozwoju AAA może być wywołany między innymi przez deficyt miedzi, cynku lub kwasu askorbinowego [4,5]. Wiele badań przeprowadzonych w ciągu ostatnich kilku lat wskazuje, że inicjację, rozwój oraz pęknięcie tętniaka powoduje degradacja białek strukturalnych ściany aorty, czyli elastyny i kolagenu [6-8], wywołana przez proteolityczne enzymy z rodziny endopeptydaz, głównie reprezentowane przez metaloproteiny macierzy pozakomórkowej (MMP) [1,9].

HISTOLOGICAL AND ULTRA-STRUCTURAL EVALUATION OF THE WALLS OF ABDOMINAL AORTIC ANEURYSMS

MAGDALENA KOBIELARZ^{1,5}, KRZYSZTOF MAKSYMOWICZ^{2,5},
KATARZYNA KALETA³, PIOTR KUROPKA³, KRZYSZTOF MARYCZ⁴,
ROMUALD BĘDZIŃSKI^{1,5}

¹DIVISION OF BIOMEDICAL ENGINEERING AND EXPERIMENTAL MECHANICS, INSTITUTE OF MACHINE DESIGN AND OPERATION, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, WROCLAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, POLAND

²DEPARTMENT OF FORENSIC MEDICINE, MEDICAL FACULTY, WROCLAW MEDICAL UNIVERSITY, POLAND

³DEPARTMENT OF ANATOMY AND HISTOLOGY, FACULTY OF VETERINARY MEDICINE, WROCLAW UNIVERSITY OF ENVIRONMENTAL AND LIFE SCIENCE, POLAND

⁴ELECTRON MICROSCOPE LABORATORY, WROCLAW UNIVERSITY OF ENVIRONMENTAL AND LIFE SCIENCES, POLAND

⁵REGIONAL SPECIALIST HOSPITAL IN WROCLAW, RESEARCH AND DEVELOPMENT CENTRE, POLAND

Abstract

The development of abdominal aortic aneurysm (AAA) is a dynamic process proceeding as a result of the multi-factor pathological remodelling of the connective tissue. Structural investigations of normal and aneurysmal vessels were carried out on the basis of histological and ultrastructural examinations. A comparative analysis of the experimental results revealed a whole series of changes characteristic of the AAA walls (intensified neovascularisation and inflammatory infiltrations). In addition, the boundaries between the layers were found to be blurred and the thickness of the layers was reduced. A substantial loss of elastin fibres and a case-specific loss of collagen fibres were observed. The number of connective tissue fibres play a key role in the AAA development.

Key words: abdominal aorta, aneurysm, elastin fibres, collagen fibres
[Engineering of Biomaterials, 99-101, (2010), 83-87]

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. The AAA occurs mainly in the infrarenal part of the abdominal aorta [1, 2]. An abdominal aortic aneurysm arises as a result of the many-factor pathologic remodelling of the aorta's connective tissue [3]. The cause leading to an AAA is still unknown. Potentially, the development of an AAA can be induced by, among other things, copper, zinc or ascorbic acid deficiency [4, 5]. 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 [6-8], induced by proteolytic enzymes from the endopeptidase family, represented mainly by matrix metalloproteinases (MMP) [1,9].

Material and methods

The experimental material had the form of 87 preparations of normal abdominal aortas (NAA) (average age of

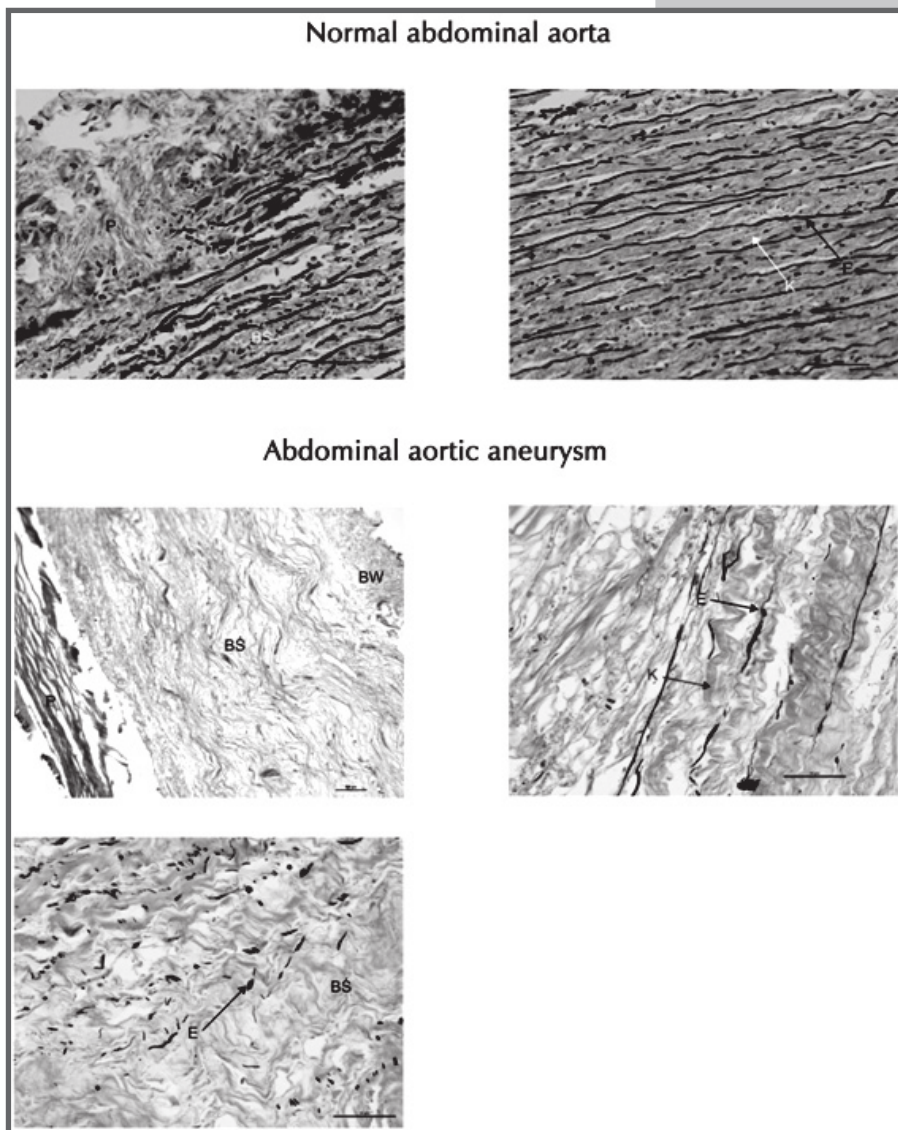
Materiał badawczy stanowiły 87 preparatów ścian zmienionych patologicznie aort brzusznych (NAA) (średni wiek dawców: 66 ± 11 lat) oraz 96 preparatów ścian tętniaków aorty brzusznej (AAA) (średni wiek dawców: 68 ± 9 lat). Zgodę na przeprowadzenie badań oraz pozyskanie w tym celu materiału biologicznego wydała Komisja Bioetyczna przy Akademii Medycznej we Wrocławiu na podstawie decyzji nr KB-220/2010. Bezpośrednio po pobraniu, materiał biologiczny umieszczano w roztworze soli fizjologicznej i przechowywano w temperaturze 4°C .

donors: 66 ± 11 years) and 96 abdominal aorta aneurysm walls (AAA) (average age of donors: 68 ± 9 years). The permission to carry out the experiments and to acquire biological material for this purpose was granted by the Bioethical Committee at Wrocław Medical University on the basis of decision KB-220/2010. Immediately after it was taken, the biological material was placed in a physiologic salt solution and stored at a temperature of 4°C .

For the purpose of histological analysis, vascular wall segments 10mm^2 in area were fixed in a 4% solution of formalin for 48 hours, washed under running water, dehydrated in an alcohol series, cleared in methyl benzoate and xylene and then embedded in paraffin. The cubes of experimental material were sliced in a Micron (Zeiss) microtome into $5\ \mu\text{m}$ sections which were stained with haematoxylin and eosin according to Delafield, by the Azan-Novum method according to Geidies and by using Verhoff's method and Van Gieson's method to differentiate the collagen and elastin fibres in the connective tissue. The stained preparations were viewed under an Axiolmager M1m (Zeiss) microscope. Aortic wall fragments $10\ \text{mm}^2$ in area constituted the material for ultrastructural examinations. The experimental material was fixed in a 2,5% phosphate-buffered glutaraldehyde, dehydrated in an acetone series, then dried and stuck onto microscope stages, using carbon glue. For the purpose of ultrastructural analysis the previously dried material had to be sprayed with gold. The preparations were viewed under a Leo 435 VP (Zeiss) electron microscope and the image was recorded in high vacuum.

Results and discussion

No significant pathological changes were found in the histological images of the healthy abdominal aortic walls. All the layers were normally formed and no atrophy or significant structural disorders were observed in them (FIG.1a). Numerous elastin fibres (E) were present within the aortic media of the NAA walls (FIG.1a,b). The collagen fibres (K) observed in both the aortic media and the adventitia were morphologically normal (wavy) (FIG.1b). Numerous changes were discovered in the histological images of the abdominal aortic aneurysm walls. Disorders in the laminar structure were observed (FIG.1c). In most cases, the boundaries between the AAA wall layers had become blurred. Most of the aneurysms were found to lack a distinct intima layer. Single elastin fibres (E) randomly occurred in the full histological picture of the aneurysm walls (FIG.1d). In a few cases, elastin fibres fragmentation was observed (FIG.1e). The arrange-



RYS.1. Obrazy histologiczne ścian zdrowych aort brzusznych (NAA) i ścian preparatów tętniaków aorty brzusznej (AAA): a) ściana zdrowej aorty brzusznej (P – przydanka; BS – błona środkowa) w barwieniu według Verhoff'a; b) włókna elastynowe (E) i kolagenowe (K) w obrazie histologicznym błony środkowej ściany NAA (barwienie według Verhoff'a); c) ściana tętniaka aorty brzusznej z rozróżnionymi warstwami (P – przydanka; BS – błona środkowa; BW – błona wewnętrzna); d) pojedyncze włókna elastynowe (E) w ścianie AAA (w barwieniu Van Gieson'a); e) fragmentacja włókien elastynowych (E) w błonie środkowej ściany AAA (w barwieniu techniką Van Gieson'a).
FIG.1. Histological images of normal abdominal aortic walls (NAA) and abdominal aortic aneurysm walls (AAA): a) Verhoff's stain of normal abdominal aortic wall (P – adventitia, BS – media), b) elastin (E) and collagen (K) fibres in histological image of NAA wall media (Verhoff's stain), c) abdominal aortic aneurysm wall with differentiated layers (P – adventitia, BS – media, BW – intima), d) single elastin fibre (E) in AAA wall (Van Gieson's stain), e) fragmentation of elastin fibres (E) in AAA wall media (Van Gieson's stain).

Analizy histologiczne przeprowadzono na wycinkach ścian naczyń o powierzchni 10 mm², które utrwalano w 4% roztworze formaliny przez 48 godzin, płukano w wodzie bieżącej, odwadniano w szeregu alkoholowym, prześwietlano w benzoesanie metylu i ksylenu, a następnie zatapiało w parafinie. Bloczki z materiałem badawczym krojono na mikrotomie Micron (Zeiss) na skrawki o grubości 5 μm, które barwiono: hematoksyliną i eozyną według Delafield'a oraz metodą Azan-Novum według Geidies'a oraz metodami Verhoff'a i Van Gieson'a, różnicującymi w tkance łącznej włókna kolagenowe i elastynowe. Zabarwione preparaty oglądano w mikroskopie świetlnym Axiomager M1m (Zeiss). Materiał do badań ultrastrukturalnych stanowiły fragmenty ściany aorty o powierzchni 10 mm². Materiał badawczy utrwalono w 2,5 % roztworze aldehydu glutarowego na buforze fosforanowym, odwodniono w szeregu acetonowym, następnie suszono i naklejano na stoliki używając kleju węglowego. Analiza ultrastruktury wymagała napylenia złota na uprzednio wysuszony materiał. Preparaty oglądano w skaningowym mikroskopie elektronowym Leo 435 VP (Zeiss), a powstały obraz rejestrowano w warunkach wysokiej próżni.

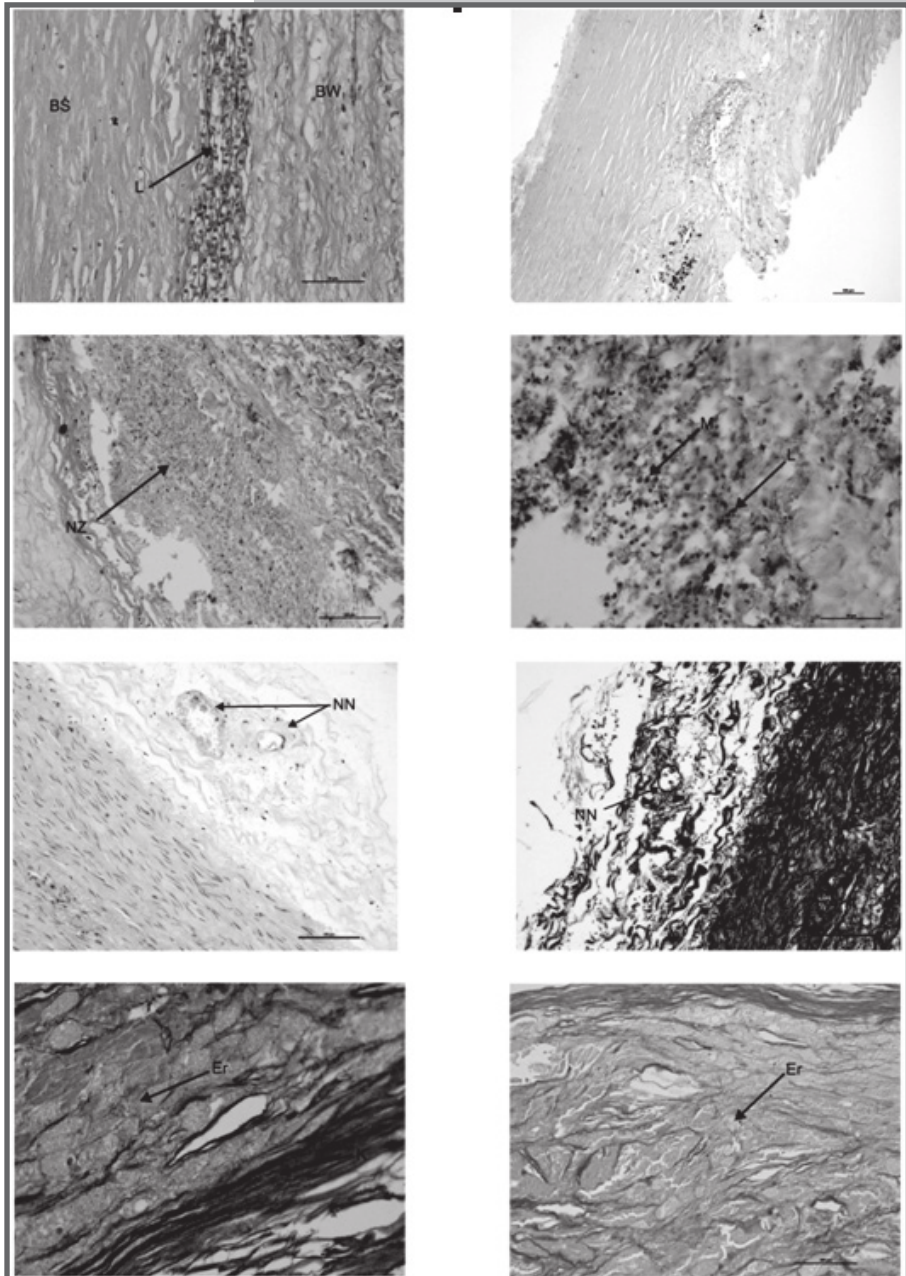
Wyniki i dyskusja

W obrazach histologicznych preparatów zdrowych ścian aort brzusznych nie odnotowano istotnych zmian patologicznych. Wszystkie warstwy ukształtowane były prawidłowo i nie obserwowano ich zaniku ani innych istotnych zaburzeń w ich budowie (RYS.1a). W obrębie błony środkowej preparatów ścian NAA obserwowano licznie występujące włókna elastynowe (E) (RYS.1a,b). Włókna kolagenowe (K), obserwowane zarówno w błonie środkowej, jak i przydancie, miały poprawny morfologicznie, pofalowany przebieg (RYS.1b). W obrazach histologicznych preparatów ścian tętniaków aorty brzusznej odnotowano liczne zmiany. Obserwowano zaburzenia w budowie warstwowej (RYS.1c). W większości przypadków doszło do zatarcia granic między warstwami ścian AAA. Większość ścian tętniaków jest pozbawiona rozpoznawalnej warstwy wewnętrznej. W pełnym obrazie histologicznym preparatów uzyskanych ze ścian tętniaków występowały losowo pojedyncze włókna elastynowe (E) (RYS.1d). W nielicznych przypadkach obserwowano również fragmentację włókien elastynowych (RYS.1e). Układ włókien kolagenowych w preparatach ścian AAA w błonie środkowej naczyń był zaburzony (RYS.1d,e,f).

W obrazach histologicznych prepa-

ment of collagen fibres in the media of the AAA walls was disordered (FIG.1d,e,f).

Inflammatory infiltrations, located on the boundary

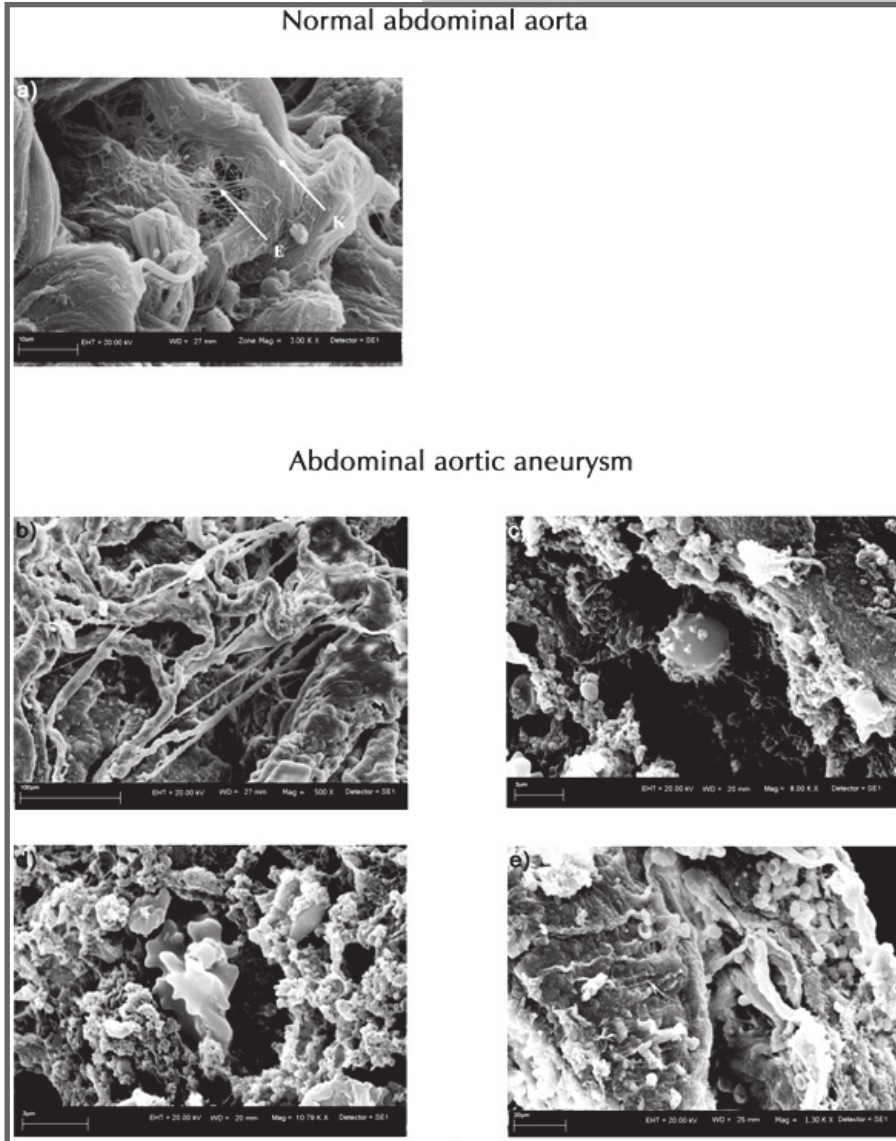


RYS.2. Obrazy preparatów ścian tętniaków aorty brzusznej: a) naciek zapalny umiejscowiony na granicy między błoną środkową (BS) i wewnętrzną (BW) (w barwieniu techniką H&E) b) naciek zapalny w sąsiedztwie złogów wapnia (w barwieniu techniką H&E) c) rozległy naciek zapalny (NZ) (w barwieniu: Azan-Novum); d) naciek zapalny z rozróżnialnymi makrofagami (M) oraz limfocytami (L) (w barwieniu techniką H&E); e) naczynia naczyń (NN) w barwieniu H&E; f) naczynia naczyń (NN) w barwieniu Verhoff'a; g) przesącz osocza i składników morfotycznych krwi (Er – erytrocyty) do wnętrza ściany naczyń w barwieniu Verhoff'a oraz h) przesącz osocza i składników morfotycznych krwi (Er – erytrocyty) do wnętrza ściany naczyń w barwieniu Azan-Novum.

FIG.2. Images of abdominal aortic aneurysm walls: a) inflammatory infiltration located on boundary between media (BS) and intima (BW) (H&E stain), b) inflammatory infiltration in vicinity of calcium deposits (H&E stain), c) extensive inflammatory infiltration (NZ) (Azan-Novum stain), d) inflammatory infiltration with discernible macrophages (M) and lymphocytes (L) (H&E stain), e) vasa vasorum (NN) (H&E stain), f) vasa vasorum (NN) (Verhoff's stain), g) infiltration of blood plasma and morphotic blood components (Er – erythrocytes) into vascular wall (Verhoff's stain) and h) infiltration of blood plasma and morphotic blood components (Er – erythrocytes) into vascular wall (Azan-Novum stain)

ratów ścian tętniaków aorty brzusznej obserwowano obecność nacieków zapalnych, które umiejscawiały się na granicy między błoną środkową (BŚ) i wewnętrzną (BW) (RYS.2a), ewentualnie w sąsiedztwie złogów wapnia oraz całkowicie ukształtowanych blaszek miażdżycowych (rys. 2. b). Nacieki zapalne złożone były w przeważającej części z limfocytów oraz makrofagów (RYS.2d). Obserwowano także wzmożony proces neowaskularyzacji ścian tętniaków (RYS.2e,f). Naczynia naczyń (vasa vasorum) występowały zarówno w przydanie, co jest cechą fizjologiczną, jak również w warstwie środkowej ścian tętniaków aorty brzusznej, co jest zdecydowanie patologią. Nieliczne przypadki preparatów ścian tętniaków wykazywały cechy pęknięcia. W tych preparatach zaobserwowano we wnętrzu ściany naczynia obecność osocza, a nawet składników morfotycznych krwi (RYS.2g,h). Przesąc osocza do wnętrza ściany wywoływał rozsunięcie się włókien kolagenowych i powstanie przestrzeni, które wypełniał tworzący się skrzep (RYS.2h).

W obrazach preparatów ścian zdrowych aort brzusznych w skaningowym mikroskopie elektronowym obserwowano charakterystyczne, poprawne morfologicznie ułożenie włókien, które tworzą trójwymiarową sieć (RYS.3a). W zdecydowanej większości preparatów ścian NAA obserwowano występowanie blaszek miażdżycowych lub złogów wapnia, zlokalizowanych na granicy między błoną wewnętrzną a środkową. Obrazy SEM ścian tętniaków aort brzusznych wykazały, że przebieg włókien kolagenowych w przydanie był zaburzony i w większości analizowanych przypadków układ włókien kolagenowych miał charakter wyprostny (zbliżony do liniowego) (RYS.3b). Obserwowano również występowanie komórek nacieku zapalnego – odnotowano obecność limfocytów w ścianach tętniaków aorty brzusznej (RYS.3c). W przypadkach, w których zauważono cechy pęknięcia ściany tętniaka rejestrowano występowanie



RYS.3. Obrazy SEM ścian zdrowych aort brzusznych (NAA) i tętniaków aort brzusznych (AAA): a) włókna elastynowe (E) i kolagenowe (K) w błonie środkowej ściany NAA; b) wyprostny przebieg włókien kolagenowych w przydanie ściany AAA; c) limfocyt (L) widoczny w ścianie AAA; d) rozpadający się i degradujący erytrocyt (Er); e) krwitek objęty przez elementy łącznotkankowe (Er – erythrocyty).

FIG.3. SEM images of walls of normal abdominal aortas (NAA) and abdominal aortic aneurysms (AAA): a) elastin (E) and collagen (K) fibres in NAA wall media; b) straight-linear shape of collagen fibres in adventitia of AAA wall; c) lymphocyte (L) visible in AAA wall; d) disintegrating and degrading erythrocyte (Er); e) thrombus enveloped by connective tissue elements (Er – erythrocytes).

wall (FIG.2g,h). The infiltration of blood plasma into the wall resulted in the separation of collagen fibres and the creation of a space which would be filled with a forming thrombus (FIG.2h).

The characteristic morphologically normal arrangement of fibres (forming a three-dimensional network) was observed in SEM images of the normal abdominal aortic walls (FIG. 3a). Atheromatous plaques (or at least calcium deposits), located on the boundary between the intima and the media, were found in most of the NAA walls. SEM images of the abdominal aortic aneurysm walls showed that the shape of collagen fibres in the adventitia was disordered and in most of the examined cases it was almost straight-linear (FIG.3b). Also inflammatory infiltration cells (lymphocytes in the walls of the abdominal aortic aneurysms) were found

between the media (BS) and the intima (BW) (FIG.2a) or in the vicinity of calcium deposits or fully formed atheromatous plaques (FIG.2b), were observed in the histological images of the abdominal aortic aneurysm walls. The inflammatory infiltrations consisted mainly of lymphocytes and macrophages (FIG.2d). Also intensified neovascularization of the aneurysm walls was observed (FIG.2e, f). Vasa vasorum occurred in both the adventitia (which is normal) and the abdominal aortic aneurysm wall media (which is clearly pathological). Only in a few cases, the aortic aneurysm walls showed rupture symptoms. In such preparations blood plasma, and even morphotic blood components, were found to be present inside the vascular

elementów morfotycznych, które degradując w ścianie naczyń otaczane są przez łącznotkankowe komponenty strukturalne, co nadaje ścianie naczyń specyficzny wygląd przypominający obszar nekrozy (RYS.3d,e).

W procesie rozwoju tętniaka dochodzi do ubytku włókien elastynowych oraz kolagenowych, przy czym ubytek włókien elastynowych jest pierwszym zjawiskiem obserwowanym w procesie rozwoju AAA, natomiast znamienne zmniejszenie liczby włókien kolagenowych, które początkowo przejmują funkcje włókien elastynowych w procesie przenoszenia obciążeń, zachodzi dopiero w końcowym etapie rozwoju tętniaka. Potwierdza to wcześniej wysuniętą tezę, że ubytek włókien elastynowych w ścianie tętniaka aorty brzusznej związany jest głównie z rozwojem tętniaka, natomiast przerwanie ciągłości ściany tętniaka odnoszone jest do procesu degradacji włókien kolagenowych [10-13]. Degradacja włókien elastynowych i kolagenowych może być związana z procesami zapalnymi [7,14]. Badania histologiczne ścian tętniaków wykazały istnienie rozległych nacieków zapalnych w większości analizowanych przypadków, co potwierdziły także obserwacje innych autorów [15]. Przyczyna powstawania procesu zapalnego nie jest znana. Możliwe, że jest to wynik reakcji autoimmunologicznej lub odpowiedź na działania różnego typu czynników zapalnych lub zakaźnych, jak np.: *Chlamydia pneumoniae* [16]. Komórki zapalne w warstwie środkowej i przydanie mogą pochodzić bezpośrednio z krwi, która dostarczana jest do ściany przez nowo powstające naczynia naczyn, w wyniku wzmoczonego procesu neowaskularyzacji [1].

Podziękowania

Pracę zrealizowano 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.

to be present (FIG.3c). In the cases when symptoms of aneurysm wall rupture were noticed, morphotic elements occurred which as they degrade are enveloped by structural connective tissue components whereby the vascular wall acquires a characteristic appearance resembling a necrotic area (FIG.3d,e).

As the AAA develops, the number of elastin and collagen fibres decreases. First the loss of elastin fibres is observed while a reduction in the number of collagen fibres, which initially take over the load bearing functions of the elastin fibres, takes place only in the final stage in the development of the AAA. This corroborates the thesis proposed earlier that the loss of elastin fibres in the AAA wall is connected mainly with the development of the aneurysm while the breaking of AAA wall continuity is linked with the degradation of collagen fibres [10-13]. The degradation of elastin and collagen fibres may be linked with the inflammatory process [7,14]. Our histological examinations of the walls of aneurysms revealed extensive inflammatory infiltrations in most of the cases, which other authors observations corroborated [15]. The cause of the inflammatory process is unknown. It could be the result of an immune response or a response to various inflammatory or infectious agents, e.g. *Chlamydia pneumoniae* [16]. The inflammatory cells in the media and in the adventitia may come directly from the blood which is supplied to the wall by the newly forming (as a result of intensified neovascularization) vessels of the vessels (*vasa vasorum*) [1].

Acknowledgements

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]. Sakalihan, N., R. Limet, and O. Defawe, Abdominal aortic aneurysm. *Lancet*, 2005; 365: 1577-89.
- [2]. Li, Z. and C. Kleinstreuer, Analysis of biomechanical factors affecting stent-graft migration in an abdominal aortic aneurysm model. *J Biomech*, 2006; 39: 2264-2273.
- [3]. Davies, M., Aortic aneurysm formation: lessons from human studies and experimental models. *Circulation*, 1998; 98: 193-195.
- [4]. 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.
- [5]. 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. *Am J Clin Nutr*, 1998; Suppl 67: 996-1002.
- [6]. 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.
- [7]. 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.
- [8]. 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. *Brit J Surg*, 2004; 91: 86-89.

References

- [9]. Thompson, R. and T. Baxter, MMP Inhibition in abdominal aortic aneurysms rationale for a prospective randomized clinical trial. *Ann NY Acad Sci*, 1999; 878: 159-178.
- [10]. Chang, M. and M. Roach, The composition and mechanical properties of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 1994; 20: 6-13.
- [11]. Dobrin, P. and R. Mrkvicka, Failure of elastin or collagen as possible critical connective tissue alterations underlying aneurysmal dilatation. *Cardiovascular Surgery*, 1994; 2: 484-488.
- [12]. Wills, A., M. Thompson, M. Crowther, R. Sayers, and P. Bell, Pathogenesis of abdominal aortic aneurysms - cellular and biochemical mechanisms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 1996; 12: 391-400.
- [13]. Damme, H., N. Sakalihan, and R. Limet, Factors promoting rupture of abdominal aortic aneurysms. *Acta Chir Belg*, 2005; 105: 1-11.
- [14]. Thompson, M. and G. Cockerill, Matrix Metalloproteinase-2 the forgotten enzyme in aneurysm pathogenesis. *Ann NY Acad Sci*, 2006; 1085: 170-174.
- [15]. Bobryshev, Y., R. Lord, and H. Parsson, Immunophenotypic analysis of the aortic aneurysm wall suggests that vascular dendritic cells are involved in immune responses. *Cardiovasc Surg*, 1998; 6: 240-249.
- [16]. Wassef, M., G. Upchurch, H. Kuivaniemi, and R. Thompson, Challenges and opportunities in abdominal aortic aneurysm research. *J Vasc Surg*, 2007; 45: 192-198.