

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI

CHIRURGICKÁ KLINIKA



Endogenní markery v etiopatogenezi aneuryzmat břišní aorty

Endogenous markers in the etiopatogenesis of abdominal aortic aneurysms

Disertační práce

MUDr. Karel Houdek

Plzeň 2013

Prohlášení k autorství

Předkládaná práce z velké části sumarizuje výsledky vlastní experimentální práce. Osobně jsem vytvářel aneuryzmata u všech zvířat, která byla zahrnuta do studie a odebíral vzorky aneuryzmatických aort. Na dalším zpracování vzorků se podíleli kolegové z Ústavu histologie a embryologie, radioimunologické laboratoře a z proteomické laboratoře Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice v Plzni

Souhlasím s půjčováním disertační práce

MUDr. Karel Houdek

Plzeň 2013

Obsah

I. ČÁST

1 Úvod.....	7
Cíle disertační práce.....	9
2	
2.1 Definice aneuryzmatu	10
2.2.1 Tvar výdutí.....	13
2.2.2 Velikost výdutí.....	14
2.2.2.1 Biomechanika, zvýšená metabolická aktivita, distenzibilita	14
2.2.3 Dělení aneuryzmat dle etiopatogeneze.....	16
2.2.3.1 Kongenitální aneuryzmata	17
2.2.3.2 Dědičná aneuryzmata.....	18
2.2.3.3 Mechanická (hemodynamická) aneuryzmata	18
2.2.3.4 Traumatická aneuryzmata.....	19
2.2.3.5 Inflamatorní (zánětlivá) aneuryzmata.....	19
2.2.3.6 Mykotická (infekční) aneuryzmata	20
2.2.3.7 Aneuryzmata v graviditě.....	21
2.2.3.8 Degenerativní aneuryzmata (idiopatická, dříve aterosklerotická).....	22
3 Historie.....	23
4 Epidemiologie.....	26
5 Etiopatogeneze.....	27
<u> </u> A, Rizikové faktory	28
<u> </u> A1 Rodinná anamneza.....	29
<u> </u> A2 Kouření	29
<u> </u> A3,4 Věk a pohlaví.....	30
<u> </u> A5 Lipidový metabolismus	30
<u> </u> A6 Krevní tlak.....	30
<u> </u> A7 Rasa.....	31
<u> </u> A8 Diabetes.....	31
<u> </u> B, Histologie	31
<u> </u> C, Genetika.....	32
<u> </u> D, Proteolýza	34
<u> </u> E, Zánět a imunitní odpověď	35
<u> </u> F, Oxidační stres.....	36

<u>G, Trombus</u>	37
6 Symptomatologie	41
7 Diagnostika	43
8 Léčba	45
8.1. Současná léčba	45
8.1.1 Komplikace endovaskulární léčby	48
8.2 Farmakologická léčba	52
8.2.1 Beta blokátory	53
8.2.2 Ovlivnění zánětlivé odpovědi	54
8.2.2.1 Imunosuprese	54
8.2.2.2 Nesteroidní protizánětlivé léky	54
8.2.3 Ovlivnění aktivity MMP	55
8.2.4 Asociace s Chlamydiovou infekcí	55
8.2.5 Osa renin – angiotensin a ACE inhibitory	56
8.2.6 Statiny	57

II.ČÁST EXPERIMENT

Cíle projektu	60
1 Úvod	61
2 Metodika	62
2.1 Zvířata, chirurgická část experimentu, sledování, ultrazvuková měření a kontroly, odběr vzorků	62
2.2 Histologické vyšetření	66
2.3 Kvantifikace	67
2.4 Statistika	70
2.5 Proteomika	70
3 Výsledky	71
3.1 Průměr aorty	71
3.2 Elastin, kolagen a tloušťka stěny	74
3.3 Exprese aktinu, desminu a vimentinu ve stěně aneuryzmatu	74
3.4 Hustota a distribuce vasa vasorum	77
3.5 Zánětlivá infiltrace	77

3.6 Korelace kvantitativních parametrů	78
3.7 Složení aortální stěny	79
3.8 Proteomická analýza	80
4 Diskuze k experimentální práci	81
4.1 Zvětšování průměru aorty u zvířat neovlivněných statinem?	81
4.2 Větší množství elastinu u zvířat léčených statinem	82
4.3 Změna v syntetický fenotyp VSMC, nejsou-li podávány statiny	83
4.4 Větší hustota vasa vasorum v adventicii a medii zvířat ovlivněných statinem	84
4.5 Zánětlivá infiltrace	85
4.6 Proteomická analýza	86
4.7 Možná extrapolace výsledku experimentu do humánní medicíny	86
5 Souhrn experimentální práce a výstupy pro klinickou praxi	88
5.1 Vznik a růst aneuryzmatu	88
5.2 Elastin	88
5.3 Kolagen	88
5.4 Buňky hladké cévní svaloviny	88
5.5 Vasa vasorum	89
5.6 Tloušťka stěny aneuryzmatu	89
5.7 Zánětlivá infiltrace ve stěně výdutě	89
5.8 Proteomická analýza	89
5.9 Význam pro klinickou praxi	90
 <u>III. ČÁST Diskuze a závěr k disertační práci</u>	
9 Diskuze	92
9.1 Trendy	93
9.1.1 Screeningové programy	93
9.1.2 Endogenní markery	95
9.2.1 Primární diagnostika	96
9.2.2 Léčba a prevence	97
10 Závěr	101
11 Použité zkratky	104
12 Citovaná literatura	105

I. Část

1 Úvod

S neustále stárnoucí populací, s narůstajícím užíváním moderní diagnostické techniky, díky osvětě a erudici zdravotnických pracovníků napříč všemi odbornostmi a v některých zemích i za přispění screeningových programů se neustále zvyšuje záchyt pacientů s aneuryzmatem břišní aorty. Prevalence se dle nejnovějších epidemiologických studií pohybuje od 2 do 6% (1) (2) (3) (4) (5). Aneuryzma se také posunuje na vyšší příčky v příčinách úmrtí ve vyspělých zemích. Často bývá aneuryzma zjištěno jako vedlejší nález při vyšetřování jiných onemocnění při provádění sonografických vyšetření a vyšetření počítačovou tomografií.

Rostoucí aneuryzma zřídka působí pacientům nějaké potíže a jeho jediným projevem může být až ruptura, která bývá ve vysokém procentu smrtelná (6)

Bohužel zatím neznáme v řadě případů etiologii tohoto onemocnění. Na vině mohou být i autoimunní a genetické dispozice (7). Neznáme ani účinnou prevenci tohoto onemocnění a stejně tak ani účinnou konzervativní medikamentózní léčbu a jedinou terapií zatím stále zůstává léčba chirurgická. Ani ta však v případě ruptury není vždy úspěšná.

Indikační kritéria k zahájení chirurgické léčby výdutě břišní aorty vycházejí z výsledků velkých studií (8) (9), které sledovaly a porovnávaly riziko ruptury aneuryzmat dle jejich velikosti s výsledky chirurgické léčby a riziko ruptury při pouhém sledování vývoje bez léčby. Proto je v současné době k léčbě indikován jen pacient s výdutí, která splňuje tato kritéria a nebo pacient se symptomatickou výdutí. Ostatní výdutě jen pravidelně kontrolujeme, ale nijak terapeuticky neovlivňujeme. Bohužel se setkáváme i

s rupturou aneuryzmat, která nedosáhly indikační velikosti. Samotná velikost a nebo rychlost růstu proto není jediným faktorem ovlivňujícím riziko ruptury. Současným trendem je logicky snaha detailněji poznat etiopatogenezi rozvoje výdutí, snaha pokusit se objasnit všechny patofyziologické mechanismy, které se podílejí na vzniku, růstu a ruptuře výdutí a snaha pokusit se konzervativní léčbou předcházet rychlému růstu aneuryzmat a jejich ruptuře právě v těch případech, kdy není chirurgická léčba zatím indikovaná. Pokud by se podařilo najít takovou účinnou prevenci, jistě by to byl přínos medicínský pro každého jednotlivého pacienta, ale i přínos pro celou společnost po stránce socioekonomické – snížení nákladů na chirurgickou péči, snížení mortality a morbidit pacientů.

Přestože bylo dosud publikováno mnoho prací, které se zabývaly novými poznatky na poli etiopatogeneze výdutí (10) a možnostmi jejich farmakologického ovlivňování (11) (12), jsou výsledky v některých případech ne zcela jednoznačné nebo někdy i protichůdné. Výzkumy probíhající na experimentálně modelovaných aneuryzmatech byly většinou prováděny na „malých“ zvířecích modelech.

Cíle disertační práce

Cílem této práce by mělo být přispění k lepšímu poznání etiopatogeneze vzniku a rozvoje aneuryzmatu, dílčích pochodů a interakcí, které mají podíl na růstu aneuryzmatu a jeho ruptuře a také obhájení možnosti farmakologického ovlivění těchto pochodů podáváním konkrétních léků – statinových preparátů. Těchto poznatků bychom mohli využít při vyhledávání pacientů s tímto onemocněním, při sledování pacientů s již poznaným onemocněním, a nebo při rozvaze, indikaci a správném načasování léčby. Práce využívá shrnutí nejnovějších poznatků a vlastních výsledků experimentální práce, která byla zaměřena na poznání účinku statinů na růst experimentálního aneuryzmatu břišní aorty u velkého laboratorního zvířete (prase) a na poznání histologických změn ve stavbě jeho stěny, které jsou navozeny podáváním statinového preparátu.

Pouze detailně poznaná etiopatogeneze aneuryzmatu břišní aorty nás může přivést k úspěšné konzervativní léčbě a prevenci tohoto onemocnění.

2

2.1 Definice aneuryzmatu

Výduť – aneuryzma je původem z řečtiny. Řecké *aneurynein* znamená otvírat.

Pokud o výduti hovoříme ve spojení s tepnami, pak tímto pojmem označujeme jakékoliv rozšíření průměru tepny nad 1,5 násobek průměru tepny nepostižené. Pokud rozšíření tepny či tepen není lokalizované ale postihuje celou tepnu nebo více tepen, pak tento jev označujeme jako arteriomegalie. Setkáváme se i s rozšířením tepen, které nedosahuje 1,5 násobku očekávaného průměru zbytku tepny a pak hovoříme o ektázii. Průměry tepen nejsou konstantní a liší se mezi jednotlivými jedinci, v závislosti na pohlaví, stáří a konstituci jedince. Proto je definice aneuryzmatu postavena takto a ne konkrétním číselným údajem. Rutherford sestavil tabulku (Tab.1) předpokládaných průměrů subrenální aorty v závislosti na věku a pohlaví, která může sloužit k orientaci a ze které můžeme vycházet (13).

Tab.1 Rozměry břišní aorty v závislosti na věku a pohlaví (Rutherford 1995)

Věk	<40	40-49	50-59	60-69	>70	průměr
Muži	2,1	2,2	2,3	2,3	2,4	2,3
ženy	1,7	1,8	1,9	2	2	1,9

2.2 Rozdělení výdutí

Aneuryzmata můžeme rozdělovat podle několika různých hledisek (tvar, etiologie, velikost, symptomy). Někdy se k aneuryzmatům řadí i dříve označovaná tzv. disekující aneuryzmata. Tato dělení se týkají všech aneuryzmat, nejen aneuryzmat na břišní aortě. Některé typy se sice v oblasti břišní aorty nevyskytují nebo se vyskytují vzácně, ale jsou zde uvedeny pro celistvost sdělení. I některé zřídka se objevující typy aneuryzmat mohou pomoci k pochopení všech možných mechanismů a interakcí vedoucích k rozvoji aneuryzmat.

Výdutě na aortě nemusejí postihovat pouze izolovaný krátký úsek aorty. Často se setkáváme s aneuryzmaty, které postihují současně a plynule prakticky celou aortu, jindy mohou postihovat samostatně hrudní a břišní aortu s různě dlouhým segmentem nepostižené aorty.

Crawford rozdělil výdutě takto (14):

Typ I – postižení mezi odstupen levé podklíčkové tepny k renálním tepnám

Typ II – postižení od odstupu levé podklíčkové tepny včetně břišní aorty

Typ III – postižení od úrovně 6.mezižebního prostoru včetně břišní aorty

Typ IV – postižení od úrovně 13. mezižebního prostoru (bráničního hiátu) po aortální bifurkaci

Typ V – postižení od úrovně 6.mezižebního prostoru k renálním tepnám

Toto rozdělení je důležité nejen z hlediska anatomického, ale pro chirurga především k volbě strategie léčby. Musíme mít dále na paměti, že aneurymaticky postižené mohou být i pánevní a končetinové tepny. Až 50% pacientů s aneurymatickým postižením periferních tepen (arteria poplitea) má současně i výduť břišní aorty (AAA) (15).

Jako pravé aneuryzma označujeme rozšíření tepny, jehož stěna má stejné vrstvy jako cévní stěna. Obsahuje tunica intima, media a tunica adventitia. Nepravé aneuryzma – pseudoaneuryzma vlastně není rozšířením cévy, ale ohraničeným pulzujícím hematodem. Toto ohraničení tvoří okolní tkáň a nemá tedy skladbu cévní stěny. Nejčastěji vznikají následkem traumatu (tupá i ostrá poranění), perforací aterosklerotického plátu nebo infekcí stěny tepny. Asi nejvíce jsou v dnešní době zastoupena pseudoaneuryzmata po radiointervenčních výkonech a pseudoaneuryzmata v anastomózách.

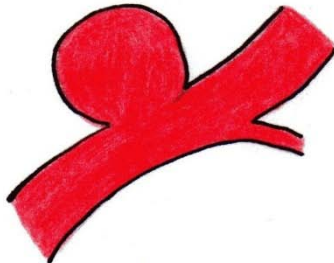
V souvislosti s aortou a aneuryzmaty se dříve hovořilo také o disekujícím aneuryzmatu. Disekující aneuryzma je dnes již nepřesný termín. Jedná se o rozštěpení tepenné stěny, které způsobí její rozšíření.

Vzniká traumatem intimy, kterým dojde ke krvácení do stěny cévy se separací jednotlivých vrstev stěny a často se tak vytvoří falešné lumen. Dnes tento stav označujeme jen jako disekci pro zcela jiný etiopatogenetický podklad než na jakém vznikají pravá aneuryzmata.

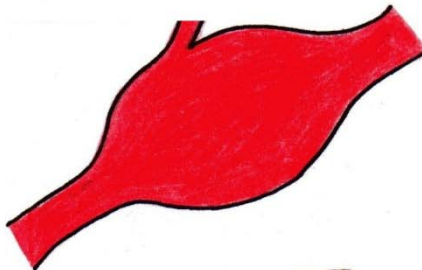
2.2.1 Tvar výdutí

SAKULÁRNÍ

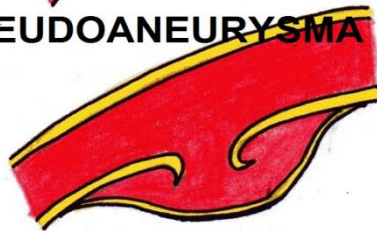
(POTRAUMATICKÁ, INFEKČNÍ, MOZKOVÁ)



FUSIFORMNÍ



PSEUDOANEURYSMA



převzato (16)

2.2.2 Velikost výdutí

Rozdělení výdutí dle velikosti má především klinický význam. Velikost měříme jako předozadní i příčný průměr v místě největšího rozšíření. Zatím všemi akceptovaným prognostickým faktorem možné ruptury aneuryzmatu je právě jeho velikost nebo rychlost růstu. Tento konsensus je dán výsledky studií, které srovnávají riziko ruptury a rizika elektivní operace. Velké randomizované studie, které proběhly byly UKSAT(UK Small Aneurysm Trial) a ADAM (9) (8). Na základě výsledků studií mají větší riziko ruptury velká aneuryzmata nebo aneuryzmata, která se rychle zvětšují. Proto rozdělujeme aneuryzmata na malá (průměr výdutě do 5 cm), velká (průměr výdutě nad 5 cm) a na aneuryzmata rychle rostoucí (zvětšení průměru v průběhu 6 měsíců o více jak 0,5 cm). U posledních dvou skupin je indikovaná operační léčba. Setkáváme se ale i s rupturou malých aneuryzmat. Je tedy zřejmé, že velikost není jediným kritériem, který rozhoduje o ruptuře. Podstatnou úlohu budou hrát i mechanické vlivy proudění krve v aneuryzmatu a aktivita procesů zánětlivé reakce probíhající v cévní stěně.

2.2.2.1 Biomechanika, zvýšená metabolická aktivita, distenzibilita

Při srovnávání výsledku zobrazovacích metod a pitevních nálezů je patrné, že k ruptuře aneuryzmat často nedochází v místě maximální dilatace. Je tedy zřejmé, že míra dilatace není přímým ukazatelem místa možné ruptury. Částečné vysvětlení dávají výsledky studií, které zkoumaly vliv intraluminálního trombu na stěnu cévy, které potvrdily, že stěna krytá trombem bývá tenčí a s vystupňovanou elastinolýzou, a že prokrvácení a fragilita trombu je rizikovým faktorem ruptury (17). O míře aktivity procesů –

zánětu odehrávajících se v cévní stěně by nám mohla poskytnout informace pozitronová emisní tomografie s CT zobrazením, která je založená na vyšším vychytávání media (^{18}F -fluorodeoxyglukóza) v místech s větším metabolickým obratem (18). To je pak interpolováno do CT obrazu. Při srovnávání vyšetření v čase můžeme odhadnout rizikové pacienty ohrožené rupturou. Bohužel tato hypotéza nebyla zcela jednoznačně potvrzena (19). Někteří autoři uvádějí korelaci vyššího vychytávání FDG s vyšší hladinou MMP9 a větší infiltraci makrofágy (20), ale dle jiných autorů naopak nižší vychytávání glukózy může znamenat rychlejší progresi aneuryzmatu (21). Byla zkoušena i jiná média - ^{11}C -PK11195 cílený na protein specifický pro makrofágy a ^{11}C -d-deprenyl značící další receptor, dosud blíže nespecifikovaný, exprimovaný v průběhu chronické zánětlivé reakce. Bohužel ani tyto modifikace PET/CT nedokázali spolehlivě detekovat zánět probíhající ve stěně aneuryzmatu (22). Další důležité informace můžeme získávat spoluprací s fyziky a matematiky prostřednictvím modelů aneuryzmat, které mohou monitorovat a modelovat změny stěny aneuryzmatu a proudění a tok krve v aneuryzmatu na základě provedených CT vyšetření. Je možné měřit distenzibilitu stěny aorty a aneuryzmatu. Distenzibilita stěny normální aorty je podle námi publikované práce vyšší než u stěny aneuryzmatické. Úlohu jakéhosi nárazníku hraje trombus. Na základě těchto výsledků, by míra distenzibility opět mohla pomoci odhalit aneuryzmata s vyšším rizikem ruptury (23).

Další provedené studie prokázaly, že k růstu aneuryzmatu nedochází ve všech místech stejnou rychlostí a pomocí takovýchto modelů bychom mohli rozpoznat riziková aneuryzmata. Zajímavé by jistě bylo korelovat tyto výsledky s výsledky PET/CT. Dá se předpokládat, že místa s rychlejší dilatací, budou místa s vystupňovanými degradačními procesy, zánětlivou

infiltrací a aktivitou a tedy místa potenciálně riziková s ohledem na možnou rupturu. Spolupráce s matematiky a fyziky přináší další možnosti korelovat histologické změny ve stěně aorty, verifikovanou zánětlivou infiltraci, přítomnost trombu a podobně s dopadem těchto změn na fyzikální vlastnosti cévní stěny. Umožnilo by to vytvářet modely aneurysmat, simulovat různé situace a predikovat tak možná rizika a pomoci odhalit rizikové pacienty.

2.2.3 Dělení aneurysmat dle etiopatogeneze

Na základě etiologie můžeme rozlišovat aneurysmata kongenitální, dědičná (geneticky podmíněný defekt pojivové tkáně), degenerativní, mechanická, postraumatická, infekční a aneurysmata vzniklá v souvislosti s graviditou.

Dělení do jednotlivých skupin je především didaktické. Mezi jednotlivými skupinami často neexistují přesné hranice a na vzniku výdutě se jednotlivé faktory spolupodílí. Takovéto rozdělení ale pomáhá uvědomit si jednotlivé patogenetické pochody a cíleně tak zaměřovat další výzkum a vyhledávat rizikové osoby a skupiny pro prevenci či screeningová vyšetření. Doposud však není etiopatogeneze aneurysmat úplně objasněna.

Dělení aneuryzmat: převzato a upraveno (24)

1. KONGENITALNÍ (VROZENÉ)
2. DĚDIČNÉ
3. MECHANICKÉ (HEMODYNAMICKÉ)
4. TRAUMATICKÉ
5. ZÁNĚTLIVÉ (INFLAMATORNÍ) - neinfekční
6. MYKOTICKÉ - infekční
7. ANEURYZMATA v GRAVIDITĚ
8. DEGENERATIVNÍ ANEURYZMATA (idiopatická, dříve aterosklerotická)

2.2.3.1 Kongenitální aneuryzmata

Jen zcela raritně se setkáváme s aneuryzmaty, která jsou v pravém slova smyslu vrozená. Tedy projevující se nebo vyskytující se již při narození a dozvídáme se o nich spíše formou jednotlivých kazuistických sdělení. Neznáme jasnou příčinu. Do skupiny vrozených aneuryzmat zařazujeme především aneuryzmata, která jsou způsobena vrozenou poruchou pojiva, ale k jejich manifestaci dochází až později v dětství či rané dospělosti. U této skupiny se domníváme, že etiopatogenezi, vzhledem k poruše tvorby tkání, chápeme a známe. Nejčastěji to bývají pacienti s Marfanovým syndromem. Další vrozená onemocnění, u kterých bývá rozvoj aneuryzmat je Ehlers-Danlosův syndrom, Turnerův syndrom,

Menkes syndrom, Fokální ageneze medie, Tuberózní skleróza a Osteogenesis imperfecta.

2.2.3.2 Dědičná aneuryzmata

Dle genealogických sledování se vyskytují rody, ve kterých je výskyt aneuryzmat vyšší, než by odpovídalo incidenci v běžné populaci (25). Studiemi byly již nalezeny genové sekvence či polymorfismy genů, které jsou za vyšší výskyt aneuryzmat v těchto rodinách zodpovědné. Samotná přítomnost genové změny ale patrně není jediným faktorem, který rozhoduje o vzniku výdutě a je zapotřebí dalších rizikových faktorů a interakcí aby genotypové zatížení skutečně skončilo i fenotypovou manifestací vzniku výdutě.

2.2.3.3 Mechanická (hemodynamická) aneuryzmata

Úloha krevního proudu a tlaku krve byla v souvislosti se vznikem a růstem výdutí zvažována vždy. Podle Laplaceova zákona s nárůstem poloměru výdutě roste tlak na stěnu i při stacionárním krevním tlaku. Dilatace má tedy tendenci k progresi, ke vzniku typického aneuryzmatu a v nejhorším případě i k ruptuře. Tímto mechanismem si vysvětlujeme vznik dilatací na tepnách za stenózou (poststenotická dilatace). Dále se obviňuje vznik a účinek turbulentního proudění na cévní stěnu. Vlivem turbulencí

patrně dochází k opakovaným traumatům endotelu, která mohou být spouštěcím mechanismem řady interakcí vedoucích k degeneraci cévní stěny. Turbulence a dysfunkce endotelu dále vedou i k tvorbě trombu. Je zde tedy patrné již zmiňované spolupůsobení více faktorů při rozvoji a růstu aneuryzmat.

2.2.3.4 Traumatická aneuryzmata

V naprosté většině se jedná o nepravá aneuryzmata (pseudoaneuryzmata), která nemají typickou skladbu cévní stěny. Mohou vznikat tupým i ostrým násilím. S narůstajícím množstvím invazivních vyšetřovacích i léčebných postupů se s pseudoaneuryzmaty setkáváme jako s iatrogenním poraněním. Existují však i pravá aneuryzmata, u kterých je traumatická etiologie vysoce pravděpodobná, kdy vlivem opakujících se traumat dochází k remodelaci cévní stěny. Tento vliv bychom mohli předpokládat u výdutí podkolenních tepen.

2.2.3.5 Inflamatorní (zánětlivá) aneuryzmata

Hned v úvodu je nutné upřesnit, že toto označení nevychází tolik z etiopatogeneze, ale spíše z morfologie. Etiopatogeneze těchto aneuryzmat není známá. Nejedná se o aneuryzmata vzniklá působením infekčního agens. Pojmem inflamatorní výdut označujeme aneuryzmata,

kteřá mají výrazně ztluštělou stěnu připomínající retroperitoneální fibrózu. Okolní orgány bývají k těmto výdutím pevně adherující (26). Často pak prokazujeme v určité míře arteriitidu. Vyjíměčně se setkáváme s výdutí u pacientů s neinfekčním zánětlivým postižením cév nebo systémovým zánětlivým onemocněním - Takayasuva arteritis (pulsless disease), Velkobuněčná (temporální) arteritida, Systémový Lupus Erytematodes, Periarteritis nodosa, Behcetova choroba, Kawasaki syndrom.

2.2.3.6 Mykotická (infekční) aneuryzmata

Toto označení není terminologicky zcela přesné. Mykotická infekce jako původce je vzácná. Označení patrně vychází z makroskopického vzhledu postižené tkáně, která mohla připomínat plísňové vegetace (Osler 1885). První takováto aneuryzmata byla pozorována u pacientů s bakteriální endokarditidou. Nejčastějšími původci těchto výdutí bývají Streptokoky, Stafylokoky, Salmonela. Z historického hlediska nesmíme v této kategorii zapomínat na Syfilitická aneuryzmata, nejčastěji ascendentní aorty. Patrně v důsledku zlepšující se úrovně zdravotní péče nejsou infekční aneuryzmata již tak častá jako v minulosti. Můžeme ale předpokládat, že s narůstajícím množstvím kardiovaskulárních radiointervencí, zvětšujícím se počtem imunokompromitovaných osob, stárnoucí populací a i s množstvím drogově závislých osob může opět množství infekčních aneuryzmat narůstat. Lokalita takovýchto aneuryzmat není omezena jen na aortu. Velmi důležité je ale upozornit na skutečnost, že i u aneuryzmat, u kterých se nedomníváme, že by mohla být způsobená infekcí můžeme najít pozitivní kultivační nález. Patrně jde ale o kmeny,

kteřé nejsou tak virulentní. Větší pozornost je věnována bakterii PORPHYROMONAS GINGIVALIS, která je přítomna v dutině ústní, ale byla opakovaně nalezena při kultivacích stěny aneuryzmatické aorty. (27) Mohli bychom se proto domnívat, že u pacientů s onemocněním parodontu dochází k translokaci tohoto patogena, který by mohl být určitým spouštěcím mechanismem při vzniku aneuryzmatu. Dokonce již probíhají experimentální práce na zvířecích modelech, které objasňují vliv a mechanismus účinku této bakterie na vznik výdutě – aktivaci neutrofilů (28) a aktivaci matrixmetaloproteinázy2 (29)

2.2.3.7 Aneuryzmata v graviditě

Vzácně se setkáváme s úmrtím mladých žen v důsledku ruptury aneuryzmatu. Nejsou to jen aneuryzmata aortální, ale i aneuryzmata mozkových, viscerálních nebo periferních tepen. Bývají to často těhotné ženy, u kterých může být vznik aneuryzmatu vysvětlován hormonálními vlivy, vlivy mechanickými – změna hemodynamiky (větší srdeční výdej, větší objem krve) a samozřejmě mohou mít vliv i další nepoznané mechanismy. Těhotné ženy často trpí zhoršením chronické žilní insuficience s otoky a křečovými žilami, často u nich vidáme onemocnění hemoroidálních plexů. Fyziologicky dochází vlivem hormonů ke změně v pojivových tkáních, k uvolnění symphysy pubica, děložních a pánevních ligament. V důsledku těchto změn může patrně docházet i ke vzniku aneuryzmat a výše uvedených onemocnění cév. Jedná se však přesto o raritní případy.

2.2.3.8 Degenerativní aneuryzmata (idiopatická, dříve aterosklerotická)

Jedná se o nejvíce zastoupenou skupinu aneuryzmat. Dříve se označovala jako aneuryzmata aterosklerotická. Důvodem byla přítomnost stejných rizikových faktorů jako u aterosklerózy a je pravdou, že většina pacientů s aneuryzmaty má různě vyjádřenou aterosklerózu na karotických a koronárních tepnách nebo na tepnách dolních končetin. Na druhou stranu se ale setkáváme i s pacienty s aneuryzmaty, kteří nemají aterosklerotické postižení. Podrobnějším studiem rizikových faktorů zjistíme, že některé rizikové faktory pro aterosklerózu např. diabetes mellitus mají efekt opačný u aneuryzmat. Také řada studií srovnávala genové polymorfismy a jednotlivé markery aneuryzmatických pacientů s pacienty s aterosklerózou a se zdravou aortou a našly rozdíly (30) (31). Proto označení aterosklerotická aneuryzmata nepovažujeme za správné, přestože mají některé společné rizikové faktory a i řada patogenetických mechanismů je stejná s aterosklerózou. Protože je tato skupina aneuryzmat jednoznačně nejpočetnější a představuje až 90% všech aneuryzmat (nejen lokalizovaných na břišní aortu, ale i na tepnách končetin), zasluhuje si asi největší pozornost. Dalším důvodem zvýšené pozornosti o tato aneuryzmata je dosud ne zcela rozpoznaná etiopatogeneze, i když se v posledních dvou desítkách let naše poznatky o těchto aneuryzmatech výrazně zlepšily a bylo rozpoznáno množství patologických mechanismů vedoucích k jejich vzniku a vývoji. Principem vzniku je degenerace stěny tepny. Co je ale prvotním inzultem, který navodí tyto změny zatím ale bezpečně nevíme. Právě v této oblasti výzkumu bychom chtěli naší prací přispět k dokonalejšímu poznání celé problematiky.

3 Historie

První operace na aortě a pánevním řečišti byly prováděny právě z důvodu aneuryzmat a jejich ruptury a to daleko dříve než operace pro okluzivní postižení tepen. Prvními pokusy byly ligace pro ruptury aneuryzmat pánevních tepen. Pomineme-li starověk a středověk, vůbec první takováto popsaná operace byla v roce 1817 a provedl ji Astley Cooper. Jeho 38 letý pacient zemřel druhý pooperační den. Stejný osud měl i druhý pacient, 44 letý muž se stejným postižením. Operaci (ligaci) provedl J.H.James v roce 1829. Do začátku 20. století bylo popsáno asi 10 dalších případů ligace aorty. Většinou se jednalo o syfilitická aneuryzmata. Pokusy o ligování aneuryzmat pokračovaly i na začátku 20.století a jednalo se vesměs o pokusy neúspěšné. K ligaci či bandáži se používaly různé materiály včetně hliníkových pásků, především ve snaze zabránit jejich prořezávání cévní stěnou (Tillaux, Morris, Halstead, Keen) (32). Byly prováděny i podobné operace pro výdutě na hrudní aortě (Tuffier) (32). Kummell se v roce 1914 pokusil neúspěšně přešít defekt prasklé výdutě hrudní aorty. První delší přežívání pacienta po podobném typu operace měl až v roce 1921 George Vaughan, který k částečné okluzi výdutě použil bavlnu a pacient přežíval po operaci 25 měsíců (33). Další úspěšnou totální okluzi těsně nad vakem prasklého syfilitického aneuryzmatu provedl u 28 leté ženy Rudolph Matas v roce 1923. Pacientka nezemřela na komplikace této léčby ale po 17 měsících od operace zemřela na tuberkulózu. Matas se snažil léčit aneuryzmata i navozením trombózy pomocí drátu zavedeného do vaku (34). Podobné pokusy činili již předtím Velpeau, Moore, Corradi, Blakemore, King (32). V roce 1940 Pearse a v roce 1943

Harrison se pokusili balit aneuryzma do celofánu (32). Ve dvacátých letech 20.století sice již pokračovatel Jaboulaye a Carreliho, René Leriche prosazuje ideu náhrady postižených cév cévním graftem, ale stále jen na poli okluzivní choroby a ne výdutí (35). Až do 40.let 20.století jsou všechny pokusy o léčbu aneuryzmat víceméně neúspěšné. Zlom nastává až v roce 1944 kdy Alexander s Byronem poprvé úspěšně excidovali aneuryzma s proximální i distální ligací aorty u mladého studenta, kde se aneuryzma vyvinulo pod koarktací aorty (36). Tato operace odstartovala zájem chirurgů o operace na aortě nejen z důvodů výdutí a vedla k úspěšným operacím na aortě s využitím bypassů. Tyto operace byly většinou z důvodu koarktace a stejně tak i první resekce aneuryzmatu s end to end anastomózou byla provedena u mladého pacienta s aneuryzmatem na podkladě koarktace a provedl ji v roce 1947 Shumacker (37). Toho všeho bylo možné dosáhnout jen díky práci A. Carrela, který je objevitelem cévního stehu. Dalším faktorem, který limitoval operace na aortě byly situace, kdy nebylo možné z důvodu dlouhého postiženého úseku provádět end to end anastomózy po resekci a řada chirurgů experimentovala s používáním a uchováváním cévních náhrad. Navázali opět na práci Carrela, Abbeho, Guthrie a dalších a na začátku 50.let se již používaly tepenné homografty (Oudot) v aorto- ilické oblasti. Opět ale nejprve pro okluzivní postižení. První resekci aneuryzmatu s náhradou tepenným homograftem provedl v roce 1951 Charles Dubost a byl úspěšný (38). Stejnou techniku pak převzali Julian, DeBakey a Szilagyi (32). Ve stejné době jako Dubost nahradil aortu po resekci pro aneuryzma i Freeman, který k náhradě použil autologní pánevní žílu. Tuto metodu i přes neúspěch opakoval u 3 pacientů, bohužel jen u jednoho s dobrým výsledkem (39). Obě metody se však ujaly a velmi rychle se rozšířily po celém světě. Především vzhledem k problematickému a komplikovanému získávání homograftů začaly být vyvíjeny syntetické cévní náhrady. V současné době

je kvalita těchto náhrad taková, že používáme výhradně syntetické cévní náhrady a homografty jsou vyhrazeny jen pro zcela specifické indikace (infekce). S narůstajícím vlivem techniky v medicíně a vzrůstajícími požadavky na miniinvazivní postupy se tento trend nevyhnul ani cévní chirurgii a léčbě výdutí. V roce 1991 Parodi poprvé popsal a úspěšně implantoval stentgraft do vaku výdutě cestou femorálních tepen (40). Tato léčebná modalita se rychle rozšířila a v současnosti představuje hlavní trend v léčbě aneuryzmat břišní aorty. Se vzrůstajícími zkušenostmi s laparoskopii je možné úspěšně operovat tepenné výdutě laparoskopicky. Poprvé zkušenosti s touto operací prezentovala Chen v roce 1996 na souboru 10 pacientů (41). Postupně je čistě laparoskopický přístup vytěsňován používáním robotické chirurgie. Možnosti chirurgické léčby se tak zdají být na vrcholu a cílem dalších výzkumů a experimentálních prací je především dokonalé poznání etiopatogeneze a s tím související možnosti úspěšné konzervativní léčby či prevence.

4 Epidemiologie

Aneuryzma břišní aorty není vzácné, prevalence u mužů nad 60 let se pohybuje kolem 2–6 % (1) (2) (3) (4) (5) a dále stoupá s věkem. Muži jsou postiženi častěji než ženy. Ruptura aneuryzmat je ale u žen častější, a to i u aneuryzmat menšího průměru (42). Incidence AAA má obecně vzestupný trend, který nelze vysvětlit pouze vyšším zachytem při lepších diagnostických možnostech nebo narůstajícím věkem pacientů. Incidence roste i v jednotlivých věkových skupinách. Poměr mezi muži a ženami je 11:1 v mladších věkových skupinách (60-65 let) a 3:1 ve starších (nad 75 let). Jedná se o skutečný nárůst počtu nemocných. Jde o závažné onemocnění, uvádí se, že ve skupině mužů starších 55 let je aneuryzma břišní aorty 15. nejčastější příčinou smrti (31).

5 Etiopatogeneze

Patofyziologie vzniku aneuryzmat byla dlouhou dobu neznámá nebo přinejmenším ne zcela jasná. Dlouhou dobu se obviňovaly mechanismy stejné jako při ateroskleróze. Od počátku byla ve hře úloha biomechanických faktorů (výše krevního tlaku, proudění krve apod.). V posledním desetiletí se však pozornost více zaměřuje na procesy na úrovni buněk, metabolismu a na biochemické interakce. Z dosavadních studií vyplývá, že je to správný směr. Pokud správně odhalíme a pochopíme tyto děje, budeme moci i lépe cílit screening, prevenci a snad i farmakologickou či jinou konzervativní léčbu.

Pro lepší orientaci je možné rozdělit celý proces na vzájemně se ovlivňující a propojené dílčí oblasti (43).

- A, Rizikové faktory
- B, Histologie
- C, Genetika
- D, Proteolýza
- E, Zánět a imunitní odpověď
- F, Oxidační stres
- G, Trombus

A, Rizikové faktory

Studium epidemiologie každého onemocnění nás může přivést k odhalení důležitých asociací. Patrně nám úplně neodhalí příčinu vzniku onemocnění, ale pomůže správně plánovat další zaměření výzkumu. V oblasti aneurysmat nás zajímá především (43):

A1 Rodinná anamneza

A2 Kouření

A3 Pohlaví

A4 Věk

A5 Lipidový metabolismus

A6 Krevní tlak

A7 Rasa

A8 Diabetes mellitus

Tab 2 Přehled rizikových faktorů ve vztahu k aneuryzmatu břišní aorty (43)

Study	Risk factor										
	M	F	Smoking	Age	FH	C	Chol	LDL	HDL	DM	BP↑
Lederle [13]	↑	↓	↑	↑	↑	↑	↑			↓	↑
Tornwall [12]			↑	↑			↑		↓		↑*
Singh [109]	↑	↓	↑						↓		↑ #
Pleumeekers [112]	↑	↓	↑	↑			↑				
Blanchard [11]	↑	↓	↑	↑			↔	↔	↔	↓	↑*
Vardulaki [6]	↑	↓	↑	↑							↑
Bengtsson [14]	↑	↓	↔	↔	↑						↔
Salo [3]	↑	↓		↑	↑						

M = Male sex; F = Female sex; FH = Positive family history; C = Caucasian race; Chol = Raised plasma cholesterol; LDL = Low-density lipoprotein; HDL = High density lipoprotein; DM = Diabetes mellitus; BP↑ = Hypertension; * Indicates studies in which both an increase in systolic and diastolic hypertension were found to be independent risk factors; # = Studies in which taking medication for hypertension was more significant than hypertension itself.

A1 Rodinná anamneza

Již bylo zmíněno, že podle genealogických studií bylo odhaleno množství rodin s vyšším výskytem aneuryzmatu (44) (45). Přítomnost aneuryzmatu u sourozence zvyšuje riziku výskytu aneuryzmatu více než 4 krát a to bez rozdílu věku nebo pohlaví (46)

A2 Kouření

Vliv kouření je zkoumán u celé řady onemocnění. Stejně tak i u aterosklerózy a aneuryzmatického postižení. Kouření bezpochyby zvyšuje riziko výskytu aneuryzmatu až 7krát (47). I u exkuřáků je riziko zvýšené. Výsledky studií nejsou zcela jednoznačné. Dle některých hraje roli

především délka kouření (47). U jiných naopak spíše celkové množství vykouřených cigaret (množství nikotinu) (48) (49). Mechanismus účinku však není zcela jasný. Dle některých výsledků by se mohlo zdát, že vliv kouření je důležitý spíše zpočátku při vzniku výdutě a na samotný další růst výdutě již takový vliv nemá. Je možné, že účinkem nikotinu by mohla být nižší syntéza kolagenu a snížení hladin tkáňového inhibitoru metaloproteináz 1 (TIMP-1) a naopak zvýšení hladin matrix metaloproteinázy 8 (MMP8) (50).

A3,4 Věk a pohlaví

Maximum výskytu výdutě subrenální aorty je u mužů ve věkové skupině 60 - 70 let. V nižších věkových kategoriích je výskyt aneuryzmat mnohonásobně vyšší u mužů (11:1 55 - 60 let). S přibývajícím věkem však přibývá i procento postižených žen (3:1 nad 75 let) (51) (8) (52). Rozhodujícím rizikovým faktorem ale zůstává věk. Jednoznačně s přibývajícím věkem roste riziko výskytu aneuryzmatu. Ženské pohlaví představuje až 3x větší riziko ruptury a u žen také dochází k ruptuře častěji u menších aneuryzmat (42).

A5 Lipidový metabolismus

Zveřejněné výsledky řady sledování nejsou opět zcela jednoznačné (51) (53), ale zdá se, že vysoká hladina cholesterolu je rizikovým faktorem vzniku aneuryzmat, přičemž vyšší hladina HDL má spíše protektivní vliv (54) (55).

A6 Krevní tlak

Na epidemiologických studiích i na experimentu na zvířatech byl prokázán rychlejší růst výdutí v souvislosti s arteriální hypertenzí (56). Dle

velkých studií je i u lidí arteriální hypertenze rizikovým faktorem růstu výdutí (57) (54) (53).

A7 Rasa

Aneuryzmatická dilatace je onemocněním především příslušníků bílé rasy. V afroamerické populaci a asijské populaci je výskyt aneuryzmat nižší (57) (58) (30).

A8 Diabetes

Přestože vliv jednotlivých etiologických faktorů je u aneuryzmat podobný jako u aterosklerózy, u diabetu toto neplatí. Co se týká aneuryzmat má diabetes spíše protektivní vliv (53) (57) (30).

B, Histologie

Je logické, že vlastní složení aortální stěny bude ovlivňovat její vlastnosti a tedy i případné tendence k dilataci. Základním stavebním kamenem aortální stěny jsou pravidelně uspořádaná vlákna elastinu, navíc vzájemně pospojovaná můstky. Další nezanedbatelnou složkou je kolagen a extracelulární matrix. Aneuryzma aorty je nejčastěji lokalizované v břišní oblasti pod úrovní renálních tepen. Jedním z možných vysvětlení tohoto častějšího výskytu může být právě odlišné složení aortální stěny. Ve stěně aorty aborálním směrem ubývá elastických vláken a přibývá vláken kolagenu (59). Podobně také aborálním směrem ubývá vasa vasorum ve stěně aorty (60). Je prokázáno, že ztráta nebo narušení této typické architektiky vede k rozvoji aneuryzmatu nebo ruptuře (61). Typickým

obrazem u aneuryzmat je snížené množství vláken elastinu, přerušení můstků a naopak zvýšené množství kolagenu (62). To je patrné i na studiích prokazujících vyšší expresi mRNA pro kolagen I, která není provázená zvýšenou expresí mRNA pro elastin (63). Snad ve všech histologických preparátech stěny aneuryzmatické aorty najdeme zvýšenou zánětlivou celulizaci (64). Množství elastinu také klesá s věkem a již není nahrazeno.

C, Genetika

Vzhledem k výsledkům studií, které dokazují mnohem vyšší výskyt a prevalenci aneuryzmat u rodinných příslušníků (45) (44) byly zahájeny další výzkumy, které se snaží odhalit geny zodpovědné za rozvoj aneuryzmatu. Z provedených pozorování je jasné, že se nejedná o onemocnění podmíněné jedním genem nebo jednoduchým typem dědičnosti (58) (65). Za předpokládané zodpovědné geny byly vybrány geny kódující proteiny matrix, proteolytické enzymy a jejich inhibitory a geny kódující alfa řetězec haptoglobinu a cholesterol-ester transfer proteinu (66). Přestože u některých aneuryzmat s familiárním výskytem a deficitem kolagenu typu III byla nalezena variabilita genu COL3A1 (67), u pacientů s aneuryzmatem bez prokázaného familiárního výskytu byla mutace nalezena jen zřídka (68). Máme k dispozici i některé poněkud kontroverzní výsledky. Některé studie ukazují na vyšší expresi mRNA pro jednotlivé typy kolagenu ale při snížené hladině samotného kolagenu což by svědčilo spíše na vystupňované děje vedoucí k degradaci kolagenu (69). Jiné studie se snažily vysvětlit změněný podíl elastinu a kolagenu

právě vystupňovanou tvorbou kolagenu, která není doprovázena odpovídající tvorbou elastinu (63). Přestože byly u pacientů s aneuryzmaty prokázány mutace genů pro TIMPs, hladiny těchto přirozených antagonistů matrixmetaloproteináz byly v normálních rozmezích (70). Byl prokázán pomalejší růst aneuryzmat u pacientů, kteří jsou homozygoty (AA) genu pro cystatin C (71). Cystatin C je inhibitor cathepsinu, což je protein s významnou proteolytickou aktivitou zaměřenou proti elastinu. Cathepsin tedy patrně bude hrát významnou roli v rozvoji aneuryzmatu (71). Bylo nalezeno více polymorfních genů, které jsou asociovány s vyšším výskytem aneuryzmat. Těmi jsou geny pro HLA-DR2, PAF –AH(destičky aktivující faktor- acetylhydroláza) nebo PAI-I(inhibitor aktivátoru plasminogenu) (43). Plasminogen je považován za jednoho z aktivátorů MMPs. Variace genů pro haptoglobin a cholesterol-ester transfer protein (oba geny na dlouhém raménku 16.chromozomu) jsou také častější u pacientů s aneuryzmaty a jsou asociovány s vyšší proteolytickou aktivitou (72). Dle dosažených výsledků je patrné, že za rozvoj a růst aneuryzmatu jsou zodpovědné různé genové variety různých genů. Nejsou to však geny zodpovědné za vznik aneuryzmatu, ale spíše se jen spolupodílejí na růstu aneuryzmat. Tyto genetické variety také nenacházíme u všech pacientů, proto jsou stále snahy odhalit další genové polymorfismy, které by byly asociovány s rychlejším růstem. To se nepodařilo prokázat pro variety genů pro MMP9, MMP12 nebo TIMP-1 (70). Variety genu pro PAI-1 jsou již odpovědné za rychlejší růst aneuryzmatu, ale dle dosavadních výsledků nedosahují statistické významnosti (73). U hypertenzních pacientů je polymorfismus genu pro angiotensin konvertující enzym důležitým faktorem rizika rozvoje aneuryzmatu (74). Tato pozorování mohou být podložena i výsledkem experimentů na myších, kde je běžně využíván model experimentálního aneuryzmatu navozený infuzí angiotensinu II (75).

D, Proteolýza

U aneuryzmat se mění zastoupení elastinu a kolagenu v cévní stěně. Mění se poměr elastin:kolagen ve prospěch kolagenu. To vede ke změně šířky stěny a ztrátě elasticity. Tyto změny nejsou patrně jen vlivem vystupňované degradace elastinu, ale i zvýšené produkce kolagenu (76). Proteolýza je tedy jedním s vůdčích mechanismů vzniku aneuryzmatu (77). Vystupňovanou proteolýzou resp. elastinolýzou se také odlišuje od aterosklerózy. Jedná se děj, který je identických a odpovědný i za vznik některých plicních onemocnění. Od 80. let minulého století se objevují práce popisující zvýšenou aktivitu jednotlivých proteolytických enzymů - kolagenázy (78) (79), gelatinázy nyní označované jako MMP9 jejíž aktivita je vysoká v okolí infiltrujících makrofágů a dalších především ze skupiny MMPs a dále práce, které pozorovali zvýšenou aktivitu proteáz při inaktivaci TIMPs. Další práce srovnávali expresi jednotlivých MMPs. Exprese MMP9 je vysoká především u větších aneuryzmat, naopak exprese MMP2 spíše u menších. Můžeme tedy odvozovat, že aktivita MMP9 je odpovědná především za růst aneuryzmatu (80). Na experimentálních modelech bylo prokázáno, že aktivita MMPs a zánětlivá celulóza (buňky exprimují MMP) je klíčová pro rozvoj aneuryzmatu (81). Aktivita i dalších MMPs (1,3,13) je u pacientů s aneuryzmaty zvýšená (78). Již bylo zmíněno, že aktivitu MMPs kontroluje TIMP. TIMP-1 se váže na aktivní i neaktivní formu, kdežto TIMP-2 jen na aktivní formu MMP9 (82). U aneuryzmat pozorujeme i zvýšenou aktivitu TIMPs, ale poměr TIMP:MMP není vyrovnaný, ale aktivita MMP výrazně převyšuje (83) (84). Další sledovanou skupinou elastáz v souvislosti s aneuryzmaty jsou serinové proteázy (kratší řetězec) a jejich inhibitor alfa 1 antitrypsin a fenylnetylsulfonylfluorid a skupina cysteinových proteáz kam patří

Cathepsin S a K a jejich inhibitorem je cystatin C. Jejich úloha při růstu a rozvoji aneuryzmatu již byla zmíněna v souvislosti s polymorfismem kódujících genů (71).

E, Zánět a imunitní odpověď

U každého aneuryzmatu nacházíme zánětlivou celulizaci ve stěně, a že aktivita proteáz je vázána na makrofágy. Dle výsledků řady experimentů je zánětlivá infiltrace nutná pro rozvoj a růst aneuryzmatu (64). Sama o sobě však nestačí na rozvoj aneuryzmatu a je potřeba ještě dalších insultů, způsobujících především poškození endotelu. Byla utvořena i jakási stupnice pro standardizaci posuzování zánětlivé infiltrace ve stěně aneuryzmatu, která odlišuje i T a B lymfocyty, makrofágy, T-pomocné a T-supresorové lymfocyty. Při srovnání vykazují největší infiltraci tzv. zánětlivá aneuryzmata následovaná ostatními aneuryzmaty, poté ateroskleroticky postižené aorty a nejmenší infiltraci vykazují normální aorty (85). V souvislosti se zánětlivou infiltrací korelují i vyšší hladiny prozánětlivých cytokinů. Především interleukinu-6 a interferonu gama. Dalšími zvýšenými cytokiny jsou interleukin-1beta a TNF alfa (tumor necrosis factor alpha) (86). V této souvislosti je pozorována také větší exprese adhezivních molekul 1 v endoteliálních buňkách (24). Na dalších experimentech pak bylo prokázáno, že hladina interleukinu 1beta zvyšuje expresi kolagenázy a naopak zablokováním adhezivních molekul CD18+ dochází ke zpomalení růstu experimentálního aneuryzmatu (87). Dalšími důkazy o důležitosti zánětlivé infiltrace a reakce jsou experimenty s používáním indometacinu. Použitím indometacinu docházelo k brždění rozvoje a růstu

experimentálních aneuryzmat a k redukci aktivity MMP9 (88) a tento účinek byl prokázán i u pacientů užívajících nesteroidní antiflogistika (neselektivní inhibitory cyklooxygenázy 2 - COX 2 inhibitory), u kterých byl prokázán pomalejší růst aneuryzmat a nižší produkce prozánětlivých cytokinů (89). V souvislosti s imunitní odpovědí se nabízí i otázka o možném autoimunitním podkladě tohoto onemocnění. Tato hypotéza může být podporována výsledky studií zkoumajících polymorfismy genů MHC (major histocompatibility complex) - HLA-DR. Některé tyto mutace jsou odpovědné za jiná autoimunitní onemocnění jako například revmatoidní artritida. V této souvislosti již bylo zmíněno, že mutace v genu HLA-DR2 je asociována s vyšším výskytem aneuryzmat (90).

F, Oxidační stres

Aktivní kyslíkové radikály a tedy oxidační stres je označován za původce řady onemocnění. V souvislosti s aneuryzmaty bylo prokázáno, že vysoká aktivita kyslíkových radikálů v endoteliálních buňkách provokuje vyšší expresi a aktivitu MMP9 (91) a naopak antioxidanty tuto aktivitu potlačují. Oxidační stres vede i k větší apoptóze buněk hladké svaloviny (92). Řada studií potvrdila nižší expresi antioxidantů u pacientů s aneuryzmaty (kataláza, thioredoxin reductáza) a vyšší hladiny radikálů (93) (94). U pacientů s aneuryzmaty jsou pozorovány vyšší hladiny cirkulujících prooxidativních molekul (95). Ve stěně aneuryzmat nalézáme více superoxidového anionu, produktu peroxidace lipidů. Antioxidanty pomáhají detoxikovat organismus od volných kyslíkových radikálů a chránit jej před oxidačním stresem. Úloha oxidačního stresu v rozvoji aneuryzmat

může být doložena experimentálními studiemi, kde např. podávání vitamínu E vedlo k redukci růstu aneuryzmatu u zvířat (96).

G, Trombus

Většina výdutí obsahuje v nějaké míře nástěnný trombus. K jeho tvorbě dochází vlivem změny toku krve, dochází k turbulencím, usazování a agregaci trombocytů a dalších buněk. K tvorbě trombu dochází i vlivem mikrotraumat endotelu, vlivem dysfunkce endotelu dochází k aktivaci hemokoagulační kaskády, vyplavování cytokinů, agregaci trombocytů a tvorbě fibrinu, aktivaci fibrinolýzy a dalších serií interakcí. Jaká je úloha trombu? Působí jako jakýsi nárazník, který má určitou ochranou funkci? Představuje určitou bariéru a pomáhá tak bránit před rupturou a rychlou progresí velikosti aneuryzmatu? Nebo naopak aktivací enzymů, uvolňováním cytokinů podporuje procesy vedoucí k degeneraci cévní stěny a progresi velikosti aneuryzmatu a přispívá k ruptuře? Stejně jako výduť není symetrická, není symetrický ani intraluminální trombus. V některých částech tak může být stěna aorty zcela nekrytá trombem a na jiném místě nalézáme i několik centimetrů silný trombus. To vedlo řadu autorů ke srovnávání vlastností částí stěn aneuryzmat krytých trombem a částí přímo ve styku s protékající krví. Stěna krytá trombem bývá tenčí a má menší odolnost tlaku (97). Příčinou by mohlo být horší zásobování kyslíkem. Pokud je srovnáváno histologické složení takovýchto úseků, větší míra destrukce elastinu a větší infiltrace především makrofágy je nalézána u těch segmentů, které jsou kryté trombem. Podobně je v těchto úsecích více pozorována apoptóza buněk hladké svaloviny, což poukazuje i na horší

reparační schopnosti a degradaci kolagenu (98). Opakovaně je v patogenezi aneuryzmat vyzdvihována úloha proteolytických enzymů, především MMP 2 a MMP 9. Zdrojem těchto proteáz jsou hlavně makrofágy a T-buňky. Oba typy buněk nalézáme i v trombu, ve větší míře T-buňky. Patrně i tímto mechanismem - větší expresí proteáz- trombus ovlivňuje stěnu aneuryzmatu a vysvětluje to i nálezy na histologických preparátech – vyšší míru degradace elastinu v částech stěny, která je kryta trombem. Nejsou to jen MMPs, které jsou obsaženy a exprimovány buňkami v trombu. Dalšími enzymy jsou plasmin, který aktivuje MMPs do jejich aktivní formy. Neutrofilny uvolňují lipocalin, který brání inaktivaci MMP prostřednictvím jejich TIMPs a aktivita neutrofilních granulocytů vede k inaktivaci cystatinu C – inhibitoru cathepsinu (99). Klinické studie prokázaly, že síla intraluminálního trombu je prognostický faktor ruptury aneuryzmatu. Se vzrůstající silou trombu narůstá riziko ruptury (100). Přestože trombus chrání stěnu před přímým účinkem tlaku, má již zmiňované vlivy na ztenčení a degradaci cévní stěny. Varovnou známkou ruptury je krvácení do trombu, na CT vyšetření patrné jako přítomnost kontrastní látky, svědčící pro fragilitu trombu (17) (101). Tato tvrzení byla potvrzena několika studiemi (17) (101) (102).

Proces remodelace a vzniku AAA zahrnuje tři ne zcela oddělitelné mechanismy:

Proteolýza

Zánět

Apoptóza buněk hladké svaloviny

Proteolýza

Za základní stavební kámen stěny aorty, který je zodpovědný za její pevnost, elasticitu a funkci je považován elastin. Elastin je protein s dlouhým poločasem rozpadu (u lidí asi okolo 70let), který je poměrně odolný vůči běžným proteázám. Enzymy, které jsou schopné štěpit elastin jsou matrixmetaloproteinázy a skupiny elastáz obsahující serin nebo cystein. Další elastázy jsou secernované neutrofilními granulocyty. Ve stěně aneuryzmatu převládají z infiltrujících buněk makrofágy a lymfocyty, které produkují celou řadu dalších enzymů (serinové proteázy, aktivátory plasminogenu, plasminogen). Účinkem těchto enzymů dochází k odkrytí části řetězců, což dále stimuluje makrofágy k produkci dalších enzymů včetně MMPs. Dalším možným zdrojem enzymů (predevším plasminogenu a plasminu) je patrně trombus vyskytující se prakticky u všech aneuryzmat. Cathepsiny, jakožto další účinné elastázy, nejsou produkovány buňkami zdravé aorty ale makrofágy a buňkami hladké svaloviny v blízkosti poškozené intimy.

Zánět

Zánětlivá infiltrace bývá v určité míře přítomna ve všech vrstvách aortální stěny. Nejčastěji bývají přítomny makrofágy a T a B lymfocyty. Všechny tyto buňky secernují prozánětlivé cytokiny a proteázy. Tím je

podmíněna další destrukce elastinu, remodelace stěny aneuryzmatu a samozřejmě prostřednictvím cytokinů i podporována další zánětlivá reakce. Větší význam v růstu aneuryzmatu se přikládá míře infiltrace v adventicii a produkci TNF alfa.

Apoptóza buněk hladké svaloviny

Buňky cévní hladké svaloviny jsou součástí cévní stěny a nemají jen funkci kontraktilní a spojovací ale také nezanedbatelnou funkci sekreční, kterou se podílejí na skladbě a rovnováze aortální stěny. Z experimentu je známo, že VSMC mohou výraznou měrou přispívat k produkci MMP9 (103). Přestavba aortální stěny může navodit horší zásobení středních vrstev stěny kyslíkem a vést k vyšší expresi p53 a k buněčné apoptóze (104). Makrofágy a T lymfocyty produkují navíc další molekuly jako perforin, Fas a Fas ligand navozující v důsledku apoptózu VSMC.

6 Symptomatologie

Dle průvodních symptomů můžeme AAA rozdělit na symptomatická a asymptomatická. Jako samostatná skupina se i z důvodu možného srovnávání a statistických výsledků uvádí výdutě rupturované.

Asymptomatická aneuryzmata bývají nejčastější a nezdědka bývají odhalena náhodně při vyšetřování zobrazovacími metodami z důvodu jiného onemocnění. Jindy jsou diagnostikovány na základě klinického vyšetření či nálezu samotným pacientem jako pulzující rezistence v břiše. Pacienti s asymptomatickou výdutí mají nižší riziko ruptury samozřejmě s ohledem i na velikost výdutě (57). Pacienti s malými asymptomatickými aneuryzmaty by mohli nejvíce profitovat z eventuelní konzervativní léčby.

Jako symptomatická aneuryzmata označujeme taková, která působí potíže. Nejčastěji to bývají bolesti břicha a zad. Velmi často jsou tyto symptomy zaměněny za jiné potíže (vertebrogení, renální koliku..). Obecně se citlivá až bolestivá výduť považuje za rizikovou z pohledu možné ruptury. Dalším možným, i když vzácným projevem AAA může být kompletní trombóza vaku aneuryzmatu, která způsobí akutní končetinovou ischemii se všemi jejími důsledky a nebo může z trombózy ve vaku aneuryzmatu docházet k periferním embolizacím. Ještě vzácněji můžeme pozorovat symptomy z útlaku okolních struktur (dolní duté žíly, duodena, ureteru)

Nejzávažnějším projevem AAA je ruptura. Ta se projevuje bolestí břicha nebo častěji bolestí zad a projevy hemoragického šoku. O závažnosti tohoto stavu asi nejlépe hovoří čísla. 70-90% pacientů s rupturou aneuryzmatu umírá před zahájením operačního výkonu. (105) Více než 50% nemocných umírá ještě v přednemocniční fázi. O prognóze

pacienta v případě ruptury nás může informovat index zavedený Hardmanem (106).

1. věk nad 76 let
2. kreatininemie nad 190 mmol/l
3. hemoglobinemie pod 90 g/l
4. známky ischemie myokardu na EKG
5. ztráta vědomí po příjezdu do zdravotnického zařízení.

3–4 přítomné faktory – předpokládaná mortalita 100 %

0 přítomných faktorů – předpokládané riziko jako u elektivní operace

Méně často, ale ne raritně, se můžeme setkat s rupturou výdutě do dolní duté žíly, což vede k přetížení srdce a nebo s rupturou do duodena (aortoduodenální píštěl), která se projeví masivním krvácením do gastrointestinálního traktu.

7 Diagnostika

V diagnostice hraje podstatnou roli tak jako u jiných onemocnění anamnéza (rodinná zátěž, komorbidity), dále klinické fyzikální vyšetření (velikost výdutě, postižení periferních tepen, známky šoku). V dnešní době jsou již nezastupitelná a neodmyslitelná další pomocná zobrazovací vyšetření. Někdy může aneuryzma odhalit již prostý rentgenový snímek, který zobrazí konturu kalcifikací stěny dilatované aorty

Ultrasonografie je levné nezatěžující vyšetření, které dobře poslouží v primární diagnostice a často bývá odhalujícím vyšetřením u asymptomatického pacienta. Dále je využívána i při sledování pacientů s malým nekomplikovaným aneuryzmatem nebo pacientů po endovaskulární léčbě. Může být provedena i s využitím kontrastní látky, která nemá takové nežádoucí efekty jako jodová kontrastní látka u CT.

Vyšetření počítačovou tomografií (CT) je nezbytné pro plánování jak chirurgické, tak endovaskulární léčby. Je to vyšetření, které používá jodovou kontrastní látku, je invazivní a kontrastní látka přináší rizika v podobě alergické reakce nebo zhoršení funkce ledvin. Klasická angiografie není zcela vhodným vyšetřením, protože může mylně zobrazovat pouze průtočné lumen výdutě a ne její skutečnou velikost. V určitých indikacích můžeme profitovat i z hybridní metody, kdy je CT spojeno s vyšetřením pozitronovou emisní tomografií.

Angiografie provedená magnetickou rezonancí může být s výhodou použita u pacientů, kteří nemohou dostat jodovou kontrastní látku. Nemůže být ale použita u pacientů, kteří mají ve svém těle kov (implantát, svorky,

kardiostimulátor apod.). Vzhledem k časové náročnosti není využívána tak často.

Samozřejmostí jsou také náběry krve. Kromě běžných ukazatelů jako základní biochemické parametry, krevní obraz, stav hemokoagulace nás v budoucnu jistě bude zajímat mnoho dalších ukazatelů. Je to v důsledku rozšiřujících se poznatků o patogenezi tohoto onemocnění.

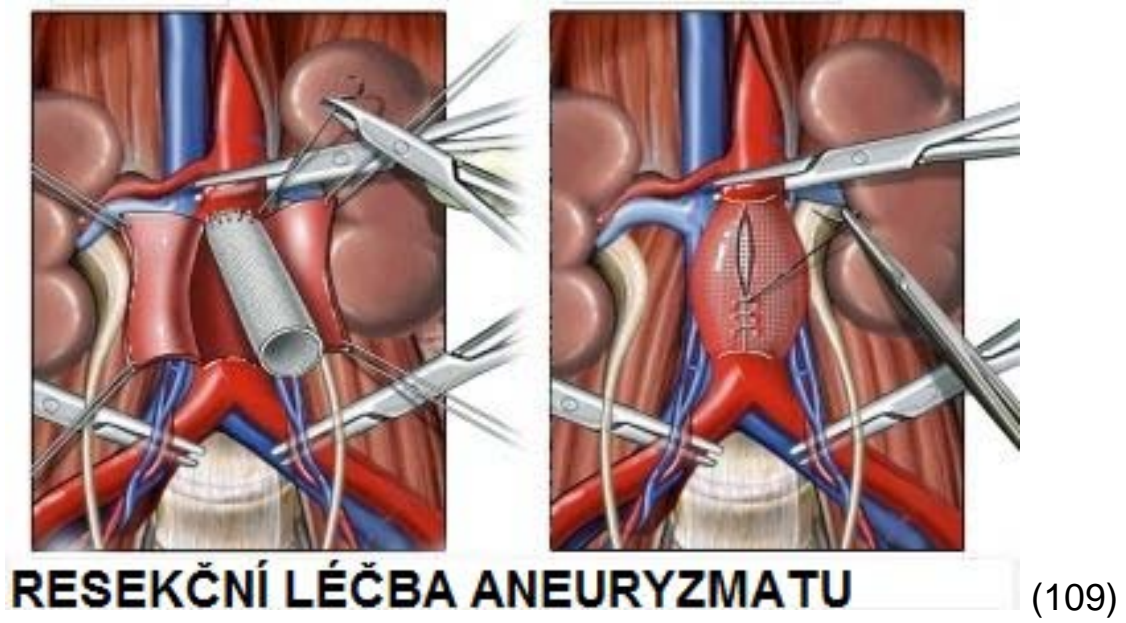
8 Léčba

8.1. Současná léčba

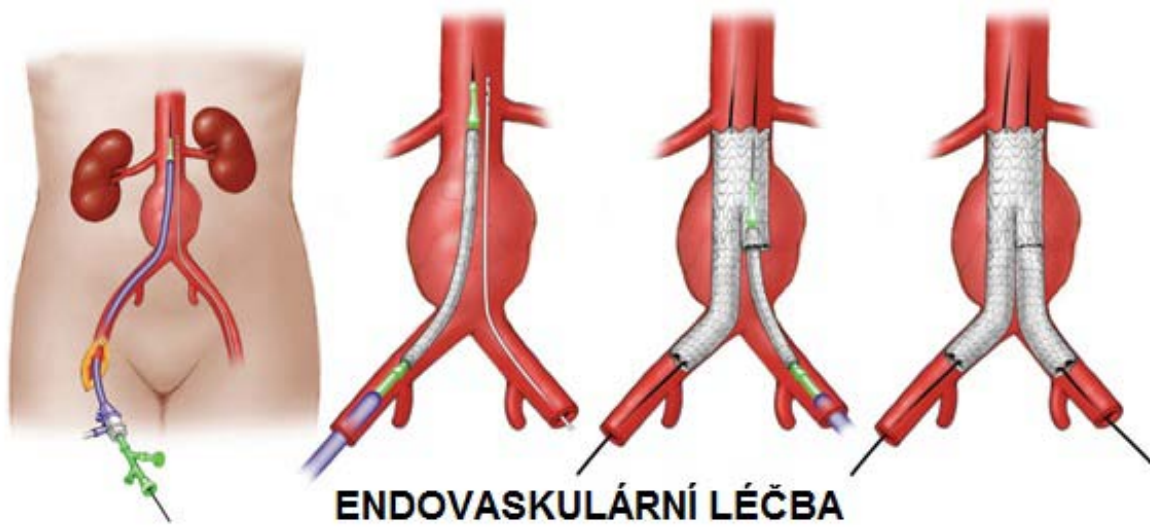
Aneuryzma břišní aorty léčíme preventivně z důvodu velkého rizika ruptury, která má vysokou úmrtnost a nebo urgentně již v případě nastalé ruptury a krvácení. Výsledky elektivní operace jsou z pochopitelných důvodů výrazně lepší než výsledky operací prováděných urgentně u pacientů velmi často v hemorhagickém šoku. To dokazuje i soubor pacientů z našeho pracoviště za uplynulých 10 let. 30 denní mortalita u klasické léčby byla 6.2%, u EVAR 2.9% a u ruptur 36.6% (107). Dlouhodobě je zlatým standardem chirurgická léčba. Při této léčbě je vyreparována celá výduť i s tepnami nedilatovanými nad aneuryzmatem a pod aneuryzmatem. Po uzavření aorty nad a pod výduť, čímž dojde k vyřazení průtoku krve aneuryzmatem je aneuryzma podélně otevřeno a resekováno. Je nutné ošetřit zpětné krvácení z tepen vycházejících z vaku aneuryzmatu a obnovit průtok krve vyřazenou oblastí do periferních tepen. To je provedeno všítmí cévní náhrady, nejčasteji cévní protézy, mezi nedilatovanou aortu nad a pod aneuryzmatem.(Obr.1) V posledních dvou desetiletích je pak již rutinně používána další metoda léčby. Jedná se o metodu endovaskulární. Principem je zavedení potaženého stentu – stentgraftu intraluminálně přístupem nejčastěji z femorálních tepen.(Obr.2) Obě metody mají svá indikační kritéria a specifické problémy a komplikace. V rukou zkušených cévních chirurgů a intervenčních radiologů přináší správně indikovaná léčba pacientům benefit v podobě dlouhodobého přežívání, který převyšuje rizika perioperačních komplikací a úmrtí jak v případě elektivní tak i urgentní operace. Klasická operační léčba pro pacienta představuje větší zátěž, především kardiovaskulární a je zatížená vyšší peroperační mortalitou a morbiditou oproti léčbě endovaskulární, ale i

tak benefit převažuje riziko. Léčba pomocí stentgraftů nepředstavuje takové perioperační riziko, ale její použití není možné u každého. Je limitována především lokalizací výdutě a její morfologií a také mírou aterosklerotického postižení pánevních a femorálních tepen, jakožto přístupové cesty pro zavedení stentgraftu. Velké randomizované studie (Tab.3), které srovnávaly výsledky klasické vs. endovaskulární léčby (EVAR 1) a výsledky endovaskulární léčby vs. pacienti ponechaní bez léčby (EVAR 2) proběhly ve Velké Británii. Dle těchto studií je přínosem endovaskulární léčby snížení operační mortality oproti klasické resekční léčbě. Jedná se však o benefit v prvních letech po operaci. V dlouhodobém horizontu jsou výsledky srovnatelné. I u rizikových pacientů je lepší přežívání po endovaskulární léčbě než pokud jsou pacienti ponecháni zcela bez léčby (108). Endovaskulární léčba má své specifické komplikace, přetrvávající plnění vaku výdutě, tzv.endoleaky, které budou zmíněny dále, a které mohou být příčinou závažné morbidity a nutnosti reoperací a reintervencí a dokonce mohou vést i k rupturám. To mohou být důvody určité opatrnosti, pro kterou je často endovaskulární léčba indikovaná jen u pacientů s řadou komorbidit, u kterých by resekční léčba představovala vysoké riziko. Srovnávací studie prokázali v dlouhodobém horizontu srovnatelné výsledky a přežívání pacientů po obou způsobech léčby.

Obr.1



Obr.2



(110)

Tab. 3 Výsledky srovnávacích studií resekční a endovaskulární léčby aneuryzmatu břišní aorty

Studie	Počet pacientů	%EVAR	30d mortalita Resekce vs EVAR
EVAR 1	1082	51	4,7/1,7 (%)
DREAM	351	57	4,6/1,2 (%)

8.1.1 Komplikace endovaskulární léčby

Klasická chirurgická (resekční) léčba aneuryzmat je metodou volby v případě aneuryzmat velikosti 5 cm a větších a nebo u aneuryzmat rostoucích. Chirurgická léčba je do určité míry pro pacienta zatěžující. Představuje větší riziko perioperačních komplikací a úmrtí. Jejich podstatou nebývá chirurgická komplikace, ale spíše postižení kardiální, někdy cévní mozková příhoda nebo častěji v případě urgentní operace pro rupturu multiorgánové selhání. S odstupem operace mohou být pacienti ohroženi uzávěrem rekonstrukce, její infekcí nebo komplikacemi v oblasti anastomoz. Dlouhodobé výsledky obou metod jsou sice srovnatelné, ale perioperační komplikace endovaskulární léčby nebývají tak časté a závažné (108). Po endovaskulární léčbě s použitím stentgraftu jsou ale pacienti ohroženi rozšiřováním vaku výdutě nebo rupturou (111). K tomu

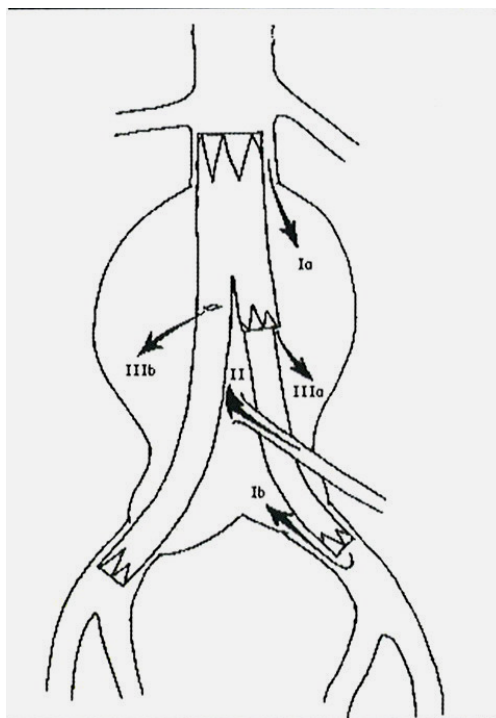
nejčastěji dochází zpětným krvácením do vaku z nativních tepen (dolní mesenterická tepna, lumbální tepny), obtékáním začátku nebo konce zavedeného stentgraftu, mezi jednotlivými komponentami stentgraftu, prosakování tkaniny stentgraftu a nebo může docházet ke zvětšování vaku aneuryzmatu bez těchto patrných příčin – tzv. endotenze. Souhrně všechny tyto děje označujeme jako endoleak. (Tab.4, Obr.3) Z těchto zjevných důvodů, je jasné, že pacienti po endovaskulární léčbě musejí být dlouhodobě a pečlivě kontrolováni, aby byl endoleak odhalen a řešen včas před rupturou. Endoleak může být patrný ihned po zavedení stentgraftu, nebo se může objevit až s různě dlouhým odstupem od výkonu. Některé typy endoleaku mohou bez léčby zaniknout, jiné je nutné řešit další endovaskulární intervencí nebo otevřenou chirurgickou cestou (112). Sledování pacientů po výkonu probíhá v pravidelných časových intervalech. Samotné klinické vyšetření nedokáže endoleak odhalit. K tomu je potřeba použít zobrazovací metody. Nejčastěji je používáno vyšetření počítačovou tomografií. Stále více je používáno duplexní ultrazvukové vyšetření s použitím kontrastní látky (113). Spolehlivost obou metod je srovnatelná, přesto je častěji používáno vyšetření počítačovou tomografií. Tato vyšetření jsou během dispenzarizace pacientů používána opakovaně. To pro pacienta znamená opakované vystavení větším dávkám rentgenového záření a opakované aplikace kontrastní látky, která představuje riziko zhoršení renálních funkcí. Endoleaky je nutné často řešit endovaskulární cestou, což opět přináší další vystavení účinku rentgenového záření a další aplikace kontrastní látky. Především z těchto důvodů a rizik se snažíme najít jiné metody a markery, které by mohly spolehlivě odhalit a nebo monitorovat vznik a vývoj endoleaků. Při hledání nových markerů se snažíme vycházet z dosud známých poznatků z oblasti etiopatogeneze vzniku, růstu a ruptur aneuryzmatu. Naděje se vkládají do monitorování aktivity především MMP9. Hladiny MMP9 se po operaci

zvyšují a přetrvávají do 3 měsíců po operaci v případě klasické resekční léčby i léčby endovaskulární. Poté dochází opět k poklesu hladin MMP9. V případě přítomného endoleaku však vysoké hladiny MMP9 přetrvávají. Studiemi byla prokázána vysoká specifická i senzitivita takto prováděných testů (114) (115). Možnost takovéto diagnostiky by zajisté zlepšila péči o pacienty po endovaskulární léčbě aneuryzmatu. Je ale potřeba tyto výsledky potvrdit na větších studiích a případně ještě podpořit nalezením dalších markerů.

Tab.4 převzato (116)

Klasifikace endoleaku	
Typ I – perigraft endoleak – netěsnost v místě kotvení stentgraftu („anastomózy“)	
Ia	na proximálním konci stentgraftu
Ib	na distálním konci stentgraftu
Ic	kolem okludoru u uniliakálního typu stentgraftu
Typ II – retrográdní endoleak – retrográdní tok volnými větvemi vaku výdutě	
IIa	jedna větev do slepého prostoru
IIb	dvě a více větví s vtokem a výtokem
Typ III – netěsnost vlastního stentgraftu	
IIIa	rozpojení částí stentgraftu
IIIb	trhlina materiálu stentgraftu
Typ IV – zvýšená propustnost neporušeného materiálu stentgraftu do 30 dnů po výkonu	
Endoleak neznámé etiologie – tok krve je vidět, ale zdroj je nezjistitelný	

Obr.3



(116)

8.2 Farmakologická léčba

Jiná metoda léčby než léčba chirurgická nebo endovaskulární zatím není známa. Bylo učiněno mnoho pokusů o farmakologické ovlivnění růstu aneurysmat, farmakologickou prevenci ruptury aneurysmat a o farmakologické ovlivnění a zlepšení výsledků chirurgické léčby. Při všech těchto výzkumech byly používány a zkoušeny celé řady léků s různými farmakologickými účinky. Zpočátku byla zkoumána antibiotika (117) (118), dále léky s imunosupresivními účinky (119). S tím jak se prohlubují znalosti o etiopatogenezi aneurysmat se měnilo i spektrum zkoumaných léků. Velké naděje se vkládají do účinků statinových preparátů (120). Většina výzkumů probíhala na experimentálních modelech. S některými léky a látkami probíhaly i klinické výzkumy.

Hypotézy o možné farmakologické léčbě a prevenci aneurysmat vycházejí ze snahy ovlivňovat 3 základní procesy zapojené do patogeneze – degradace extracelulární matrix, vystupňovaná proteolýza a zánětlivá celulizace. Na onemocnění tepen se začíná nahlížet jako na formu zánětlivé reakce organismu. A to nejen v případě aneurysmat, ale i v případě onemocnění koronárních tepen, periferních tepen, karotid a aterosklerózy obecně (120). Dá se tedy předpokládat, že zkoumané léky by neovlivňovaly jen aneurysmata, ale i jiná současně probíhající onemocnění stárnoucí populace.

8.2.1 Beta blokátory

Arteriální hypertenze je jeden z rizikových faktorů růstu aneuryzmat (56) (57) (54). Se zavedením beta blokátorů do léčby arteriální hypertenze byl pozorován i pokles rychlosti růstu aneuryzmat u těchto pacientů (121) (122) (123). Dalo by se předpokládat, že to bude způsobeno pouhým poklesem arteriálního tlaku, ale jsou i další mechanismy, kterými beta blokátory ovlivňují růst aneuryzmat. Jedním s těchto účinků je stabilizace a posílení můstků mezi vlákny elastinu (122). Za tento účinek je odpovědný enzym lysyl oxidáza stimulovaný právě beta blokátory. Nejčastěji zkoumaným beta blokátorem je propanolol. Dosud nejsou beta blokátory uznány jako účinná možnost léčby aneuryzmat. Důvodem jsou chybějící randomizované studie jednoznačně potvrzující tento efekt v dávkách, které by umožnily bezpečné užívání vzhledem k možným nežádoucím účinkům (124).

8.2.2 Ovlivnění zánětlivé odpovědi

8.2.2.1 Imunosuprese

Cyklosporin a metylprednisolon byly účinné na zvířecích modelech (119). Zpomalovaly rychlost růstu aneuryzmat a na preparátech vedly k menší zánětlivé infiltraci (makrofágy a monocyty) a menší destrukci elastinu. Podobné výsledky byly pozorovány při použití specifických monoklonálních protilátek proti adhesivní molekule makrofágů CD18 (87) a při ovlivnění TNF binding proteinu (125). Při použití antagonistů receptoru pro interleukin 1 nebyly očekávané účinky prokázány (125).

8.2.2.2 Nesteroidní protizánětlivé léky

Jsou známé účinky indometacinu, který na experimentech se zvířecím modelem i v klinických studiích vedl ke zpomalení růstu aneuryzmat (88) (89). Ovlivňuje hladinu MMP9, prostaglandinu E2, interleukinu 1beta a interleukinu 6 (88). Tyto účinky jsou pozorovány u neselektivních inhibitorů cyklooxygenázy2 (89).

8.2.3 Ovlivnění aktivity MMP

Jedním z účinku indometacinu je snížení aktivity MMP. Opakovaně zde bylo zmíněno, že jedním z klíčových momentů vzniku a progresu aneuryzmat je aktivita MMPs. Proto se nabízí zkoumat a hledat jejich inhibitory. Takovýto účinek je znám u tetracyklinů a byly zkoumány účinky řady tetracyklinových derivátů (117). Nejčastěji doxycyklin (118). Výsledky mohou být příznivé, problémem však může být dávkování. Další zkoumané inhibitory MMP s prokázaným vlivem na aneuryzmata jsou batimastat , BB-1101 , RS132908 nebo GM-6001 (43).

8.2.4 Asociace s Chlamydiovou infekcí

Dle některých prací je chlamydiová infekce spojována s progresí onemocnění periferních tepen (126) a protilátky proti chlamydiím byly nalezeny i u pacientů s aneuryzmaty (127). Při použití doxycyklinu došlo ve studiích ke zpomalení růstu aneuryzmat (128). Diskutabilní je, zda to bylo právě účinkem na chlamydie nebo již zmíněným ovlivňováním MMPs. Každopádně i jiná léčba zaměřená na eradikaci chlamydiové infekce vykazovala účinek na růst aneuryzmatu (roxithromycin (129), azithromycin (130)).

8.2.5 Osa renin – angiotensin a ACE inhibitory

U myší vede podání angiotensinu II k vytvoření aneuryzmatu. U takto vytvořených výdutí je pozorována výrazná infiltrace medie makrofágy a při delším užívání výrazná přestavba stěny aneuryzmatu (75). Na experimentálních modelech aneuryzmatu u myší vytvořených intraluminální infusí elastázy byla pozorována vyšší exprese angiotensin konvertujícího enzymu (ACE). Pokud těmto myším byly podány inhibitory ACE (captopril, lisinopril, enalapril) došlo k redukci velikosti výdutí. Antagonista receptoru pro angiotensin I (losartan) takovýto efekt u experimentálního modelu nemá (131). U lidí je úloha systému renin-angiotensin potvrzená studiem genových polymorfismů. U pacientů s aneuryzmaty byly nalezeny polymorfismy genu pro receptor angiotensinu I a polymorfismy genu pro ACE (74). Nabízí se tedy možnost využívat ACE inhibitory a antagonisty receptoru angiotensinu I, běžně užívané v terapii kardiovaskulárních chorob, ke zpomalení nebo prevenci růstu aneuryzmat u lidí. Přestože známe polymorfismy genů odpovědné a asociované se vznikem aneuryzmatu, u lidí opět chybějí randomizované studie potvrzující očekávaný efekt inhibitorů ACE nebo antagonistů receptoru angiotensinu I.

8.2.6 Statiny

Souhrnné výsledky studií zkoumající vliv statinů na výdutě nejsou jednoznačné, ale vyznívají spíše ve prospěch statinových preparátů jakožto léků, které mají preventivní vliv na růst a rupturu aneuryzmatu abdominální aorty (132). Mnoho prací, které zkoumaly vliv statinových preparátů byly experimentální výzkumy na malých zvířecích modelech. (133) (134) (135) O statinech v souvislosti s lidským aneuryzmatem byly publikovány především práce zkoumající jejich vliv na výskyt perioperačních komplikací a výsledky chirurgické léčby (136). (137) Několik prací však popisuje i jejich vliv na růst aneuryzmatu. Takagi provedl metaanalýzu dosud publikovaných prací o vlivu statinu na růst malých výdutí do velikosti 55 mm. Celkem tak bylo zahrnuto 4647 pacientů z 11 studií. Léčba statiny signifikantně ovlivňovala růst malých aneuryzmat ve smyslu prevence rychlého růstu (138). Dunne a spolupracovníci provedli také analýzu publikovaných prací, ale jejich výsledky již nebyly tak jednoznačné. Z 8 studií (celkem 4466 pacientů) 4 prokázaly zpomalení růstu výdutí. Zbylé 4 již stejný výsledek nepotvrdily. (139) Účinek statinů je nezávislý na jejich hypolipidemickém účinku a jedná se především o vliv na matrixmetaloproteinázy. Tyto poznatky reflektuje i evropská společnost cévní chirurgie ve svých doporučeních – pacient se zjištěným aneuryzmatem by měl užívat statin. Užívání statinu nejméně 1 měsíc před plánovanou intervencí snižuje riziko kardiovaskulárních komplikací a jeho užívání by mělo pokračovat i po operaci (140). Souhrnně o příznivém účinku statinových preparátů píše i Saratzis (132). Efekt statinové terapie na růst výdutí břišní aorty a na změny v histologické stavbě není u všech typů statinových preparátů stejné. To bylo dokázáno na řadě experimentálních i klinických studií . Pravastatin ve studiích neprokázal vliv

na rychlost růstu výdutě. Neprokázal se ani jeho vliv na expresi matrixmetaloproteináz, i když byla pozorována vyšší exprese TIMP1 (141). Účinky simvastatinu byly zkoumány v klinických studiích i na malých zvířecích modelech (myš, králík) (142) (135) (134) (143) Vlivem simvastatinu docházelo k pomalejší progresi velikosti výdutí a mimo jiné k snižování množství volných radikálů. Dalším zkoumaným statinem je rosuvastatin. Experimentální studie na zvířecích modelech neprokázaly jeho pozitivní efekt na progresi velikosti aneuryzmatu (144). Nejčastěji bývá ve studiích k ovlivňování histologických změn, exprese prozánětlivých i protizánětlivých cytokinů a proteáz a ovlivnění růstu výdutí používán atorvastatin (133). Jeho efekt je popsán nejpodrobněji. Také co se týká ovlivnění rychlosti růstu aneuryzmat jsou rozdíly dané vlivem atorvastatinu ve srovnání s jinými typy statinů největší.

Přestože řada těchto léků na experimentálních modelech vykazovala účinky na vznik a progresi aneuryzmat, pokud byly učiněny klinické výzkumy byl jejich efekt malý nebo nepozorovatelný. Často je to dáno potřebou velkých dávek těchto léků. Účinné hladiny tak nemusí být dosaženo nebo je to spojeno s větším výskytem nežádoucích a vedlejších účinků, pro které nemůže být lék v takových dávkách použit a nebo není tolerován pacientem. Z tohoto pohledu se statinové preparáty jeví i přes možnost výskytu rhabdomyolýzy jako nadějná cesta. Jejich vliv a účinky na růst a prevenci vzniku aneuryzmat musí být ještě ověřen a potvrzen především klinickými studiemi. Statiny jsou široce používané pro svůj hypolipidemický účinek a v rámci prevence aterosklerózy.

II. část Experiment

Cíle projektu

Cílem experimentální práce bylo pokusit se ovlivnit růst experimentálně vytvořeného aneuryzmatu břišní aorty u velkého laboratorního zvířete (prase domácí) podáváním atorvastatinu (inhibitoru 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-koenzym A reductázy) ve smyslu zpomalení růstu aneuryzmatu a tím bránit i jeho ruptuře. Dalším cílem bylo monitorovat změny ve složení stavby stěny aneuryzmatu navozené podáváním atorvastatinu.

1 Úvod

Aneuryzma břišní aorty a především jeho ruptura je onemocnění s velkým rizikem úmrtí pacienta ještě před přijetím do nemocnice. I přes neustále probíhající multioborový výzkum není ještě zcela objasněna etiopatogeneze tohoto onemocnění. Vše nasvědčuje tomu, že se jedná o multifaktoriální etiologii a že velmi podstatnou roli hrají aktivované matrixmetaloproteinázy a zánětlivá reakce probíhající ve stěně aorty, přičemž spolu oba procesy navzájem souvisí. Tyto pochody pak vedou k přestavbě a změně kvality cévní stěny. V současné době je možná pouze operační a radiointervenční léčba tohoto onemocnění a neustále jsou hledány možnosti konzervativní léčby. Jako jedna z možností farmakologické léčby je diskutováno využití statinů, které by mohly ovlivňovat jak zánětlivou reakci ve stěně aneuryzmatu, tak i aktivitu matrixmetaloproteináz, bezesporu nezbytné patologické procesy ovlivňující vývoj výdutě. Cílem předkládané práce bylo potvrdit tuto hypotézu na experimentálním modelu aneuryzmatu břišní aorty u velkého zvířete (prase domácí).

2 Metodika

2.1 Zvířata, chirurgická část experimentu, sledování, ultrazvukové měření a kontroly, odběr vzorků

První část projektu probíhala na vybaveném experimentálním pracovišti Lékařské fakulty v Plzni, Univerzity Karlovy (Obr.4). Práce probíhala v souladu s Evropskými konvencemi na ochranu zvířat a byla schválena etickou komisí. Součástí týmu byli pracovníci vlastní certifikát pro práci s laboratorními zvířaty.

Celkem jsme pracovali se 30 zvířaty (prase domácí, věk 70-75 dní, průměrná váha 24,6 kg). Všechna zvířata byla orotracheálně intubována, ventilována (přístroj Elema-Siemens) a operována v celkové anestezii, která byla navozena thiopentalem 5mg/kg, (Thiopental Valeant 1x0.5GM, VUAB Pharma a.s., Roztoky, Česká Republika), ketaminem 1 mg/kg (Calypsol inj.sol. 5x500 mg, Chemical Works of Gedeon Richter Ltd., Budapest, Hungary), fentanylem 0.04 mg/kg (Fentanyl-Janssen 78.5µg/1ml inj.sol, GlaxoSmithKline Manufacturing S.p.A., Parma, Italy). Svalová relaxace byla navozena podáním pankuronia 0.2 mg/kg (Pavulon 2 ml inj.sol., N.V. Organon, Oss, Netherlands).

Během operace jsme u všech zvířat vypreparovali segment subrenální aorty od odstupu renálních tepen po bifurkaci aorty. Tento segment byl proximálně i distálně uzavřen cévními svorkami a vyřazená část aorty byla po dobu 15 minut promývána roztokem prasečí pankreatické elastázy (Elastáza typ I E 1250, 7mg protein/ml, Sigma-Aldrich spol. s r.o., Praha, Česká Republika) a fyziologického roztoku v ředění 1:1. K vytvoření aneuryzmatu jsme tento postup kombinovali ještě s nasazením stenozující manžety na břišní aortu těsně pod renálními

tepny (145) (Obr.6 a 7). Po probuzení z anestezie byla zvířata extubována.

Od prvního pooperačního dne byla všechna zvířata bez rozdílu krmena běžnou stravou. Zvířata byla náhodně rozdělena do dvou skupin. Polovině zvířat bylo krmivo obohaceno o Atorvastatin v dávce 1.0 mg/kg/den (Atorvastatin Ratiopharm 20 mg, KRKA, d.d., Novo Mesto, Slovenia). Výběr nebyl ničím ovlivněn. Dvě zvířata zemřela během operace a anestezie (srdeční selhání) a jedno muselo být utraceno 10 dní po operaci pro celkově špatný zdravotní stav (pitevní nález - pneumonie). Takto jsme získali skupinu zvířat ovlivněných atorvastatinem (n=14) a skupinu kontrolních zvířat bez ovlivnění (n=13). Sledování zvířat probíhalo 4 týdny. Na konci druhého a čtvrtého týdne jsme všem zvířatům provedli v krátké sedaci ultrazvukovou kontrolu a změřili jsme velikost aneuryzmatu (maximální příčný rozměr) a průměr aorty nad aneuryzmatem (Obr.5). Po ultrazvukové kontrole na konci čtvrtého týdne jsme všechna zvířata reoperovali opět v celkové anestezii. Byla použita identická farmaka. Při operaci jsme resekovali subrenální aorty s aneuryzmaty a následně jsme zvířata v hluboké anestezii utratili kardioplegickým roztokem 7.5% chloridu draselného (50-70 ml na zvíře, Kalium Chloratum Léčiva 7.5%, Zentiva a.s. Praha, Česká Republika).

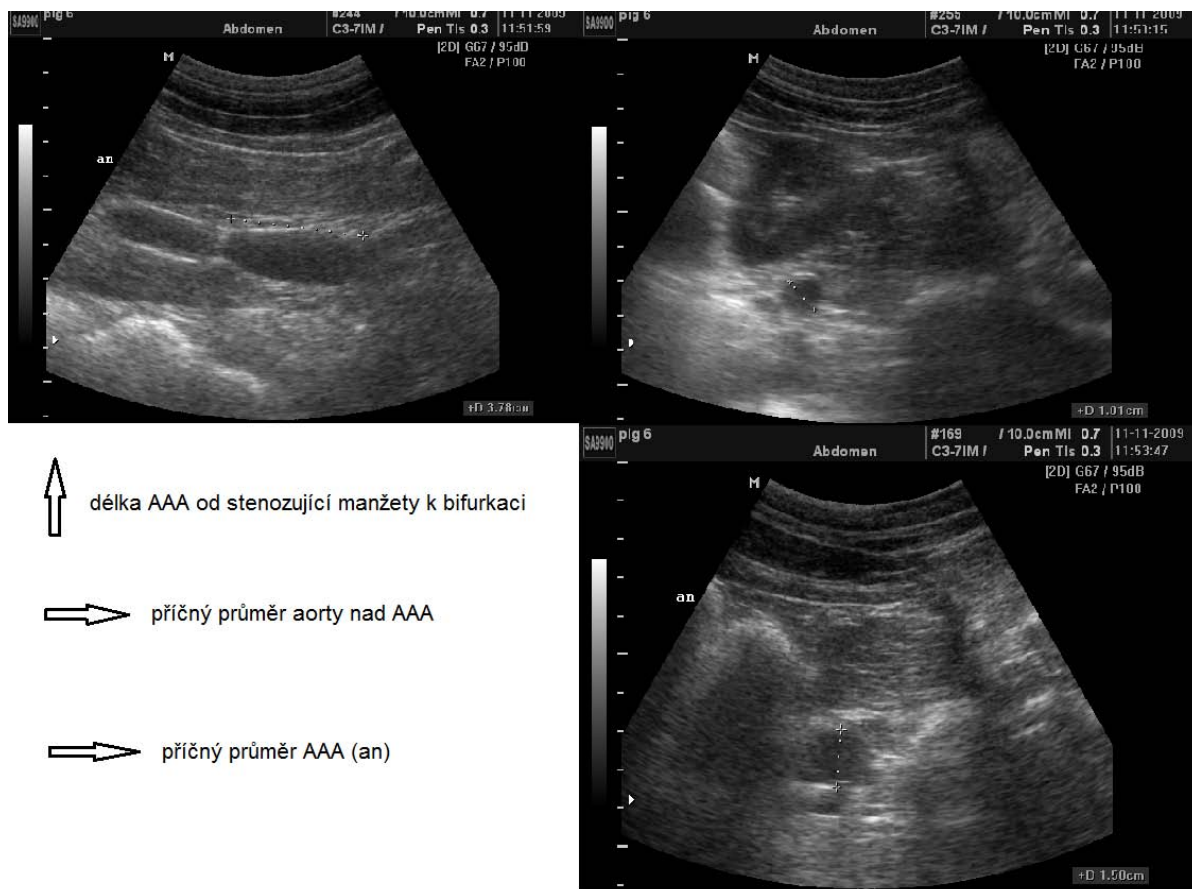
Sonografické kontroly byly prováděny pomocí přístroje Sonoace 9900 (Medison, Korea) a byla používána lineární ultrazvuková sonda (5-9 MHz). Pro přehlednost a kvalitu zobrazení se nejvíce osvědčil translumbální přístup. Měření maximálních rozměrů aorty a aneuryzmatu probíhalo na standardním axiálním zobrazení. Protože jsme si byli vědomi možných interindividuálních rozdílů v šíři aorty mezi jednotlivými zvířaty, měřili jsme vždy u každého zvířete průměr aorty nad aneuryzmatem a maximální průměr aneuryzmatu a při statistickém hodnocení jsme pak užívali

absolutní rozdíl těchto dvou hodnot, abychom minimalizovali vliv interindividuálních rozdílů. Měření probíhala vždy v 0., 14. a 28. pooperační den a ve stejných dnech byla zvířata i vážena.

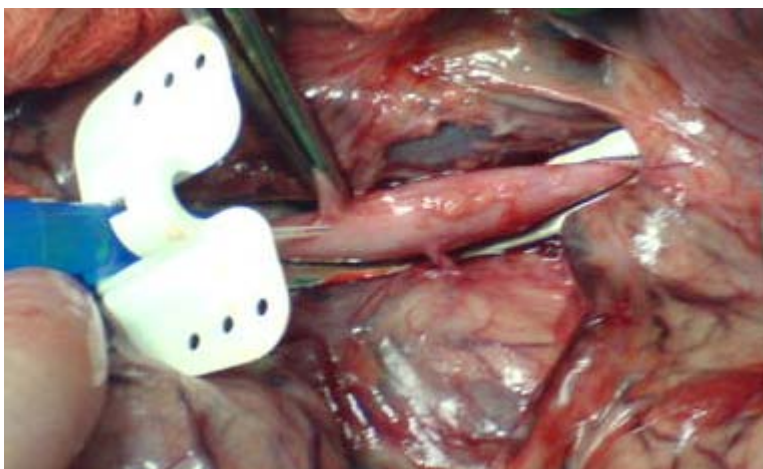
Obr.4: Experimentální pracoviště LF v Plzni



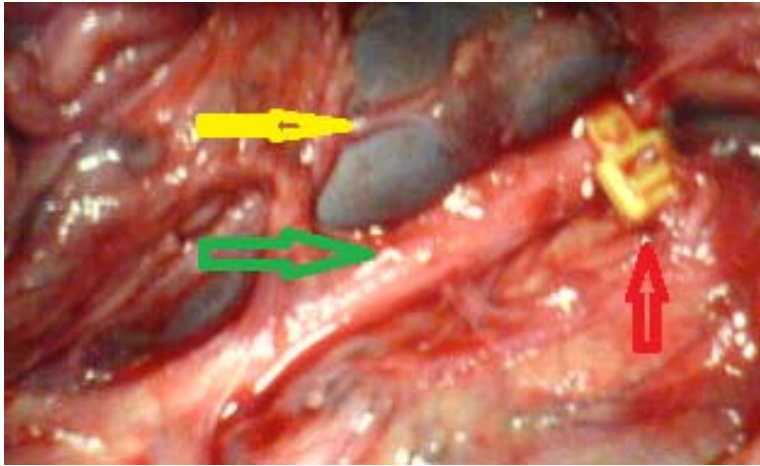
Obr.5: Sonografická měření



Obr.6: Prasečí aorta s naloženými cévními svorkami a perfundovaná kanylou roztokem elastázy (in vivo)



Obr.7: Prasečí aorta (zelená šipka) po sejmutí cévních svorek s naloženou stenozující manžetou těsně subrenálně (červená šipka). (Žlutá šipka ukazuje dolní dutou žílu)



2.2 Histologické vyšetření

Z každého odebraného vzorku aorty byl odebrán totožný asi 1cm dlouhý úsek ze střední části přední stěny aneuryzmatu s maximálním průměrem, který byl zbaven okolní vazivové tkáně a zbytků krve a byl fixován roztokem formalínu, roztokem etanolu byl vysušen a zalit do parafínového bločku, který byl příčně prokrájen na 4 - 5 μm silné řezy. Z každého bločku byly 2 řezy barveny Verhoeffovým haematoxylinem a zeleným trichromem (146), aby byly patrné všechny vrstvy stěny aorty a aby byla rozlišena elastinová a kolagenová vlákna a buňky cévní hladké svaloviny (VSMC). Další řezy byly zpracovány imunohistochemicky k rozpoznání jednotlivých fenotypů buněk hladké svaloviny a na přítomnost vasa vasorum. K rozlišení kontraktálního a syntetického fenotypu VSMC jsme použili protilátky proti aktinu a desminu (kontraktální fenotyp) a proti vimentinu (syntetický fenotyp). Pro odlišení endotelu byly použity protilátky

proti von Willebrandově faktoru. Protilátky proti myeloperoxidáze granulocytů a proti kalprotektinu makrofágů jsme použili k detekci zánětlivé infiltrace ve stěně aorty.

2.3 Kvantifikace

Ke kvantitativní analýze byly použity stereologické metody a software Ellipse (ViDiTo, Košice, Slovakia) podobně jako u předchozích studií aneuryzmatu břišní aorty (Tonar 2010) (147) a studií na prasečích modelech (Witter et al., 2010). (148)

Míra destrukce elastinových vláken byla vyhodnocena z řezů barvených Verhoeffovým hematoxylinem a zeleným trichromem (Obr.8-A) pomocí dvou parametrů: **plošný podíl elastinu v intimě a medii AA**(elastin, intima+media) a **délková hustota elastinových vláken v intimě a medii LA**(elastin,intima+media) ve dvou rovinách. Obě metody jsou založeny na počítání elastinových vláken a membrán ve stereologické mřížce (Witter et al., 2010). (148)

Stejně metody i řezy byly použity pro odhad **plošného podílu kolagenu v intimě a medii AA**(collagen, intima+media). Tytéž řezy, ale při jiném zvětšení byly použity i pro měření **tloušťky intimy a medie** (Obr.8-B).

Množství **vasa vasorum** jsme hodnotili jako počet mikrocév zachycených v ploše řezu aortální stěnou QA na preparátech barvených na von Willebrandův faktor (Witter et al., 2010)(Obr.8-C). Mimo počtu vasa vasorum jsme hodnotili také jejich **distribuci v celé šířce aortální stěny**

pomocí následující funkce:

$$f=d1/(d1+d2)$$

Parametr d1 je vzdálenost mikrocévy od zevního okraje adventicie a parametr d2 je vzdálenost od lumen aorty

Funkce popisuje umístění mikrocévy v radiálním směru napříč aortální stěnou. Hodnota f rovna 0 tak označuje umístění na zevním okraji adventicie a hodnota f rovna 1 umístění na luminálním okraji.

Přítomnost buněk exprimujících aktin, desmin a vimentin v intimě a medii byla vyjádřena a kvantifikována opět jako plošný podíl příslušných, při imunohistochemii pozitivních populací buněk **AA(actin, intima+media)**, **AA(desmin, intima+media)**, a **AA(vimentin, intima+media)**.(Obr 11, Graf 2-B)

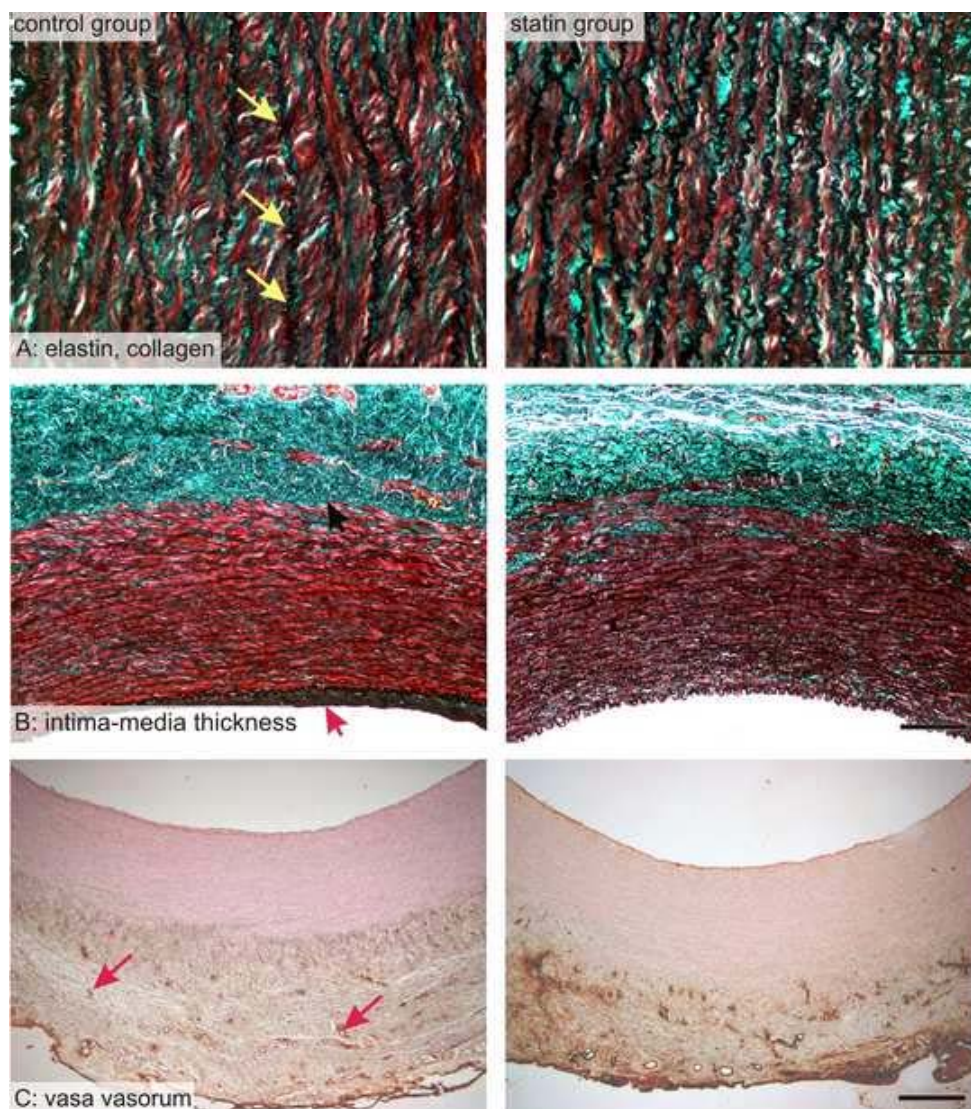
Pro hodnocení zánětlivé infiltrace ve stěně aneuryzmatu jsme opět použili imunohistochemické metody. Detekovali jsme přítomnost myeloperoxidázy (neutrofilní granulocyty) a kalprotektinu makrofágů (makrofágy). Ke kvantifikaci byl použit opět plošný podíl **AA(granulocyte, wall)** a **AA(macrophages, wall)**.(Graf 3)

Obr.8 Srovnání mezi skupinami - elastin, kolagen, tloušťka tunica intima+tunica media, vasa vasorum

A – elastin (černá vlnitá vlákna označená žlutou šipkou) a kolagen (zeleně) a buňky hladké svaloviny (hnědočerveně). V kontrolní skupině jsme našli méně elastinu než ve skupině ovlivněné statinem ($p < 0.001$, Graf 2-A), ale množství kolagenu bylo srovnatelné v obou skupinách

B – tloušťka tunica intima+tunica media – vzdálenost od povrchu intimy (červená šipka) k zevnímu okraji hladké svaloviny v tunica media (černá šipka). Tloušťka t.intima+t.media byla větší ve skupině kontrol ($p = 0.003$, Graf 2-D) (tvorba neointimy, hypertrofie t.media)

C – vasa vasorum (červené šipky). Hustota vasa vasorum v cévní stěně, která nebyla ovlivněna statinem byla nižší ($p = 0.001$, Graf 2-C). Rozložení vasa vasorum v cévní stěně bylo srovnatelné v obou skupinách. **Použité metody:** Hematoxylin a zelený trichrom (A, B) (146). Imunohistochemická detekce von Willebrandova faktoru (C)



2.4 Statistika

Nulová hypotéza byla stanovena takto: Mezi oběma skupinami ve studii nejsou rozdíly. Data byla zpracována softwarem Statistica Base 9 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

Při statistickém hodnocení byl využit Shapiro-Wilks' W test, neparametrické testy, Wilcoxon test a Man-Whitney U test. Výsledky byly statisticky významné pokud $p < 0.05$.

2.5 Proteomika

Vzorky určené k proteomické analýze byly odebrány jako část stěny aorty o rozměrech 5x5mm zbavené adventicie, řádně zbaveny zbytků krve a ostatních tkání a ihned hluboce zamrazeny tekutým dusíkem na teplotu -70 stupňů Celsia, při které byly také dále uchovávány. Vzorky byly zpracovány proteomickou laboratoří LF UK v Plzni. Vzorky byly zpracovány dvourozměrnou gelovou elektroforézou, podrobeny spektrometrické analýze MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation) hmotnostní spektrometrií. Vytipované frakce proteinů byly zmapovány na přístroji typu TOF/TOF (Time Of Flight).

3 Výsledky

Průměrná váha zvířat na začátku experimentu byla 24.6 ± 2.9 kg. Při první kontrole po 14 dnech 30.5 ± 4.9 kg a 37.5 ± 4.5 kg na konci experimentu po 28 dnech. Ve váze zvířat nebyly v průběhu experimentu žádné rozdíly mezi oběma skupinami (Tab.10).

Výsledky ultrazvukových měření jsou zobrazeny v Grafu 1 a Tabulce 10. Obrázky 8 a 11 srovnávají histologické preparáty obou skupin. Výsledky kvantitativní analýzy prezentuje Graf 2, Graf 3 a Tabulka 9.

3.1 Průměr aorty

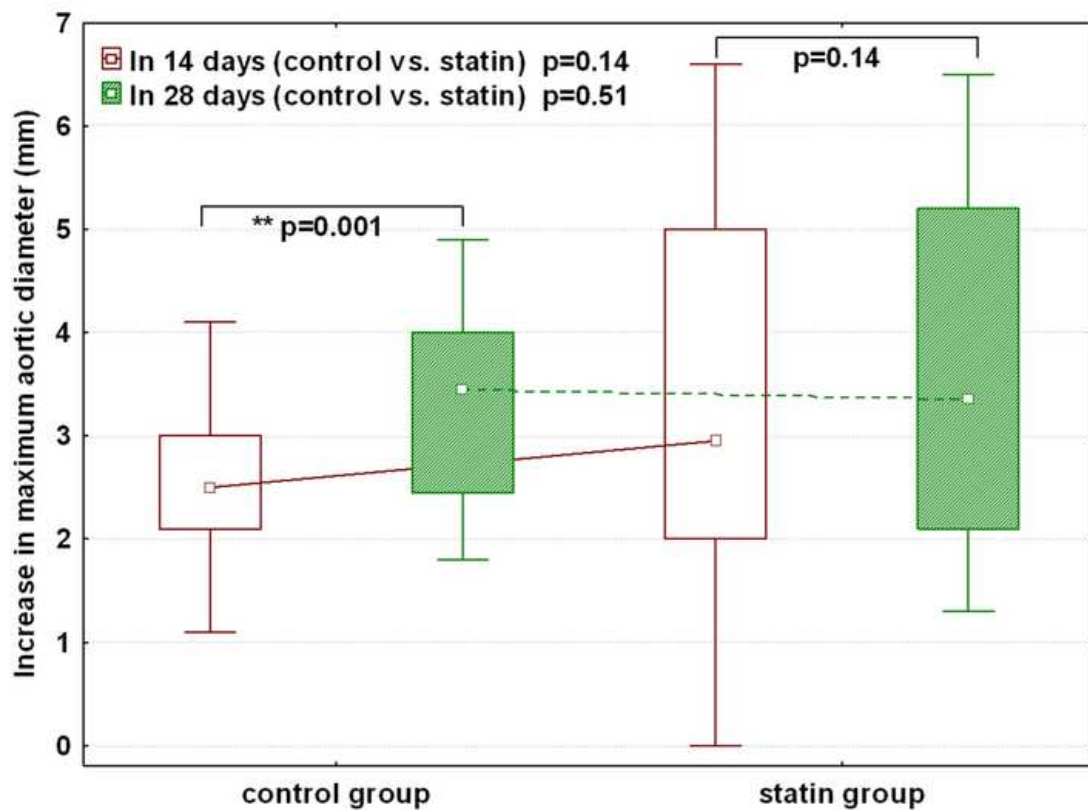
Ve skupině kontrolních zvířat jsme pozorovali větší nárůst maximálního průměru aorty po 28 dnech než po 14 ($p=0.001$, Tab.10, Graf 1). Ve skupině zvířat ovlivněných atorvastatinem jsme nepozorovali nárůst maximálního průměru aorty po dobu experimentu. Pokud jsme srovnali nárůst průměru aorty mezi oběma skupinami 14.den a poté i 28.den nepozorovali jsme ani při jednom srovnání statisticky významný rozdíl.

Tab.10 Výsledky měření – průměry aorty a aneuryzmat a hmotnosti zvířat 14. a 28. den

cislo	kg_pocatek	kg_14	norm_14	aaa_14	rozdil_14	kg_28	norm_28	aaa_28	Rozdíl_28	Skupiny
1	22,5	32	8,3	11,3	3	36,6	8,3	12,3	4	Kontroly
2	23	32	8,2	12,3	4,1	32,0	8,8	13,7	4,9	Kontroly
3	22	34	8,8	11,4	2,6	28,5	9,0	13,0	4	Kontroly
5	22,5	28,5	8,8	12,9	4,1	36,8	9,2	13,7	4,5	Kontroly
6	24	27,2	9,8	12,1	2,3	38,2	10,2	13,6	3,4	Kontroly
7	23	29	9,0	12,0	3	31,8	9,0	12,5	3,5	Kontroly
8	24	31,5	9,0	10,8	1,8	38,5	9,2	11,7	2,5	Kontroly
9	24	27	10,2	10,2	0	38	8,5	9,8	1,3	Léčené
10	27	29	6,7	13,3	6,6	34	8,9	12,4	3,5	Léčené
12	25	32	8,4	12,4	4	41	8,5	13,8	5,3	Léčené
14	26	36	9,6	11,6	2	40	9,8	13,3	3,5	Léčené
15	25	35	8,4	11	2,6	42	8,3	9,6	1,3	Léčené
16	25,5	36	9,6	14,6	5	46	9,8	15	5,2	Léčené
19	23,5	30	9,1	11,1	2	32	9,3	13,3	4	Kontroly
20	26,3	32,4	8,4	10,3	1,9	40	8,5	10,4	1,9	Kontroly
21	29,8	38	8,6	10,9	2,3	38	8,4	10,8	2,4	Kontroly
22	21,5	21,4	7,2	8,3	1,1	28	7,1	8,9	1,8	Kontroly
23	32,4	41	7,5	9,9	2,4	43	8,5	11,4	2,9	Kontroly
24	21,4	22,5	6,9	9,8	2,9	30	6,8	10,4	3,6	Kontroly
25	26,6	29,2	8,9	10,4	1,6	38,5	8,8	10,8	2	Léčené
26	22	26	7,8	12,8	5	31,7	8,1	13	4,9	Léčené
27	21,6	28,4	7,7	10,4	2,7	36,6	8,3	11,1	2,8	Léčené
28	29,1	38,5	8,3	13,9	5,6	48	8,4	15,1	6,5	Léčené
29	24,4	31	8,6	11	2,4	40	8,9	11,5	2,6	Léčené
30	21,4	29,3	8,6	13,5	4,9	37	8,3	14,4	5,9	Léčené
31	28	29,6	7,8	11	3,2	35,3	7,9	11,1	3,2	Léčené
32	21,4	25,6	8	10	2	32	8,1	10,2	2,1	Léčené

Graf 1. Ultrazvukové měření velikosti aneuryzmat. Den 14 a den 28. Pro statistické hodnocení růstu výdutí jsme porovnávali vždy rozdíl mezi maximálním příčným rozměrem nedilatované aorty nad aneuryzmatem a maximálním příčným rozměrem výdutě u každého zvířete. Ve skupině kontrol jsme zaznamenali nárůst ve sledovaném parametru mezi dnem 14 a 28. Ve skupině ovlivněné statinem jsme toto nepozorovali. Pokud jsme ale srovnávali mezi sebou obě skupiny ani 14.den ani 28.den se mezi sebou skupiny významně nelišily.

Mann-Whitney U-test, Wilcoxonův párový test. Statistické významnosti bylo dosaženo pokud $*p < 0.05$, $**p < 0.01$.



3.2 Elastin, kolagen a tloušťka stěny

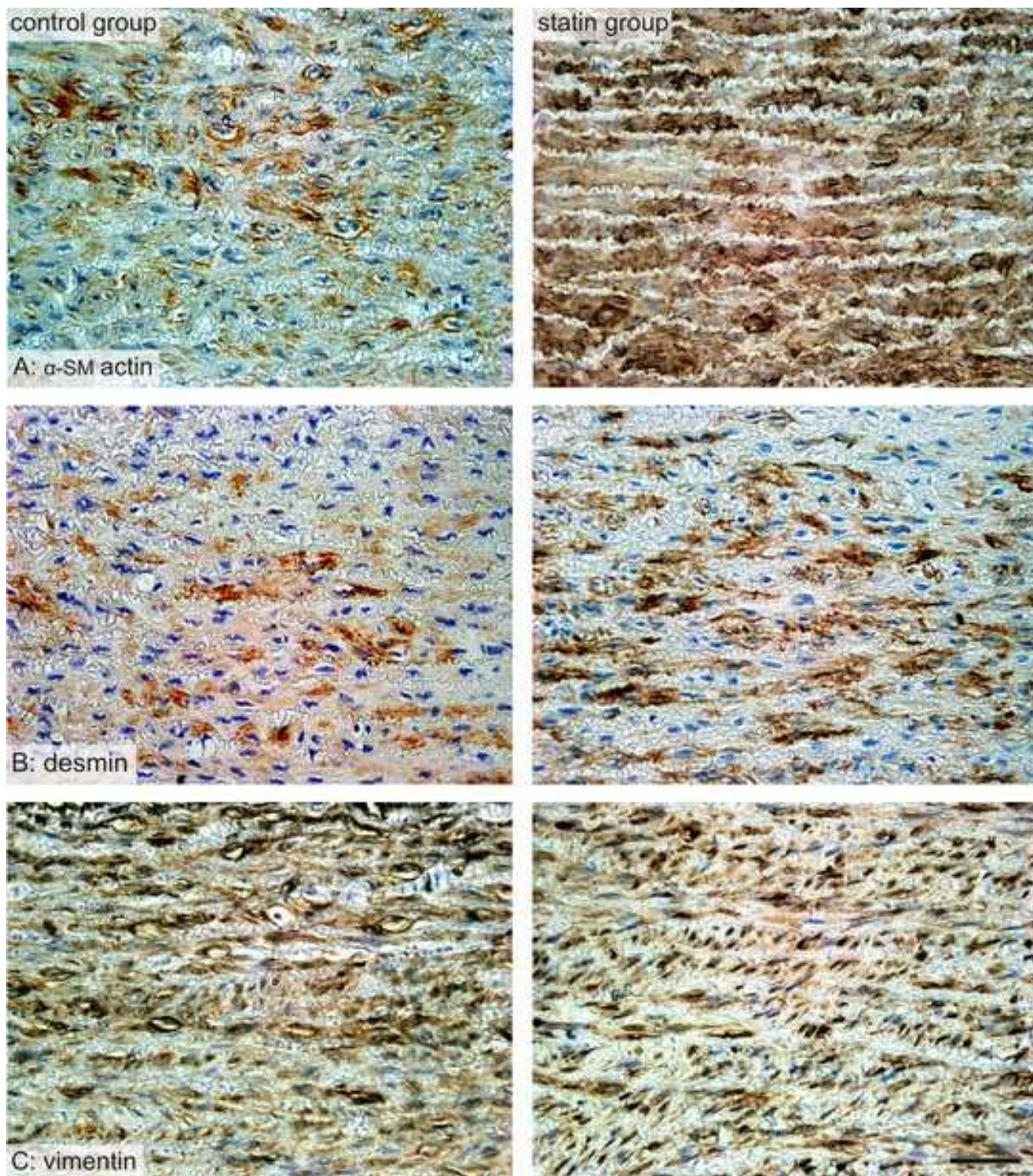
Ve skupině ovlivněné statinem byly oba sledované parametry charakterizující síť elastinových vláken vyšší než ve skupině kontrol ($p < 0.001$, Obr.8-A, Graf 2-A). V parametrech charakterizující kolagen jsme nepozorovali statisticky významné rozdíly (Obr.8-A, Graf 2-A). Tloušťka intimy a medie byla naopak ve skupině kontrol větší než ve skupině ovlivněné ($p = 0.003$, Graf 2-D, Obr.8-B). Větší tloušťka stěny aneuryzmat u zvířat neovlivněných atorvastatinem byla způsobena utvářením neointimy a zesílením medie.

3.3 Expresi aktinu, desminu a vimentinu ve stěně aneuryzmatu

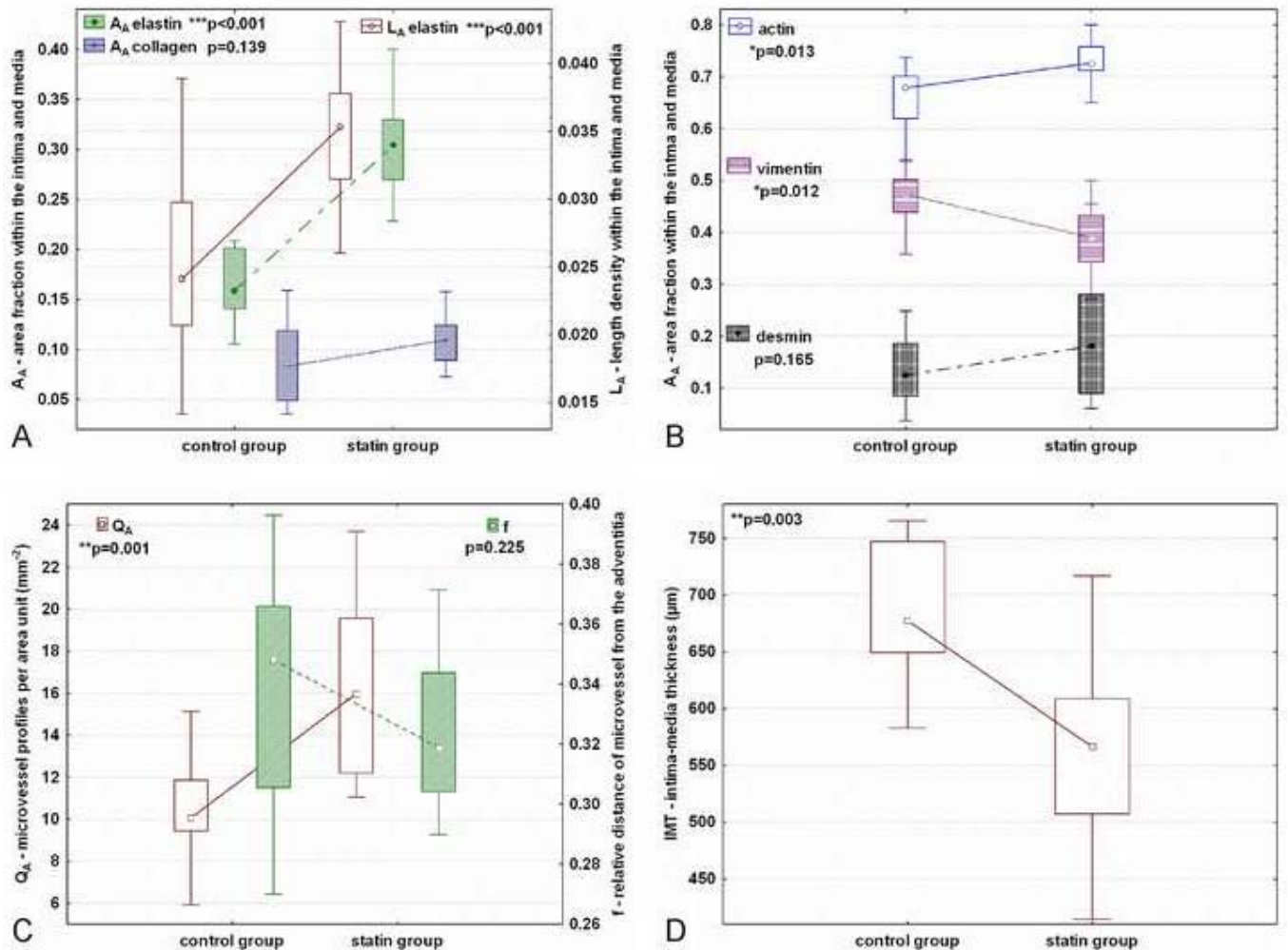
Ve vzorcích ze skupiny statinem ovlivněných zvířat jsme našli vyšší expresi aktinu než ve skupině kontrol ($p = 0.013$, Obr.11-A, Graf 2-B). Opačná situace byla při expresi vimentinu, která byla vyšší ve skupině kontrol ($p = 0.012$, Obr.11-C, Graf 2-B). V expresi desminu nebyly mezi skupinami rozdíly (Obr.11-B, Graf 2-B).

Obr.11. Srovnání jednotlivých skupin - exprese aktinu, desminu and vimentinu

A - Nižší exprese aktinu byla pozorována ve skupině kontrol ($p=0.013$, Graf 2-B). **B** – Množství desmin pozitivních buněk se mezi skupinami nelišilo **C** – Ve skupině kontrol jsme zjistili vyšší expresi vimentinu, což svědčilo pro větší zastoupení syntetického fenotypu hladkosvalových buněk



Graf 2. Kvantitativní hodnocení složení stěny aneuryzmatické, aneuryzmatické ovlivněné statinem a normální A – Plošný podíl (levá osa) adélová hustota (pravá osa) elastinu a kolagenu v intimě a medii B – Plošný podíl aktinu, desminu a vimentinu C – Hustota vasa vasorum (levá osa) a relativní vzdálenost mikrocév od adventie (pravá osa) D – Tloušťka intimy a medie A-D – Neparametrický Mann-Whitney U-test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and * $p < 0.001$).**



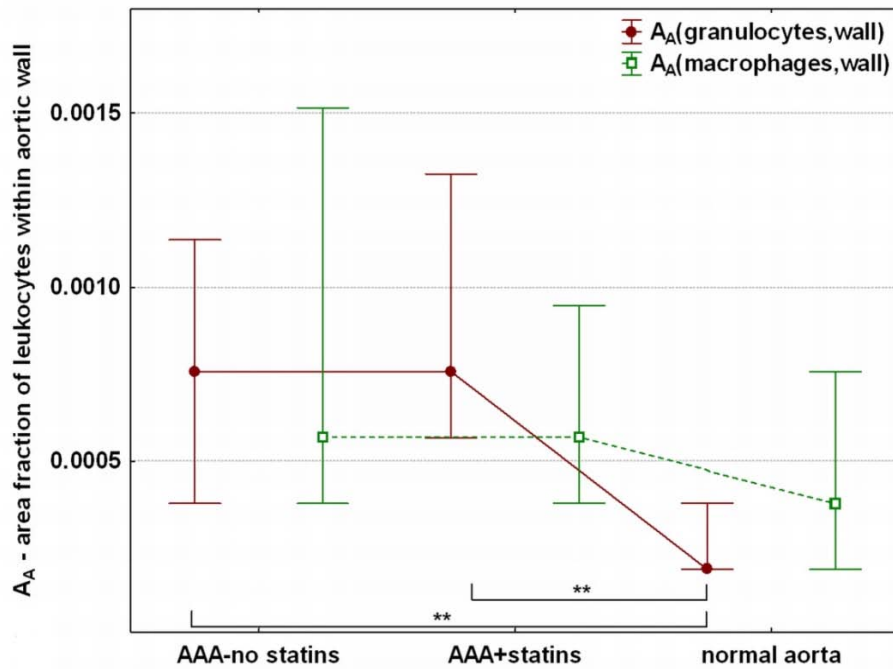
3.4 Hustota a distribuce vasa vasorum

Ve skupině ovlivněné atorvastatinem jsme na řezu našli větší množství vasa vasorum než ve skupině kontrol ($p=0.001$, Obr.8-C, Graf 2-C), přičemž jejich průměr v obou skupinách byl srovnatelný. V obou skupinách bylo maximum vasa vasorum nalezeno v zevních 2/3 cévní stěny.

3.5 Zánětlivá infiltrace

Míra infiltrace cévní stěny neutrofilními granulocyty a makrofágy byla v obou skupinách zvířat s aneuryzmaty srovnatelná. Nelišila se ani distribuce této zánětlivé infiltrace v jednotlivých vrstvách aortální stěny. Ve stěně aorty, která nebyla aneuryzmaticky postižená byla zánětlivá infiltrace makrofágy i neutrofilními granulocyty signifikantně menší ($p<0.01$, Graf 3).

Graf 3 Kvantitativní hodnocení složení stěny aneuryzmatické, aneuryzmatické ovlivněné statinem a normální Plošný podíl neutrofilních granulocytů A_a (granulocytes,wall) a makrofágů A_a (macrophages,wall) v aortální stěně ** $p < 0.01$



3.6 Korelace kvantitativních parametrů

Vzájemné vztahy kvantitativních parametrů ukazuje následující tabulka 9

Tab.9 Přehled Spearmanových koeficientů korelace $R > 0,4$ při $p < 0,05$ u kvantitativních parametrů hodnocených ve stěně elastázou indukovaných prasečích AAA

AA – plošný podíl, LA – délková hustota, QA – mikrovazální hustota, f – relativní vzdálenost mikrocév od adventicie, IMT – tloušťka intimy a medie, IT – tloušťka intimy, *int+media* – intima a media, n.s. – nesignifikantní korelace ($|R| < 0,3$)

	LA(elastin) <i>int+med</i>	AA(aktin) <i>int+med</i>	AA(desmin) <i>int+med</i>	QA	f	IMT	IT
AA(elastin), <i>int+med</i>	0,83	0,58	n.s.	0,66	-0,33	-0,42	-0,54
AA(kolagen), <i>int+med</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-0,31	-0,49	n.s.
LA(elastin), <i>int+med</i>	-	0,58	n.s.	0,43	n.s.	n.s.	-0,52
AA(aktin), <i>int+med</i>	-	-	0,52	0,54	n.s.	n.s.	-0,46
AA(desmin), <i>int+med</i>	-	-	-	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
AA(vimentin), <i>int+med</i>	-	-	-	n.s.	n.s.	0,44	n.s.
AA(granulocyty), <i>stěna</i>	-	-	-	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
AA(makrofágy), <i>stěna</i>	-	-	-	n.s.	n.s.	0,47	n.s.
QA	-	-	-	-	n.s.	-0,57	n.s.
f	-	-	-	-	-	n.s.	n.s.
IMT	-	-	-	-	-	-	0,59

3.7 Složení aortální stěny

Mimo výše zmíněných nálezů jsme ve skupině kontrol nalézali na preparátech neointimu. Na preparátech ze skupiny ovlivněné statiny se neointima neformovala. Ztluštělá intima se skládala především z kolagenu a buněk, které exprimovaly aktin a vimentin. V kontrolní skupině jsme na preparátech nalézali spíše difusně porušenou síť elastinových vláken. V tunica media obou skupin bylo patrné pravidelné opakování lamelárních struktur elastických membrán, hladkosvalových buněk, kolagenu a matrix. V obou skupinách jsme v adventicii nalézali lymfoidní folikly. Na žádném ze

zkoumaných vzorků jsme nenalezli trombus, depozita lipidů, ložiska medionekrózy, intramurálního hematomu, disekce ani ruptury. Elastinová vlákna byla částečně porušena i v adventicii, ale protože na odebraných vzorcích nebyla adventicie zachovaná vždy v celé tloušťce, nebyly tyto změny kvantifikovány.

3.8 Proteomická analýza

Neprováděli jsme kompletní analýzu všech proteinů. Snažili jsme se vybrat jen ty frakce proteinů, které se zdály odlišné při srovnání výsledků obou skupin. Teprve z těchto frakcí jsme se snažili identifikovat jednotlivé proteinové řetězce. Výsledky jsme se snažili porovnat i s dosud publikovanými daty. Celkem jsme detekovali 175 proteinových frakcí (to neznamena nutně 175 různých proteinů, budou také různé izoformy a fragmenty). 20 z nich se intenzitou významně liší mezi oběma skupinami ($p < 0,05$). Expresí všech nalezených proteinů je u intervenovaných zvířat užívajících statin nižší (downregulované). Z těchto 20 proteinů by souvislost s aneurysmatem mohl mít kreatin kináza typ B a peptidy-prolyl cis trans isomeráza A. Jinak se nám tímto postupem nepodařilo identifikovat proteiny, které by mohli mít souvislost s rozvojem aneurysmatu.

4 Diskuze k experimentální práci

4.1 Zvětšování průměru aorty u zvířat neovlivněných statinem?

Přestože jsme mezi skupinami našli rozdíly v histologické skladbě stěny a v tloušťce intimy a medie, nenalezli jsme tak významné rozdíly při ultrazvukovém měření aneuryzmat. Rozměry byly měřeny s přesností na milimetry, což nemuselo být dostatečně senzitivní k detekci změn. Z vážení zvířat je patrné, že zvířata v obou skupinách rostla a prospívala během experimentu stejně a růst zvířat a jejich prospívání tedy nebude faktor, který by ovlivňoval výsledky měření. Podávání statinu nevedlo dle měření jednoznačně k zabránění vzniku aneuryzmatu ani jednoznačně nebránilo jeho růstu. Přesto, když srovnáme velikosti aneuryzmat ve skupině kontrol mezi 14. a 28. dnem, je jasný nárůst velikosti aneuryzmat ($p=0,001$). Ve skupině ovlivněné statinem není takový růst patrný ($p=0,14$). Vzhledem k omezené délce trvání experimentu a sledování zvířat si netroufáme dělat jen na základě výsledku měření velikosti aneuryzmat jednoznačné závěry. Proto bylo nutné zkoumat i histopatologické změny, které jsou uvedeny výše, a které podporují hypotézu, že by statiny mohly stabilizovat stěnu aneuryzmatu a brzdit tak další progresi velikosti aneuryzmatu. Přínosem k hodnocení růstu by jistě bylo déle trvající sledování (řádově měsíce).

4.2 Větší množství elastinu u zvířat léčených statinem

K vyjádření množství elastinu jsme použili dva parametry: plošný podíl a délkovou hustotu. Ani jeden z parametrů nemá závislost na tloušťce aortální stěny a oba parametry nejsou jen obrazem celkového obsahu elastinu, ale také obrazem větvení a/nebo fragmentace elastinových membrán a vláken. Přestože v kontrolní skupině bylo celkové množství elastinu menší, bylo zachováno jeho lamelární uspořádání. Proto se domníváme, že štěpení elastinu navozené infusí elastázy probíhá nejspíše na elastinových větvích 2. a 3. řádu, které tvoří anastomózy mezi hlavními řetězci elastinu (149). Přesto i tyto mikroskopické změny mohou vyústit ve vznik makroskopického aneuryzmatu.

Přínosný efekt atorvastatinu na elastin přítomný v extracelulární matrix arterií byl již publikován (150). Mechanismus účinku je pleiotropní a dává se do souvislosti s antioxidantními vlastnostmi statinu (150), prostřednictvím inhibičního efektu na vyzrávání makrofágů (133), stejně jako s inhibičním efektem na matrixmetaloproteinázy (151) (152). Tento efekt atorvastatinu na kvalitnější elastinovou síť, který jsme potvrdili v našem projektu by mohl mít i klinický význam. Dle publikovaných prací je míra elasticity a distenzibility aortální stěny prediktivním faktorem k indikaci a správnému časování plánované chirurgické léčby i malých aneuryzmat (153). Efekt atorvastatinu na elastinová vlákna a síť v aortální stěně tyto publikované výsledky významně podporuje.

4.3 Změna v syntetický fenotyp VSMC, nejsou-li podávány statiny

Oba parametry, plošný podíl i délková hustota elastinu pozitivně korelují s expresí aktinu. V kontrolní skupině byl plošný podíl aktin imunopozitivní populace buněk nižší a vyšší byl plošný podíl vimentin imunopozitivní populace buněk. V expresi desminu nebyl mezi skupinami signifikantní rozdíl. Naše výsledky odpovídají výsledkům Wagnera (2010) (154), který na prasečím modelu potvrdil, že lovastatin brání downregulaci exprese kontraktilních proteinů.

VSMC je heterogenní populace buněk, ve které na základě funkce, histochemických charakteristik a fenotypu můžeme rozlišovat dva typy: kontraktilní a syntetické (155) (156). Aktin a desmin bývají využívány jako markery kontraktilního fenotypu, zatímco vimentin je typický pro syntetický fenotyp VSMC.

V kontrolní skupině převládal syntetický fenotyp VSMC. Ve ztluštělé intimě a medii vzorků z kontrolní skupiny nebyl vyšší plošný podíl kolagenu než ve skupině ovlivněné statinem. Na ztluštění se tedy zajisté podílelo zmnožení vimentin pozitivních buněk. Syntetický fenotyp VSMC odolává mechanické zátěži hůře než kontraktilní (156); nicméně u elastického typu tepny jako je aorta patrně není soudržnost mezi buňkami (VSMC) klíčová. Na druhou stranu aktivované syntetické VSMC zvyšují produkci extracelulární matrix, která stabilizuje stěnu aneuryzmatu. Ztluštění stěny a zmnožení extracelulární matrix zase vedou k tkáňové hypoxii. V tomto projektu jsme nestanovovali přímo nějaký ukazatel tkáňové hypoxie, ale kvantifikovali jsme hustotu a rozložení vasa vasorum.

4.4 Větší hustota vasa vasorum v adventicii a medii zvířat ovlivněných statinem

Větší množství elastinu a aktinu v ovlivňované skupině zvířat pozitivně koreluje i s větší hustotou vasa vasorum. Větší množství elastinu a vasa vasorum u zvířat ovlivněných statinem nejspíše představuje nejdůležitější výsledky projektu. Je více mechanismů, které to mohou vysvětlit. Za prvé: o statinech je známo, že podporují angiogenezi (157). Za druhé: ischemie indukuje angiogenezi a statiny podporují aktivaci endoteliální NO syntázy (158). V našem modelu jsme nijak neuvažovali ani nezkoumali možný účinek hypoxie, i když můžeme především s ohledem na nasazenou stenozující manžetu určitý stupeň hypoxie stěny předpokládat. Navíc je o statinech známo, že potlačují dysfunkci endotelu navozenou ischemií (159), kterou zajisté po chirurgickém zákroku v našem experimentu musíme předpokládat. Statiny mají v závislosti na koncentraci v angiogenezi dvousečnou roli (160) (161). Zatímco nižší koncentrace podporují angiogenezi, vyšší koncentrace mají spíše efekt antiangiogenetický (161). Statiny mobilizují proangiogenetické progenitorové buňky (157) a takto je navozena ischemií indukovaná angiogeneze.

V prasečím modelu aneuryzmatu břišní aorty se zvětšovalo množství vasa vasorum nejvíce v adventicii a v zevní části medie. Vysvětlujeme si to lokální angiogenezí vycházející z preexistujících vasa vasorum in situ. Takováto distribuce vasa vasorum je blízká stavu, jaký je u normální nepostížené arteriální stěny (162).

Při srovnávání skupin je patrné, že vzorky odebrané zvířatům

ovlivněných atorvastatinem mají více elastinu a slabší stěnu s převahou kontraktilního typu VSMC. Také mají větší počet vasa vasorum. Ztlušťování aortální stěny v kontrolní skupině zvířat nebylo provázeno proporcionálním nárůstem počtu vasa vasorum.

4.5 Zánětlivá infiltrace

Přestože jsou statinové preparáty používány např. u pacientů s astmatem pro svůj protizánětlivý efekt, na našem experimentu se nám nepodařilo prokázat tento účinek ve smyslu snížení zánětlivé infiltrace ve stěně aneuryzmatu. Obě naše experimentální skupiny vykazovaly stejnou míru zánětlivé infiltrace ve stěně výdutí. Množství neutrofilních granulocytů i množství makrofágů, které byly přítomny ve stěně aneuryzmat bylo srovnatelné v obou skupinách. Nelišila se ani distribuce v jednotlivých vrstvách cévní stěny. V obou skupinách zvířat s aneuryzmaty byla míra zánětlivé infiltrace aortální stěny vyšší než u aort zvířat bez výdutě. Toto naše pozorování, ale nevylučuje protizánětlivé působení atorvastatinu. Protizánětlivé působení atorvastatinu ale nespočívá v přímém ovlivnění taxy a průniku zánětlivých buněk do tkáně, ale v působení na expresi prozánětlivých cytokinů a matrixmetaloproteináz.

4.6 Proteomická analýza

Dosavadní výsledky analýzy „proteomu“ v naší studii nepotvrdily ani nevyvrátily naši teorii, že statiny mohou brzdit růst aneuryzmatu a bránit ruptuře. Uvědomujeme si, že naše analýza nebyla dokonalá. Patrně nebyla správně zvolena metodika analýzy a výběru frakcí identifikovaných proteinů. Částečně mohlo dojít i k poškození vzorků a tím zkreslení výsledků při zpracování vzorků a delší dobou od odběru k finálnímu zpracování. Pokusíme se ještě o doplnění analýzy z dosud dostupných a uchovaných vzorků. Tentokrát bychom se chtěli zaměřit přímo na identifikaci konkrétních proteinů v obou srovnávaných skupinách.

4.7 Možná extrapolace výsledku experimentu do humánní medicíny

Anatomie a fyziologie lidského a prasečího organismu jsou velmi podobné. Z tohoto pohledu je prasečí model velmi vhodný i v oblasti kardiovaskulární. Jsme si vědomi, že v experimentu byly použity vyšší dávky atorvastatinu než je běžné u lidí. Proto určitě zůstává otázka, zda by se všechny pozitivní efekty atorvastatinu dostavily i v humánní medicíně při proporcčně nižších dávkách nebo by bylo nutné dosavadní dávkování zvýšit, aby odpovídalo dávkám užitých v experimentu. V současné době již řada pacientů profituje z užívání statinů v sekundární prevenci aterosklerózy (163). Další experimentální a klinické práce snad v budoucnu mohou ukázat, zda jsou malá aneuryzmata břišní aorty správnou indikací k farmakologické léčbě statiny. Na základě výsledků našeho projektu se

můžeme oprávněně domnívat, že nejspíše ano. Protože jsme na preparátech nezaznamenali formování intraluminálního trombu, nebyl v naší práci vliv trombu zkoumán, přestože je to nepochybně činitel, který ovlivňuje vývoj aneuryzmatu. Práce byla zaměřena jen na vliv statinu na vývoj aneuryzmatu a proto nebyly sledovány žádné jiné účinky statinu na celý organismus. Hypolipidemický účinek je dostatečně znám, a již bylo prokázáno, že vliv statinu na aneuryzma je nezávislý na účinku hypolipidemickém.

5 Souhrn experimentální práce a výstupy pro klinickou praxi

5.1 Vznik a růst aneuryzmatu

Podávání atorvastatinu nezabránilo vzniku experimentální výdutě u prasete. Ultrazvukovým měřením velikosti aneuryzmat jsme v našem experimentu neprokázali pomalejší růst výdutí vlivem podávaného atorvastatinu.

5.2 Elastin

Podávání atorvastatinu zvířatům s experimentálně vytvořeným aneuryzmatem břišní aorty vedlo k zachování množství elastinových vláken a k zachování jejich strukturálního uspořádání.

5.3 Kolagen

V našem experimentu jsme neprokázali přímý vliv podávaného atorvastatinu na vlákna kolagenu.

5.4 Buňky hladké cévní svaloviny

Podávání atorvastatinu u prasat s výdutí aorty vedlo k fenotypické změně buněk hladké svaloviny ve stěně výdutě. Skupina zvířat, která byla ovlivňována atorvastatinem měla v cévní stěně více zastoupen kontraktilní fenotyp VSMC. Naproti tomu syntetický fenotyp převládal ve skupině, která farmakologicky ovlivněna nebyla.

5.5 Vasa vasorum

Srovnávání histochemických preparátů barvených na přítomnost von Willebrandova faktoru prokázalo v našem experimentu větší hustotu vasa vasorum ve stěně výdutí u prasat, která dostávala atorvastatin.

5.6 Tloušťka stěny aneuryzmatu

Cévní stěna výdutí, které nebyly ovlivněny účinkem atorvastatinu, byla širší. To pozitivně koreluje i s větším množstvím syntetických VSMC přítomných ve stěně těchto výdutí. Na těchto vzorcích jsme také našli neointimu. Ani v jedné skupině jsme nezaznamenali tvorbu trombu.

5.7 Zánětlivá infiltrace ve stěně výdutě

Množství zánětlivých buněk (neutrofilní granulocyty, makrofágy), které byly přítomny ve stěně aneuryzmat nebylo v našem experimentu modifikováno podáváním atorvastatinu.

5.8 Proteomická analýza

Doposud provedenou proteomickou analýzou vzorků stěn výdutí ovlivněných a neovlivněných podáváním atorvastatinu se nám nepodařilo jednoznačně potvrdit pozitivní vliv užívání atorvastatinu na změny ve složení stěny aneuryzmatu.

5.9 Význam pro klinickou praxi

Pozitivní vliv atorvastatinu na růst výdutí u experimentálních zvířat byl prokázán na malých zvířecích modelech. Naším experimentem jsme potvrdili tyto účinky i na velkém zvířecím experimentálním modelu a zdokumentovali jsme histologickou a kvantitativní analýzou jednotlivé dílčí účinky atorvastatinu na tomto modelu. Podávání atorvastatinu jednoznačně nevedlo ke snížení zánětlivé infiltrace v cévní stěně. Ale celková zánětlivá odpověď organismu je modulována účinkem atorvastatinu (matrixmetaloproteinázy, adhezivní molekuly). Pro tento účinek jsou statinové preparáty již v jiné indikaci používány. Pod vlivem atorvastatinu dochází i k zachování histologické stavby cévní stěny výdutí (elastin, VSMC) a menšímu oxidačnímu stresu (větší hustota vasa vasorum, slabší stěna). Tyto změny mohou v důsledku vést i ke zpomalení rychlosti růstu malých aneurysmat u lidí, u kterých dosud není chirurgická nebo radiointervenční léčba indikovaná a nebo mohou být důvodem k zahájení účinné konzervativní léčby statinovými preparáty i u pacientů s velkými aneurysmaty, kteří ale pro svá přidružená onemocnění nemohou chirurgický nebo radiointervenční výkon podstoupit. V současné době již řada pacientů profituje z užívání statinů v sekundární prevenci aterosklerózy. Dle doporučení Evropské společnosti cévní chirurgie je léčba statiny u pacientů s aneurysmatem břišní aorty indikovaná (140).

III. část Diskuze a **závěr k disertační** **práci**

9 Diskuze

Problematika výdutí břišní aorty se díky vzrůstající incidenci a i díky mediím dostává do širokého povědomí. I přes dobré výsledky elektivních operací zůstává vysoká mortalita a morbidita pacientů s rupturou. Problémem budoucnosti bude zajisté vzrůstající věk populace a narůstající výskyt závažných komorbidit. To se bude jistě týkat i populace pacientů s aneuryzmaty. Bude přibývat pacientů s aneuryzmaty se závažnými komplikujícími nemocemi a ve vyšších věkových skupinách. V současné době již nejsou vyjímkou pacienti ve věku okolo 80 let a vyšším, u kterých plánujeme nebo provádíme chirurgickou či endovaskulární léčbu výdutí břišní aorty. S ohledem na tyto skutečnosti může docházet k nárůstu pooperační mortality a morbidity. Je proto nezbytné podniknout takové kroky, které by lépe dokázaly predikovat riziko ruptury výdutě u každého jednotlivce a které by dokázaly brzdit či bránit růstu aneuryzmat a jejich rupturám. Snaha nalézt účinnou farmakologickou léčbu nebo prevenci a pokusy nalézt a nebo využívat další markery v diagnostice výdutí je plně obhajitelná a žádoucí.

9.1 Trendy

9.1.1 Screeningové programy

Opakovaně je zmiňováno vysoké riziko ruptury aneuryzmatu s vysokou mortalitou a morbiditou. V souvislosti s narůstající incidencí výdutí břišní aorty vyvstává otázka možnosti prevence a efektivního screeningu tohoto onemocnění. Jako screeningová metoda je používána ultrasonografie, jejíž provedení je rychlé, bezpečné, neinvazivní a pro pacienta nezatěžující. Zároveň má tato metoda vysokou spolehlivost v detekci aneuryzmatu. Senzitivita a specifická tato metody je 98% resp. 99% (164). Důvod provádění screeningu je jasný – díky včasnému odhalení onemocnění provést plánovanou operaci a tak předcházet ruptuře a smrti. Většina pacientů nemá do odhalení výdutě žádné potíže vyplývající z výdutě a v naprosté většině i poté zůstávají asymptomatictí. Kontroverzní tedy může být provádění operací u asymptomatických pacientů. Odpověď dávají randomizované studie, které zvažují rizika ruptury u různě velkých výdutí a rizika (mortalitu a morbiditu) plánovaných a urgentních operací. Podle těchto studií u aneuryzmat velikosti 5,5cm nebo aneuryzmat rychle rostoucích a symptomatických převyšuje benefit (přežívání pacientů) rizika (riziko ruptury, peroperační a pooperační mortalita a morbidita) (8). Meta analýza 4 velkých randomizovaných studií dokazuje správnost používání screeningu (Tab.5) (165). Studie zahrnovaly skupiny mužů ve věku od 64 let. Prokázaly snížení incidence ruptury a úmrtnosti na AAA o 50% a prokázaly i snížení celkové úmrtnosti o 6-7% v časovém horizontu 3-5 let ve sledovaných skupinách a podobné výsledky pozorovali v dlouhodobém horizontu. Provádění ultrazvukového screeningu vedlo ke zvýšení počtu

elektivních operací 2-3 krát a ke snížení počtu provedených urgentních operací pro rupturu o 50%.

S rozšiřujícími se znalostmi o patogenezi aneuryzmat by mohly být screeningové programy doplněny nebo rozšířeny o další metody. U rizikových nemocných s pozitivní rodinou anamnézou o genetické vyšetření. U osob s odhaleným aneuryzmatem, které nedosahuje kritérií (velikosti) k léčbě, by mohly být sledovány další parametry mimo velikosti, které by mohli pomoci odhalit pacienty s vyšším rizikem ruptury.

Tab.5

Randomizované studie srovnávající screeningové programy výdutí subrenální aorty

	Viborg Study	Western Australia	MASS	Chichester, Men	Combined
Age (y)	64 – 73	65 – 83	65 – 74	65 – 80	–
Participants (No)	12 639	38 704	67 800	6 040	125 576
Max. Follow-up (y)	9.6	3.6 (11)*	7	15	–
Attendees (%)	77	63**	80	73	74
AAA-Prevalence	4.0%	7.2%	4.9%	7.7%	5.5%

* : Eleven years follow up data on all deaths were available.

** : by inclusion of terminally ill and men with wrong addresses.

9.1.2 Endogenní markery

Vzhledem k dosud neznámým průvodním mechanismům, které iniciují vznik aneuryzmatu (vyjímku tvoří pacienti s vrozenou poruchou pojivové tkáně) nedokážeme v primární prevenci aneuryzmat zasahovat jinak než jen omezením známých rizikových faktorů. Asymptomatictí pacienti jsou nejčastěji diagnostikováni náhodně, při vyšetřování z jiných příčin. Někteří jsou již v době prvotní diagnostiky indikováni k léčbě. Řada z těchto pacientů však nedosahuje velikostí aneuryzmatu indikačních kritérií. Tito pacienti musí být nadále sledováni. Dochází –li u nich k rychlému růstu, rozvoji symptomů nebo v průběhu let došlo pomalým růstem k dosažení velikosti, která již je indikována k léčbě, je nutné tyto pacienty vzhledem k riziku ruptury operovat. Stále jsou však velikost a růst nebo rozvoj symptomatologie zatím asi jedinými kritérii, které jsou všeobecně uznávané jako vypovídající o riziku ruptury a tedy rozhodující k zahájení léčby. Vzhledem k již poměrně široce poznané patogenezi rozvoje a růstu aneuryzmat, se nabízí mnoho dalších kritérií a markerů, které mohou výrazně pomoci u každého konkrétního jedince rozhodovat o míře rizika ruptury a komplikací aneryzmatu. Je známo, že i malá aneuryzmata nedosahující svou velikostí 5 cm praskají (42). S ohledem na tuto skutečnost by velikost, růst nebo symptomy neměly být v budoucnu jediným kritériem, který rozhoduje o nutnosti léčby. Je zřejmé, že růst aneuryzmatu nebo rozvoj symptomatologie závisí na aktivitě procesů, které se odehrávají na buněčné úrovni. Na aktivitě proteolýzy a schopnosti regenerace, na míře zánětlivé infiltrace. Změny histologické stavby cévní stěny nejlépe poznáme na preparátech, ale řadu biochemických pochodů, aktivitu a expresi proteinů, nebo degradační produkty jsme schopni detekovat neinvazivní nebo jen málo invazivní metodikou – odběr periferní

krve, slin, PET/CT apod. Podobně jako i u jiných onemocnění by se komplexní diagnostika a prohlubování znalostí lékařů, kteří jsou odpovědni za dispenzarizaci a léčbu těchto pacientů měla v budoucnu zaměřit právě tímto směrem. Zcela určitě nebude možné dát u každého markeru jasné hranice, které již představují zvýšené riziko ruptury, ale mnohem důležitější bude sledování dynamiky a změn v čase. Mnoho by mohla pomoci další DNA nebo mRNA diagnostika, která by mohla identifikovat další polymorfismy genů zodpovědných za rychlejší růst a rupturu aneuryzmat nebo naopak odhalit geny, jejichž nositelé mají malou tendenci k růstu aneuryzmatu, nebo u nich v čase dochází i k mírné regresi velikosti a pomoci tak vytypovat rizikové nemocné.

9.2.1 Primární diagnostika

I s vědomím všech dosud známých mechanismů vzniku a rozvoje aneuryzmatu nejsme schopni detekovat vznikající asymptomatické aneuryzma jinak než pomocí fyzikálního vyšetření a zobrazovacích metod (ultrasonografie, počítačová tomografie). Toto by měla být doména screeningových programů. Vyjimku tvoří snad jen aneuryzmata u pacientů s vrozenou poruchou pojiva (např. Marfanův syndrom), u kterých můžeme rozvoj aneuryzmatu předpokládat a zaměřit tak prevenci a sledování takových pacientů. Ale i u této skupiny pacientů může být komplikace aneuryzmatu prvotní manifestací této genetické poruchy. Obdobně bychom se měli chovat i u pacientů s pozitivní rodinou anamnézou, kteří jsou ve vyšším riziku a cíleně u nich pátrat po aneuryzmatu. Nejvíce ohroženi bývají sourozenci mužského pohlaví. V primární diagnostice by zajisté

pomohlo, pokud bychom znali přímo vyvolávající příčiny vzniku aneuryzmat. Dosud známe jen společné mechanismy jejich vzniku a progresu. Většinou jde o patologicky vystupňované, jinak fyziologické pochody, nebo pochody, které jsou společné i s jinými nemocemi (ateroskleróza, plicní choroby), ale nevíme co tyto reakce spouští nebo co rozhoduje o tom, že dojde právě k rozvoji aneuryzmatu. Určitým optimistickým výhledem do budoucnosti by mohla být ještě pokročilejší molekulárně genetická diagnostika.

9.2.2 Léčba a prevence

Známe celou řadu rizikových faktorů vzniku a vývoje výdutí a ruptury. Některé jsme schopni ovlivnit (kouření, hladiny lipidů, arteriální hypertenze), jiné jsou dané a neovlivnitelné (věk, rasa, pohlaví). V případě známých genových mutací se můžeme domnívat, že by se mohlo jednat o rizikové faktory potenciálně ovlivnitelné například metodami genového inženýrství. Známe již také celkem podrobně patogenetické mechanismy, které mají na svědomí progresi aneuryzmat a rupturu. Aktivitu těchto procesů jsme schopni monitorovat a dle dynamiky změn rozhodovat o možné míře rizika komplikací a ruptury a lépe tak indikovat chirurgickou léčbu. Z velkých studií, ale i z jednotlivých kazuistických sdělení je jasné, že rizikem ruptury nejsou ohroženy jen tzv. velká aneuryzmata nebo aneuryzmata rychle rostoucí. Všem pacientům s odhalenou výdutí je proto potřeba věnovat větší pozornost než dosud. Mnohem častěji se totiž setkáváme s náhodně zjištěnými aneuryzmaty s menším průměrem a nebo s pacienty, kteří mají sice výduť, která by byla z pohledu chirurga

indikovaná k léčbě (otevřené nebo endovaskulární), ale vzhledem k anamnéze prodělaných operací, komplikujících přidružených onemocněních a nebo pokročilému věku nemůže být tato léčba provedena. Takovýmito pacientům nejsme schopni v současné době nabídnout jinou alternativu léčbu. Celá řada odborníků různých profesí se snaží najít možnosti účinné farmakologické léčby aneurysmat. Cílem takovéto léčby by mělo být u pacientů s aneurysmaty malých rozměrů především zabránění rychlého růstu a předcházení ruptury. Riziko ruptury výdutě by tak mohlo být významně sníženo. Zajisté bychom měli mít možnost nabídnout pacientům, kteří nemohou podstoupit klasickou léčbu, i léčbu konzervativní – farmakologickou s pokusem oddálit případnou rupturu výdutě a zabránit tak úmrtí na tuto příčinu. Četné provedené studie ukazují, že jsme schopni patogenetické mechanismy, které se podílejí na vzniku a růstu výdutí farmakologicky ovlivňovat. Bohužel však zatím nemáme dostatečně účinné látky bez závažných vedlejších účinků nebo dostatečně dlouhodobé a velké randomizované studie, které by pozitivní účinky těchto látek potvrdily i u lidí. Až v případě potvrzení těchto účinků ve velkých studiích je možné akceptovat farmakologickou léčbu a prevenci u široké populace. Zatím se nadějnými léky zdají být statiny a ACE inhibitory.

Publikované výsledky studií, které zkoumaly vliv různých skupin léků na progresi velikosti výdutí břišní aorty a na histologické změny ve stěně výdutí, i přes někdy nejednotné výsledky, ukazují, že farmakologická léčba aneurysmat břišní aorty může být možná (132). Především studie s doxycyklinem a roxithromycinem dokázaly, že oba preparáty mohou bránit růstu aneurysmat. Naopak studie s propranololem, které musely být i pro vedlejší účinky (bronchospasmus, dušnost) a nespolupráci pacientů předčasně ukončeny, neprokázaly, že by léčba betablokátory ovlivňovala zvětšování výdutí (166). Asi nejvíce publikovaných studií zkoumalo účinky

léků s protizánětlivým působením. Tyto studie prokázaly pozitivní efekt indometacinu. I dle množství provedených studií (experimentální i klinické studie) je nejvíce zájmu věnováno statinovým preparátům. Rozdíly v růstu výdutí ovlivněných statiny a růstu výdutí bez farmakologického ovlivnění byly větší než např. při ovlivnění jinými léky s protizánětlivým účinkem. Na trhu je dostupné velké množství statinových preparátů. Účinky jednotlivých preparátů ale nejsou stejné (Tab11). Nejčastěji bývá zmiňován atorvastatin, dále simvastatin a pravastatin. Studie Hurkse porovnávala účinky právě zmíněných 3 statinových preparátů na expresi MMPs, interleukinů, cathepsinů, TNF alfa a interferonu. Důležitým zjištěním bylo, že užívání pravastatinu vedlo u pacientů k vyšší expresi proteáz (167).

V oblasti farmakologické léčby není u statinů věnována pozornost jen možnostem zpomalení růstu výdutě a ovlivňování změn ve složení cévní stěny, ale i možnému benefitu v případě chirurgické nebo endovaskulární léčby (136) (137). Výsledky těchto studií také nejsou zcela jednotné, ale opět se zdá, že morbidita a mortalita pacientů, kteří předoperačně užívají statin je po klasické resekční léčbě výdutí břišní aorty menší. U pacientů po endovaskulární léčbě pak užívání statinů vede k rychlejšímu zmenšování vaku výdutě. Toto jsou závěry, ke kterým došla i komise Evropské společnosti cévní chirurgie (ESVS) tvořící doporučené postupy v léčbě výdutí břišní aorty – pacient se zjištěným aneurysmatem by měl užívat statin. Užívání statinu nejméně 1 měsíc před plánovanou intervencí snižuje riziko kardiovaskulárních komplikací a jeho užívání by mělo pokračovat i po operaci (140).

Dle dostupných dat se zdá, že statinové preparáty u pacientů s aneurysmaty představují benefit hned z více pohledů. Mohou brzdit rychlost zvětšování výdutě, snižují riziko ruptury, v případě resekční léčby (plánované i urgentní v případě ruptury) snižují perioperační morbiditu a

přináší lepší přežívání. V případě endovaskulární léčby vede užívání statinů k rychlejšímu zmenšování vaku výdutě.

Tab11 Účinky jednotlivých typů statinů (141) (135) (142) (143) (134) (144) (133)

Statin	Účinek	Vliv na růst AAA	Studie
pravastatin	vyšší exprese TIMP1	-	Meteos-Cáceres
simvastatin	nižší exprese MMP9, vyšší exprese TIMP1, nižší elastolýza, méně apoptózy VSMC	+	Piechota, Mastoraki, Golledge, Zhang Steinmetz
rosuvastatin		-	Wang
atorvastatin	nižší exprese MMPs, ICAM, vyšší syntéza kolagenu, elastinu	++	Shiraya, Schweitzer

10 Závěr

Bohužel se zdá, že přes velmi pokročilé a sofistikované vědecké metody a stále se rozšiřující poznatky o aneuryzmatech stále nejsme schopni zodpovědně popsat etiologii a patogenezi tohoto onemocnění. Čím více se o aneuryzmatech dovídáme, tím více je zřejmé, že se patrně nejedná o onemocnění s jednotnou etiologií. Zdá se, že patogenetické mechanismy a procesy, které vedou k růstu aneuryzmatu a případně i k ruptuře jsou u všech aneuryzmat podobné, společné nebo dokonce totožné. Společným jmenovatelem je zánětlivá infiltrace spojená s degradací elastinových vláken působením proteáz (nejvíce zastoupené jsou MMPs) a s degradací a přestavbou extracelulární matrix a změnou zastoupení fenotypů buněk hladké svaloviny. Co ale aktivuje všechny tyto procesy? Spouštěcí mechanismy jsou stále nepoznané a neznámé. V této oblasti můžeme zatím jen vyslovovat určité hypotézy. Výjimkou jsou snad jen některé druhy aneuryzmat s jasně poznanou etiopatogenezí – mutace genů, sifylitická aneuryzmata.

Patrně cílem každého, kdo se podílí na výzkumu etiopatogeneze a léčby aneuryzmat je záchrana lidských životů a také snaha o vyvinutí maximálně efektivních a peníze šetřících postupů vedoucích k tomuto cíli. Zcela správnou myšlenou je screeningový program. Ultrazvukový screening je nepochybně přínosný. Dokáže odhalit asymptomatické aneuryzma. O stupeň výš může stát DNA diagnostika. Za pomocí takovýchto programů bychom byli schopni odhalit včas rizikové pacienty.

Dle současných poznatků a studií se zdá pravděpodobné, že bychom mohli u rizikových pacientů, kteří by byli včas rozpoznáni a léčeni postupovat konzervativně a pomocí farmakologické léčby brzdit rozvoj a

růst aneurysmat a předcházet tak fatálním komplikacím – rupturám, aniž by tito pacienti potřebovali nákladnou a rizikovou chirurgickou léčbu. Bohužel dnešní možnosti úspěšné farmakologické léčby jsou stále spíše jen součástí probíhajících výzkumů a zasahují často na více úrovních dosud známých patogenetických pochodů.

Výsledky naší experimentální práce potvrzují všechny tyto závěry a hypotézy. Na experimentálních modelech je patrný úbytek elastinových vláken, ztlustění a zvýšená fragilita cévní stěny, zánětlivá infiltrace, přestavba extracelulární matrix a nebo změna v zastoupení jednotlivých fenotypů buněk hladké svaloviny. Přestože se nám nepodařilo jednoznačně prokázat signifikantně pomalejší růst experimentálního aneurysmatu u prasete při podávání atorvastatinu, výsledky histologické analýzy jsou velice příznivé a podporují domněnku, že atorvastatin svým účinkem, který není závislý na hypolipidemickém působení stabilizuje cévní stěnu experimentálního aneurysmatu a histologická stavba takové cévní stěny se blíží stavbě stěny normální aorty. Atorvastatin by tak mohl být účinný ve zmiňované konzervativní léčbě u pacientů s malými aneurysmaty břišní aorty.

Současné poznatky o patogenezi mohou být využity k monitoraci pacientů s již vyvinutým aneurysmatem. Tento monitoring by lépe a přesněji dokázal odhalit rizikové pacienty a mohl by vést k elektivní operaci i u aneurysmat menších než 5 cm. V případě endovaskulární léčby, by takovýto monitoring mohl zlevnit a zefektivnit léčbu případných komplikací – endoleaků. Při odhalení genů odpovědných za rozvoj aneurysmatu u konkrétních pacientů by mohly být v léčbě v budoucnu použity i metody genové manipulace a genového inženýrství. Je pravděpodobné, že současný pohled chirurga, který se zajímá především o velikost, růst nebo

symptomy podmíněné aneuryzmatem bude muset být změněn. Bude muset být volen více individualizovaný přístup k pacientovi s komplexnější diagnostikou a mezioborovou spoluprací. Může se zdát, že chirurgická léčba ztratí na významu. Domnívám se, že tomu tak nebude. Chirurg bude mít vždy nezastupitelnou roli v péči o pacienty s aneuryzmatem. Je možné, že klesne počet operací pro ruptury, ale se zvyšující se incidencí se asi nebude výrazněji měnit množství elektivních operací. Některých zmíněných cílů by mohlo být dosaženo již zakrátko. Jiné jsou spíše určitou vizí do budoucnosti. K dosažení všech těchto cílů však bude zapotřebí ještě mnoho práce, studií a experimentů v řadě klinických oborů. Nezbytná je však spolupráce všech těchto oborů (teoretických i klinických).

11 Použité zkratky

AAA – aneuryzma břišní aorty

AA(...., intima, media) – plošný podíl....v intimě a medii

ADAM– randomizovaná studie srovnávající riziko ruptury a rizika elektiní operace AAA

ACE – angiotensin konvertující enzym

ACEI – inhibitor angiotensin konvertujícího enzymu

CT – Computed Tomography – zobrazovací metoda

DREAM - randomizovaná studie srovnávající výsledky resekční a endovaskulární léčby AAA

EVAR – endovaskulární léčba AAA (EndoVascular Aneurysm Repair)

EVAR1 – randomizovaná studie srovnávající výsledky resekční a endovaskulární léčby AAA

HDL – High Density Lipoprotein

HLA – Human Leukocyte Antigen

IMT – intima-media thickness

MALDI – Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation

MMP(s) – matrixmetaloproteináza(y)

LA(...., intima, media) – délková hustota....v intimě a medii

PAF – Platelets activating Factor

PAI – inhibitor aktivátoru plasminogenu

PET/CT – pozitronová emisní tomografie v CT zobrazení

TIMP – tkáňový inhibitor MMP

TNF alpha – Tumor Necrosis Factor alpha

UKSAT – UK Small Aneurysm Trial – randomizovaná studie srovnávající riziko ruptury a rizika elektiní operace AAA

VSMC – buňky hladké svaloviny

12 Citovaná literatura

1. **Badger, SA. et al.** Implications of attendance patterns in Northern Ireland for abdominal aortic aneurysm screening. *Eur J Vasc Endovas Surg.* 42, 2011, stránky 434-9.
2. **Conway, AM et al.** First year results of a national abdominal aortic aneurysm screening programme in a single centre. *Br J Surg.* 32, 2012, stránky 73-7.
3. **Earnshaw, JJ.** Triumphs and tribulations in a new national screening programme for abdominal aortic aneurysm. *Acta Chir Belg.* 112, 2012, stránky 108-10.
4. **Palombo, D. et.al.** District-based abdominal aortic aneurysm screening in population aged 65 years and older. *J Cardiovasc Surg.* 51, 2010, stránky 777-82.
5. **Svensjo, S. et al.** Low prevalence of Abdominal Aortic Aneurysm Among 65-Year-Old Swedish Men Indicates a Change in the Epidemiology of the Disease. *Circulation.* 124, 2011, stránky 1118-23.
6. **Darling, RC et al.** Autopsy study of unoperated abdominal aortic aneurysms. The case for early resection. *Circulation.* 56, 1977, stránky 161-4.
7. **Třeška, V. et al.** An inflammatory aneurysm of the abdominal aorta. *Rozhl Chir.* 84, 2005, stránky 112-6.
8. **Lederle, FA et al.** Immediate repair compared with surveillance of small abdominal aortic aneurysms. *N Engl J Med.* 346, 2002, stránky 1437-1444.
9. **Participants, The UK Small Aneurysm Trial.** Mortality results for randomised controlled trial of early elective surgery or ultrasonographic surveillance for small abdominal aortic aneurysms. *Lancet.* 352, 1998, stránky 1649-1655.
10. **Michel, JB et.al.** FAD EU consortium: Novel aspects of the pathogenesis of aneurysms of the abdominal aorta in humans. *Cardiovasc Res.* 90, 2011, stránky 18-27.
11. **Bergquist, D.** Pharmacological interventions to attenuate the expansion of abdominal aortic aneurysm(AAA)- a systematic review. *Eur J Vasc Endovas Surg.* 41, 2011, stránky 663-7.
12. **Golledge, J. Norman, PE.** Current status of medical management for abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis.* 217, 2011, stránky 57-63.
13. **Sterbakova, G.** Aneurysma břišní aorty. <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/aneurysma-brisni-aorty-359860>.
14. **Cronenwett, J.L., Johnston, K.W.** Rutherford's Vascular Surgery 7th edition. Philadelphia : Saunders Elsevier, 2010, str. 2021.
15. **Huang, Y. et al.** Early complications and long term outcome after open surgical treatment of popliteal artery aneurysms: is exclusion with saphenous vein bypass still gold standard? *J Vasc Surg.* 45, 2007, stránky 706-713.
16. www.fastbleep.com. [Online]
17. **Arita, T. et al.** Abdominal aortic aneurysm: rupture associated with the high-attenuating crescent sign. *Radiology.* Sep, 1997, Sv. 204, 3, stránky 765-8.
18. **Truijers, M. et al.** In vivo imaging of abdominal aortic aneurysms: increased FDG uptake suggests inflammation in the aneurysm wall. *J Endovasc Ther.* 15, 2008, Sv. 4, stránky 462-7.
19. **Palombo, D. et al.** A positron emission tomography/computed tomography (PET/CT) evaluation of asymptomatic abdominal aortic aneurysms: another point of view. *Ann Vasc Surg.* 26, 2012, Sv. 4, stránky 491-9.

20. **Reeps, C. et al.** Increased 18F-fluorodeoxyglucose uptake in abdominal aortic aneurysms in positron emission/computed tomography is associated with inflammation, aortic wall instability, and acute symptoms. *J Vasc Surg.* 48, 2008, Sv. 2, stránky 417-23.
21. **Kotze, CW. et al.** What is the relationship between 18F-FDG aortic aneurysm uptake on PET/CT and future growth rate? *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 38, 2011, Sv. 8, stránky 1493-9.
22. **Tegler, G. et al.** 4D-PET/CT with [(11)C]-PK11195 and [(11C)]-(D)-deprenyl does not identify the chronic inflammation in asymptomatic abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 45, 2013, Sv. 4, stránky 351-6.
23. **Moláček, J. et al.** Assessment of abdominal aortic aneurysm wall distensibility with electrocardiography-gated computed tomography. *Ann Vasc Surg.* 25, 2011, Sv. 8, stránky 1036-42.
24. **Moláček, J.** *Etiopatogeneze aneuryzmatu břišní aorty - experimentální model.* 2004.
25. **Bengtsson, H., Sonesson, B., Bergqvist, D.** Incidence and prevalence of abdominal aortic aneurysms, estimated by necropsy studies and population screening by ultrasound. *Ann N Y Acad Sci.* 800, 1996, stránky 1-24.
26. **Walker, D.I. et al.** Inflammatory aneurysms of the abdominal aorta. *Br J Surg.* 59(8), 1972, stránky 609-614.
27. **Nakano, K. et al.** Characterization of aortic aneurysms in cardiovascular disease patients harboring Porphyromonas gingivalis. *Oral Dis.* 17, 2011, Sv. 4, stránky 370-378.
28. **Delbosc, S. et al.** Porphyromonas gingivalis participates in pathogenesis of human abdominal aortic aneurysm by neutrophil activation. Proof of concept in rats. *PLoS One.* 6, 2011, Sv. 4.
29. **Aoyama, N. et al.** Porphyromonas gingivalis promotes murine abdominal aortic aneurysms via matrix metalloproteinase-2 induction. *J Periodontal Res.* 46, 2011, Sv. 2, stránky 176-183.
30. **LaMorte, WW. Scott, TE. Menzoni, JO.** Racial differences in the incidence of femoral bypass and abdominal aortic aneurysmectomy in Massachusetts: relationship to cardiovascular risk factors. *Journal of Vascular Surgery.* 21, 1995, Sv. 3, stránky 422-31.
31. **Tilson, DM. Kuivaniemi, H. Upchurch, GR jr.** *The Abdominal Aortic Aneurysm Genetics, Pathophysiology and Molecular Biology.* Boston : Blackwell Publishing, 2006. ISSN 0077-8923;v.1085.
32. **Friedman, SG.** *A History of Vascular Surgery.* Massachusetts : Blackwell Publishing, 2005. 1-4051-2522-5.
33. **Vaughan, GT.** Ligation of the aorta. Necropsy two years and one month after operation. *Ann Surg.* 76, 1922.
34. **Matas, R.** Aneurysm of the abdominal aorta at its bifurcation into the common iliac arteries. A pictorial supplement illustrating the history of Corrinne D, previously reported as the first recorded instance of cure of an aneurysm of the abdominal aorta by ligation. *Ann Surg.* 112, 1940, str. 909.
35. **Leriche, R.** Des oblitérielles hautes (oblitération de la terminaison de l'aorte) comme cause des insuffisances circulatoires des membres inférieure. *Bull Mem Soc Chir.* 1923.
36. **Alexander, J. Byron, FX.** Aortectomy for thoracic aneurysm. *JAMA.* 126, 1944, Sv. 1139.
37. **Shumacker, HB jr.** Coarctation and aneurysm of the aorta. Report of a case treated by excision and end-to-end suture of aorta. *Ann Surg.* 127, 1948, Sv. 655.
38. **Dubost, C.** First successful resection of an aneurysm of an abdominal aorta with restoration of the continuity by a human arterial graft. *World J Surg.* 6, 1982, Sv. 256.
39. **Freeman, NE. Leeds FH.** Vein inlay graft in the treatment of aneurysms and thrombosis of the abdominal aorta. *Angiology.* 2, 1951, Sv. 79.

40. **Parodi, JC. Palmaz, JC. Barone, HD.** Transfemoral intraluminal graft implantation for abdominal aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg.* 5, 1991, Sv. 491.
41. **Chen, MH. et al.** Laparoscopically assisted abdominal aortic aneurysm repair. A report of 10 cases. *Surg Endosc.* 10, 1996, Sv. 1136.
42. **Participants, United Kingdom Small Aneurysm Trial.** Long-term outcomes of immediate repair compared with surveillance of small abdominal aortic aneurysms. *N Engl J Med.* 346, 2002, stránky 1445-52.
43. **Fitridge, R. Thompson, M.** *Mechanisms of vascular disease.* Cambridge : Cambridge University Press, 2007. ISBN-13 978-0-521-86063-5.
44. **Tilson, MD. Seashore, MR.** Fifty families with abdominal aortic aneurysms in two or more first-order relatives. *Am J Surg.* 147, 1984, stránky 551-3.
45. **Clifton, MA.** Familial abdominal aortic aneurysms. *British Journal of Surgery.* 64, 1977, stránky 765-6.
46. **Salo, JA. et al.** Familial occurrence of abdominal aortic aneurysm. *Ann Int Med.* 130, stránky 637-42.
47. **Wilmink, TB. Quick, CR. Day, NE.** The association between cigarette smoking and abdominal aortic aneurysms. *Journal of Vascular Surgery.* 30, 1999, stránky 1099-105.
48. **MacSweeney, ST. et al.** Smoking and growth rate of small abdominal aortic aneurysm. *Lancet.* 344, 1994, stránky 651-2.
49. **Vardulaki, KA. et al.** Quantifying the risk of hypertension, age, sex and smoking in patients with abdominal aortic aneurysm. *British Journal of Surgery.* 87, 2000, Sv. 2, stránky 195-200.
50. **Knuutinen, A. et al.** Smoking affects collagen synthesis and extracellular matrix turnover in human skin. *British Journal of Dermatology.* 146, 2002, stránky 588-94.
51. **Lederle, FA. et al.** Abdominal aortic aneurysm in women. *Journal of Vascular Surgery.* 34, 2001, stránky 122-6.
52. **Lindholt, JS. et al.** Long-term benefit and cost-effectiveness analysis of screening for abdominal aortic aneurysms from a randomized controlled trial. *Br J Surg.* 97, 2010, stránky 826-34.
53. **Blanchard, JF. Armenian HK. Friesen, PP.** Risk factors for abdominal aortic aneurysms: results of a case-control study. *American Journal of Epidemiology.* 151, 2000, stránky 575-83.
54. **Tornwall, ME. et al.** Life-style factors and risk for abdominal aortic aneurysm in a cohort of Finnish male smokers. *Epidemiology.* 12, 2001, stránky 94-100.
55. **Singh, K. et al.** Prevalence of and risk factors for abdominal aortic aneurysms in a population-based study: the Tromsø study. *American Journal of Epidemiology.* 154, 2001, Sv. 3, stránky 236-44.
56. **Anidjar, S. et al.** Arterial hypertension and aneurysmal dilatation. *Kidney International Supplement.* 37, 1992, stránky S61-6.
57. **Lederle, FA. et al.** Prevalence and association of abdominal aortic aneurysm detected through screening. Aneurysm Detection and Management (ADAM) Veterans Affairs Comparative study Group. *Annals of Internal Medicine.* 126, 1997, stránky 441-9.
58. **Kuivaniemi, H. et al.** Familial abdominal aortic aneurysm: collection of 233 multiplex families. *Journal of Vascular Surgery.* 37, 2003, stránky 340-5.
59. **Wolinsky, H. Glagov, SA.** Lamellar unit of aortic medial structure and function in mammals. *Circulation Research.* 57, 1967, Sv. 4, stránky 99-111.
60. **Nakata, Y. et al.** Vasa vasorum and vascular lesions in the human abdominal aorta. *Vasa.* 6, 1977, stránky 255-8.

61. **Zatina, MA. et al.** Role of medial lamellar architecture in the pathogenesis of aortic aneurysms. *Journal of Vascular Surgery*. 1, 1984, Sv. 3, stránky 442-8.
62. **Terpin, T. Roach, MR.** A biophysical and histological analysis of factors that lead to aortic rupture in normal and lathyrotic turkeys. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 65, 1987, Sv. 3, stránky 395-400.
63. **Mesh, CL. et al.** Collagen and elastin gene expression in aortic aneurysms. *Surgery*. 112, 1992, Sv. 2, stránky 256-62.
64. **Anidjar, S. et al.** Correlation of inflammatory infiltrate with the enlargement of experimental aortic aneurysms. *Journal of Vascular Surgery*. 16, 1992, Sv. 2, stránky 139-47.
65. **Bengtsson, H. et al.** Ultrasonographic screening of the abdominal aorta among siblings of patients with abdominal aortic aneurysm. *British Journal of Surgery*. 76, 1989, Sv. 6, stránky 589-91.
66. **Verloes, A. et al.** Genetic aspects of abdominal aortic aneurysm. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 800, 1996, stránky 44-55.
67. **Menashi, S. et al.** Collagen in abdominal aortic aneurysm: typing, content and degradation. *Journal of Vascular Surgery*. 6, 1987, Sv. 6, stránky 578-82.
68. **Tromp, G. et al.** Sequencing of cDNA from 50 unrelated patients reveals that mutations in the triple-helical domain of type III procollagen are an infrequent cause of aortic aneurysms. *Journal of Clinical Investigation*. 91, 1993, Sv. 6, stránky 2539-45.
69. **McGee, GS. et al.** Aneurysm or occlusive disease - factors determining the clinical course of atherosclerosis of the infrarenal aorta. *Surgery*. 110, 1991, Sv. 2, stránky 370-6.
70. **Tilson, MD. et al.** Expression and sequence of the gene for tissue inhibitor of metalloproteinases in patients with abdominal aortic aneurysms. *Journal of Vascular Surgery*. 18, 1993, Sv. 2, stránky 266-70.
71. **Eriksson, P. et al.** Genetic approach to the role of cysteine proteases in the expansion of abdominal aortic aneurysms. *British Journal of Surgery*. 91, 2004, Sv. 1, stránky 86-9.
72. **Powell, JT. et al.** Genetic variation on chromosome 16 is associated with abdominal aortic aneurysm. *Clinical Science*. 78, 1990, Sv. 1, stránky 13-6.
73. **Jones, K. et al.** The influence of 4G/5G polymorphism in the plasminogen activator inhibitor-1 gene promoter on the incidence, growth and operative risk of abdominal aortic aneurysm. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 23, 2002, Sv. 5, stránky 421-5.
74. **Obukofe, B. et al.** Is there an association between angiotensin converting enzyme (ACE) genotypes and abdominal aortic aneurysm? *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 40, 2010, Sv. 4, stránky 457-60.
75. **Cassis, LA. et al.** ANG II infusion promotes abdominal aortic aneurysms independent of increased blood pressure in hypercholesterolemic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 296, 2009, Sv. 5, stránky H1660-5.
76. **Minion, DJ. et al.** Elastin is increased in abdominal aortic aneurysms. *Journal of Surgical Research*. 57, 1994, Sv. 4, stránky 443-6.
77. **Anidjar, S. Kieffer, E.** Pathogenesis of acquired aneurysms of the abdominal aorta. *Annals of Vascular Surgery*. 6, 1992, Sv. 3, stránky 298-305.
78. **Vine, N. Powell, T.** Metalloproteinases in degenerative aortic disease. *Clinical Science*. 81, 1991, Sv. 2, stránky 233-9.
79. **Busuttil, RW. et al.** Collagenase activity of the human aorta. A comparison of patients with and without abdominal aortic aneurysms. *Archives of Surgery*. 115, 1980, Sv. 11, stránky 1373-8.
80. **McMillan, WD. Tamarina, NA. Cipollone, M.** Size matters: the relationship between MMP-9 expression and aortic diameter. *Circulation*. 96, 1997, Sv. 7, stránky 2228-32.

81. **Pyo, R. et al.** Targeted gene disruption of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) suppresses development of experimental abdominal aortic aneurysms. *Journal of Clinical Investigation*. 15, 2000, Sv. 11, stránky 1641-9.
82. **Olson, MW. et al.** Characterization of the monomeric and dimeric forms of latent and active matrix metalloproteinase-9. Differential rates for activation by stromelysin 1. *Journal of Biological Chemistry*. 275, 2000, Sv. 4, stránky 2661-8.
83. **Mao, D. et al.** Expression of matrix metalloproteinases and TIMPs in human abdominal aortic aneurysms. *Annals of Vascular Surgery*. 13, 1999, Sv. 2, stránky 236-7.
84. **Tamarina, NA. et al.** Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in aneurysms and normal aorta. *Surgery*. 122, 1997, Sv. 2, stránky 264-72.
85. **Koch, AE et al.** Human abdominal aortic aneurysms. Immunophenotypic analysis suggesting an immune-mediated response. *American Journal of Pathology*. 137, 1990, Sv. 5, stránky 1199-213.
86. **Newmann, KM. et al.** Cytokines that activate proteolysis are increased in abdominal aortic aneurysms. *Circulation*. 90, 1994, Sv. 5, stránky II224-7.
87. **Ricci, MA. et al.** Anti-CD 18 monoclonal antibody slows experimental aortic aneurysm expansion. *Journal of Vascular Surgery*. 23, 1996, Sv. 2, stránky 301-7.
88. **Holmes, DR. et al.** Indomethacin prevents elastase-induced abdominal aortic aneurysms in rat. *Journal of Surgical Research*. 63, 1996, Sv. 1, stránky 305-9.
89. **Franklin, JJ. et al.** The influence of indomethacin on the metabolism and cytokine secretion of human aneurysmal aorta. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 18, 1999, Sv. 1, stránky 35-42.
90. **Tilson, MD. et al.** A genetic basis for autoimmune manifestation in the abdominal aortic aneurysm resides in the MHC class II locus DR-beta-1. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 800, 1996, stránky 208-15.
91. **Escarqueil-Blanc, I. et al.** Mildly oxidized LDL induces activation of platelet-derived growth factor beta-receptor pathway. *Circulation*. 104, 2001, Sv. 15, stránky 1814-21.
92. **Satoh, K. et al.** Cyclophilin A mediates vascular remodeling by promoting inflammation and vascular smooth muscle cell proliferation. *Circulation*. 117, 2008, stránky 3088-98.
93. **McCormick, ML. Gavrila, D. Weintraub, NL.** Role of oxidative stress in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 27, 2007, stránky 461-9.
94. **Miller, FJ jr. et al.** Oxidative stress in human abdominal aortic aneurysms: a potential mediator of aneurysmal remodeling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 22, 2002, stránky 560-65.
95. **Papalambros, E. et al.** Malondialdehyde as a indicator of oxidative stress during abdominal aortic aneurysm repair. *Angiology*. 58, 2007, stránky 477-82.
96. **Gavrila, D. et al.** Vitamin E inhibits abdominal aortic aneurysm formation in angiotensin II-infused apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25, 2005, stránky 1671-7.
97. **Vorp, DA. et al.** Association of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm with local hypoxia and wall weakening. *J Vasc Surg*. Aug, 2001, Sv. 34, stránky 291-9.
98. **Kazi, M. et al.** Influence of intraluminal thrombus on structural and cellular composition of abdominal aortic aneurysm wall. *J Vasc Surg*. Dec, 2003, Sv. 38, 6, stránky 1283-92.
99. **Sukhova, GK. Shi, GP.** Do cathepsin play a role in abdominal aortic aneurysm pathogenesis? *Ann N Y Acad Sci*. Nov, 2006, Sv. 1085, stránky 161-9.
100. **Satta, J. Laara, E. Juvonen, T.** Intraluminal thrombus predicts rupture of an abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*. Apr, 1996, Sv. 23, 4, stránky 737-9.

101. **Mehard, WB. Heiken, JP. Sicard, GA.** High-attenuating crescent in abdominal aortic aneurysm wall at CT: a sign of acute or impending rupture. *Radiology*. Aug, 1994, Sv. 192, 2, stránky 359-62.
102. **Simao da Silva, E. et al.** Morphology and diameter of infrarenal aortic aneurysms. a protective autopsy study. *Cardiovasc Surg*. Dec, 2000, Sv. 8, 7, stránky 526-32.
103. **Choke, E. et al.** A review of biological factors implicated in abdominal aortic aneurysm rupture. *Eur J Vasc Endovas Surg*. 30, 2005, stránky 227-44.
104. **Michel, JB.** Anoikis in the cardiovascular system: known and unknown extracellular mediators. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 23, 2003, stránky 2146-54.
105. **Heikkinen, M. Salenius, JP. Auvien O.** Ruptured abdominal aortic aneurysm in a well-defined geographic area. *J Vasc Surg*. 36, 2002, stránky 291-6.
106. **Hardman, DT. et al.** Ruptured abdominal aortic aneurysms: who should be offered surgery? *J Vasc Surg*. Jan, 1996, Sv. 23, 1, stránky 123-9.
107. **Treska, V. et al.** Abdominal aortic aneurysms - long term treatment results. *Rozhl Chir*. May, 2010, Sv. 89, stránky 300-5.
108. **Brown, LC. et al.** The UK EndoVascular Aneurysm Repair (EVAR) trials: randomised trials of EVAR versus standard therapy. *Health Technol Assess*. 16, 2012, Sv. 9, stránky 1-218.
109. www.thirdage.com. [Online]
110. www.mayoclinic.org. [Online]
111. **Lederle, FA. et al.** Long-term comparison of endovascular and open repair of abdominal aortic aneurysm. *N Engl J Med*. 22, 2012, Sv. 367, 21, stránky 1988-97.
112. **Golzarian, J. et al.** Endoleakage after endovascular treatment of abdominal aortic aneurysms: Diagnosis, significance and treatment. *Eur Radiol*. 16, 2006, Sv. 12, stránky 2849-57.
113. —. Evaluation of abdominal aortic aneurysm after endoluminal treatment: comparison of color Doppler sonography with biphasic helical CT. *AJR Am J Roentgenol*. 178, 2002, Sv. 3, stránky 623-8.
114. **Lee, R. Handa, AI.** Utility of plasma matrix metalloproteinase-9 as possible diagnostic marker of endoleak post endovascular aneurysm repair. *Eur J Vasc Endovas Surg*. 43, 2012, Sv. 5.
115. **Wallinder, J. Bergstrom, J. Henriksson, AE.** Discovery of a novel circulating biomarker in patients with abdominal aortic aneurysm: a pilot study using a proteomic approach. *Clin Transl Sci*. 5, 2012, Sv. 1, stránky 56-9.
116. **Kocher, M. et al.** Současný stav endovaskulární léčby aneurysmat abdominální aorty a její postavení v léčebném algoritmu. *Intervenční a akutní kardiologie*. 11, 2012, Sv. 3-4. www.iakardiologie.cz.
117. **Golub, LM. et al.** Tetracyclines inhibit connective tissue break down: new therapeutic implications for an old family of drugs. *Critical Reviews of Oral Biology and Medicine*. 2, 1991, stránky 297-321.
118. **Petrinec, D. et al.** Doxycycline inhibition of aneurysmal degeneration in an elastase-induced rat model of abdominal aortic aneurysm: preservation of aortic elastin associated with suppressed production of 92kD gelatinase. *Journal of Vascular Surgery*. 23, 1996, stránky 336-46.
119. **Dobrin, PB. et al.** Inflammatory aspects of experimental aneurysms. Effect of methylprednisolone and cyclosporine. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 800, 1996, stránky 74-88.
120. **Group, Heart Protection Study Collaborative.** MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 360, 2002, stránky 7-22.

121. **Leach, SD. et al.** Effect of beta-adrenergic blockade on the growth rate of abdominal aortic aneurysms. *Archives of Surgery*. 123, 1988, stránky 606-9.
122. **Boucek, RJ. et al.** Modulation by propranolol of the lysyl cross-links in aortic elastin and collagen of the aneurysm-prone turkey. *Biochemical Pharmacology*. 32, 1983, stránky 275-80.
123. **Englund, R. et al.** Expansion rates of small abdominal aortic aneurysms. *Australian and New Zealand Journal of Surgery*. 68, 1998, stránky 21-4.
124. **Investigators, Propanolol Aneurysm Trial.** Propranolol for small abdominal aortic aneurysms: results of a randomized trial. *Journal of Vascular Surgery*. 35, 2002, stránky 72-9.
125. **Moursi, MM. et al.** Inhibition of aortic aneurysm development in blotchy mice by beta adrenergic blockade independent of altered lysyl oxidase activity. *Journal of Vascular Surgery*. 21, 1995, Sv. 5, stránky 792-800.
126. **Lindholt, JS. et al.** The progression of lower limb atherosclerosis is associated with IgA antibodies against *Chlamydia pneumoniae*. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 18, 1999, stránky 527-9.
127. **Vammen, S. et al.** Immunoblotting analysis of abdominal aortic aneurysms using antibodies against *Chlamydia pneumoniae* recombinant MOMP. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 24, 2002, stránky 81-5.
128. **Mosorin, M. et al.** Use of doxycycline to decrease the growth of abdominal aortic aneurysms. a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Journal of Vascular Surgery*. 34, 2001, stránky 606-10.
129. **Vammen, S. et al.** Randomized double-blind controlled trial of roxithromycin for prevention of abdominal aortic aneurysm expansion. *British Journal of Surgery*. 88, 2001, stránky 1066-72.
130. **Tambiah, J. Powell, JT.** *Chlamydia pneumoniae* antigens facilitate experimental aortic dilatation: prevention with azithromycin. *Journal of Vascular Surgery*. 36, 2002, stránky 1011-7.
131. **Liao, S. et al.** Suppression of experimental abdominal aortic aneurysms in the rat by treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Vasc Surg*. 33, 2001, Sv. 5, stránky 1057-64.
132. **Saratzis, A. et al.** Can statins suppress the development of abdominal aortic aneurysms? A review of the current evidence. *Angiology*. 61, 2010, stránky 137-44.
133. **Shiraya, S. et al.** Inhibition of development of experimental aortic abdominal aneurysm in rat model by atorvastatin through inhibition of macrophage migration. *Atherosclerosis*. 202, 2009, stránky 34-40.
134. **Steinmetz, EF. et al.** Treatment with simvastatin suppresses the development of experimental abdominal aortic aneurysm in normal and hypercholesterolemic mice. *Ann Surg*. 241, 2005, Sv. 1, stránky 92-101.
135. **Mastoraki, ST et al.** Treatment with simvastatin inhibits the formation of abdominal aortic aneurysms in rabbits. *Ann Vasc Surg*. 26, 2012, stránky 250-8.
136. **Feeney, JM. et al.** Prehospital HMG Co-A reductase inhibitor use and reduced mortality in ruptured abdominal aortic aneurysm. *J Am Coll Surg*. 209, 2009, Sv. 1, stránky 41-6.
137. **McNally, MM et al.** Preoperative statin therapy is associated with improved outcomes and resource utilization in patients undergoing aortic aneurysm repair. *J Vasc Surg*. 51, 2010, stránky 1390-6.
138. **Takagi, H. et al.** Effects of statin therapy on abdominal aortic aneurysm growth: a meta-analysis and meta-regression of observational comparative studies. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 44(3), 2012, stránky 287-92.
139. **Dunne, JA et al.** Statins: The Holy Grail of Abdominal Aortic Aneurysm(AAA) Growth Attenuation? A Systematic Review of the Literature. *Curr Vasc Pharmacol*. 2012.
140. **Moll, F.L. et al.** Management of Abdominal Aortic Aneurysms - Clinical Practice Guidelines of the European Society for Vascular Surgery. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 41 Supp, 2011.

141. **Meteos-Cáceres, PJ. et al.** Pravastatin increases the expression of the tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 and the oncogene Bax in human aortic abdominal aneurysms. *Can J Physiol Pharmacol.* 86, 2008, Sv. 7, stránky 431-7.
142. **Golledge, J. et al.** Efficacy of simvastatin in reducing aortic dilatation in mouse models of abdominal aortic aneurysm. *Cardiovasc Drugs Ther.* 24, 2010, Sv. 5-6, stránky 373-8.
143. **Zhang, Y. et al.** Simvastatin inhibits angiotensinII-induced abdominal aortic aneurysm formation in apolipoprotein E-knockout mice: possible role of ERK. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 29, 2009, Sv. 11, stránky 1764-71.
144. **Wang, JA. et al.** Statins exert differential effects on angiotensin II-induced atherosclerosis, but no benefit for abdominal aortic aneurysms. *Atherosclerosis.* 217, 2011, Sv. 1, stránky 90-6.
145. **Moláček, J. et. al.** Optimization of the model of abdominal aortic aneurysm - experiment in an animal model. *J Vasc Res.* 46, 2009, stránky 1-5.
146. **Kočová, J.** Overall staining of connective tissue and the muscular layer of vessels. *Fol 26 Morphol.* 18, 1970, stránky 293-5.
147. **Tonar, Z. et.al.** Stereological tools for quantitative microscopy of the aortic wall with focus on the abdominal aortic aneurysm. [autor knihy] A. Díaz, J Méndez-Vilas. *Microscopy: science, technology, applications and education. Applications in biology and medicine.* Badajoz : Formatex Research Centre, 2010, stránky 926-35.
148. **Witter, K. et al.** Tissue reaction to three different types of tissue glues in an experimental aorta dissection model: a quantitative approach. *Histochem Cell Biol.* 133, 2010, stránky 241-59.
149. **Shadwick, RE.** Mechanical designs in arteries. *J Exp Biol.* 202, 1999, stránky 3305-13.
150. **Briones, AM. et al.** Atorvastatin prevents angiotensin II- induced vascular remodeling and oxidative stress. *Hypertension.* 54, 2009, stránky 142-9.
151. **Wilson, WR. et.al.** HMG-CoA reductase inhibitors(statins) decrease MMP-3 and MMP-9 concentrations in abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovas Surg.* 30, 2005, stránky 259-62.
152. **Sluijter, JP. de Kleijn, DP. Pasterkamp, G.** Vascular remodeling and protease inhibition-bench to bedside. *Cardiovasc Res.* 69, 2006, stránky 595-603.
153. **Hoegh, A. Lindholt, JS.** Basic science review. Vascular distensibility as a predictive tool in the management of small asymptomatic abdominal aneurysms. *Vasc Endovascular Surg.* 43, 2009, stránky 333-8.
154. **Wagner, RJ. et al.** Lovastatin induces VSMC differentiation through inhibition of Rheb and mTOR. *Am J Physiol.* 299, 2010, stránky C119-127.
155. **Boccardi, C. et al.** A proteomic approach to the investigation of early events involved in vascular smooth muscle cell activation. *Cell Tissue Res.* 328, 2007, stránky 185-95.
156. **Miyazaki, H. Hasegawa, Y. Hayashi, K.** Tensile properties of contractile and synthetic vascular smooth muscle cells. *JSME Int J C Mech Sy.* 45, 2002, stránky 870-9.
157. **Shao, H. et al.** Statin and stromal cell-derived factor-1 additively promote angiogenesis by enhancement of progenitor cells incorporation into new vessels. *Stem Cells.* 26, 2008, stránky 1376-84.
158. **Izumi, Y. et al.** Pravastatin accelerates ischemia-induced angiogenesis through AMP-activated protein kinase. *Hypertens Res.* 32, 2009, stránky 675-9.
159. **Haak, E. et al.** Fluvastatin therapy improves microcirculation in patients with hyperlipidaemia. *Atherosclerosis.* 155, 2001, stránky 395-401.
160. **Khaidakov, M. et al.** Statins and angiogenesis: is it about connections? *Biochem Biophys Res Commun.* 387, 2009, stránky 543-7.

161. **Urbich, C. et al.** Doubleedged role of statins in angiogenesis signaling. *Circ Res.* 90, 2002, stránky 737-44.
162. **Grabenwoger, M. et al.** Endothelialization of biosynthetic vascular prostheses after laser perforation. *An Thorac Surg.* 66(Suppl 1), 1998, stránky S110-S114.
163. **Widimský, J.** Statiny v sekundární prevenci ICHS. *Remedia.* 2, 2004.
164. **Lindholt, JS. et al.** The validity of ultrasonographic scanning as screening method for abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* June, 1999, Sv. 17, 6, stránky 472-5.
165. **Sakalihan, N. Kuivaniemi, H. Michel, JB.** *Aortic aneurysms New insights into an old problem.* Liège : Les Éditions de l'Université de Liège, 2008. ISBN: 9-782874-560613.
166. **Assar, AN.** Medical treatment of small abdominal aortic aneurysms. *J Cardiovasc Surg.* 53, 2012, Sv. 4, stránky 517-25.
167. **Hurks, R. et al.** Different effects of commonly prescribed statins on abdominal aneurysm wall biology. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 39, 2010, Sv. 5, stránky 569-76.

13 Poděkování

Tato práce by nemohla vzniknout bez podpory a trpělivosti rodiny a spolupracovníků. Všem spolupracovníkům a kolegům děkuji za pomoc a za předávání zkušeností, které jsou vždy nezbytným předpokladem úspěšné práce. Velké poděkování patří především manželce Sandře a synovi Jáchymovi za jejich toleranci a trpělivost. Za odborné vedení a pomoc nejen v případě experimentální práce, ale především při kompletování výsledků a formulování závěrů děkuji Prof. MUDr. Vladislavovi Třeškovi DrSc. a MUDr. Jiřímu Moláčkovi PhD..Velkou pomocí byla spolupráce s kolegy z Ústavu histologie a embryologie, kolegů z radioimunologické laboratoře a z proteomické laboratoře Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty v Plzni. Zejména experimentální část by nemohla vzniknout bez nezbytné finanční podpory plynoucí z programového projektu lékařského výzkumu a vývoje podpořeného grantovou agenturou ministerstva zdravotnictví pod označením NS10235-3/2009 v letech 2009-2011. Další významnou pomocí byla spolupráce a zkušenosti plynoucí ze sedmého rámcového projektu Evropské unie pod názvem **Fighting Aneurysmal Disease**.