

Inflamacija u patogenezi aterosklerotske aneurizme abdominalne aorte

Janja Raonić*, Vesna Lačković**, Božina Radević**, Nikola Fatić*, Nemanja Radojević*

*Klinički centar Crne Gore

** Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Corresponding author: Janja Raonić, Institut za patologiju i sudsku medicinu, Ljubljanska bb Podgorica Crne GoraE-mail: janja@r-com.me



Abstrakt

Uvod : Aneurizma abdominalne aorte (AAA) je jedno od najznačajnijih vaskularnih oboljenja. Najviše su zastupljene aterosklerotske AAA. Ateroskleroza se tradicionalno smatrala centralnim procesom u patogenezi ove bolesti. Savremena istraživanja upućuju na nedostatke tradicionalne teorije.

Cilj: Utvrditi prisustvo inflamacije i evaluirati njen značaj u patogenezi AAA.

Metode: U ovoj retrospektivnoj histopatološkoj studiji, tipa slučaj-kontrola, ispitivano je 30 uzoraka aterosklerotskih AAA, a kao kontrola korišćeno je 30 uzoraka tkiva aterosklerotski izmijenjene abdominalne aorte. Pored rutinskog H/E bojenja primijenjena su imunohistohemijska (CD45 i CD68) bojenja. Morfometrijska analiza vršena je na 10 vidnih polja na uveličanju od 400 puta, a rezultat je izražen kao gustina ćelija (broj ćelija/mm²).

Rezultati: Ekstenzivan inflamatorni infiltrat prisutan je u cijelom zidu AAA. Upalni infiltrat dominantno čine CD45 imunoreaktivne ćelije. Inflamatorne ćelije nekada teže formiranju tercijernog limfnog organa. Gustina upalnih značajno je veća u uzorcima AAA u odnosu na kontrolne.

Diskusija: Nalaz daleko ekstenzivnijeg zapaljenja u zidu AAA i činjenica da svega 9-16% osoba sa aterosklerozom aorte razvije AAA neki su od argumenata koji potvrđuju da tradicionalna teorija o patogenezi AAA u *nije tačna*. Ćelijsku populaciju inflamatornog infiltrata AAA čine T i B limfociti, ali i plazmociti, dendritske i NK ćelije. Jednom aktiviran, inflamatorni infiltrat, produkuje različite leukotriene, citokine, imunoglobline i proteaze, uslovljavajući, degradaciju vaskularnog zida i apoptozu glatkih mišićnih ćelija. Okidač inflamacije nije jasan.

Zaključak: Značajno veća gustina upalnog infiltrata kod uzoraka AAA, u odnosu na kontrolne, ukazuje da ateroskleroza nije jedini proces koji oštećuje vaskularni zid i dovodi do formiranja aneurizme.

Ključne riječi: AAA, inflamacija

Inflammation in pathogenesis of abdominal aortic aneurysm

Abstract

Introduction: Abdominal aortic aneurysm (AAA) is one of the most significant vascular diseases. The most frequent are atherosclerotic AAAs. Atherosclerosis has traditionally been considered a central process in the AAA pathogenesis. Contemporary researches point to the disadvantages of the traditional theory.

Objective: To determine the presence of inflammation and evaluate its significance in AAA pathogenesis.

Methods: In this retrospective histopathological case-control study, 30 atherosclerotic AAAs and 30 tissue samples of the atherosclerotic abdominal aorta were examined. Routine H/E and immunohistochemical (CD45 and CD68) stainings were performed. The morphometric analysis was performed on 10 microscopic fields at the 400 times magnification. The result is expressed as cell density (number of cells/mm²).

Results: Extensive inflammatory infiltrate is present in the entire AAA wall. The inflammatory infiltrate consists predominantly of CD45 immunoreactive cells, that sometimes form tertiary lymphoid organs. Density of inflammatory cells is significantly higher in AAA samples.

Discussion: Far extensive inflammation in AAA wall and the fact that only 9-16% of people with aortic atherosclerosis develop AAA are some of the arguments which confirm that traditional theory is untrue. Inflammatory infiltrate mostly constitute T and B lymphocytes, but also plasmocytes, dendritic and NK cells. Inflammatory infiltrate produces different types of leukotrienes, cytokines, immunoglobline and proteases, causing degradation of the vascular wall. The trigger of inflammation remains unknown. **Conclusion:** Significantly higher density of the inflammatory infiltrate in the AAA samples, proves that atherosclerosis is not the only process that damages the vascular wall and leads to the formation of the aneurysms.

Uvod

Aneurizma abdominalne aorte (AAA) je jedno od najznačajnijih vaskularnih oboljenja sa komplikacijama opasnim po život, kao što su ruptura i masivno krvarenje, tromboza i distalna embolizacija sa posledično ireverzibilnom ishemijom donjih ekstremiteta, disekcija i tromboza arterija visceralnih organa (1).

Epidemiološka istraživanja su pokazala da 9% populacije starije od 65 godina ima aneurizmu abdominalne aorte, a nalazi se na desetom mjestu uzroka smrti ljudi starijih od 65 godina (2). Većina aortalnih aneurizmi ostaje nedetektovano do katastrofalnog događaja, odnosno rupture, pri čemu je mortalitet rupturiranih aneurizmi čak i do 90% (3,4).

Uprkos napretku koji je postignut poslednjih decenija na polju dijagnostike i hirurških tehnika rekonstrukcije, aneurizmatička bolest aorte ostaje veliki izazov za kliničare, zbog još uvijek nedovoljno razjašnjenih patofizioloških mehanizama nastanka i progresije ove bolesti, a samim tim nepostojanja efikasnog modela prevencije, kontrole i nehirurškog liječenja (5).

U 90% slučajeva aneurizme abdominalne aorte predstavljaju aneurizme degenerativnog tipa, odnosno aterosklerotske su etiologije (6).

Kako je kod AAA, u vaskularnom zidu uvijek prisutna aterosklerotska lezija, pretpostavljeno je da njeno prisustvo dovodi do intimo-medijalne hipoksije, što uslovljava degeneraciju medije i pojavu histopatoloških promjena karakterističnih za aneurizmu, odnosno patološku dilataciju vaskularnog zida. Zbog toga se ateroskleroza dugo smatrala centralnim događajem u patogenezi AAA, odakle je i tradicionalno ovaj tip aneurizmi dobio naziv - „aterosklerotske AAA“ (7).

Međutim, ako je aterosklerotska lezija centralni proces u patogenezi AAA, na pitanje zašto kod nekih bolesnika uzrokuje okluziju, a kod nekih dilataciju abdominalne aorte, i pored brojnih pokušaja, nema još uvijek pravog odgovora.

Danas je opšteprihvaćeno, na temelju novih saznanja, da do formiranja aneurizme dolazi usled zajedničkog dejstva naslednih faktora, biomehaničkog stresa, proteolitičke degradacije strukturnih komponenti zida i inflamacije.

Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja bio je da utvrdi prisustvo inflamacije u vaskularnom zidu AAA i evaluiira njen značaj u patogenezi ovog oboljenja.

Metode:

U ovoj retrospektivnoj histopatološkoj studiji, tipa slučaj-kontrola, ispitivano je trideset uzoraka degenerativnih aneurizmi abdominalne aorte bez rupture zida, dobijenih intraoperativno, nakon resekcije, sa Klinike za vaskularnu hirurgiju Kliničkog centra Crne Gore i Klinike za vaskularnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije.

Kao kontrola korišćeno je trideset isječaka tkiva abdominalne aorte sa prisutnom aterosklerozom, bez aneurizme, dobijenih tokom obdukcije na Odjeljenju za sudsku medicinu Kliničkog centra Crne Gore.

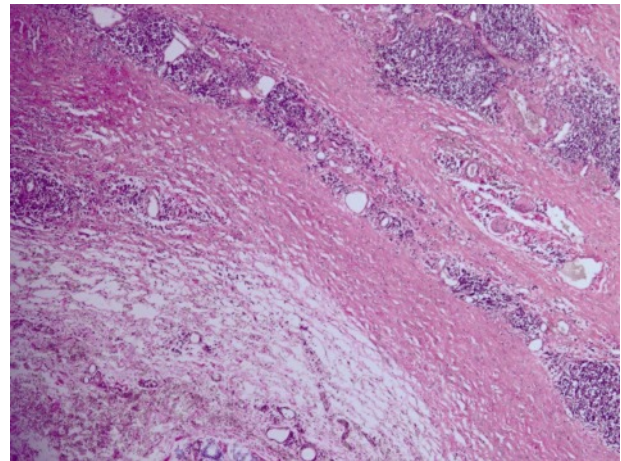
Nakon uzorčenja i pripreme tkiva primijenjeno je rutinsko bojenje histoloških preparata H/E tehnikom, kao i imunohistohemijska bojenja na CD45 antigen (za identifikaciju leukocita) i CD68 (za identifikaciju makrofaga).

Brojanje imunoreaktivnih ćelija vršeno je uz korišćenje Cell counter plug in-a u okviru softvera ImageJ (8), na 10 vidnih polja (dva u intimimi i po četiri u mediji i adventiciji), na uveličanju od 400 puta. Rezultat je izražen kao gustina ćelija, što predstavlja broj ćelija na mm².

Za statističku obradu korišćen je IBM Statistics (SPSS) 20. Od deskriptivne statistike koristili smo prosječnu vrijednost i standardnu devijaciju, u oznaci Za testiranje hipoteze koristili smo χ^2 test sa nivoom značajnosti od p=0,05.

Rezultati:

Transmuralno, kod svih ispitivanih uzoraka AAA zapaža se ekstenzivan inflamatorni infiltrat (Slika 1). Gustina inflamatornih ćelija je najveća u spoljašnjim dijelovima medije i adventiciji. Inflamatorne ćelije mahom su grupisane perivaskularno, u okolini vasa vasorum.



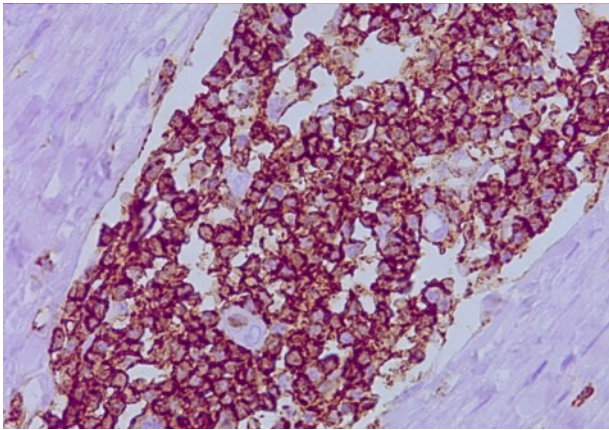
Slika 1. Aterosklerotska AAA. Inflamatorni infiltrat u mediji i adventiciji (H/E, lupa)

Primjenom imunohistohemijskih tehnika bojenja, ustanovili smo da najveći broj ćelija u inflamatornom infiltratu pokazuje CD45 pozitivnu imunoreaktivnost, tj. da najveći dio ćelijske populacije inflamatornog infiltrata AAA čine leukociti (Slika 2).

U adventiciji pojedinih uzoraka AAA, inflamatorne ćelije nekada teže stvaranju limfatičnih agregata (slika 3), odnosno formiranju tercijernih limfnih organa (TLOs). Ovaj nalaz nije zapažen na kontrolnim uzorcima.

U kontrolnim uzorcima, takođe smo ustanovili, ali u manjoj mjeri, prisustvo zapaljenskih ćelija u svim slojevima vaskularnog zida. Najveći broj tih ćelija, slično uzorcima AAA pokazuje CD45 imunoreaktivnost (slika 4).

Statističkom analizom gustine CD45 imunoreaktivnih ćelija, ustanovili smo da je prosječan broj imunoreaktivnih ćelija kod uzoraka AAA $60,86 \pm 90,43$, dok je kod kontrolnih uzoraka $8,18 \pm 23,66$ (Grafikon 5).

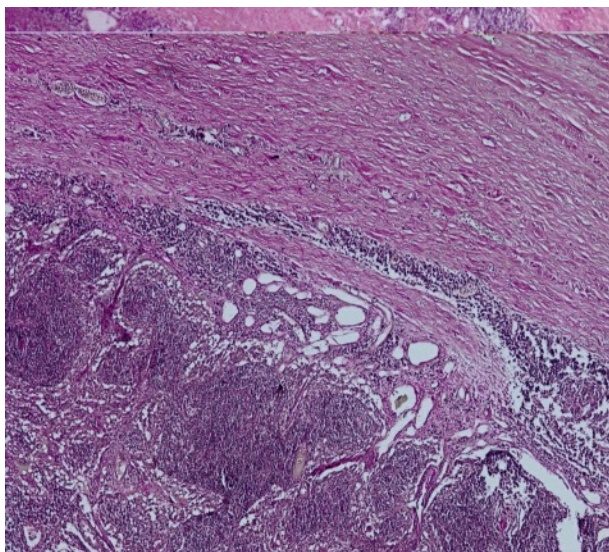


Slika 2: Aterosklerotska AAA. Leukocitni infiltrat u mediji (Imunohistohemijsko bojenje na CD45 x400)

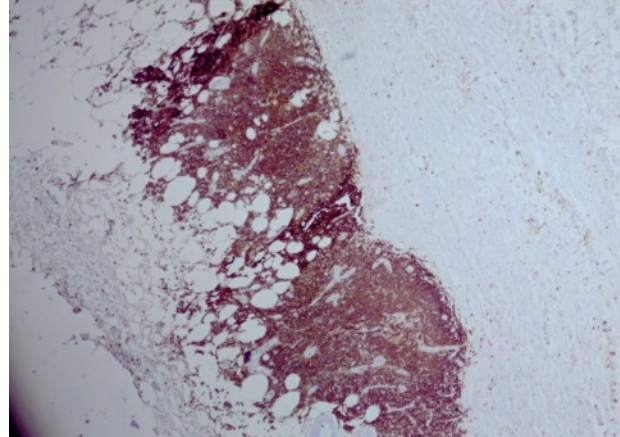
Ukupan broj CD45 imunoreaktivnih ćelija kod AAA je 18859, dok kod kontrolnih uzoraka on iznosi 2456. Primjenom χ^2 testa dokazali smo da postoji statistički značajna razlika u broju ćelija između uzoraka AAA i kontrolnih uzoraka ($\chi^2= 12622,25$; $p<0,0001$), tj, da je gustina inflamatornog infiltrata značajno veća kod uzoraka AAA.

Nasuprot velikom broju CD45 imunoreaktivnih ćelija u vaskularnom zidu AAA, nalaz CD68 imunoreaktivnih ćelija, odnosno makrofaga, je oskudan i ograničen na oštećenu intimu, gdje su zastupljeni uglavnom u vidu pjenastih ćelija. Unutar upalnog infiltrata nije zapažen nalaz CD68 imunoreaktivnih ćelija. Samo na pojedinim uzorcima AAA, postoji sporadičan nalaz makrofaga u mediji i adventiciji.

Sličan nalaz zabilježen je kod kontrolnih uzoraka. CD68 imunoreaktivne ćelije zastupljene su uglavnom u intimi, kao pjenaste ćelije.



Slika 3: Aterosklerotska AAA. TLO u adventiciji (H/E, lupa)



Slika 4: AAA. TLO u adventiciji (Imunohistohemijsko bojenje na CD45, lupa).

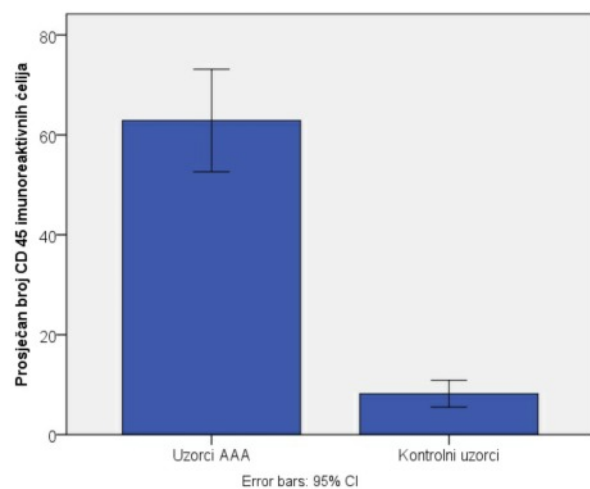
Prosječan broj ćelija kod uzoraka AAA je $1,81\pm 3,81$, dok je kod kontrolnih uzoraka $1,72\pm 5,73$ (Grafikon 6).

Ukupan broj CD68 ćelija kod uzoraka AAA je 542, dok je kod kontrolnih uzoraka 515, te ne postoji statistički značajna razlika u broju ćelija između AAA i kontrolnih uzoraka ($\chi^2=0,69$; $p=0,4061$).

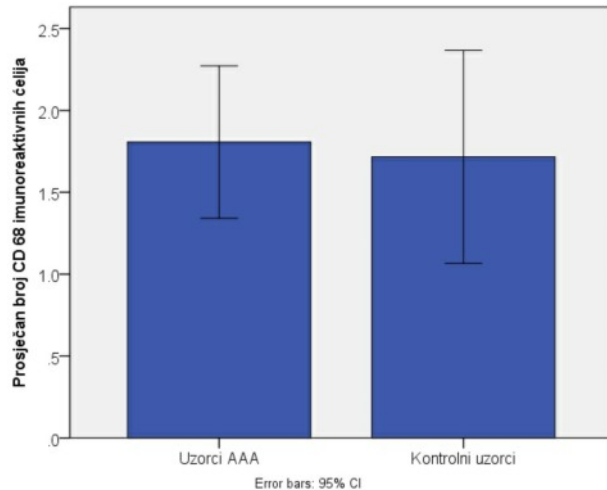
Diskusija:

Nedovoljno jasni mehanizmi nastanka i progresije AAA, kao i nepostojanje neinvazivnog pristupa za kontrolu rasta malih aneurizmi (9), razlozi su zašto se AAA, uprkos napretku postignutom na polju hirurškog liječenja i perioperative njege, i dalje nalazi među deset najčešćih uzroka smrti ljudi starijih od 65 godina, u razvijenim zemljama svijeta (10).

Naši rezultati pokazali su postojanje ekstenzivnog inflamatornog infiltrata u zidu AAA. Gustina inflamatornih ćelija je najveća u spoljašnjim dijelovima medije i u adventiciji.



Grafikon 5: Prosječan broj CD45 imunoreaktivnih ćelija kod uzoraka AAA i kontrolnih uzoraka



Grafikon 6: Prosječan broj CD68 imunoreaktivnih ćelija kod uzoraka AAA i kontrolnih uzoraka.

Inflamatorne ćelije mahom su grupisane perivaskularno, u neposrednoj blizini vasa vasorum.

Imunohistohemijskom analizom ustanovili smo da najveći broj ćelija u inflamatornom infiltratu pokazuje CD45 imunoreaktivnost. Nasuprot velikom broju CD45 imunoreaktivnih ćelija, nalaz CD68 imunoreaktivnih ćelija, odnosno makrofaga je oskudan i uglavnom ograničen na oštećenu intimu, u vidu pjenastih ćelija. Samo u pojedinim uzorcima AAA postojao je nalaz rijetkih makrofaga u mediji i adventiciji.

Ovaj rezultat u skladu je sa nalazima drugih autora, koji su pokazali da ćelijsku populaciju inflamatornog infiltrata AAA čine dominantno T i B limfociti, ali i plazmociti, dendritske i NK ćelije (11). Shodno tome, pretpostavili smo, da ćelije upalnog infiltrata koje se nisu obojile na CD45 antigen, predstavljaju plazmocite, koji inače ne pokazuju CD45 imunoreaktivnost.

U adventiciji pojedinih uzoraka AAA, uočili smo da inflamatorne ćelije nekada teže stvaranju limfoidnih agregata, odnosno formiranju tercijernog limfnog organa (TLO). Ovaj nalaz nije zabilježen na kontrolnim uzorcima.

Tercijarni limfni organi (TLO), predstavljaju formu ektopičnih, visokoorganizovanih imunoloških struktura, sličnih sekundarnim limfnim organima, kao što su limfni čvorovi (12). Unutar TLO-a nađene su retikularne ćelije, T limfociti, B limfociti i dendritske ćelije. TLO se razvija na mjestima hronične inflamacije sa perzistentnom antigenom stimulacijom (13). Nalaz TLO potvrđen je kod infekcije sa *Helicobacter pylori* (14), udružen je sa hroničnim odbacivanjem organa (kod transplantacije srca (15), bubrega (16) i pluća (17)), nađen je i kod brojnih autoimunih bolesti (u zglobovima i plućnom tkivu oboljelih od reumatoidnog artritisa (18)), pankreasu oboljelih od dijabetesa (19), centralnom nervnom sistemu oboljelih od multiple skleroze (20), kao i štitastoj žlijezdi osoba sa Hashimoto tireoiditisom (21). Iako je još uvijek nejasno tačno pod kojim okolnostima se razvijaju TLOs, s obzirom na prisustvo, antigen-prezentujućih i efektorskih ćelija, čini se da TLO igraju važnu ulogu u imunološkim reakcijama i utiču na tok bolesti. Pretpostavlja se da stvaranje

TLO primarno ima zaštitnu ulogu, težeći da oslobodi organizam od štetnih antigena (22). Ali unutar TLO-a može se javiti poremećaj ravnoteže između proinflammatory i antiinflammatory faktora, što dovodi do nekontrolisane inflamatorne reakcije, a samim tim do destrukcije tkiva i oštećenja organa (23).

U vaskularnom zidu kontrolnih uzoraka, takođe smo ustanovili prisustvo zapaljenskih ćelija. Nalaz ovih ćelija najizraženiji je u adventiciji, a slično uzorcima AAA, najveći broj tih ćelija pokazuje CD45 imunoreaktivnost. Nalaz CD68 imunoreaktivnih ćelija kod kontrolnih uzoraka takođe je uglavnom ograničen na intimu, dominantno u vidu pjenastih ćelija.

Rezultati drugih istraživanja pokazali su da je svaka aterosklerotska lezija praćena inflamacijom u adventiciji, te da inflamatorni infiltrat čine dominantno T limfociti, ali i B limfociti i dendritske ćelije (24, 25).

Pretpostavlja se da se značaj inflamatornih ćelija u vaskularnom zidu AAA ogleda u tome što one sekretno različite citotoksične medijatore i hemoatraktante. Jednom aktiviran, inflamatorni infiltrat, proizvodi različite leukotrijene, proinflammatory citokine, hemokine, derivate prostaglandina, imunoglobline i proteaze, time uslovljavajući, degradaciju vaskularnog zida i apoptozu glatkih mišićnih ćelija (VGMĆ) (11). Pored perforina koji se oslobađa iz citotoksičnih granula T limfocita i indukuje apoptozu i VGMĆ, i posleđično slabljenje vaskularnog zida, u poslednje vrijeme ističe se uloga efrin-a B1, koji se u velikoj mjeri eksprimira u makrofazima, T limfocitima, ali i endotelnim ćelijama. Njegov značaj ogleda se u modulariranju različitih tipova ćelijskih interakcija, kao što su interakcije između makrofaga, između makrofaga i T limfocita, kao i između makrofaga i endotelnih ćelija (26).

Prema podacima iz literature, nivo cirkulišućih inflamatornih biomarkera, uključujući interferon γ , faktor nekroze tumora α , interleukin-6 i C-reaktivni protein, povišen je kod pacijenata sa AAA. Ovo je značajno zbog toga što određivanje nivoa ovih, ali i nekih drugih biomarkera, kao što su matriksne metaloproteinaze MMP-2, MMP-9, može služiti u dijagnostici i monitoringu pacijenata sa AAA (27).

Statističkom analizom gustine inflamatornih ćelija, u našem istraživanju pokazali smo da je upalni infiltrat daleko ekstenzivniji na uzorcima tkiva AAA, u odnosu na tkiva kontrolne aorte. To potvrđuje našu hipotezu da ateroskleroza nije jedini proces koji zahvata vaskularni zid AAA, odnosno da nivo inflamacije koji se zapaža u procesu ateroskleroze, ne odgovara onom u vaskularnom zidu kod AAA. Nalaz daleko ekstenzivnijeg zapaljenja u vaskularnom zidu AAA, u odnosu na vaskularni zid aorte sa prisutnom aterosklerozom bez aneurizme, kao i činjenica da svega 9-16% osoba sa aterosklerozom aorte razvije aneurizmatičku bolest (28, 29), samo su neki od argumenata koji idu u prilog tome da tradicionalna teorija predložena prije više od pola vijeka (30) nije tačna. Ova teorija sugerisala je da se AAA razvija kao patološki odgovor na prisustvo aterosklerotske lezije, a remodelovanje matriksa odvija sa ciljem da normalizuje dijаметar arterijskog lumena i shear stres (31). Ova teorija takođe nije objasnila prisustvo inflamatornog infiltrata, zapaženog tokom biopsija.

Alternativna teorija sugerisala je da se AAA i ateroskleroza, javljaju nezavisno jedna od druge. Zajednički faktori rizika mogu da promoviraju nastanak ateroskleroze i aneurizme, ali da je mehanizam razvoja ova dva entiteta različit (32).

Na animalnim modelima, takođe, nije dokazana jaka povezanost između ateroskleroze i formiranja AAA (33). Životinje kod kojih je ateroskleroza indukovana dijetetskim ili genetičkim metodama, rijetko razvijaju AAA. I obrnuto, dokazano je da intraluminalna infuzija elastaze ili adventicijalna aplikacija kalcijum-hlorida, na animalnim modelima, može dovesti do formiranja AAA i u odsustvu ateroskleroze (34).

Čak, prema nekim istraživanjima, ateroskleroza je posledica aneurizmi abdominalne aorte, jer se aneurizmska dilatacija ponaša kao svaka hronična trauma koja stimulise proliferaciju glatkih mišićnih ćelija i dovodi do pojave aterosklerotskog plaka (32). Međutim, po toj teoriji bi aterosklerotični plak trebalo da bude izraženiji na velikim nego na malim aneurizmama, ali takvo pravilo u praksi nije zapaženo. Dakle, za sada se čini jasnim, da u najvećem broju slučajeva aneurizmske bolesti abdominalne aorte, postoji tijesna veza sa aterosklerozom, ali je i tada pitanje uzroka i posledice ove dvije pojave još uvijek otvoreno.

Kao ni kod ateroskleroze, okidač inflamacije kod AAA nije jasan. Obogaćenost intraluminalnog tromba neutrofilima i potencijalni efekat doksikolina na usporavanje rasta aneurizme (35), sugerisali su na učešće nekog egzogenog slabog patogena. Prva ispitivana bakterija u patogenezi AAA, bila je *Chlamydia pneumoniae* (36), gdje infekcija direktno (37) ili indirektno (preko lipopolisaharida) (38) ili antitijela (39) doprinosi progresiji AAA.

U novije vrijeme predložen je koncept autoimunosti u osnovi patogeneze AAA (11). Prema ovom konceptu, pretpostavlja se da slom regulatornih mehanizama i gubitak imunološke tolerancije uopšte, uslovljava pokretanje imunog odgovora na sopstvene antigene. Molekularna mimikrija je drugi mehanizam koji može biti odgovoran za započinjanje autoimunog odgovora i patogenezu AAA. Molekularna mimikrija podrazumjeva postojanje zajedničkog antigenog epitopa između mikroorganizma (virusa ili bakterije) i domaćina. Imunološki odgovor usmjeren protiv mikroorganizma, zbog molekularne mimikrije, sopstvene antigene prepoznaje kao strane (27).

U nekim istraživanjima angiotenzin II, koji je glavni efektorski peptid u sistemu renin-angiotenzin, smatra se jednim od faktora koji indukuje inflamaciju aortnog vaskularnog zida aorte, kroz povećanje broja leukocitnih adhezivnih molekula i hemokina (40). Brojni dokazi podržavaju ovu teoriju. Ekspresija receptora za angiotenzinogen i angiotenzin II, je povećana kod aneurizmi, u poređenju sa zdravom ili aterosklerotičnom aortom (41). Prikazano je na animalnim modelima da egzogeni angiotenzin II stimulise, a delecija AT1 inhibiše razvoj aneurizme (42). Takođe, primjena ACE inhibitora prevenira progresiju bolesti, dok se efekat AT1 inhibitora još uvijek ispituje (43).

Ekperimentalna subkutana administracija angiotenzina II, kod miševa indukuje degradaciju elastina i kolagena, čiji raspadni produkti dovode do privlačenja cirkulišućih inflamatornih ćelija, kao što su makrofazi i limfociti. Celularne promjene uključuju ranu makrofagnu infiltraciju, što se dokazuje pojačanom

ekspresijom CD68 imunoreaktivnih ćelija u ovom regionu (40, 41).

Zaključak

Inflamatorni infiltrati koji prožimaju i mediju i adventiciju vaskularnog zida AAA daleko su ekstenzivniji u uzorcima aterosklerotske AAA u odnosu na kontrolne uzorke aorte, što ukazuje na to da ateroskleroza nije jedini patološki proces koji dovodi do oštećenja vaskularnog zida abdominalne aorte i pojave aneurizme.

Literatura

Literatura:

1. Mitchel M, Rutherford R, Krupski W. Infrarenal aortic aneurysms. In: Rutherford R.B. editor. *Vascular Surgery*. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000.
2. Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Gordon IL, Chute EP, Littoo FN, et al. Relationship of age, gender, race and body size to infrarenal aortic diameter. The Aneurysm Detection and Management (ADAM). Veterans affairs cooperative study investigators. *J Vasc Surg*. 1997;26(4):595-601.
3. Beckman JA. Aortic aneurysms: pathophysiology, epidemiology, and prognosis. In: Creager MA, Dzau VJ, Loscalzo J, editors. *Vascular Medicine*. Philadelphia: Saunders Elsevier Inc; 2006.
4. Beckman JA, Creager MA. Aortic aneurysms: Clinical evaluation. In: Creager MA, Dzau VJ, Loscalzo J, editors. *Vascular Medicine*. Philadelphia: Saunders Elsevier Inc; 2006.
5. Mauro Paes Leme de Sá. The aorta, the elastic tissue and cystic medial necrosis. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2011; 26(1) .
6. Reed D, Reed C, Stemmermann, Hayashi T. Are aortic aneurysms caused by atherosclerosis? *Circulation* 1992;85:205-11.
7. Thompson RW, Parks WC. Role of matrix metalloproteinases in abdominal aortic aneurysms. *Ann NY Acad Sci*. 1996;800:157-74.
8. Rasband WS. ImageJ. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. Available from: <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2004.
9. Takashi M, Ryuichi M. Pharmacological treatment of abdominal aortic aneurysm. *Cardiovas Res*. 2009;83,436-43.
10. Hallett JW. Management of abdominal aortic aneurysms. *Mayo Clin Proc*. 2000;75:395-9.
11. Kuivaniemi H, Platsoucas CD, Tilson DM. Aortic Aneurysms. An immune disease with a strong genetic component. *Circulation* 2008;117:242-52.
12. Fletcher AL, Lukacs-Kornek V, Reynoso ED, Pinner SE, Bellemare-Pelletier A, Curry MS, et al. Lymph node fibroblastic reticular cells directly present peripheral tissue antigen under steady state and inflammatory conditions. *J Exp Med*. 2010;207:689-97.

13. Neyt K, Perros F, Geurtsvankessel CH, Hammad H, Lambrecht BN. Tertiary lymphoid organs in infection and autoimmunity. *Trends Immunol.* 2012;33:297-305.
14. Winter S, Loddenkemper C, Aebischer A, Rabel K, Hoffmann K, Meyer TF, et al. The chemokine receptor CXCR5 is pivotal for ectopic mucosa-associated lymphoid tissue neogenesis in chronic *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *J Mol Med* 2010;88(11):1169-80.
15. Di Carlo E, D'Antuono T, Contento S, Di Nicola M, Ballone E, Sorrentino C. Quilty effect has the feature so lymphoid neogenesis and shares CXCL13-CXCR5 pathway with recurrent acute cardiac rejections. *Am J Transplant.* 2007;7:201-10.
16. Thauat O, Patey N, Caligiuri G, Gautreau C, Mamani-Matsuda M, Mekki Y, et al. Chronic rejection triggers the development of an aggressive intra-graft immune response through recapitulation of lymphoid organogenesis. *J Immunol.* 2010;185:717-28.
17. Sato M, Hirayama S, Matsuda Y, Wagnetz D, Hwang DM, Guan Z, et al. Stromal activation and formation of lymphoid-like stroma in chronic lung allograft dysfunction. *Transplantation* 2011;91:1398-405.
18. Rangel-Moreno J, Carragher DM, DeLaLuzGarcia-Hernandez M, Hwang JY, Kusser K, Hartson L, et al. The development of inducible bronchus-associated lymphoid tissue depends on IL-17. *Nat Immunol.* 2001;12:639-46.
19. Kendall PL, Yu G, Woodward EJ, Thomas JW. Tertiary lymphoid structures in the pancreas promote election of B lymphocytes in autoimmune diabetes. *J Immunol.* 2007;178:5643-51.
20. Franciotta D, Salvetti M, Lolli F, Serafini B, Aloisi F. B cells and multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2008;7:852-58.
21. Armengol MP, Juan M, Lucas-Martin A, Fernandez-Figueras MT, Jaraquemada D, Gallart T, et al. Thyroid autoimmune disease: demonstration of thyroid antigen-specific B cells and recombination-activating gene expression in chemokine-containing active intrathyroidal germinal centers. *Am J Pathol.* 2001;159:861-73.
22. Moyron-Quiroz JE, Rangel-Moreno J, Kusser K, Hartson L, Sprague F, Goodrich S, et al. Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity. *Nat Med.* 2004;10:927-34.
23. Weih F, Grabner R, Hu D, Beer M, Habenicht AJ. Control of dichotomycin and adaptive immune responses by tertiary lymphoid organs in atherosclerosis. *Front Physiol.* 2012;3:226.
24. Schwartz CJ, Mitchell JR. Cellular infiltration of the human arterial adventitia associated with atheromatous plaques. *Circulation* 1962;26:73-8.
25. Watanabe M, Sangawa A, Sasaki Y, Yamashita M, Tanaka-Shintani M, Shintaku M, et al. Distribution of inflammatory cells in adventitia changed with advancing atherosclerosis of human coronary artery. *J Atheroscler Thromb.* 2007;14:325-31.
26. Sakamoto A, Ishibashi-Ueda H, Sugamoto Y, Higashikata T, Miyamoto S, Kawashiri MA, et al. Expression and function of ephrin-B1 and its cognate receptor EphB2 in human atherosclerosis: from an aspect of chemotaxis. *Clin Sci.* 2008;114(10):643-50.
27. Michel JB, Martin-Ventura JL, Egido J, Sakalihasan N, Treska V, Lindholt J, et al. Novel aspects of the pathogenesis of aneurysms of the abdominal aorta in humans. *Cardiovasc Res.* 2011;90(1):18-27.
28. Jaffer FA, O'Donnell CJ, Larson MG, et al. Age and sex distribution of subclinical aortic atherosclerosis: a magnetic resonance imaging examination of the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:849-54.
29. Scott RA, Vardulaki KA, Walker NM, et al. The long-term benefits of a single scan for abdominal aortic aneurysm (AAA) at age 65. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2001;21: 535-540.
30. Eiseman B, Hughes RH. Repair of an abdominal aortic vena caval fistula caused by rupture of an atherosclerotic aneurysm. *Surgery* 1956;39:498-504.
31. Ward MR, Pasterkamp G, Yeung AC, Borst C. *Arterial remodeling: mechanisms and clinical implications.* *Circulation* 2000;102:1186-91.
32. Golledge J, Norman PE. Atherosclerosis and abdominal aortic aneurysm. Cause, response, or common risk factors? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:1075-77.
33. Trollope A, Moxon JV, Moran CS, Golledge J. Animal models of abdominal aortic aneurysm and their role in furthering management of human disease. *Cardiovasc Path.* 2011;20:114-23.
34. Palazzuoli A, Gallotta M, Guerrieri G, Quatrini I, Franci B, Campagna MS, et al. Prevalence of risk factors, coronary and systemic atherosclerosis in abdominal aortic aneurysm: comparison with high cardiovascular risk population. *Vasc Health Risk Manag.* 2008;4(4):877-83.
35. Lindeman JH, Abdul-Hussien H, van Bockel JH, Wolterbeek R, Kleemann R. Clinical trial of doxycycline for matrix metalloproteinase-9 inhibition in patients with an abdominal aneurysm: doxycycline selectively depletes aortic wall neutrophils and cytotoxic T cells. *Circulation* 2009;119:2209-16.
36. Nyberg A, Skagius E, Englund E, Nilsson I, Ljungh A, Henriksson AE. Abdominal aortic aneurysm and the impact of infectious burden. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2008;36:292-96.
37. Cheuk BL, Ting AC, Cheng SW. Detection of *C. pneumoniae* by polymerase chain reaction-enzyme immunoassay in abdominal aortic aneurysm walls and its association with rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2005;29:150-55.
38. Vikatmaa P, Lajunen T, Ikonen TS, Pussinen PJ, Lepantalo M, Leinonen M et al. Chlamydial lipopolysaccharide (cLPS) is present in atherosclerotic and aneurysmal arterial wall-cLPS levels depend on disease manifestation. *Cardiovasc Pathol.* 2010;19:48-54.
39. Tambiah J, Powell JT. Chlamydia pneumoniae antigens facilitate experimental aortic dilatation: prevention with azithromycin. *J Vasc Surg* 2002;36:1011-17.

40. Rateri DL, Cassis LA, Lu H, Daugherty A. The role of the renin-angiotensin system in aortic aneurysmal diseases. *Curr Hypertens Rep.* 2008;10:99-106.
41. Kashina E, Scholz H, Steckelings UM, et al. Transition from atherosclerosis to aortic aneurysm in humans coincides with an increased expression of RAS components. *Atherosclerosis* 2009; 205: 396-403.
42. Daugherty, A, Manning, M. W, & Cassis, L. A. Angiotensin II promotes atherosclerotic lesions and aneurysm in apolipoprotein E-deficient mice. *J Clin Invest.* 2000;105:1605-12.
43. Cassis LA, Rateri DL, Lu H, Daugherty A. Bone marrow transplantation reveals that recipient AT1a receptors are required to initiate angiotensin II-induced atherosclerosis and aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:380-6.