

Coagulation and fibrinolysis in the abluminal layer of the thrombus within abdominal aortic aneurysm

Krzepnięcie i fibrynoliza w przyściennnej warstwie zakrzepu tętniaka aorty brzusznej

Miłosław Cnotliwy¹, Maria Jastrzębska², Ireneusz Wiernicki¹, Kornel Chełstowski²

¹Department of Vascular and General Surgery and Angiology, Pomeranian Medical University, Szczecin, Poland (Klinika Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Angiologii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie)

²Chair of Laboratory Diagnostics and Molecular Medicine, Pomeranian Medical University, Szczecin, Poland (Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Medycyny Molekularnej, Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie)

Abstract

Background. The development of intraluminal thrombus in the abdominal aortic aneurysm (ILT) is a natural reaction to lesion of the arterial wall. Local haemostatic processes and secondary thrombolysis in the intraluminal thrombus, through the stimulation of proteolysis in extracellular matrix, may constitute one of the factors that lead to aneurysm rupture. In our study, we evaluated the coagulation and fibrinolytic parameters in the abluminal layer of the thrombus within the aneurysmal sack in order to find the differences between the thin (≤ 10 mm) and the thick parts.

Material and methods. The sections sampled for the study were harvested from the thick (> 25 mm) and thin (≤ 10 mm) slices of the ILT obtained from the same 32 abdominal aortic aneurysms, namely from the layer directly adjacent to the aneurysmal wall. The tissue factor activity, antiheparin and antithrombin activity, plasminogen content, plasminogen activator levels and concentration of D-dimers in the samples were measured.

Results. The activities of the tissue factor and antiheparin activity in the abluminal layer of the ILT were statistically significantly higher in the thin thrombi than in the thick ones ($p < 0.001$). Thin thrombi revealed significantly higher plasminogen ($p < 0.001$) and D-dimer ($p < 0.01$) concentrations when compared to thick thrombi, while the activity of plasminogen activators was higher in the thick thrombi ($p < 0.05$).

Conclusions. The abluminal layer of the thin thrombus (up to 10 mm) of the abdominal aortic aneurysm shows higher activities of coagulative processes when compared to thicker thrombi (> 25 mm); moreover, this site reveals strong secondary activation of the fibrinolytic system. Further investigation of the association between coagulation/fibrinolytic activity and proteolysis occurring within the AAA wall requires evaluation of such processes with regard to differences in the thickness of the thrombus.

Key words: abdominal aortic aneurysm, abluminal thrombus

Streszczenie

Wstęp. Tworzenie się zakrzepu wewnątrz tętniaka jest naturalną reakcją na uszkodzenie ściany naczynia. Miejscowe procesy hemostatyczne i wtórna tromboliza w zakrzepie przyściennym poprzez stymulowanie proteolizy matrix pozakomórkowego mogą być też jednym z czynników prowadzących do pęknięcia tętniaka. W pracy oceniono wybrane parametry krzepnięcia i fibrynolityczne w zakrzepie, w warstwie przylegającej bezpośrednio do ściany tętniaka, poszukując różnic pomiędzy cienką, do 10 mm, a grubszą częścią zakrzepu.

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr hab. med. Miłosław Cnotliwy, Klinika Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Angiologii PAM
Al. Powstańców Wlkp. 72, 70–111 Szczecin, Poland
tel: +48 (91) 466 11 56, fax: +48 (91) 466 11 57
e-mail: mcnotliwy@wp.pl

Material i metody. Do badania pobierano skrawki z grubej (ponad 25 mm) i cienkiej (do 10 mm) części zakrzepu, uzyskanego z 32 tętniaków aorty brzusznej (AAA), z warstwy przylegającej bezpośrednio do ściany tętniaka. W materiale oznaczono aktywność czynnika tkankowego (TF), aktywność antyheparynową (AH) i antytrombiny (AT), zawartość plazminogenu (Plg), stężenie aktywatorów plazminogenu (PA) i stężenie D-dimerów (DD).

Wyniki. Aktywność TF i AH w przyściennych warstwach zakrzepu tętniaka były znacznie wyższe w zakrzepach cieńszych niż grubszych ($p < 0,001$). W zakrzepach cieńszych stężenie Plg ($p < 0,001$) i D-D ($p < 0,01$) było znacznie wyższe niż w zakrzepach grubszych, natomiast aktywność PA była wyższa w zakrzepach grubszych ($p < 0,05$).

Wnioski. Warstwa przyścienna cienkiego zakrzepu (do 10 mm) AAA cechuje się aktywniejszymi procesami krzepnięcia w porównaniu z grubszym (ponad 25 mm), w tym silnie wyrażoną wtórną aktywacją układu fibrynolizy. W badaniach zależności pomiędzy aktywnością procesów krzepnięcia/fibrynolizy a proteolizą ściany tętniaka powinno się uwzględnić różnice grubości zakrzepu przyściennego (ILT).

Słowa kluczowe: tętniak aorty brzusznej (AAA), zakrzep przyścienny (ILT)

Introduction

The role of the intraluminal thrombus (ILT) in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysm (AAA) and its rupture remains unclear. Both the AAA wall and ILT are sites of primary and secondary enzymatic and inflammatory processes [1–10]. The thrombus is formed as a haemostatic reaction to the wall lesion and may be important in biomechanical protection against rupture. Although the fact that ILT also plays a destructive role results from local hypoxia of the underlying wall [8] and stimulation of proteolysis of its structural elements [3, 10]. Some authors suggest differential localization of proteolytic enzymes and fibrinolytic factors enhances proteolysis within the thrombus layers [3, 10]. Interestingly, none of the recent papers concerning the relationship between proteinase activators and proteinases has focused on the differences between thin and thick parts of the thrombus. The thin ILT facilitates penetration of blood cells and plasma factors from the luminal towards the juxtamural part of the thrombus to the aneurysmal wall [5]. It should be expected that the abluminal layer of the thin ILT shows more intense proteolysis and clotting processes compared to the thicker one because it might be induced by activators secreted from the wall, stored in the thrombus and adsorbed from plasma. Clot formation and local fibrinolysis within the abluminal layer of the thrombus may be a chain link of reaction leading to destruction of the aneurysmal wall and, as a result, to the rupture of the aneurysm. Based on several reports regarding the size, situation of ILT within the aneurysmal sac and the place of the aneurysm rupture, a hypothesis can be proposed that a wall covered by a thin thrombus is more prone to rupture than a wall covered by a thicker one [11–16].

Wstęp

Rola zakrzepu przyściennego (ILT) w patogenezie tętniaka aorty brzusznej (AAA) i jego pęknięciu jest niejasna. Zarówno ściana tętniaka, jak i zakrzep są miejscami pierwotnych i wtórnych procesów zapalnych i enzymatycznych [1–10]. Zakrzep powstaje jako naturalna reakcja hemostatyczna wobec uszkodzenia ściany aorty i może być jednym z czynników biomechanicznej protekcji przed jej pęknięciem. Zakrzep przyścienny odgrywa też rolę destrukcyjną poprzez wywoływanie miejscowego niedotlenienia ściany tętniaka pod zakrzepem [8] i stymulowanie proteolizy strukturalnych elementów ściany [3, 10]. W żadnej z dotychczas opublikowanych prac dotyczących zależności pomiędzy proteinazami a ich aktywatorami pochodzącymi z zakrzepu nie uwzględniono różnic wynikających z grubości ILT. Cienki zakrzep pozwala na penetrowanie elementów morfotycznych krwi i czynników osoczowych od światła tętniaka do warstwy zakrzepu przylegającej do jego ściany [5]. Można przypuszczać, że ta warstwa w cienkim zakrzepie wykazuje bardziej wzmożoną proteolizę i bardziej aktywne procesy krzepnięcia, ponieważ mogą one być indukowane przez czynniki pochodzące ze ściany AAA, zgromadzone w zakrzepie lub adsorbowane z surowicy krwi. Krzepnięcie i miejscowa fibrynoliza w przyściennych warstwach zakrzepu mogą być częścią łańcucha reakcji prowadzących do zniszczenia ściany tętniaka i w rezultacie do jego pęknięcia. Opierając się na wielu obserwacjach dotyczących rozmiaru AAA, umiejscowienia zakrzepu wewnątrz worka tętniaka i miejsca pęknięcia, można przyjąć hipotezę, że ściana tętniaka przykryta cienkim zakrzepem jest podatniejsza na rozerwanie niż ściana leżąca pod grubym zakrzepem [11–16].

Aby zweryfikować tę tezę, porównano wybrane parametry krzepnięcia i fibrynolizy w cienkiej i grubej części

To verify this proposition we compared some coagulation and fibrinolytic parameters in the layer of the thrombus directly adjacent to the aneurysmal wall, between the thinner and thicker parts of the intraluminal thrombus.

Material and methods

The study enrolled 32 consecutive patients (31 males and 1 female) scheduled for elective surgery due to AAA, in whom pre-surgery ultrasound or computed tomography revealed the presence of intraluminal thrombus sized minimum 25 mm at the largest width and maximal 10 mm at the thinnest part. The patients' mean age was 68 years (range 50–79 years); coexisting arterial hypertension was found in 56% of patients, coronary artery disease in 47%, chronic bronchitis in 16%, diabetes mellitus in 7% and 74% of patients were active smokers. The diameter of the aneurysm ranged from 50 to 100 mm, mean diameter was 59 mm. The thickest layer of the ILT in 85% of cases covered the anterior wall. The study material consisted of 2–3 mm thick slices of ILT directly adjacent to the aneurysmal wall, sampled from the thinnest part of the thrombus (≤ 10 mm) and the thickest part (≥ 25 mm) from the same sac, as shown in Figure 1. The blood clot sampled from the jugular vein comprised the control. The patients were not administered heparin prior to this procedure.

Immediately after sampling, the thrombus was washed in saline and the homogenate was prepared. The tissue factor (TF) activity, antiheparin (AH) activity, antithrombin (AT) activity, plasminogen content (Plg), plasminogen activator (PA) levels and D-Dimers (D-D) were measured. Preparation of homogenate, storage and TF, AH and AT measurements were performed according to the protocol described by Gacko et al. [9]. Plasminogen was measured by chromogenic assay using the Berichrom-Plasminogen-Dade Behring test; D-Dimers were measured by immunoturbidimetric assay using D-Dimer PLUS-Dade Behring test; and PA levels were measured by ELISA method using the Diagnostica Stago test.

The data were statistically compared using a STATISTICA software package (Start Soft, USA). Statistical analysis was performed using Student's t-test and two-factor-ANOVA. Logarithmic transformations were applied for D-dimers. In addition, a post hoc Tukey's test was carried out. A p value < 0.05 was considered significant. All of the data are presented in the tables as mean values \pm standard deviation.

The study protocol has been accepted by the local bioethical committee.

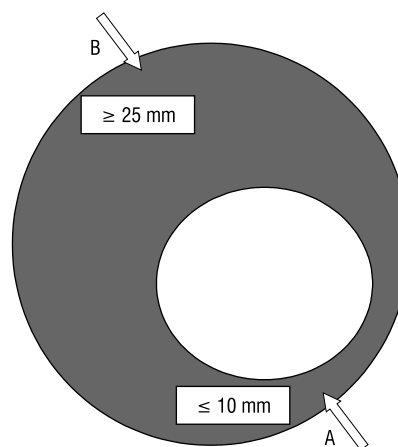


Figure 1. Transverse view of AAA sac demonstrating the places of ILT sampling. **A** — sample collected from the thin part of ILT; **B** — sample collected from the thick part of ILT

Rycina 1. Poprzeczny przekrój tętniaka z oznaczonymi miejscami pobrania próbek zakrzepu. **A** — próbka pobrana z cienkiej części zakrzepu; **B** — próbka pobrana z grubej części zakrzepu

zakrzepu, w warstwie przylegającej bezpośrednio do ściany tętniaka.

Material i metody

Do badania włączono kolejnych 32 chorych (31 mężczyzn, 1 kobieta) zakwalifikowanych do elektywnej operacji z powodu AAA, u których w USG lub badaniu tomografii komputerowej (CT) wykonywanym przed operacją wykazano obecność skrzepliny przyściennej, która w najszerszym miejscu miała minimum 25 mm i nie więcej niż 10 mm w najwęższym miejscu. Wiek chorych wynosił średnio 68 lat (50–79); u 56% pacjentów współistniało nadciśnienie tętnicze, u 47% chorych — choroba wieńcowa, 16% badanych cierpiało na przewlekły nieżyt oskrzeli, 7% chorowało na cukrzycę, 74% czynnie paliło tytoń. Średnica tętniaka wahała się 50–100 mm — średnio 59 mm. Najgrubsza warstwa skrzepliny przyściennej w 85% przypadków była zlokalizowana z przodu.

Materiał do badania stanowiły skrawki, 2–3 mm skrzepliny przyściennej przylegającej bezpośrednio do ściany tętniaka, pobierane z najgrubszej i najcieńszej części zakrzepu tego samego tętniaka (ryc. 1). Skrzep krwi pobranej z żyły szyjnej był materiałem porównawczym. Przed pobraniem materiału u chorych nie stosowano heparyny. Natychmiast po pobraniu próbki zakrzepu płukano w roztworze soli fizjologicznej i wykonywano homogenat. W uzyskanym materiale oznaczono aktywność czynnika tkankowego (TF), antyheparynową (AH), antytrombiny (AT), zawartość plazminogenu (Plg), stężenie aktywatorów plazminogenu (PA)

Table I. Comparative analysis of coagulative and fibrinolytic parameters of ILT related to its thickness and retracted blood clot. A — thin part of ILT; B — thick part of ILT; *after logarithmic transformation**Tabela I.** Porównanie wyników oznaczeń parametrów aktywności krzepnięcia i fibrynolizy w cienkiej i grubej części zakrzepu oraz skrzepie krwi. A — cienka część zakrzepu; B — gruba część zakrzepu; *po transformacji logarytmicznej

Determined factor Oznaczone parametry	1	2	3	ANOVA (p<)	Tukey's test (p<)		
	Sample A Próbka A	Sample B Próbka B	Retracted blood clot Skrzep krwi		1:2	1:3	2:3
TF activity [s] Aktywność TF	65,9 ± 22,7	119,2 ± 48,4	116,3 ± 43,3	0,001	0,001	0,001	NS
AH activity [s] Aktywność AH	25,4 ± 8,0	37,7 ± 15,8	23,9 ± 5,9	0,001	0,001	NS	0,001
AT activity [s] Aktywność AT	22,4 ± 1,8	22,3 ± 1,6	22,6 ± 1,9	NS	NS	NS	NS
Plg (%)	29,2 ± 10,1	15,2 ± 11,3	7,7 ± 4,7	0,001	0,001	0,001	0,01
PA [ng/ml]	5,8 ± 5,5	9,0 ± 8,7	2,7 ± 1,0	0,001	0,05	0,05	0,001
D-D [ug/l]	1833 ± 2748	498 ± 852	360 ± 635	0,001*	0,01*	0,001*	0,05*

TF — tissue factor (czynnik tkankowy); AH — antiheparin (antyheparynowy); AT — antithrombin (antytrombina); Plg — plasminogen (plazminogen); PA — plasminogen activator (aktywator plazminogenu); D-D — D-dimers (D-dimery); NS — non significant (nieznamienne statystycznie)

Results

The results of measurements of coagulation activity (tissue factor activity, antiheparin activity and antithrombin activity) and the results of measurements of fibrinolytic activity (plasminogen content, plasminogen activator activity and D-Dimer concentrations) are shown in the Table I.

Statistical analysis revealed that TF activity was significantly higher in the intraluminal thrombi than in the blood clots ($p < 0.01$), while antiheparin activity was higher in the blood clots than in the intraluminal thrombi ($p < 0.01$). Analysis of TF and AH activities in the intraluminal thrombi with regard to their thickness revealed that both TF and AH activities were significantly higher in the thinner than in the thicker thrombi ($p < 0.001$), as shown in Figure 2. There were not significant differences in antithrombin activity between the blood clot and ILT.

Analysis of fibrinolytic activity in the homogenates revealed that the total content of fibrinolytic factors was higher in the intraluminal thrombi than in blood clots. However, analysis of fibrinolytic factor contents in thinner and thicker parts of ILT revealed that the thinner thrombus showed significantly higher plasminogen concentrations ($p < 0.001$) and D-Dimer concentrations ($p < 0.01$), while the activity of plasminogen activators was higher in the thicker thrombi ($p < 0.05$). These results are shown in Figure 3.

Discussion

One of the elements that binds clotting and fibrinolysis processes within the thrombus and proteolysis of the structural proteins in aortic media is activation of matrix metalloproteinases caused by plasmin. Development and rupture of an aneurysm are associated with

i D-dimerów (D-D). Przygotowanie homogenatu, jego przechowanie oraz oznaczenia TF, AH i AT przeprowadzono według procedury opisanej przez Gacko i wsp. [9]. Zawartość plasminogenu mierzono metodą chromogenną, stosując test Berichrom Plasminogen-Dade Behring, D-D metodą immunoturbidymetryczną za pomocą testu D-Dimer PLUS-Dade Behring, natomiast stężenie PA metodą ELISA, stosując test Diagnostica Stago.

Dane statystyczne opracowano za pomocą programu STATISTICA (StartSoft, Stany Zjednoczone). Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu testu *t*-Studenta i dwuczynnikowego ANOVA. Dla D-D zastosowano transformację logarytmiczną. Dodatkowo przeprowadzono test Tukeya. Różnice uznano za znamienne statystycznie dla $p < 0,05$.

Badanie uzyskało akceptację Komisji Bioetycznej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie.

Wyniki

Wyniki oznaczeń aktywności krzepnięcia (pomiar aktywności TF, aktywności AH i AT) oraz wyniki oznaczeń aktywności fibrynolitycznej (pomiar zawartości Plg, aktywności PA i stężenia D-D) przedstawiono w tabeli I.

W analizie statystycznej wykazano, że aktywność TF była znamienne wyższa w zakrzepach przyściennych niż w skrzepie krwi ($p < 0,01$), natomiast aktywność AH była wyższa w skrzepach krwi niż w zakrzepach ($p < 0,01$). Analizując aktywność TF i AH w zakrzepach w zależności od ich grubości okazało się, że zarówno TF, jak i AH były znamienne wyższe w zakrzepach cieńszych niż grubszych ($p < 0,001$) (ryc. 2). Nie stwierdzono istotnych różnic w aktywności antytrombinowej pomiędzy kontrolnym skrzepem krwi a zakrzepem przyściennym.

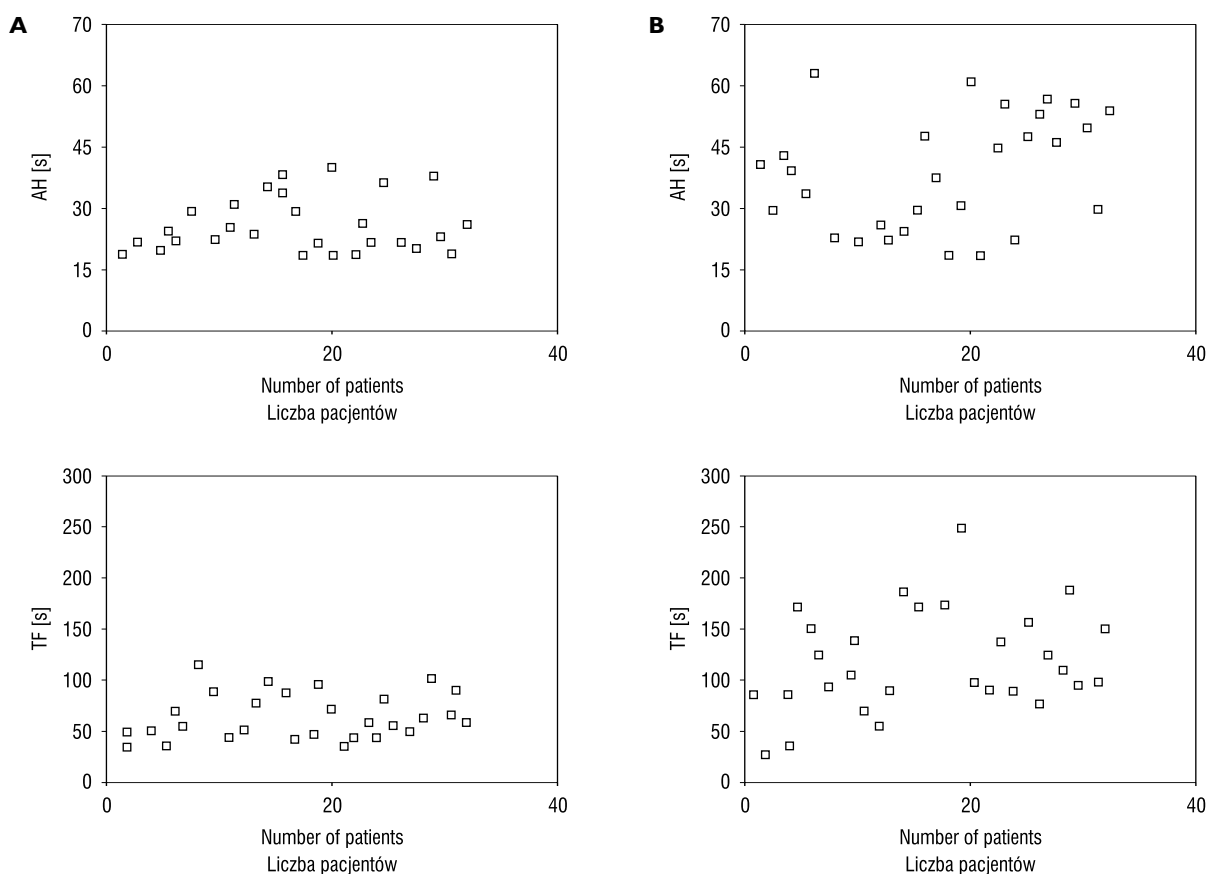


Figure 2. Figure 2. Coagulative activity characterized by tissue factor (TF) and antiheparin (AH) activities in abluminal layer of the ILT related to its thickness. **A** — thin part of ILT; **B** — thick part of ILT

Rycina 2. Porównanie aktywności krzepnięcia na podstawie oznaczeń aktywności czynnika tkankowego (TF) i aktywności antyheparynowej (AH) w cienkiej i grubej części zakrzepu. **A** — cienka część zakrzepu; **B** — gruba część zakrzepu

increased activity of MMPs, particularly MMP-9 within the wall and intraluminal thrombus [18–22]. The main sources of MMP-9 release are granules of polymorphonuclear leukocytes and macrophages present within the ILT [3]. The amount of these cells increases in the layers located closer to the lumen [3–5]. The luminal part of the thrombus shows more cellular penetration and a better organized fibrin network than in the more distant sites. This is due to the canaliculi connecting the luminal surface and the deeper parts of the thrombus up to 10 mm [5]. The latent form of MMP-9 is activated by cytokines, oxygen radicals and plasmin; the latter may independently cause the damage of the extracellular matrix [19, 23–25]. It has been proven that plasminogen as a plasmin substrate occurred only in the thrombus, while the plasmin showed activity in both the thrombus and aneurysmal wall [3, 10]. The tissue plasminogen activator (t-PA) and urokinase plasminogen activator (u-PA) are released from the endothelial cells. Fontaine et al. described the presence of free forms of u-PA and t-PA exclusively within the aneurysmal walls.

Oceniając aktywność fibrynolityczną w homogenatach, zaobserwowano, iż zawartość wszystkich czynników fibrynolitycznych była wyższa w ILT niż w skrzepie krwi. Porównując jednak stężenie tych czynników w zakrzepach grubych i cienkich, wykazano, że w zakrzepach cieńszych stężenie Plg ($p < 0,001$) i D-D jest znacznie większe ($p < 0,01$), natomiast aktywność PA była wyższa w zakrzepach grubszych ($p < 0,05$) (ryc. 3).

Dyskusja

Jednym z elementów wiążących procesy krzepnięcia i fibrynolizy w zakrzepie a proteolizą białek strukturalnych w warstwie środkowej ściany aorty jest aktywacja matrix metalloproteinaz (MMP) przez plazminę. Powiększanie i pęknięcie tętniaka wiąże się ze wzrostem aktywności MMP, zwłaszcza MMP-9 w ścianie oraz w przyściennym zakrzepie [17–22]. Głównym źródłem metalloproteinazy MMP-9 są ziarnistości leukocytów wielojądrowych i makrofagi znajdujące się między innymi w skrzepinie przyścienniej [3]. Liczba tych komórek zwiększa się w warstwach bliższych kanałowi przepływu krwi [3–5].

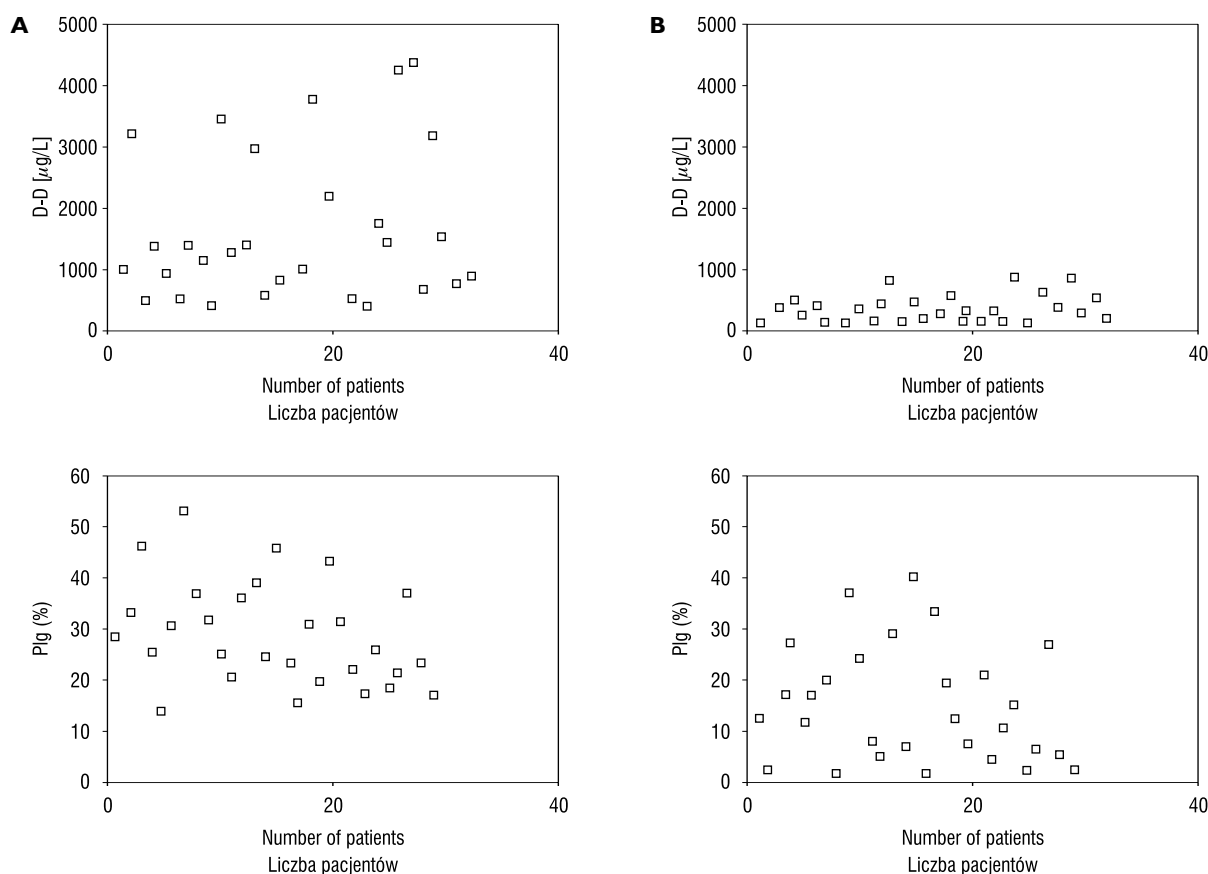


Figure 3. Fibrinolytic activity characterized by plasminogen (Plg) and D-dimers (D-D) levels in abluminal layer of the ILT related to its thickness. **A** — thin part of ILT; **B** — thick part of ILT

Rycina 3. Porównanie aktywności fibrynolitycznej na podstawie oznaczeń zawartości plazminogenu (Plg) i D-dimerów (D-D) w cienkiej i grubej części zakrzepu. **A** — cienka część zakrzepu; **B** — gruba część zakrzepu

Carrell found these forms also within the abluminal layer of the thrombus; however, their activities were significantly lower [3, 10]. The levels of plasminogen activator inhibitor are similar in the aneurysm wall and juxtamural thrombus [10].

The results of our study indicate that coagulative activity measured by activity of the tissue factor and antiheparin activity is more pronounced in the abluminal layer of the thin thrombus (up to maximal thickness of 10 mm) compared to the thick one. This leads to the secondary activation of fibrinolysis. Due to higher levels of Plg and D-D, one would expect higher levels of plasminogen activators in the thin thrombus (PA); however, we obtained the opposite result. We found higher PA activity contained in the abluminal layer of the thick thrombus (≥ 25 mm) compared to the thinner (≤ 10 mm) one. This could be explained by better accessibility of PAI adsorbed from plasma to the juxtamural layer of the thin thrombus. Another possible explanation could be the limited plasminogen access to the deeper part of the thrombus, especially the thicker one. This is sup-

Ta warstwa ILT cechuje się też lepiej zorganizowaną siatką fibrynową niż warstwy bardziej oddalone. Penetracja komórek jest możliwa dzięki obecności w zakrzepie, do około 10 mm, systemu kanalików łączących kanał przepływu krwi z kolejnymi warstwami skrzepiny przysiennej [5]. Latentną postać MMP-9 aktywują cytokiny, rodniki tlenowe i plazmina, która również sama może powodować niszczenie matrix pozakomórkowego [19, 23–25]. Wykazano, że Plg jako substrat plazminy jest obecny tylko w zakrzepie, a plazmina jest aktywna zarówno w zakrzepie, jak i w ścianie tętniaka [3, 10]. Tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA) i urokinazowy (u-PA) są uwalniane z komórek śródbłonna. Fountain i wsp. stwierdzili obecność wolnych form u-PA, jak i t-PA tylko w ścianie tętniaka. Carrell natomiast wykazał ich aktywność także w przysiennej warstwie zakrzepu, chociaż ich aktywność była znacznie mniejsza [3, 10]. Stężenie inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI) jest podobne w ścianie, jak i ILT [10].

Wyniki badania przeprowadzonego przez autorów niniejszej pracy wskazują, że aktywność krzepnięcia,

ported by the higher levels of Plg, as plasmin substrate, that we observed in the abluminal layer of the thin thrombus. Therefore, enhanced proteolysis in the AAA wall may result from high plasmin activity in the abluminal layer of the thin thrombus covered aneurysmal wall. Both phenomena might be possible because of thrombus structure. According to Carrell, low plasminogen activator levels in the abluminal layer of the thrombus do not result from the local inhibition of activity but from the action of activators derived from the aneurysmal wall [10]. Comparing our results with others, we may note that there are huge differences in clotting and fibrinolytic parameters in abluminal layers between the thin and thick thrombi. The thesis by Carrell stating that the activation of plasminogen through the activators derived from the aneurysmal wall would increase plasmin and secondary gelatinase B activity may be applied only to the thick thrombus [10]. It is more likely that plasminogen is activated by factors released from the AAA wall and components adsorbed from plasma [3, 25–27]. Thus, higher protease activation by plasmin may be expected at the interface between the aneurysmal wall and the thin thrombus; as a result, that site may be more prone to rupture.

Conclusions

1. Abluminal layer of the thin intraluminal thrombus of AAA reveals higher activity of clotting processes compared to the thicker one. Activation of fibrinolysis is a secondary reaction.
2. Correlation between clotting processes and proteolysis occurring within the aneurysmal wall should be further investigated with regard to differences in thrombus thickness.

References

1. Panek B, Gacko M, Pałka J (2004) Metalloproteinases, insulin-like growth factor-I and its binding proteins in aortic aneurysm. *Int J Exp Pathol*, 85: 159–164.
2. Gacko M, Głowiński S (1998) Activities of proteases in parietal thrombus of aortic aneurysm. *Clinica Chimica Acta*, 271: 171–177.
3. Fontaine V, Jacob MP, Houard X (2002) Involvement of the mural thrombus as a site of protease release and activation in human aortic aneurysm. *Am J Pathol*, 161: 1701–1710.
4. Fontaine V, Touat Z, Mtairag EM (2004) Role of leukocyte elastase in preventing cellular re-colonisation of the mural thrombus. *Am J Pathol*, 164: 2077–2087.
5. Adolph R, Vorp DA, Steed D, Webster MW, Kameneva MV, Watkins SC (1997) Cellular content and permeability of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*, 25: 916–926.

mierzona aktywnością TF i AH jest bardziej wzmożona w warstwie przyściennej cienkiego (do 10 mm) zakrzepu niż grubego. Prowadzi to do wtórnej aktywacji układu fibrynolizy. W związku z wyższymi stężeniami Plg i D-D w cienkiej skrzeplinie można było oczekiwać wyższych stężeń PA, uzyskano jednak wynik odwrotny; stwierdzono większą aktywność PA w zakrzepie grubym (ponad 25 mm). Można to wytłumaczyć lepszą dostępnością PAI adsorbowanego z surowicy krwi do warstwy przyściennej cienkiego zakrzepu. Innym wytłumaczeniem może być ograniczony dostęp Plg do głębszych warstw ILT, zwłaszcza grubego. Tezę tę popiera fakt, że autorzy niniejszej pracy zaobserwowali niższe stężenie Plg jako substratu plazminy w grubym zakrzepie. Intensywniejszej proteolizy w ścianie AAA, związanej z wyższą aktywnością plazminy, można oczekiwać w miejscu przykrytym cienkim zakrzepem. Obie próby wytłumaczenia tego zjawiska są możliwe, jeśli uwzględnimy strukturę ILT. Według Carrella niskie stężenie PA w przyściennej warstwie zakrzepu nie wynika z miejscowego hamowania ich aktywności, ale jest następstwem działania czynników uwalnianych ze ściany tętniaka [10]. Porównując spostrzeżenia autorów niniejszej pracy z innymi, należy jeszcze raz podkreślić, że jest olbrzymia różnica w aktywności krzepnięcia i fibrynolizy w warstwie przyściennej zakrzepu cienkiego i grubego. Teza Carrella, że plazmina jako produkt aktywacji plasminogenu przez aktywatory pochodzące ze ściany tętniaka prowadzi do wzrostu aktywności gelatinazy B jest prawdziwa w odniesieniu do przyściennej warstwy grubego zakrzepu [10]. Wiadomo, że plasminogen może być aktywowany zarówno przez czynniki pochodzące ze ściany, jak i adsorbowane z osocza [3, 25–27]. W związku z tym większej aktywności proteaz indukowanej przez plazminę można oczekiwać na pograniczu ściany AAA i cienkiej skrzepliny, co może skutkować większą podatnością na pęknięcie tej części tętniaka.

Wnioski

1. Warstwa przyściennej cienkiego zakrzepu wewnątrz tętniaka aorty brzusznej cechuje się bardziej aktywnymi procesami krzepnięcia w porównaniu z grubszym. Aktywacja fibrynolizy jest reakcją wtórną.
 2. Korelacja procesów koagulologicznych w zakrzepie z reakcjami proteolitycznymi zachodzącymi w ścianie tętniaka wymaga dalszych badań z uwzględnieniem grubości ILT.
-
6. Ailawadi G, Eliason JL, Upchurch GR (2003) Current concepts in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg*, 38: 584–588.

7. Choke E, Cockerill G, Wilson WRW et al (2005) A review of biological factors implicated in abdominal aortic aneurysm rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 30: 227–244.
8. Vorp DA, Lee PC, Wang DHJ et al (2001) Association of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm with local hypoxia and wall weakening. *J Vasc Surg*, 34: 291–299.
9. Gacko M, Worowska A, Głowiński S (1999) Coagulative and fibrinolytic activity in parietal thrombus of aortic aneurysm. *Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku*, 44: 102–110.
10. Carrell TWG, Burnand KG, Booth NA, Humphries J (2006) Intraluminal thrombus enhances proteolysis in abdominal aortic aneurysms. *Vascular*, 14: 1–8.
11. Golledge J, Abrokwah J, Shenoy KN, Armour RH (1999) Morphology of ruptured abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 18: 96–104.
12. Darling RC (1970) Ruptured arteriosclerotic abdominal aortic aneurysms. *Am J Surg*, 119: 397–401.
13. Simao da Silva E, Rodrigues AJ, Magalhaes Castro de Tolsa E (2000) Morphology and diameter of infrarenal aortic aneurysms: a prospective autopsy study. *Cardiovasc Surg*, 8: 526–532.
14. Hans SS, Jareunpoon O, Balasubramaniam M, Zelenock GB (2005) Size and location of thrombus in intact and ruptured abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 41: 584–588.
15. Wiernicki I, Gutowski P, Kownacki Ł, Górecka-Szyld B, Cyryłowski L, Polanowski Ł (2004) Association of the route blood flow channel through an intraluminal thrombus with the abdominal aortic aneurysm rupture in imaging diagnostics. *Pol J Radio*, 69: 7–11.
16. Kushihashi T, Munechika H, Matsui S, Moritani T, Horichi Y, Hishida T (1991) CT of abdominal aortic aneurysms: aneurysmal size and thickness of intra-aneurysmal thrombus as risk factors of rupture. *Nippon Igau Hoshasen Gakkaï Zasshi*, 51: 219–227.
17. Tamarina NA, McMillan WD, Shively VP, Pearce WH (1997) Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in aneurysm and normal aorta. *Surgery*, 122: 264–272.
18. Sakalihasan N, Delvenne P, Nusgens BV, Limet R, Lapiere CM (1996) Activated forms of MMP2 and MMP9 in abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 24: 127–133.
19. Wilson WR, Anderton M, Schwalbe EC (2006) Matrix metalloproteinase-8 and -9 are increased at site of abdominal aortic aneurysm rupture. *Circulation*, 24: 438–445.
20. Kazi M, Zhu C, Roy J (2005) Difference in matrix-degrading protease expression and activity between thrombus-free and thrombus-covered wall of abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25: 1341–1346.
21. Petersen E, Wagberg F, Angquist KA (2002). Proteolysis of the abdominal aortic aneurysm wall and the association with rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 23: 153–157.
22. He C, Wilhelm S, Pentland A (1989) Tissue co-operation in a proteolytic cascade activating human interstitial collagenase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86: 2632–2636.
23. Jean-Claude J, Newman KM, Gregory AK, Tilson MD (1994) Possible key role for plasmin in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Surgery*, 116: 472–478.
24. Carmeliet P, Moons L, Lijnen R (1997) Urokinase-generated plasmin activates matrix metalloproteinases during aneurysm formation. *Nat Genet*, 17: 439–444.
25. Kolbel T, Strandberg K, Mattiasson I, Stenflo J, Lindblad B (2006) Activated protein C-protein C inhibitor complex: a new biological marker for aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 43: 935–939.
26. Louwrens HD, Kwaan HC, Pearce WH, Yao JS, Verrusio E (1995) Plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor expression by normal and aneurysmal human aortic smooth muscle cells in culture. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 10: 289–293.
27. Reilly JM, Sicard GA, Lucore CL (1994) Abnormal expression of plasminogen activators in aortic aneurysmal and occlusive disease. *J Vasc Surg*, 19: 865–872.