

**Aktive Entzündungsreaktion in Aneurysmen
der Aorta ascendens bei Patienten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Haug-Lambert Loriz
aus Paderborn

2013

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Priv. Dozent Dr. med. Oliver Dewald
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Jörg C. Kalff

Tag der mündlichen Prüfung 16.07.2013

Aus der Klinik und Poliklinik für Herzchirurgie,
Direktor: Herr Prof. Dr. med. Armin Welz

Stephanie und Emma

Inhaltsverzeichnis

<i>Abkürzungsverzeichnis</i>	8
1. Einleitung.....	10
1.1 Epidemiologie, Ätiologie und Therapie der Aorta ascendens Aneurysmen.....	10
1.1.1 <i>Epidemiologie</i>	10
1.1.2 <i>Ätiologie</i>	11
1.1.3 <i>Symptomatik</i>	15
1.1.4 <i>Diagnostik</i>	15
1.1.5 <i>Therapie</i>	17
1.2 Vaskuläre Inflammation (Atherosklerose)	18
1.3 Koronare Herzkrankheit und aortokoronarer Bypass	20
1.3.1 <i>Definition der koronaren Herzkrankheit</i>	20
1.3.2 <i>Epidemiologie der koronaren Herzkrankheit</i>	20
1.3.3 <i>Ätiologie und Risikofaktoren</i>	21
1.3.4 <i>Therapie der koronaren Herzkrankheit</i>	21
1.4 Mediatoren der Inflammation	22
1.4.1 <i>Zytokine</i>	22
1.4.2 <i>Chemokine</i>	23
1.5 Einfluss von MCP-1 auf Monozyten und Makrophagen.....	25
1.6 Hypothese.....	27
2. Material und Methoden.....	28
2.1 Patientendaten.....	28
2.1.1 <i>Versuchsgruppe</i>	28
2.1.2 <i>Kontrollgruppe</i>	28

2.2 Probensammlung und Probenaufbereitung	29
2.2.1 Probensammlung	29
2.2.2 Probenaufbereitung.....	29
2.3 Histopathologische Untersuchungen	29
2.3.1 Paraffineinbettung und Schneiden der Gewebeproben	29
2.3.2 Färbeprotokolle	30
2.3.3 Quantitative Auswertung der histologischen Präparate	36
2.4 Molekularbiologische Untersuchungen	37
2.4.1 RNA - Isolation	37
2.4.2 "Ribonuclease Protection Assay" - Messung von mRNA-Expression	38
2.4.3 Auswertung des RPA	41
2.5 Statistische Auswertung.....	42
3. Ergebnisse	43
3.1 Demographische Daten	43
3.2 Klinische Daten	43
3.2.1 Begleiterkrankungen	43
3.2.2 Chirurgische Daten	44
3.2.3 Präoperative laborchemische Daten	45
3.2.4 Präoperative Medikation	45
3.3 Histologische Befunde	46
3.3.1 Allgemein qualitativer Gruppenvergleich	46
3.3.2 Quantitativer Gruppenvergleich der histologischen Präparate	46
3.4 Expression der Entzündungsmediatoren	61
4. Diskussion	64
4.1 Ausblick.....	77

5. Zusammenfassung	79
6. Literaturverzeichnis	81
7. Danksagung	92
8. Lebenslauf	93

Abkürzungsverzeichnis

AAA	Aorta ascendens Aneurysma
ACE	Angiotensin „converting enzyme“
ACVB	Aortokoronarer Venenbypass
AP	Angina pectoris
apo B-100	Apolipoprotein B-100
BAA	Bauchaortenaneurysma
CCR2	CC-Chemokin Rezeptor 2
cDNA	copy Desoxyribonukleinsäure
COPD	chronisch obstruktive Lungenkrankheit
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DAB	Diaminobenzidin
di-H ₂ O	deionisiertes Wasser
EDS	Ehlers-Danlos Syndrom
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiographie
FBN1	Fibrillin 1 Gen
FK	Fraktalkin
GAPDH	Glyceraldehyd-3-phosphatdehydrogenase
HCC-1	CC-Chemokin Ligand 14
HCC-2	CC-Chemokin Ligand 15
HCC-4	CC-Chemokin Ligand 16
HMG-CoA	Hydroxymethylglutaryl-Coenzym A
hs-CRP	„high-sensitivity“ C-reaktives Protein
I-309	CC-Chemokin Ligand 1
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IP-10	"Interferon- γ -Inducible Protein-10", CXC-Chemokin Ligand 10
KHK	koronare Herzkrankheit

L32	ribosomales Protein L32
LDL	„low density“ Lipoprotein
Ltn	Lymphotaktin, C-Chemokin Ligand 1
MCP-1	„monocyte chemoattractant protein-1“, CC-Chemokin Ligand 2
M-CSF	„makrophage colony stimulating factor“
MIP	„macrophage inflammatory protein“
MMP	Matrix Metalloproteinase
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
NF-κB	nukleärer Faktor kappa B
NK	natürliche Killerzellen
PBS	Phosphat gepufferte NaCl-Lösung
PDGF	„platelet derived growth factor“
PTCA	perkutane transarterielle Koronarangioplastie
RANTES	„regulated upon activation, normal T-cell expressed, and secreted“ - CC-Chemokin Ligand 5
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
RPA	„ribonuclease protection assay“
TAA	thorakales Aortenaneurysma
TGF	„transforming growth factor“
TEE	transösophageale Echokardiographie
TNF	Tumor Nekrose Faktor
tRNA	transfer Ribonukleinsäure
TTE	transthorakale Echokardiographie
US	Ultraschall
VCAM	„vascular cell adhesion molecule“
VLDL	„very low density lipoprotein“

1. Einleitung

1.1 Epidemiologie, Ätiologie und Therapie der Aorta ascendens

Aneurysmen

1.1.1 Epidemiologie

Das Aneurysma der Aorta ist definiert als eine Erweiterung aller drei Wandschichten um mehr als 50 Prozent des Querdurchmessers im Vergleich zur altersentsprechenden Normgröße [Ince und Nienaber, 2007].

Man unterscheidet fusiforme Aneurysmen von sakkulären Aneurysmaformen; fusiforme Aneurysmen sind symmetrische Erweiterungen des Gefäßes wogegen sakkuläre Aneurysmen nur an einer Seite des Gefäßes auftreten und typischerweise einen Aneurysmahals aufweisen. Das Aneurysma spurium beschreibt zwar eine Größenzunahme des Gefäßes, diese beruht jedoch auf einem Einriss der Intima und der Media und stellt somit kein echtes Aneurysma dar.

Eine Aortendissektion beschreibt eine akut lebensbedrohliche Verletzung der Gefäßintima und -media, die im Bereich von Aneurysmen gehäuft auftritt. Es kommt zur Ausbildung eines falschen Lumens im Bereich zwischen Adventitia und Media mit akuter Größenzunahme der Aorta. Das falsche Lumen setzt sich in der Regel von der Eintrittsstelle nach distal fort, indem es die Intima mitsamt der Media von der Adventitia abhebt. Der Bereich des proximalen Intimaeinrisses wird als Entry, ein gegebenenfalls weiterer distal gelegener Einriss, über den es zur Ausbildung eines blutdurchflossenen falschen Lumens kommen kann, wird Re-Entry genannt.

Die Klassifikation der Aortendissektion erfolgt nach Stanford und DeBakey.

Die Einteilung nach DeBakey unterscheidet drei Typen. Typ 1 beschreibt eine Dissektion mit Entry im Bereich der Aorta ascendens und Ausdehnung bis in den Aortenbogen und darüber hinaus; bei Typ 2 ist die Dissektion auf die Aorta ascendens beschränkt. Eine Aortendissektion DeBakey Typ 3 ist durch das Entry im Bereich der Aorta descendens definiert unabhängig ob die weitere Ausdehnung nach distal oder proximal erfolgt [Nienaber und Eagle, 2003a].

In der Einteilung nach Stanford gibt es zwei Subtypen. Ist im Rahmen der Dissektion die Aorta ascendens betroffen, handelt es sich um eine Dissektion Typ Stanford A unabhängig von der Gesamtausdehnung. Bei alleinigem Befall der Aorta descendens spricht man von einer Stanford Typ B Dissektion [Nienaber und Eagle, 2003a].

In dieser Arbeit wird folgend die Klassifikation nach Stanford verwendet, da diese einfach anzuwenden ist und die Indikation zur weiteren Therapie beinhaltet. Typ A Dissektionen sind ein kardiochirurgischer Notfall, wogegen eine Stanford B Dissektion konservativ behandelt werden kann. Erst bei Hinzutreten ischämischer Begleitpathologien besteht ebenfalls die Indikation zur operativen Therapie [Heider et al., 2007].

Eine Aorten- oder Aneurysmaruptur ist als kompletter Riss aller drei Wandschichten definiert. Das Risiko beider Komplikationen steigt mit steigendem Durchmesser des Aneurysmas erheblich [Elefteriades, 2005].

Das intramurale Hämatom und die Aortenulzeration beschreiben Vorstufen einer Aneurysmaausbildung oder einer akuten Dissektion.

Der Großteil der Aortenaneurysmen befindet sich im Bereich der infrarenalen Aorta abdominalis. Die thorakalen Aortenaneurysmen (TAA) verteilen sich zu 51 Prozent auf die Aorta ascendens, zu 11 Prozent auf den Aortenbogen und zu 38 Prozent auf die Aorta thoracalis descendens [Akin et al., 2009].

Die Inzidenz der TAA wird mit sechs pro 100000 Menschen pro Jahr angegeben; in einer weiteren Arbeit liegt die Inzidenz von TAA und thorakalen Aortendissektionen zwischen 16,3 pro 100000 Männer und Jahr für und 9,1 pro 100000 Frauen und Jahr [Olsson et al., 2006]. Etwa 13 Prozent der Patienten weisen multiple Aneurysmen der Aorta auf wogegen bei 25 Prozent ein infrarenales Aortenaneurysma vorliegt.

Die höchste Inzidenz der TAA findet sich in der sechsten und siebten Lebensdekade [Ince und Nienaber, 2007; Oberwalder, 2001].

1.1.2 Ätiologie

Arterielle Hypertonie, Nikotinabusus und Dyslipidämie sind Risikofaktoren für atherosklerotische Veränderungen der Gefäße [Nienaber und Eagle, 2003a]. Diese können auch im Bereich der Aorta zur Verdickung der Intima mit folgender Fibrose, Kalzifikation und Ablagerung von Fettsäuren in der Extrazellulärmatrix führen. Die

Versorgung der Gefäßwand selbst mit Sauerstoff und Nährstoffen ist kompromittiert und durch den Verschluss kleinster versorgender Gefäße wie der Vasa vasorum kann es zur beschleunigten Degradation der Gefäßwand mit Elastolyse kommen.

Das Marfan Syndrom ist eine erbliche Störung des Bindegewebeaufbaus mit autosomal dominantem Erbgang [Boileau et al., 2005]. Die Inzidenz beträgt etwa eine von 3000 bis 5000 Geburten. In etwa 25 bis 30 Prozent findet sich keine familiäre Häufung, so dass von einer Neumutation auszugehen ist. Das Marfan Syndrom resultiert aus Mutationen im Fibrillin 1 (FBN1) Gen [Nollen und Mulder, 2004]. Das Marfan Syndrom wird nicht allein über nachgewiesene Mutationen, sondern auch über das klinische Erscheinungsbild und die Familienanamnese im Rahmen der Ghent Kriterien diagnostiziert. Eine Aufweitung der Aorta ascendens kann bei 60 Prozent bis zu 80 Prozent der Erwachsenen mit Marfan Syndrom gefunden werden. Das AAA und die in dessen Folge erhöhte Rate an Aorta ascendens Dissektionen und Rupturen stellen die häufigste Todesursache dar [Milewicz et al., 2005].

Das Ehlers-Danlos Syndrom (EDS) beschreibt eine Gruppe erblicher Störungen des Bindegewebes. Es tritt mit einer Inzidenz von einer auf 5000 Geburten mit gleicher Verteilung zwischen den Geschlechtern und unabhängig von ethnischer Herkunft auf [Germain, 2007]. Insgesamt sind sechs Subtypen des EDS beschrieben. Das autosomal dominant erbliche Ehlers-Danlos Syndrom IV - auch vaskuläres EDS oder Sack-Barabas Syndrom genannt - beruht auf einer Störung der Pro-Kollagen III Synthese. Die Inzidenz dieses Subtyps wird mit einer auf 100000 bis zu 200000 Geburten angegeben [Lawrence, 2005]. Kollagen III ist überwiegend in Gefäßwänden und der Wand von intestinalen Organen zu finden. Im Gegensatz zum klassischen EDS zeigen die Betroffenen nicht die typischen Anzeichen einer pathologisch erhöhten Gelenkbeweglichkeit oder Hautelastizität. Das vaskuläre EDS manifestiert sich in spontanen Rupturen der mittleren und großen Arterien sowie des Intestinums [Pepin et al., 2000]. Die führende Ursache vaskulärer Komplikationen liegt in der Dissektion oder Bildung eines dissezierenden Aneurysmas. Echte Aneurysmen ohne akute Komplikation finden sich in etwa 14 Prozent der Untersuchten [Oderich et al., 2005].

Bis zu einem Fünftel der Patienten, die einer Operation eines AAA oder einer akuten Aortendissektion zugeführt werden, zeigen eine familiäre Häufung von AAA und Aortendissektionen außerhalb eines bekannten genetischen Syndroms [Biddinger et al., 1997; Coady et al., 1999; Pannu et al., 2005b].

Das Loeys-Dietz Aortenaneurysma Syndrom führt ähnlich wie das Marfan und Ehlers-Danlos Syndrom zur frühzeitigen Ausbildung von AAA [Loeys et al., 2005]. Klinisch finden sich weitere Manifestationen mit Kraniosynostosen, Gaumenspalte, Uvula bifida, arterieller Hypertonie, mentaler Retardierung und distal gelegenen Aortenaneurysmen.

Mit dem Marfan Syndrom vergleichbare Manifestationen zeigt die kongenitale kontrakte Arachnodaktylie [Guo et al., 2001]. Auch in dieser Gruppe von Betroffenen kommt es zu Erweiterung der proximalen Aorta. Diese scheinen nicht zu Dissektionen zu neigen.

Unter den Patienten mit einer autosomal dominanten polyzystischen Nierenerkrankung sind AAA als nebenbefundliche Pathologie beschrieben [Hasham et al., 2002].

Eine bikuspidale Aortenklappe ist mit einer vermehrten Bildung von AAA vergesellschaftet [Keane et al., 2000]. Bei der bikuspidalen Aortenklappe handelt sich um eine häufige angeborene Anomalie, die bei etwa ein bis zwei Prozent der Bevölkerung mit einer Bevorzugung des männlichen Geschlechts von zwei zu eins auftritt [Davies et al., 2007]. Eine Dilatation der Aorta findet sich bei etwa 10 bis 12 Prozent der Patienten [Bonderman et al., 1999]. Es konnte eine Mutation isoliert werden, die mit einer vermehrten Ausbildung einer bikuspidalen Aortenklappe und AAA einhergeht [McKellar et al., 2007]. Es ist jedoch auch eine Konstellation mit trikuspidaler, intakter Aortenklappe und AAA beschrieben, so dass letztlich wie bei dem familiären Aortenaneurysmen von einer genetisch determinierten Erkrankung mit variabler Penetranz auszugehen ist [Silberbach, 2009]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass der alleinige Ersatz einer bikuspidalen Aortenklappe nicht vor einer weiteren Dilatation der Aorta schützt [Aggolino et al., 2006; Ando et al., 1998].

Das Turner Syndrom wird durch ein teilweise oder gänzlich fehlendes zweites X-Chromosom ausgelöst und betrifft eine pro 2000 Geburten [Bondy, 2008]. Betroffene haben ein erhöhtes Risiko eine Aorta ascendens Dissektion oder ein AAA zu entwickeln [Gravholt et al., 2006]. Die exakte Inzidenz eines AAA ist schwierig zu ermitteln, da ein

typisches klinisches Erscheinungsbild des Turner Syndroms die geringe körperliche Größe darstellt und somit nur eine eingeschränkte Vergleichbarkeit mit einer Normalpopulation besteht [Lanzarini et al., 2007; Lopez et al., 2008].

Mindestens 16 Gen Loci für familiäre thorakale Aortenaneurysmen wurden identifiziert [Baxter, 2005; He et al., 2008; Pannu et al., 2005a; Vaughan et al., 2001]. Allen diesen seltenen familiären Formen ist ein autosomal dominanter Erbgang mit verminderter Penetranz gemein; eine Vorhersage von Genotyp zu Phänotyp ist kaum möglich [Hasham et al., 2002]. Bei Betroffenen in dieser Gruppe der familiären Aortenaneurysmen wird durchschnittlich mit 56,8 Jahren die Diagnose gestellt; bei sporadischen Aneurysmen mit 64,3 Jahren und im Rahmen des Marfan Syndroms mit 24,8 Jahren [El-Hamamsy und Yacoub, 2009].

Die erblichen Syndrome zeigen jeweils eine TGF-beta Signalopathie als gemeinsame Grundlage der Aneurysmabildung beziehungsweise der Ausbildung des spezifischen Phänotypes [He et al., 2008]. Die extrazelluläre Matrix verändert sich wodurch die Homöostase der glatten Muskelzelle angegriffen wird. Die gemeinsame Endstrecke der familiären Aneurysmaformation stellt die Dedifferenzierung der glatten Muskelzellen der Gefäßwand dar. Histologisches Korrelat dieser Veränderungen ist die bereits von Erdheim 1930 beschriebene zystische Medianekrose [Erdheim, 1930]. Kennzeichnend kommt eine verminderte Anzahl an elastischen Fasern, Verlust an glatten Muskelzellen und vermehrte Ablagerung von Proteoglykanen zur Darstellung. Diese Veränderungen finden sich sowohl bei den sporadischen als auch bei den erblichen Formen - hier jedoch bereits in deutlich jüngerem Alter der Betroffenen.

Eine traumatische Genese von Aortenaneurysmen wurde überwiegend im Bereich der Aorta descendens im Bereich des Ligamentum arteriosum beschrieben, ist aber auch im Bereich der Aorta ascendens möglich [Mimasaka et al., 2003].

Mykotische Aneurysmen bezeichnen eine infektiöse Genese. Vier Wege der Infektion wurden beschrieben: Direktes Trauma mit Kontamination, lokale Ausbreitung eines infektiösen Fokus per continuitatem, septische Mikroembolien im Bereich von Bifurkationen kleiner Gefäße oder der Vasa vasorum, hämatogene Aussaat eines septischen Fokus [Murphy et al., 1996; Pacini, 2003]. In der präantibiotischen Ära war

das syphilitische Aneurysma eine relativ häufige Entität. Etwa 50 Prozent dieser Aneurysmen entstanden im Bereich der Aorta ascendens. Weiterhin sind mykotische AAA in Folge eines kardiochirurgischen Eingriffes beschrieben [Prech et al., 2000].

Die Arteriitis im Rahmen eines systemischen Lupus erythematodes wurde als möglicher Auslöser eines schnell wachsenden AAA bzw. einer akuten Aortendissektion beschrieben [Choi et al., 1999].

1.1.3 Symptomatik

Drei Viertel der TAA sind zum Zeitpunkt der Diagnosestellung asymptomatisch und werden als Zufallsbefunde entdeckt [Akin et al., 2009; Isselbacher, 2005].

Ein symptomatisches AAA kann durch verschiedene Symptome in Erscheinung treten. Leitsymptom der TAA ist der dumpfe paravertebrale Schmerz. Durch eine relative Aortenklappeninsuffizienz kann es zu Symptomen einer chronischen valvulären Herzinsuffizienz kommen. Bei Verlegung der Koronararterien zum Beispiel durch eine Stanford A Dissektion zeigen sich Symptome einer akuten oder chronischen Myokardischämie. Durch zunehmende Größe eines AAA entstehen durch Kompression Beeinträchtigungen der Vena cava superior, der Vagusnerven und des Nervus laryngeus recurrens der rechten Seite mit konsekutiver Heiserkeit. Eine Kompression des Tracheobronchialbaumes oder des Ösophagus führt zu einer rezidivierenden obstruktiven Pneumonie oder Dysphagie [Heider et al., 2007]. Durch die Arrosion von knöchernen Strukturen kann es zu chronischen Schmerzen in Brust und Rücken kommen. Die schwerwiegendste Komplikation eines AAA sind Dissektion und Ruptur; Leitsymptome bestehen aus Vernichtungsschmerz mit Hypotonie und Tachykardie. Weniger als die Hälfte der Betroffenen erreichen das Krankenhaus lebend. Die Mortalität einer notfallmäßigen chirurgischen Therapie liegt bei 57 Prozent und höher [Ince und Nienaber 2007; Davies et al., 2002].

1.1.4 Diagnostik

Da etwa 75 Prozent der TAA zunächst asymptomatisch verlaufen, fallen diese als Zufallsbefunde bei radiologischen Untersuchungen aus anderer Indikation auf [Heider et al., 2007].

Im Rahmen der weiteren elektiven Abklärung werden in der Regel Schnittbildverfahren wie der Ultraschall (US), die Computertomographie (CT) oder die Magnetresonanztomographie (MRT) jeweils gegebenenfalls mit Angiographie herangezogen. Aufgrund der breiten Verfügbarkeit dieser Methoden hat die konventionelle Angiographie weitgehend an diagnostischer Bedeutung verloren [Kapustin und Litt, 2005].

US wie die transthorakale (TTE) und transösophageale (TEE) Echokardiographie bieten die Möglichkeit einer einfachen, mobilen und funktionellen Beurteilung der Aorta ascendens und Aorta descendens. Vorteile sind die breite Verfügbarkeit und die strahlungsfreie Anwendung sowie der mögliche Verzicht auf eine Kontrastmittelgabe. Einschränkungen ergeben sich durch die Untersucherabhängigkeit der Verfahren, die eingeschränkte Aussagekraft im Bereich des Aortenbogens und durch die Invasivität der TEE.

Die CT-Angiographie oder die kontrastmittelverstärkte CT sind die am häufigsten verwendeten Untersuchungen im Rahmen der elektiven und notfallmäßigen Diagnostik. Sie verbindet Untersucherunabhängigkeit und eine breite Verfügbarkeit. Im Kombination mit einer EKG-Abgleichung können artefaktarme Bilder erstellt werden; durch eine dreidimensionale Darstellung der kompletten Aorta können weitere vaskuläre und nicht-vaskuläre Pathologien erfasst werden [Böckler et al., 2007]. Ein weiterer Vorteil der CT besteht in der schnellen Durchführbarkeit, die auch die Untersuchung instabiler Patienten ermöglicht. Als Nachteile sind die Röntgenstrahlung, die fehlende Mobilität sowie die Applikation von Kontrastmittel zu nennen.

Die MRT kann ebenso wie die CT untersucherunabhängige, dreidimensionale Bilder der gesamten Aorta erzeugen. Vorteile der MRT bestehen in der strahlungsfreien Untersuchung sowie der mögliche Verzicht auf jodhaltiges Kontrastmittel. Nachteile sind die weniger breite Verfügbarkeit im Vergleich zur CT und die längere Dauer der Untersuchung. Aufgrund der räumlichen Gegebenheiten eines MRT ist die Überwachung instabiler Patienten schwierig. Patienten mit Herzschrittmacher, implantiertem Defibrillator und metallischen Prothesen sind von der Untersuchung generell ausgeschlossen.

1.1.5 Therapie

Die Therapie der AAA ist fast ausschließlich in der chirurgischen Domäne. Bei AAA mit gleichzeitiger Aortenklappeninsuffizienz erfolgt eine Resektion mit gleichzeitigen Klappenersatz nach Bentall oder in klappenerhaltender Technik nach Yacoub oder David [David, 2010; Gott et al., 1999; Yacoub et al., 1998]. Bei AAA ohne Aortenklappeninsuffizienz besteht die Indikation zum alleinigen Ersatz der Aorta ascendens. Ziel ist es das AAA operativ zu entfernen bevor es zu lebensbedrohlichen Komplikationen wie Ruptur oder Dissektion kommen kann. Dabei konnte eine größenassoziertes Risiko von verschiedenen Komplikationen gezeigt werden [Elefteriades, 2005]. Die Indikation zur Resektion wird in der herzchirurgischen Klinik der Universität Bonn bei allen symptomatischen Aneurysmen gestellt. Darüber hinaus bei sporadischen Fällen in einem Größenbereich des maximalen Durchmessers von 5,0 cm. Im Rahmen von familiären Formen wie dem Marfan Syndrom liegt die Schwelle bei 4,5 - 5 cm, da hier schon bei deutlich geringeren Größen eine erhöhte Komplikationsgefahr besteht.

Bei rascher Größenzunahme wird unabhängig des maximalen Durchmessers oder Symptomen eine elektive Resektion empfohlen.

Eine endovaskuläre Therapie ist im Bereich der infrarenalen Aorta sowie der Aorta descendens etabliert. Im Bereich der Aorta ascendens ist diese Therapieoption als Ultima ratio im Rahmen einer akuten Dissektion oder Ruptur und infauster Prognose im Bezug auf eine operative Therapie anzusehen [Leurs et al., 2004].

Die medikamentöse Therapie dient zur Ausschaltung von Risikofaktoren und kann allenfalls das Aneurysmawachstum verlangsamen. Außerdem kommt die medikamentöse Therapie im Rahmen einer chronischen Dissektion vom Typ Stanford B zum Einsatz und kann mit einem endovaskulären Stent kombiniert werden [Nienaber und Eagle, 2003b].

1.2 Vaskuläre Inflammation (Atherosklerose)

Die Atherosklerose ist eine diffuse progressive Erkrankung der Arterien. Es handelt sich um eine asymmetrische Verdickung der Gefäßwand, die sich variabel im gesamten arteriellen Gefäßgebiet abhängig von regionalen Unterschieden im Blutflussverhalten manifestiert.

Die kardiovaskulären Erkrankungen auf dem Boden der Atherosklerose sind die häufigste Todesursache in Deutschland. Koronare Herzkrankheit und Schlaganfall als typische Vertreter machen unter 70 Jahren den größten Anteil der Todesursachen aus [Gesundheitsberichterstattung des Bundes, 2006].

Das Auftreten der Atherosklerose wird durch bestimmte Risikofaktoren begünstigt. Diese Risikofaktoren sind Alter, familiäre Disposition, erhöhte Blutfettspiegel, Nikotinkonsum, erhöhter systolischer und diastolischer Blutdruck, Diabetes mellitus und Übergewicht [Smith et al., 2004]. Darüber hinaus konnten weitere Marker eines erhöhten Risikos identifiziert werden. Lipoprotein (a), Apolipoprotein A-1, apo B-100, high-sensitivity CRP (hs-CRP), Fibrinogen und Homozystein können zur weiteren Risikoeinschätzung bestimmt werden. Weitere genetische Risikofaktoren sind in Anbetracht der familiären Häufung zu postulieren.

Die vaskuläre Inflammation wie unter anderem von Libby und Hansson beschrieben stellt die zelluläre Grundlage der Atherosklerose dar [Hansson, 2005; Hansson, 2009; Libby, 2002; Libby et al., 2002; Libby, 2003].

Durch erhöhte Plasmaspiegel von Low Density Lipoproteinen (LDL) werden diese in die extrazelluläre Matrix der Arterien eingelagert und dort modifiziert. Diese Einlagerung geschieht vorwiegend an Orten eines turbulenten Blutstromes mit vermehrter Ausbildung axialer Scherkräfte. Die daraufhin freigesetzten Phospholipide führen zu einer Endotheldysfunktion. Zirkulierende Monozyten können über das vaskuläre Zell-Adhäsionsmolekül 1 (VCAM-1) an das Endothel binden. Die Migration der Monozyten in die Gefäßwand wird durch ein Konzentrationsgefälle von Chemokinen wie zum Beispiel das Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) bewerkstelligt. Dies geschieht durch die Diapedese. In Anwesenheit des Makrophagen Kolonie stimulierenden Faktors (M-CSF) differenzieren sich die Monozyten zu Makrophagen, die dann Scavenger

Rezeptoren sowie Toll-like Rezeptoren ausbilden. Über die Scavenger Rezeptoren sind die Makrophagen in der Lage die aktivierenden LDL Fragmente aufzunehmen. Diese mit LDL Fragmenten gefüllten Makrophagen bezeichnet man als Schaumzellen. Über die Toll-like Rezeptoren werden weitere pro-inflammatorische Kaskaden eingeleitet. Die Makrophagen sezernieren verschiedene Zytokine, zytotoxische Sauerstoff- und Stickstoffradikale sowie Proteinasen. Ähnliche Effekte finden in den gleichzeitig anwesenden dendritischen Zellen, Mastzellen und Endothelzellen statt. Zirkulierende T-Zellen gelangen ebenso über Adhäsionsmoleküle in die Gefäßwand und verstärken nach Differenzierung zu aktivierten T-Zellen (Th1) die inflammatorische Signalkaskade ihrerseits durch sezernierte Zytokine wie Interferon gamma und Tumor Nekrose Faktor α . Gleichzeitig bilden sich regulatorische T Zellen (Th2) aus, die über inhibitorische Zytokine versuchen die pro-atherosklerotischen Abläufe aufzuhalten. Diese parallel ablaufenden Signalkaskaden führen letztlich zur Intimafibrose und Ablagerung einer dichten extrazellulären Matrix durch die vermehrten glatten Muskelzellen [Faxon et al., 2004].

Eine Genese der Atherosklerose im Rahmen einer Infektion mit Chlamydia pneumonia, Helicobacter pylori, Herpes simplex und Zytomegalieviren wurde wiederholt diskutiert; insgesamt stellt dies jedoch eher einen zusätzlichen Stimulus als einen auslösenden Faktor dar [Faxon et al., 2004; Hansson, 2005].

Zu Beginn der Atherosklerose bildet sich durch die Schaumzellen eine „fatty streak“ Läsion aus. Im Rahmen des fibrösen Umbaus der Läsion durch in die Neointima migrierenden und sich vermehrenden glatten Muskelzellen stellt sich zunehmend eine „fibrofatty streak“ Läsion dar. Im Laufe von Jahren kommt es zunächst durch die kontinuierlich schwelende Entzündung zu einem nach außen gerichteten Wachstum der Läsion, so dass das Lumen konstant bleibt [Tiong und Brieger, 2005]. Diese Kompensation versagt jedoch mit Größenzunahme des atherosklerotischen Plaques. Von aktivierten Makrophagen sezernierte Mediatoren wie die Matrix Metalloproteinasen (MMP) und Zystein-Proteinasen sind in der Lage die fibröse Kappe der atherosklerotischen Läsion aufzuweichen, so dass es zur Plaqueruptur kommt. Der Kontakt des hoch thrombogenen Materials der atherosklerotischen Plaques mit den Gerinnungsfaktoren des zirkulierenden Blutes induziert die Ausbildung eines akut obliterierenden Thrombus. Dieser Ablauf ist typisch für das nicht kontinuierliche

Wachstum eines Plaques und eine Vielzahl der akuten Myokardischämien [Zernecke und Weber, 2005].

Eine weitere Ursache für das schrittweise Wachstum wird in der intramuralen Blutung aus fragilen neu gebildeten Gefäßen innerhalb des Plaques gesehen und dem folgenden Um- und Abbau des intramuralen Hämatoms [Tiong und Brieger, 2005].

1.3 Koronare Herzkrankheit und aortokoronarer Bypass

1.3.1 Definition der koronaren Herzkrankheit

Die koronare Herzkrankheit (KHK) ist ein Sammelbegriff für die akute und chronische Myokardischämie, die durch eine Veränderung der Koronararterien hervorgerufen wird. Derartige Veränderungen entstehen überwiegend auf dem Boden einer Atherosklerose der Koronararterien [Schoenenberger und Erne, 2009].

Angina pectoris (AP) bezeichnet die klinische Manifestation der akut verminderten Myokarddurchblutung oder des akuten Verschlusses einer Koronararterie.

Ein akutes Koronarsyndrom bezeichnet einen Zustand, während dem eine bestehende KHK lebensbedrohlich wird. Die geschieht im Rahmen eines akuten Myokardinfarktes oder einer instabilen AP. Letztere kann als Zeichen einer akut verminderten Durchblutung mit subtotaler Okklusion einer Koronararterie gewertet werden.

Die instabile AP ist definiert als erstmalig aufgetretene AP oder Änderung von Häufigkeit, Intensität oder Dauer einer bekannten AP.

Ein veränderter Stromlinienverlauf im EKG, eine Wandbewegungsstörung in der Echokardiographie oder eine pathologische Erhöhung der laborchemischen Herzmuskelenzyme wie zum Beispiel des Troponins sind Diagnosekriterien einer Myokardischämie [Schoenenberger und Erne, 2009].

1.3.2 Epidemiologie der koronaren Herzkrankheit

Die genaue Prävalenz der KHK ist unklar. In einer US-amerikanischen Untersuchung fanden sich 2006 fast 13 Millionen Betroffene [Callow, 2006]. Nahezu 40 Prozent der Todesfälle der gleichen Untersuchung waren durch eine kardiovaskuläre Erkrankung

bedingt und hierunter über 53 Prozent allein durch die KHK [Callow, 2006]. In einer weiteren Studie zeigte sich eine im Alter zunehmende Prävalenz. Liegt die Prävalenz der 40- bis 59-Jährigen bei Männern um 7,8 Prozent bzw. bei Frauen um 5,5 Prozent steigt sie für die über 80-Jährigen auf 32,7 Prozent (Männer) bzw. 21,6 Prozent (Frauen) [Schoenenberger und Erne, 2009].

16 Prozent der Todesfälle in Deutschland im Jahr 2007 sind auf einen akute oder chronische KHK zurückzuführen, wobei in dieser Statistik die Todesfälle durch eine KHK-bedingte Herzinsuffizienz nicht eingeschlossen waren. In Deutschland ereigneten sich im Jahr 2006 pro 100.000 Einwohner 253 akute Myokardischämien. Diese Inzidenz ist jedoch mit einer Dunkelziffer von bis zu 30 Prozent behaftet, da ein Teil der Myokardischämien stumm oder primär letal verlaufen [Schoenenberger und Erne, 2009].

1.3.3 Ätiologie und Risikofaktoren

Die Entstehung der KHK folgt dem Prinzip der vaskulären Inflammation wie unter 1.2 beschrieben. Eine akute Myokardischämie oder eine instabile AP entsteht häufig auf dem Boden einer Ruptur der fibrösen Kappe eines vulnerablen atherosklerotischen Plaques mit folgender Ausbildung eines Thrombus, welcher das Gefäß komplett oder subtotal verschließt [Libby und Theroux, 2005]. Seltener Ursache ist zum Beispiel ein Vasospasmus, dem eine akute Durchblutungsstörung folgt. Eine relative Myokardischämie kann bei Ausschöpfen der funktionellen Reserve der Koronardurchblutung bei bestehender KHK und neu aufgetretener Anämie, Tachykardie, Hypertonie oder Hypotonie auftreten [Hof und von Eckardstein, 2009].

Bekannte Risikofaktoren der KHK sind die gleichen der Atherosklerose. Männliches Geschlecht, Alter, Nikotinkonsum, erhöhte Blutfettwerte (Triglyzeride, VLDL und LDL), gesteigerte Aufnahme von tierischen Fetten, systolische und diastolische Hypertonie, Übergewicht, körperliche Inaktivität und Diabetes mellitus [Levenson et al., 2002].

1.3.4 Therapie der koronaren Herzkrankheit

Verschiedene Therapieverfahren der chronischen und akuten KHK sind bekannt.

Die perkutane interventionelle und die operative Therapie stellen letztlich rein symptomatische Therapieoptionen dar, die alleine keinerlei Auswirkungen auf die zugrundeliegende Atherosklerose haben. Die medikamentöse Therapie kann neben

symptomatischen Effekten auch einen kausalen Effekt aufweisen. Es konnte gezeigt werden, dass Statine, Angiotensin Converting Enzyme (ACE) - Inhibitoren und Angiotensin II Rezeptor-Blocker - sogenannte Sartane - vulnerable Plaques über entzündungshemmende Wirkungen stabilisieren können [Libby et al., 2002].

Die perkutane transarterielle Koronarangioplastie (PTCA) mit und ohne Stentunterstützung stellt ein etabliertes Therapieverfahren der akuten sowie chronischen KHK mit Beteiligung von einem oder zwei Gefäßen dar. Die Anwendung der konventionellen Bypasschirurgie findet sich nur teilweise im Bereich der akuten und überwiegend im Bereich der chronischen 3-Gefäß-KHK.

Diverse Studien haben versucht die interventionelle mit der konventionellen Bypasschirurgie zu vergleichen und Therapieempfehlungen abzuleiten. Argumente für einen breiten Einsatz der interventionellen Therapie sind eine vergleichbare Symptomfreiheit bei erniedrigter 30 Tage Mortalität im Bezug auf den ACVB [Yang et al., 2007]. Eine niedrigere Rate an wiederholten Revaskularisationsmaßnahmen, eine höhere Rate an kompletter Revaskularisation und eine niedrigere Rate an posttherapeutischen unerwünschten Zwischenfällen (Myokardinfarkt, Tod, Schlaganfall, notwendige erneute Revaskularisation des Zielgefäßes) sprechen für einen Einsatz der AVCB [Taggart, 2007].

1.4 Mediatoren der Inflammation

1.4.1 Zytokine

Der Begriff Zytokin wurde 1974 von Stanley Cohen eingeführt und beschrieb Proteine, die von einer Vielzahl von Zellen sezerniert werden und Wachstum oder Funktion mehrerer Zelltypen beeinflussen. 1989 definierten Balkwill und Burke Zytokine als Sammelbegriff einer Gruppe von Protein-Zell Regulatoren; weiter unterteilt in Lymphokine, Monokine, Interferone und Interleukin. Die Gruppe der Zytokine besteht aus über 50 sezernierten Faktoren der interzellularen Kommunikation. Sie werden in Subklassen eingeteilt: Interleukine, Tumor-Nekrose-Faktoren, Interferone, Kolonie-

stimulierende Faktoren, transformierende Wachstums Faktoren und Chemokine [Tedgui und Mallat, 2006].

Sie rufen verschiedene zelluläre Antworten hervor, die in Abhängigkeit von Zelltyp, Zeitpunkt und Umfeld variieren.

Zytokine agieren untereinander synergistisch und sind in der Lage ihre Wirkung zu vervielfachen.

Die Stimulation kann autokrin, parakrin und juxtakrin erfolgen; Zytokine wirken auf die sie sezernierende Zelle, auf benachbarte Zellen oder direkt über Zellverbindungen.

Zytokin-Rezeptoren sind jeweils aus ähnlichen Untereinheiten aufgebaut und können so von mehreren Zytokinen stimuliert werden.

Interleukine wurden zunächst als Botenstoffe, die Informationen zwischen Leukozyten austauschen, definiert. Diese strenge Definition musste aufgegeben werden als ähnliche Botenstoffe, die unter anderen von Endothel- und glatten Muskelzellen sezerniert werden, gefunden wurden. Die Interleukine weisen ein breites Spektrum von Funktionen für viele weitere Zelltypen auf. Sie beeinflussen die Aktivierung, Differenzierung, Chemotaxis und die Proliferation sowohl stimulierend als auch hemmend.

Das Herbeiführen des Zelltodes galt als zentrale Rolle der Tumor-Nekrose-Faktoren. Mittlerweile werden sie aber als proinflammatorische Moleküle angesehen.

Den Interferonen wurde anfangs eine allgemeine nichtspezifische antivirale Funktion zugesprochen. Es fanden sich zusätzliche zytostatische und immunomodulatorische Eigenschaften der Interferone [Young et al., 2002].

1.4.2 Chemokine

Der Begriff Chemokin ist als Kurzbezeichnung für chemotaktisches Zytokin entstanden und beschreibt eine Gruppe kleiner Heparin-bindender Proteine. Diese lenken die Migration zirkulierender Leukozyten zu Orten einer Infektion oder eines Traumas. Darüber hinaus sind Effekte auf die Angiogenese, Kollagensynthese sowie die Proliferation hämatopoetischer Vorläuferzellen beschrieben [Belperio et al., 2000; Garcia-Ramallo et al., 2002].

Chemokine werden in vier Gruppen eingeteilt; die Einteilung erfolgt nach molekularer Struktur je nach Anzahl und Lokalisation der Cysteingruppen des N-Terminus.

Die CC-Chemokine stellen die größte Untergruppe dar. Sie leiten besonders mononukleäre Zellen zu Orten der chronischen Inflammation. Das bekannteste und am weitesten charakterisierte CC-Chemokin ist das MCP-1 (oder CCL2). MCP-1 lenkt Monozyten, Gedächtnis-T-Zellen und Basophile als potentes Chemotaktikum. Weitere CC-Chemokine sind RANTES (Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted; CCL5), „Macrophage Inflammatory Protein“ 1 α (MIP-1 α ; CCL3) und „Macrophage Inflammatory Protein“ 1 β (MIP-1 β ; CCL4).

CXC-Chemokine finden sich im Rahmen akuter pulmonaler Infektionen und gelten als Lockstoff für polymorphonukleäre Leukozyten. Interleukin-8 (IL-8; CXCL8) gilt als Prototyp der CXC Chemokine [Charo und Taubman, 2004].

In der Subgruppe der CX3C-Chemokine ist das Fraktalkin (FK; CX3CL1) bekannt. Es besteht aus einem löslichen sowie einem transmembranären Anteil, über den es an der sezernierenden Zelle gebunden ist. Im gebundenen Zustand ist FK ein Zelladhäsionsmolekül. Im gelösten Zustand entfaltet es seine Wirkung als starker Lockstoff für Monozyten, T-Zellen und Natürliche Killerzellen [Stievano et al., 2004].

In der Gruppe der C-Chemokine gibt es nur zwei Vertreter; Lymphotactin α (XCL1) und Lymphotactin β (XCL2). Sie leiten T-Vorläuferzellen zum Thymus.

Man kann Chemokine weiter in konstitutive und induzierbare bzw. inflammatorische Chemokine unterteilen. Die konstitutiven Chemokine regulieren den „normalen“ Leukozytenverkehr wogegen die induzierbaren Chemokine Leukozyten als immunologische Antwort des Organismus lenken [Locati et al., 2002]. Der normale Leukozytenverkehr beschreibt zum Beispiel die Reifung von Leukozyten in lymphoiden Geweben. Konstitutionelle Chemokine sind zum Beispiel HCC-1 (CCL14), HCC-2 (CCL15) und HCC-4 (CCL16). Zu den induzierbaren Chemokinen zählen neben MCP-1, MIP-1 β und RANTES.

In Neoplasien wurde eine konstitutive Expression induzierbarer Chemokine beobachtet. Werden diese Chemokine in die Zirkulation freigegeben, ist eine Desensitivierung der zirkulierenden Leukozyten möglich. Chemokine können weiterhin ein direkter Wachstumsstimulus für Neoplasien sein und der Neoplasie über Chemokingradienten zu einer gerichteten Invasion verhelfen [Locati et al., 2002].

Die Ausstattung verschiedener Zellen mit unterschiedlichen Chemokinrezeptoren erlaubt sehr differenzierte Antworten sowohl im Bezug auf die Art als auch auf den Ort der

Reaktion. Zirkulierende dendritische Zellen verfügen ebenfalls über Chemokinrezeptoren, so dass diese durch Chemotaxis geleitet werden können. Werden diese dann zu ortsständigen dendritischen Zellen wechselt die Rezeptorausstattung um auf andere Chemokine reagieren zu können. Über einen lokalen Infekt hinaus stimulieren Chemokine das Eintreten von Monozyten aus dem Knochenmark in das zirkulierende Blut [Rollins, 2006].

Den Chemokinen gemein ist die Entfaltung des Effektes über einen G-Protein gekoppelten Rezeptor mit sieben transmembranären Domänen [Locati et al., 2002]. Über die folgende Signalkaskade werden die Phosphatidylinositol - 3 - Kinase aktiviert und somit die intrazelluläre Konzentration an Inositoltriphosphat erhöht. Die Synthese der Chemokine erfolgt zum Teil in den Leukozyten selbst, zum Teil jedoch auch in ortsansässigen Zellen wie Fibroblasten, glatten Muskelzellen und Endothelzellen.

Gerade zu Beginn einer proinflammatorischen Antwort produzieren diese ortsansässigen Zellen stimuliert durch proinflammatorische Zytokine den Großteil der Chemokine. Weiterhin gestalten diese Zellen durch eine eigene Reaktion auf Chemokine die inflammatorische Antwort mit und sind damit nicht nur Produzent, sondern gleichzeitig auch Effektorzelle [Stievano et al., 2004].

1.5 Einfluss von MCP-1 auf Monozyten und Makrophagen

Das MCP-1 oder CC-Chemokinligand 2 (CCL2) gehört zur Gruppe der CC-Chemokine und ist das am längsten bekannte Chemokin.

MCP-1 wird von einer Vielzahl von Zellen gebildet, wie Endothelzellen, Fibroblasten, Epithelzellen, glatten Muskelzellen, Mesangiumzellen, Astrozyten, Mikroglia und Monozyten. Monozyten und Makrophagen stellen den größten Teil des MCP-1 im menschlichen Organismus her. MCP-1 besitzt eine zentrale Rolle in der Migration und Infiltration von Monozyten, Gedächtnis-T-Zellen und NK-Zellen.

Man unterscheidet die konstitutive Sekretion von der induzierbaren bzw. inflammatorischen Sekretion. Erstere regelt die natürliche Zirkulation eines Teiles der Abwehrzellen; Zweitere führt Abwehrzellen zu Orten eine Infektion oder eines Traumas.

Diese Induktion erfolgt durch verschiedene Stimuli wie zum Beispiel oxidativer Stress, Zytokine oder Wachstumsfaktoren. Auf translationaler Ebene aktivieren zum Beispiel TNF- α , IFN- γ und der PDGF den nukleären Faktor kappa B (NF- κ B), der im Bereich der Promotorregion von MCP-1 zwei Bindungsstellen aufweist. Gehemmt werden kann die Synthese von MCP-1 durch Retinoide, Glukokortikoide und Östrogene [Becker, 2005].

Seine Wirkung entfaltet MCP-1 über seinen Rezeptor CCR2. CCR2 ist ein G-Protein Rezeptor mit sieben transmembranären Domänen. Über die folgende Signalkaskade wird die Phosphatidylinositol - 3 - Kinase aktiviert und durch sie die intrazelluläre Konzentration an Inositoltriphosphat erhöht. Die Kalziumspeicher des endoplasmatischen Retikulums können über eine Kalziumpumpe entleert werden und die intrazelluläre Kalziumkonzentration steigt. Dies ermöglicht den Zellen eine aktive Bewegung, zum Beispiel über eine Neuordnung des Aktins.

Es existieren zwei Isoformen des CCR2, CCR2A und CCR2B [Deshmane et al., 2009]. CCR2A ist der überwiegend auf monozytären Zellen und vaskulären glatten Muskelzellen anzutreffende Rezeptor, wogegen sich auf Monozyten und aktivierten NK-Zellen häufiger die CCR2B-Isoform findet. Beide Isoformen vermitteln Chemotaxis. Durch Aktivierung des CCR2A erfolgt jedoch keine Kalziumionen-Mobilisierung im Gegenteil zur CCR2B Aktivierung [Deshmane et al., 2009].

MCP-1 - wie nahezu alle Chemokine - bindet nicht ausschließlich an einen Rezeptor, sondern kann auch an andere Chemokinrezeptoren binden. Dies macht eine Übertragung der in-vitro Ergebnisse in eine klinische Anwendung extrem schwierig. Gelangt ein Monozyt im Rahmen der Chemotaxis an seine Destination, bewegt er sich durch Veränderung seiner Form zunächst aus dem zentralen Blutstrom an die Gefäßwand. Dort kommt es nach einer Rollbewegung zur Adhäsion mit der Gefäßwand über induzierte Adhäsionsmoleküle (VCAM). Entlang des Konzentrationsgefälles der Chemokine tritt der Monozyt mittels Diapedese zwischen den Zellen durch die Gefäßwand. Dort induziertes M-CSF führt zur Ausreifung der Monozyten zu Makrophagen.

Über seine chemotaktische Wirkung kann MCP-1 im Rahmen von Autoimmunkrankheiten durch die Makrophageninfiltration zur eigentlichen Krankheitsmanifestation führen [Melgarejo et al., 2008]. Bei Tumorerkrankungen verstärkt die Makrophageninvasion indirekt über die Neoangiogenese weiteres

Tumorwachstum. MCP-1 gilt als potenzielles Ziel in der Behandlung der Multiplen Sklerose, Rheumatoider Arthritis, Atherosklerose und Insulin-resistentem Diabetes mellitus [Deshmane et al., 2009].

Neben der Chemotaxis übt MCP-1 weitere Effekte auf Makrophagen und Monozyten aus. So wird die Synthese proinflammatorischer Zytokine wie IL-6 und IL-1 β stimuliert. Über die resultierende endogene Ausschüttung von TGF- β und MMP aus aktivierten Fibroblasten erfolgt eine Aktivierung der Kollagensynthese [Becker, 2005].

1.6 Hypothese

Es wurde postuliert, dass im Vergleich zu nicht aneurysmatisch veränderter Aorta der Patienten mit ACVB-Operation ein Aneurysma der Aorta ascendens mit einer stärkeren lokalen Entzündungsreaktion einhergeht und dass hierbei Chemokine exprimiert werden.

2. Material und Methoden

Zur Untersuchung der Hypothese wurden Gewebeproben der Aorta ascendens von 31 Patienten mit einem AAA verwendet. Die Kontrollgruppe besteht aus Gewebeproben (Aortenstanzen) von 75 Patienten, die sich einer aortokoronaren Bypassoperation unterzogen. Bei diesen Bypasspatienten handelt es sich bei fast 80 Prozent um eine Drei- und Mehr-Gefäß-KHK. Nur durch diese Einschränkung war eine ausreichende Gewebemenge zu erhalten.

2.1 Patientendaten

2.1.1 Versuchsgruppe

In der Versuchsgruppe wurden die Daten von 31 Patienten, die sich einer Aneurysmaoperation der Aorta ascendens unterzogen, aufgenommen. Sämtliche Patienten wurden in der Abteilung für Herzchirurgie der Universitätsklinik Bonn zwischen Januar 2004 und Juli 2006 operiert. Bei bestehender Indikation wurden Klappenvitien oder eine koronare Herzkrankheit einzeitig versorgt. Die Patienten wurden postoperativ auf der kardiochirurgischen Intensivstation der Klinik betreut.

2.1.2 Kontrollgruppe

Insgesamt 75 Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit wurden in die Kontrollgruppe eingeschlossen. 15 Proben wurden zur RNA-Analyse aufbereitet; 60 Proben zur histologischen Untersuchung verwandt. Bei allen Patienten wurde zwischen Januar 2004 und September 2004 in der Abteilung für Herzchirurgie der Universitätsklinik Bonn eine Bypassoperation durchgeführt. Bei Vorliegen eines therapiebedürftigen Klappenvitiums oder einer anderweitigen kardiochirurgischen Indikation wurde diese einzeitig versorgt. Innerhalb der Kontrollgruppe fiel kein Patient mit einem Aneurysma der Aorta ascendens oder einer Aortenektasie auf. Postoperativ wurden die Patienten auf die kardiochirurgische Intensivstation der Klinik verlegt. Die Patientendaten wurden retrospektiv erfasst.

2.2 Probensammlung und Probenaufbereitung

2.2.1 Probensammlung

Die Probensammlung erfolgte bereits im Operationssaal während der Operation.

Direkt nach der Resektion des Aneurysmas wurden drei bis vier etwa 1,5 x 1,5 cm² große Gewebestücke aus dem Aneurysma nativ in flüssigen Stickstoff verbracht und bis zur weiteren Aufarbeitung bei -80°C im Kühlschrank aufbewahrt.

In der Kontrollgruppe wurden je nach Anzahl der aortokoronaren Venenbypässe mit den entnommenen Aortenstanzen in gleicher Weise verfahren. Die Aortenproben wurden jeweils mit einer in der Bypasschirurgie üblichen Aortenstanze (Teleflex Diamant Aortenstanze, Teleflex Medical Europe Ltd, Garrycastle, Irland) entnommen.

2.2.2 Probenaufbereitung

Die histologischen Proben wurden teilweise im Labor der Klinik für Herzchirurgie der Uniklinik Bonn weiterverarbeitet. Ein Teil der Histologie und die gesamte Molekularbiologie wurde verarbeitet und analysiert durch die Kollegen der Section of Cardiovascular Sciences am Baylor College of Medicine in Houston, Texas, USA.

2.3 Histopathologische Untersuchungen

2.3.1 Paraffineinbettung und Schneiden der Gewebeproben

Die nicht für die RNA-Isolation vorgesehenen Aorta ascendens Proben wurden in 3,7 %-igem Zink-Formalin (Z-fix, Anatech, LTD, Battle Creek, MI, USA) fixiert und bis zur endgültigen Paraffineinbettung in 75 %-igem Ethanol gelagert.

Die auf diese Weise vorbereiteten Präparate wurden maschinell entwässert und mit Paraffin imprägniert (Citadel 2000, Thermo Shandon Inc., Pittsburgh, PA, USA). Die Einbettung erfolgte gesondert ebenfalls maschinell (AP 280-1, Microm GmbH, Walldorf, D). Aus den Gewebelöcken wurden mit einem Mikrotom (HM 310, Microm)

einzelne Schnitte angelegt und diese auf Objektträgern zur weiteren Färbung aufgebracht.

2.3.2 Färbeprotokolle

Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung erfolgt nach der regressiven Methode nach Carson. Zellkerne erscheinen wegen der sauren DNA blau, die basischen Zellplasmaproteine färben sich rot.

1. Entparaffinieren für dreimal drei Minuten in Dimethylbenzol
2. Rehydrierung in einer absteigenden Ethanolreihe (100 %, 95 %, 75 %; je fünf Minuten)
3. Spülen durch 15-maliges Schwenken in deionisiertem Wasser (di-H₂O)
4. Färbung mit Hämatoxylin für zwei Minuten (Sigma, St. Louis, MO, USA)
5. Eosin-Gegenfärbung (Roth, Karlsruhe, Deutschland) und Dehydrierung mit
 - 5.1. 15mal Schwenken in 95 % Ethanol,
 - 5.2. einmal Salzsäure-Ethanol Gemisch (1 % HCl in 70 % Ethanol),
 - 5.3. 15mal di-H₂O,
 - 5.4. 15mal 0,25 % Ammoniumhydroxid
 - 5.5. 15mal di-H₂O,
 - 5.6. 15mal Eosin (Roth, Karlsruhe, Deutschland)
 - 5.7. 15mal in 95 % Ethanol (zweimal),
 - 5.8. 15mal in 100 % Ethanol (dreimal),
 - 5.9. 15mal in XX% Dimethylbenzol-Lösung (Xylene, 3M Science)
6. Aufkleben des Deckglases (Micro Cover glas, VWR Scientific, West Chester, PA, USA) mit Klebstoff auf Dimethylbenzolbasis (Cytoseal XYL, Richard Allen Scientific, Kalmazoo, MI, USA),
7. Trocknen des Klebstoffes für mindestens 2 Stunden.

Elastika-van-Gieson-Färbung

In der Elastika-van-Gieson-Färbung zeigen sich elastische Fasern schwarzblau bis blau und Kollagenfasern rot. Zellkerne erscheinen Schwarzblau und Muskeln gelb.

Die Elastin und Eisenchlorid Gebrauchslösung werden jeweils frisch angesetzt (sämtliche Materialien im Testkit HT 25-A; Sigma).

- Elastin Gebrauchslösung:

Hämatoxylin alkalisch	26 ml
Eisenchlorid Lösung	3,9 ml
Weigert´s Jodin	10,4 ml
di-H ₂ O	6,5 ml

- Eisenchlorid Gebrauchslösung:

Eisenchlorid Lösung	3,9 ml
di-H ₂ O	48,1 ml

Ablauf der Färbung:

1. Entparaffinieren der Präparate in Xylol (Roth) für dreimal fünf Minuten
2. Rehydrierung in einer absteigenden Ethanolreihe (100 %, 90 %, 70 %; je fünf Minuten)
3. Spülung mit di-H₂O für eine Minute
4. Färbung in Elastin Gebrauchslösung für zehn Minuten
5. Spülung mit di-H₂O für eine Minute
6. Differenzieren in Eisenchlorid Gebrauchslösung durch dreimaliges Eintauchen
7. Spülung mit di-H₂O für eine Minute
8. Spülung mit 96 % Isopropanol (VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) für eine Minute
9. Färbung in van-Gieson-Lösung (im Testkit) für drei Minuten
10. Spülung mit 96 % Isopropanol (VWR) für zwei Minuten
11. Dehydrieren in 100 % Ethanol für zweimal drei Minuten
12. Klären in Xylol (Roth) für dreimal fünf Minuten
13. Eindeckeln mit Entellan (VWR)

Sirius-Rot-Färbung

In der Sirius-Rot-Färbung erscheint Kollagen rot gefärbt; übriges Gewebe wird gelb gefärbt. Sirius-Rot ist ein stark anionischer Farbstoff; die basischen Gruppen der Kollagenmoleküle binden an die Sulfonsäure-Gruppen des Farbstoffes [Junqueira et al., 1979].

Ablauf der Färbung:

1. Deparaffinieren und Rehydrieren der Präparate erfolgt analog zur Hämatoxylin-Eosin-Färbung
2. Färbung für 10 Minuten in 0,1 % Sirius-Rot (0,1 g direct red 80 (Aldrich Chemical Company, USA) auf 100 ml 100 % Pirkinsäure (Sigma))
3. 15 mal Schwenken in di-H₂O,
4. 15 mal Schwenken in 70 %, 95 % und 100 % Ethanol
5. 15 mal Schwenken in Dimethylbenzol
6. Deckglasbeschichtung und Trocknung analog zur Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Mac387

Mac387 ist ein monoklonaler Antikörper, der an Zellen der Monozyten- und Makrophagenlinie bindet. Im Gegensatz zu anderen Antikörpern ist das Epitop des Mac387 formalinstabil, so dass eine Färbung formalinfixierter Präparate möglich ist [Goebeler et al., 1994; Flavell et al., 1987].

Frangogiannis et al. konnten zeigen, dass Mac387 spezifisch an frisch in Gewebe eingewanderte Leukozyten bindet [Frangogiannis et al., 2002a].

Ablauf der Färbung:

1. Deparaffinieren der Präparate dreimal für sieben Minuten in Xylol (Roth)
2. Rehydrieren der Präparate zweimal fünf Minuten in 98 % Isopropanol (VWR), je einmal fünf Minuten in 90 % und 70 % Isopropanol, 15mal Schwenken in di-H₂O

3. Auswaschen der Präparate für fünf Minuten in di-H₂O
4. Umranden der zu untersuchenden Areale mit einem Fettstift
5. Inkubation in 3 % Wasserstoffperoxid für 15 Minuten
6. Auswaschen in Phosphat-gepufferter NaCl-Lösung, pH 7,60 (PBS) für zweimal fünf Minuten
7. Inkubation für 30 Minuten mit IgG-Block Lösung (Background reducing Serumblock, DAKO diagnostica GmbH, Hamburg, Deutschland)
8. Verdünnung des Mac387 Antikörpers (NatuTec Systeme GmbH, Frankfurt, Deutschland) 1:200 in Serumblock; Abklopfen der Präparate und Inkubation bei 4°C über Nacht
9. Auswaschen der Präparate in PBS für zweimal fünf Minuten
10. Inkubation mit biotinylierter Link universal (DAKO) für 30 Minuten
11. Auswaschen der Präparate in PBS für zweimal fünf Minuten
12. Inkubation mit Streptivadin (DAKO) für 30 Minuten
13. Auswaschen der Präparate in PBS für zweimal fünf Minuten
14. Diaminobenzidin(DAB)-Färbung für fünf Minuten
15. Auswaschen der Präparate in di-H₂O für fünf Minuten
16. Eosin Gegenfärbung
 - a. zweimal in Eosin eintauchen
 - b. zweimal in di-H₂O eintauchen
 - c. zweimal in 70 % Isopropanol (VWR) eintauchen
 - d. dreimal in 90 % Isopropanol eintauchen
 - e. 15 mal in 98 % Isopropanol eintauchen
 - f. dreimal drei Minuten in Xylol (Roth) eintauchen
17. Eindeckeln mit Entellan (VWR)

CD31 (PECAM-1)

CD31, auch bekannt als PECAM-1 („platelet endothelial cell adhesion molecule“ - 1), ist ein transmembranäres Glykoprotein der Immunoglobulin-Gen-Superfamilie. Die höchste Expression findet sich auf Endothelzellen sowie in geringerem Ausmaß auf Monozyten, Granulozyten und Thrombozyten [Woodfin et al., 2007].

Ablauf der Färbung (Materialien aus Vectastain Elite ABC Rat kit, AXXORA Deutschland GmbH, Lörrach, Deutschland):

1. Deparaffinieren der Präparate dreimal für sieben Minuten in Xylol (Roth)
2. Rehydrieren der Präparate zweimal fünf Minuten in 100 % Isopropanol (VWR), je einmal fünf Minuten in 90 % und 70 % Isopropanol und in di-H₂O
3. Auswaschen der Präparate für fünf Minuten in di-H₂O
4. Demaskieren der Zelloberfläche in vorgewärmten 10 mM Citratpuffer, pH 6,0, bei 500 W für acht Minuten, anschließend mit Objektträgern bei 500 W für 15 Minuten
5. 45 Minuten auskühlen lassen und den Puffer gegen kaltes Wasser austauschen
6. Umranden der zu untersuchenden Areale mit einem Fettstift
7. Inkubation in 3 % Wasserstoffperoxid für 30 Minuten
8. Auswaschen in PBS pH 7,40 für zweimal fünf Minuten
9. Inkubation für 15 Minuten mit IgG-Block Lösung
10. Verdünnung des CD 31 Antikörpers in IgG-Block Lösung auf 1:750; Abklopfen der Präparate und Inkubation bei 4°C über Nacht
11. Auswaschen der Präparate in PBS für fünf Minuten
12. Inkubation mit Biotin IgG (5µl biotinylierter IgG, 1ml IgG-Block Lösung) für 30 Minuten
13. Auswaschen der Präparate in PBS für fünf Minuten
14. Inkubation der Präparate mit Avidin-Biotin-Complex (ABC) Peroxidase Lösung für 30 Minuten
15. Auswaschen der Präparate in PBS für fünf Minuten
16. Diaminobenzidin(DAB)-Färbung für 5 Minuten
17. Auswaschen der Präparate in di-H₂O für fünf Minuten
18. Eosin Gegenfärbung
 - a. für sieben Sekunden in Eosin eintauchen
 - b. fünfmal in di-H₂O eintauchen
 - c. siebenmal in 70 % Isopropanol eintauchen
 - d. siebenmal in 90 % Isopropanol eintauchen
 - e. 15 mal in 98 % Isopropanol eintauchen
 - f. dreimal fünf Minuten in Xylol eintauchen

19. Eindeckeln mit Entellan (VWR)

CD68

CD68 wird auf Gewebemakrophagen sowie auf Monozyten und in geringem Umfang auf weiteren hämatopoetischen Zelllinien exprimiert. Es handelt sich um ein transmembranäres Glykoprotein [Holness und Simmons, 1993].

Der Ablauf der Färbung ist analog zur CD31-Färbung. In Schritt 10. wird der CD68-Antikörper in einer Verdünnung 1:200 zugegeben. Als Gegenfärbung unter 18. werden die Präparate für drei Minuten in Hämatoxylin gefärbt.

Mastzell-Tryptase

Mastzellen spielen als Teil der immunologischen Antwort eine Rolle bei der Abwehr von Pathogenen. Sie können eine Reihe von Mediatoren ausschütten, wie Zytokine, Wachstumsfaktoren, Angiogenesemediatoren und Proteasen. Tryptase ist eine Serin-Protease, die von Mastzellen in Granula gespeichert und sezerniert werden kann [Tsuruda et al., 2008].

Der Ablauf dieser Färbung ist ebenfalls analog zur CD31-Färbung. In Schritt 10. wird der Tryptase Antikörper (Dako) in einer Verdünnung von 1:200 zugefügt.

MCP-1

Ablauf der Färbung (Materialien aus dem Vectastain Elite ABC kit [goat IgG], AXXORA Deutschland GmbH, Lörrach, Deutschland):

1. Deparaffinieren der Präparate dreimal für sieben Minuten in Xylol
2. Rehydrieren der Präparate je zweimal fünf Minuten in 100 % Ethanol und in 95 % Ethanol sowie einmal fünf Minuten in 70 % Ethanol; 15 mal Schwenken in di-H₂O
3. Auswaschen für fünf Minuten in di-H₂O
4. Umranden der Gewebeareale mit Diamantstift und Inkubation 15 Minuten in 3 % Wasserstoffperoxid ("H₂O₂-Block")

5. Auswaschen zweimal zwei Minuten in PBS (pH 7,10)
6. Inkubation mit IgG-Blocklösung (drei Tropfen aus 7,5 ml PBS) für 30 Minuten
7. Ausklopfen der Präparate und Inkubation mit dem 1:250 in IgG-Block verdünntem MCP-1 Antikörper (Santa Cruz Biotech. Inc., Heidelberg, Deutschland) für 2 Stunden bei Raumtemperatur
8. Auswaschen der Präparate für zweimal zwei Minuten in PBS
9. Inkubation mit dem 1:250 in IgG-Block verdünntem Biotin-IgG (Anti-Rat) für 30 Minuten bei Raumtemperatur
10. Auswaschen der Präparate für zweimal zwei Minuten in PBS
11. Inkubation mit ABC-Peroxidase Lösung für 30 Minuten bei Raumtemperatur
12. Auswaschen der Präparate für zweimal zwei Minuten in PBS
13. DAB-Färbung für eine Minute und sofortiges Auswaschen mit di-H₂O für fünf Minuten
14. Eosin Gegenfärbung:
 - a. zweimal in Eosin eintauchen
 - b. zweimal in di-H₂O eintauchen
 - c. zweimal in 70 % Ethanol eintauchen
 - d. je 15 mal in 95 % und in 100 % Ethanol eintauchen
 - e. dreimal drei Minuten in Xylol eintauchen
15. Eindeckeln mit Entellan (VWR)

2.3.3 Quantitative Auswertung der histologischen Präparate

Die nach Elastika-van-Gieson gefärbten Präparate wurde hinsichtlich des Elastingehaltes der Aortenwand quantitativ untersucht. Die Aortenpräparate wurden bei 100- facher Vergrößerung unter dem Mikroskop (Axioskop, Carl Zeiss, Jena, Deutschland) mit der Kamera (Leaf Lumina, Version 1.1, Leaf Systems Inc., Westborough, MA, USA) abfotografiert und mit einer Höhe von 2699 Pixeln und einer Breite von 3380 Pixeln und einer Auflösung von 300 Pixel pro Zoll im Bildverarbeitungsprogramm (Adobe Photoshop 4.0, Adobe Systems, San Jose, Ca, USA) gespeichert.

Die Bestimmung der Ausdehnung erfolgte durch die Zeiss Image Software (Zeiss). Im ersten Schritt wird die Gesamtfläche bestimmt; 1 μm entspricht 4,8448426190 Pixeln. Im

zweiten Schritt erfolgt die Markierung des angefärbten Elastin. Anschließend wird das Bild in eine Maske überführt (Maskenoptionen: Methode Color cube based; Typ: Bilevel new; Skala Class1; Filterbereich 1 bis 200.000) um die Fläche sowie den prozentualen Anteil zu errechnen [Frangogiannis et al., 2002b].

2.4 Molekularbiologische Untersuchungen

2.4.1 RNA - Isolation

In einem 15 ml-Plastikröhrchen (Saersteadt, NC, USA) wurden zu 2ml RNASTAT-60-Lösung (Tel-Test, INC., Friendswood, TX, USA) die Aortenproben aus dem -80°C Kühlschrank gegeben. Der gesamte Inhalt wurde mit einem Gewebshomogenisator (Tissue Tearor Modell 398; Biospec Products, Inc., OK, USA) zerkleinert und homogenisiert. Zur Phasentrennung wurden dem Homogenisat 0,2 ml 99%iges R-Chloroform (Sigma) zugesetzt und dieses nach 15-minütiger Inkubation auf Eis bei 13000 G zentrifugiert (Avanti J-25; Beckman & Coulter, Fullerton, CA, USA). Die wässrige Phase wurde nach Abpipettieren mit 1 ml eiskaltem 99%igem Isopropanol (Sigma) für mindestens eine Stunde auf 4°C inkubiert. Hierdurch kam es zur Ausfällung der mRNA. Nach erneuter Zentrifugation wurde die mRNA mit 2 ml eiskaltem 75%igem Ethanol versetzt und nach abermaliger Zentrifugation für 15 Minuten an der Luft getrocknet. Anschließend wurde die Probe mit 80 µl DEPC-Wasser gelöst und die Extinktion bei 260 und 280 nm spektrophotometrisch gemessen (Ultrospec 1000; Pharmacia Biotech, Cambridge, UK). Die Qualität der mRNA-Isolation wurde durch das Extinktionsverhältnis von 260 nm zu 280 nm bestimmt (Soll-Wert über 1,6); letztlich konnte nun die mRNA-Konzentration der Proben errechnet werden um das benötigte Probenvolumen zu erhalten.

Die Proben wurden mit 1 ml Aufbewahrungslösung, aus 700 µl eiskaltem, 100%igem Ethanol, 270 µl 0,1%igem DEPC-Wasser und 30 µl 3 M Natriumazetat-Lösung (Sigma), in ein Ribonuklease (RNase)-freies 1,5 ml-Plastikröhrchen (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA) gegeben und bis zu endgültigen Auswertung bei -80°C gelagert.

Der Homogenisator wurde nach jeder einzelnen Probe mechanisch sowie chemisch mit 0,1%igem Natriumdodecylsulfat (Sigma) und Diethylpyrocarbonat-behandeltem, doppelt deionisiertem Wasser (Sigma) gesäubert um die Proben nicht mit RNA-Resten zu verunreinigen.

2.4.2 "Ribonuclease Protection Assay" - Messung von mRNA-Expression

Der „Ribonuclease Protection Assay“ (RPA) ermöglicht die Vervielfältigung sowie die qualitative und quantitative Analyse spezifischer mRNA-Transkripte. Es können mehrere Transkripte gleichzeitig untersucht werden, wenn die Größe der Transkripte sich signifikant unterscheidet.

Einer Lösung mit einem Überschuss an komplementären, radioaktiv markierten RNA-Sonden wird die zu untersuchende mRNA-Probe zugegeben. Nach Hybridisierung der RNA-Stränge werden die überstehenden Enden, zu den Proben nicht-homologe und verbliebene ungebundene Einzelstränge mittels Einzelstrang-spezifischer-RNase verdaut. Die Zielsequenzen sind durch die Hybridisierung zum mRNA(Sonde)-mRNA(Probe)-Doppelstrang vor der RNase geschützt. Anschließend wird die RNase inaktiviert. Die Auftrennung der einzelnen hybridisierten Sequenzen erfolgt durch eine Polyacrylamid-Urea-Gelelektrophorese. Mittels Phosphor-Image und Fotofilm-Abbildung werden die Ergebnisse auf radioaktiven Gels dargestellt.

Der RPA läuft in vier Schritten ab.

1. Synthese der RNA-Sonden

Zur Anwendung kam ein Template Set aus Template-cDNA von Ltn, RANTES, IP-10, MIP-1 α , MIP-1 β , IL-8 und MCP-1. Zusätzlich waren die „housekeeping gene“ L32 und Glyceraldehyd-3-phosphatdehydrogenase (GAPDH) enthalten.

Im „RiboQuant In Vitro Transcription Kit“ (BD-Pharmingen) sind nahezu alle für die RNA-Transkription notwendigen Reagenzien zu finden. Diese wurden nach Auftauen in 1,5 ml Plastikröhrchen pipettiert. 1 μ l Rnasin (40 U/ μ l plazentarer Ribonuklease Inhibitor); 1 μ l GACU Pool (GTP/ATP/CTP: 2,75 mM, UTP: 61 mM); 2 μ l 100 mM Dithiothreitol (DTT); 4 μ l 5 X Transkriptionspuffer; 1 μ l Template-cDNA; 10 μ l [α -P32]-UTP (9,25 Mbg/250 μ Ci; Perkin Elmer, Boston, MA, USA); zuletzt 1,5 μ l Bakteriophagen-T7-RNA-Polymerase (20

U/ μ l). Die Transkription der c-DNA in radioaktiv markierte RNA erfolgte während einer Inkubation für 90 Minuten bei 37°C. 2 μ l RNase-freier DNase hielten die weitere Transkription mit an. Durch die Zugabe von 26 μ l EDTA (20 mM), 25 μ l Tris-gesättigtes Phenol (pH 8,0; Sigma), 25 μ l Chloroform:Isoamylalkohol (50:1) und 2 μ l Hefe-tRNA (2 mg/ml) wurden die Enzyme inaktiviert und letztlich extrahiert. Nach Zentrifugation konnte der klare Überstand in ein weiteres 1,5 ml Röhrchen gegeben und erneut mit 50 μ l Chloroform:Isoamylalkohol (50:1) gewaschen werden. Nachdem wir den Überstand in ein drittes 1,5 ml Röhrchen gegeben haben, fügen wir diesem 50 μ l 4 M Ammoniumazetat und 250 μ l 100%iger Ethanol hinzu. In dieser Form wurde die Lösung 30 Minuten auf -80°C ausgefällt und nachfolgend zu einem Pellet zentrifugiert (Centrifuge 5415 C; Eppendorf, Hamburg, Deutschland). Nach Waschen mit 90%igem Ethanol trocknet das Pellet für 10 Minuten an der Luft. Die Antisense-RNA wurde in 50 ml 1 X Hybridisationspuffer gelöst.

Die Messung von 1 μ l der RNA-Lösung mit einem Szintillationszähler (LS 6000IC; Beckman & Coulter) bestätigte die erfolgte Transkription.

2. Hybridisierung der mRNA

Die Proben-mRNA wurde aufgetaut und zu einem Pellet zentrifugiert, mit 75 %igem Ethanol gewaschen und an der Luft getrocknet. Die Lösung der Proben erfolgte mit 8 μ l 1 X Hybridisationspuffer. 2 μ l der auf 3×10^5 bis 1×10^6 Counts / μ l verdünnten RNA-Sonden wurden jeder RNA-Probe zugegeben und das Gemisch mit inertem Mineralöl (Sigma) verschlossen. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend auf 90 °C erwärmt und anschließend um 1 °C pro Minute auf 56 °C herunter gekühlt und temperaturstabil über Nacht inkubiert.

3. RNA Verdauung

Im „RiboQuant RPA Kit“ (BD-Pharmingen) sind die meisten benötigten Reagenzien vorhanden. Nach der Erwärmung der Proben auf 37 °C konnte mit der RNase-Verdauung begonnen werden. Den hybridisierten mRNA-Proben wurde 100 μ l RNase-Cocktail (1 X RNase-Puffer:RNase A + T-Mix (A: 80 ng/ μ l, T1: 250 U/ μ l) im Verhältnis

417:1 (3,75 ml RNase-Puffer und 9 μ l RNase A + T-Mix für 24 Proben) zugegeben; das Gemisch dann für 90 Minuten auf 30 °C inkubiert.

Die Inaktivierung der RNase erfolgte durch einen Proteinase-Cocktail, der mit der Probe für 15 Minuten bei 37 °C inkubiert wurde. Dieser Proteinase-Cocktail besteht aus Proteinase K-Puffer:Proteinase K (10 mg/ml):Hefe-tRNA (2 mg/ml), im Verhältnis 13:1:1 (585 μ l Proteinase K-Puffer, 45 μ l Proteinase und 45 μ l Hefe-tRNA).

Die Extraktion der RNase und der Proteinase K wurde mit 65 μ l Chloroform:Isoamylalkohol (50:1) und 65 μ l Tris-gesättigtem Phenol durchgeführt. Der mRNA-haltige Überstand nach Zentrifugation wurde in neue 1,5 ml Röhrchen pipettiert und bei -80 °C mit 120 μ l 4M Ammoniumazetat und 650 μ l 100 % Ethanol mindestens 30 Minuten präzipitiert.

Das zentrifugierte mRNA-Pellet wurde in 90 % Ethanol gewaschen und 10 Minuten an der Luft getrocknet.

Die getrockneten doppelsträngigen mRNA-Proben waren in 5 μ l RNA-Loading-Puffer gelöst. Nach Hitzedenaturierung (5 Minuten bei 90 °C) erfolgte die Eis-Kühlung. Den gleichen Zyklus durchlief ein Standard aus nicht-hybridisierter Antisense-Sonden-RNA und 1 X Hybridisierungspuffer (1:100) versetzt mit 7 μ l 1 X RNA-Loading-Puffer. Die derart gelösten denaturierten Einzelstränge von mRNA pipettierten wir in die Mulden des vorgewärmten Polyacrylamid-Urea-Gels (50 - 120 W). Die elektrophoretische Auftrennung geschah bei einer Spannung von etwa 60 W (1900 V).

4. Herstellung des Polyacrylamid-Urea-Gels

Vor Beginn wurden die Glasplatten gereinigt (Ammoniak, 0,1 % SDS-Lösung, 95 % Ethanol) und mit Zellstoff getrocknet. Um einem späteren Verkleben des Gels an der oberen Platte vorzubeugen bereiteten wir diese mit Silikon (5 ml SigmaCote; Sigma) vor. Beide Platten wurden mit einem 0,4 mm Abstand aneinander gelegt und abgedichtet, damit das gegossene Gel nicht austreten konnte.

Aus 80 ml 6 % Sequenziergellösung (Ultra Pure SequaGel 6: Acrylamid 40%, Bisacrylamid 2% und Urea), 20 ml Sequenziergelpuffer (Ultra Pure SequaGel Complete Buffer; National Diagnostics, Atlanta, GA, USA) und 800 μ l 10 % Ammoniakpersulfatlösung (Sigma) wurde das 5 % Acrylamid-Urea-Gel hergestellt. In der

Gelkammer sparte ein Plastikamm am oberen Rand die Mulden der Proben aus. Nach Auspolymerisation konnte der Kamm entfernt und das Gel in die Elektrophorese-Kammer (Sequi-Gen GT Sequencing Cell, 38 x 50 cm mit Power Pac 3000 Xi; BioRad, Hercules CA, USA) gestellt werden.

Zur Sicherstellung des elektrischen Kontaktes wurden der Boden der Kammer sowie eine hinter dem Gel gelegene Glaskammer mit 0,5 X TBE-Laufpuffer (0,89 M Tris; 0,89 M Borsäure; 20 mM EDTA; pH 8,3; Invitrogen, Ltd., Raisley, Scotland, UK) befüllt.

2.4.3 Auswertung des RPA

Nach Beendigung der Elektrophorese wurde das Gel auf einem Filterpapier (Whatman Filters, W&R Balston Limited, England) aus der Elektrophoresekammer genommen, mit Polyvinylchloridfolie bedeckt und in einem Gelrockner (Gel Dryer Model 583, Bio Rad) bei 80 °C getrocknet, so dass das Papier mit dem Gel fest verbunden war. Über Nacht wurde das Gel nun mit einem Gamma Film (Kodak BioMax MS-1 Intensifying Screen; Amersham, Piscataway, NJ, USA) in eine Phosphor Imager Kassette (Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA, USA) eingelegt. Der Film nahm die vom Gel ausgehende Strahlung auf; der Film wurde anschließend gescannt (Storm 860, Molecular Dynamics). Ausgewertet wurden die Zahl der Counts pro Fläche des Films mit einer geeigneten Software (ImageQuant 6.0; Molecular Dynamics). Das Ergebnis zeigte eine Abbildung des Gels; die Schwärze der Banden entspricht den Counts pro Fläche. Diese werden in Peaks einer Kurve umgewandelt, wobei die Fläche unter den Peaks den Counts pro Bande entspricht. Die so errechneten Werte wurden zu denen der „housekeeping gene“ ins Verhältnis gesetzt. Die „housekeeping gene“ L32 - ein ribosomales Protein - und GAPDH - ein Enzym der Glykolyse - werden in nahezu allen Zellen unabhängig des Aktivierungszustandes nahezu konstant exprimiert und eignen sich somit zur Quantifizierung von mRNA-Transkripten [Müller et al., 2001].

2.5 Statistische Auswertung

Sämtliche Daten werden als Mittelwert mit Standardfehler des Mittelwerts (SEM) dargestellt. Die Unterschiede zwischen den Gruppen werden mittels multipler Varianzanalyse mit Zwei-Stichproben-t-Test verglichen. Das Signifikanzniveau wird mit $p < 0,05$ angenommen. Die klinischen Daten werden teilweise mit Standardfehler und t-Test verglichen. Die Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm SSPS (Version 19 , IBM, Armonk, New York, USA).

3. Ergebnisse

3.1 Demographische Daten

Die Verteilung der Geschlechter sind in der Aneurysma-Gruppe (74,7 % männlich und 25,3% weiblich) und in der Bypass-Gruppe (75 % männlich und 25 % weiblich) nahezu identisch.

Bei der Altersverteilung zeigt sich in der Aneurysma-Gruppe ein Durchschnittsalter von 58,97 Jahren, wogegen in der Bypass-Gruppe die Patienten ein durchschnittliches signifikant abweichendes Alter von 66,04 Jahren ($58,97 \pm 1,98$ Jahre zu $66,04 \pm 1,03$ Jahre $p < 0,05$) aufweisen.

3.2 Klinische Daten

3.2.1 Begleiterkrankungen

Koronare Herzkrankheit

In der Aneurysmagruppe weisen 29% (n=9) der Patienten eine koronare Herzkrankheit auf. 17,3% (n=13) der Patienten der Bypassgruppe erlitten unmittelbar (Maximum acht Tage präoperativ) vor der Operation einen akuten Myokardinfarkt; 30,7% (n=23) der Patienten berichteten anamnestisch von einer stattgehabten Myokardischämie. In der Aneurysmagruppe fand sich bei 6,5% (n=2) der Patienten ein stattgehabter Herzinfarkt. Eine akute Myokardischämie bestand bei keinem der Patienten.

Herzklappenvitien

Pathologische Veränderungen der Aortenklappe zeigen sich präoperativ signifikant häufiger in der Aneurysmagruppe als in der Bypassgruppe (41,9% zu 4%; $p < 0,0001$). 5 Patienten der Aneurysmagruppe haben eine bikuspidale Aortenklappe; in der Bypassgruppe findet sich kein Patient mit einer bikuspiden Aortenklappe (16,1% zu 0%;

$p=0,02$). Im Bereich der Mitral- und Trikuspidalklappen zeigte sich kein signifikanter Unterschied (19,4% (AAA) zu 13,3% (ACVB), $p=0,46$). Ein Vitium der Pulmonalklappe kommt bei keinem der Patienten weder der Aneurysma- noch der Bypassgruppe vor.

Weitere Vorerkrankungen

Bei 80,6% der Patienten in der Aneurysmagruppe besteht präoperativ eine bekannte arterielle Hypertonie. Demgegenüber stehen 90,7% der Patienten in der Bypassgruppe ($p=0,2$). Ein Diabetes mellitus findet sich bei 19,4% der Patienten in der Aneurysma- und bei 34,7 % etwas häufiger in der Bypassgruppe ($p=0,09$). Anamnestisch geben 67,7% der Aneurysmagruppe und 62,7% der Bypassgruppe einen Nikotinkonsum an ($p=0,62$). Ein nebenbefundliches Aneurysma der Aorta abdominalis zeigt sich bei 3,2% ($n=1$) in der Aneurysmagruppe sowie nicht signifikant geringer bei 2,7% ($n=2$) in der Bypassgruppe ($p=0,88$). Bei einem Patienten innerhalb der Aneurysmagruppe (3,2 %) war bereits präoperativ ein Marfan Syndrom diagnostiziert worden. Die Aortenprobe dieses Patienten wurde nicht zur weiteren RNA-Analyse verwendet, da die inflammatorische Reaktion beim Marfan-Syndrom im Vergleich zu sporadischen AAA geringer ausfällt [He et al., 2008]. Eine positive Familienanamnese fällt nicht signifikant unterschiedlich in der Aortenaneurysmagruppe bei 35,5% ($n=11$) und in der Bypassgruppe bei 38,7% ($n=29$) der Patienten auf ($p = 0,76$).

3.2.2 Chirurgische Daten

Sämtliche Operationen wurden in der Klinik für Herzchirurgie des Universitätsklinikums Bonn durchgeführt.

Während des stationären Aufenthaltes kam es zu einem Todesfall ($n=1$, 0,95%) am zweiten postoperativen Tag in der Bypassgruppe nach einem akuten Bypassverschluss. Eine Aortendissektion konnte bei 14,3 % der Aneurysmapatienten ($n=5$) festgestellt werden. Ein reiner Ersatz der Aorta ascendens wurde bei 38,7 % der Patienten ($n=12$) durchgeführt, bei 51,6 % der Patienten ($n=16$) wurde zusätzlich die Aortenklappe ersetzt und / oder ein aortokoronarer Bypass angelegt. 9,7 % der Patienten ($n=3$) wurden in der Operationstechnik nach David und 6,5 % der Patienten ($n=2$) mit einem klappentragenden Konduit nach Bentall versorgt. Bei einem Patienten (3,2 %) war

aufgrund einer chronischen Dissektion Typ Stanford B eine kombinierte Operation mit Ersatz der Aorta thoracalis descendens notwendig. Die Probe dieses Patienten wurde - wie die des Marfan-Patienten - nicht in der RNA-Analyse verwendet, da es sich nicht um ein isoliertes AAA handelt.

In der Bypassgruppe wurde bei 85,3 % der Patienten (n=64) eine reine aortokoronare Bypassoperation durchgeführt; bei 14,7 % der Patienten (n=11) erfolgte eine kombinierte Operation jedoch ohne Resektion eines Aortenaneurysmas.

Im gesamten Patientenkollektiv fand sich lediglich in der Aneurysmagruppe ein Patient mit einer bereits stattgehabten kardiochirurgischen Vor-Operation (3,2%).

3.2.3 Präoperative laborchemische Daten

Ein Wert des C-reaktiven Proteins (CRP) von über 3 mg/l zeigte sich in der Bypassgruppe vergleichbar häufig (56,7 % zu 41,4 %, $p = 0,14$). Eine höhergradige Niereninsuffizienz mit einem Kreatininspiegel von über 1,4 mg/dl fiel in der Bypassgruppe signifikant häufiger auf (13,4% zu 0%, $p = 0,002$). In der Aneurysmagruppe waren die Leukozyten mit 6,7 % der Patienten nicht signifikant häufiger erhöht als in der Bypassgruppe mit 4,5 % der Patienten ($p = 0,68$).

3.2.4 Präoperative Medikation

Signifikant mehr Patienten der Bypassgruppe im Vergleich zur Aortenaneurysmagruppe wurde präoperativ ein HMG-CoA-Reduktase-Hemmer (Statin) verabreicht (78,4 % (ACVB) zu 41,9 % (AAA); $p < 0,0005$). Nicht signifikant war der Unterschied in der Einnahme eines ACE-Hemmers; hier zeigte sich in der Aneurysmagruppe eine Einnahme bei 51,6 % und in der Bypassgruppe eine Einnahme bei 67,6 % der Patienten ($p = 0,13$).

In der Bypassgruppe wurden signifikant häufiger Thrombozytenaggregationshemmer (83,8 % (ACVB) zu 22,6 % (AAA); $p < 0,0001$) und Nitrate (44,6 % (ACVB) zu 9,7 % (AAA); $p < 0,0001$) eingenommen. Wohingegen die Einnahme von beta-Blockern (83,8 % (ACVB) zu 67,7 % (AAA); $P = 0,09$), Diuretika (28,4 % (ACVB) zu 32,3 % (AAA); $p = 0,7$) und Kalzium-Antagonisten (17,6 % (ACVB) zu 9,7 % (AAA); $p = 0,26$) nicht signifikant unterschiedlich war.

3.3 Histologische Befunde

3.3.1 Allgemein qualitativer Gruppenvergleich

In der Aneurysmagruppe wurden bei allen 31 Patienten Proben zur histologischen Untersuchung aus einem zentralen Abschnitt des Aneurysmas entnommen um die Untersuchung nicht aneurysmatisch veränderter Aorta ascendens aus dem Randbereich zu verhindern.

Die Proben der Bypassgruppe wurden als Stanze im Rahmen der Bypassoperation aus makroskopisch intakter Aorta ascendens entnommen. Insgesamt wurden 60 Patientenproben zur weiteren histologischen Untersuchung vorbereitet. Aufgrund der geringen Materialmenge einer Aortenstanze konnte die Probe eines Patienten nur für die RPA oder die histologische Bearbeitung genutzt werden.

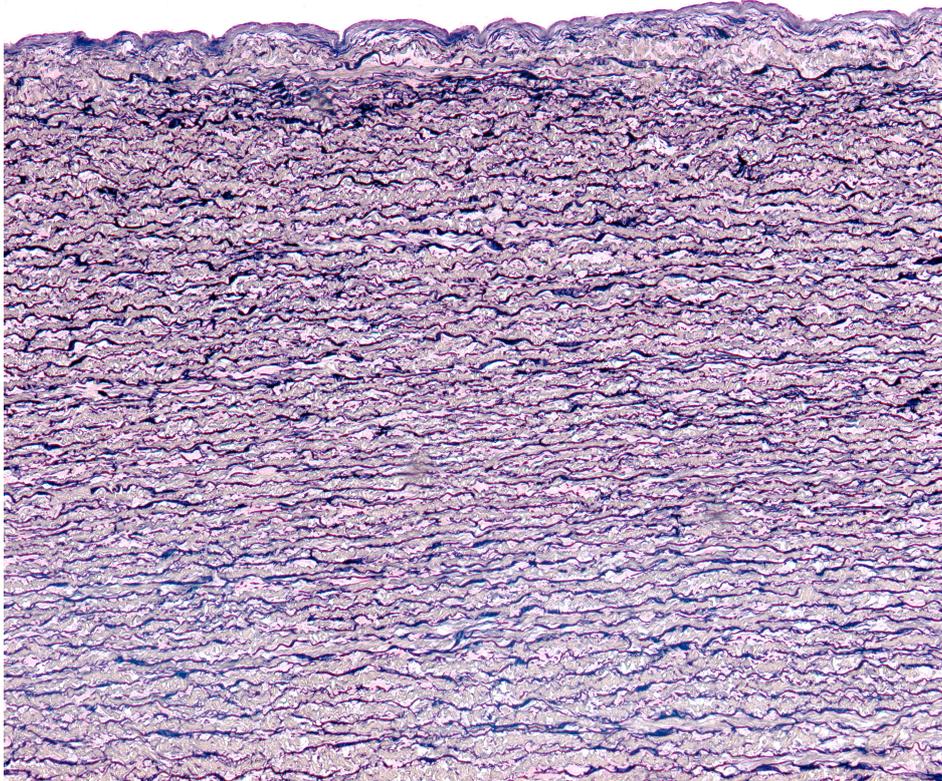
In den Übersichtsbildern zeigt sich die Aortenwand der Aneurysmen deutlich dünner als die der Bypassgruppe. Die Ausdünnung betrifft in besonderem Maße die Tunica media.

In den HE-gefärbten Schnitten fällt im Bereich der aneurysmatischen Aorta eine insgesamt vermehrte zelluläre Infiltration auf. Die Dichte an Gefäßen, das heißt der Vasa vasorum, ist ebenfalls erhöht im Vergleich zur Bypassgruppe.

3.3.2 Quantitativer Gruppenvergleich der histologischen Präparate

Elastika-van-Gieson (Abbildung 1)

In der Elastika-Färbung fallen im Bereich der Media hochsignifikant verringerte Werte des Elastingehaltes in der Aneurysmagruppe auf ($34,98\% \pm 1,89\%$ vs. $47,57\% \pm 2,19\%$, $p=0,0001$; Abb. 2). Da sich der überwiegende Anteil der elastischen Fasern im Bereich der Tunica Media befindet und der grundlegende Effekt der Elastolyse im Rahmen der Aneurysmabildung bekannt ist [Nienaber und Eagle, 2003a], wurde auf eine zusätzliche Untersuchung der Adventitia verzichtet.

**Abb. 1**

Die elastischen Fasern aller Gefäßwandschichten sind der Elastika van Gieson Färbung schwarz gefärbt. Vergrößerung 200X

Sirius-Rot

Der Kollagenanteil der Adventitia ist in der Kontrollgruppe erhöht ($22,45\% \pm 3,03\%$), jedoch im Vergleich zur Aneurysmagruppe ($16,59\% \pm 1,22\%$) nicht signifikant ($p=0,09$; Abb 2).

Im Bereich der Media zeigt sich ebenfalls ein leicht erhöhter Kollagenanteil der Bypassgruppe ($12,74\% \pm 1,63\%$) ohne Signifikanz zu erreichen (AAA: $10,84\% \pm 0,95\%$, $p=0,32$; Abb 2).

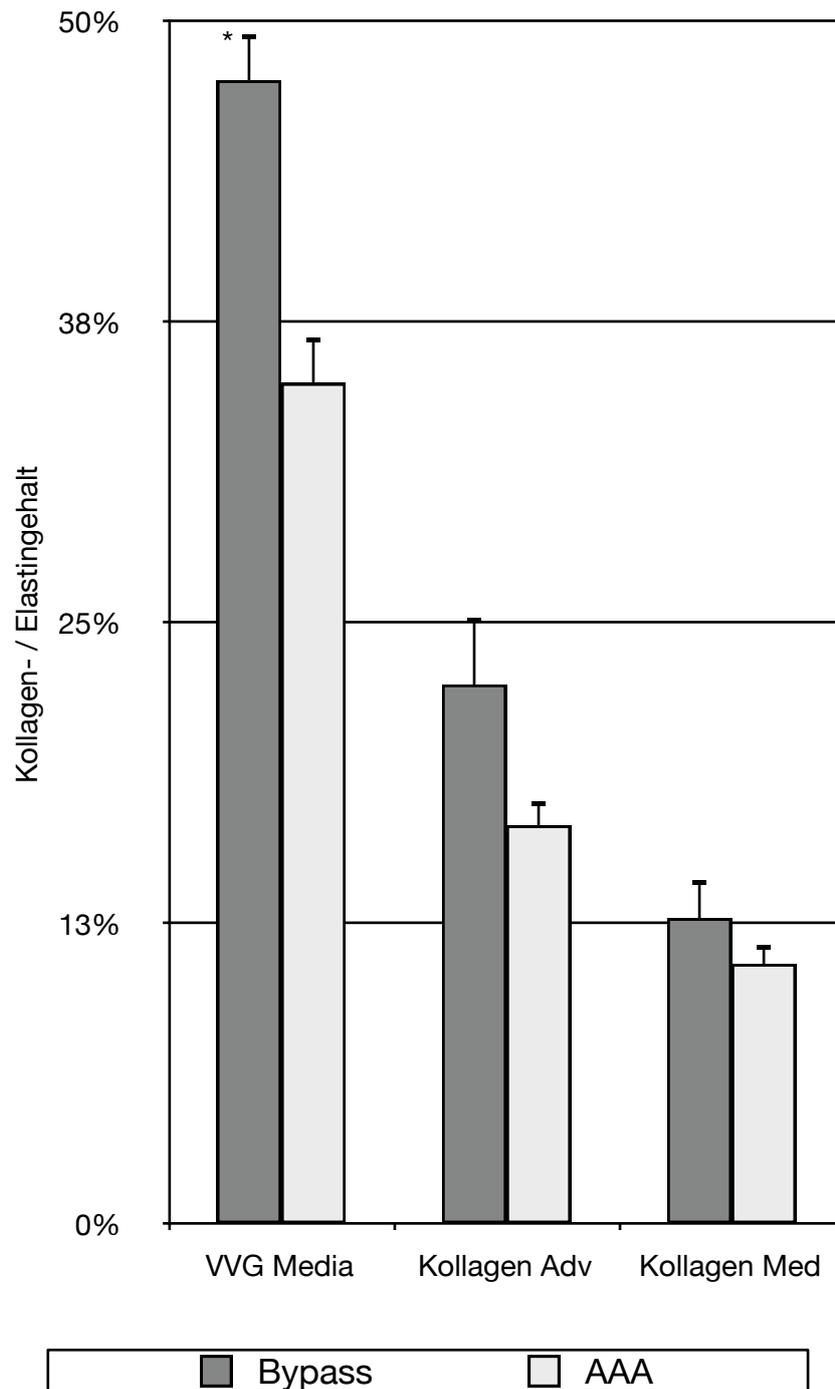
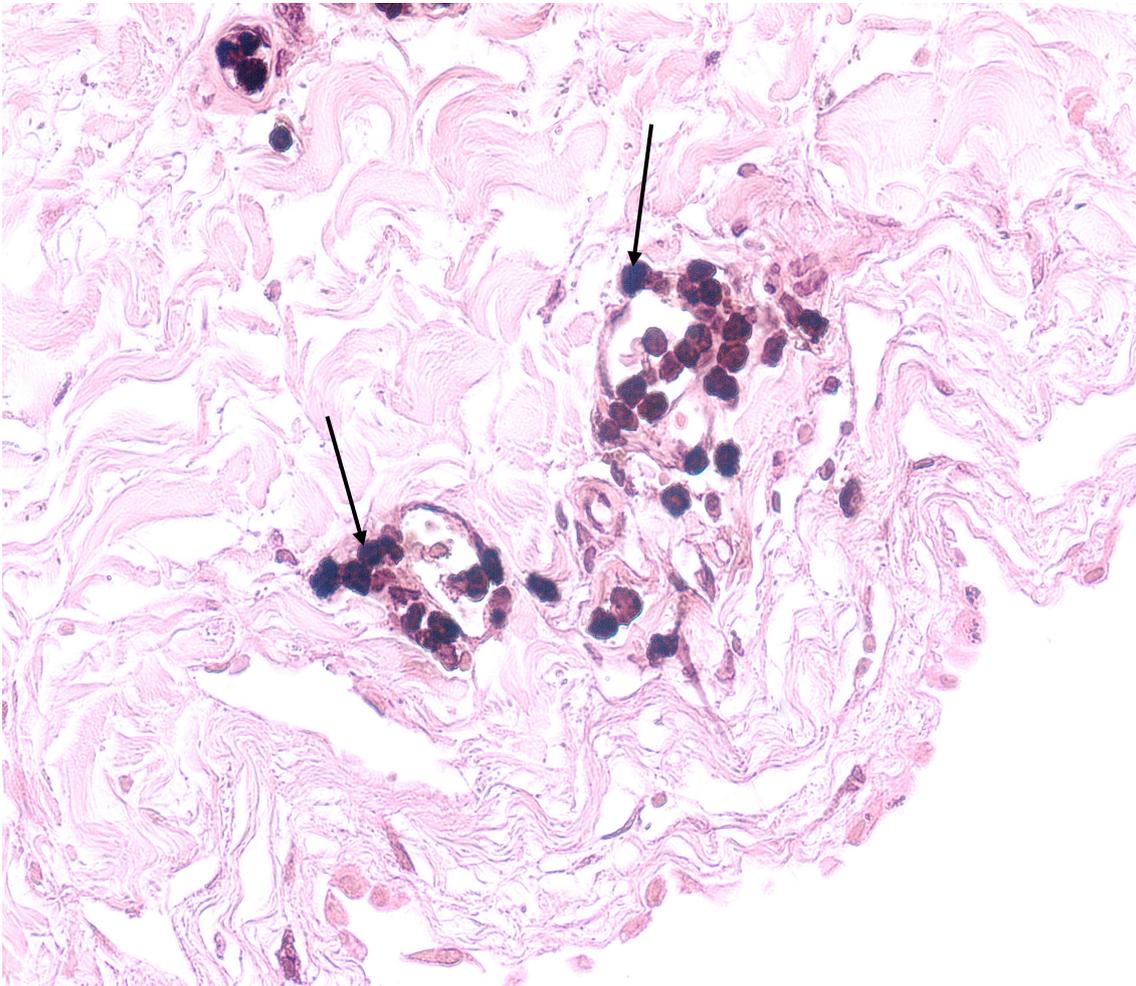


Abb. 2

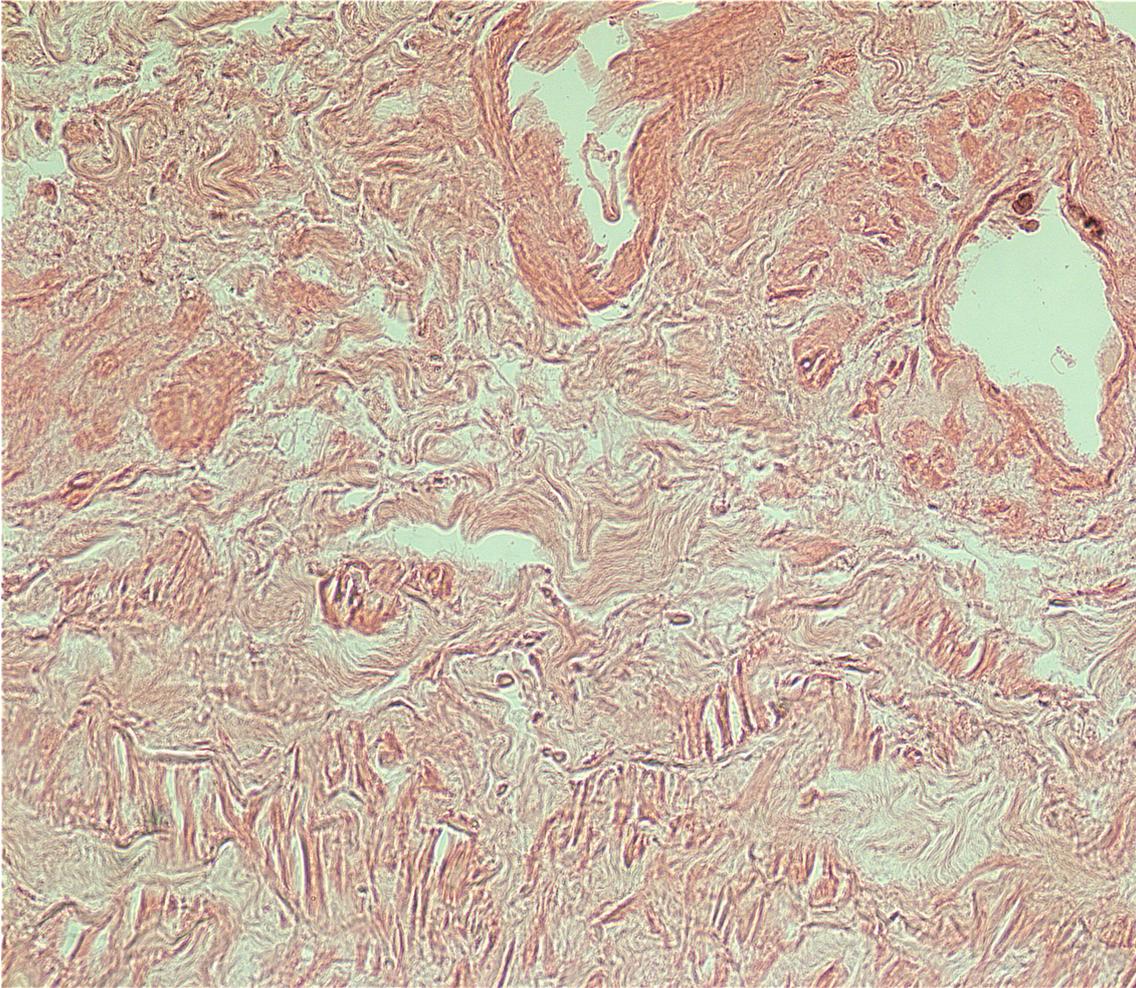
Quantitative Auswertung der Elastika-van-Gieson-Färbung und der Siriusrot-Färbung der Aortenwand in Relation zur Gesamtfläche. *, $p < 0,05$; AAA, Aorta ascendens Aneurysma; VVG Media: Elastika-van-Gieson-Färbung der Tunica Media; Kollagen Adv: Siriusrot- Kollagenfärbung im Bereich der Adventitia; Kollagen Med: Siriusrot-Kollagenfärbung im Bereich der Tunica Media

Mac387 (Abbildungen 3 und 4)

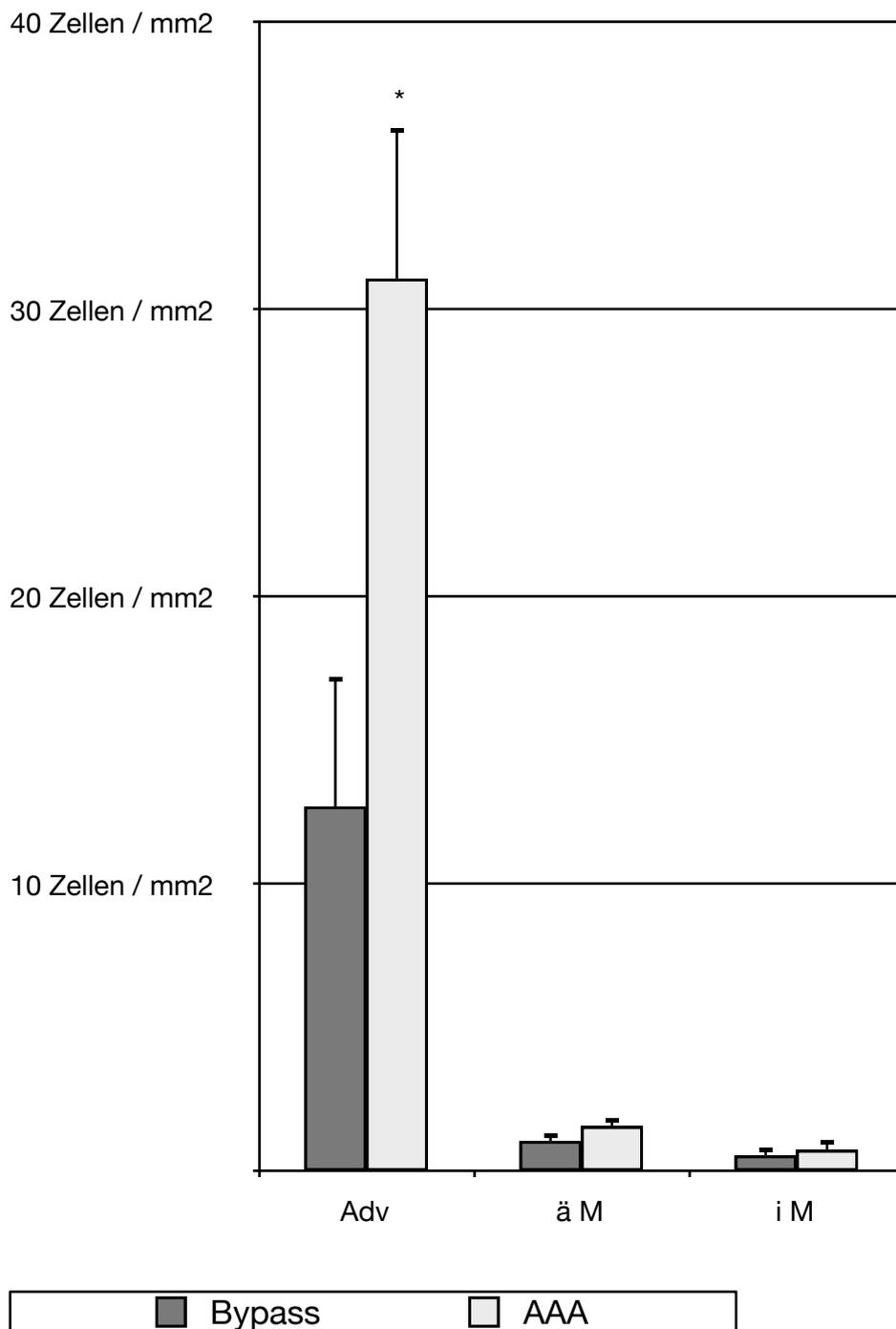
In der Mac387-Färbung finden sich innerhalb der Adventitia signifikant mehr frisch eingewanderte Leukozyten in der Aneurysmagruppe ($31,09 \pm 5,50$) im Vergleich zur Kontrollgruppe ($12,72 \pm 4,68$ Zellen/mm², $p=0,01$; Abb. 5). Sowohl in der inneren Media (AAA: $0,76 \pm 0,37$ Zellen/mm² vs. ACVB: $0,56 \pm 0,35$ Zellen/mm², $p=0,71$) als auch in der äußeren Media (AAA: $1,58 \pm 0,32$ Zellen/mm² vs. ACVB: $1,07 \pm 0,33$ Zellen/mm², $p=0,27$) lassen sich in der Aneurysmagruppe mehr Mac387-positive Leukozyten anfärben, jedoch ohne Signifikanzniveau zu erreichen.

**Abb. 3**

Die Mac387-Färbungen zeigen im Bereich der Vasa vasorum von Aortenaneurysmen multiple Mac387-positive Leukozyten (Pfeile). Vergrößerung 400X

**Abb. 4**

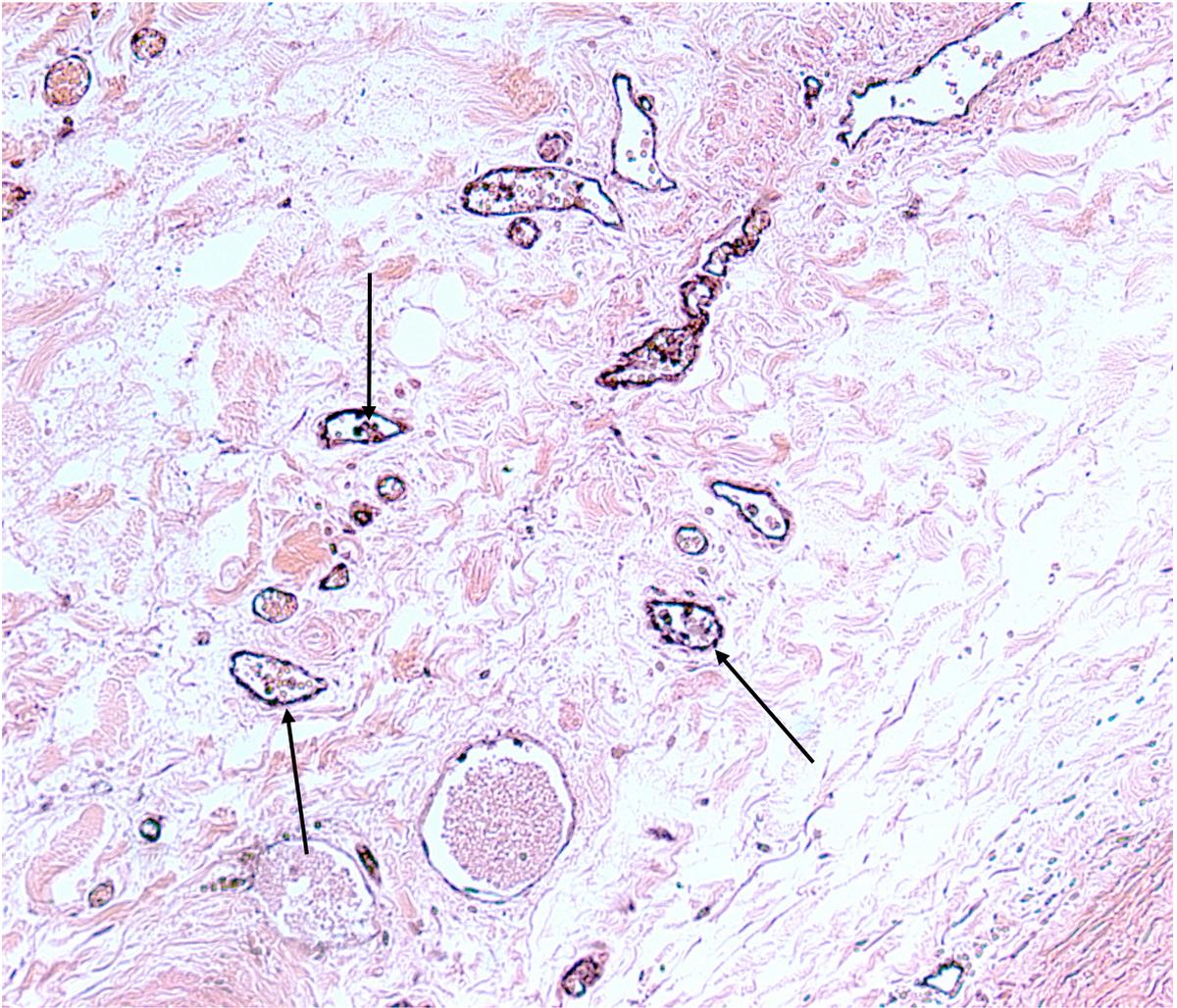
In der Kontrollgruppe der Mac387-Färbungen lassen sich keine Mac387-positiven Zellen nachweisen. Vergrößerung 400X

**Abb. 5**

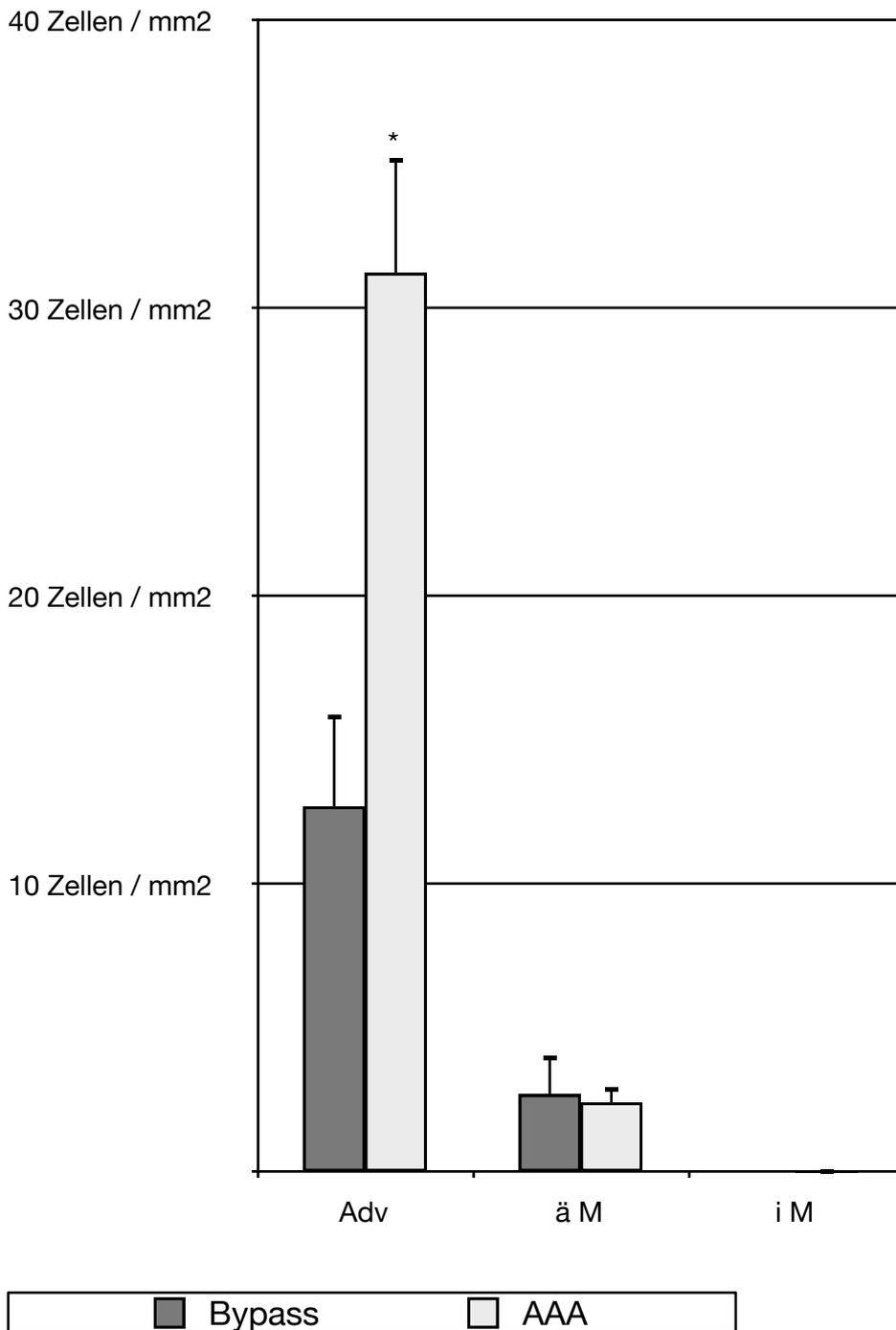
Quantitative Auswertung von Mac387-positiven Leukozyten in verschiedenen Gefäßwandschichten der Aorta. *, $p < 0,05$; AAA, Aorta ascendens Aneurysma; Adv: Mac 387-Färbung der Adventitia; ä M: Mac387-Färbung der äußeren Tunica media; i M: Mac387-Färbung der inneren Tunica media

CD31 (Abbildung 6)

CD31-positives Endothel kann im Bereich der Adventitia in der Aneurysmagruppe ($31,24 \pm 4,24$ Zellen/mm²; Abb. 7) hochsignifikant häufiger dargestellt werden als in der Bypassgruppe ($12,71 \pm 3,80$ Zellen/mm², $p=0,003$). Im Bereich der äußeren Media zeigen sich mehr CD31-positive Endothelzellen in der Bypassgruppe (AAA: $2,43 \pm 0,53$ Gefäße/mm² vs. ACVB: $2,71 \pm 1,48$ Zellen/mm², $p=0,86$) wogegen sich in der inneren Media der Aneurysmagruppe eine größere Anzahl an CD31-positivem Endothel fanden (AAA: $0,01 \pm 0,01$ Zellen/mm² vs. ACVB: 0 ± 0 Zellen/mm², $p= 0,33$).

**Abb. 6**

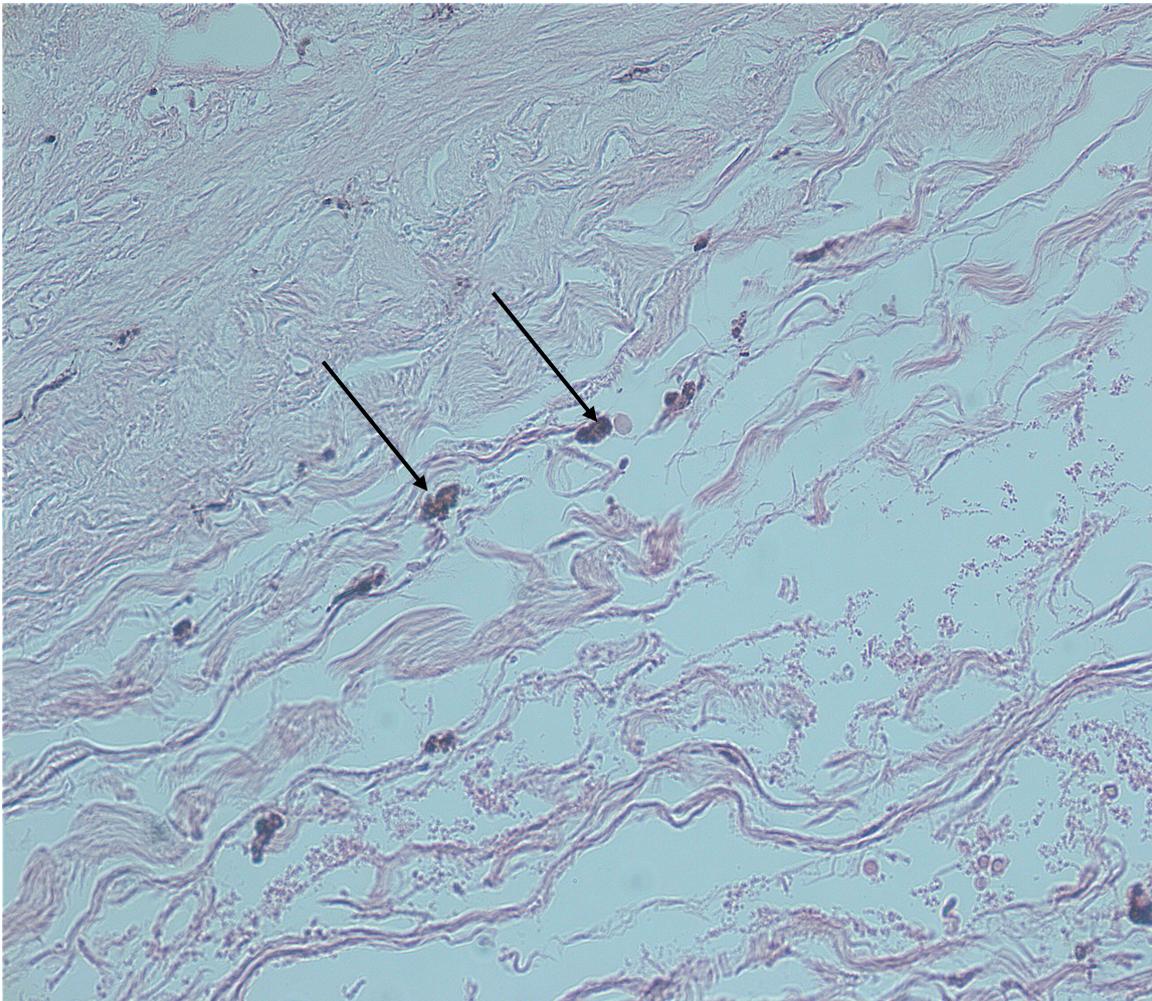
In der CD31-Färbung fällt eine positive Reaktion (Pfeile) im Endothel der Vasa vasorum der Aorta ascendens Aneurysmen auf. Vergrößerung 200X

**Abb. 7**

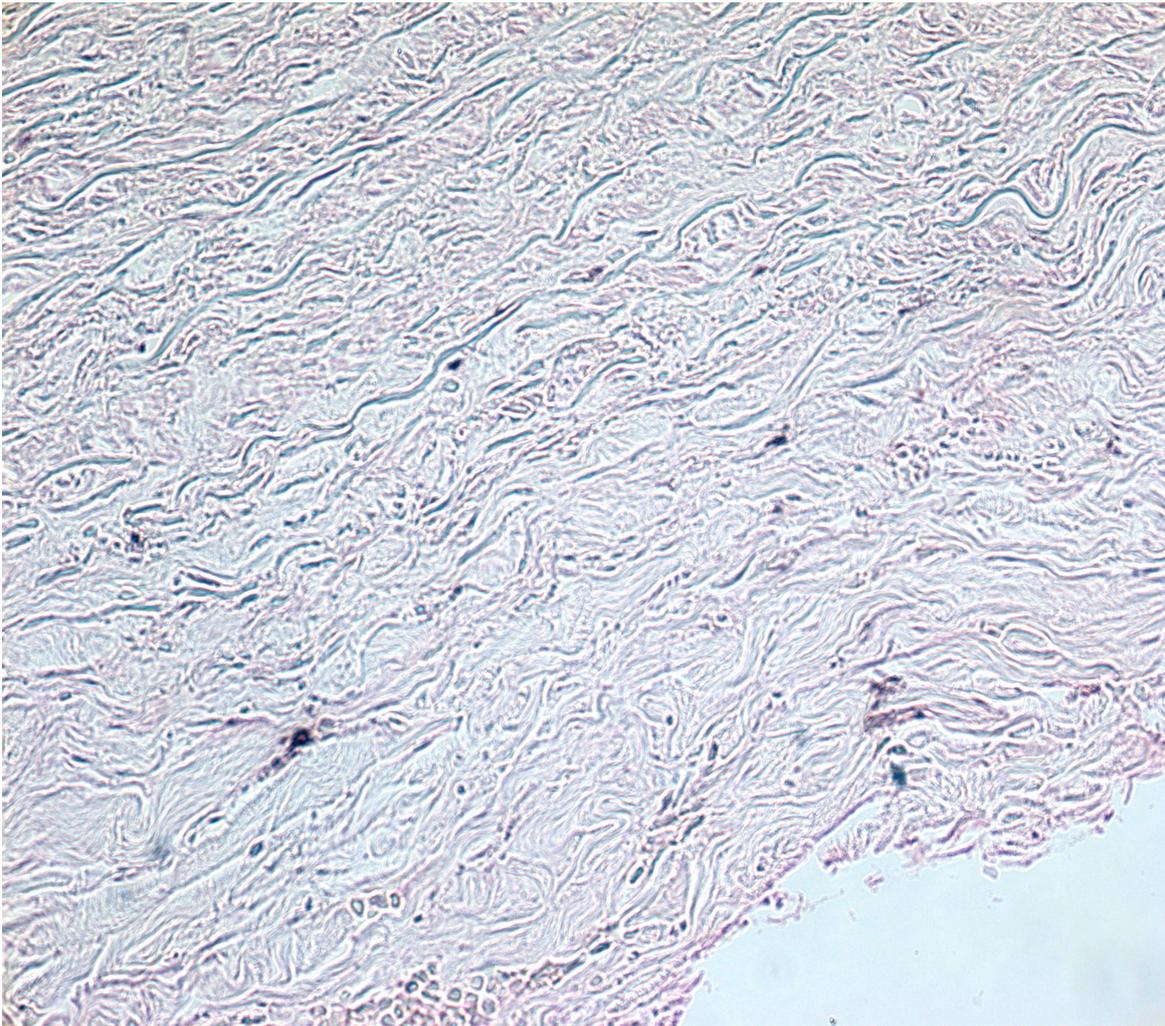
Quantitative Auswertung von CD31-positiven Endothelzellen der untersuchten Gefäßwände der Aorta. *, $p < 0,05$; AAA, Aorta ascendens Aneurysma; Adv: CD31-Färbung der Adventitia; ä M: CD31-Färbung der äußeren Tunica media; i M: CD31-Färbung der inneren Tunica media

CD68 (Abbildungen 8 und 9)

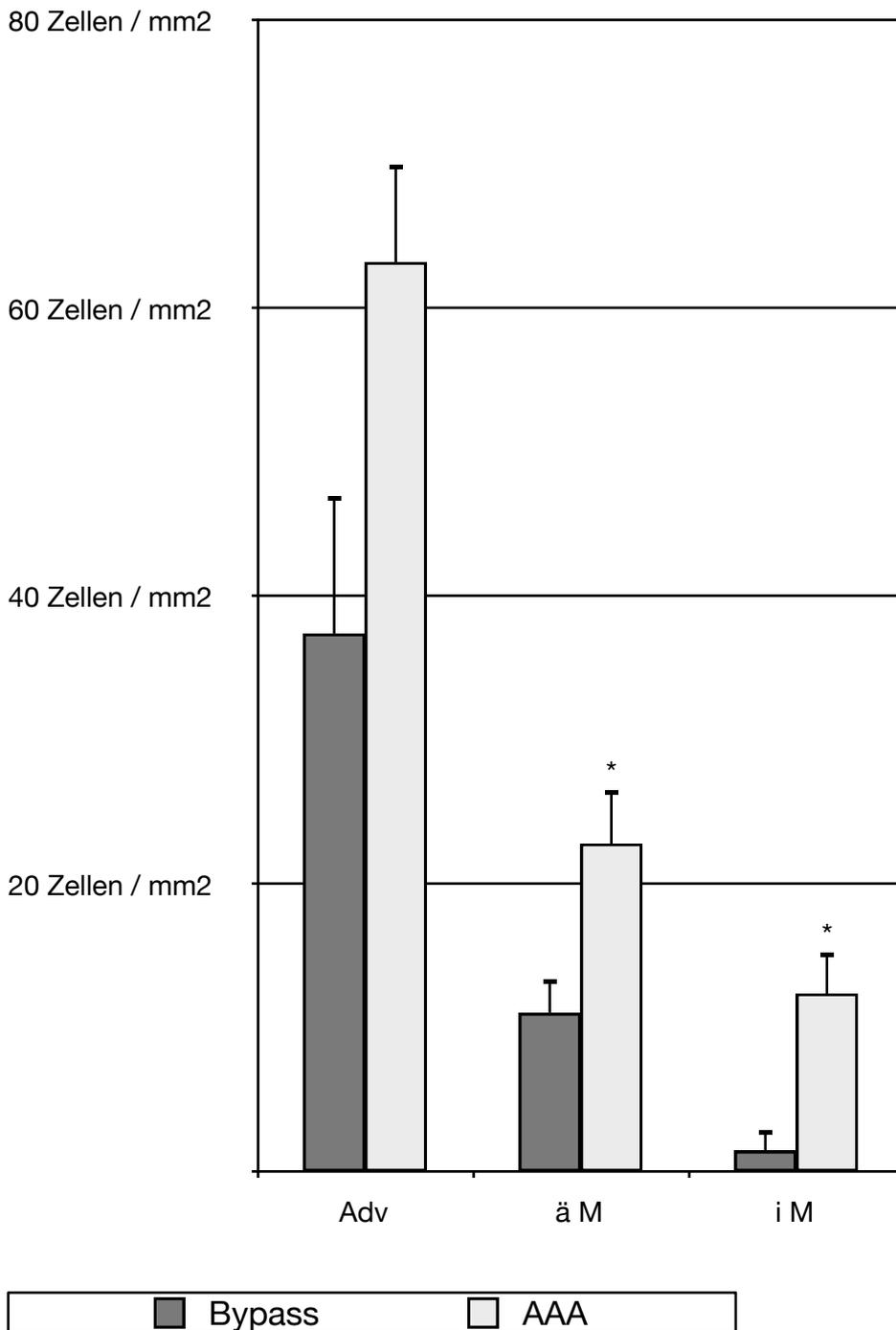
Die CD68-Färbung zeigte in allen Gefäßwandabschnitten der Aneurysmagruppe eine höhere Anzahl von CD68-positiven Zellen. Im Bereich der Adventitia bleibt der Unterschied nicht signifikant (AAA: $63,23 \pm 7,09$ Zellen/mm² vs. ACVB $37,42 \pm 11,46$ Zellen/mm², $p=0,07$; Abb. 10); in den Abschnitten der Media sind die Unterschiede signifikant (äußere Media: AAA $22,85 \pm 3,88$ Zellen/mm² vs. ACVB $11,07 \pm 2,43$ Zellen/mm², $p=0,01$; innere Media: AAA $12,43 \pm 2,87$ Zellen/mm² vs. ACVB $1,49 \pm 1,49$ Zellen/mm², $p=0,002$).

**Abb. 8**

Die CD68-Färbung kann in allen Gefäßwandschichten der Aortenaneurysmen eine vermehrte Anzahl CD68-positiver Leukozyten (Pfeile) zeigen Vergrößerung 400X

**Abb. 9**

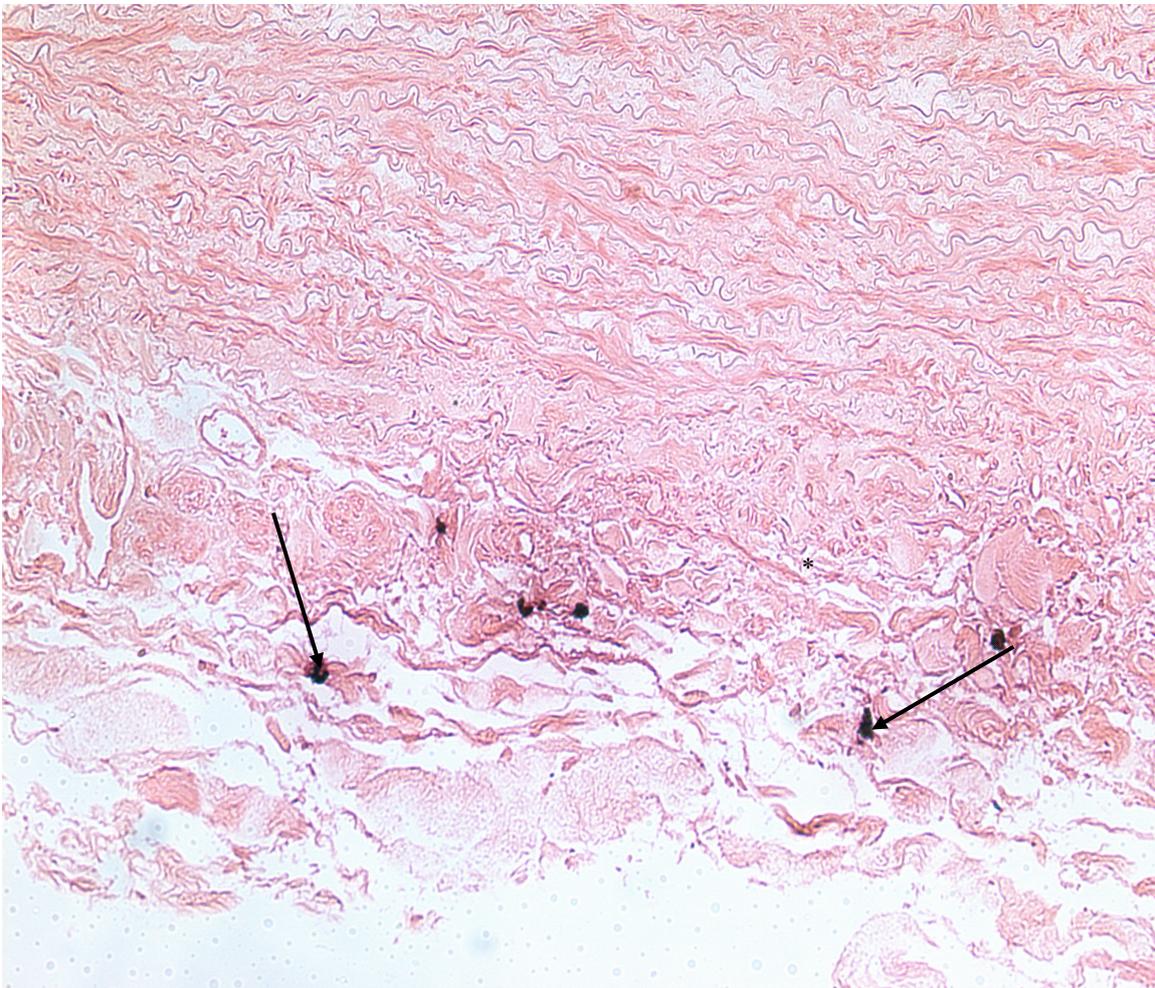
Die CD68-Färbung kann in der Kontrollgruppe nur wenige CD68-positive Zellen nachweisen. Vergrößerung 200X

**Abb. 10**

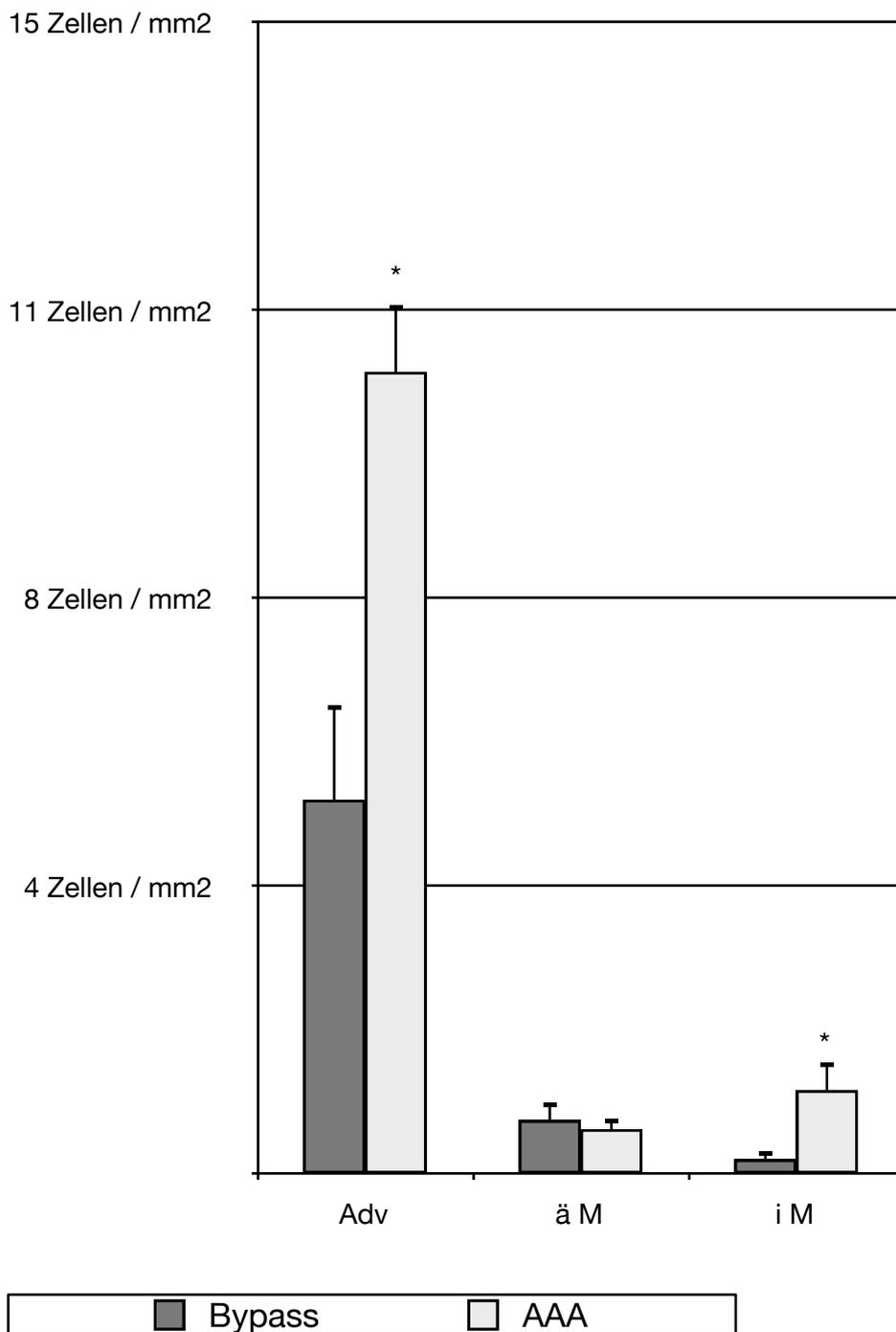
Quantitative Auswertung von CD68-positiven Leukozyten der verschiedenen Gefäßwandschichten der Aorta. *, $p < 0,05$; AAA, Aorta ascendens Aneurysma; Adv: CD68-Färbung der Adventitia; ä M: CD68-Färbung der äußeren Tunica media; i M: CD68-Färbung der inneren Tunica media

Tryptase (Abbildung 11)

Die Adventitia der Aneurysmagruppe zeigt signifikant mehr Tryptase-positive Zellen ($10,45 \pm 0,92$ Zellen/mm²) als die Bypassgruppe ($4,88 \pm 1,49$ Zellen/mm², $p=0,005$; Abb. 12). Ein nicht signifikanter Unterschied kann im Bereich der äußeren Media dargestellt werden (AAA: $0,59 \pm 0,14$ Zellen/mm² vs. ACVB: $0,7 \pm 0,27$ Zellen/mm², $p=0,71$), wohingegen signifikant mehr Tryptase-positive Zellen in der inneren Media auffallen (AAA: $1,1 \pm 0,39$ Zellen/mm² vs. ACVB: $0,2 \pm 0,14$ Zellen/mm², $p=0,04$)

**Abb. 11**

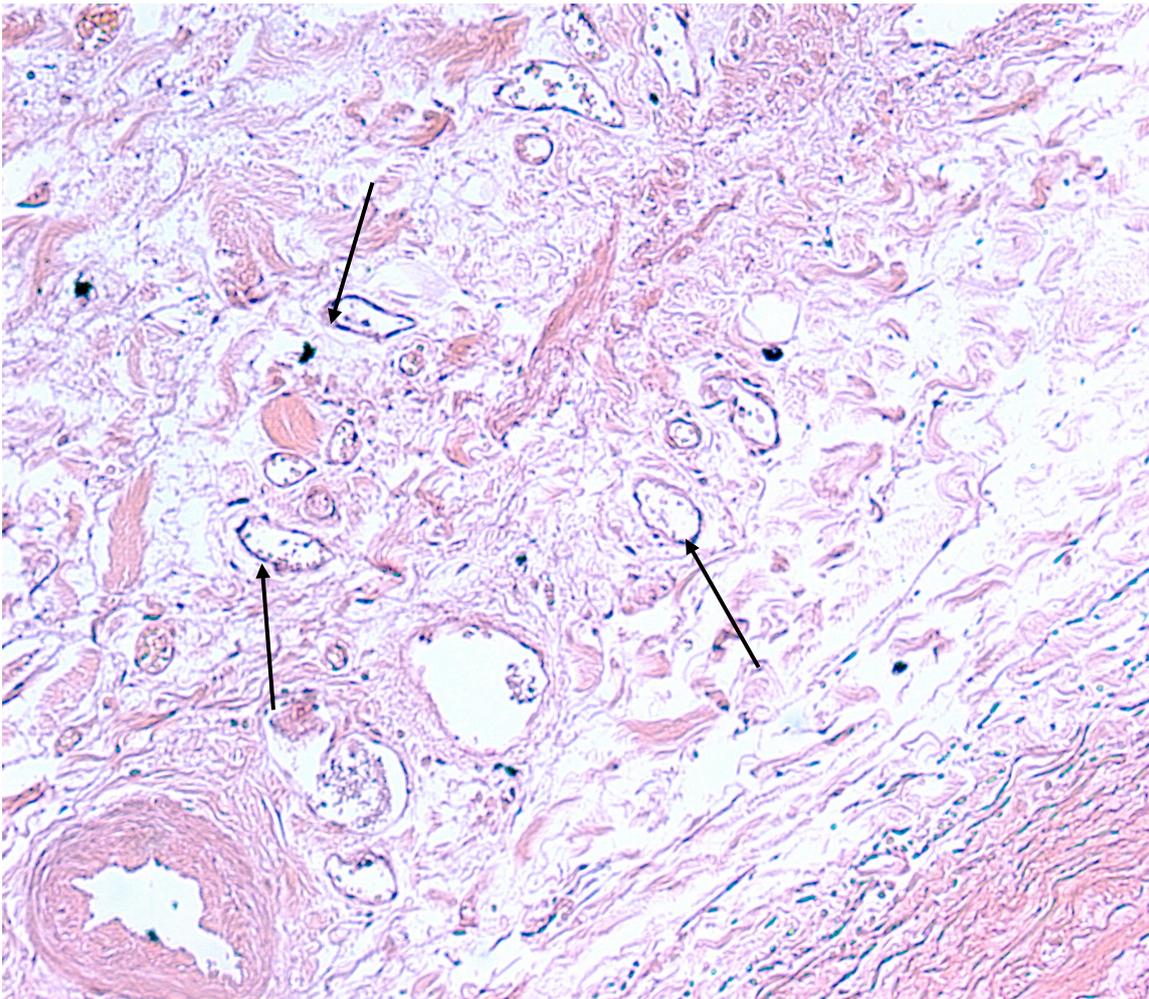
Tryptase-positive Mastzellen (Pfeile) können in allen Gefäßwandschichten der aneurysmatischen Aorta vermehrt nachgewiesen werden. Vergrößerung 200X

**Abb. 12**

Quantitative Auswertung der Zelldichte von Tryptase-positiven Mastzellen in den verschiedenen Gefäßwandschichten der Aorta. *, $p < 0,05$. AAA, Aorta Ascendens Aneurysma; Adv, Adventitia; ä M, äußere Tunica media; i M, innere Tunica media

MCP-1 (Abbildung 13)

Die MCP-1-Färbung zeigte die Expression dieses Chemokins besonders im Endothel der Vasa vasorum der Aortenaneurysmen. Die quantitative Analyse erfolgte mit dem Ribonuclease Protection Assay.

**Abb. 13**

Die Anfärbung vom Chemokin MCP-1 zeigt positive Signale im Bereich des Endothels der Vasa vasorum (Pfeile) in der Gefäßwand eines Aortenaneurysmas. Vergrößerung 200X

3.4 Expression der Entzündungsmediatoren

Die untersuchten Proben der Patienten aus der Bypassgruppe stammen nahezu ausschließlich von Patienten, bei denen die Anlage eines Drei- oder Vierfachbypasses notwendig war. Nur durch diese Einschränkung ist es möglich Aortengewebe in ausreichender Menge zu erhalten.

Zur quantitativen Auswertung der Chemokine wird die relative Expression zum Haushaltsgen L32 verwendet.

Die statistische Analyse der RPA-Daten erfolgte nach Ausschluss eines Patienten mit Marfan-Syndrom sowie eines Patienten mit einer chronischen Aortendissektion um die RNA-Expression in sporadischen Aneurysmen zu untersuchen.

Gruppe	Ligand	Name
CC-Chemokine	CCL1	I-309
	CCL2	MCP-1
	CCL3	MIP-1 α
	CCL4	MIP-1 β
	CCL5	RANTES
CXC-Chemokine	CXCL8	IL-8
	CXCL10	IP-10

Abb. 14
systematische Auflistung der hier untersuchten Chemokine mit Gruppeneinteilung

I-309

Eine deutliche Erhöhung findet sich in der Untersuchung von I-309 in der Aneurysmagruppe (AAA: $0,080 \pm 0,049$ vs. ACVB: $0,031 \pm 0,005$, $p=0,39$). Der Unterschied blieb nicht signifikant.

MCP-1

Die Werte der MCP-1 Expression sind in der Bypassgruppe erhöht ohne Signifikanz zu erreichen (ACVB: $0,448 \pm 0,066$ vs. AAA: $0,328 \pm 0,174$, $p=0,56$).

MIP-1 α

Die Untersuchung von MIP-1 α zeigt eine vermehrte Expression in der Aneurysmagruppe ohne Signifikanzniveau zu erreichen (AAA: $0,115 \pm 0,067$ vs. ACVB: $0,049 \pm 0,008$, $p=0,4$).

MIP-1 β

Nicht signifikant erhöht ist der Wert der MIP-1 β -Expression in der Aneurysmagruppe (AAA: $0,060 \pm 0,030$ vs. ACVB: $0,040 \pm 0,007$ $p=0,57$).

RANTES

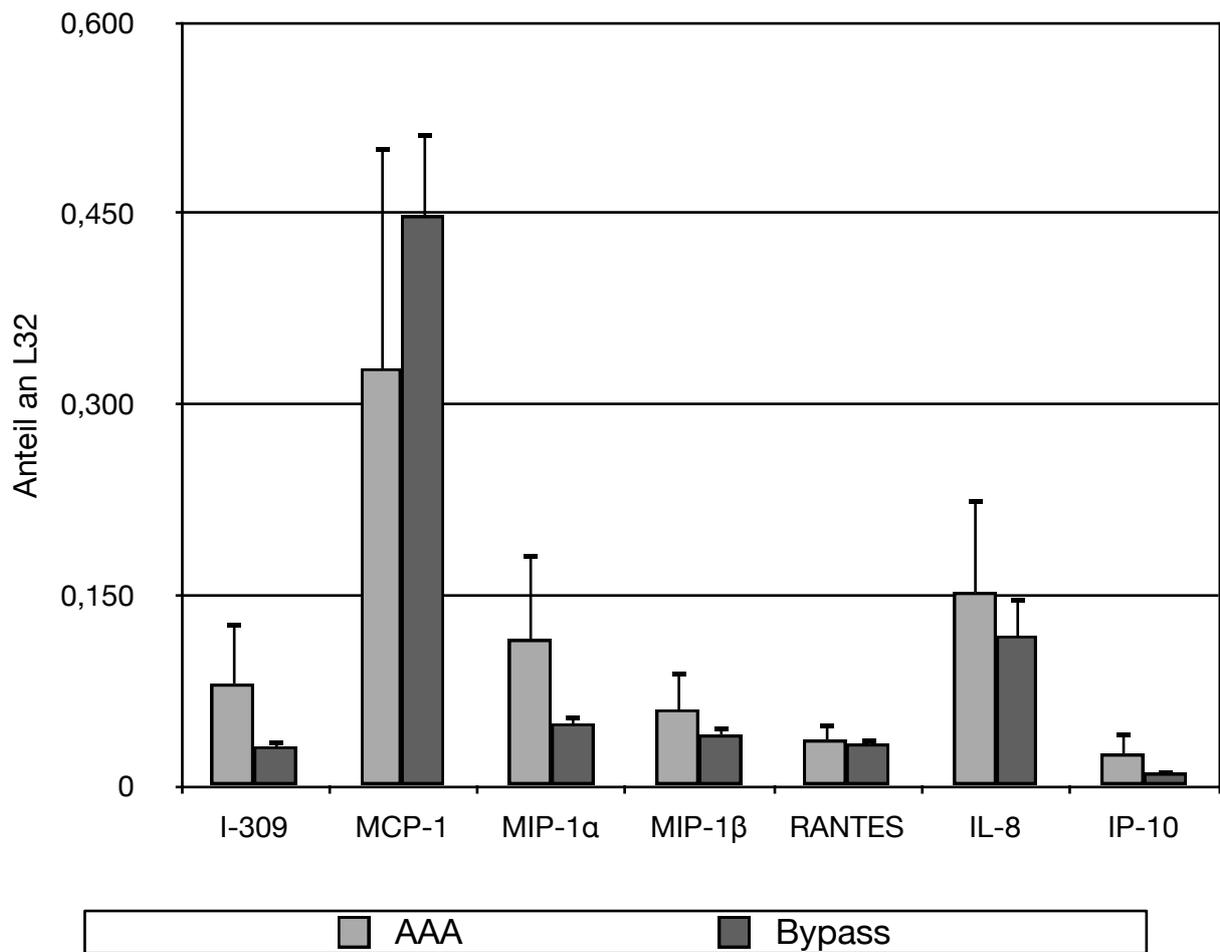
Die Werte der RANTES-Expression weisen eine minimale Erhöhung in der AAA-Gruppe ($0,036 \pm 0,013$ vs. $0,033 \pm 0,006$, $p=0,81$) auf, die nicht signifikant ausfällt.

IL-8

Nicht signifikant erhöhte Werte für IL-8 zeigen sich in der Aneurysmagruppe im Vergleich zur Bypassgruppe (AAA: $0,152 \pm 0,074$ vs. ACVB: $0,118 \pm 0,031$, $p=0,69$).

IP-10

In der Aneurysmagruppe fallen erhöhte Werte - jedoch ohne Signifikanz - für IP-10 im Vergleich zu Untersuchung der Bypassgruppe (AAA: $0,025 \pm 0,018$ vs. ACVB: $0,010 \pm 0,002$, $p=0,47$) auf.

**Abb. 15**

Die Auswertung der mRNA-Expression der untersuchten Chemokine als relative Werte im Bezug auf das Haushaltsgen L32. *, $p < 0,05$; AAA, Aorta ascendens Aneurysma.

4. Diskussion

Das TAA, welches sich zu etwa 50 % in der Aorta ascendens bildet, ist mit 6 bis 16 pro 100000 Menschen pro Jahr eine insgesamt seltene Erkrankung. Die Komplikationen des TAA - die akute Dissektion oder Ruptur - stellen jedoch lebensbedrohliche herzchirurgische Notfälle dar. Die Letalität liegt bereits vor Erreichen des Krankenhauses bei über 50% [Heider et al., 2007]; auch nach umgehender chirurgischer Therapie ist die postoperative Letalität hoch. Das Risiko dieser Komplikationen steigt mit dem Durchmesser des aneurysmatisch veränderten Gefäßes an. Somit kommt der Prävention der Aneurysmabildung sowie der Verhinderung dieser Komplikationen eine entscheidende Rolle zu. Zur Etablierung einer möglichen konservativen Therapie sowie zur Früherkennung sind exakte Kenntnisse der Pathophysiologie und Entstehung der Aneurysmen notwendig.

In BAA konnte eine chronische Inflammation im Rahmen der Aneurysmaentstehung nachgewiesen werden. Shimizu et al. beschrieben eine vermehrte Infiltration der Aneurysmawand mit Leukozyten, die durch Zytokine und Chemokine gesteuert wird [Shimizu et al., 2006]. Der Begriff des inflammatorischen Aneurysmas wurde von Walker et al. bereits 1972 eingeführt; in der genannten Arbeit gelang es zusätzlich virale DNA innerhalb der Aortenwand nachzuweisen. Ein Beweis der viralen Genese der Aneurysmen gelang jedoch nicht [Walker et al., 1972]. Der zentrale Schritt und damit das gemeinsame histopathologische Korrelat der Aneurysmaformation stellt die Verminderung der elastischen und zuletzt auch der Kollagenfasern der Aortenwand dar. Diese Elastolyse entsteht durch einen Verlust der vaskulären glatten Muskelzellen und der dadurch bedingten nicht gewährleisteten extrazellulären Homöostase [Brophy et al., 1991; Henderson et al., 1999; Thompson und Parks, 1996; Shimizu et al., 2006].

Diese Arbeit verfolgt das Ziel die Aktivierung der Inflammation der Aneurysmen im Bereich der Aorta ascendens zu untersuchen. Dies geschieht zum einen auf der Ebene der zellulären Infiltration und zum anderen auf der Ebene der Chemokinexpression, die als mögliche Mediatoren in Frage kommen.

Im Gegensatz zu der oben genannten Arbeit von Shimizu et al. erfolgt in unserer Arbeit der Vergleich mit einer Kontrollgruppe bestehend aus Patienten mit einer koronaren

Herzkrankheit. Die Verfügbarkeit von Aortengewebe ließ ein anderes Patientenkollektiv als Kontrollgruppe nicht zu.

Die Geschlechtsverteilung ist in beiden Gruppen nahezu identisch. Für beide Erkrankungen gilt das männliche Geschlecht als typischer Risikofaktor, was die allgemeine Geschlechtsverteilung erklärt. Zusätzlich sind verfahrensbedingt in der Bypassgruppe überwiegend Patienten mit einer Drei-Gefäß-KHK eingeschlossen. Dies entspricht letztlich einer stark ausgeprägten koronaren Atherosklerose möglicherweise zusätzlich bedingt durch den Risikofaktor männliches Geschlecht. Die Geschlechtsverteilung von etwa drei zu eins in der Aneurysmagruppe findet sich in der Literatur auch bei David et al. [David et al., 2010] und kann somit als typisch gelten.

In der Aneurysmagruppe liegt das durchschnittliche Patientenalter bei knapp 59 Jahren. Dies entspricht dem typischen Auftreten aneurysmatischer Veränderungen in der sechsten und siebten Lebensdekade. Elefteriades beschreibt eine durchschnittliche Lebensdauer des Elastins von 50 Jahren, so dass im Rahmen eines genetischen Missverhältnisses von Elastinauf- und abbau in diesem Lebensalter mit dem vermehrten Auftreten bzw. einer vermehrten Therapiebedürftigkeit von TAA zu rechnen ist [Elefteriades, 2005].

Das Alter der Patienten der Bypassgruppe ist signifikant erhöht im Vergleich zur Aneurysmagruppe. Die Daten der Gesundheitsberichterstattung des Bundes zeigen für 2006 eine Gesamthäufigkeit der diagnostizierten KHK bei Männern und Frauen in Deutschland von 6% für die Altersgruppe der 45- bis 65-jährigen [Gesundheitsberichterstattung des Bundes, 2006]. Dieser Wert stieg bei den über 65-jährigen auf 22,9% an. In einer geschlechtsspezifischen Untersuchung zeigt sich ebenfalls eine Prävalenz des männlichen Geschlechtes von 28,2% zu 19,1%.

Insgesamt ist sowohl die Geschlechter- als auch die Altersverteilung für beide Erkrankungen typisch und entspricht den in der Literatur angegebenen Daten.

Die Rate an zusätzlich diagnostizierter koronarer Herzkrankheit in der AAA-Gruppe ist mit 29% höher als in der entsprechenden Altersgruppe der Gesamtbevölkerung (Altersgruppe 45 - 65 Jahre 6% [Gesundheitsberichterstattung des Bundes, 2006]). Dies liegt sicherlich daran, dass vor einer elektiven kardiochirurgischen Operation eine sehr weite kardiologische Abklärung erfolgt. Im Rahmen dieser Abklärung werden bislang asymptotische Herzerkrankungen diagnostiziert. Während der Aneurysmaoperation

werden derartige Begleitpathologien soweit indiziert einzeitig versorgt. Dies erklärt die Überrepräsentation der koronaren Herzkrankheit in der AAA-Gruppe. Die Rate an stattgehabten Myokardischämien entspricht dem der Gesamtbevölkerung in der entsprechenden Altersgruppe. Der stattgehabte Myokardinfarkt kann somit als symptomatische bzw. unabhängig vom Aneurysma diagnostizierte KHK gewertet werden und zeigt somit keine Überrepräsentation.

Die Anzahl der akuten myokardialen Ischämien, die zu einer Bypassoperation führten lag mit 17,3% über der zu erwartenden Rate der operativen Akuttherapie. Dies ist der Patientenselektion mit überwiegend Drei-Gefäß-KHK geschuldet. Je mehr Koronargefäße betroffen sind, desto besser sind die Langzeitergebnisse nach konventionell-operativer im Vergleich zur interventionellen Therapie. Aus diesem Grunde wurde leitliniengemäß eine höhere Rate an „akuten Bypassoperationen“ durchgeführt [Taggart, 2007; Yang et al., 2007].

Signifikant mehr pathologisch veränderte Aortenklappen finden sich in der Gruppe der Aortenaneurysmen. Dies liegt in der hier untersuchten Aortenpathologie begründet. Zum einen führt ein Größenprogredientes AAA zu einer zunehmenden Aufweitung auch der intraperikardialen Aorta sowie des Klappenringes, in dessen Folge eine zunehmenden Aortenklappeninsuffizienz entsteht. Zum anderen kann der im Rahmen einer veränderten Aortenklappe resultierende pathologische Blutfluss zur zunächst ektatischen und weiter zur aneurysmatischen Aufweitung der Aorta ascendens beitragen. Somit sind die überproportional häufigen Aortenklappenpathologien zum Teil Folge aber auch Ursache der hier untersuchten AAA.

Die Anzahl der bikuspiden Aortenklappen ist in der AAA-Gruppe ebenfalls deutlich erhöht. Eine bikuspidale Aortenklappe stellt sowohl einen Risikofaktor als auch eine genetische Störung, die zur Ausbildung eines AAA führen kann, dar. Eine Überrepräsentation dieses Phänomens lässt sich in der primär untersuchten Krankheit finden [McKellar et al., 2007].

Im Bereich der Trikuspidal-, Mitral- und Pulmonalisklappe zeigte sich jeweils kein Unterschied in der Verteilung zwischen AAA- und Kontrollgruppe.

Die arterielle Hypertonie ist als Risikofaktor beider untersuchter Erkrankungen bekannt [Hof und von Eckardstein, 2009; Ince und Nienaber, 2007]; in beiden Gruppen zeigt sich somit ein gehäuftes Auftreten an Patienten mit behandelter arterieller Hypertonie. Die

Rate in der Bypassgruppe ist mit über 90% höher als in der AAA-Gruppe; der Unterschied erreicht jedoch keine Signifikanz. Die Rate der unbehandelten Fälle von arterieller Hypertonie bleibt letztlich unklar, da präoperativ neben der Anamneseerhebung nur Routinemessungen erfolgt sind.

In der Bypassgruppe gaben präoperativ mehr Patienten einen Diabetes mellitus an; es handelt sich bei allen Patienten sowohl in der Bypass- als auch in der Aneurysmagruppe um einen primär nicht insulinpflichtigen Diabetes mellitus (Typ 2). Insgesamt zeigen sich somit in der Bypassgruppe gehäuft die Aspekte eines metabolischen Syndroms mit Bluthochdruck und Insulinresistenz die als Hauptrisikofaktoren für die Entstehung einer KHK mit verantwortlich gemacht werden [Hof und von Eckardstein, 2009; Smith et al., 2004]. Außerdem lässt die erhöhte Prävalenz der arteriellen Hypertonie und des Diabetes mellitus mit dem fortgeschrittenen Alter in der Bypassgruppe erklären. Die bereits zuvor angesprochene Selektion im Bezug auf die Drei-Gefäß-KHK wird diesen Effekt weiter verstärken.

Der Nikotinkonsum wurde in beiden Gruppen etwa gleich häufig angegeben, so dass eine Aussage zum Risiko eines AAA durch Nikotinkonsum nicht möglich ist.

In beiden Gruppen zeigen sich im Rahmen der präoperativen Anamnese oder Diagnostik nebenbefundliche BAA. Aufgrund der geringen Fallzahl sowie auch der geringen absoluten Häufigkeit (ein Patient der AAA-Gruppe und zwei Patienten der Bypassgruppe) kann keine Aussage über das Risiko zusätzlicher BAA bei bekanntem AAA getroffen werden. In der Literatur zeigen sich jedoch Raten bis zu 20% an „Zweitaneurysmen“ bei einem bekannten TAA [Ince und Nienaber, 2007].

Eine familiäre Häufung zeigt sich für beide Erkrankungen dieser Untersuchung. 35,5% der AAA-Gruppe geben ein Aneurysma oder eine Aneurysmakomplikation in der Familienanamnese an. Bei einem dieser Patienten war bereits präoperativ ein Marfan Syndrom bekannt. Aufgrund der in dieser Studie angewandten freien Anamnese und einer nicht einheitlichen Erhebung der Familienanamnese ist eine genauere Aussage hier nicht möglich. Fälle eines „plötzlichen Herztodes“ die neben einem fulminanten Herzinfarkt oder einer Lungenembolie auch eine Aneurysmaruptur oder -dissektion als Ursache haben können, wurden nicht gezielt erfragt. In der Bypassgruppe geben sogar 38,7% eine positive Familienanamnese bezüglich einer KHK oder deren Komplikationen an. Die oben genannten Einschränkungen der Anamneseerhebung gelten natürlich auch

in dieser Betrachtung. Abschließend kann auch in diesen kleinen Gruppen eine familiäre Häufung und somit eine erbliche Komponente beider Erkrankungen dargestellt werden; in der AAA-Gruppe fällt diese jedoch unerwartet hoch aus. In der Literatur sind Angaben von etwa 20% an familiär gehäuften Aortenaneurysmen vorhanden; aufgrund der kleinen Studiengruppe (n=31) kann jedoch hier nicht von einer Zunahme der erblichen Aortenaneurysmen ausgegangen werden. Möglicherweise spielt eine Sensibilisierung der Patienten im Vorfeld eines großen chirurgischen Eingriffes eine Rolle.

In der gesamten Untersuchung kam es im Rahmen des stationären Aufenthaltes in der Klinik für Herzchirurgie des Universitätsklinikums Bonn zu einem Todesfall (0,95%). Bei einem Patienten der Bypassgruppe ereignete sich am zweiten postoperativen Tag ein Bypassverschluss. Insgesamt zeigt sich innerhalb dieser Untersuchung auch am Hochrisikokollektiv der Bypasspatienten mit fortgeschrittener KHK eine sehr geringe Klinikletalität.

Insgesamt fünf Patienten der Aneurysmagruppe fielen mit einer Dissektion auf; hier handelt es sich in einem Fall um eine chronische Aortendissektion Typ Stanford B. Drei Patienten mussten notfallmäßig mit einer akuten Aortendissektion Typ Stanford A operativ versorgt werden. Bei einem Patienten zeigte sich erst intraoperativ die Dissektion der Gefäßwand bei geplanter Aneurysmaoperation. Die Erfolgsrate der notfallmäßigen Operationen ohne Letalität ist auffällig; sie ist in den Arbeiten von Clouse et al. und Coady et al. mit bis zu 57% angegeben [Coady et al., 1997; Clouse et al., 1998]. Aufgrund der geringen Fallzahlen lässt sich jedoch keine generelle Aussage zum Erfolg der notfallmäßigen Operation bei Aortendissektion machen.

Die Operationen erfolgten wenn indiziert mit einzeitiger Versorgung von Begleitpathologien. Bei über 50% der Patienten erfolgte eine kombinierte Operation mit Ersatz der Aortenklappe oder Anlage eines aortokoronaren Bypass sowie deren Kombinationen. Die klassische Operation nach Bentall mit Verwendung eines klappentragenden Konduits wurde lediglich zweimal durchgeführt. Eine isolierter Ersatz der Aorta ascendens erfolgte bei zwölf Patienten (38,7%); inklusive dreier Patienten, bei denen eine Operation nach David möglich war. Dies bestätigt den Wandel in der chirurgischen Versorgung eines AAA hin zu einer individuellen Herangehensweise mit gezielter Verwendung verschiedener Prothesen bzw. „Reparatur“ der Aortenklappe und somit Verzicht auf weiteres Fremdmaterial [David, 2010]. Bei dem Patienten mit der

chronischen Dissektion Typ Stanford B erfolgte ein kombinierter Ersatz der Aorta thoracalis.

In der Bypassgruppe zeigte sich ein homogeneres Bild. Bei über 85% der Patienten erfolgte eine reine Bypassoperation mit Anlage eines aortokoronaren Venenbypass sowie Anlage eines Bypass unter Verwendung der Arteria thoracica interna. Bei den übrigen Patienten wurde eine Begleitpathologie gleichzeitig versorgt. In dieser Gruppe fand sich jedoch kein Aneurysma der Aorta.

Eine präoperative Erhöhung der laborchemischen Infektzeichen CRP (>3 mg/l) und der Leukozyten ($>10,5$ G/l) findet sich in beiden Gruppen mit vergleichbarer Häufigkeit. Somit zeigt sich in keiner der beiden Gruppen, obwohl es sich um Erkrankungen im Sinne einer chronischen Entzündung handelt, eine relevante Erhöhung der laborchemischen Infektzeichen.

Die Patienten der Bypassgruppe weisen in dieser Untersuchung signifikant häufiger einen erhöhten ($>1,4$ mg/dl) Kreatininspiegel als Zeichen einer relevanten Nierenfunktionsstörung auf. Zu erklären ist die Rate an Nierenfunktionsstörung durch das durchschnittlich höhere Alter und ein gehäuftes Auftreten von arterieller Hypertonie und Diabetes mellitus. Somit stellen die abweichenden laborchemischen Daten der Gruppen eine Folge der demographischen Verteilung und der häufigsten Komorbiditäten dar.

Die Patienten der Bypassgruppe geben häufiger die Einnahme von beta-Blockern (83,8% vs. 67,7%) und signifikant häufiger die Einnahme von Statinen (78,4% vs. 4,9%) an. Dies ergibt sich aus den aktuellen Empfehlungen zur konservativen Behandlung der KHK [Creager et al., 2004]. Es zeigt jedoch auch, dass die Behandlung von Aneurysmapatienten mit einem beta-Blocker nicht konsequent erfolgt. Die Statingabe zur Unterdrückung der chronischen Inflammation, ist im Rahmen der KHK gerade nach interventioneller Therapie etabliert; nicht aber in der konservativen Therapie eines Aortenaneurysmas.

In beiden Gruppen nehmen über die Hälfte der Patienten einen ACE-Hemmer ein. Dies ist ohne Weiteres auf die arterielle Hypertonie zurückzuführen, da die ACE-Hemmer zu den Basismedikamenten der Hypertoniebehandlung zählen. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die ACE-Hemmer im Bereich der KHK eine Plaquestabilisation erreichen können und somit hier eine weitere Indikation besitzen [Libby et al., 2002].

Diuretika und Kalziumantagonisten zählen ebenfalls zum medikamentösen Behandlungsspektrum der arteriellen Hypertonie, daher zeigt sich eine Einnahme dieser Medikamentengruppen in keiner Gruppe signifikant gehäuft.

Thrombozytenaggregationshemmer dienen der primären, sekundären und tertiären Prophylaxe in der KHK-Behandlung. Nitrate führen zu einer Verbesserung der Koronarreserve zum einen als Dauermedikation, zum anderen als Akuttherapie der Angina Pectoris. Somit ist es nicht verwunderlich, dass sich eine Einnahme dieser Medikamente signifikant häufiger bei den Patienten der Bypassgruppe findet.

Keiner der Patienten gibt die systemische Einnahme von Kortison oder Immunsuppressiva an. Lediglich bei drei Patienten der Bypassgruppe wird eine COPD mit einem inhalativen Steroid behandelt.

Insgesamt kann somit festgehalten werden, dass die beiden Gruppen typisch sind bezüglich der demographischen Daten sowie des Profils der Nebenerkrankungen. Insbesondere findet sich keine signifikante Häufung chronisch entzündlicher Erkrankungen, die die Analyse von Inflammationsparametern beeinflussen kann. Ebenso ist keine Einnahme immunsupprimierender oder immunmodulatorischer Medikamente zu verzeichnen. Einschränkungen ergeben sich in der signifikant erhöhten Einnahme von Statinen in der Bypassgruppe. Diese können zu einer stärker reduzierten entzündlichen Aktivität im Rahmen der Plaquestabilisierung [Libby et al., 2002] führen.

Im Bereich der Aneurysmen zeigen sich die typischen histologischen Veränderungen der Aneurysmabildung wie mehrfach beschrieben [Koch et al., 1990; McMillan und Pearce, 1997; Tilson et al., 1990]. Es findet sich eine Gefäßwand mit deutlicher Zellinfiltration, Zunahme der Vasa vasorum jedoch einer nicht verminderten Anzahl an glatten Muskelzellen [Erdheim, 1930; Lesauskaite et al., 2001]. Die mikroskopischen Befunde des AAA wurden erstmals 1930 von Erdheim als zystische Medianekrose auf dem Boden eines Verlustes von glatten Muskelzellen, elastischen Fasern und Akkumulation einer basophilen „Grundsubstanz“ aus Proteoglykanen im Bereich der Media beschrieben. Heutzutage wird, da sich streng genommen weder Zysten noch Nekrosen finden, der Begriff Mediadegeneration verwendet [He et al., 2006]. Die hier untersuchten AAA zeigen somit die klassischen Aspekte eines Aortenaneurysmas mit Ausnahme der in dieser Untersuchung konstanten Zahl der glatten Muskelzellen, wie

dies auch Tang et al. als Unterschied zum BAA beschreiben [Tang et al., 2005]. In der Kontrollgruppe kommt typisch konfigurierte arterielle Gefäßwand zur Darstellung.

Einen zentralen Schritt der Aneurysmabildung stellt die Mediadegeneration mit Untergang der elastischen Fasern in der extrazellulären Matrix dar. Die Verringerung des Gehaltes an elastischen Fasern - wie auch in unserer Untersuchung zu sehen - wurde mehrfach beschrieben. Dies geschieht durch die vermehrte proteolytische Aktivität unter anderem der MMP [Lesauskaite et al., 2001; Pannu et al., 2005b; Shimizu et al., 2005]. Diese MMP werden zum Teil durch verschiedene Zytokine sowie direkt von Makrophagen aktiviert.

Elastin weist eine Halbwertszeit von etwa 50 Jahren auf [Shimizu et al., 2005]. Somit ist - in Anbetracht des durchschnittlichen Alters der Patienten mit sporadischen AAA - von einer erworbenen Erkrankung mit zunehmend gestörtem Elastinabbau auszugehen. Bei einer Elastinsynthesestörung käme es zu einem deutlich früheren Auftreten der AAA. Im Rahmen von erblichen Syndromen wie dem Marfan Syndrom kommt zusätzlich eine gestörte Syntheseleistung hinzu, was das deutlich frühere Auftreten der AAA erklärt.

Ebenso verhält es sich mit dem Kollagengehalt der Gefäßwand, der in unserer Untersuchung in der Kontrollgruppe sowohl im Bereich der Adventitia als auch in der Media erhöht waren. Durch die oben genannte Imbalance zwischen Auf- und Abbau der extrazellulären Matrix kommt es im Rahmen der Aneurysmaformation zu einem zunehmenden Abbau auch der Kollagenfasern [Shimizu et al., 2005]. Die Unterschiede sind nicht signifikant, was durch eine zu kleine Studiengruppe bedingt sein kann. Es ist jedoch auch möglich, dass die Größenzunahme der Aorta durch den Elastinverlust und nur einen relativ geringeren Kollagenverlust entsteht. Der Eintritt der Ruptur könnte die Grenze des kritischen Kollagenverlustes anzeigen. Da sich in unserer AAA-Gruppe kein Patient mit einem rupturierten AAA befindet, ist es möglich, dass diese Grenze des signifikanten Kollagenverlustes schlicht noch nicht erreicht ist.

Zusammenfassend bestätigt unsere Arbeit, dass der Verlust an Elastinfasern einen zentralen Schritt der Aneurysmabildung darstellt. Der von vielen beschriebene Kollagenverlust kann in unserer Untersuchung nicht bestätigt, aber auch nicht verworfen werden.

Erdheim beschrieb 1930 das Aortenaneurysma als Folge einer nicht-inflammatorischen, zystischen Medianekrose. Dieses Modell wurde mehrfach in Frage gestellt. Vielfach

wurden die histopathologischen Veränderungen als Mediadegeneration beschrieben [He et al., 2006; Pannu et al., 2005b].

Mac387 ist ein Oberflächenantigen der Leukozytenreihe, das besonders die frisch eingewanderten Zellen detektiert [Frangogiannis et al., 2002a]. In allen Abschnitten der Adventitia sowie der Tunica media können vermehrt frisch eingewanderte Leukozyten nachgewiesen werden. Die Atherosklerose als chronische vaskuläre Inflammation geht von der Intima aus. In unserer Untersuchung können signifikant mehr frisch eingewanderte Leukozyten in der Adventitia nachgewiesen werden, so dass die Vermutung nahe liegt die Adventitia ist im Falle einer Aneurysmabildung der Ausgang der chronischen Inflammation. In den Bereichen der Media zeigen sich vermehrt jedoch nicht signifikant Mac387-positive Leukozyten. Wenn wir davon ausgehen, dass die Zellen über die Vasa vasorum in den Bereich des Aneurysmas gelangen, sind die Leukozyten in tieferen Schichten möglicherweise bereits weiter differenziert und reagieren nicht mehr mit dem Antikörper. Die Adventitia mit den Vasa vasorum als Ursprung der Inflammation wird unter anderem durch die Arbeiten von He et al. und McMillan und Pearce bestätigt [He et al., 2006; McMillan und Pearce, 1997].

Das transmembranäre Glykoprotein CD68 färbt in erster Linie Gewebsmakrophagen. In allen untersuchten Wandschichten fanden sich in der AAA-Gruppe vermehrt CD68-positive Makrophagen. Bereits in der Arbeit von He et al. konnten in allen Wandschichten sowohl aneurysmatisch veränderter Aorta sowie dissezierter Aorta vermehrt CD68-positive Makrophagen dargestellt werden [He et al., 2006]. In unserer Untersuchung ist in der Adventitia kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen nachweisbar. Innerhalb der Media zeigt sich die signifikante Zunahme der Gewebemakrophagen.

In Zusammenschau mit der Mac387-Färbung kann gefolgert werden, dass die Rekrutierung der Makrophagen in der Adventitia erfolgt. In den Abschnitten der Media finden sich weniger frisch eingewanderte Makrophagen, jedoch mehr CD68-positive Gewebemakrophagen. Die Rolle der Adventitia als Ausgang der Inflammation und die der Media als Ort der entscheidenden histopathologischen Veränderung - der Mediadegeneration - kann nach unserer Untersuchung nachvollzogen werden.

Tsuruda et al. konnten die Rolle von Mastzellen in der Pathogenese von BAA zeigen [Tsuruda et al., 2008]. Mastzellen können nach Degranulierung selbst proteolytische

Aktivität entfalten, über Zyto- und Chemokine oder Aktivierung anderer Proteasen - wie MMP - indirekt die Mediadegeneration vorantreiben. In unserer Untersuchung zeigen sich im Bereich der Adventitia und der inneren Media signifikant mehr Tryptase-positive Mastzellen als in der Vergleichsgruppe. Im Bereich der äußeren Media fällt bei insgesamt sehr geringen Werten eine leichte Zunahme an Mastzellen in der ACVB-Gruppe auf. Nach unserer Untersuchung können die Ergebnisse von Tsuruda et al. auf die AAA übertragen werden [Tsuruda et al., 2008]. Die Mastzellen tragen somit über drei Wege zur Mediadegeneration bei:

1. Über die eigenen tryptasehaltigen Granula können Matrixelemente direkt angegriffen werden.
2. Durch die Ausschüttung von Zyto- und Chemokinen werden weitere Makrophagen und weitere proinflammatorische Zellen rekrutiert.
3. Mastzellen können inaktive Vorstufen von Proteinasen wie die im Rahmen der Mediadegeneration entscheidenden MMP aktivieren.

In unserer Untersuchung kann nicht geklärt werden inwiefern sich degranulierte Mastzellen im Bereich der Media befinden und durch die reine Tryptase-Färbung unerkant bleiben. Durch die höchste Anzahl an Mastzellen im Bereich der Adventitia erscheint auf jeden Fall die unter 2. aufgeführte Form der Aktivität stark ausgeprägt.

CD31 ist ein Oberflächenmolekül das überwiegend im Bereich des Endothels gebildet wird. Es nimmt darüber hinaus eine zentrale Rolle in der Migration von zirkulierenden Leukozyten ein [Woodfin et al., 2007]. Chronisch inflammatorische Prozesse gehen regelmäßig mit einer ausgeprägten Neovaskularisation einher, die durch CD31-Färbung dargestellt werden kann. Im Bereich von Aneurysmen wurde diese Neovaskularisation ebenfalls beobachtet [McMillan und Pearce, 1997, McMillan et al., 1995]. Die CD31-Färbung zeigt eine signifikant erhöhte Gefäßdichte der Adventitia der Aneurysmen, das heißt der Vasa vasorum. Innerhalb der Media kann hier sicherlich auch wegen der geringen Patientenanzahl kein eindeutiges Ergebnis gezeigt werden. Die CD31-Färbung bestätigt indirekt durch die Zunahme an Vasa vasorum eine Neovaskularisation der Adventitia, was für ein chronisch entzündliches Geschehen mit Ausgang in der Adventitia spricht.

Im Bezug auf die Rekrutierung zirkulierender Leukozyten besitzt MCP-1 eine ausgeprägte Wirkung. Zu Beginn einer inflammatorischen Reaktion wird MCP-1 durch

ortsansässige Zellen sezerniert, im weiteren Verlauf zusätzlich von den rekrutierten Zellen, die so die Inflammation unterhalten.

In unserer Untersuchung fallen besonders im Bereich des Endothels der Vasa vasorum deutlich anzufärbende Areale mit erhöhter MCP-1-Expression auf. Dies bestätigt zusätzlich unsere Hypothese, dass es sich bei den AAA um eine inflammatorische Erkrankung handelt. In den vermehrt gebildeten Vasa vasorum erfolgt die zusätzlich gesteigerte Expression von MCP-1 und somit die Rekrutierung zirkulierender Monozyten über die Endothelzellen. Diese frisch eingewanderten Leukozyten können dann zum Beispiel über die Mac387-Färbung dargestellt werden.

Es zeigt sich in unserer Untersuchung letztlich das typische Bild einer chronischen Inflammation mit Ausgang im Bereich der Adventitia. Im Bereich der Vasa vasorum kommt eine starke Expression von MCP-1 und CD31 zur Darstellung. Beide Proteine haben unter anderem die Rekrutierung zirkulierender Leukozyten als Aufgabe. In der AAA-Gruppe ist die Dichte an Gefäßen in der Adventitia zusätzlich erhöht, was die Menge an passierenden Leukozyten erhöht. Der Nachweis frisch eingewanderter Leukozyten gelingt über die Mac387-Färbung, die diese Leukozyten im Bereich der Adventitia signifikant häufiger nachweisen kann. Die CD68-Färbung bestätigt die Vermehrung der ortsständigen Makrophagen der Aortenaneurysmawand, die letztlich direkte Folge der vermehrten frisch eingewanderten Leukozyten sind. Auch Mastzellen finden sich signifikant häufiger im Bereich der AAA. Diese chronische Inflammation führt letztlich direkt und indirekt zur Mediadegeneration, die als Endstrecke der Aneurysmabildung gilt.

Mehrere Arbeiten konnten den Zusammenhang zwischen Aortenaneurysmen und eine über Zyto- und Chemokine vermittelte Entzündungsreaktion vor allem im Bereich der abdominalen Aorta aufzeigen [Koch et al., 1993; Lindholt und Shi, 2005; Middleton et al., 2007; Wallinder et al., 2009].

Abhängig von ihrer molekularen Struktur sind Chemokine in Gruppen eingeteilt. Die Chemokine der CC-Gruppe üben die Wirkung auf Monozyten und Lymphozyten aus. Neutrophile Granulozyten und T-Zellen werden überwiegend von Chemokinen der CXC-Familie rekrutiert [Rovin et al., 2000].

In dieser Arbeit werden insgesamt sieben Chemokine untersucht. Fünf CC-Chemokine und zwei CXC-Chemokine.

In der AAA-Gruppe finden sich zwei Patienten, die in der statistischen Analyse ausgeschlossen wurden. Bei den Patienten handelt es sich um einen Patienten mit einer chronischen Aortendissektion Typ Stanford B und einen Patienten mit einem Marfan Syndrom. He et al. untersuchten den Zusammenhang zwischen Patientenalter und der Ausprägung der Inflammation. Sie berichteten bei Patienten mit einem Marfan Syndrom von einer im Vergleich zu spontanen Aortenaneurysmen geringer ausgeprägten Entzündungsreaktion [He et al., 2008].

In der Untersuchung von I-309 war die nachgewiesene Menge an m-RNA-Transkripten in der AAA-Gruppe im Vergleich zur Bypassgruppe mehr als verdoppelt.

Ein ähnliches Ergebnis lieferte die Untersuchung von MIP-1 α . Die Tatsache, dass in der statistischen Untersuchung keine Signifikanz erreicht wird, kann in beiden Fällen lediglich auf die zu geringe Größe der untersuchten Gruppe an Patienten zurückgeführt werden.

Die Expression von RANTES war in den hier untersuchten Gruppen von AAA- und Bypasspatienten nahezu gleich mit nur marginalen Unterschieden. In Anbetracht der inflammatorischen Genese der Atherosklerose erscheint hier eine gewisse proinflammatorische Aktivität nicht verwunderlich.

In der Analyse der MIP-1 β fällt auf, dass die Expression in der AAA-Gruppe 150% der ACVB-Gruppe beträgt. Die geringe Größe der Studiengruppe ist sicherlich mit ausschlaggebend für die fehlende Signifikanz.

MCP-1 ist eines der am weitesten untersuchten Chemokine und wird von einigen Autoren sogar als der Prototyp eines Chemokins angesehen [Deshmane et al., 2009]. Anders als erwartet fällt hier in der ACVB-Gruppe eine vermehrte Expression auf. Mehrfach wurde von einer zentralen Rolle in der Pathogenese der Atherosklerose berichtet [Becker, 2005]. In der Untersuchung von Wallinder et al., die sich unter anderem mit der Expression von MCP-1 in BAA befasst, zeigte sich keine signifikante Erhöhung zwischen großen und kleinen Aneurysmen sowie im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dies wurde auf die Expression von MCP-1 durch die in allen Gruppen bestehende atherosklerotische Last zurückgeführt [Wallinder et al., 2009]. Diese atherosklerotische Last ist gerade in der hier untersuchten Kontrollgruppe von Patienten, die sich eine Drei- oder sogar Vierfach-Bypassoperation unterziehen, sicherlich ebenso vorhanden.

IL-8 ist ein CXC-Chemokin, über das Neutrophile, die mittels Chemotaxis an Orte der inflammatorischen Aktivität geleitet werden, degranuliert werden [Rizas et al., 2009]. Middleton et al. konnten in ihrer Untersuchung im Bereich der BAA die vermehrte Transkription von IL-8 zeigen [Middleton et al., 2009]. Die Expression von IL-8 in der AAA-Gruppe sind deutlich erhöht jedoch wiederum ohne ein signifikantes Niveau zu erreichen. IL-8 ist neben anderen Interleukinen und Chemokinen als ein Promoter der Neovaskularisation beschrieben [Lindholt und Shi, 2006]. In der histopathologischen Untersuchung zeigt sich eine signifikante Vermehrung der Vasa vasorum im Rahmen der CD31-Analyse. Somit erklären sich die Ergebnisse beider Analysen gegenseitig, die Initiierung sowie das sichtbare Ergebnis der Neovaskularisation liegen nebeneinander vor.

IP-10 ist ein durch IFN- γ induzierbares Chemokin der CXC-Familie. IP-10 übt seine chemotaktischen Eigenschaften auf aktivierte T-Zellen aus. Außerdem können über IP-10 zirkulierende T-Zellen rekrutiert werden. Die Analyse von IP-10 zeigt, dass eine deutlich gesteigerte Transkription in den untersuchten AAA stattfindet. Die Messwerte sind in der AAA-Gruppe zweieinhalb-fach erhöht. Damit unterstützt die IP-10 Expression die postulierte Entzündungsreaktion in AAA.

Für die meisten der hier untersuchten Chemokine sowohl der CC- als auch der CXC-Gruppe zeigt sich eine gesteigerte Expression in der Wand der AAA. Es kann jedoch in keiner der Chemokinanalysen eine statistische Signifikanz erreicht werden, obwohl einige der Werte den der Kontrollgruppe um 100 % und mehr übertreffen. Dies ist einzig auf die geringe Gruppengröße in der AAA-Gruppe zurückzuführen und außerdem in der Inzidenz des AAA als einer Untergruppe der Aortenaneurysmen begründet. Der hier aufgezeigte Trend und die Ergebnisse der inflammatorischen Zelldichte ermöglichen es die Pathogenese des AAA als inflammatorische Erkrankung nachzuvollziehen.

Einzig in der Analyse der Expression von MCP-1 fällt ein in der Kontrollgruppe erhöhter Wert auf. Die Tatsache, dass die Atherosklerose ebenfalls mit einer Inflammation einhergeht kann dieses Ergebnis erklären. MCP-1 scheint nicht spezifisch für das AAA zu sein und findet sich auch im Rahmen der Atherosklerose der Kontrollgruppe.

In Untersuchungen von abdominalen - zumeist infrarenalen - Aortenaneurysmen konnte gezeigt werden, dass es sich hier um eine inflammatorische Erkrankung handelt [Shimizu et al., 2006].

Einschränkungen dieser Untersuchung ergeben sich zum einen durch die Patientenselektion sowie durch die Indikation zum chirurgischen Eingriff.

In der Kontrollgruppe wird kein „gesundes“ Aortengewebe verwendet, sondern solches, das im Rahmen einer Bypassoperation gewonnen werden konnte. Hierdurch ist eine gewisse inflammatorische Aktivität der Aorta im Rahmen der Atherosklerose gegeben.

4.1 Ausblick

Die aktuellen Therapieoptionen des AAA sind zum einen die Ausschaltung von Risikofaktoren wie der arteriellen Hypertonie und des Nikotinkonsums. Zum anderen besteht bei gegebener Indikation die Möglichkeit der chirurgischen Resektion. Diese ist mit einem vertretbaren perioperativen Risiko durchführbar. Eine kausale Therapie, die eine bereits eingetretene aneurysmatische Erweiterung rückgängig macht, existiert nicht. In verschiedenen Studien wurden am Tiermodell nach induziertem Aneurysma sowie an kleinen Patientenkollektiven konservative Therapien zumeist an BAA erprobt. Diese umfassten die Blockade von TNF- α , die Gabe von Antibiotika oder von Medikamenten mit einer antiinflammatorischen Wirkkomponente (ACE-Hemmer, Statine) bzw. nicht steroidaler Antiphlogistika. Keine dieser Behandlungen hat bis heute zeigen können, dass eine bereits eingetretene Aneurysmabildung rückgängig zu machen ist.

Die hier vorliegende Studie konnte zeigen, dass auch bei AAA eine inflammatorische Genese vorliegt, jedoch ohne ein spezifisches Chemokin zu präsentieren, dass eine Schlüsselfunktion übernimmt.

Ein Therapieansatz besteht möglicherweise darin den genauen Mechanismus des Abbaus elastischer Fasern zu beleuchten, um diesen zu unterbrechen. Da es sich beim sporadischen AAA eher um einen beschleunigten Abbau als um einem gestörten Aufbau der elastischen Fasern handelt, könnte über ein geeignetes Screening bereits bei einer Aortenektasie das weitere Voranschreiten gebremst oder gar verhindert werden. Eine therapeutische Beeinflussung der Entzündungsreaktion ist noch in weiter Ferne, da unser Verständnis der zeitlichen und örtlichen Abfolge in der Pathogenese des AAA

noch unvollständig ist. Hierzu bedarf es jedoch weiterer Untersuchung der genauen pathophysiologischen Abläufe der Aneurysmabildung bereits ab dem Stadium der Ektasie.

5. Zusammenfassung

Ein Aortenaneurysma ist definiert als die Erweiterung des Querdurchmessers eines Aortenabschnittes um mehr als 150% der altersentsprechenden Normgröße. Bei einem Aneurysma verum findet eine Erweiterung aller drei Wandschichten der Aorta statt. Das am häufigsten anzutreffende Aortenaneurysma ist das infrarenale Aortenaneurysma; in der Gruppe der thorakalen Aortenaneurysmen ist das Aorta ascendens Aneurysma die am häufigsten anzutreffende Entität. Das Erscheinungsbild eines Aneurysmas ist vielfältig und reicht von einer komplett asymptomatischen Form bis zur akut lebensbedrohlichen Aneurysmaruptur.

In der vorliegenden Arbeit soll anhand von histopathologischen Untersuchungen sowie durch die Analyse von mRNA-Expression erläutert werden, ob es sich bei einem Aneurysma der Aorta ascendens um einen chronischen inflammatorischen Prozess handelt. Des weiteren soll untersucht werden, inwiefern sich die Chemokinexpression von der in der Kontrollgruppe mit atherosklerotischer Aorta ohne Aneurysma unterscheidet.

Die klinischen Daten zeigen nahezu identische Patientenkollektive. Die Unterschiede sind durch die der Therapie zugrundeliegenden Erkrankungen entstanden.

Histopathologisch finden sich zunächst die typischen Veränderungen eines Aorta ascendens Aneurysma mit vermindertem Elastingehalt im Sinne einer Degeneration der Tunica media. In der Mac387- sowie der CD68-Färbung zeigt sich in der Aneurysma-Gruppe eine signifikant höhere Leukozytendichte. Der Ausgangspunkt der inflammatorischen Abläufe ist in der Adventitia lokalisiert; hier kommen frisch eingewanderte Leukozyten (Mac387-positiv) sowie vermehrt neu gebildete CD31-positive Vasa vasorum mit einer starken Expression von MCP-1 in diesen zur Darstellung. Die entscheidenden Veränderung spielen sich in der Media ab, in der sich signifikant mehr CD68-positive Gewebsmakrophagen finden.

Der Ribonuclease Protection Assay stellt für mehrere der untersuchten Chemokine eine verstärkte mRNA-Expression in der Aneurysmawand dar. Wegen der zu geringen Größe der untersuchten Gruppe zeigt sich keine signifikant veränderte Expression.

Durch die Darstellung der inflammatorischen Veränderungen in der Aneurysma-Gruppe kann die primäre Hypothese dieser Arbeit bestätigt werden. Bei dem Aorta ascendens

Aneurysma handelt es sich um eine Erkrankung mit aktiver Entzündungsreaktion in der Gefäßwand, da vermehrt frisch eingewanderte Leukozyten dargestellt werden. Ebenso finden sich vermehrt Mastzellen, die zur Erhaltung der chronischen Inflammation beitragen. Überraschenderweise zeigt sich in der Chemokinuntersuchung eine stärkere Expression von MCP-1 in der Kontrollgruppe, was auf die ebenfalls inflammatorische Genese der Atherosklerose zurückzuführen ist.

Einschränkungen der vorliegenden Arbeit bestehen zum einen in der geringen Größe des Patientenkollektives und zum anderen im bereits fortgeschrittenen Krankheitsstadium, weil das zur Operationsindikation führende Aorta ascendens Aneurysma eine Art Endstadium der Aneurysmabildung darstellt.

Für die Erstellung eines Chemokinmusters von Aneurysmen sind weitere Untersuchungen in diesem Bereich mit größeren Patientenkollektiven notwendig. Auf diesem Wege können vielleicht biochemische Marker identifiziert werden, die helfen könnten Hochrisikopatienten zu erkennen und einer rechtzeitigen Therapie zuzuführen.

6. Literaturverzeichnis

Agozzino L, Santè P, Ferraraccio F, Accardo M, De Feo M, De Santo LS, Nappi G, Agozzino M, Esposito S. Ascending aorta dilatation in aortic valve disease: morphological analysis of medial changes. *Heart Vessels* 2006; 2: 213-220

Akin I, Kische S, Schneider H, Ince H, Nienaber CA. Das thorakale Aortenaneurysma. *Internist* 2009; 50: 964-997

Ando M, Okita Y, Morota T, Takamoto S. Thoracic aortic aneurysm associated with congenital bicuspid aortic valve. *Cardiovasc Surg* 1998; 6: 629-634

Baxter BT. Heritable diseases of the blood vessels. *Cardiovasc Pathol* 2005; 14:185-188

Becker LC. Yin and yang of MCP-1. *Circ Res.* 2005; 96: 812-814

Belperio JA, Keane MP, Arenberg DA, Addison CL, Ehlert JE, Burdick MD, Strieter RM. CXC chemokines in angiogenesis. *J Leukoc Biol.* 2000; 68: 1-8

Biddinger A, Rocklin M, Coselli J, Milewicz DM. Familial thoracic aortic dilatations and dissections: a case control study. *J Vasc Surg.* 1997; 25: 506-511

Böckler D, Hylik-Dürr A, von Tengg-Kobligk H, Lopez-Benitez R, Kauczor HU, Klemm K. Klinische Anforderungen an die Bildgebung der Aorta. *Radiologe* 2007; 47: 962-973

Boileau C, Jondeau G, Mizuguchi T, Matsumoto N. Molecular genetics of Marfan syndrome. *Curr Opin Cardiol.* 2005; 20: 194-200

Bonderman D, Gharehbaghi-Schnell E, Wollenek G, Maurer G, Baumgartner H, Lang IM. Mechanisms underlying aortic dilatation in congenital aortic valve malformation. *Circulation.* 1999; 99: 2138-2143

Bondy CA. Aortic dissection in Turner syndrome. *Curr Opin Cardiol;* 23: 519-526

Brophy CM, Reilly JM, Smith GJ, Tilson MD. The role of inflammation in nonspecific abdominal aortic aneurysm disease. *Ann Vasc Surg.* 1991; 5: 229-233

Callow AD. Cardiovascular disease 2005--the global picture. *Vascul Pharmacol.* 2006; 45: 302-307

Charo IF, Taubman MB. Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ Res.* 2004; 95: 858-866

Choi KH, Rim SJ, Lee SK, Jang BC, Cho SH. Dissecting aortic aneurysm with aortic-valve insufficiency in systemic lupus erythematosus. *Nephrol Dial Transplant.* 1999; 14: 969-973

Coady MA, Davies RR, Roberts M, Goldstein LJ, Rogalski MJ, Rizzo JA, Hammond GL, Kopf GS, Elefteriades JA. Familial patterns of thoracic aortic aneurysms. *Arch Surg.* 1999; 134: 361-367

Coady MA, Rizzo JA, Hammond GL, Mandapati D, Darr U, Kopf GS, Elefteriades JA. What is the appropriate size criterion for resection of thoracic aortic aneurysms?. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1997; 113: 476-491

Creager MA, Jones DW, Easton D, Halperin JL, Hirsch AT, Matsumoto, AH, O'Gara, PT, Safian RD, Schwartz GL, Spittell JA. Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Writing Group V: Medical Decision Making and Therapy. *Circulation.* 2004; 109: 2634-2642

David TE. Surgical treatment of ascending aorta and aortic root aneurysms. *Prog Cardiovasc Dis.* 2010; 52: 438-444

David TE, Maganti M, Armstrong S. Aortic root aneurysm: principles of repair and long-term follow-up. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010; 140: S14-S19

Davies RR, Kaple RK, Mandapati D, Gallo A, Botta DM Jr, Elefteriades JA, Coady MA. Natural history of ascending aortic aneurysms in the setting of an unreplaced bicuspid aortic valve. *Ann Thorac Surg.* 2007; 83: 1338-1344

Davies RR, Goldstein LJ, Coady MA, Tittle SL, Rizzo JA, Kopf GS, Elefteriades JA. Yearly rupture or dissection rates for thoracic aortic aneurysms: simple prediction based on size. *Ann Thorac Surg.* 2002; 73: 17-27

Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res.* 2009; 29: 313-326

El-Hamamsy I, Yacoub MH. Cellular and molecular mechanisms of thoracic aortic aneurysms. *Nat Rev Cardiol.* 2009; 6: 771-786

Elefteriades JA. Natural history of thoracic aortic aneurysms: indications for surgery, and surgical versus nonsurgical risks. *Ann Thorac Surg.* 2002; 74: S1877-S1880

Elefteriades JA. Beating a sudden killer. *Sci Am.* 2005; 293: 64-71

Erdheim J. Medionecrosis aortae idiopathica cystica. *Virchow Arch* 1930; 276: 187-229

Faxon DP, Fuster V, Libby P, Beckman JA, Hiatt WR, Thompson RW, Topper JN, Annex BH, Rundback JH, Fabunmi RP, Robertson RM, Loscalzo J; American Heart Association. Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Writing Group III: pathophysiology. *Circulation.* 2004; 109: 2617-2625

Flavell DJ, Jones DB, Wright DH. Identification of tissue histiocytes on paraffin sections by a new monoclonal antibody. *J Histochem Cytochem.* 1987; 35: 1217-1226

Frangogiannis NG, Shimoni S, Chang SM, Ren G, Shan K, Aggeli C, Reardon MJ, Letsou GV, Espada R, Ramchandani M, Entman ML, Zoghbi WA. Evidence for an active inflammatory process in the hibernating human myocardium. *Am J Pathol.* 2002a; 160: 1425-1433

Frangogiannis NG, Shimoni S, Chang SM, Ren G, Dewald O, Gersch C, Shan K, Aggeli C, Reardon M, Letsou GV, Espada R, Ramchandani M, Entman ML, Zoghbi WA. Active interstitial remodeling: an important process in the hibernating human myocardium. *J Am Coll Cardiol.* 2002b; 39: 1468-1474

García-Ramallo E, Marques T, Prats N, Beleta J, Kunkel SL, Godessart N. Resident cell chemokine expression serves as the major mechanism for leukocyte recruitment during local inflammation. *J Immunol.* 2002; 169: 6467-6473

Germain DP. Ehlers-Danlos syndrome type IV. *Orphanet J Rare Dis.* 2007; 2: 32

Goebeler M, Roth J, Teigelkamp S, Sorg C. The monoclonal antibody MAC387 detects an epitope on the calcium-binding protein MRP14. *J Leukoc Biol.* 1994; 55: 259-261

Gott VL, Greene PS, Alejo DE, Cameron DE, Naftel DC, Miller DC, Gillinov AM, Laschinger JC, Pyeritz RE. Replacement of the aortic root in patients with Marfan's syndrome. *N Engl J Med.* 1999; 340: 1307-1313

Gravholt CH, Landin-Wilhelmsen K, Stochholm K, Hjerrild BE, Ledet T, Djurhuus CB, Sylvén L, Baandrup U, Kristensen BØ, Christiansen JS. Clinical and epidemiological description of aortic dissection in Turner's syndrome. *Cardiol Young.* 2006; 16: 430-436

Guo D, Hasham S, Kuang SQ, Vaughan CJ, Boerwinkle E, Chen H, Abuelo D, Dietz HC, Basson CT, Shete SS, Milewicz DM. Familial thoracic aortic aneurysms and dissections: genetic heterogeneity with a major locus mapping to 5q13-14. *Circulation.* 2001; 103: 2461-2468

Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005; 352: 1685-1695

Hansson GK. Inflammatory mechanisms in atherosclerosis. *J Thromb Haemost.* 2009; 7 Suppl 1: 328-331

Hasham SN, Guo DC, Milewicz DM. Genetic basis of thoracic aortic aneurysms and dissections. *Curr Opin Cardiol.* 2002; 17: 677-683

He R, Guo DC, Estrera AL, Safi HJ, Huynh TT, Yin Z, Cao SN, Lin J, Kurian T, Buja LM, Geng YJ, Milewicz DM. Characterization of the inflammatory and apoptotic cells in the aortas of patients with ascending thoracic aortic aneurysms and dissections. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006; 131: 671-678

He R, Guo DC, Sun W, Papke CL, Duraisamy S, Estrera AL, Safi HJ, Ahn C, Buja LM, Arnett FC, Zhang J, Geng YJ, Milewicz DM. Characterization of the inflammatory cells in ascending thoracic aortic aneurysms in patients with Marfan syndrome, familial thoracic aortic aneurysms, and sporadic aneurysms. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008; 136: 922-929, 929.e1

Heider P, Wolf O, Reeps C, Hanke M, Zimmermann A, Berger H, Eckstein HH. Aneurysmen und Dissektionen der thorakalen Aorten. *Chirurg.* 2007; 78: 600-610

Henderson EL, Geng YJ, Sukhova GK, Whitemore AD, Knox J, Libby P. Death of smooth muscle cells and expression of mediators of apoptosis by T lymphocytes in human abdominal aortic aneurysms. *Circulation.* 1999; 99: 96-104

Hof D, von Eckardstein A. Risikofaktoren der koronaren Herzkrankheit. *Ther Umsch* 2009; 66: 253-259

Holness CL, Simmons DL. Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. *Blood.* 1993; 81: 1607-1613

Ince H, Nienaber CA. Etiology, pathogenesis and management of thoracic aortic aneurysm. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2007; 4: 418-427

Isselbacher EM. Thoracic and abdominal aortic aneurysms. *Circulation.* 2005; 111: 816-828

Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J.* 1979; 11: 447-455

Kapustin AJ, Litt HI. Diagnostic imaging for aortic dissection. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2005; 17: 214-223

Keane MG, Wiegers SE, Plappert T, Pochettino A, Bavaria JE, Sutton MG. Bicuspid aortic valves are associated with aortic dilatation out of proportion to coexistent valvular lesions. *Circulation.* 2000; 102: III35-III39

Koch AE, Haines GK, Rizzo RJ, Radosevich JA, Pope RM, Robinson PG, Pearce WH. Human abdominal aortic aneurysms. Immunophenotypic analysis suggesting an immune-mediated response. *Am J Pathol.* 1990; 137: 1199-1213

Koch AE, Kunkel SL, Pearce WH, Shah MR, Parikh D, Evanoff HL, Haines GK, Burdick MD, Strieter RM. Enhanced production of the chemotactic cytokines interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 in human abdominal aortic aneurysms. *Am J Pathol.* 1993; 142: 1423-1431

Lanzarini L, Larizza D, Prete G, Calcaterra V, Meloni G, Sammarchi L, Klersy C. Aortic dimensions in Turner's syndrome: two-dimensional echocardiography versus magnetic resonance imaging. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2007; 8: 428-437

Lawrence EJ. The clinical presentation of Ehlers-Danlos syndrome. *Adv Neonatal Care.* 2005; 5: 301-314

Lesauskaite V, Tanganelli P, Sassi C, Neri E, Diciolla F, Ivanoviene L, Epistolato MC, Lalinga AV, Alessandrini C, Spina D. Smooth muscle cells of the media in the dilatative pathology of ascending thoracic aorta: morphology, immunoreactivity for osteopontin, matrix metalloproteinases, and their inhibitors. *Hum Pathol.* 2001; 32: 1003-1011

Leurs LJ, Bell R, Degrieck Y, Thomas S, Hobo R, Lundbom J; EUROSTAR; UK Thoracic Endograft Registry collaborators. Endovascular treatment of thoracic aortic diseases: combined experience from the EUROSTAR and United Kingdom Thoracic Endograft registries. *J Vasc Surg.* 2004; 40: 670-679

Levenson JW, Skerrett PJ, Gaziano JM. Reducing the global burden of cardiovascular disease: the role of risk factors. *Prev Cardiol.* 2002; 5: 188-199

Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002; 420: 868-874

Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002; 105: 1135-1143

Libby P. Vascular biology of atherosclerosis: overview and state of the art. *Am J Cardiol.* 2003; 91: 3A-6A

Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation*. 2005; 111: 3481-3488

Lindholt JS, Shi GP. Chronic inflammation, immune response, and infection in abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2006; 31: 453-463

Locati M, Otero K, Schioppa T, Signorelli P, Perrier P, Baviera S, Sozzani S, Mantovani A. The chemokine system: tuning and shaping by regulation of receptor expression and coupling in polarized responses. *Allergy*. 2002; 57: 972-982

Loeys BL, Chen J, Neptune ER, Judge DP, Podowski M, Holm T, Meyers J, Leitch CC, Katsanis N, Sharifi N, Xu FL, Myers LA, Spevak PJ, Cameron DE, De Backer J, Hellemans J, Chen Y, Davis EC, Webb CL, Kress W, Coucke P, Rifkin DB, De Paepe AM, Dietz HC. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFBR2. *Nat Genet*. 2005; 37: 275-281

Lopez L, Arheart KL, Colan SD, Stein NS, Lopez-Mitnik G, Lin AE, Reller MD, Ventura R, Silberbach M. Turner syndrome is an independent risk factor for aortic dilation in the young. *Pediatrics*. 2008; 121: e1622-e1627

McKellar SH, Tester DJ, Yagubyan M, Majumdar R, Ackerman MJ, Sundt TM 3rd. Novel NOTCH1 mutations in patients with bicuspid aortic valve disease and thoracic aortic aneurysms. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007; 134: 290-296

McMillan WD, Patterson BK, Keen RR, Pearce WH. In situ localization and quantification of seventy-two-kilodalton type IV collagenase in aneurysmal, occlusive, and normal aorta. *J Vasc Surg*. 1995; 22: 295-305

McMillan WD, Pearce WH. Inflammation and cytokine signaling in aneurysms. *Ann Vasc Surg*. 1997; 11: 540-545

Melgarejo E, Medina MA, Sánchez-Jiménez F, Urdiales JL. Monocyte chemoattractant protein-1: a key mediator in inflammatory processes. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009; 41: 998-1001

Middleton RK, Lloyd GM, Bown MJ, Cooper NJ, London NJ, Sayers RD. The pro-inflammatory and chemotactic cytokine microenvironment of the abdominal aortic aneurysm wall: a protein array study. *J Vasc Surg.* 2007; 45: 574-580

Middleton RK, Bown MJ, Lloyd GM, Jones JL, London NJ, Sayers RD. Characterisation of Interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 expression within the abdominal aortic aneurysm and their association with mural inflammation. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2009; 37: 46-55

Milewicz DM, Dietz HC, Miller DC. Treatment of aortic disease in patients with Marfan syndrome. *Circulation.* 2005; 111: e150-e157

Mimasaka S, Yajima Y, Hashiyada M, Nata M, Oba M, Funayama M. A case of aortic dissection caused by blunt chest trauma. *Forensic Sci Int.* 2003; 132: 5-8

Müller K, Ehlers S, Solbach W, Laskay T. Novel multi-probe RNase protection assay (RPA) sets for the detection of murine chemokine gene expression. *J Immunol Methods.* 2001; 249: 155-165

Murphy DP, Glazier DB, Krause TJ. Mycotic aneurysm of the thoracic aorta caused by *Clostridium septicum*. *Ann Thorac Surg.* 1996; 62: 1835-1837

Nienaber CA, Eagle KA. Aortic dissection: new frontiers in diagnosis and management: Part I: from etiology to diagnostic strategies. *Circulation.* 2003a; 108: 628-635

Nienaber CA, Eagle KA. Aortic dissection: new frontiers in diagnosis and management: Part II: therapeutic management and follow-up. *Circulation.* 2003b; 108: 772-778

Nollen GJ, Mulder BJ. What is new in the Marfan syndrome? *Int J Cardiol.* 2004; 97: 103-108

Oberwalder PJ. Aneurysmen und Dissektionen der thorakalen Aorten: Definition und Pathologie. *J Kardiol* 2001; 8: 2–4

Oderich GS, Panneton JM, Bower TC, Lindor NM, Cherry KJ, Noel AA, Kalra M, Sullivan T, Gloviczki P. The spectrum, management and clinical outcome of Ehlers-Danlos syndrome type IV: a 30-year experience. *J Vasc Surg.* 2005; 42: 98-106

Olsson C, Thelin S, Ståhle E, Ekbom A, Granath F. Thoracic aortic aneurysm and dissection: increasing prevalence and improved outcomes reported in a nationwide population-based study of more than 14,000 cases from 1987 to 2002. *Circulation*. 2006; 114: 2611-2618

Pacini D, Mattioli S, Di Simone MP, Ranocchi F, Grillone G, Di Bartolomeo R, Pierangeli A. Syphilitic aortic aneurysm: a rare case of tracheomalacia. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;1 26: 900-902

Pannu H, Fadulu VT, Chang J, Lafont A, Hasham SN, Sparks E, Giampietro PF, Zaleski C, Estrera AL, Safi HJ, Shete S, Willing MC, Raman CS, Milewicz DM. Mutations in transforming growth factor-beta receptor type II cause familial thoracic aortic aneurysms and dissections. *Circulation*. 2005a; 112: 513-520

Pannu H, Tran-Fadulu V, Milewicz DM. Genetic basis of thoracic aortic aneurysms and aortic dissections. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2005b; 139C: 10-16

Pepin M, Schwarze U, Superti-Furga A, Byers PH. Clinical and genetic features of Ehlers-Danlos syndrome type IV, the vascular type. *N Engl J Med*. 2000; 342: 673-680

Prech M, Grajek S, Cieśliński A, Jemielity M. Mycotic aneurysm of the ascending aorta following CABG. *Heart*. 2000; 83: E3

Rizas KD, Ippagunta N, Tilson MD 3rd. Immune cells and molecular mediators in the pathogenesis of the abdominal aortic aneurysm. *Cardiol Rev*. 2009; 17: 201-210

Rollins BJ. Release the hounds! A chemokine elicits monocytes from bone marrow. *Nat Immunol*. 2006; 7: 230-232

Rovin BH. Chemokine blockade as a therapy for renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2000; 9: 225-232

Shimizu K, Libby P, Mitchell RN. Local cytokine environments drive aneurysm formation in allografted aortas. *Trends Cardiovasc Med*. 2005; 15: 142-148

Shimizu K, Mitchell RN, Libby P. Inflammation and cellular immune responses in abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26: 987-994

Schoenenberger AW, Erne P. Koronare Herzkrankheit: Definitionen und Epidemiologie. *Ther Umsch.* 2009; 66: 223-229

Silberbach M. Bicuspid aortic valve and thoracic aortic aneurysm: toward a unified theory. *J Am Coll Cardiol.* 2009; 53: 2296-2297

Smith SC Jr, Milani RV, Arnett DK, Crouse JR 3rd, McDermott MM, Ridker PM, Rosenson RS, Taubert KA, Wilson PW; American Heart Association. Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Writing Group II: risk factors. *Circulation.* 2004; 109: 2613-2616

Statistisches Bundesamt, Gesundheitsberichterstattung des Bundes 2006: http://www.gbe-bund.de/gbe10/trecherche.prc_them_rech?tk=8500&tk2=8700&p_uid=gast&p_aid=8841384&p_sprache=D&cnt_ut=6&ut=8800 (15.02.2011)

Stievano L, Piovan E, Amadori A. C and CX3C chemokines: cell sources and physiopathological implications. *Crit Rev Immunol.* 2004; 24: 205-228

Taggart DP. Coronary artery bypass graft vs. percutaneous coronary angioplasty: CABG on the rebound? *Curr Opin Cardiol.* 2007; 22: 517-523

Tang PC, Yakimov AO, Teesdale MA, Coady MA, Dardik A, Elefteriades JA, Tellides G. Transmural inflammation by interferon-gamma-producing T cells correlates with outward vascular remodeling and intimal expansion of ascending thoracic aortic aneurysms. *FASEB J.* 2005; 19: 1528-1530

Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev.* 2006; 86: 515-581

Thompson RW, Parks WC. Role of matrix metalloproteinases in abdominal aortic aneurysms. *Ann N Y Acad Sci.* 1996; 800: 157-174

Tilson MD, Elefteriades J, Brophy CM. Tensile strength and collagen in abdominal aortic aneurysm disease. In: Greenhalgh RM, Mannick JA, Powell JT (ed.). *The Cause and Management of Aneurysms.* London: WB Saunders Company, 1990: 97-104

Tiong AY, Brieger D. Inflammation and coronary artery disease. *Am Heart J.* 2005; 150: 11-18

Tsuruda T, Kato J, Hatakeyama K, Kojima K, Yano M, Yano Y, Nakamura K, Nakamura-Uchiyama F, Matsushima Y, Imamura T, Onitsuka T, Asada Y, Nawa Y, Eto T, Kitamura K. Adventitial mast cells contribute to pathogenesis in the progression of abdominal aortic aneurysm. *Circ Res.* 2008; 102: 1368-1377

Vaughan CJ, Casey M, He J, Veugelers M, Henderson K, Guo D, Campagna R, Roman MJ, Milewicz DM, Devereux RB, Basson CT. Identification of a chromosome 11q23.2-q24 locus for familial aortic aneurysm disease, a genetically heterogeneous disorder. *Circulation.* 2001; 103: 2469-2475

Walker DI, Bloor K, Williams G, Gillie I. Inflammatory aneurysms of the abdominal aorta. *Br J Surg.* 1972; 59: 609-614

Wallinder J, Bergqvist D, Henriksson AE. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine balance in patients with abdominal aortic aneurysm and the impact of aneurysm size. *Vasc Endovascular Surg.* 2009; 43: 258-261

Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 2514-2523

Yacoub MH, Gehle P, Chandrasekaran V, Birks EJ, Child A, Radley-Smith R. Late results of a valve-preserving operation in patients with aneurysms of the ascending aorta and root. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1998; 115: 1080-1090

Yang ZK, Shen WF, Zhang RY, Kong Y, Zhang JS, Hu J, Zhang Q, Ding FH. Coronary artery bypass surgery versus percutaneous coronary intervention with drug-eluting stent implantation in patients with multivessel coronary disease. *J Interv Cardiol.* 2007; 20: 10-16

Young JL, Libby P, Schönbeck U. Cytokines in the pathogenesis of atherosclerosis. *Thromb Haemost.* 2002; 88: 554-567

Zernecke A, Weber C. Inflammatory mediators in atherosclerotic vascular disease. Basic Res Cardiol. 2005; 100: 93-101

7. Danksagung

Herrn PD Dr. med. Oliver Dewald möchte ich zum einen für die freundliche Überlassung der Thematik und die Möglichkeit der Bearbeitung herzlich danken.

Herr PD Dr. med. Oliver Dewald hat mich außerdem während der gesamten Dauer dieser Arbeit unermüdlich unterstützt. Theoretisch, praktisch aber in besonderem Maße durch seine motivierende Art hat er zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen.

Bei Prof. Dr. med. Armin Welz möchte ich mich für die Möglichkeit bedanken, das Thema in der Klinik für Herzchirurgie des Universitätsklinikums Bonn realisieren zu können.

Mein weiterer Dank gilt den Mitarbeitern des Departement of Cardiovascular Sciences des "Baylor College of Medicine", Pankaj Madan, Thorsten Leucker, Hyuk-Jung Kweon und Nikolaos G. Frangogiannis.

Des weiteren möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Labors der herzchirurgischen Klinik Frau Christine Peigney und Herrn Helge Dörr herzlich bedanken, deren Hilfe ich oft in Anspruch genommen habe.

Frau Christiane Radine gebührt mein Dank für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Zuletzt möchte ich meiner Frau und meiner Tochter für das Verständnis und die Unterstützung während der Fertigstellung dieser Arbeit bedanken.