

Aus der Klinik für Gefäßchirurgie und Nierentransplantation

der Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf

Direktor: Universitätsprofessor Dr. W. Sandmann

Gibt es eine angeborene oder erworbene Prädisposition zur Aortendissektion ?

Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach Chirurgie
Schwerpunkt Gefäßchirurgie
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Barbara Theresia Müller

Düsseldorf, im Oktober 2003

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	4
Fragestellung	6
Methodik	7
1. <i>Epidemiologie der Aortendissektion; Erhebung im Gesamtkrankengut</i>	7
2. <i>Klinische Untersuchungen von Dissektionspatienten</i>	8
3. <i>Ätiologische Unterschiede der einzelnen Dissektionsgruppen; Erhebung im klinisch untersuchten Krankengut</i>	11
4. <i>Molekularbiologische Untersuchungen der dissezierten Aortenwand</i>	12
Die 3 verschiedenen Array-Typen	12
Patienten und Kontrollpersonen	15
RNA-Isolierung	15
Überprüfung der RNA-Menge und –Qualität	16
Umschreiben auf cDNA	17
Hybridisierung	18
Ablesen der Genexpression	18
Weitere Analyse der normalisierten Expressionswerte	20
5. <i>Statistische Methoden</i>	21
Ergebnisse	22
1. <i>Epidemiologie der Aortendissektion; Erhebung im Gesamtkrankengut</i>	22
2. <i>Klinische Untersuchungen von Dissektionspatienten</i>	25
3. <i>Ätiologische Unterschiede der einzelnen Dissektionsgruppen; Erhebung im klinisch untersuchten Krankengut</i>	31
4. <i>Molekularbiologische Untersuchungen der dissezierten Aortenwand</i>	33
Genexpressionsstudie A	33
Genexpressionsstudie B	39
Genexpressionsstudie C	44

Diskussion	48
<i>Angeborene Bindegewebserkrankungen</i>	48
Marfan-Syndrom	48
Ehlers-Danlos-Syndrom	49
<i>Bindegewebsauffälligkeiten, denen kein Syndrom zugrundeliegt</i>	49
Individuelle Bindegewebsauffälligkeiten	49
Familiäre Bindegewebsauffälligkeiten	50
<i>Andere Ursachen der Aortendisektion</i>	51
Entzündliche Erkrankungen	51
Drogenabusus	51
Schwangerschaft	52
Kardiale oder aortale Vorerkrankungen	53
Arteriosklerose	53
Hypertonie	53
Medionecrosis Erdheim Gsell	54
<i>Molekularbiologische Untersuchungen der dissezierten Aortenwand</i>	55
Proteinbiosynthese, Inflammation	55
Extrazelluläre Matrix	57
Zellbeweglichkeit und Zytoskelett	61
Vergleich mit abdominellen Aortenaneurysmen	62
Resümee	62
Zusammenfassung	64
Literaturverzeichnis	67
Danksagung	82

Einleitung

Eine Aortendissektion ist 2-3 mal häufiger als eine Ruptur eines Aortenaneurysmas und ist damit der häufigste aortale Notfall überhaupt (1). Die Erkrankung beginnt mit einem Einriß (Entry) in den inneren Gefäßschichten der Aorta, der Intima und Media. Von dort wühlt sich das Blut in Blutstromrichtung nach distal. Die Gefäßwand wird separiert, es bildet sich im Bereich der Media ein Falschkanal aus. In den meisten Fällen kommt es durch Wiedereinriß der Intima und Media (Reentry) weiter distal in der Aorta zur Selbstheilung. In diesem Fall fließt das Blut in 2 Röhren, dem ehemaligen Gefäßlumen, dem „wahren“ Lumen und in der Media der Gefäßwand, dem „falschen“ Lumen. Besonders bei den herznahen Aortendissektionen kommt es häufiger zu einer Perforation der Adventitia, und damit der ganzen Gefäßwand, und der Patient verstirbt im Blutungsschock. Einer anderen Theorie zufolge kann das Erstereignis jedoch auch eine Blutung kleinerer Gefäße (vasa vasorum) sein, die sich in der Media befinden und die Aufgabe haben, die Wand größerer Gefäße zu ernähren (2-4). In diesem Fall entsteht zunächst ein Gefäßwandhämatom und die Gefäßinnenwand reißt dann sekundär ein.

Die heute gebräuchliche Klassifikation wurde von Daily an der Stanford-University entwickelt (5). Die Stanford-Klassifikation berücksichtigt nur den Ort des Dissektionsbeginns. Sie unterscheidet die herznahen Aortendissektionen, die ihren Anfang in der Aorta ascendens haben (Stanford A) von den herzfernen Dissektionen (Stanford B), die in der Aorta thoracalis descendens, distal des Abganges der A. subclavia beginnen. De Bakey hatte schon 1955 eine Klassifikation eingeführt, die 3 Typen unterschied, wobei de Bakey I der Stanford A und de Bakey III der Stanford B-Dissektion entspricht. Eine lokale, nur auf die Aorta ascendens beschränkte Dissektion, wurde als de Bakey II-Dissektion bezeichnet (6). Der Einfachheit halber wird im weiteren Text von A1-Dissektion (Beginn der Dissektion in der Aorta ascendens, gesamte Aorta betroffen), A2-Dissektion (lokale, auf die Aorta ascendens beschränkte Dissektion) und B-Dissektion (Beginn der Dissektion in der Aorta thoracalis descendens) gesprochen.

Hirst ermittelte 1957, daß ohne Behandlung 80 % der Patienten innerhalb des ersten Monats ihrer Aortendissektion erlagen (7). Patienten mit einer Stanford A-Dissektion versterben meist an einer Aortenperforation mit Perikardtamponade oder an einer akuten Aorteninsuffizienz, während Stanford B-Patienten weniger durch eine Aortenperforation, als durch eine Durchblutungsstörung anhängiger Organ- oder Extremitätenarterien gefährdet sind (8-11).

De Bakey versuchte als erster Chirurg das tragische Schicksal der Dissektionspatienten zu verbessern (12). Er entwickelte die noch heute für Stanford A-Dissektionen angewandte Operationsmethode mit Resektion und prothetischem Ersatz der dissezierten Aorta ascendens. Schon 1965 hatte er 179 Patienten mit einer akuten Aortendissektion operiert, die 30-Tage-Letalität war mit nur 23 % sensationell gering (6). Wheat propagierte die konservativ medikamentöse Therapie der Aortendissektion, indem er pharmakologisch die Hämodynamik des Blutstroms veränderte. Zunächst wurden Ganglienblocker, später Beta- Rezeptorenblocker verwendet, die einerseits den Blutdruck senken, andererseits auch die Steilheit des Blutdruckanstieges hemmen (13). Eine Meta-Analyse der Behandlungsergebnisse von 6 verschiedenen Zentren zeigte schließlich eine Überlegenheit der chirurgischen Therapie bei den Stanford A-Dissektion (Mortalität: Chirurgie 30 % vs. konservativ medikamentös 74 %) und eine Überlegenheit der konservativ medikamentösen Therapie bei Stanford B-Dissektionen (Mortalität: Chirurgie 50 % vs. konservativ medikamentös 20 %) (14). Seit dieser Zeit wird die akute Stanford A-Dissektion in fast allen Zentren operativ und die akute Stanford B-Dissektion primär konservativ behandelt (15-21).

Die Inzidenz der Erkrankung kann nur abgeschätzt werden. In älteren Autopsiestudien wurde eine Inzidenz von 1 Aortendissektion auf 128 bis 714 Autopsien gefunden (1,4 – 8 Promille) (22-25). In der Mayo-Clinic, Rochester, wurden in einem Zeitraum von 30 Jahren 37 Patienten wegen einer neu aufgetretenen Aortendissektion behandelt und daraus eine Neuerkrankungsrate für Minnesota von 30 Fällen/1 Million Einwohner/ Jahr ermittelt (26). Eine im Jahr 2000 veröffentlichte Longitudinalstudie aus Ungarn kam mit 29 Neuerkrankungen/ 1 Million Einwohner/ Jahr zu einem ähnlichen Ergebnis (27).

Die Aortendissektion entwickelt sich plötzlich, ohne erkennbare vorherige Symptome. Verschiedene Risikofaktoren werden angeschuldigt, an der Ausbildung einer Aortendissektion beteiligt zu sein. So weiß man, daß Patienten mit einer angeborenen Bindegewebsschwäche, wie das Marfan- Syndrom oder das Ehlers-Danlos-Syndrom, schon in frühen Lebensjahren zur Aortendissektion neigen (28-35). Auch eine langjährige Hypertonie und vorbestehende arteriosklerotische Veränderungen der Aorta scheinen eine gewisse prädisponierende Wirkung zu haben (36-38). Immer wieder wird auch von Familien berichtet, bei denen mehrere Familienmitglieder ohne erkennbaren genetischen Defekt an einer Aortendissektion erkrankten (39-41).

Fragestellung

Obwohl verschiedene Risikofaktoren für die Aortendissektion bekannt sind, bleibt die Ursache der Erkrankung bei den meisten Patienten unklar. In der vorliegenden Arbeit wird die Ätiologie der Aortendissektion untersucht. Besonderes Augenmerk wird darauf gelegt, ob eine bisher unbekannte, angeborene oder erworbene Bindegewebsstörung Ursache der Dissektion sein könnte.

1. Epidemiologie der Aortendissektion; Erhebung im Gesamtkrankengut

Anhand des chirurgischen Krankengutes des Universitätsklinikums Düsseldorf werden epidemiologische Daten über die Aortendissektion erhoben.

2. Klinische Untersuchungen von Dissektionspatienten

Durch klinische Untersuchungen von Patienten mit einer Aortendissektion und Kontrollpersonen werden phänotypische Zeichen einer möglichen Bindegewebschwäche erfaßt.

3. Ätiologische Unterschiede der einzelnen Dissektionsgruppen; Erhebung im klinisch untersuchten Krankengut

Durch Analyse anamnestischer und klinischer Daten wird untersucht, ob sich die einzelnen Dissektionsgruppen Stanford A1, -A2 und -B in ihrer Ätiologie unterscheiden.

4. Molekularbiologische Untersuchungen der dissezierten Aortenwand

Durch Genexpressionsstudien von akut dissezierter, bei der Operation von Stanford A-Dissektion entnommener Aorta ascendens, werden molekularbiologische Veränderungen der Aortenwand als mögliche Hinweise auf eine genetische Prädisposition zur Aortendissektion untersucht und mit gesunder Aorta ascendens verglichen, die im Rahmen der Multiorganspende entnommen wurde.

Methodik

1. Epidemiologie der Aortendissektion; Erhebung im Gesamtkrankengut

Es wurden alle Patienten ermittelt, die in der Klinik für Thorax- und Kardiovaskularchirurgie in der Zeit von 1.1.1984 - 28.02.2003 an einer Stanford A-Dissektion operiert wurden. Dazu wurden die Operationsbücher der herzchirurgischen Operationssäle, in denen sämtliche Operationen verzeichnet sind, durchgesehen. Seit 1995 werden die Operationen in der Klinik für Thorax- und Kardiovaskularchirurgie auch digital erfaßt. Diese digitale Dokumentation fungierte als Kontrolle.

Stanford B-Dissektionen werden primär konservativ medikamentös behandelt und nur Komplikationen, wie eine Aortenperforation oder dissektionsbedingte Organ- oder Extremitätendurchblutungsstörungen werden operativ angegangen. Diese konservativ behandelten Patienten werden im allgemeinen in den ersten 2 Wochen ihrer Erkrankung stationär in internistischen Abteilungen überwacht. Zur Kontrolle, ob eine Operationsindikation besteht, werden Stanford B-Patienten des erweiterten Einzugsgebiets der Universitätsklinik Düsseldorf üblicherweise mit bildgebender Diagnostik in der Klinik für Gefäßchirurgie und Nierentransplantation konsiliarisch vorgestellt. In dieser Studie wurden alle Patienten mit einer Stanford B-Dissektion ausgewertet, die bei uns vorgestellt wurden und bei denen wir die Entscheidung zum primär konservativ medikamentösen Vorgehen getroffen haben. Für diese Patientenselektion wurden alle ambulanten Krankenakten, Behandlungskarten und Konsilarscheine durchgesehen, die in der Zeit vom 1.1.1984 - 28.02.2003 angelegt worden sind.

Danach wurde mit den Stanford A- und B-Patienten gleich verfahren. Sämtliche Krankenblätter mit Anamnesebögen, Briefen einweisender Krankenhäuser, Operationsprotokollen, Entlassungsberichten, Dokumentationen ambulanter Untersuchungen und Behandlungen sowie Computertomografien des Thorax und Abdomens wurden durchgesehen und ausgewertet. Die noch lebenden Patienten wurden zur Anamneseerhebung und klinischen Untersuchung einbestellt oder telefonisch befragt. Information über verstorbene Patienten wurden durch die Analyse der Krankenblätter, durch telefonische Befragung der Angehörigen, der Hausärzte, Entlassungsbriefe nachbehandelnder Krankenhäuser und durch Todesbescheinigungen gewonnen. Angeborene Bindegewebsanomalien, wie ein Marfan- oder Ehlers-Danlos-Syndrom, ein schon vor der Dissektion vorhandener Hypertonus und allgemeine Arteriosklerosisrisikofaktoren, wie ein Diabetes mellitus,

Lipidstoffwechselstörung oder ein Nikotinabusus wurden registriert. Bei der Abklärung der Dissektionsrisikofaktoren wurde ein besonderes Augenmerk darauf gelegt, welche kardialen oder aortalen Erkrankungen vor dem Dissektionsereignis bestanden. Damit sollten lokal mechanische Faktoren, wie zum Beispiel ein verändertes Strömungsprofil bei einem Herzklappenfehler, oder eine lokale Hypertonie bei einer Aortenisthmusstenose, als mögliche ätiologische Faktoren erfaßt werden. Konservativ, ohne Operation behandelte Veränderungen der Herzkranzgefäße blieben unberücksichtigt, da diese keinen Einfluß auf die Aorta selbst haben. Bei der Analyse wurden nur diejenigen Aortenklappenfehler und aortalen Veränderungen ausgewertet, die schon vor dem Dissektionsereignis bestanden hatten und vor dem Dissektionsereignis durch eine Coronarangiografie, eine Echokardiografie oder eine Computertomografie diagnostiziert und auch dokumentiert worden waren. Aortenvitien und aortale Veränderungen, die sich im Rahmen der akuten Dissektion ausgebildet hatten, blieben bei der Analyse unberücksichtigt. Vor der Dissektion durchgeführte Herz- und Aortenoperationen wurden registriert, um möglicherweise iatrogen, zum Beispiel durch einen Aortenklammerschaden, entstandene Aortendissektionen zu erfassen.

2. Klinische Untersuchungen von Dissektionspatienten

Alle noch lebenden Personen des oben beschriebenen Patientenkollektivs wurden angeschrieben und/oder angerufen und gebeten, sich zu einer persönlichen Untersuchung in der Klinik für Gefäßchirurgie und Nierentransplantation vorzustellen. Die Patienten, die zur persönlichen Untersuchung bereit waren, wurden nach einem speziellen Protokoll zur Erfassung von phänotypischen Zeichen einer Bindegewebsschwäche untersucht und befragt (Abb. 2.1). Dieses Protokoll wurde gemeinsam mit dem Institut für Humangenetik (Direktorin Frau Prof. Dr. Royer-Pokora), Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf entwickelt und entspricht einem modifizierten Marfan- und Ehlers-Danlos-Untersuchungsprotokoll. Gleichzeitig wurde auch ein Familienstammbaum erstellt und eine Familienanamnese erhoben (Abb. 2.1). Patienten mit 2 oder mehr positiven Körpermaß-Indices und oder 2 oder mehr positiven spezifischen Bindegewebszeichen wurden im Institut für Humangenetik zum Ausschluß eines Marfan-Syndroms oder eines Ehlers-Danlos-Syndroms vorgestellt. Marfan- oder Ehlers-Danlos-Patienten wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Jedem Dissektionspatienten, der klinisch kein Marfan- oder Ehlers-Danlos-Syndrom aufwies, wurde eine Kontrollperson gleichen Geschlechts und gleichen Alters zugewiesen, die ebenfalls nach dem Protokoll zur Erfassung von phänotypischen Zeichen einer Bindegewebsschwäche untersucht und befragt wurden. Diese Kontrollpersonen rekrutierten sich aus

gesunden Probanden und Patienten, die aus anderer Krankheitsursache an der Universität Düsseldorf stationär aufgenommen waren. Ausschlußkriterien für die Kontrollpersonen war eine Aorten- oder Arteriendissektion oder eine aneurysmatische Erkrankung der Aorta oder der Arterien.

Protokoll zur Erfassung phänotypischer Merkmale einer Bindegewebschwäche

Alter (Monaten)

Geschlecht m/w

Body Mass Index

Allgemeine Zeichen der Bindegewebschwäche

Varizen	ja	1	nein	0
Leistenbruch	ja	1	nein	0
Hämorrhoiden	ja	1	nein	0
<i>Punkte insgesamt</i>				

Spezielle Zeichen der Bindegewebschwäche

Vermeehrt Blutergüsse	ja	1	nein	0
Dehnbare Haut	ja	1	nein	0
Narben	dünn	1	normal	0
	Keloid	0		
	keine	0		
Überstreckbare Gelenke	ja	1	nein	0
Thoraxdeformitäten	ja	1	nein	0
Linsenschlottern	ja	1	nein	0
<i>Punkte insgesamt</i>				

Körpermaß-Indices

Handlängen-Index =>11%	ja	1	nein	0
Fußlängen-Index=>15%	ja	1	nein	0
Armspanne/Körperhöhe-Index=>1,05	ja	1	nein	0
Oberkörper/Unterkörper =>0,85	ja	1	nein	0
Handgelenkszeichen	pos	1	neg	0
Daumenzeichen	pos	1	neg	0
<i>Punkte insgesamt</i>				

Familiäre Zeichen der Bindegewebschwäche

Familiäre Dissektionen	ja	1	nein	0
Familiäre Aneurysmen	ja	1	nein	0
Familiäre Hirnblutungen oder cerebrale Aneurysmen	ja	1	nein	0
Familiäre plötzliche Todesfälle	ja	1	nein	0
Familiär vermehrt Blutergüsse	ja	1	nein	0
<i>Punkte insgesamt</i>				

Abb. 2.1: Untersuchungsprotokoll zur Erfassung phänotypischer Merkmale einer Bindegewebschwäche

3. Ätiologische Unterschiede der einzelnen Dissektionsgruppen; Erhebung im klinisch untersuchten Krankengut

Zur Analyse, ob die einzelnen Dissektionsgruppen Stanford A1, -A2 und -B eine unterschiedliche Ätiologie aufweisen, wurden jedem persönlich anamnestizierten und untersuchten Dissektionspatienten einzelne ätiologische Risikofaktoren zugeordnet. Als Risikofaktor wurde definiert und analysiert:

- Hypertonus vor der Dissektion, wurde als positiv gewertet, wenn schon vor dem Dissektionsereignis ein medikamentös eingestellter Hypertonus bestand.
- arteriosklerotische Risikofaktoren, wurden als positiv gewertet, wenn mindestens 2 der 3 Risikofaktoren (Diabetes mellitus, Lipidstoffwechselstörung, Nikotinabusus) vorhanden waren.
- Vor der Dissektion kardial oder aortal erkrankt bedeutet Erkrankungen des linken Herzens, der Aorta ascendens oder des Aortenbogens, entweder konservativ oder operativ behandelt. Die konservativ behandelte coronare Herzkrankheit blieb unberücksichtigt.
- Aneurysma der Aorta descendens bedeutet schon vor der Dissektion vorhandenes Aneurysma der Aorta descendens, konservativ oder operativ behandelt.
- Phänotypische Bindegewebsschwäche wurde als positiv gewertet, wenn ein Patient mindestens 4 der möglichen 15 individuellen Zeichen für eine Bindegewebsschwäche (allgemeine und spezielle Zeichen und positiver Körpermaßindex) aufwies.

4. Molekularbiologische Untersuchungen der dissezierten Aortenwand

Akut dissezierte Aorta ascendens von Patienten mit einer Stanford A1-Dissektion wurde bei der operativen Sanierung gewonnen und mit nicht dissezierter Aorta ascendens von Multiorganspendern, bei denen die Probe im Rahmen der Herzspende entnommen wurde, verglichen. Die Gewebe wurden sofort nach der Entnahme mit flüssigem Stickstoff schockgefroren und dann in einem -80 °C Gefrierschrank bis zur RNA-Isolierung aufbewahrt.

Die Studie wurde von der Ethik Kommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf befürwortet. Die Patienten/ Angehörigen waren einverstanden.

Die 3 verschiedenen Array-Typen

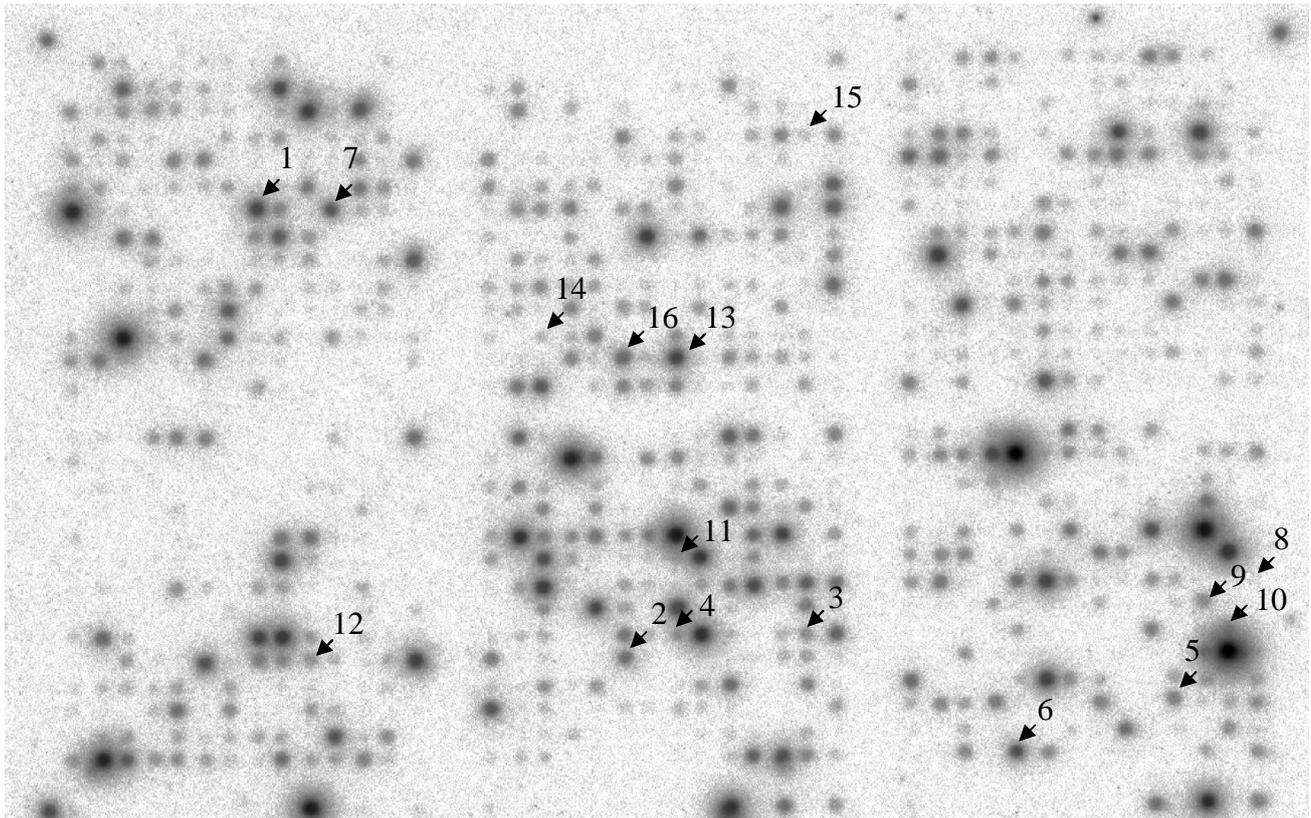
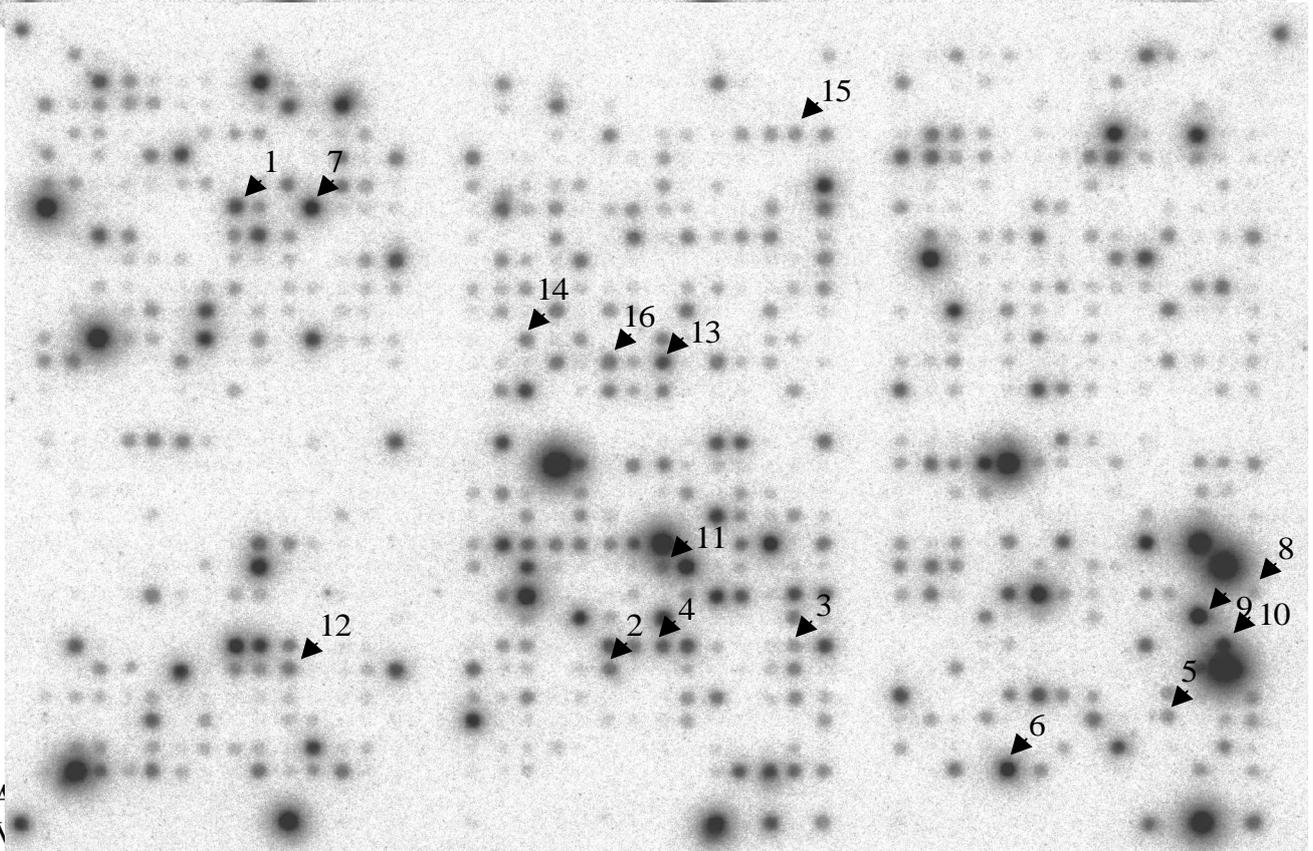
Es wurden 3 unterschiedliche Genexpressionsstudien im Institut für Onkologische Chemie (Direktor Prof. Dr. Bojar), Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf durchgeführt.

Genexpressionsstudie A:

Die erste Untersuchung erfolgte mit den breit gefächerten *BD AtlasTM Human1.2, I,II,III Arrays* (Clontech Laboratories, Inc., US). Diese Arrays bestehen aus 3 unterschiedlichen Nylon-Membranen auf denen insgesamt 3537 einfache cDNA Spots (3528 bekannte menschliche Gene und 9 „House-keeping-Gene“) aufgebracht sind. Die Arrays werden mit radioaktiv markierter cDNA inkubiert (Abb. 4.1)

Genexpressionsstudie B:

Zur Komplettierung der, unter A genannten, Untersuchung wurde eine zweite Genexpressionsstudie mit einem speziell auf das Herz-Kreislauf-System zugeschnittenen Array, dem *BD AtlasTM Human Cardiovascular Array* (Clontech Laboratories, Inc., US) angeschlossen. Auf dieser Nylon-Membran sind 588 für das Kardiovaskular-System spezifische Gene und 9 „House-keeping- Gene“ doppelt gespottet aufgebracht. Auch dieser Array wird mit radioaktiv markierter cDNA inkubiert.

A**B**A
V

Die Zahlen markieren einzelne unterschiedlich exprimierte Gene.

Genexpressionsstudie C:

Die Ergebnisse der oben beschriebenen Genexpressionstudien wurden durch eine Affymetrix GeneChip® Analyse validiert. Der *Affymetrix Human Genome U133A GeneChip®* ist ein kleiner Glasfilter auf dem 22.284 humane Genfragmente und EST Sequenzen appliziert sind. Im Gegensatz zu den Atlas Arrays wird der Filter mit cRNA inkubiert, die später mit einem Fluoreszenzfarbstoff beladen wird (Abb. 4.2 und 4.3)



Abb. 4.2: Affymetrix Human Genome U133A GeneChip®
Glasfilter Chip

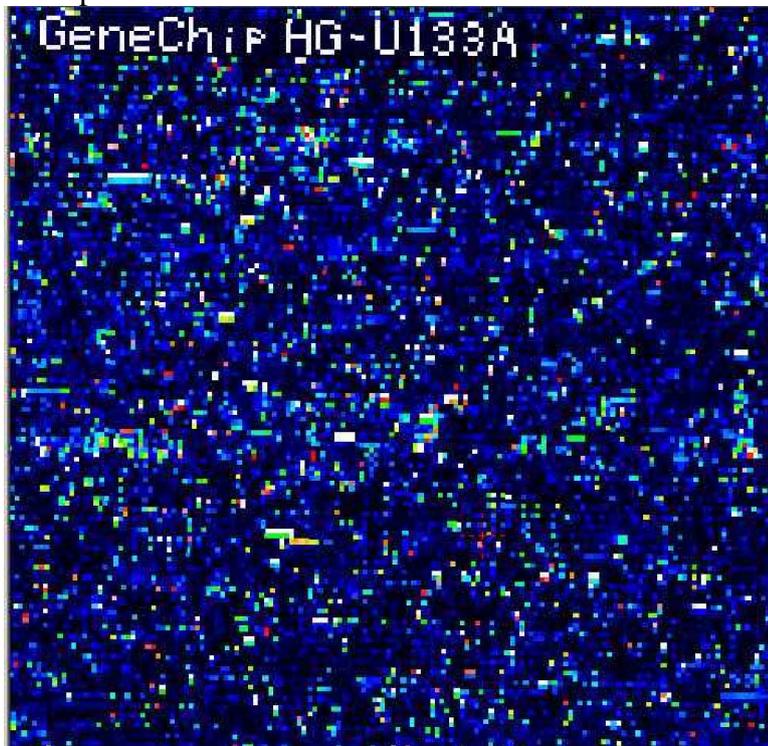


Abb. 4.3: Affymetrix Human Genome U 133A GeneChip®
Fluoreszenz markierte Genspots.

Patienten und Kontrollpersonen

Genexpressionsstudie A:

Für unsere erste Genexpressionsstudie wurde die Aorta ascendens von 6 Patienten mit einer akuten Stanford A-Dissektion (3 Männer 42, 50, 55 Jahre und 3 Frauen 57, 66, 75 Jahre, Durchschnittsalter 57,5±11,7 Jahre) mit der Aorta ascendens von 6 Multiorganspendern (4 Männer 30, 38, 48, 65 Jahre und 2 Frauen 14 und 45 Jahre, Durchschnittsalter 40±17,3 Jahre) verglichen. Keiner der Patienten hatte ein Marfan- oder Ehlers-Danlos-Syndrom.

Um den Einfluß der Gefäßwandspaltung selbst zu analysieren wurden außerdem bei 4 Stanford A-Patienten dissezierte Anteile und nicht dissezierte Anteile der gleichen Aortenprobe miteinander verglichen.

Genexpressionsstudie B:

In unserer zweiten Genexpressionsstudie wurden 8 Patienten mit einer akuten Stanford A-Dissektion (6 Männer 40, 41, 41, 49, 52, 54 Jahre und 2 Frauen 52 und 63 Jahre, Durchschnittsalter 49±8 Jahre) mit 8 Multiorganspendern (3 Männer 23, 42, 65 Jahre und 5 Frauen 40, 42, 43, 45, 53 Jahre, Durchschnittsalter 44±11,9 Jahre) verglichen.

Genexpressionstudie C:

Bei der dritten Genexpressionsstudie wurden 4 Patienten mit einer akuten Stanford A-Dissektion (4 Männer 40, 41 , 52, 54 Jahre, Durchschnittsalter 46,8±7,3 Jahre) und 4 Multiorganspender (1 Mann 65 Jahre und 3 Frauen 40, 42 und 45 Jahre, Durchschnittsalter 53±13,9 Jahre) miteinander verglichen.

RNA- Isolierung

Die Gesamt-RNA-Isolierung für unsere erste Genexpressionstudie A erfolgte nach der Phenol/Chloroform-Methode (42).

Für die nachfolgenden Genexpressionsstudien B und C wurde tiefgefrorenes Aortengewebe mechanisch zerkleinert und unter Zugabe von RLT-Lysis-Puffer (RNeasy-Maxi-Kit; Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland) homogenisiert. Aus diesem gewonnenen Homogenat wurde die Gesamt-RNA mit dem RNeasy-Maxi-Kit (Qiagen) einschließlich eines DNase-Verdau (RNase-Free DNase Set; Qiagen) isoliert. Die so gewonnene RNA wurde bei -80° C aufbewahrt.

Überprüfung der RNA-Menge und -Qualität

Zur Konzentrationsbestimmung wurden 0,5 bis 1,0 µl RNA 1:50 bis 1:200 in H₂O verdünnt und die Absorption bei 260 nm gemessen (Biophotometer; Eppendorf, Köln, Deutschland).

Für die Bestimmung der RNA-Qualität wurden gleiche Verdünnungen in TE-Puffer (40 mM Tris-HCL, 10 mM EDTA, pH 7,5) hergestellt und über ein Spektrum von 220-320 nm gemessen (DU640 Spektrophotometer; Beckmann Coulter GmbH, Unterschleißheim, Deutschland). Über die Verhältnisse A_{260}/A_{280} , A_{260}/A_{230} sowie die Form der Absorptionskurve läßt sich der Aufreinigungsgrad der RNA von Proteinen, Polysacchariden und Salzresten erkennen. Zusätzlich wurde die Qualität mit Hilfe der Agarose-Gelelektrophorese überprüft (1,2 % Agarose). Anhand der Banden und der Verhältnisse zwischen 28S- und 18S-RNA wurde die Qualität hinsichtlich des Abbaugrades beurteilt. Zur weiteren Absicherung der RNA Qualität wurden extern im BMFZ (Biomedizinisches Forschungszentrum) ca. 200 ng/µl RNA jeder Probe auf dem Agilent 2100 Bioanalyser (Agilent Technologies, Berlin, Deutschland) untersucht (Abb. 4.4).

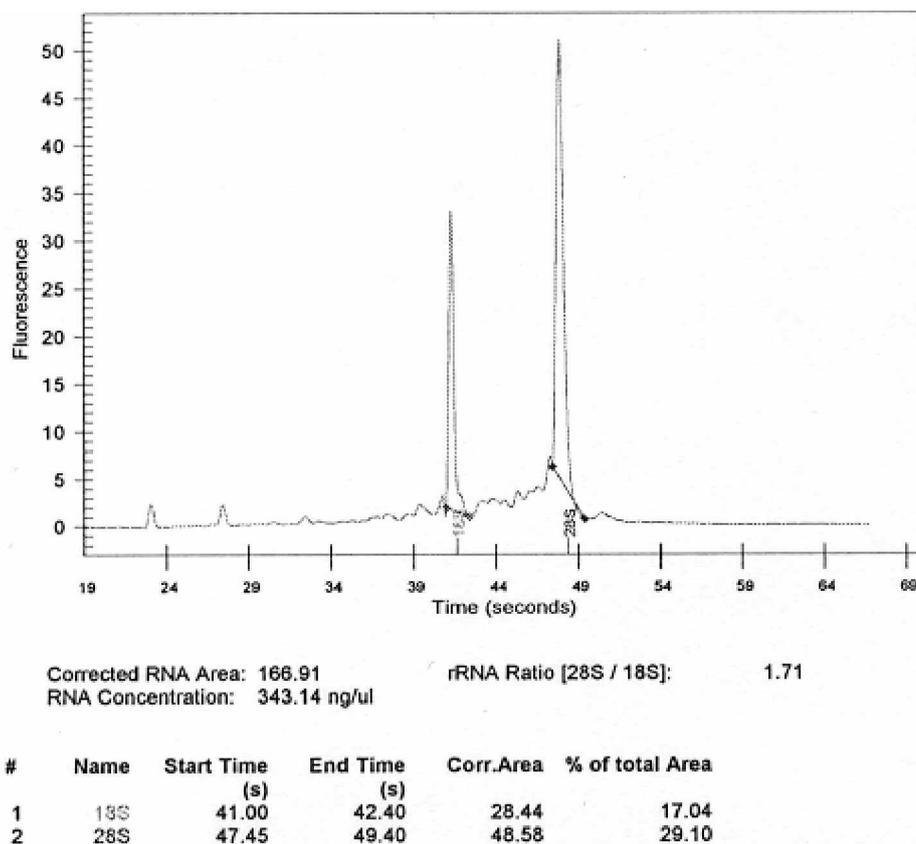


Abb. 4.4: Überprüfung der RNA-Qualität mittels des Agilent 2100 Bioanalyser

Die Analyse wurde extern durch das Biomedizinische Forschungszentrum durchgeführt.

Umschreiben auf cDNA

Genexpressionsstudie A und B

Die Umschreibung der mRNA in cDNA mittels der Reversen-Transkriptase-Reaktion (M-MLV Reverse Transcriptase; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Deutschland) wurde nach der Anleitung der Fa. Clontech durchgeführt: 5 µg Gesamt-RNA in einem Volumen von 2,5 µl H₂O wurden mit jeweils 1 µl CDS-Primer-Mix (BD Biosciences Clontech, Heidelberg, Deutschland) gemischt und 4 min bei 70°C inkubiert (GeneAmp, PCR System 9700; PE Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland). Nach Abkühlung auf 48°C wurden 11,5 µl des Master-Mix, bestehend aus 3 µl 5x Reaktionspuffer (Sigma), 1,5 µl 10x dNTP Mix (Clontech), 3,75 µl [α -³²P] dATP (3.000 Ci/mmol, 10 µCi/µl); (Amersham Biosciences Europe GmbH, Freiburg, Deutschland), 0,75 µl DTT (Sigma), 1 µl H₂O, 1,5 µl Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (Sigma), zugefügt. Nach einer Gesamtinkubationszeit von 60 min bei 48°C erfolgte die Abkühlung der Proben auf 10°C und anschließende Zugabe von 2 µl 10x Terminations-Mix (Clontech). Die nachfolgende Aufreinigung der cDNA-Fragmente wurde mit Hilfe des NucleoSpin Extraction Kits (Clontech) nach Anleitung des Herstellers durchgeführt und der Einbau von [α -³²P] dATP mit einem Szintillationszähler gemessen (LS 9000; Beckmann Coulter GmbH, Unterschleißheim, Deutschland). Die Counts betragen 5x 10⁶ bis 17x 10⁶ cpm pro Gesamtprobe.

Genexpressionsstudie C

Die Umschreibung der mRNA in cDNA wurde mit 5µg Gesamt-RNA und dem SuperScript®Double-Stranded cDNA Synthesis Kit (Invitrogen GmbH, Karlsruhe, Deutschland) nach Anleitung des Herstellers durchgeführt. Die nachfolgende Synthese von Biotin-gelabelter cRNA erfolgte mit der T7 Polymerase (BioArray™ High Yield RNA Transcript labeling Kit; Enzo Diagnostics, Farmingdale, New York, US). Nicht eingebaute Nukleotide wurden mit dem Genechip® Sample Cleanup Module (Affymetrix UK Ltd.; High Wycombe, UK) entfernt. Diese cRNA wurde hitzedenaturiert und fragmentiert.

Hybridisierung

Genexpressionsstudie A und B

Sowohl die 3 *BD Atlas™ Human 1.2, I,II,III Arrays* als auch der *BD Atlas™ Human Cardiovascular Array* wurden über Nacht bei 68° C mit der radioaktiv markierten cDNA unter Verwendung der ExpressHyb™ Hybridisierungslösung (Clontech) hybridisiert. Die frisch radioaktiv markierten Proben wurden denaturiert und dann mit 5 ml Hybridisierungspuffer versetzt, der

100 µg/ml Hitze denaturierte Lachs-Testes-DNA erhält (Gibco BRL, Deutschland). Nach 30 minütigem dreimaligem Waschen der Membrane mit 200 ml 2fach konzentrierter Saline-Sodium Citrat (SSC)-1 % Natriumdodecylsulfat (SDS) Lösung bei 68°C wurde zusätzlich noch einmal bei Raumtemperatur 10 min mit 200 ml der 2fach SSC-Lösung gewaschen.

Genexpressionstudie C

Die Affymetrix GeneChips wurden über Nacht bei 45°C mit der cRNA-Lösung unter Verwendung des 6xSSPE-Tris Hybridisierungspuffers hybridisiert. Nach mehrmaligem intensiven Waschen mit SSPR-Tris-Lösung erfolgte das Anfärben der biotinhaltigen cRNA mit Streptavidine-Phycoerythrin Konjugat (Streptavidin; ImmunoPure®, Pierce Biotechnology,US

Ablesen der Genexpression

Genexpressionsstudie A:

Die gewaschenen Membranen wurden auf Phosphor-Imager-Folien (Fuji GmbH, Deutschland) 48 h lang exponiert. Danach wurden die Membranen mit einem Phosphor Image Reader (BAS-1500, Fuji GmbH, Deutschland) linear auf eine Pixelgröße von 50 µm² eingescannt und mit der TINA-Software (Raytest, Straubenhardt, Deutschland) analysiert. Dabei wurde das unspezifische Hintergrundrauschen (Mittelwert der Intensität des Hintergrundes) vom ermittelten Wert des Genspots abgezogen. Alle Daten wurden nach Excel 97 (Microsoft) übertragen und in diesem Programm kalkuliert. Für jede Aortenprobe wurden 2 separate Hybridisierungen durchgeführt und später die 2 Werte für jedes Gen gemittelt. Aus den so ermittelten absoluten Intensitäten wurde für jede Membran ein Mittelwert gebildet und die Absolutwerte jedes Gens durch diesen Mittelwert geteilt. Die weitere Analyse erfolgte mit den auf diese Weise errechneten Relativwerten bzw. normalisierten Werten.

Genexpressionsstudie B:

Die gewaschenen Membranen wurden auf Phosphor-Imager-Folien (Fuji GmbH, Deutschland) 1, 3 und 6 Tage exponiert. Bei der späteren Auswertung zeigte sich, daß die Intensität der Spots der „House-keeping-Gene“ auch bei der 6-Tage-Exposition noch im linearen Bereich lagen, weshalb bei den *BD AtlasTM Human Cardiovascular Arrays* die 6-Tage Exposition zur weiteren Analyse verwandt wurde, um auch geringer exponierte Gene erfassen zu können. Nach den jeweiligen Expositionszeiten wurden die Membranen mit einem Phosphor Image Reader (BAS-1500, Fuji GmbH, Deutschland) linear auf eine Pixelgröße von 50 µm² eingescannt, mit der AIDA Image

Analyzer 3.01-Software (Raytest, Deutschland) ausgewertet und dabei das Hintergrundrauschen abgezogen. Alle Daten wurden ebenfalls nach Excel 97 (Microsoft) übertragen und in diesem Programm kalkuliert. Da die einzelnen Gene auf dem *Atlas BDTM Human Cardiovascular Array* doppelt gespottet sind, wurde bei 10 Aortenproben nur einmal hybridisiert und der Wert des doppelten Spots gemittelt. Bei 6 Aortenproben hatten wir genügend RNA zur Verfügung, so daß zwei- oder sogar dreimal hybridisiert und die Werte gemittelt werden konnten. In der Literatur werden zwei unterschiedliche Verfahren angewendet, um die absoluten Expressionswerte jedes Gens zu relativieren (43-47):

1. Division der absoluten Intensität eines Gens durch den Mittelwert aller Absolutwerte auf einer Membran (s. Auswertung Genexpressionsstudie A)
2. Division der absoluten Intensität eines Gens durch den Mittelwert der stark exprimierten „House-keeping-Gene“.

Wir haben für die Auswertung des *BD AtlasTM Human Cardiovascular Array* beide Verfahren angewandt und miteinander verglichen. Für die Auswertung 2 wurden die "House-keeping Gene" Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase, Actin beta, Ribosomal Protein L13a und Ribosomal Protein S9 verwendet.

Genexpressionsstudie C

Die Arrays wurden bei 560 nm mit einem Laser-Scanner-Mikroskop (Agilent GeneArray Scanner G2500A, Agilent Technologies Deutschland) analysiert. Auch diese Daten wurden nach Excel 97 (Microsoft) übertragen und in diesem Programm kalkuliert.

Weitere Analyse der normalisierten Expressionswerte

Für die weitere Auswertung der Ergebnisse wurden nur die Gene berücksichtigt, deren Expression sich sicher vom Hintergrundrauschen unterscheiden läßt. Dazu wurde für jeden Array-Typ ein Mittelwert aus der Expression aller Gene auf allen analysierten Membranen gebildet.

Genexpressionstudie A:

Der Mittelwert der Expression aller Gene auf allen analysierten Membranen war 1,0. Zu weiteren Auswertung wurden Gene herangezogen, die eine Expression von mindestens 0.95 (95 % des Mittelwertes) zeigten.

Genexpressionstudie B:

Der AtlasTM Human Cardiovascular Array ist sehr gut abzulesen, da die einzelnen Gene in relativ weiten Abstand gespottet sind.

Auswertungsmethode 1: Der Mittelwert der Expression aller Gene auf allen analysierten Membranen war 1,3. Berücksichtigt wurden Gene mit einer Expression von mindestens 0,7 (54 % des Mittelwertes).

Auswertungsmethode 2: Der Mittelwert der Expression der stark exprimierten „house-keeping“ Gene auf allen analysierten Membranen war 4,5. Berücksichtigt wurden Gene mit einer Expression von mindestens 2,5 (56 % des Mittelwertes).

Genexpressionstudie C:

Der Mittelwert der Expression aller Gene auf allen analysierten Membranen war 180. Vom Hersteller wird empfohlen eine Expression größer oder gleich 30 (17 % des Mittelwertes) auszuwerten. Wir haben zur weiteren Auswertung nur Gene herangezogen, die eine Expression von mindestens 150 (83 % des Mittelwertes) zeigten.

Für alle Array-Typen wurde ein Gen als unterschiedlich exprimiert bewertet, wenn das Verhältnis zwischen dem Mittelwert der Genexpression in der dissezierten Aorta zur Kontrollaorta mindestens 2 oder mehr, oder 0,5 oder weniger betrug und der Unterschied signifikant war. Unterschiede wurden als signifikant bezeichnet wenn $p < 0,05$ war.

5. *Statistische Methoden*

Statistische Methoden, die im Abschnitt 1-3 der Ergebnisse verwendet wurden

Mit Hilfe des t -Testes wurde überprüft, ob sich die Dissektionsgruppe und Kontrollgruppe bezüglich der Geschlechtsverteilung, des Alters und Body Mass Index signifikant voneinander unterscheiden $p < 0,05$ (Tab. 2.1) (46). Auch die Analyse der durchschnittlichen Anzahl von phänotypischen Zeichen einer Bindegewebsschwäche in der Dissektions- und Kontrollgruppe wurde mit dem t -Test durchgeführt (Tab. 2.2) (48).

Der Vergleich der einzelnen Dissektionsgruppen Stanford A1, -A2, -B miteinander und mit der Kontrollgruppe in ihrer unterschiedlichen Häufigkeit einzelner Merkmale, wie kardiale und aortale Vorerkrankungen und Voroperationen (Tab. 1.3) oder die verschiedenen Bindegewebszeichen (Tab. 2.3-2.8) erfolgte mit dem χ^2 -Test bei größeren Patientenzahlen (49). Wies eine Gruppe weniger als 5 Patienten auf, wurde der Mantel-Haenszel χ^2 -Test zur Berechnung eingesetzt (49).

Im Abschnitt 3 wurde untersucht, ob sich die einzelnen Dissektionsgruppen Stanford A1, -A2 und -B in der Ätiologie voneinander unterscheiden. Die Analyse der einzelnen ätiologischen Faktoren erfolgte zunächst mit dem χ^2 -Test (Tab. 3.1) (49,50).

Statistische Methoden, die im Abschnitt 4 der Ergebnisse verwendet wurden

Die unterschiedlich Genexpression in der Aorta von Dissektionspatienten und Multiorganspendern wurde mit dem *t*-Test für unabhängige Stichproben kalkuliert, während der *t*-Test für abhängige Stichproben im Vergleich der dissezierten und nichtdissezierten Anteile der Aorta von den gleichen Dissektionspatienten zur Anwendung kam (48).

Die Ergebnisse der Genexpressionstudie A und B wurden zusätzlich einer Clusteranalyse unterzogen (51). Dabei kam das Clusterverfahren nach Eisen zur Anwendung (52- 54). Die Ergebnisse wurden mit dem Tree View Programm dargestellt (52).

Ergebnisse

1. Epidemiologie der Aortendissektion; Erhebung im Gesamtkrankengut

In der Zeit vom 01.01.1984 bis zum 28.02.2003 wurden in der Chirurgie der Universitätsklinik Düsseldorf 134 Patienten mit einer Stanford A-Dissektion (A1 n=87, A2 n=47) operativ und 158 Patienten mit einer Stanford B-Dissektion konservativ behandelt. In beiden Dissektionsgruppen überwogen die Männer (Tab. 1.1). Das Durchschnittsalter der Stanford A-Patienten betrug zum Zeitpunkt der Dissektion 55 Jahre, das der Stanford B-Patienten 61 Jahre (Tab. 1.2).

Tabelle 1.1: Geschlechtsverteilung im Gesamtkrankengut

Die Spalten addieren sich zu 100 %.

Stanford	Frauen		Männer		total n
	n	%	n	%	
A	37	28	97	72	134
A1	22	25	65	75	87
A2	15	32	32	68	47
B	48	30	110	70	158

Tabelle 1.2: Altersverteilung im Gesamtkrankengut

MW = Mittelwert, Stabw= Standardabweichung

Stanford	Alter (Jahre)		Spanne (Jahre)
	MW	Stabw	
A	55,4	12,3	21-77
A1	55,4	11,5	24-77
A2	55,3	13,9	21-77
Frauen	58,6	11,2	32-77
Männer	54,2	12,6	21-77
B	61	11,3	23-85
Frauen	58,6	12,4	23-79
Männer	62	10,7	35-85

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung waren 42 der 134 Stanford A-Patienten (32 %) und 55 der 158 Stanford B-Patienten (35 %) verstorben. Deshalb beruhen die folgenden Angaben auf der Auswertung der Krankenblätter und sonstiger Dokumentationen. Dabei zeigte sich, daß 7 Stanford A1- (8 %), kein Stanford A2- und nur ein Stanford B-Patient (0,3 %) ein Marfan-Syndrom aufwies. Obwohl 8 Patientinnen zum Zeitpunkt der Dissektion 40 Jahre oder jünger waren, war keine der Frauen schwanger oder im Wochenbett. Bei keinem Patienten war eine Rauschmittelanamnese, wie zum Beispiel Cocainkonsum verzeichnet. Bei den Verstorbenen war eine valide Datenerhebung bezüglich einer vor dem Dissektionsereignis bestehenden Hypertonie oder anderer arteriosklerotischer Risikofaktoren, wie ein Diabetes mellitus, eine Lipidstoffwechselstörung oder einem Nikotinabusus nicht möglich. Deshalb wurden diese Daten für das Dissektions-Gesamtkollektiv nicht ausgewertet.

Die kardiale und aortale Anamnese war dagegen bei allen Stanford A-Patienten und bei 151 der 158 Stanford B-Patienten (96 %) sorgfältig aufgezeichnet und konnte analysiert werden. Dabei zeigte sich, daß 9 Stanford A1- (10 %) und 14 Stanford B- (9 %) aber 23 Stanford A2-Patienten (49 %) vor der Dissektion eine Erkrankung des linken Herzens, der Aorta ascendens oder des Aortenbogens durchgemacht hatten, die entweder konservativ oder operativ behandelt worden war. Die erheblich höhere Inzidenz einer kardialen oder zentral aortalen Vorgeschichte bei Patienten mit lokaler Aorta ascendens Dissektion (A2-Dissektion) war statistisch hochsignifikant (Tab. 1.3). Jeweils ein Stanford A1- und ein A2-Patient hatten eine bikuspidale Aortenklappe. Vier Stanford A1-Dissektionen waren durch eine retrograde Dissektion entstanden, die Patienten hatten zuvor eine konservativ behandelte Stanford B-Dissektion gehabt. Insgesamt 3 aortale Dissektionen waren iatrogen, entweder durch ein Kathetermanöver oder während eines aortalen Eingriffes entstanden (Tab. 1.3). Vierzehn Stanford B- (9 %), aber nur 4 Stanford A-Patienten (3 %) hatten zum Zeitpunkt der Dissektion ein Aneurysma der descendierenden Aorta (entweder thorakoabdominelles Aneurysma oder Bauchortenaneurysma), das entweder konservativ behandelt oder schon operiert worden war (Tab. 1.3).

Tabelle1.3: Kardiale und aortale Vorerkrankungen und Voroperationen; Vergleich der einzelnen Dissektionsgruppen im Gesamtkrankengut.

Z.n. = Zustand nach, ACVB = Aortokoronarer Venenbypass,

AKE = Aortenklappenersatz, TAA = Thorakoabdominelles Aneurysma,

BAA = Bauchaortenaneurysma, li = links. # Mehrfachnennung, ein Patient hatte einen Z.n. ACVB und einen Z.n. OP eines TAA.

p wurde mit dem χ^2 Test berechnet. Dabei wurden die verschiedenen Dissektionsgruppen miteinander verglichen. Signifikant unterschiedlich bedeutet, daß sich eine Dissektionsgruppe signifikant von den anderen unterscheidet.

Erkrankungen – des linken Herzens - oder der Aorta	Stanford A1 <i>n</i>	Stanford A2 <i>n</i>	Stanford B <i>n</i>	<i>p</i>
Alle Patienten	87	47	151	
Aortenisthmusstenose	0	2	0	
Z.n. Myokarditis/Perimyokarditis	2	2	0	
Aortenklappenfehler ##	2	2	7	
Aorta ascendens- Aneurysma	2	1	0	
HOCM	0	1	0	
<i>Erkrankungen des li Herzens und der zentralen Aorta konservativ</i>	6 7 %	8 17 %	7 4,5 %	<0,05
Z.n. ACVB	2	5#	3	
Z.n. AKE	1	5	3	
Z.n. AKE +A. ascendens- Raffung	0	5	0	
Verschuß eines Ductus Botalli	0	0	1	
<i>Erkrankungen des li Herzens und der zentralen Aorta operativ</i>	3 3 %	15 32 %	7 4,5 %	<0,001
<i>Erkrankungen des li Herzens und der zentralen Aorta konservativ oder operativ</i>	9 10 %	23 49 %	14 9 %	<0,001
Retrograde Dissektion B nach A	4	0	0	
Iatrogen	1	1	3	
Andere Ursachen der Dissektion	5 6 %	1 2 %	3 2 %	n.s.
TAA, BAA konservativ	0	1	8	
TAA, BAA operativ	2	1#	6	
TAA, BAA konservativ oder operativ	2 2 %	2 4 %	14 9 %	n.s.

2. Klinische Untersuchungen von Dissektionspatienten

97 Dissektionspatienten waren zur persönlichen Befragung und Untersuchung nach dem Protokoll zur Erfassung von phänotypischen Zeichen einer Bindegewebsschwäche (Abb. 2.1) bereit. 5 Stanford A1-Patienten (15% der A1-Patienten) wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen, da eine Untersuchung im Institut für Humangenetik den Verdacht auf ein Marfan-Syndrom bestätigt hatte. Den verbliebenen 92 Dissektionspatienten wurden 92 Kontrollpersonen zugeordnet, die gleiches Geschlecht und gleiches Alter aufwiesen (Tab. 2.1). Die Dissektionsgruppe wies einen höheren Body Mass Index als die Kontrollpersonen auf (Tab. 2.1).

Tabelle 2.1: Übersicht über die Dissektionspatienten und Kontrollpersonen, die nach dem Protokoll zur Erfassung phänotypischer Merkmale einer Bindegewebsschwäche untersucht wurden.

BMI= Body Mass Index. In der Spalte für das Alter und für den BMI steht oben der Mittelwert und unten die Standardabweichung. p^* wurde mit dem t -Test berechnet. Es wurde die gesamte Dissektionsgruppe gegen die Kontrollgruppe getestet.

	A1	A2	A total	B	Dissektion total*	Kontrolle*	p^*
Frauen n	21	13	34	33	67*	67*	n.s.
Männer n	8	5	13	12	25*	25*	n.s.
total n	29	18	47	45	92*	92*	n.s.
Alter	61,1	56,5	59,4	62,6	61*	60,8*	n.s.
in Jahren	7,3	14,3	10,6	9,4	10*	10,4*	
BMI	27,8	26,6	27,4	27,7	27,5*	26,2*	<0,05
	3,7	3,6	3,7	4,4	4,0*	3,6*	

Alle 92 Dissektionspatienten und 92 Kontrollpersonen wurden nach dem Protokoll zur Erfassung phänotypischer Merkmale einer Bindegewebsschwäche untersucht (Abb. 2.1).

Dissektionspatienten wiesen signifikant mehr allgemeine Zeichen einer Bindegewebsschwäche (Varizen, Leistenbrüche oder Hämorrhoiden) als die Kontrollpersonen auf (Tab. 2.2, 2.3). Zwischen den einzelnen Dissektionsgruppen und der Kontrollgruppe war der Unterschied jedoch nicht signifikant (Tab. 2.4).

Dissektionspatienten hatten auch häufiger spezielle Zeichen einer Bindegewebsschwäche, wie zum Beispiel eine sehr dehnbare Haut, dünne Narben oder überstreckbare Gelenke (Tab. 2.2, 2.3). Dabei

wiesen 5 Stanford A1- (17 %), 1 Stanford A2 (6 %), 4 Stanford B-Patienten (9 %) aber nur 1 Kontrollperson (1 %) 2 oder mehr spezielle Bindegewebszeichen auf (Tab. 2.5).

Dissektionspatienten und Kontrollpersonen unterschieden sich dagegen nicht signifikant in ihren Körpermaß-Indices (Tab. 2.2, 2.3). Die Körpermaß-Indices sind einem Marfan-Untersuchungsprotokoll entlehnt und vergleichen zum Beispiel Hand-, Fußlänge, Armspanne mit der Körpergröße. Vergleicht man jetzt allerdings die einzelnen Dissektionsgruppen mit den Kontrollpersonen, so hatten Stanford A1-Patienten signifikant mehr positive Körpermaß-Indices als die übrigen Dissektionspatienten und die Kontrollpersonen. 6 von 29 Stanford A1- (21 %) wiesen gleichzeitig mindestens 3 von maximal 6 positiven Indices auf, bei den Kontrollen waren es dagegen nur 4 von 92 Personen (4 %) (Tab. 2.6). Dies zeigt, daß ein Teil der Stanford A1-Patienten Marfantypische Merkmale aufweist, ohne aber alle Marfan-Kriterien zu erfüllen

Faßt man alle individuellen Zeichen einer Bindegewebschwäche zusammen (allgemeine, spezielle Zeichen und Körpermaß-Indices), so haben die Dissektionspatienten signifikant mehr Zeichen für eine Bindegewebschwäche als die Kontrollen (Tab. 2.2, 2.3). Bei der weiteren Analyse der Dissektionsgruppen zeigte sich, daß die Stanford A1-Patienten am meisten positive Zeichen aufwiesen. Von maximal 15 möglichen Zeichen, hatten 12 Stanford A1- (41 %), 4 Stanford A2- (22 %), 10 Stanford B-Patienten (22 %), aber nur 6 Kontrollpersonen (6 %) 4 oder mehr positive individuelle Zeichen einer Bindegewebschwäche (Tab. 2.7).

Familienangehörige von Dissektionspatienten hatten häufiger eine Anamnese, die für eine Bindegewebschwäche sprach (Tab. 2.2, 2.3). Dieser Unterschied war allerdings nicht mehr signifikant, wenn man die einzelnen Dissektionsgruppen miteinander und mit den Kontrollpersonen verglich (Tab. 2.8).

Tab. 2.2: Phänotypische Zeichen einer Bindegewebsschwäche

Vergleich der Mittelwerte der Zeichen und positiven Indices in der Dissektions- und Kontrollgruppe. *MW*= Mittelwert, *Stabw*= Standardabweichung. *p** wurde mit dem *t-Test* berechnet.

Zeichen und Indices	Dissektionen* n=92		Kontrollen* n=92		<i>p</i> *
	<i>MW</i>	<i>Stabw</i>	<i>MW</i>	<i>Stabw</i>	
Allgemeine Zeichen	0,99	0,91	0,64	1,12	<0,01
Spezielle Zeichen	0,6	1,34	0,24	0,93	<0,001
Körpermaß-Indices	1,01	1,15	0,79	1,23	n.s.
Individuelle Zeichen	2,6	1,22	1,67	1,4	<0,001
Familiäre Zeichen	0,7	1,22	0,41	1,02	<0,05

Tabelle 2.3: Phänotypische Zeichen der Bindegewebsschwäche

Anzahl der Zeichen und positiven Indices pro Dissektionspatient und Kontrollperson im Vergleich. *n*= Zahl der Patienten. Die Zahlen in den Spalten addieren sich zu 92 = 100 %.

*p** wurde mit dem χ^2 -Test berechnet.

Zeichen + Indices	0		1		2		3		4 oder mehr		<i>p</i> *
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Allgemeine Zeichen	0		1		2 oder mehr						<0,05
Dissektion*	32	35	35	38	25	27					
Kontrolle*	45	49	35	38	12	13					
Spezielle Zeichen	0		1		2 oder mehr						<0,01
Dissektion*	51	55	31	34	10	11					
Kontrolle*	71	77	20	22	1	1					
Indices	0		1		2		3 oder mehr				0,07
Dissektion*	36	39	32	35	12	13	12	13			
Kontrolle*	45	49	25	27	18	20	4	4			
Individuelle Zeichen	0		1		2		3		4 oder mehr		<0,01
Dissektion*	11	12	19	21	20	22	16	17	26	28	
Kontrolle*	19	21	24	26	24	26	19	21	6	6	
Familiäre Zeichen	0		1		2 oder mehr						<0,05
Dissektion*	47	51	30	33	15	16					
Kontrolle*	61	66	25	27	6	7					

Tabelle 2.4: Allgemeine Zeichen einer Bindegeweibsschwäche

Anzahl der Zeichen pro Patient und Kontrollperson. n = Anzahl der Patienten. Die Zeilen und die Spalten addieren sich.

Vergleich der einzelnen Dissektionsgruppen miteinander und mit der Kontrollgruppe. Signifikant unterschiedlich bedeutet, daß sich eine Gruppe signifikant von den anderen unterscheidet.

p^* wurde mit dem Mantel-Haenszel- χ^2 -Test berechnet.

Allgemeine Zeichen		0		1		2 oder mehr		p^*
		n	%	n	%	n	%	
Patienten	n							
A1*	29	14	48	9	31	6	21	
A2*	18	6	33,3	6	33,3	6	33,3	
B*	45	12	27	20	44	13	29	n.s.
K*	92	45	49	35	38	12	13	
total	184	77	42	70	38	37	20	

Tabelle 2.5: Spezielle Zeichen einer Bindegeweibsschwäche

Anzahl der Zeichen pro Patient und Kontrollperson. n = Anzahl der Patienten. Die Zeilen und die Spalten addieren sich.

Vergleich der einzelnen Dissektionsgruppen miteinander und mit der Kontrollgruppe. Signifikant unterschiedlich bedeutet, daß sich eine Gruppe signifikant von den anderen unterscheidet.

p^* wurde mit dem Mantel-Haenszel- χ^2 -Test berechnet.

Spezielle Zeichen		0		1		2 oder mehr		p^*
		n	%	n	%	n	%	
Patienten	n							
A1*	29	19	66	5	17	5	17	<0,05
A2*	18	13	72	4	22	1	6	
B*	45	19	42	22	49	4	9	
K*	92	71	77	20	22	1	1	
total	184	122	66	51	28	11	6	

Tabelle 2.6: Positive Körpermaß-Indices

Anzahl der positiven Indices pro Patient und Kontrollperson. n = Anzahl der Patienten. Die Zeilen und die Spalten addieren sich. Vergleich der einzelnen Dissektionsgruppen miteinander und mit der Kontrollgruppe. Signifikant unterschiedlich bedeutet, daß sich eine Gruppe signifikant von den anderen unterscheidet. p^* wurde mit dem Mantel-Haenszel- χ^2 -Test berechnet.

Positive Indices		0		1		2		3 oder mehr		P^*
		n	%	n	%	n	%	n	%	
Patienten	n									
A1*	29	8	28	10	34	5	17	6	21	<0,05
A2*	18	6	33	8	44	2	11	2	11	
B*	45	22	49	14	31	5	11	4	9	
K*	92	45	49	25	27	18	20	4	4	
total	184	81	44	57	31	30	16	16	9	

Tabelle 2.7: Individuelle Zeichen der Bindegewebsschwäche

bedeutet allgemeine Zeichen + spezielle Zeichen + positive Körpermaß-Indices. Anzahl der individuellen Zeichen pro Patient und Kontrollperson. n = Anzahl der Patienten. Die Zeilen und die Spalten addieren sich. Vergleich der einzelnen Dissektionsgruppen miteinander und mit der Kontrollgruppe. Signifikant unterschiedlich bedeutet, daß sich eine Gruppe signifikant von den anderen unterscheidet. p^* wurde mit dem Mantel-Haenszel- χ^2 -Test berechnet.

Individuelle Zeichen		0		1		2		3		4 oder mehr		P*
Patienten	n	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
A1*	29	5	17	7	24	3	10	2	7	12	41	<0,01
A2*	18	1	6	6	33	4	22	3	17	4	22	
B*	45	5	11	6	13	13	29	11	24	10	22	
K*	92	19	21	24	26	24	26	19	21	6	6	
total	184	30	16	43	23	44	24	35	19	32	17	

Tabelle 2.8: Familiäre Zeichen der Bindegewebsschwäche
n= Anzahl der Patienten. Die Zeilen und die Spalten addieren sich. Vergleich der einzelnen Dissektionsgruppen miteinander und mit den Kontrollpersonen. Signifikant unterschiedlich bedeutet, daß sich eine Gruppe signifikant von den anderen unterscheidet. *p** wurde mit dem Mantel-Haenszel- χ^2 -Test berechnet.

Familiäre Zeichen		0		1		2 oder mehr		p*
Patienten	n	n	%	n	%	n	%	
A1*	29	15	52	10	34	4	14	n.s.
A2*	18	10	56	5	28	3	17	
B*	45	22	49	15	33	8	18	
K*	92	61	66	25	27	6	7	
total	184	108	59	55	30	21	11	

3. Ätiologische Unterschiede der einzelnen Dissektionsgruppen; Erhebung im klinisch untersuchten Krankengut

Um herauszufinden, ob sich die einzelnen Dissektionsgruppen ätiologisch unterscheiden, wurden den klinisch untersuchten 97 Patienten die Risikofaktoren Hypertonie, arteriosklerotische Risikofaktoren, kardial oder aortal vorerkrankt, vorbestehende aneurysmatische Erkrankung der Aorta descendens, und phänotypische Bindegewebsschwäche zugeordnet. 5 Stanford A1- (17 %), aber kein Stanford A2- und kein Stanford B-Patient hatten ein Marfan-Syndrom. Die Marfan-Patienten wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

Wie bei der Analyse des Gesamtkrankengutes zeigte sich, daß Patienten mit einer Stanford A2-Dissektion signifikant häufiger eine Vorerkrankung des linken Herzens, der Aorta ascendens oder des Aortenbogens durchgemacht hatten, die schon vor dem Dissektionsereignis entweder konservativ oder operativ behandelt worden war (Tab. 3.1). Sie wiesen auch häufiger arteriosklerotische Risikofaktoren auf. Mindestens 2 der 3 möglichen Risikofaktoren Diabetes mellitus, Fettstoffwechselstörung oder Nikotinabusus hatten 10 Stanford A2- (56 %), 10 Stanford A1- (34 %) und 12 Stanford B-Patienten (27 %) (Tab. 3.1). Eine schon prae dissectionem vorhandene Hypertonie als möglicher dissektionsauslösender Faktor war bei den einzelnen Dissektionsgruppen in etwa gleichmäßig verteilt. 52 % der Stanford A1- , 44 % der Stanford A2- und 56 % der Stanford B-Patienten wiesen eine Hypertonie auf (Tab. 3.1). Schon vor der Dissektion nachgewiesene Aneurysmen der Aorta descendens kamen bei den Stanford B-Dissektionen erneut etwas häufiger vor als in den übrigen Dissektionsgruppen, ohne daß der Unterschied bei der geringen Gesamtzahl signifikant war (Tab. 3.1). Zwölf Stanford A1- (41 %), 4 A2- (22 %) und 10 B-Patienten (22 %) wiesen mindestens 4 von 15 möglichen individuellen Zeichen einer Bindegewebsschwäche auf. Auch dieser Unterschied wurde im χ^2 -Test als nicht signifikant erkannt (Tab. 3.1).

Tabelle 3.1: Ätiologie der Aortendissektion

Vergleich der verschiedenen Dissektionsgruppen miteinander.

p^* wurde mit dem χ^2 -Test berechnet. Signifikant unterschiedlich bedeutet,

daß sich eine Dissektionsgruppe von den anderen unterscheidet

	total		A1*		A2*		B*		P*
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Patienten	92	100	29	31	18	20	45	49	
Hypertonie									n.s.
ja	48	52	15	52	8	44	25	56	
nein	44	48	14	48	10	56	20	44	
Arteriosklerose Risikofaktoren									0,053
ja	32	35	10	34	10	56	12	27	
nein	60	65	19	66	8	44	33	73	
Kardial oder aortal vorerkrankt									<0,01
ja	17	18	7	24	7	39	3	7	
nein	75	82	22	76	11	61	42	93	
Aneurysma Aorta descendens									n.s.
ja	5	5	0	0	1	6	4	9	
nein	87	95	29	100	17	94	41	91	
Phänotypische Bindegewebsschwäche									n.s.
ja	26	28	12	41	4	22	10	22	
nein	66	72	17	59	14	78	35	78	

4. Molekularbiologische Untersuchungen der dissezierten Aortenwand

Genexpressionsstudie A; BD AtlasTM Human 1.2, I,II,III Arrays

Zur Auswertung wurden 627 Gene (17,7 % der 3537 Gene) herangezogen, die einen Expressionswert von mindestens 0,95 (95 % des Mittelwertes) erreichten.

Bei 4 Patienten mit einer akuten Stanford A-Dissektion wurden dissezierte und makroskopisch intakte, nicht dissezierte Wandabschnitte der Aorta ascendens miteinander verglichen. Dabei zeigten 626 der 627 exprimierten Gene keinen Expressionsunterschied in den dissezierten und nicht dissezierten Wandanteilen. Lediglich ein Gen, der Insulin Growth Factor-Binding Protein 3 Precursor war mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % im dissezierten stärker als im nichtdissezierten Wandabschnitt exprimiert.

Dagegen zeigte sich beim Vergleich der dissezierten Aorta ascendens der Stanford A-Patienten mit der nicht dissezierten Aorta ascendens der Kontrollpersonen, daß 70 der 627 Gene (11 %) in der dissezierten Aorta höher oder niedriger als in der nicht dissezierten Kontrollaorta exprimiert waren.

Eine erhöhte Expression von mRNA in der dissezierten Aorta zeigten Gene, die den funktionellen Gruppen Proliferation, Transkription und Translation angehörten, ebenso wie Gene, die für eine Entzündungsreaktion codieren. So war die Expression von mRNA für Interleukin-6 und -8 erhöht. Von den Genen der Metalloproteinasen (MMP) -1, -3, -7 bis -9, -11 bis -17, die auf den BD AtlasTM Human 1.2, I,II,III Arrays gespottet sind, waren lediglich die MMP-11 und -14 exprimiert, wobei die MMP-11 in der Aorta von Dissektionspatienten stärker exprimiert war, als in der Aorta der Kontrollpersonen. Wir konnten die Inhibitoren -1 und -2 der Metalloproteinasen (TIMP-1 und -2) ebenfalls nachweisen. Die mRNA von TIMP-1 war in der dissezierten Aorta erhöht exprimiert (Tab. 4.1).

Tabelle 4.1: Genexpressionsstudie A, BD AtlasTM Human 1.2; I,II,III Arrays

Gengruppen mit überwiegend höherer Expression in der Aorta ascendens von

Dissektionspatienten verglichen mit Kontrollpersonen. MW=Mittelwert, Stabw=Standabweichung, Ratio= MW der Genexpression in der Dissektionsgruppe dividiert durch den MW in der Kontrollgruppe.

	<i>p</i> *	Dissektion		Kontrolle		Ratio
		MW	Stabw	MW	Stabw	
Extrazelluläre Matrix Proteolyse						
Matrix metalloproteinase 11 (MMP11); stromelysin 3	0,002	10,38	2,9	4,37	3,5	2,4
Metalloproteinase inhibitor 1 precursor (TIMP1)	0,001	14,55	3,7	5,21	4,7	2,8
Inflammation						
Interleukin-6 precursor (IL-6)	0,001	14,07	2,6	3,56	5,4	4,0
Interleukin-8 precursor (IL-8)	<0,001	1,46	0,4	0,29	0,7	5,1
Annexin I (ANX1)	0,001	36,72	17,5	15,91	14,1	2,3
Annexin II (ANX2)	0,046	5,69	1,8	2,76	1,8	2,1
Macrophage inflammatory protein 2 alpha (MIP2-alpha);	0,034	2,25	1,6	0,94	1,4	2,4
Myeloid cell nuclear differentiation antigen (MNDA)	0,039	2,64	1,3	0,87	1,3	3,0
Leukocyte adhesion glycoprotein p150	0,022	2,06	0,5	0,58	1,5	3,6
Leukocyte surface CD53 antigen	0,001	2,33	0,7	0,93	0,6	2,5
Stromal cell derived factor 1 receptor, CXCR4	0,021	1,04	0,7	0,43	0,6	2,4
Complement 3 (C3)	0,028	11,43	13	26,73	12,1	0,4
Proliferation, Translation, Transkription						
Ribophorin II	0,002	2,95	0,6	1,44	0,7	2,1
Proliferating cyclic nuclear antigen (PCNA); cyclin	0,008	1,01	0,5	0,43	0,5	2,4
Guanine nucleotide-binding protein G, (GNA3)	0,007	3,99	1,4	1,93	1,4	2,1
FMLP-N-formylpeptide receptor	0,025	1,76	0,6	0,88	0,4	2,0
Eucariotic translation initiation factor alpha 2	0,022	3,13	1,2	1,31	1,3	2,4
Nuclear receptor-related 1	0,018	3,09	3,7	1,23	3,3	2,5
ATP synthetase B chain, mitochondrial precursor	0,004	4,21	1,7	1,83	1,4	2,3
Tyrosine-protein kinase lyn	0,017	1,58	0,5	0,75	0,4	2,1
Vascular endothelial growth factor precursor (VEGF)	0,049	3,94	0,6	1,37	2,9	2,9
Insulin-like growth factor binding protein 3 prec. (IGFBP3)	0,009	6,42	0,5	1,42	1,9	4,5
Insulin-like growth factor binding protein 5 (IGFBP5)	0,005	1,49	1,6	4,62	0,7	0,3
ADP ribosylation factor-like protein	0,008	0,94	0,5	1,91	0,3	0,5
Andere						
DRAK2.	0,023	1,38	0,7	0,67	0,6	2,1
Oncostatin M (OSM)	0,004	3,15	0,9	1,55	0,9	2,0
Ubiquitin-protein ligase	0,008	2,5	1	1,2	0,8	2,1
Reticulocalbin 1 precursor	0,013	2,35	1,2	1,12	0,9	2,1
tissue factor pathway inhibitor 2	0,017	1,82	0,2	0,85	0,7	2,1
Protease iota chain, (PROS-27) (P27K).	0,008	1,76	0,4	0,81	0,5	2,2
LST1.	0,026	1,03	0,4	0,46	0,4	2,2
Ets domain protein elk-3	0,003	2,14	1,4	0,94	1,1	2,3
RAB GDP dissociation inhibitor (RAB GDI beta); GDI-2	0,017	2,35	1,1	0,96	1,3	2,4
Antagonist decoy receptor for TRAIL/APO2L (TRID)	0,012	1,94	0,7	0,76	1	2,6
HRIHFB2017 PROTEIN	0,005	2,41	0,8	0,91	0,7	2,6
Maguk p55 subfamily member 2; MPP2 protein	0,036	1,11	0,6	0,37	0,6	3,0

Eine erniedrigte Expression von mRNA in der dissezierten Aorta zeigten dagegen einige extrazelluläre Matrix Proteine (Tab. 4.2). Die Elastin mRNA war in der dissezierten Aortenwand

erniedrigt, die mRNA von den auf dem Array gespotteten Kollagenen war dagegen in der Aorta von Dissektionspatienten und Kontrollpersonen gleich verteilt (Prokollagen alpha 2 (IV) subunit, Kollagen alpha 1 (XV) chain precursor und Kollagen VI). Fibrillin-1 war exprimiert und in der dissezierten und Kontrollaorta gleichmäßig vorhanden, während die mRNA von Fibrillin-2 unter der von uns definierten Nachweisgrenze lag.

Auch einige der Zelladhäsionsmoleküle, wie das Polycystin, Fibulin-1 und -5, Cell Surface Glycoprotein MUC18 zeigten in der dissezierten Aorta eine niedrigere Expression als in der Kontrollaorta (Tab. 4.2), während der Fibronectin Rezeptor stärker nachweisbar war. Andere Zelladhäsionsmoleküle, wie Catenine oder Cadherine waren gleich exprimiert.

Die mRNA von einigen Genen, die für das Cytoskelett und die Zellbeweglichkeit codieren, waren in der Aorta von Dissektionspatienten erniedrigt, wie zum Beispiel zwei Myosin- eine Tropomyosinkette, Gelsolin und das Kinesin-related Protein (Tab. 4.2).

Die mRNA von Substanzen, die den Metabolismus beeinflussen, waren zum Teil ebenfalls niedriger exprimiert, wie einige Aldehyd- oder Alkoholdehydrogenasen (Tab. 4.2).

Tabelle 4.2: Genexpressionsstudie A; BD Atlas™ Human 1.2; I,II,III Arrays
Gengruppen mit überwiegend niedrigerer Expression in der Aorta ascendens

von Dissektionspatienten verglichen mit Kontrollpersonen. MW=Mittelwert, Stabw= Standardabweichung, Ratio= MW der Genexpression in der Dissektionsgruppe dividiert durch den MW in der Kontrollgruppe.

	p*	Dissektion		Kontrolle		Ratio
		MW	Stabw	MW	Stabw	
Extrazelluläre Matrixproteine, Zelloberflächenantigene und Adhäsionsproteine						
Fibulin-1, isoform C precursor	<0,001	5,19	3,3	13,17	2,3	0,4
Elastin precursor (Tropoelastin)	0,033	0,92	0,9	2,81	0,4	0,3
Polycystin precursor, ADPKD-Protein 1	0,011	1,19	1,2	3,09	0,8	0,4
Microfibril-associated glycoprotein 4	0,001	2,44	2,7	6,51	1,7	0,4
Vascular adhesion protein 1 (VAP1)	<0,001	0,57	0,5	1,35	0,4	0,4
Cell surface glycoprotein MUC18; CD146 antigen;	0,013	3,09	2,6	8,73	1,1	0,4
Selenoprotein precursor	0,011	6,93	12,2	18,98	12,1	0,4
Plasma kallikrein-sensitive glycoprotein 120 (PK120)	0,009	0,39	0,4	1,09	0,2	0,4
Integrin alpha 7B precursor (IGA7B)	<0,001	0,44	0,7	1,65	0,4	0,3
Bikunin	0,035	0,52	0,7	1,78	0,4	0,3
Fibronectin receptor, integrin alpha 5 (ITGA5)	0,031	3,31	1,3	0,86	1,4	3,9
Myofibrilläre Proteine, Zytoskelett,						
Superfast myosin regulatory light chain 2	0,002	1,21	1,2	3,18	0,8	0,4
Myosin regulatory light chain 2, smooth muscle	0,001	27,37	24,7	80,11	11,8	0,3
Kinesin-related protein	0,008	0,42	0,3	1,02	0,2	0,4
Tropomyosin alpha chain, skeletal muscle	0,027	2,95	2,1	6,76	2,2	0,4
Skeletal muscle LIM-Protein 1 (Slim1)	0,028	0,45	0,3	1,16	0,2	0,4
Gelsolin precursor, plasma actin-depolymerizing factor	0,013	0,86	0,9	2,82	0,4	0,3
Metabolismus						
Aldehyde dehydrogenase 5 (ALDH5; ALDHx)	0,001	0,41	0,4	1,41	0,3	0,3
Mitochondrial aldehyde dehydrogen precursor,ALDHI+2	0,006	5,99	3,1	12,03	2	0,5
Apolipoprotein D precursor (Apo-D)	0,044	0,71	0,3	1,48	0,2	0,5
Adipophilin	<0,001	1,21	0,6	0,41	0,5	2,9
Andere						
Tryptophan 5-hydroxylase (TRPH)	0,006	0,41	0,8	1,4	0,7	0,3
Dihydropyridine-sensitive L-type, calcium channel alpha 2	0,019	1,47	2,1	6,01	0,7	0,2
Psoriasin, S100 calcium-binding protein A7;	0,003	0,65	0,6	1,69	0,6	0,4
cAMP-dependent Protein kinase type I beta (PRKAR1B)	0,034	1,13	0,8	3,07	0,2	0,4
Gem; (ras-like protein KIR)	0,016	1,94	1,4	5,08	0,7	0,4
Fibrinogen B beta polypeptide	0,025	0,46	0,3	1,16	0,1	0,4
Trichohyalin	0,023	0,84	0,6	1,95	0,3	0,4
Transforming protein rhoB; ARHB; ARH6	0,002	3,89	2,7	8,37	1,7	0,5
UP50	0,005	0,54	0,4	1,15	0,3	0,5
Heat shock-related 70-kDa protein 2	0,045	0,82	0,5	1,73	0,4	0,5
P619.	0,006	1,04	0,5	2,19	0,3	0,5
Cystein-rich secretory protein 3, CRISP3	0,043	0,55	0,5	1,11	0,5	0,5
Cystein-rich protein 1 (CRP1)	0,002	0,61	0,4	1,51	0,3	0,4

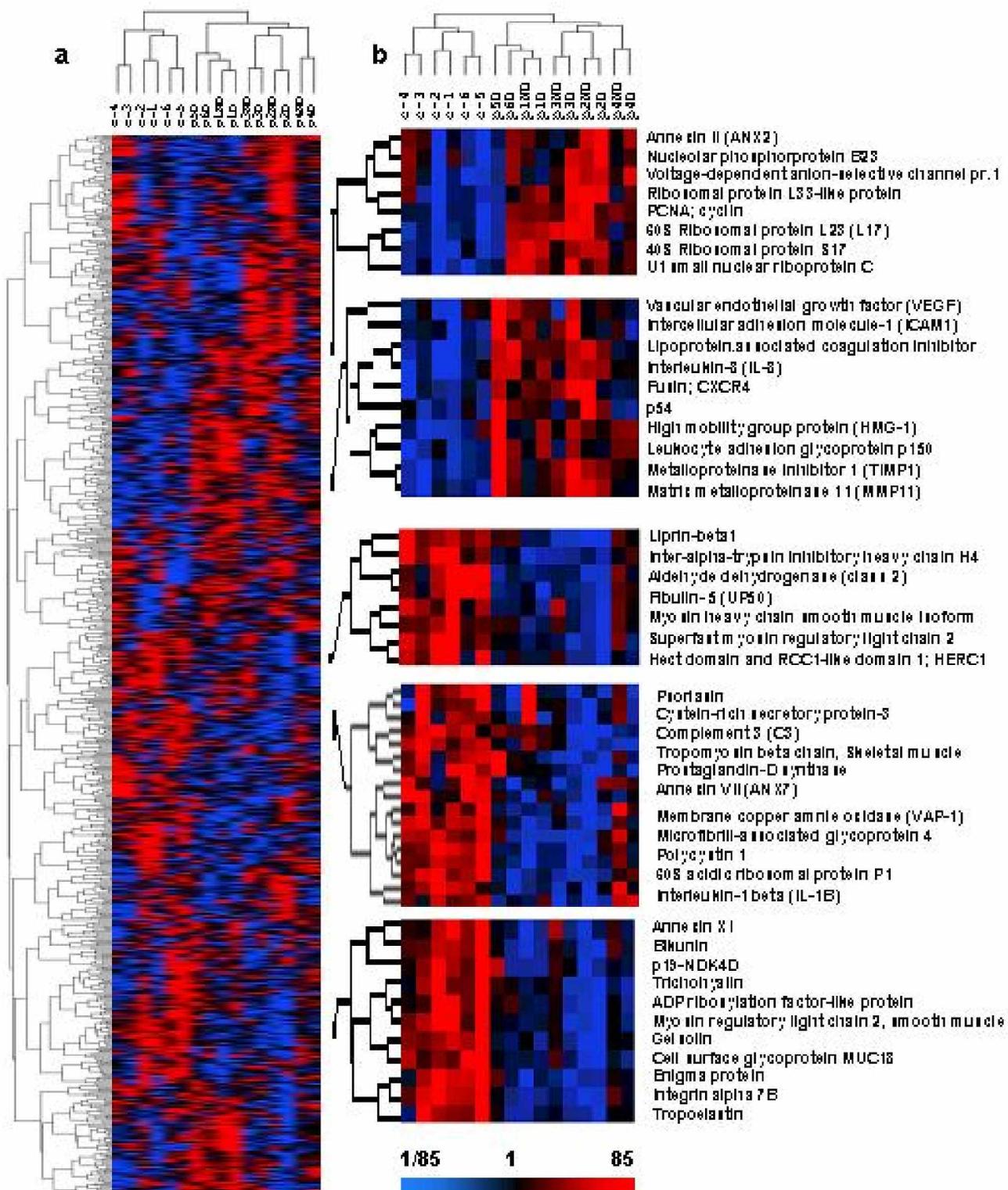


Abb. 4.5: Genexpressionsstudie A, Clusteranalyse nach Eisen

Abb. 4.5: Genexpressionsstudie A, Clusteranalyse nach Eisen

Clusterdiagramm von 16 Aortenproben mit 627 exprimierten Genen.

a) alle 627 exprimierten Gene b) die signifikant unterschiedlich exprimierten Gene.

c-1 to c-6 Aorta ascendens von 6 Kontrollen (Multiorganspendern).

p1D bis p 6D (Patient disseziert) dissezierte Aorta ascendens von 6 Patienten mit einer akuten Stanford A-Dissektion.

p1-4 ND (Patient nicht disseziert) makroskopisch intakte, nicht dissezierte Aorta ascendens von den Patienten 1-4 mit einer akuten Stanford A-Dissektion.

Jede Reihe entspricht einem Gen, jede Säule einer Aortenprobe eines Patienten. Rot bedeutet stark exprimiert, blau schwach exprimiert.

Clusteranalyse nach Eisen

Auch bei der Clusteranalyse nach Eisen (52) zeigte sich, daß dissezierte und nichtdissezierte Aortenwandanteile der gleichen Patienten keine Unterschiede in der Genexpression aufwiesen. In der Analyse am ähnlichsten waren sich jeweils die nichtdissezierte Wand und dissezierte Wand des gleichen Patienten.

Insgesamt bildeten die Dissektionspatienten eine einheitliche Gruppe, die klar von der Kontrollgruppe unterschieden werden konnte. Zur Differenzierung herangezogen wurden nahezu die gleichen Gene, die schon im *t*-Test als signifikant unterschiedlich exprimiert erkannt worden waren (Tab. 4.1, 4.2, Abb. 4.5)

Genexpressionsstudie B; BD Atlas™ Human Cardiovascular Array

Wie im Methodenteil schon beschrieben haben wir den *BD Atlas™ Human Cardiovascular Array* nach zwei unterschiedlichen Methoden analysiert.

Auswertungs-Methode 1: Bei der Normalisierung nach dem Mittelwert aller Gene hatten 138 Gene (23,1 %) einen Wert von mindestens 0,7 und wurden damit als sicher exprimiert erachtet und für die weitere Auswertung berücksichtigt. Dreißig dieser Gene (21,7 %) waren in der Aorta ascendens von Dissektionspatienten und Kontrollpersonen signifikant unterschiedlich exprimiert.

Auswertungs-Methode 2: Bei der Normalisierung gegen den Mittelwert der 4 "House-keeping-Gene" wurden 122 Gene (20,7 %) mit einem Wert von mindestens 2,5 exprimiert. Davon differierten 46 Gene (37,7 %) in der dissezierten Aorta ascendens und in der nicht dissezierten Kontrollaorta (Tab. 4.3).

Beide Auswertungsmethoden erbrachten ähnliche Ergebnisse. Siebenundzwanzig Gene wurden nach beiden Auswertungsmethoden übereinstimmend in der dissezierten Aorta und Kontrollaorta als unterschiedlich exprimiert erkannt. Lediglich 3 Gene (Decorin, Lipase A lysosomal Acid und Superoxyd dismutase 2) stellten sich nach Auswertungsmethode 1, nicht jedoch nach Methode 2 als unterschiedlich exprimiert dar, während 19 Gene nur nach Auswertung 2 und nicht nach Methode 1 unterschiedlich nachweisbar waren. Berücksichtigt man beide Auswertungsmethoden, so wurden 49 Gene als unterschiedlich exprimiert erkannt.

Lediglich 3 dieser Gene (1 intrazelluläres und 1 extrazelluläres Kommunikationsprotein und 1 Metabolismus-Enzym) hatten in der dissezierten Aorta eine höhere Expression als in der Kontrollaorta (Tab. 4.3). Bei allen übrigen 46 Genen war der relative mRNA-Gehalt in der Aorta ascendens von Dissektionspatienten niedriger als in der von Kontrollpersonen (Tab. 4.3).

Ähnlich wie bei den *BD Atlas™ Human 1.2, I,II,III Arrays* konnten die unterschiedlich exprimierten Gene wieder verschiedenen funktionellen Gen-Gruppen zugeordnet werden. Wieder war die Expression von mRNA einiger Komponenten der extrazellulären Matrix- Proteine in der dissezierten Aorta erniedrigt, wie zum Beispiel Kollagen VIII und Kollagen XIV, während die Kollagene I,IV,VI,XV und XVI gleich exprimiert waren und die Kollagene II, III, V, IX, XI-XIII, XVIII und XIX unterhalb der von uns definierten Nachweisgrenze lagen. Die mRNA von Tenascin-C war in der dissezierten Aorta stärker exprimiert. Von den Metalloproteinasen -1 bis -3, -7 bis -9, -11 bis -19 waren, ähnlich wie bei den *BD Atlas™ Human 1.2, I,II,III Arrays*, nur MMP-2

und MMP-14 exprimiert. Beide MMP's wiesen keinen Unterschied in der dissezierten und Kontrollaorta auf. Wieder konnten mRNA von TIMP-1 bis -3 auf den Arrays nachgewiesen werden, wobei die Expression von TIMP-1, wie bei den BD AtlasTM Human1.2, I,II,III Arrays signifikant erhöht war. Der Wert erscheint nicht in Tabelle 4.3, weil das gemittelte Verhältnis von Dissektion zu Kontrolle 1,93 betrug und damit knapp unter der von uns geforderten Ratio von mindestens 2 lag. Die mRNA von TIMP-2 und -3 war dagegen in der dissezierten Aorta erniedrigt (Tab. 4.3).

Die mRNA einiger Enzyme, wie Galaktosidase alpha, Glucosamine (N-acetyl)-6, Iduronate-2 sulfatase, die in den Stoffwechsel der Glykosaminoglykane, einem wichtigen Bestandteil der extrazellulären Matrix, eingreifen, waren in der Aorta von Dissektionspatienten gegenüber Kontrollpersonen erniedrigt (Tab. 4.3)

Erneut waren die Gene einiger Zelladhäsionsproteine in der dissezierten Aorta erniedrigt, und auch Gene des Zytoskeletts und der Zellbeweglichkeit, wie Actinin alpha 1, Filamin A, Vinculin und eine schwere Myosinkette waren schwächer exprimiert (Tab 4.3).

Auch die Genexpression von einigen Plasmamembranproteinen, die zum Teil als Rezeptoren oder Membrankanäle fungieren, war in der Aorta von Dissektions-Patienten gegenüber den Kontrollpersonen schwächer, ebenso wie einige intrazelluläre und extrazelluläre Kommunikationsproteine (z.T. Hormone) (Tab. 4.3, 4.4).

Wiederum zeigte sich auch, daß Gene, die für Enzyme des Kohlehydrat- und Lipidstoffwechsels codieren, in der dissezierten Aorta reduziert waren (Tab. 4.3).

Clusteranalyse nach Eisen

Bei der Clusteranalyse nach Eisen wurden alle Gene ausgewertet und dargestellt, deren Mittelwert größer oder gleich 3 war. Bei der Analyse der auf diese Weise ermittelten 117 Gene konnten die Aortendissektionsproben klar von den Kontrollproben differenziert werden (Abb. 4.6).

Tabelle 4.3: Genexpressionsstudie B, BD Atlas Cardiovascular Array

Vergleich der Aorta ascendens von Dissektionspatienten und Kontrollpersonen. Normalisierung nach House-keeping Genen. MW=Mittelwert, Stabw= Standardabweichung, Ratio= MW der Genexpression in der Dissektionsgruppedividiert durch den MW der Genexpression in der Kontrollgruppe.

	<i>p</i> *	Dissektion		Kontrolle		Ratio
		MW	Stabw	MW	Stabw	
Extrazelluläre Matrixproteine, Zelloberflächenantigene und Adhäsionsproteine						
Collagen. type VIII. alpha 1	0,000	0,68	0,8	4,55	2,1	0,2
Collagen. type XIV. alpha 1 (undulin)	0,000	5,21	1,6	20,59	9,4	0,3
Tenascin C, hexabrachion	0,014	8,36	3,4	4,03	2,7	2,1
CD9 antigen (p24)	<0,001	6,74	2,3	19,79	6,0	0,3
Melanoma cell adhesion molecule	0,000	0,86	0,5	4,51	1,4	0,2
Glucosamine (N-acetyl)-6-sulfatase	0,001	8,18	1,7	18,43	6,5	0,4
Galactosidase. alpha	0,001	0,67	0,5	2,56	1,3	0,3
Iduronate 2-sulfatase (Hunter syndrome)	0,013	3,04	1,4	8,23	5,0	0,4
Catenin (cadherin-associated protein). alpha 1 (102kD)	0,000	7,28	1,3	15,1	2,6	0,5
		34,2		149,2		
SPARC-like 1 (mast9. hevin)	0,002	8	17,7	3	86,0	0,2
Gap junction protein. alpha 1. 43kD (connexin 43)	0,002	12,9	4,9	32,41	13,4	0,4
Angio-associated. migratory cell protein	0,001	5,68	2,3	12,53	3,7	0,5
Myofibrilläre Proteine, Zytoskelett						
Myosin. heavy polypeptide 7	0,004	1,29	0,7	2,88	1,1	0,4
Actinin. alpha 1	0,000	2,04	0,9	5,82	1,5	0,4
		43,3		192,8		
Filamin A. alpha (actin binding protein 280)	<0,001	3	17,4	4	65,2	0,2
Vinculin	0,001	0,60	0,6	4,14	2,3	0,1
Metabolismus						
Alcohol dehydrogenase 5 (class III). chi polypeptide	0,011	0,70	0,5	3,31	2,5	0,2
Aldehyde dehydrogenase 2 family (mitochondrial)	0,001	0,95	0,8	3,81	1,7	0,2
Fatty acid binding protein 3. muscle and heart (mammary-derived growth inhibitor)	0,005	0,55	0,4	2,54	1,7	0,2
Apolipoprotein D	0,028	2,88	2,5	11,99	10,2	0,2
		11,6				
Phospholipase A2. group IIA (platelets. synovial fluid)	0,028	1	15,3	39,50	28,3	0,3
		10,9				
Low-density lipoprotein receptor (LDL receptor; LDLR)	<0,001	9	3,7	49,09	19,5	0,2
Gastric inhibitory polypeptide	<0,001	4,25	1,4	11,58	3,8	0,4
Enoyl Coenzyme A hydratase 1. peroxisomal	<0,001	2,91	1,1	7,69	2,7	0,4
Protein tyrosine phosphatase. receptor type. F	0,003	2,09	0,7	5,57	2,1	0,4
3-oxoacid CoA transferase	0,003	0,65	0,7	2,77	1,5	0,2
Extrazelluläre Matrix Proteolyse						
		11,1				
Tissue inhibitor of metalloproteinase 2	<0,001	9	4,7	34,5	9,6	0,3

Tissue inhibitor of metalloproteinase 3	0,001	1,30	0,9	6,86	3,8	0,2
Inflammation						
Small inducible cytokine A2	0,009	40,4 1	22,5	14,61	9,3	2,8
Annexin A3	<0,001	0,35	0,3	3,30	1,7	0,1
Leukotriene b4 receptor (chemokine receptor-like 1)	<0,001	0,93	0,4	3,27	1,4	0,3
Proliferation, Translation, Transkription						
G protein-coupled receptor 30	0,001	1,75	0,8	3,99	1,3	0,4
Sterol regulatory element binding transcription factor 2	<0,001	0,97	0,3	2,61	0,6	0,4 38
Wachstumsfaktoren						
Cardiotrophin 1	<0,001	3,9	1,3	15,69	6,2	0,3
Endothelin 2	<0,001	2,39	0,9	7,22	2,0	0,3
Neuropilin 2	0,002	4,64	2,1	10,49	3,7	0,4
Intracelluläre Kommunikationsproteine						
FOS-like antigen 1	0,004	5,55	1,7	1,61	0,4	3,5
Phospholamban	0,037	0,15	0,2	3,64	4,3	0,1
Plasmamembranproteine, Rezeptoren						
Diaphorase (NADH) (cytochrome b-5 reductase)	0,001	12,7 6	4,2	27,61	8,5	0,5
Progesterone receptor membrane component 1						
Natriuretic peptide receptor A/guanylate cyclase A	0,000	6,88	1,5	26,08	8,4	0,3
Natriuretic peptide receptor C/guanylate cyclase C	0,000	4,21	1,1	13,84	5,1	0,3
Solute carrier family 4. anion exchanger. member 3	0,000	3,84	1,3	12,39	9,3	0,3
Andere						
Prostaglandin I2 (prostacyclin) synthase	0,001	18,2 0	11,2	44,66	11,2	0,4
Protein S (alpha)	0,033	2,20	1,2	5,82	2,2	0,4
Superoxide dismutase 3. extracellular	<0,001	24,1	7,9	74,42	22,6	0,3

Clusterdiagramm von 16 Aortenproben mit 597 Genen. Kontrolle 1-8 repräsentiert die Aorta ascendens von 8 Kontrollen (Multiorganspendern), Dissektion 1-8 die dissezierte Aorta ascendens von 8 Patienten mit einer akuten Stanford A-Dissektion. Jede Reihe entspricht einem Gen, jede Säule einer Aortenprobe eines Patienten. Rot bedeutet stark exprimiert, grün schwach exprimiert.

Genexpressionsstudie C; Affymetrix-Chip

Als exprimiert wurden alle Gene gewertet, die einen Wert von mindestens 150 erreichten. Dieser Definition folgend waren 5039 Gene (22,6 %) der 22284 auf dem Chip applizierten Gene exprimiert. Davon wiesen 488 Gene (9,7 %) eine unterschiedliche Expression in der Dissektions- und Kontrollgruppe auf. In der dissezierten Aorta stärker exprimiert war die mRNA von 207 Genen (42,4 %), wohingegen 281 Genen (57,6 %) schwächer exprimiert waren. Wie schon bei den Atlas-Arrays gezeigt, waren einzelne Gene der für die Proteinsynthese und Inflammation codierenden Gruppen stärker nachweisbar, während für das Zytoskelett der Zelle, die Zelladhäsion und die extrazelluläre Matrix codierende Gene tendenziell schwächer zur Darstellung kamen.

Die Ergebnisse der Atlas-Experimente konnten mit dem Affymetrix-Experiment zum größten Teil bestätigt werden. Viele Gene, die bei den Atlas-Arrays eine unterschiedliche Expression in der Aortenwand von Dissektionspatienten und Kontrollen gezeigt hatten, waren auch in dem Affymetrix-Experiment unterschiedlich exprimiert (Tab. 4.1- 4.5). Erneut war die mRNA von Interleukin-6 und -8 sowie das Leukozyte Surface CD53 Antigen und auch für die Transkription und Translation codierende mRNA, wie 60 S Acidic Ribosomal Protein PO, Ribosomal Protein S4, Eukaryotic Translation Factor 4E in der dissezierten Aortenwand stärker nachweisbar (Tab. 4.4).

Die mRNA von wichtigen Bestandteilen der extrazellulären Matrix, wie Elastin, Kollagen VIII und XIV, war, wie schon im Atlas-Experiment gezeigt, in der dissezierten Aortenwand erniedrigt, während Tenascin-C erneut stärker exprimiert war. Tenascin-X war zwar in der dissezierten Aorta schwächer exprimiert, der Unterschied wurde jedoch als nicht statistisch signifikant erkannt ($p=0,08$). Zusätzlich zeigte sich das COL4A2 unterschiedlich exprimiert, während COL4A1 gleich exprimiert war. Gleichmäßig in der dissezierten und Kontrollaorta nachgewiesen wurden die Kollagene I, III, V, VI und Prokollagen Alpha 1 (III) Kollagen, während Kollagen II, VII, IX, X, XI, XIII, XVI, XVII, XIX unter der von uns definierten Nachweisgrenze lagen.

Die für die Metalloproteinasen MMP-1 und -2 codierenden Gene waren in der dissezierten und Kontrollaorta gleichmäßig nachweisbar, während MMP-14 in der dissezierten Aorta stärker

exprimiert war. Die Gene der Metalloproteinasen -3, -7 bis -20 und -23 bis -28 waren nicht nachweisbar. Die Inhibitoren der Metalloproteinasen (TIMP-1 bis -4) waren im Affymetrix-, konträr zum Atlas-Experiment, gleichmäßig exprimiert (Tab. 4.4).

Gene des Fibrillin-1 zeigten bei den Dissektionspatienten und Kontrollen das gleiche Expressionsniveau, während das Fibrillin-2 bei beiden Gruppen erneut nicht nachweisbar war.

Wiederum kamen auch viele Gene des Zytoskeletts in der dissezierten Aorta schwächer zur Darstellung, wie verschiedene leichte und schwere Myosinketten, Tropomyosin, Filamin A, und Actinin alpha 1 und 2.

Die mRNA von Zelladhäsionsproteinen, wie Polycystin-1 und -2, Fibulin-5, das Cell Surface Glycoprotein MUC18 und das Melanoma Cell Adhesion Molecule zeigten, wie im Atlas-Experiment, in der dissezierten Aorta ein niedrigeres Expressionsniveau, während der Fibronectin Rezeptor erneut stärker zur Darstellung kam.

Tabelle 4.4: Genexpressionsstudie C; Affymetix Human Genome U133A Gene Chip

Genexpression in der Aorta ascendens von Dissektionspatienten verglichen mit Kontrollpersonen.

Eine Auswahl der 488 unterschiedlich exprimierten Gene. MW= Mittelwert, Stabw=

Standardabweichung, Ratio= MW der Genexpression in der Dissektionsgruppe dividiert durch den MW in der Kontrollgruppe.

	p*	Dissektion		Kontrolle		Ratio
		MW	Stabw	MW	Stabw	
Extrazelluläre Matrixproteine, Zelloberflächenproteine, Adhäsionsmoleküle						
Elastin	0,010	938	474	2558	744,0	0,4
Collagen IV alpha 2 (COL4A2)	0,033	109	88	246	46,0	0,4
Collagen, type VIII, alpha 1	<0,001	73	17	232	30,0	0,3
Collagen, type VIII, alpha 2	0,005	137	48	324	74,0	0,4
Collagen, type XIV, alpha 1 (undulin)	<0,001	296	19	597	26,0	0,5
Collagen XVIII (COL18A1)	<0,001	228	40	485	32,0	0,5
Polycystic kidney disease 1 (autosomal dominant) (PKD1)	0,001	76	35	209	29,0	0,4
Polycystic kidney disease 2 (autosomal dominant) (PKD2)	<0,001	260	15	695	109,0	0,4
Extracellular matrix protein 2 (ECM2)	<0,001	127	50	437	69,0	0,3
Fibulin 5 (FBLN5)	<0,001	890	139	1983	135,0	0,4
Tenascin C	0,002	994	306	160	99,0	6,2
Fibronectin receptor, alpha polypeptide) (ITGA5)	0,003	552	159	163	52,0	3,4
Laminin, alpha 3	0,024	230	76	115	12,0	2,0
Chondroitin sulfate proteoglycan 4 (CSPG4)	0,007	63	22	170	49,0	0,4
Cell surface glycoprotein P1H12 precursor	<0,001	612	155	1500	110,0	0,4
Melanoma adhesion molecule	0,001	352	34	1008	158,0	0,3
MUC18 glycoprotein mRNA, complete cds,	<0,001	412	50	876	105,0	0,5
Filamin A, alpha (actin-binding protein-280)	<0,001	1767	455	3647	227,0	0,5
Integrin, alpha 8	<0,001	413	132	1733	122,0	0,2
Integrin, beta-like 1 (ITGBL1)	0,005	124	19	300	79,0	0,4
Integrin, beta 2	0,046	449	201	189	53,0	2,4
Integrin, beta 5	0,001	83	8	205	38,0	0,4
CD9 antigen (p24) (CD9)	0,001	690	110	1491	229,0	0,5
Myofibrilläre Gene, Zytoskelett						
Myosin IB	0,010	136	26	309	91,0	0,4
Myosin phosphatase target subunit 2	0,000	381	92	1472	199,0	0,3
Myosin regulatory light chain 2, smooth muscle (MYRL2),	<0,001	1861	427	3853	305,0	0,5
Myosin regulatory light chain interacting protein (MIR),	0,012	154	38	310	79,0	0,5
Myosin, light polypeptide kinase (MYLK),	<0,001	721	140	1586	159,0	0,5
Myosin heavy chain isoform SM2, smooth muscle	<0,001	506	116	1601	203,0	0,3
Myosin heavy chain-B (MYH10), nonmuscle	<0,001	1335	216	3829	217,0	0,3
Tropomyosin 1 (alpha) (TPM1),	0,004	57	7	154	42,0	0,4
Tropomyosin complete	<0,001	998	133	2408	296,0	0,4
Leiomodin 1 (smooth muscle) (LMOD1)	0,001	841	193	2071	319,0	0,4
Actin binding protein ABP620	<0,001	235	44	529	74,0	0,4
Macrophin, Actin binding protein;	<0,001	162	23	355	31,0	0,5
Alpha-actinin , non-muscle	<0,001	487	21	1101	98,0	0,4
Alpha-actinin-2 associated LIM protein	0,001	510	102	1144	203,0	0,4
Destrin (actin depolymerizing factor)	<0,001	1087	134	2276	292,0	0,5
Gelsolin (amyloidosis, Finnish type) (GSN)	0,003	1603	555	3280	452,0	0,5

Kinesin-like Pseudogen	0,035	133	49	290	104,0	0,5
Plasmamembranproteine, Rezeptoren						
Natriuretic peptid receptor (ANP- A)	<0,001	129	41	443	48,0	0,3
Natriuretic peptide receptor Aguanilate cyclase A	<0,001	58	17	172	29,0	0,3
Natriuretic peptide receptor Aguanilate cyclase A	0,001	117	13	269	47,0	0,4
Wachstumsfaktoren						
Angiopoietin related protein (PGAR)	0,011	233	95	53	28,0	4,4
Endothelial cell growth factor 1) (ECGF1)	<0,001	88	12	205	30,0	0,4
Fibroblast growth factor 13 (FGF13)	0,001	139	9	309	50,0	0,4
Connective tissue growth factor,	0,003	1129	209	2372	466,0	0,5
Insulin-like growth factor binding protein 2(36kD)	0,003	507	28	2103	658,0	0,2
Insulin-like growth factor binding protein 6 (IGFBP6)	0,004	444	206	1209	268,0	0,4
Transforming growth factor beta binding protein 1	0,001	304	87	634	52,0	0,5
Transforming growth factor, beta-induced, (TGFB1)	0,012	1859	566	788	191,0	2,4
Metabolismus						
Aldehyde dehydrogenase 1	0,007	170	50	57	26,0	3,0
Aldehyde dehydrogenase 5 (ALDH5)	0,003	100	5	278	73,0	0,4
fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	0,024	830	370	251	107,0	3,3
Intracelluläre Kommunikationsproteine						
FOS-like antigen-1	0,016	203	83	56	29,0	3,6
Phospholamban (PLN)	0,002	383	93	1325	356,0	0,3
Extrazelluläre Matrixproteolyse						
Matrix metalloproteinase 14	0,006	171	48	68	14,0	2,5
Clone rasi-11 matrix metalloproteinase RASI-1 mRNA,	0,022	258	114	82	14,0	3,2
Inflammation						
Interleukin 6 (interferon, beta 2) (IL6)	0,022	1020	474	238	185,0	4,3
Interleukin 8 (IL8)	0,030	378	243	31	27,0	12,2
Interleukin-1 receptor-associated kinase 1	0,001	441	69	208	41,0	2,1
Interferon, gamma-inducible protein 30 (IFI30)	0,012	1832	826	343	147,0	5,3
Chemokine (C-C motif) receptor 1	0,009	358	92	146	62,0	2,5
Chemokine receptor CXCR4 m	0,016	328	120	122	28,0	2,7
Complement component 1, q subcomponent binding protein	<0,001	216	12	72	10,0	3,0
Complement component 3 (C3),	0,028	941	610	1919	291,0	0,5
Complement component 5 receptor 1 (C5R1)	0,011	320	123	92	25,0	3,5
Complement component 7 (C7)	0,010	333	179	743	133,0	0,4
Myeloid cell nuclear differentiation antigen (MNDA)	0,013	177	75	45	10,0	3,9
CD53 antigen (CD53)	0,018	750	239	348	74,0	2,2
CXCR4 gene encoding receptor CXCR4	0,012	387	167	86	29,0	4,5
Proliferation, Translation, Transkription						
Eukaryotic translation initiation factor 4E bind protein 1	0,001	257	57	89	11,0	2,9
60S acidic ribosomal protein PO (LOC51154),	0,006	180	57	61	9,0	3,0
Adenine phosphoribosyltransferase	<0,001	202	16	95	17,0	2,1
ADP-ribosylation factor-like 7	0,008	224	57	100	32,0	2,3
Andere						
Prostaglandin GH synthase and cyclooxygenase)	0,005	311	101	93	20,0	3,3
Superoxide dismutase 2, mitochondrial	0,001	170	37	45	6,0	3,7
Superoxide dismutase 3, extracellular (SOD3)	0,002	327	112	901	178,0	0,4
Thrombomodulin (THBD)	0,029	557	279	155	38,0	3,6
Thromboxane A2 receptor	<0,001	154	40	414	59,0	0,4
Cysteine and glycine-rich protein 1 (CSRP1)	<0,001	807	150	1687	86,0	0,5
Cysteine-rich motor neuron 1 (CRIM1)	0,004	79	26	416	144,0	0,2
Cysteine-rich protein 1 (CRIP1)	0,003	248	128	860	223,0	0,3

Diskussion

Im folgenden werden verschiedene Ursachen der Aortendissektion zusammengestellt, kritisch bewertet und mit den eigenen Erfahrungen aus dem chirurgischen Krankengut der Universitätsklinikums Düsseldorf verglichen. In einem weiteren Schritt werden danach neue eigene Untersuchungen über den molekularbiologischen Hintergrund der Aortendissektion diskutiert.

Angeborene Bindegewebskrankungen

Marfan-Syndrom

Seit langem weiß man, daß Patienten mit angeborenen Bindegewebsstörungen zur Aortendissektion neigen. Am bekanntesten ist das Marfan-Syndrom, das autosomal dominant vererbt wird und mit einer Prävalenz von 1:10.000 bis 1:20.000 auftritt (29-32). Der Krankheit zugrunde liegt eine Störung des Fibrillin-1, einem cysteinreichen Glykoprotein (55), das Hauptbestandteil der Mikrofibrillen ist. Mikrofibrillen sind zusammen mit Elastin Bestandteil elastischer Fasern (30,56). Der Defekt der Mikrofibrillen führt zu einer Bindegewebschwäche mit unterschiedlichsten Veränderungen im Skelett- und kardiovaskulären System sowie den Augen. Auffällig ist eine Subluxationstellung der Linsen, das sogenannte „Linsenschlottern“, eine Langgliedrigkeit der Finger, lange Extremitäten im Vergleich zur Körperhöhe und Thoraxdeformitäten. Der Grund für die, unbehandelt, niedrige Lebenserwartung von 32 Jahren sind kardiovaskuläre Komplikationen, die nahezu alle Marfan-Patienten entwickeln (33-34). Bis heute wurden etwa 80 Fibrillin-1 Mutationen identifiziert. Die meisten Fibrillin-Mutationen beruhen auf dem Austausch einer einzigen Aminosäure. Die Mutationen scheinen die Calciumbindung der Fibrillen negativ zu beeinflussen. Gebundene Calciumionen machen die Fibrillinmoleküle rigider und die Mikrofibrillen dadurch stabiler (30). Größere Aortendissektions-Operationsstatistiken berichten allerdings nur von einem Anteil an Marfan-Patienten von etwa zehn Prozent (32). Diese Häufigkeit fanden wir auch in unserem eigenen Krankengut, in dem 7 Stanford A1- (8%), kein A2- und nur 1 Stanford B-Patient (0,3%) unter einem Marfan-Syndrom litten. Unsere molekularbiologischen Untersuchungen zeigten eine gleichmäßige Verteilung der für Fibrillin-1 codierenden mRNA in der Aorta von Dissektionspatienten und Kontrollpersonen, während Fibrillin-2 in beiden Gruppen nicht exprimiert war.

Ehlers-Danlos-Syndrom

Das Ehlers-Danlos-Syndrom ist ebenfalls ein autosomal dominant vererbtes Leiden, das in einer Häufigkeit von 1:100.000 auftritt (57,58) und sich durch Zerreißbarkeit und Hyperelastizität der Haut, Überbeweglichkeit der Gelenke, subcutane Knötchen und einer enormen Brüchigkeit der Gefäße auszeichnet (59). Das Syndrom wird in 7 Formen mit unterschiedlichen biochemischen Defekten und unterschiedlicher klinischer Ausprägung unterteilt. Typ IV wird durch eine Mutation im COL3A1 Gen hervorgerufen (60,61). Dadurch wird die Synthese von Typ III Prokollagen beeinträchtigt, das ein wesentlicher Bestandteil der Gefäßwand, der Wand von Hohlorganen des Gastrointestinaltraktes und des graviden Uterus ist (60,62). Entsprechende Komplikationen sind einerseits Hohlorganperforationen und Uterusrupturen, andererseits kardiovaskuläre Komplikationen wie Aortendissektionen, periphere und intracranielle Aneurysmen, spontane Gefäßrupturen und Sinus cavernosus-Fisteln (59,60,63). Bei unserer COL3A1 mRNA Analyse mittels Affymetrix-Chips konnte kein Unterschied zwischen der Aorta von Dissektionspatienten und Kontrollen gesehen werden, was dafür spricht, daß den Aortendissektionen in unserer molekularbiologischen Serie kein Ehlers-Danlos-Syndrom zugrunde lag.

Ultrastrukturelle Untersuchungen der Haut von Patienten mit einem Ehlers-Danlos-Syndrom zeigen eine anormale Verteilung von Kollagenfibrillen (64). Ähnliche ultrastrukturelle Veränderungen wurden allerdings auch in der Haut von Patienten mit einer Carotidisdissektion gesehen, ohne daß diese Patienten unter einem Ehlers-Danlos-Syndrom litten (65,66).

Häufiger kann man bei Patienten einzelne phänotypische Merkmale eines Marfan- oder Ehlers-Danlos-Syndroms beobachten, ohne daß diese Veränderungen einem bestimmten Syndrom zugeordnet werden können. In neuer Zeit wurde dafür der Begriff „benign joint hypermobility syndrome“ geprägt (67-69).

Bindegewebsauffälligkeiten, denen kein Syndrom zugrunde liegt

Individuelle Bindegewebsauffälligkeiten

Wir haben uns überlegt, daß eine bisher unerkannte Bindegewebsstörung Ursache der Aortendissektion sein und sich unter anderem auch äußerlich durch Merkmale einer Bindegewebsschwäche, z.B. durch ein „benign joint hypermobility syndrome“, manifestieren könnte. Es wurden deshalb 92 Patienten mit einer bekannten Aortendissektion und 92 Kontrollpersonen nach

einem modifizierten Marfan- und Ehlers-Danlos-Protokoll nach phänotypischen Zeichen einer Bindegewebsschwäche befragt und untersucht (Abb. 1). Patienten mit einem bekannten Syndrom wurden von der Untersuchung ausgeschlossen. Dabei hatten Dissektionspatienten häufiger als Kontrollpersonen spezielle Zeichen einer Bindegewebsschwäche, wie überstreckbare Gelenke, dünne Narben, eine dehnbare Haut etc. (Tab. 2.2, 2.3), wobei Stanford A1-Patienten die meisten speziellen Bindegewebszeichen zeigten (Tab. 2.5). Stanford A1-Patienten wiesen auch häufiger Marfantypische Körpermaße, wie überlange Arme oder Beine, oder lange Finger auf, ohne aber alle klinischen Marfankriterien zu erfüllen (Tab. 2.6). Wir haben definiert, daß phänotypisch eine Bindegewebsschwäche vorliegt, wenn 4 der 15 möglichen Bindegewebszeichen vorhanden sind. Diesen Kriterien folgend, hatten 41 % der Stanford A1-, 22 % der A2- und der B-Patienten, aber nur 6 % der Kontrollpersonen phänotypische Hinweise für eine Bindegewebsschwäche (Tab. 2.7). Damit weist ein Teil der Aortendissektionspatienten äußerliche Zeichen einer Bindegewebsschwäche auf, die insgesamt diskret angelegt sind und nicht einem Syndrom zugeordnet werden können. Von dieser Bindegewebsschwäche sind vor allem Stanford A1-Patienten betroffen.

Familiäre Bindegewebsauffälligkeiten

Um zu untersuchen, ob diese Veränderungen erblich bedingt sind, haben wir auch einen Familienstammbaum erhoben und die Patienten und Kontrollpersonen unter anderem nach familiären Aortendissektionen, überstreckbaren Gelenken bei Familienmitgliedern, Aneurysmen, plötzlichen Todesfällen als Hinweis auf eine Aortenruptur etc. gefragt (Abb. 2.1). Typische Aortendissektionsfamilien sahen wir, abgesehen von den Familien mit Marfan-Syndrom nicht. Die Gruppe der Dissektion hatte jedoch häufiger Zeichen einer familiären Bindegewebsschwäche als die Kontrollgruppe (Tab. 2.2, 2.3). Der Unterschied war aber nicht mehr signifikant, wenn man die einzelnen Dissektionsgruppen miteinander und mit den Kontrollpersonen verglich (Tab. 2.8), so daß die Bindegewebsschwäche wahrscheinlich nicht erblich bedingt ist oder zumindestens nicht einem strengen Vererbungsmodus folgt.

Biddinger untersuchte 843 Verwandte 1. Grades von 158 Patienten mit thorakalen Aortenaneurysmen oder -dissektionen, die kein zugrundeliegendes Syndrom hatten. Als Kontrollgruppe wurden die 114 Gatten/innen der Erkrankten verwendet. Dabei hatten Verwandte 1. Grades ein höheres Risiko ein thorakales Aneurysma aufzubilden oder an einem plötzlichen Tod zu versterben, verglichen mit der Kontrollgruppe. Als Ursache des plötzlichen Todes wurden entweder eine Aneurysmaruptur oder ein Myokardinfarkt vermutet. Bei 346 Verwandten 1. Grades von

Patienten mit Aortendissektionen wurde nur zweimal eine Aortendissektion beobachtet, bei der Kontrollgruppe niemals (39).

Andere Ursachen der Aortendissektion

Entzündliche Erkrankungen

Vereinzelte Fallberichte beschreiben einen Zusammenhang von entzündlichen Erkrankungen mit einer Aortendissektion, wie zum Beispiel das gleichzeitige Vorkommen von Lupus erythematosus (70) oder der Takayasu-Arteritis (71). Inzwischen weiß man, daß die Aortendissektion häufig zunächst mit einem Wandhämatom auf dem Boden einer vasa vasorum Blutung beginnt (2-4) und die Intima dann sekundär einreißt. Interessant ist in diesem Zusammenhang die Polyarteritis nodosa, die zu einer nekrotisierenden Vaskulitis in den kleineren Arterien und in den vasa vasorum größerer Arterien führen kann (72). In unserem Aortendissektions-Krankengut sahen wir keinen Patienten, der an einer entzündlichen Aorten- oder Arterienerkrankung litt.

Drogenabusus

Auch der Konsum von Kokain soll über eine verstärkte Bereitstellung von Neurotransmittern und der dadurch bedingten Tachykardie, Hypertonie und Widerstandserhöhung eine akute Aortendissektion auslösen können (73-74). Wir selbst konnten bei unseren Dissektionspatienten keinen Drogenabusus beobachten.

Schwangerschaft

Eine der häufigsten Todesursachen von Schwangeren und Wöchnerinnen ist die Arterienruptur (75-78). Cerebrale, viszerale und renale Aneurysmen, aber auch die Aorta selbst, tendieren besonders im 3. Trimenon zur Ruptur. Nach einer Untersuchung von Mandel et al. liegt bei der Hälfte der Frauen unter 40 Jahren, die eine Aortendissektion und -ruptur erleiden, gleichzeitig eine Gravidität vor (77). Ob Hormonveränderungen oder hämodynamische Umstellungen zu einer Schwächung der Arterienwand führen ist bisher unbekannt. Obwohl sich in unserer Dissektionsgruppe auch einige Patientinnen im gebärfähigen Alter befinden, trat bei keiner dieser Frauen die Dissektion während der Schwangerschaft oder im Wochenbett auf.

Kardiale oder aortale Vorerkrankungen

Seit langem schon ist bekannt, daß bikuspidale Aortenklappen, zum Teil kombiniert mit einer Coarctatio aortae oder Aortenisthmusstenose, zur Aortendissektion prädisponieren (79-81). Dabei scheint die mit der bikuspidalen Klappe vergesellschaftete Aortenklappenstenose der kausale Faktor zu sein (82). Von Kodolitsch et al. konnten zeigen, daß ein Aortenklappenersatz (AKE) ein unabhängiger prädiktiver Faktor für die Entstehung einer späteren Aortendissektion ist. Das Risiko der späteren Aortendissektion war dann erhöht, wenn zum Zeitpunkt der AKE eine Aorteninsuffizienz und eine dünne, fragile Aortenwand vorlag (83,84).

Wir beobachteten vor allem bei den lokalen, nur die Aorta ascendens betreffenden Dissektionen (Stanford A2-Dissektion) eine entsprechende kardiale Vorgeschichte. Neunundvierzig Prozent der Stanford A2- gegenüber 10 % der Stanford A1- und 9 % der Stanford B-Patienten hatten einen konservativ oder operativ behandelten Aortenklappenfehler, einen Zustand nach aortokoronarem Venenbypass, eine Aortenisthmusstenose, eine Perimyokarditis oder anderes (Tab. 1.3). Unklar bleibt die Ursache der Dissektionsentstehung. Denkbar sind verschiedene Erklärungsmöglichkeiten: Haben Patienten mit einer bikuspidalen Aortenklappe oder einer Aortenisthmusstenose angeborenen Veränderungen der Aortenwand, die zur Gefäßwandspaltung prädisponieren? Führt der durch einen Aortenklappenfehler veränderte Blutstrom oder die lokale Blutdruckerhöhung bei einer Aortenisthmusstenose mechanisch zur Aortenwandschädigung? Ist die Dissektion iatrogen, zum Beispiel durch Setzen der Aortenklemme oder durch die Platzierung einer Aortenkanüle zur Instillation von Kardioplegielösung entstanden, oder entwickelte sich die Dissektion im Narbengewebe nach voraus gegangenem operativen Eingriff an der Aorta ascendens? Unklar bleibt auch, weshalb die Dissektion in diesen Fällen lokal auf die Aorta ascendens beschränkt blieb und sich nicht weiter nach distal auf den Aortenbogen und die Aorta descendens fortsetzte.

Immer wieder wird in diesem Zusammenhang auch das Turner Syndrom genannt, einem Syndrom, das ebenfalls zur Aortendissektion prädisponieren soll. Zwanzig bis 44 % der Betroffenen weisen Erkrankungen im kardiovaskulären System, wie bikuspidale Aortenklappen, Aortenklappenstenosen oder -insuffizienzen, Aortendilatationen und auch eine Coarctatio aortae auf. Wahrscheinlich läßt sich die Prädisposition zur Aortendissektion durch die kardiovaskulären Zusatzerkrankungen erklären (85,86). Wir sahen in unserem umfangreichen Krankengut keinen Patienten mit einem Turner-Syndrom.

Arteriosklerose

Eine ausgeprägte Arteriosklerose beobachteten Larson und Edwards in ihrem postmortalen Krankengut lediglich bei 9 % der A-Dissektionen, aber bei 80 % der B-Dissektionen (36). Auch andere Arbeitsgruppen sahen eine Koinzidenz von distalen Aortendissektionen mit arteriosklerotischen Veränderungen (36-38). In diesem Zusammenhang muß sicherlich das penetrierende aortale Ulcus genannt werden, das mit zahlreichen arteriosklerotischen Risikofaktoren vergesellschaftet ist und vor allem bei Männern über 60 Jahre auftritt. Diese arteriosklerotischen Ulcera können vor allem in Bereich der Aorta ascendens und im Aortenbogen die Lamina elastica interna durchbrechen und dann zu einem lokalen Mediahämatom und letztendlich zur lokalen Dissektion führen (87). Auch wir konnten bei den Patienten mit lokalen Dissektionen der Aorta ascendens (Stanford A2-Dissektionen) die meisten arteriosklerotischen Risikofaktoren beobachten. Zwei der 3 Risikofaktoren Nikotin-abusus, Diabetes mellitus und Hyperlipidämie wiesen 10 Stanford A2- (56 %), 10 Stanford A1- (34 %) und 12 Stanford B-Patienten (27 %) auf. Der Unterschied zwischen den Dissektionsgruppen wurde im χ^2 -Test als gerade nicht signifikant erkannt (Tab. 3.1). Nicht auszuschließen ist, daß ein Teil der lokalen Dissektionen im Bereich der Aorta ascendens durch arteriosklerotische Plaqueaufbrüche entstanden sind.

Hypertonie

Larson und Edwards ermittelten in ihrem eigenen Krankengut, daß 52 % der Stanford A- und 75 % der Stanford B-Dissektionen eine arterielle Hypertonie hatten (36). In unserer Studie. war der relative Anteil ähnlich: 48 von 92 Dissektionspatienten (52 %) litten schon vor dem Dissektionsereignis unter einer behandlungsbedürftigen Hypertonie, wobei der Anteil der Hypertoniker in den einzelnen Dissektionsgruppen nicht unterschiedlich war (Tab. 3.1). Im Rahmen der "National Health and Nutrition Examination Surveys" wurde gezeigt, daß etwa 50 % der weißen Bevölkerung im Alter zwischen 60 und 74 Jahren unter einem Bluthochdruck leiden (88). In den europäischen Ländern liegt der Prozentsatz der Hypertoniker noch höher, wobei die größte Prävalenz in der Bundesrepublik Deutschland ermittelt wurde. Einer aktuellen Statistik zufolge haben über 55 % der Bundesbürger im Alter zwischen 35 und 64 Jahren einen Ruheblutdruck von mindestens 140/90 mmHg und sind damit definitionsgemäß Hypertoniker. In der Altersgruppe von 55-74 Jahren leiden sogar 75-85 Prozent der untersuchten Population unter einer Hypertonie. In der Studie wurde allerdings auch gezeigt, daß in Deutschland nur 26 % der Hypertoniker antihypertensiv behandelt sind (89). Der Anteil der Hypertoniker in unserem analysierten Dissektionskrankengut unterscheidet sich damit nicht wesentlich von der bekannten Hypertonie-Prävalenz in der

gleichaltrigen Bevölkerung. Allerdings ist nicht auszuschließen, daß ein Teil der Dissektionspatienten schon vor dem Dissektionsereignis unter einer bisher unerkannten und unbehandelten Hypertonie litten. Bei den meisten Personen entwickelt sich die Dissektion aus subjektivem Wohlbefinden heraus, so daß viele Dissektionspatienten vor dem Dissektionsereignis ohne ärztliche Behandlung waren. Nach dem Dissektionsereignis weisen dann ein Großteil der Patienten eine, zum Teil renovaskulär ausgelöste, Hypertonie auf. Man kann häufig nur schwer beurteilen, ob die Hypertonie vielleicht unerkannt schon prae dissectionem bestanden hat.

Medionecrosis Erdheim Gsell

Die innerste Schicht der Aorta, die Intima, besitzt unter dem einschichtigen Endothel eine feinfaserige elastisch-muskulöse Schicht mit elastischen Netzen und eingestreuten längsverlaufenden Muskelzellen. Die breite Media besteht in der Aorta ascendens zum großen Teil aus elastischen Fasern, in die glatte Muskulatur und auch kollagene Fasern eingeflochten sind. Elastin ist vor allem für die elastischen Eigenschaften der Aortenwand verantwortlich, während die Kollagene Festigkeit vermitteln. Die Lamina elastica externa wiederum trennt die Media von der Adventitia, die die Aorta in ihrer Umgebung verankert und vor allem aus kollagenen und elastischen Fasern besteht (90,91). Während die Ernährung der äußeren Schichten größerer Arterien durch eigene Gefäße, die vasa vasorum, erfolgt, wird die Intima und innere Mediaanteile vom Lumen her per diffusionem ernährt (90).

Die „Medionecrosis aortae idiopathica cystica“ von Erdheim wurde klassischerweise als eine der führenden Ursachen für Aortendissektionen angesehen (92). Die Aortenwand weist schwere Fragmentationen der elastischen Fasern bis hin zu ihrem völligen Verlust auf. Hinzu kommen seenartige Anreicherungen saurer Mukopolysaccharide, fleckförmiger Myozytennekrosen und eine deutliche Mediafibrose auf (92,93). Inzwischen zeigte sich jedoch, daß der Begriff wenig spezifisch für die Aortendissektion ist. Larson und Edwards sahen z.B. in nur 18 % ihrer „Nicht-Marfan-Dissektionen“ eine Mediadegeneration, die der idiopathischen cystischen Medianekrose ähnelten (36). Leu et al. konnten zeigen, daß Einlagerung mukoider Substanzen zwischen den Muskelfasern der intimalen Mediabschnitte eine häufige Erscheinung darstellen, die in jedem Lebensalter und bei beiden Geschlechtern auftreten können (94). Die Umfangsmasse der Aorta, besonders der Aorta ascendens nehmen im Laufe des Lebens zu, wobei sich keine Relation des Aortenumfanges zum Grad mukoider Einlagerungen ermitteln ließ (94). Schlatmann und Becker postulierten, daß mit zunehmendem Lebensalter auch in der Normalbevölkerung Strukturveränderungen der Aorta

nachweisbar sind, die sich nur quantitativ nicht aber qualitativ von der Medianecrosis Erdheim Gsell unterscheiden (95,96). Sie nahmen an, daß die Aortendissektion Folge eines „injury and repair“ Mechanismus ist, der durch die hämodynamischen Kräfte des Blutstroms ausgelöst wird. Menschen mit einem zugrundeliegenden Bindegewebsdefekt, wie zum Beispiel Marfan-Patienten, entwickeln die histologischen Veränderungen in der Aorta früher und damit auch Komplikationen, wie Ruptur oder Dissektion (95,96).

Molekularbiologische Untersuchungen der dissezierten Aortenwand

Wir wollten wissen, welche molekularbiologischen Veränderungen der Aortendissektion zugrunde liegen und haben deshalb erstmalig in Genexpressionsstudien die Aorta ascendens von Dissektionspatienten mit nichtdissezierter Kontrollaorta von Multiorganspendern verglichen.

Mit der DNA Array- oder DNA Chip-Technology wurde es erstmals möglich, simultan die Expression von Tausenden von Genen in einem Gewebe zu erfassen. Grundlage der Array- oder Chip-Technologie ist die, auf komplementärer Basenpaarung beruhende, spezifische Hybridisierung einzelsträngiger DNA- oder RNA-Moleküle zu einem Doppelstrang. Die sogenannten Arrays oder Chips sind entweder Nylongewebe oder Glasfilter, auf denen Tausende einzelsträngiger komplementärer DNA Fragmente appliziert sind, die für bestimmte Gene codieren. In dem zu untersuchenden Gewebe wird die messenger RNA isoliert, mittels reverser Transkription in komplementäre DNA umgeschrieben und dann entweder radioaktiv markiert oder erneut in cRNA umgeschrieben und fluoreszenzmarkiert. Diese markierten Proben werden mit dem Array/Chip hybridisiert. Die Menge der gebundenen DNA/RNA ist proportional zur Menge der mRNA im untersuchten Gewebe. Die Auswertung erfolgt dann durch die Analyse der Schwärzung, die die Radioaktivität auf Fotopapier hinterläßt, oder durch Analyse der Fluoreszenzsignale. Auf diese Weise kann man semiquantitativ die Expression der mRNA in einem Gewebe messen und erhält indirekt auch Hinweise auf die Proteinbiosynthese. Durch vergleichende Expressionsstudien von gesundem und krankem Gewebe kann damit die Pathogenese einer Erkrankung mit ihren komplizierten molekularen Reaktionskaskaden untersucht werden (97-100)

Wir haben postuliert, daß die Aortendissektion Folge eines präexistierenden strukturellen Defektes in der Aortenwand ist. Um dies zu beweisen, haben wir bei 4 Stanford A-Patienten nicht dissezierte, makroskopisch intakte mit dissezierter Aortenwand verglichen. Dabei zeigte sich kein Unterschied in

der Genexpression. Auch in der Clusteranalyse nach Eisen waren sich die beiden Untersuchungen des jeweiligen Patienten am ähnlichsten und in ihrem Expressionsprofil von den anderen Dissektionspatienten unterschiedlich (Abb 4.1). Dieses Ergebnis zeigt, daß die molekularbiologischen Veränderungen, die in der Aortenwand von Dissektionspatienten nachgewiesen werden, wahrscheinlich schon vor dem eigentlichen Dissektionsereignis bestanden haben und strukturelle Veränderungen repräsentieren, die letztendlich die Ursache der Dissektion sind.

Proteinbiosynthese, Inflammation

Die Aortendissektion scheint Folge eines „injury and repair“-Mechanismus zu sein (95,96). Entweder ist die Aortenwand durch einen präexistierenden Bindegewebsdefekt geschwächt, oder sie kann nur ungenügend auf veränderte hämodynamische Kräfte des Blutstroms, zum Beispiel im Rahmen einer Hypertonie oder eines Aortenklappenfehlers reagieren. Als Zeichen des Reparaturmechanismus sahen wir sowohl bei den Genexpressionsstudien mit den Atlas-Arrays als auch mit den Affymetrix-Chips, daß Gene, die für die Proteinbiosynthese codieren, in der dissezierten Aorta erhöht waren. So waren Gene verschiedener Transkriptions- und Translationsfaktoren und auch ribosomaler Proteine in der dissezierten Aorta vermehrt exprimiert. Diese Umbauvorgänge scheinen auch eine gewisse entzündliche Komponente zu haben. Im Blut schwimmende Leukozyten müssen am Endothel anhaften, bevor sie die Zirkulation verlassen und ins Gewebe wandern können. Die feste Anhaftung an das Endothel wird durch spezielle Adhäsionsmoleküle vermittelt, die als Integrine bezeichnet werden (101). Dazu gehören zum Beispiel die β_2 -Integrine, deren Gene in unserem Experiment in der dissezierten Aortenwand vermehrt nachweisbar waren (Tab. 4.4). Diese Integrine binden nur dann gut an das Endothel, wenn ihre Bindungsaktivität durch Aktivierung erhöht ist. Dies geschieht durch Chemokine wie Interleukin-8 (101). Nach Adhäsion an das Endothel wandern Leukozyten unter dem Einfluß von chemotaktischen Faktoren, wie Komplement-5a in das Gewebe (101). Wir konnten in unserem Affymetrix-Experiment eine erhöhte Genexpression aller dieser Leukozyten-Adhäsions und -Migrations fördernden Faktoren nachweisen (Tab. 4.4). Nach Gewebeverletzungen werden Entzündungszellen aktiviert, die die Zytokine Interleukin-1 und -6 sowie Interferon- γ freisetzen, die dann in der Leber die Synthese von Akute-Phase-Proteinen fördern (101). Wir sahen ebenfalls eine vermehrte Genexpression dieser Zytokine in der Aorta von Dissektionspatienten (Tab 4.4).

Extrazelluläre Matrix

Neben den Kollagenen und dem Elastin weist die extrazelluläre Matrix (ECM) von Bindegewebe auch verschiedene Proteoglykane (früher saure Mucopolysaccharide), Hyaluronat, adhäsive Glykoproteine und Adhäsionsproteine auf (102,103).

Kollagene

Die menschliche Aorta enthält etwa 12-24 g Kollagen und 28-32 g Elastin pro 100 g Trockengewebe (102). Die einzelnen Kollagene haben eine unterschiedliche Gewebsverteilung. Hauptbestandteil der Gefäßwand sind die Kollagene I und III (102,103), deren mRNA in unserem Experiment in der dissezierten Aorta und gesunden Kontrollorta gleichmäßig vorhanden war. Kollagen IV ist ein Bestandteil von Basalmembranen, während Kollagen VIII vor allem in Endothelzellen vorkommt (102,103). Das Kollagen XIV (auch Undulin genannt), hat eine hohe Affinität zu dem Proteoglycan Decorin, das gemeinsam mit Typ I und II Kollagenfibrillen auftritt (102,103). Die Gene der Kollagene IV, VIII, XIV und auch Decorin waren in unserem Experiment in der dissezierten Aortenwand schwächer exprimiert (Tab.4.3, 4.4).

Matrixmetalloproteinasen

Die Umsatzgeschwindigkeit des Kollagens ist in den verschiedenen Teilen des Bindegewebes unterschiedlich. So soll seine biologische Halbwertszeit in der Aorta 300 Tage betragen (103). Die einzelnen Bindegewebskomponenten werden von spezifischen Metalloproteinasen (MMP) abgebaut, die wiederum durch spezifische Inhibitoren (TIMP) gehemmt werden (104). Unsere Genexpressionstudien erbrachten bezüglich der Metalloproteinasen und ihrer Inhibitoren zum Teil widersprüchliche Ergebnisse. In den Atlas-Experimenten war die mRNA von MMP-11 und TIMP-1 in der dissezierten Aorta stärker nachweisbar war, während im Affymetrix-Experiment das Gen der Metalloprotease -14 stärker exprimiert war. In allen 3 Genexpressionsstudien lag die mRNA von MMP-9 unterhalb der von uns definierten Nachweisgrenze.

Während MMP-1 vor allem die Kollagene I,II,III degradiert, bauen MMP-2 und -9 Kollagen IV, V und Elastin ab (104). MMP-11 (auch Stromelysin-3 genannt) ist dagegen spezifisch für Fibronectin und Proteoglykane, während MMP-14 sowohl die Kollagene I-III als auch Fibronectin und die Proteoglykane degradiert (104).

Ishii und Asuwa untersuchten akut dissezierte Aortenwand und verglichen sie mit gesunder Kontrollaorta. Dabei fiel elektronenmikroskopisch eine Verdünnung der Basalmembran auf, welche die glatten Muskelzellen umgibt (105). Basalmembranen bestehen vor allem aus dem Kollagen IV, sowie aus Proteoglycanen und dem Protein Laminin (103). Die o.g. Autoren beobachteten außerdem immunhistochemisch gegenüber der gesunden Kontrollaorta eine vermehrte Anreicherung von MMP-2 und -9 und der korrespondierenden Inhibitoren TIMP-1 und -2 im Entrybereich der dissezierten Aorta. Wurden dagegen nicht dissezierte Anteile der Aorta ascendens von Dissektionspatienten mit gesunder Kontrollaorta verglichen, zeigte sich bei den Dissektionspatienten eine Anreicherung von MMP-1 und TIMP-2, während für MMP-2, -9 und TIMP-1 kein Unterschied mehr nachweisbar war. Die Metalloproteinasen wurden vor allem in den glatten Muskelzellen der Media nachgewiesen. Ishii und Asuwa schlossen daraus, daß die Basalmembran der glatten Muskelzellen in der Media durch Metalloproteinasen abgebaut wird, und daß die Verdünnung oder der Verlust dieser Basalmembran den Kontakt zwischen Zellen und extrazellulärer Matrix lockert (105). Auch wir konnten in unseren Experimenten eine Verminderung der mRNA für Kollagen IV, einem Hauptbestandteil der Basalmembran nachweisen.

Segura et al. untersuchten die aneurysmatische Aortenwand von 7 Patienten mit einem Marfan-Syndrom. Die Wand aller 7 Patienten wies eine cystische Medianekrose auf, die mit einer Reduktion von elastischen Fasern und von glatter Muskulatur einherging. Die Zonen mit cystischer Medianekrose zeigten keine Immunreaktivität für Metalloproteinasen und ihre Inhibitoren, während glatte Muskelzellen an der Grenze zur cystischen degenerierten Region eine Anreicherung vor allem von MMP-2 und -9 hatten (106). Dies könnte erklären, weshalb wir entweder keine oder eine gleichmäßige Expression dieser Metalloproteinasen in der dissezierten Aortenwand verglichen mit den gesunden Kontrollen ermittelten, da wir den relativen mRNA-Gehalt der gesamten dissezierten Aortenwand mit allen Wandschichten untersucht und dabei sowohl die geschädigten fragmentierten Schichten als auch die reaktive Umgebung erfaßt haben.

Elastin

Die Windkesselfunktion der Aorta ascendens erfordert elastische Eigenschaften. Elastin ist deshalb ein Hauptbestandteil der herznahen Aorta (102). Mehrere Arbeitsgruppen konnten in der aneurysmatisch veränderten Wand eine absolute Abnahme des Elastingehaltes und eine Zunahme des Kollagenanteils nachweisen. Gleichzeitig war die Elastaseaktivität erhöht (107-109). Der Elastingehalt in der stenosierten arteriosklerotisch veränderten Aortenwand dagegen war nur gering

erniedrigt (19). Auch in unseren Experimenten war der relative mRNA- Gehalt von Elastin in der dissezierten Aorta verglichen mit der nichtdissezierten Kontrollaorta erniedrigt (Tab. 4.2, 4.4), wobei dies nicht Folge einer vermehrten Elastaseaktivität zu sein scheint. Sowohl der mRNA-Gehalt der Macrophagen-Elastase (auch MMP-12 genannt) als auch die Neutrophilen-Elastase lagen in unserer Studie unterhalb der von uns definierten Nachweisgrenze.

Zelladhäsion, zelluläre-extrazelluläre Interaktion

In der extrazellulären Matrix findet man eine große Zahl von adhäsiven Glycoproteinen, die an die Oberfläche von Zellen binden. Sie sorgen für die Anheftung der Zellen an die Matrix und für die Zell-Zell-Kontakte untereinander und haben auch eine Bedeutung für gerichtete Zellbewegungen. Auf der Oberfläche von Zellen befinden sich spezielle Rezeptoren, die Integrine, die an die adhäsiven Glycoproteine binden. Die in einem Gewebe ablaufenden zellulären Umbauprozesse (Remodeling) werden durch Wechselwirkung zwischen Matrixkomponenten und den Integrinen der Zelloberfläche gesteuert (103). Integrine sind Adhäsionsrezeptoren, die auf allen Zellen mit adhäsiven Eigenschaften exprimiert werden. Sie stellen die transmembranalen Verbindungen zwischen dem Zytoskelett und der Zellumgebung dar (103). In unserem Experiment war die Mehrzahl der, für Integrine codierenden, Gene in der dissezierten Aorta schwächer exprimiert, während einige Integrine, die für die Anheftung von Leukozyten zuständig sind, (Integrin β_2 , Integrin α_{10}), stärker exprimiert waren (Tab. 4.4).

Der Fibronectinrezeptor dient ebenfalls der Anheftung von Zellen an die extrazelluläre Matrix (102). Wir konnten sowohl im Atlas- als auch im Affymetrix-Experiment eine stärkere Expression des Fibronectinrezeptors in der dissezierten Aorta zeigen (Tab. 4.2, 4.4). Die mRNA von anderen Glycoproteinen, wie Undulin, Microfibril-associated Glycoprotein 4, Vascular adhesion Protein, Sparc-like 1 (auch Osteonectin genannt) oder das Cell surface Protein MUC18 waren dagegen schwächer nachweisbar (Tab. 4.2, 4.4).

Polycystin ist ein membranständiges Glycoprotein mit einer großen extrazellulären Region, das Zelladhäsion vermittelt (110) und auch die extrazelluläre Matrix mit dem Actin-Zytoskelett verbindet (111,112). Mutationen dieses Gens werden autosomal dominant vererbt und führen zur Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD), einer Erkrankung, bei der eine progressive Nierencystenbildung letztendlich das normale Nierenparenchym zerstört und die dann in eine terminale Niereninsuffizienz mündet (110). Patienten mit ADPKD haben ein erhöhtes Risiko vaskulärer Erkrankungen, wie intracranielle Aneurysmen, Dissektionen supraaortaler Äste und auch

Aortendissektionen (113-115). Griffin et al. untersuchten Gewebe von intracraniellen Aneurysmen, erweiterten supraaortalen Ästen und aortalen Dissektionen von Patienten mit ADPKD mit einem Polycystin-Antiserum und konnten Polycystin in den glatten Muskelzellen dieser Gewebe im Zusammenhang mit der Zerstörung elastischer Fasern nachweisen. Sie schlossen daraus, dass die Expression von mutiertem Polycystin eine direkte pathogenetische Rolle für die vaskulären Veränderungen spielt (116). Wir sahen in unseren Experimenten eine verminderte Expression des Polycystin-, was indirekt einen Hinweis auf eine Polycystin-Mutation liefern könnte (Tab.4.2, 4.4).

Die Familie der Tenascine besteht aus 3 ähnlichen extrazellulären Matrix Proteinen. Tenascin-X und -C treten vor allem in der Haut, Sehnen, Muskeln und in Blutgefäßen auf (117-121). Schalkwijk führte bei 151 Patienten mit einem Ehlers-Danlos-Syndrom, 75 Patienten mit Psoriasis, 93 Patienten mit rheumatoider Arthritis und 21 gesunden Probanden ein Serum-Screening auf Tenascin-X durch (117). Während Tenascin-X bei allen Patienten mit Psoriasis und rheumatoider Arthritis und allen gesunden Probanden nachweisbar war, fehlte es bei 5 der 151 Patienten mit Ehlers-Danlos-Syndrom. Matsumoto et al. konnten zeigen, daß die Verteilung von Tenascin-X und -C in den Geweben oft unterschiedlich und manchmal sogar reziprok ist (118).

In unserem analysierten Krankengut lag der Aortendissektion in keinem einzigen Fall ein Ehlers-Danlos-Syndrom zugrunde. Unsere Genexpressionsstudien erbrachten eine stärkere Expression der für Tenascin-C codierenden mRNA in der Aortenwand von Dissektionspatienten (Tab. 4.3, 4.4), während die schwächere Expression von Tenascin-X statistisch nicht signifikant war.

Hausmann und Betz untersuchten die vaskuläre Antwort auf ein Schädel-Hirn-Trauma in cerebralen Blutgefäße mit Hilfe der Immunhistochemie. Während weder Tenascin noch Thrombomodulin in den Gefäßen eines unverletzten Gehirns sichtbar waren, konnte man Tenascin erstmalig 1,6 Tage und Thrombomodulin 6,8 Tage nach dem Trauma nachweisen (122). Wallner sah eine Anreicherung von Tenascin-C in arterialisierten Bypassvenen und interpretierte dies als eine Antwort auf den hämodynamischen Stress des erhöhten Blutdruckes in der Vene (123). Die erhöhte Expression von Tenascin-C und Thrombomodulin (Tab.4.4) in unserem Experiment erklärt sich entweder dadurch, daß die Aortenwand von Dissektionspatienten, zum Beispiel durch einen erhöhten Blutdruck oder andere lokale mechanische Faktoren einem starken hämodynamischen Stress ausgesetzt, oder eine Gefäßreaktion auf den Dissektionsvorgang selbst ist. Der operative Eingriff nach einer akuten Aortendissektion findet üblicherweise wenige Stunden bis wenige Tage nach dem

Dissektionsereignis statt. Zu diesem Zeitpunkt wurde auch die Aortenprobe für unsere Genexpressionstudie entnommen, so daß sicherlich schon eine molekularbiologische Antwort auf das Gefäßtrauma selbst in Gang gesetzt wurde.

Zellbeweglichkeit und Zytoskelett

Das Zytoskelett ist ein für Eukaryonten typisches intrazelluläres dynamisches Netzwerk, das aus Mikrofilamenten, Mikrotubuli und Intermediärfilamenten besteht. Diese Strukturen beeinflussen die äußere Form der Zelle, ihre Beweglichkeit, intrazelluläre Bewegungs- und Transportvorgänge (124). Actin ist ein Mikrofilament und das in Eukaryontenzellen am meisten verbreitete Protein. Ähnlich wie in Muskelzellen vermitteln Actinfilamente auch in Nicht-Muskelzellen durch ihre Wechselwirkung mit Nicht-Muskelmyosin und Nicht-Muskeltropomyosin die Motilität (125). Das Actin bindet zahlreiche Proteine (124). Die Gene einiger dieser Actin-bindenden Proteine waren in unseren Genexpressionsstudien in der dissezierten Aorta schwächer exprimiert, wie Actinin, Gelsolin, Vinculin, Macrophin, oder das Actin binding protein ABP620 (Tab. 4.4).

Kinesine transportieren in Vesikeln verpacktes Material entlang von Mikrotubuli (124). Die Gene einiger Kinesine waren in der Aorta von Dissektionspatienten schwächer nachweisbar, wie das Kinesin related Protein oder das Kinesin like Pseudogen (Tab. 4.1, 4.4)

Die Gene zahlreicher myofibrillärer Proteine, die Bestandteile der glatten Muskelzelle sind, waren in der dissezierten Aorta schwächer als in der gesunden Kontrollaorta exprimiert, wie leichte oder schwere Myosinketten und auch Tropomyosin (Tab. 4.2, 4.3, 4.4), was eventuell für eine Depletion von glatten Muskelzellen in der dissezierten Aortenwand spricht.

Vergleich mit abdominalen Aortenaneurysmen

Bisher wurden in zwei Genexpressionsstudien abdominale Aortenaneurysmen mit gesunder Kontrollaorta verglichen (44,45). Tung et al. benützten dazu die erste der Atlas^{BD} Human I,II,III Membranen, die wir ebenfalls in unserem ersten Versuch verwendeten. Armstrong verwendete den Human Cell Interaction Atlas Array und verglich abdominale Aortenaneurysmen mit Aortenstenosen und gesunder Kontrollaorta (45). In der Studie von Tung unterschied sich die Genexpression in Aortenaneurysmen wesentlich von der, von uns untersuchten Expression in der dissezierten Aorta. Insgesamt wurden von Tung 20 Gene gefunden, die im Aortenaneurysma und der gesunden Kontrollaorta unterschiedlich exprimiert waren, wovon 18 Gene hochreguliert und nur 2 Gene runterreguliert waren. Bis auf Interleukin-8, das sowohl im Aortenaneurysma als auch in unserem

Experiment in der dissezierten Aorta stärker als in der Kontrollaorta exprimiert war, gab es keine Parallelen zu unseren Ergebnissen (44). Wenn man unsere Aortendissektionsstudie mit den Aortenaneurysmastudien von Tung und Amstrong vergleicht, so sieht man in der dissezierten Aorta und im Aortenaneurysma zwar Ähnlichkeit für die Inflammation und Proteinbiosynthese. Typisch für die Dissektion ist jedoch eine schwache Expression von Genen, die für extrazelluläre Matrixproteine, Zelladhäsion und das Zytoskelett codieren.

Resümee

Die Aortendissektion hat viele Ursachen und die verschiedenen Dissektionsgruppen unterscheiden sich in ihrer Ätiologie. Die lokalen, auf die Aorta ascendens beschränkten A2-Dissektionen scheinen eine eigene Entität zu sein und sind häufig Folge von kardialen und aortalen Vorerkrankungen und Voroperationen. Diese Patienten weisen auch die meisten arteriosklerotischen Risikofaktoren auf, so daß ein Teil der lokalen Dissektionen auch durch arteriosklerotische Plaqueaufbrüche entstanden sein könnte.

Bekannte angeborene Bindegewebserkrankungen, wie das Marfan-Syndrom, sind insgesamt seltene Ursachen der Dissektion und finden sich in nennenswerter Zahl nur in der Stanford A1-Gruppe. In dieser Gruppe zeigen auch auffällig viele Patienten diskrete phänotypische Zeichen einer Bindegewebsschwäche, wie z.B. überstreckbare Gelenke, eine dehnbare Haut, auffällige Körpermaße, ohne daß diese Veränderungen einem bestimmten Syndrom zugeordnet werden könnten. Bei den Stanford B-Patienten lassen sich diese klinischen Bindegewebszeichen ebenfalls nachweisen, jedoch nicht so häufig, wie in der A1-Gruppe. Eine erhöhte Prävalenz einer Hypertonie oder Arteriosklerose, wie sie andere Arbeitsgruppen beschrieben haben, sahen wir bei den Stanford B-Patienten im Vergleich zu den anderen Dissektionsgruppen nicht.

Um mögliche Zeichen einer Bindegewebsschwäche auch in der Aortenwand von Stanford A-Patienten zu finden, haben wir Genexpressionsstudien an der akut dissezierten Aorta ascendens durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß der Dissektion ein schon länger bestehender Strukturdefekt der Aortenwand vorausgegangen sein muß. Gene, die für Bestandteile der extrazellulären Matrix, Zelladhäsionsproteine und das Zytoskelett codieren, waren in der dissezierten Aorta, verglichen mit gesunder Kontrollaorta erniedrigt, während einzelne Gene der Inflammation und Proteinbiosynthese erhöht waren.

Die vorliegenden molekularbiologischen Untersuchungen der Aortenwand bestätigen damit die, von Schlatmann und Becker aufgestellte Theorie, daß die Aortendissektion Folge eines "injury and repair Mechanismus" ist, wobei das Remodeling in der Aortenwand von Dissektionspatienten ungenügend zu sein scheint. Die Aortenwand von Dissektionspatienten kann wahrscheinlich nur schlecht auf die hämodynamischen Kräfte des Blutstromes reagieren. Die Festigkeit der extrazellulären Matrix, der Zellzusammenhalt, die Anbindung des intrazellulären Stützgerüsts an die extrazellulären Matrix scheint bei Dissektionspatienten geschwächt, so daß die eigentliche Dissektion dann der dramatische Endpunkt einer schon länger bestehenden Aortenwandschwächung, wahrscheinlich unterschiedlicher Genese, ist.

Zusammenfassung

Die akute Aortendissektion tritt mit einer Neuerkrankungsrate von 30 Fällen/1 Million Einwohner/Jahr auf und ist damit der häufigste aortale Notfall. Die Erkrankung beginnt meist aus subjektivem Wohlbefinden heraus mit einem Einriß in der Intima (Entry), das Blut wühlt sich dann in Blutstromrichtung in die Gefäßwand und separiert die inneren von den äußeren Gefäßschichten. Einer anderen Theorie zufolge ist das Erstereignis eine Blutung der vasa vasorum in der Media mit Ausbildung eines Wandhämatoms. Je nach Ort des Entry werden die Aortendissektionen in Stanford A- (Entry in der Aorta ascendens) oder Stanford B-Dissektionen (Entry in der Aorta descendens, distal des Abganges der linken Arteria subclavia) klassifiziert. Man unterscheidet außerdem lokale, auf die Aorta ascendens beschränkte Dissektionen (A2) von Dissektionen, die in der Aorta ascendens beginnen und nach distal bis zur Aortenbifurkation reichen (A1). Während Stanford A-Dissektionen sofort operativ versorgt werden müssen, um einer Perforation vorzubeugen, haben Stanford B-Dissektionen zunächst mit einer konservativen Behandlung eine bessere Prognose als mit einer operativen Akuttherapie. Eine Operationsindikation ergibt sich beim Auftreten von Folgekomplikationen, wie eine Ischämie anhängiger Organe oder Extremitäten, oder später, im chronischen Stadium bei einer aneurysmatischen Degeneration der dissezierten Aorta.

Obwohl es viele Erklärungsversuche gibt, bleibt die Ursache der Aortendissektion bei den meisten Patienten letztlich unklar. Unsere Hypothese war, daß ein bisher unbekannter Bindegewebsdefekt zur Schwächung der Aortenwand und nachfolgender Dissektion führt.

Ziel dieser Studie war es einerseits, durch eine retrospektive Analyse des konservativ und operativ behandelten chirurgischen Krankengutes des Universitätsklinikums Düsseldorf weitere Aufschlüsse über Ätiologie der Erkrankung zu bekommen. In einem weiteren Schritt wurden 92 Dissektionspatienten und 92 alters- und geschlechtsgematchte Kontrollpersonen nach einem, zusammen mit dem Institut für Humangenetik entwickelten, Protokoll zur Erfassung phänotypischer Zeichen einer Bindegewebsschwäche untersucht und befragt. Den phänotypischen Untersuchungen schlossen sich molekularbiologische Untersuchungen der Aortenwand an. Mit Hilfe von Microarrays wurden erstmals Genexpressionsstudien der akut dissezierten, bei der Notfalloperation entnommenen Aorta ascendens durchgeführt und mit der gesunden Aorta ascendens von Multiorganspendern verglichen.

Im Zeitraum vom 01.01.1984-28.02.2003 wurden in der Chirurgie des Universitätsklinikums Düsseldorf das, im Vergleich zur Literatur für ein „single center“, große Krankengut von 134 Patienten mit einer akuten Stanford A-Dissektion (A1 n=87, A2 n=47) operativ und 158 Patienten mit einer akuten Stanford B-Dissektion konservativ behandelt.

Überraschend war das Überwiegen der Männer mit einem Anteil von 68-75 % in allen Dissektionsgruppen. Das Durchschnittsalter betrug 55,4+/-12,3 Jahre in der A- und 61 +/- 12,3 Jahre in der B-Gruppe. Ein Marfan-Syndrom als Ursache der Dissektion war praktisch nur in der Stanford A1-Gruppe mit einer Häufigkeit von 8 % zu verzeichnen. Das wesentlich seltenere Ehlers-Danlos-Syndrom wurde dagegen in unserer Erhebung in keinem einzigen Fall beobachtet. Patienten mit lokalen Dissektionen der Aorta ascendens (A2-Dissektion) waren in 49 % der Fälle schon vor dem Dissektionsereignis aortal oder kardial erkrankt und litten zum Beispiel unter einem Aortenklappenfehler oder waren schon kardial operiert worden. Sie hatten auch häufiger als die Stanford A1- oder B-Gruppe arteriosklerotische Risikofaktoren, wie ein Diabetes mellitus, eine Hypercholesterinämie oder ein Nikotinabusus. Eine schon vor der Dissektion behandlungsbedürftige Hypertonie war dagegen in den Dissektionsgruppen in etwa gleich verteilt und unterschied sich nicht von der Hypertonie-Prävalenz der altersgleichen Bevölkerung.

Stanford A1-Patienten wiesen, verglichen mit den anderen Dissektionsgruppen und mit den Kontrollpersonen häufiger phänotypischen Zeichen einer Bindegewebsschwäche wie zum Beispiel Leistenbrüche, überstreckbare Gelenke und überlange Extremitäten auf, ohne daß diese Veränderungen einem bestimmten Syndrom zugeordnet werden konnten. Vier oder mehr der 15 von uns erhobenen Bindegewebsschwächezeichen hatten 41 % der Stanford A1-, 22 % der A2- und der B-Patienten, aber nur 6 % der Kontrollpersonen. Die Familienanamnese bezüglich Bindegewebsauffälligkeiten zeigte zwar eine Häufung in der Dissektions- verglichen mit den Kontrollgruppe. Bei dem Vergleich der einzelnen Dissektionsgruppen untereinander und mit den Kontrollpersonen war der Unterschied jedoch nicht mehr signifikant, was dafür spricht, daß die mögliche Bindegewebsschwäche nicht vererbt wird oder keinem strengen Erbgang folgt.

Unsere retrospektive Analyse und klinischen Untersuchungen zeigten, daß der Aortendissektion ein multifaktorielles Geschehen zugrundeliegt und daß sich die einzelnen Dissektionsgruppen in ihrer Ätiologie unterscheiden. Während ein Teil der Stanford A1-Patienten phänotypische Zeichen einer Bindegewebsschwäche aufweisen, die auch ursächlich für die Aortendissektion sein könnte, scheinen

bei der lokalen Dissektion der Aorta ascendens (A2-Dissektion) lokale mechanische Probleme oder arteriosklerotische Plaquaufbrüche eine ätiologische Rolle zu spielen. Die Stanford B-Dissektionen nehmen bei der Analyse eine Mittelstellung ein.

Die klinische Beobachtung der phänotypischen Bindegewebschwäche bei Stanford A1- Patienten haben wir durch molekularbiologische Untersuchungen der akut dissezierten Aortenwand untermauert. In drei unterschiedlichen Genexpressionsstudien sind wir zu übereinstimmenden Ergebnissen gekommen. Es erwies sich, daß dem akuten Dissektionsereignis ein schon länger bestehender Strukturdefekt der Aortenwand vorausgegangen sein mußte. Verschiedene Gene, die für Bestandteile der extrazellulären Matrix, für Zelladhäsionsproteine und das Zytoskelett codieren, waren in der dissezierten und auch in der nicht dissezierten Aorta ascendens von Stanford A-Patienten, verglichen mit gesunder Kontrollaorta, erniedrigt exprimiert. Dagegen waren Gene, die für Inflammation und Proteinbiosynthese codieren, in der dissezierten Aorta verstärkt nachweisbar.

Insgesamt scheint die Aortendissektion Folge eines „injury and repair Mechanismus“ zu sein. Die Festigkeit der extrazellulären Matrix, der Zellzusammenhalt, die Anbindung des intrazellulären Stützskeletts an die extrazelluläre Matrix scheinen in der Aortenwand von Dissektionspatienten geschwächt und das Remodeling ungenügend. Die auf diese Weise strukturell geschädigte Aortenwand kann auf Dauer nicht mehr den hämodynamischen Kräften des Blutstroms standhalten und disseziert.

Literaturverzeichnis

1. Borst HG, Heinemann MK, Stone CD (1996) Incidence in „Surgical treatment of aortic dissection.“ Borst HG, Heinemann MK, Stone CD, *Churchill Livingstone Inc.*
1. Ausgabe: 13
2. Krukenberg E (1920) Beiträge zur Frage des Aneurysma dissecans.
Beitr Pathol Anat Allg Pathol **67**: 329
3. Aicher D, Graeter T, Langer F, Schäfers HJ (2000) Progression eines intramuralen Hämatoms zur Dissektion.
Z Kardiologie **89** : 965
4. Sawhney NS, deMaria AN, Blanchard DG (2001) Aortic intramural hematoma. An increasingly recognized and potentially fatal entity.
Chest **120**: 1340
5. Daily PO, Trueblood HW, Stinson EB, et al. (1970) Management of acute aortic dissection.
Ann Thorac Surg **10**: 237
6. de Bakey ME, Henly WS, Cooley DA et al. (1965) Surgical management of dissecting aneurysm of the aorta.
J Thorac Cardiovasc Surg **49**: 130
7. Hirst AE Jr, Johns VJ Jr, Kime SW Jr (1958) Dissecting aneurysm of the aorta: a review of 505 cases.
Medicine **37**: 217
8. Cambria RP, Brewster DC, Gertler J et al. (1988) Vascular complications associated with spontaneous aortic dissection.
J Vasc Surg **7**: 199

9. Da Gama AD (1991) The surgical management of aortic dissection: from university to diversity, a continuous challenge.
J Cardiovasc Surg **32**: 141
10. Fann JI, Sarris GE, Mitchell RS et al. (1990) Treatment of patients with aortic dissection presenting with peripheral vascular complications.
Ann Surg **212**: 705
11. Müller BT, Grabitz K, Fürst G, Sandmann W (2000) Die akute Aortendissektion. Diagnostik und Therapie von ischämischen Komplikationen.
Chirurg **71**: 209
12. de Bakey ME, Cooley DA, Creech O (1955) Surgical considerations of dissecting aneurysm of the aorta.
Ann Surg **142**: 586
13. Wheat MW, Palmer RF, Bartley TD, Seelman RC (1965) Treatment of dissecting aneurysm of the aorta without surgery.
J Thorac Cardiovasc Surg **58**: 364
14. Wheat MW (1980) Acute dissecting aneurysms of the aorta: diagnosis and treatment - 1979 .
Am Heart J **99**: 373
15. Miller DC, Mitchell RS, Oyer PE et al. (1984) Independent determinants of operative mortality for patients with aortic dissection.
Circulation **70**: I 153
16. Crawford ES, Svensson LG, Coselli JS et al. (1989) Surgical treatment of aneurysms and/or dissection of the ascending aorta and transverse arch.
J Thorac Surg **98**: 659

17. Doroghazi RM, Slater EE, DeSanctis RW et al. (1984) Longterm survival of patients with treated aortic dissection.
J Am Coll Cardiol **3**: 1026
18. Glower DD, Fann JJ, Speier RH et al. (1990) Comparison of medical and and surgical therapy for uncomplicated descending aortic dissection.
Circulation **82**: IV 39
19. Bavaria JE, Brinster DR, Gorman RC et al. (2002) Advances in the treatment of acute type A dissection: an integrated approach.
Ann Thorac Surg **74**: S 1848
20. David TE, Amstrong S, Ivanoc J et al. (1999) Surgery for acute type A aortic dissection.
Ann Thorac Surg **67**: 1999
21. Lansman SL, McCullough JN, Nguyen KH et al. (1999) Subtypes of acute aortic dissection.
Ann Thorac Surg **67**: 1975
22. David P, McPeak E, Vivas-Salas E, White P (1947) Dissecting aneurysm of the aorta. *Ann Int Med* **27**: 405
23. Warren AS, Mc Quown AL (1948) Dissecting aneurysms.
Am J Sc **215**: 209
24. Mc Geachy TE, Paullin JE (1937) Dissecting aneurysms of the aorta.
JAMA **108**: 1690
25. Flakman N (1942) Dissecting aneurysms of the aorta.
Am Heart J **24**: 654

26. Bickerstaff LK, Pairolero PC, Hollier LH et al. (1982) Thoracic aortic aneurysms: A population-based study.
Surgery **92**: 1103
27. Meszaros I, Morocz J, Szlavi J et al. (2000) Epidemiology and clinicopathology of aortic dissection.
Chest **117**: 1271
28. Larson EW, Edwards W (1984) Risk factors for aortic dissection: A necropsy study of 161 cases.
Am J Cardiol **53**:849
29. Gray JR, Bridges AB, Faed MJW et al. (1994) Ascertainment and severity of Marfan syndrome in a Scottish population.
J Med Genet **31**: 51
30. Raghunath M, Nienaber C, Kodolitsch Y (1997) 100 Jahre Marfan-Syndrom- eine Bestandsaufnahme.
Dt Ärztebl **94**: A-821
31. Pyeritz RE, Mc Kusick VA (1979) The Marfan syndrome: diagnosis and management.
N Engl J Med **300**: 772
32. Coselli JS, Le Maire SA, Büket S (1995) Marfan syndrome: The variability and outcome of operative management.
J Vasc Surg **21**: 432
33. Habbal MHE (1992) Cardiovascular manifestations of Marfan's syndrome in the young. *Am Heart J* **123**: 253
34. Murdoch JL, Walker BA, Halpern BA et al. (1972) Life expectancy and causes of death in the Marfan syndrome.
N Engl J Med **286**: 804

35. Serry C, Agomuhoh O, Goldin M (1988) Review of Ehlers-Danlos syndrome.
J Cardiovasc Surg **29**:530
36. Larson EW, Edwards W (1984) Risk factors for aortic dissection: A necropsy study of 161 cases.
Am J Cardiol **53**:849
37. Slater EE, de Sanctis RW (1976) The clinical recognition of dissecting aortic aneurysm. *Am J Med* **60**: 625
38. Wilson SK, Hutchins GM (1982) Aortic dissecting aneurysms: causative factors.
Arch Pathol Med **106**: 175
39. Biddinger A, Rocklin M, Coselli J, Milewicz D (1997) Familial thoracic aortic dilatation and dissections: A case control study.
J Vasc Surg **25**: 506
40. Teien D, Finley JP, Murphy DA et al. (1991) Idiopathic dilatation of the aorta with dissection in a family without Marfan syndrome.
Acta Paediatr Scand **80**: 1246
41. Warnes CA, Kirkman PM, Roberts WC (1985) Aortic dissection in more than one family member.
Am J Cardiol **55**: 236
42. Müller BT, Modlich O, Prisack HB et al. (2002) Gene expression profiles in the acutely dissected human aorta.
Eur J Vasc Endovasc Surg **24**: 356
43. Brazma A, Hingamp P, Quakenbusch J et al. (2001) Minimum information about microarrays experiment (MIAME)-toward standards for microarray data.
Nature Genetics **29**:365

44. Tung WS, Lee JK, Thompson RW (2001) Simultaneous analysis of 1176 gene products in normal human aorta and abdominal aortic aneurysms using membrane-based complementary DNA expression array.
J Vasc Surg **34**: 143
45. Armstrong PJ, Johanning JM, Calton WC et al. (2002) Differential gene expression in human abdominal aorta: Aneurysmal versus occlusive disease.
J Vasc Surg **35**: 346
46. Brown CS, Goodwin PC, Sorger PK (2001) Image metrics in the statistical analysis of DNA microarray data.
PNAS **98**: 8944
47. Herwig R, Aanstad P, Clark M, Lerach H (2001) Statistical evaluation of differential expression on cDNA nylon arrays with replicated experiments.
Nucleic Acids Research **29** e117: 1
48. Schilling O (1998) Grundlegende statistische Tests in „Grundkurs Statistik für Psychologen“ Schilling O, *Wilhelm Fink Verlag*, 1. Auflage: 153
49. Matthews DE, Farewell VT (1996) The χ^2 Test for 2x2 Tables in „Using and understanding statistics“. Matthews DE, Farewell VT, *Karger*, Basel, Freiburg, Paris, London, New York, 3rd edition: 38
50. Trampisch HJ, Windeler J (1997) Theoretische Verteilungen in „Medizinische Statistik“, Trampisch HJ, Windeler J, *Springer Verlag* Berlin, Heidelberg, New York: 151
51. Deichsel G (1985) Clusternanalyse in „Clusteranalyse und Diskriminanzanalyse“ Deichsel G, Trampisch H, *Gustav Fischer Verlag*, Stuttgart, New York, 1. Auflage: 3
52. Eisen MB, Spellman PT, Brown PO, Botstein D (1998) Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns.
Proc Natl Sci **95**: 14863

53. Bertucci F, Houlgatte R, Benziane A et al. (2000) Gene expressing profiling of primary breast carcinomas using arrays of candidate genes.
Human Molecular Genetics **9**: 2981
54. Perou CM, Jeffrey SS, van de Rijn M et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithel cells and breast cancers.
Proc Natl Sci **96**: 9212
55. Sakkai LY, Keene Dr. Engvall E (1986) Fibrillin, a new 350 kD glycoproteine is a component of extracellular microfibrils.
J Cell biol **103**: 2499
56. Ramirez F (1996) Fibrillin mutations and related phenotypes.
Curr Opinion Genet Dev **6**: 309
57. Williams GM, Gott VL, Brawley R et al. (1988) Aortic disease associated with pregnancy.
J Vasc Surg **8**:470
58. Carter CO (1977) Monogenic disorders.
J Med Genet **14**: 316
59. Serry C, Agomuhoh O, Goldin M (1988) Review of Ehlers-Danlos syndrome.
J Cardiovasc Surg **29**:530-
60. North KN, Whiteman DAH, Pepin MG Byers PH (1995) Cerebrovascular complications in Ehlers-Danlos syndrome Type IV.
Ann Neurol **38**: 960
61. Hassan I, Rasmussen TE, Schwarze U et al. (2002) Ehlers-Danlos-syndome type IV and a novel mutation of the type III procollagen gene as a cause of abdominal apoplexy.
Mayo Clin Proc **77**: 861

62. Petrides PE (1997) Elastin und assoziierte Glykoproteine in Löffler G, Petrides PE (Hrsg) *Biochemie und Pathobiochemie 5.Auflage Springer Verl. Berlin, 743*
63. Pepin M, Schwarze U, Superti-Furga A, Byers PH (2000) Clinical and genetic features of Ehlers-Danlos syndrome Type IV, the vascular Type.
N Engl J Med **342**: 673
64. Vogel A, Holbrook KA, Steinmann B et al. (1979) Abnormal collagen fibril structure in the gravis form (type I) of Ehlers-Danlos syndrome.
Lab Invest **40**:201
65. Brandt T, Orberk E, Weber R et al. (2001) Pathogenesis of cervical artery dissection.
Neurology **57**. 24
66. Brandt T, Hausser I, Orbek E et al. (1998) Ultrastructural connective tissue abnormalities in patients with sponataneous cervicocerebral artery dissection.
Ann Neurol **44**: 281
67. Grahame R (1992) A proposed set of diagnostic criteria for the benign joint mobility syndrome.
Br J Rheumatol **31**: 205
68. Grahame R (1999) Joint hypermobility and genetic collagen disorders: are they related? *Arch Dis Child* **80**: 188
69. Bird HA (1993) Special interest group for joint hypermobility (British Society for rheumatology meeting report).
Br. J Rheumatol **32**: 81
70. Walts AE, Dubois EL (1977) Acute dissecting aneurysm of the aorta as the fatal event in systemic lupus erythematosus.
Am Heart J **93**: 378

71. Morooka S, Hayashi T, Takayanagi K et al. (1991) Aortic dissection associated with aortitis syndrome.
Jpn Heart J **32**: 867
72. Iino T, Eguchi K, Sakai M et al. (1992) Polyarteritis nodosa with dissection: Necrotizing vasculitis of the vasa vasorum.
J Rheumatol **19**: 1632
73. Gadaleta D, Hall M, Nelson RL (1989) Cocaine-induced acute aortic dissection.
Chest **96**: 1203
74. Eagle KA, Isselbacher EM, deSanctis RW, and the International Registry for aortic Dissection (IRAD) Investigators (2002) Cocaine-related aortic dissection in perspective.
Circulation **105**: 1529
75. Anderson RA, Fineron PW (1994) Aortic dissection in pregnancy: importance of pregnancy-induced changes in the vessel wall and bicuspid aortic valve in pathogenesis.
Br J Obstet Gynecol **8**: 470
76. Barrett JM, Van Hoydonk JE, Boehm FH (1982) Pregnancy related rupture of arterial aneurysms.
Obstet Gynecol Surv **37**: 557
77. Mandel W, Evans EW, Walford RL (1954) Dissecting aortic aneurysm during pregnancy. *N Engl J Med* **26**: 1059
78. Zeebregts CJ, Schepens MA, Hameeteman TM et al. (1997) Acute aortic dissection complicating pregnancy.
Ann Thorac Surg **64**: 1345
79. Edwards WD, Leaf DS, Edwards JE (1978) Dissecting aortic aneurysm associated with congenital bicuspid aortic valve.
Circulation **57**: 1022

80. Mc Kusick VA (1972) Association of congenital bicuspid aortic valve and Erdheim`s cystic medial necrosis.
Lancet **1**: 1026
81. McKusick, Loue RB, Bahnson HT (1957) Association of aortic valvular disease and cystical medial necrosis of the ascending aorta.
Circulation **16**: 188
82. Fukuda T, Tadavarthy M, Edwards JE (1976) Dissecting aneurysm of aorta complicating aortic valvular stenosis.
Circulation **53**: 169
83. Von Kodolitsch Y, Simic O, Bregenzer T, Dresler C, Haverich A, Nienaber CA (1998) Der Aortenklappenersatz als unabhängiger prädiktiver Faktor für die Entstehung einer späteren Aortendissektion.
Z Kardiol **87**: 604
84. Von Kodolitsch Y, Simic O, Schwartz A, Dresler C, Loose R et al. (1998) Predictors of proximal aortic dissection at the time of aortic valve replacement.
Circulation **100** (suppl II):-287-II-294
85. Lin AE, Lippe BM, Geffner ME et al. (1986) Aortic dilatation, dissection and rupture in patients with Turner syndrome.
J Pediatr **109**: 820
86. Rainier-Pope CR, Cunnigham RD, Nadas AS, Crigler JF Jr. (1964) Cardiovascular malformations in Turner`s syndrome.
Pediatrics **33**: 919
87. Von Kodolitsch Y, Baumgart D, Eggbrecht H et al. (2003) Das akute Aortensyndrom.
Dt Ärztebl **110**: B289

88. Burt VL, Whelton P, Rocella EJ et al (1995) Prevalence of hypertension in the US adult population: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1991.
Hypertension **25**: 305
89. Wolf-Maier K, Cooper RS, Banegas JR et al. (2003) Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 European Countries, Canada and the United States.
JAMA **289**: 2363
90. Bucher O, Wartenberg H (1997) Blutgefäße in „Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen“ Bucher O, Wartenberg H. *Verlag Hans Huber*, Bern, Göttingen, Toronto, Seattle: 232
91. Meyer R (1999) Blut- und Lymphgefäße in „Pathologie“ Remmele W. *Springer-Verlag*, Berlin, Heidelberg, New York: 277
92. Erdheim J (1930) Medionecrosis aortae idiopathica cystica.
Virchows Arch **276**: 187
93. Arnold G (2000) Störungen des Proteinstoffwechsels in Pathologie des Endokard, der Kranzarterien und des Myocard. Hrsg. Hort W; *Springer-Verlag* Berlin, Heidelberg: 1291
94. Leu HJ, Schneider J, Oertli C et al. (1978) Die mukoide Degeneration der Aorta.
Vasa **7**: 218
95. Schlatmann TJM, Becker AE (1977) Histological changes in the normal aging aorta: implications for dissecting aortic aneurysm.
Am J Cardiol **39**: 13
96. Schlatmann TJM, Becker AE (1977) Pathogenesis of dissecting aneurysm of aorta. Comparative histopathological study of significance of medial changes.
Am J Cardiol **39**: 21

97. Moradpour D, Blum HE (1999) DNA-Chip-Technologie
DMW **124**: 1393
98. Southern E, Mir K, Shchepinov M (1999) Molecular interactions on microarrays.
Nature Genet suppl **21**: 5
99. Hacia JG, Collins FS (1999) Mutational analysis using oligonucleotide microarrays.
J Med Genet **36**: 730
100. Hofmann WK, Ottmann OG, Hoelzer D (2003) Globale Genexpressionsanalyse mit
Microarrays.
Dtsch Ärzteblatt **100**: B243
101. Petrides PE (1997) Blut in „Biochemie und Pathobiochemie“. Löffler, Petrides. *Springer-Verlag*, Berlin, Heidelberg, 5. Auflage: 779
102. Petrides PE (1997) Binde- und Stützgewebe in Biochemie und Pathobiochemie. Hrsg Löffler, Petrides; *Springer-Verlag*, Berlin, Heidelberg, 5. Auflage: 733
103. Hofmann E (2001) Biochemie der Binde- und Stützgewebe in Medizinische Biochemie. Hrsg Hofmann E; *UNI-MED Verlag AG*, Bremen, 3. Auflage: 679
104. Dollery CM, McEvan JR, Henney AM (1995) Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease.
Circ Res **77**; 863
105. Ishii T, Asuwa N (2000) Collagen and elastin degradation by matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase in aortic dissection.
Hum Pathol **31**: 640
106. Segura AM, Luna RE, Horiba K et al. (1998) Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases and their inhibitors in thoracic aortic aneurysms and aortic valves of patients with Marfan's syndrom.

Circulation **98**: II-331-II-338

107. Campa JS, Greenhalgh RM, Powell JT (1987) Elastin degradation in abdominal aortic aneurysms.
Atherosclerosis **65**: 13
108. White JV, Haas K, Phillips S, Comerota AJ (1993) Adventitial elastolysis is a primary event in aneurysm formation.
J Vasc Surg **17**: 371
109. Menashi S, Campa JS, Greenhalgh RM, Powell JT (1987) Collagen in abdominal aortic aneurysm: Typing, content and degradation.
J Vasc Surg **6**: 578
110. Kim K, Drummond I, Ibraghimov-Beskovnaya O et al. (2000) Polycystin 1 is required for the structural integrity of blood vessels.
PNAS **97**: 1731
111. Wilson PD (2001) Polycystin: new aspects of structure, function, and regulation.
J Am Soc Nephrol **12**: 834
112. Weston BS, Bagneris C, Price RG, Striling JL (2001) The polycystin-1 C-type lectin binds carbohydrate in a calcium-dependent manner, and interacts with extracellular matrix proteins in vitro.
Biochim Biophys Acta **1536**: 161
113. Biagini A, Maffei S, Baroni M et al. (1993) Familial clustering of aortic dissection in polycystic kidney disease.
Am J Cardiol **72**: 741
114. Ruggieri PM, Poulos N, Masaryk TJ et al. (1994) Occult intracranial aneurysms in polycystic kidney disease. Screening with MR angiography.
Radiology **191**: 33

115. Kulla L, Deymeer F, Smith TW et al. (1982) Intracranial dissecting and saccular aneurysms in polycystic kidney disease.
Arch Neurol **39**: 776
116. Griffin MD, Torres VE, Grande JP, Kumar R (1997) Vascular expression of polycystin.
J Am Nephrol **8**: 616
117. Schalkwijk J, Steijlen PM, Vlijmen-Willems IM et al. (1991) Tenascin expression in human dermis is related to epidermal proliferation.
Am J Pathol **139**: 1143
118. Matsumoto K, Saga Y, Ikemura T et al. (1994) The distribution of tenascin-X is distinct and often reciprocal to that of tenascin-C.
J Cell Biol **125**:483
119. Burch GH, Bedolli MA, McDonough S et al. (1995) Embryonic expression of tenascin-X suggests a role in limb, muscle, and heart development.
Dev Dyn **203**: 491
120. Geffrotin C, Garrido JJ, Tremt L, Vaiman M (1995) Distinct tissue distribution in pigs of tenascin-X and tenascin-C transcripts.
Eur J Biochem **231**: 83
121. Mackie EJ, Ramsey S (1996) Expression of tenascin in joint-associated tissues during development and postnatal growth.
J Anat **188**: 157-165
122. Hausmann R, Betz P (2000) The time of the vascular response to human brain injury– an immunohistochemical study.
Int J Legal Med **113**: 288

123. Wallner K, Li C, Fishbein MC et al. (1999) Arterialization of human vein grafts is associated with tenascin-C expression.

J Am Coll Cardiol **34**: 871

124. Hofmann E (2001) Die Zelle in Medizinische Biochemie Hrsg Hofmann E; *UNI-MED Verlag* AG, Bremen, 3. Auflage: 98

125. Löffler G (1997) Zelluläre Organellen und Strukturen in Biochemie und Pathobiochemie Hrsg Löffler, Petrides. *Springer-Verlag*, Berlin, Heidelberg, 5. Auflage: 175

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Prof. Dr. W. Sandmann,

meinem wissenschaftlichen und klinischen Lehrer, für die Anregung zum Thema und für die Förderung und Unterstützung meiner wissenschaftlichen Tätigkeit. Er hat mich, die viele Jahre ausschließlich klinisch tätig war, auf den „Weg der Wissenschaft“ gebracht.

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität, die mein Projekt „Gibt es eine angeborene oder erworbene Prädisposition zur aorto-arteriellen Dissektion“ förderte und dadurch die vorliegende Arbeit ermöglichte.

Herrn Prof. Dr. W. Hort,

der mich seit vielen Jahren bei der Bearbeitung des Themas „Dissektion“ mit seiner großen wissenschaftlichen Erfahrung berät und anleitet.

Herrn Prof. Dr. E. Gams,

für die grundlegende Unterstützung meiner Untersuchungen zur Aortendissektion. Durch die „Zusammenschau“ von kardiochirurgischen und gefäßchirurgischer Patienten konnte ich das Thema in seiner Gesamtheit bearbeiten. Sehr dankbar bin ich auch für das Überlassen der Operationspräparate, die während kardiochirurgischer Notoperationen bei Stanford A-Patienten gewonnen wurden und die Grundlage meiner experimentellen Arbeiten darstellten.

Herrn Prof. Dr. J. Schipke,

seine Beratung, Anleitung und konstruktive Kritik haben mir bei der Bearbeitung des Themas „Aortendissektion“ und bei der Erstellung der Arbeit sehr geholfen.

Herrn Prof. Dr. H. Bojar,

für die Möglichkeit in seinem Institut den experimentelle Teil der Arbeit durchzuführen und seinen Mitarbeitern, insbesondere

Frau Dr. Olga Modlich,

die mit großer Sachkenntnis und großem Engagement mein Interesse an der Molekularbiologie weckte und meine molekularbiologischen Experimente betreute.

Frau Andrea Stahl,

die mit Akribie und großer Laborerfahrung meine Experimente durchführte.

Frau Prof. Dr. B. Royer-Pokora

für die humangenetische Unterstützung des Projekts „Gibt es eine angeborene oder erworbene Prädisposition zur aorto-arteriellen Dissektion“ und

Herrn Dr. T. Goecke, der mich mit seiner großen humangenetische Erfahrung beriet und zahlreiche Dissektionspatienten humangenetisch untersuchte.

Herrn Prof. Dr. E. Godehardt

für die statistische Beratung und die Anregungen zum Layout der vorliegenden Arbeit.

den Doktorandinnen *Judith Katzer und Inga Hoheisel,* die mir mit guter Laune und Tatkraft beim klinischen Teil der Arbeit halfen.

und nicht zuletzt meinem Mann *Walter Weis,*

der viele Jahre Langmut bewies, wenn ich abends- und an Wochenenden unansprechbar hinter dem Schreibtisch saß und über den „Dissektionen“ brütete.