

Aus der Klinik für Thorax- und Herz-Gefäß-Chirurgie
der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. med. Hans-Joachim Schäfers

**Proteinexpression der Aortenwand bei Patienten mit
Aneurysma der Aorta ascendens in Abhängigkeit der
Aortenklappenmorphologie**



Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes

2020

vorgelegt von Cathérine Theresa Kollmann
geboren am 23.05.1991 in Mainz

Tag der Promotion: 25.03.2021

Dekan: Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Hans-Joachim Schäfers
Prof. Dr. med. Matthias W. Laschke

In Liebe meiner Familie gewidmet

*„Alle Träume können wahr werden, wenn wir den Mut haben,
ihnen zu folgen.“*

– Walt Disney –

„Phantasie ist wichtiger als Wissen, denn Wissen ist begrenzt.“

– Albert Einstein –

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	8 -
2 Einleitung	12 -
2.1 Aneurysma der Aorta ascendens.....	12 -
2.2 Komplikationen des AscA	13 -
2.3 Familiäre AscA	14 -
2.4 Morphologie der Aortenklappe.....	15 -
2.4.1 Bicuspide Aortenklappe	16 -
2.4.2 Unicuspide Aortenklappe.....	17 -
2.5 Dilatation der Aorta ascendens	17 -
2.5.1 Pathogenese.....	17 -
2.5.2 Strömungshypothese	18 -
2.5.3 Genetikhypothese	19 -
2.6 Fragestellung.....	20 -
3 Material und Methodik	23 -
3.1 Studiendesign.....	23 -
3.2 Probengewinnung	23 -
3.3 Proteinisolierung	25 -
3.4 Bestimmung der Proteinkonzentration	26 -
3.5 Western Blot	28 -
3.6 Erfassung Ergebnisse der Western Blots	31 -
3.7 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	32 -
3.8 Statistische Auswertung und Datenverarbeitung	34 -
4. Ergebnisse	35 -
4.1 Präoperative Parameter	35 -
4.1.1 Basisdaten gesamtes Studienkollektiv	35 -
4.1.2 Präoperative TEE-Messungen gesamtes Studienkollektiv.....	36 -
4.1.3 Basisdaten dilatiert versus nicht-dilatiert	36 -
4.1.4 Präoperative TEE-Messungen dilatiert versus nicht-dilatiert	38 -
4.2 eNOS.....	38 -
4.2.1 Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert.....	38 -
4.2.2 Vergleich Klappenmorphologien	42 -
4.2.3 Vergleich lokoregionäre Unterschiede.....	44 -

4.2.4 Korrelationsanalysen.....	- 45 -
4.3 TGF- β 1.....	- 46 -
4.3.1 Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert.....	- 46 -
4.3.2 Vergleich Klappenmorphologien	- 51 -
4.3.3 Vergleich lokoregionäre Unterschiede.....	- 52 -
4.3.4 Korrelationsanalysen.....	- 54 -
5. Diskussion	- 57 -
5.1 Hintergrund der Arbeit.....	- 57 -
5.1.1 Mediadegeneration	- 57 -
5.1.2 Physik der Dilatation.....	- 58 -
5.1.3 Strömungshypothese	- 58 -
5.1.4 Genetikhypothese	- 60 -
5.2 Klinische Daten der Patientenkollektive sich vergleichbar	- 62 -
5.3 eNOS.....	- 62 -
5.3.1 eNOS Proteinexpression ist bei dilatierter Aorta und fehlangelegter Aortenklappe erhöht.....	- 62 -
5.3.2 eNOS Proteinexpression weist keine lokoregionären Unterschiede auf... -	63 -
5.3.3 eNOS Proteinexpression ist bei fehlangelegter Aortenklappe und nicht-dilatierter Aorta erniedrigt.....	- 64 -
5.3.4 eNOS zeigt keine signifikante Korrelation zum Aortendiameter	- 65 -
5.3.5 Die Rolle von eNOS bei Aortendilatation.....	- 65 -
5.4 TGF- β 1.....	- 66 -
5.4.1 TGF- β 1 ist bei Dilatation in Abhängigkeit der Klappenmorphologie dysreguliert.....	- 66 -
5.4.2 TGF- β 1 weist bei Dilatation lokoregionäre Unterschiede in Abhängigkeit der Klappenmorphologie auf.....	- 67 -
5.4.3 TGF- β 1 ist bei fehlangelegter Aortenklappe und Dilatation erniedrigt.... -	67 -
5.4.4 TGF- β 1 korreliert negativ mit Aortendurchmesser.....	- 67 -
5.4.5 Die Rolle von TGF- β 1 bei Aortendilatation	- 68 -
5.5 Fazit.....	- 69 -
5.6 Ausblick	- 71 -
5.6.1 Therapieoptionen der AscA	- 71 -
5.6.2 Biomarker.....	- 72 -
6. Anhang.....	- 74 -

6.1 Daten tabellarisch.....	- 74 -
6.2 Daten grafisch.....	- 77 -
7. Literaturverzeichnis.....	- 92 -
8. Publikationen.....	- 100 -
9. Danksagung.....	- 101 -
10. Lebenslauf.....	- 102 -

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-Converting-Enzym
AI	Aortenklappeninsuffizienz
AS	Aortenklappenstenose
AscA	Ascendens-Aneurysma/Aneurysma der Aorta ascendens
AT1	Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp I
AV	Aortoventrikulärer Übergang
BAV	Bicuspide Aortenklappe
BAVD	Bicuspide Aortenklappe, dilatierte Aorta ascendens
BAVND	Bicuspide Aortenklappe, nicht-dilatierte Aorta ascendens
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
D	Dilatiert
eNOS	Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
EZM	Extrazellulärmatrix
KAV	Kombiniertes Aortenklappenvitium
LDS	Loeys-Dietz-Syndrom
MFS	Marfan-Syndrom
MW	Mittelwert
ND	Nicht-dilatiert
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
SD	Standardabweichung
SP	Stichproben
ST	Sinutubulärer Übergang
SV	Sinus Valsalva
TA	Tubuläre Aorta ascendens
TAV	Tricuspide Aortenklappe
TAVD	Tricuspide Aortenklappe, dilatierte Aorta ascendens

TAVND	Tricuspid Aortenklappe, nicht-dilatierte Aorta ascendens
TEE	Transösophageale Echokardiographie
TGF- β /1	Transforming Growth Factor Beta /1
TMB	Tetramethylbenzidin
UAV	Unicuspid Aortenklappe
UAVD	Unicuspid Aortenklappe, dilatierte Aorta ascendens
UAVND	Unicuspid Aortenklappe, nicht-dilatierte Aorta ascendens

1 Zusammenfassung

Proteinexpression der Aortenwand bei Patienten mit Aneurysma der Aorta ascendens in Abhängigkeit der Aortenklappenmorphologie

Hintergrund

Das Vorkommen einer bicuspiden (BAV) oder unicuspiden (UAV) Aortenklappe wird mit dem gehäuftem Auftreten von Aneurysmen der Aorta ascendens assoziiert. Damit einhergehende Komplikationen wie Aortendissektion oder -ruptur werden ebenfalls häufiger und in jüngerem Patientenalter beobachtet. Um einen Zusammenhang zwischen einer aberranten Aortenklappenmorphologie und der Ausbildung eines Ascendens-Aneurysmas zu klären, führten wir eine Analyse wichtiger Proteine der Aortenwand durch. Hierzu gehörten die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) und der Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- β 1).

Material und Methodik

Während Operationen an der Aortenklappe oder Aorta ascendens wurde bei 36 Patienten intraoperativ Gewebeproben der Aorta ascendens gewonnen. Es wurden 12 Patienten mit tricuspider Aortenklappe (TAV), 12 Patienten mit BAV und 12 Patienten mit UAV eingeschlossen, von denen jeweils 50% eine Dilatation aufwiesen. Im Aortengewebe wurden die Proteinkonzentrationen von eNOS mittels Western Blot und von TGF- β 1 mittels ELISA an verschiedenen Lokalisationen der Aortenwand bestimmt.

Ergebnisse

Die Proteinkonzentration von eNOS war bei UAV und Dilatation etwas erhöht im Vergleich zu nicht-dilatierten Proben ($p = 0,0597$), nicht jedoch bei TAV ($p = 0,6802$). Bei nicht-dilatierter Aorta war eNOS bei BAV und UAV erniedrigt im Vergleich zu TAV (BAV $p = 0,0021$, UAV $p = 0,0283$). Die eNOS Expression zeigte keine lokoregionären Unterschiede oder Korrelationen zum Aortendiameter (alle $p > 0,05$).

TGF- β 1 zeigte bei Dilatation bei TAV eine erhöhte, bei BAV und UAV eine erniedrigte Proteinexpression im Vergleich zur nicht-dilatierten Aorta (TAV $p = 0,0169$, BAV $p = 0,0002$, UAV $p = 0,0024$). Bei dilatierter Aorta war TGF- β 1 bei TAV in der Wurzel höher als in der tubulären Aorta (TA) ($p = 0,0020$). Bei Aneurysma und BAV oder UAV war die Proteinexpression in der Konkavität der Aorta höher als in der Konvexität (BAV $p = 0,2671$, UAV $p = 0,0505$). Die Proteinexpression zeigte sich im Aneurysma bei BAV und UAV erniedrigt

im Vergleich zu TAV (BAV $p = 0,0107$, UAV $p = 0,0003$). Es bestand bei BAV und UAV eine negative Korrelation von TGF- β 1 zum Aortendurchmesser (BAV $p = 0,0011$, UAV $p = 0,0008$).

Schlussfolgerung

Die Entstehung eines Aneurysmas der Aorta ascendens bei fehlangelegter Aortenklappe scheint mit einer erhöhten Proteinexpression von eNOS und einer erniedrigten Proteinexpression von TGF- β 1 einherzugehen. Unsere Analyse von TGF- β 1 und eNOS zeigen unterschiedliche Muster bei TAV und BAV bzw. UAV bei vorliegender Dilatation. Diese Untersuchungen weisen darauf hin, dass bei fehlangelegter Aortenklappe eine andere Pathogenese der Ascendens-Aneurysmen als bei TAV zugrunde liegt.

Protein expression in the aortic wall in patients with ascending aortic aneurysm depending on aortic valve morphology

Background

Bicuspid (BAV) or unicuspid aortic valves (UAV) are associated with a high incidence of ascending aortic aneurysms. The involved complications such as aortic dissection or rupture appear more frequently and at a younger age. To test a relationship between an aberrant aortic valve morphology and the development of an ascending aortic aneurysm, we hypothesized that the analysis of proteins of the aortic wall would reveal differences. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- β 1) appeared as potentially relevant. The aim of this study was to determine the expression of these proteins within the aortic wall.

Material and Methods

During aortic valve or aortic surgery ascending aortic wall specimen of 36 patients were harvested. Of these, 12 patients had a tricuspid aortic valve (TAV), 12 patients had BAV and 12 patients had UAV. In each subgroup, 50% of patients had an aneurysm. We analyzed the protein expression of eNOS via Western Blot analysis and of TGF- β 1 via ELISA at different regions of the aortic wall.

Results

Protein expression of eNOS was elevated in UAV aortas when dilatation was present ($p = 0.0597$), which was not present in TAV aortas ($p = 0.6802$). In nondilated aortas eNOS was decreased in BAV and UAV compared to TAV (BAV $p = 0.0021$, UAV $p = 0.0283$). There were no regional differences of eNOS expression nor a correlation to the aortic diameter (all $p > 0.05$).

TGF- β 1 was increased in dilated TAV specimen, but decreased in dilated BAV or UAV aortas compared to nondilated aortas (TAV $p = 0.0169$, BAV $p = 0.0002$, UAV $p = 0.0024$). In dilated TAV aortas TGF- β 1 expression in the aortic root was higher than in the tubular ascending aorta (TA) ($p = 0.0020$). Protein expression in dilated BAV or UAV aortas showed higher levels in the concavity compared to the convexity of the aorta (BAV $p = 0.2671$, UAV $p = 0.0505$). In dilated BAV and UAV aortas TGF- β 1 expression was decreased when compared to TAV (BAV $p = 0.0107$, UAV $p = 0.0003$). In BAV and UAV aortas there was a negative correlation of TGF- β 1 and the aortic diameter (BAV $p = 0.0011$, UAV $p = 0.0008$).

Conclusion

Ascending aortic aneurysms in presence of a malformation of the aortic valve seem to be associated with an increased expression of eNOS and a decreased expression of TGF- β 1. Our analysis of TGF- β 1 and eNOS show different patterns in dilated TAV aortas and dilated BAV respectively UAV aortas. These examinations indicate an alternative pathogenesis of ascending aortic aneurysms in the case of a malformed aortic valve when compared to TAV.

2 Einleitung

2.1 Aneurysma der Aorta ascendens

Ein Aneurysma beschreibt die lokalisierte, permanente Dilatation einer Arterie um mindestens 50% der normalen Größe. Der normale Aortendurchmesser variiert in Abhängigkeit von Geschlecht, Alter und Körpergröße eines Menschen.[40]

Aortenaneurysmen werden der Lokalisation entsprechend in thorakale und abdominale Aortenaneurysmen unterteilt.[89] Insgesamt findet man 60% aller thorakalen Aortenaneurysmen in der Aorta ascendens, 40% in der Aorta descendens und jeweils 10% treten im Aortenbogen und dem thorakoabdominalen Übergang auf, wobei sich einige Aneurysmen segmentübergreifend ausbreiten.[52]

Genauere Prävalenzdaten zu Aneurysmen der Aorta ascendens (AscA) sind kaum zu erfassen, da sie in >95% der Fälle asymptomatisch verlaufen.[57] AscA können durch sekundäre Aortenklappeninsuffizienz (AI) auffällig und auskultatorisch nachweisbar werden oder bei gewisser Größe durch weitere Komplikationen klinisch apparent werden. Jedoch wird der Großteil der AscA als Zufallsbefund infolge Bildgebung anderer Indikation entdeckt.[52] Die Prävalenz asymptomatischer AscA liegt laut Studienlage zwischen 0,16% und 0,34%. [57] Zwei Studien zur Inzidenz der AscA zeigten im Laufe der letzten Jahre ein zunehmend häufigeres Auftreten. Während eine 1982 publizierte Studie 5,9 Fälle pro 100.000 Patientenjahre zeigte, beobachtete Clouse et al. bis 1998 bereits 10,4 Fälle pro 100.000 Patientenjahre.[9,19] Ob die Ursache hierfür in dem steigenden Durchschnittsalter der Bevölkerung oder durch vermehrte Bildgebung eine häufigere Detektion von Aneurysmen gelingt, ist unklar.[19,55] Es wurde hierbei kein Unterschied zwischen den Geschlechtern beobachtet.[9,19]

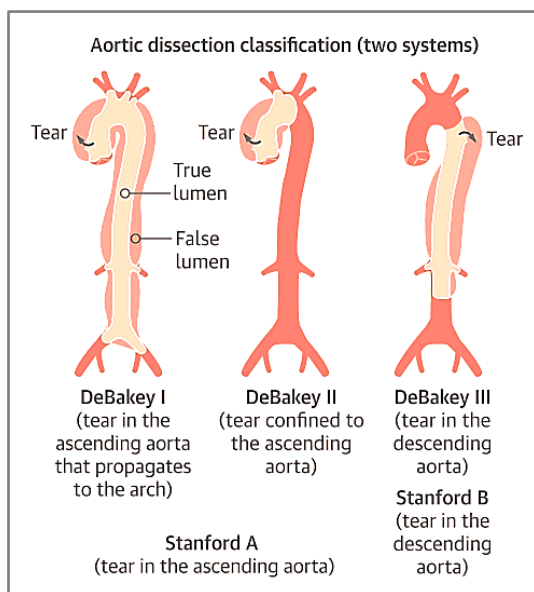
Die bisherige Datenlage zu AscA ist begrenzt. Abdominale Aortenaneurysmen dagegen haben eine höhere Prävalenz und sind weitaus besser erforscht als AscA. Dies wird unter anderem darauf zurückgeführt, dass abdominale Aortenaneurysmen im Rahmen von körperlichen oder sonographischen Routineuntersuchungen häufiger zufällig diagnostiziert werden. Bei AscA gibt es keine vergleichbaren klinischen Untersuchungsmöglichkeiten, eine Detektion gelingt lediglich mittels Schnittbildgebung. Die Prävalenz der abdominalen Aortenaneurysmen bei Männern über 65 Jahren beträgt etwa 5%. Zu den Hauptrisikofaktoren zählen unter anderem Nikotinabusus, Geschlecht, arterielle Hypertonie, Alter und Atherosklerose.[52] Für AscA scheinen diese Risikofaktoren nicht zuzutreffen. In höherem Alter spielt auch hier die Atherosklerose eine relevante Rolle. Aber gerade bei den jüngeren Patienten mit AscA weisen die bisherigen Studien auf eine strukturelle Störung der Aortenwand hin.[15,57,90]

Unabhängig von den zugrunde liegenden Risikofaktoren zeigen sowohl AscA als auch abdominale Aortenaneurysmen eine Größenprogredienz im Laufe der Zeit. In einer Studie mit

230 Patienten wurden über einen Zeitraum von ca. 10 Jahren die Wachstumsraten und Komplikationsrisiken von AscA verfolgt. Es zeigte sich, dass AscA mit einem Ausgangsdurchmesser von 4cm ein Wachstum von 0,08cm pro Jahr aufweisen. Bei einem Durchmesser von 8 cm vergrößerte sich die Wachstumstendenz auf 0,16cm pro Jahr.[22] Insbesondere das Auftreten von Komplikationen wurde bei größerem Aortendurchmesser häufiger beobachtet. [17,22]

2.2 Komplikationen des AscA

Bei AscA besteht ein erhöhtes Risiko für potentiell letale Komplikationen wie eine Dissektion oder Ruptur. Als Dissektion bezeichnet man den Einriss der inneren Schichten der Gefäßwand - der Tunica intima und Tunica media - mit konsekutivem Einströmen von Blut in das entstandene falsche Lumen. Die Aortendissektion lässt sich unterteilen nach DeBakey- oder Stanford-Klassifikation.[40] [s. Abb. 1]



◆ **Abbildung 1. Schematische Darstellung der Typen einer Aortendissektion** Entsprechend der DeBakey- und Stanford-Klassifikation.[40]

Die Häufigkeit für eine Dissektion oder Ruptur liegt durchschnittlich bei jeweils 3,5 pro 100.000 Patientenjahre.[20] Die Inzidenz einer Aortendissektion bei vorliegendem AscA wird je nach Studie mit bis zu 16,3 pro 100.000 Patientenjahre angegeben.[40]

Bei Auftreten einer akuten Dissektion Typ A (DeBakey) besteht ohne Therapie in den ersten 48 Stunden nach Einsetzen der Symptome eine 1-2%-ige Mortalität pro Stunde.[40] Selbst bei operativer Versorgung existiert eine Krankenhausmortalität von 26%.[47] Die Ruptur eines AscA

weist eine deutlich schlechtere Prognose auf. Etwa 59% der Patienten versterben vor Erreichen des Krankenhauses und auch perioperativ existiert eine hohe Mortalität von 23,4 – 28,6%. [17,55]

Das Risiko einer Dissektion oder Ruptur eines Aortenaneurysmas steigt mit wachsendem Durchmesser. Die jährliche Inzidenz einer Aortendissektion oder -ruptur liegt bei kleinem Aneurysma von 4,0 - 4,9cm bei 2% und steigt bei einem Durchmesser von 6,0cm und größer auf 6,9% an. [31]

Aufgrund dieser schwerwiegenden Komplikationen wird eine prophylaktische operative Versorgung bei AscA ab einem Durchmesser von 5,5cm empfohlen. [17,90] Unter gewissen Umständen kann eine chirurgische Intervention bereits früher erwogen werden, beispielsweise bei sehr schnell wachsendem Aneurysma, Auftreten von aneurysma-assoziierten Symptomen oder einer relevanten AI. Aufgrund des erhöhten Risikos für Aortendissektion oder -ruptur wird bei vorliegender bicuspidaler (BAV) oder unicuspidaler (UAV) Aortenklappe, Marfan-Syndrom (MFS) und familiärem AscA ebenfalls früher interveniert. [55,89]

2.3 Familiäre AscA

Bereits 1997 zeigten Biddinger et al. eine familiäre Häufung für das Auftreten von AscA. [10] Bei einem Teil dieser Patienten mit familiärem AscA liegt eine syndromale Erkrankung zugrunde, wie z.B. MFS, Loeys-Dietz-Syndrom (LDS) oder Ehlers-Danlos-Syndrom. Diese Patienten präsentieren in der Regel weitere systemische Manifestationen der Erkrankung. [55,60]

Ein großer Teil der Patienten zeigt jedoch ein auf die Aorta beschränktes Krankheitsbild. Coady et al. evaluierte bei Patienten mit AscA ohne syndromale Erkrankung in 19,3% eine positive Familienanamnese (Familienangehörige ersten Grades) für Aortenaneurysmen. [21] Diese Patienten leiden an sogenannten familiären, nicht-syndromalen AscA. In Familien mit einer solchen erblichen Prädisposition konnte mehrheitlich ein autosomal-dominanter Erbgang ermittelt werden. [3,21] In den vergangenen Jahren wurde vermehrt genetische Loci identifiziert, die im Zusammenhang mit nicht-syndromalen AscA stehen. Es ist anzunehmen, dass der Anteil an familiär bedingten AscA bei über 20% liegt. [57]

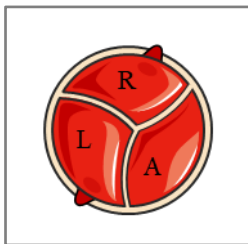
AscA manifestieren sich bei Patienten mit familiärer Komponente durchschnittlich 3 bis 7 Jahre früher als sporadische AscA. [3,21] Familiäre AscA weisen zudem mit 0,21cm/Jahr eine höhere Wachstumsrate auf als sporadische AscA mit 0,16cm/Jahr. [3] Es ist davon auszugehen, dass sich darin die verifizierbare frühere Manifestation der familiären, nicht-syndromalen AscA begründet. Beide Erkenntnisse legen einen erblichen Defekt der Aortenwand nahe.

Nicht nur dem Auftreten eines AscA scheint eine kongenitale Ursache zugrunde zu liegen. Auch die embryonale Anlage der Aortenklappe weist einen hereditären Mechanismus auf. So liegt z.B.

bei Patienten mit BAV eine familiäre Häufung vor.[51] Zudem wird bei Patienten mit Aortenklappenanomalien ein erhöhtes Auftreten von AscA beobachtet.[92]

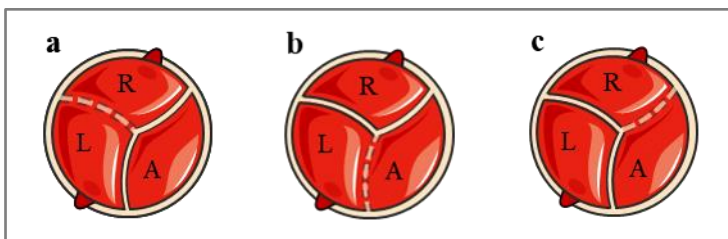
2.4 Morphologie der Aortenklappe

Die Aortenklappe besteht regulär aus drei Klappentaschen, welche durch Kommissuren voneinander getrennt sind. Bei der tricuspiden Aortenklappe (TAV) bezeichnet man diese Taschen als Valvulae semilunares sinistra, dextra und posterior.[89] [s. Abb. 2]



◆ **Abbildung 2. Schematische Darstellung einer TAV**
(R = rechte Klappentasche, L = linke Klappentasche, A = acoronare Klappentasche)

Bei einer BAV liegen nur zwei Klappentaschen vor. Es gibt verschiedene Konfigurationen der BAV. Je nach Position oder Vorhandensein einer Raphe werden diese unterteilt in verschiedene Fusionstypen.[90] [s. Abb. 3]

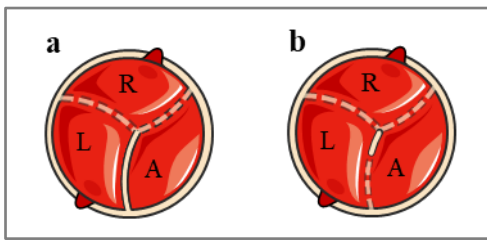


◆ **Abbildung 3. Schematische Darstellung der Varianten einer BAV**
Rechts-links Fusion (a), Links-acoronare Fusion (b) und Rechts-acoronare Fusion (c). (R = rechte Klappentasche, L = linke Klappentasche, A = acoronare Klappentasche)

Hierbei sind entweder embryologisch lediglich zwei Taschen angelegt (7%) oder Taschen miteinander fusioniert (93%). Bei einer Fusion entsteht eine Raphe mit falscher Kommissur zwischen den Taschen, die am häufigsten zwischen der rechten und der linken Klappentasche auftritt (80%).[90]

Ähnlich ist es bei der Ausbildung einer UAV, bei der während der Embryogenese eine Separation der einzelnen Taschen voneinander ausbleibt.[91] Eine UAV kann in zwei Formen – unikommissural oder akommissural – auftreten.[1,34] [s. Abb. 4] Bei der deutlich häufiger

vorkommenden unikommissuralen UAV (91%) besteht die verbliebende Kommissur in der Regel zwischen der acoronaren und der linken Klappentasche.[76,83]



◆ **Abbildung 4. Schematische Darstellung der UAV** (Unikommissural (a) und akommissural (b). (R = rechte Klappentasche, L = linke Klappentasche, A = acoronare Klappentasche)

2.4.1 Bicuspide Aortenklappe

Die Anlage einer BAV gehört mit einer Prävalenz von 0,9 - 2% zu den häufigsten angeborenen kardialen Erkrankungen.[14,82] Wie bereits erwähnt, besteht neben dem sporadischen Auftreten einer BAV eine familiäre Häufung und damit ein Hinweis auf eine genetische Komponente. Hierbei liegt am ehesten eine autosomal-dominante Vererbung mit unvollständiger Penetranz vor.[51] Insgesamt scheinen Männer deutlich häufiger betroffen zu sein als Frauen.[39,47,64]

Bei Vorliegen einer BAV erhöht sich das Risiko für die Ausbildung eines AscA und das Auftreten einer Aortendissektion.[40,47,90] Auch unabhängig von der Klappenfunktion konnte ein erhöhtes Auftreten einer Aortendilatation bei BAV verglichen mit TAV nachgewiesen werden.[13,74,78] Die Prävalenz wird variierend zwischen 20 und fast 80% angegeben, wobei die meisten Studien bei BAV eine Dilatation in 40 bis 50% beobachteten.[25,64,67,74]

Eine Aortendilatation scheint sich bei vorliegender BAV bereits in jüngeren Jahren zu manifestieren. In einer Studie zeigte sich bei Patienten mit dilatierter Aorta bei BAV ein Durchschnittsalter von 40,6 Jahren verglichen mit 56,4 Jahren bei TAV.[11]

Generell fällt bei AscA bei vorliegender BAV eine höhere Wachstumsrate als bei Patienten mit TAV auf. Analog zu den Erkenntnissen zur TAV neigen AscA bei bestehender BAV ebenfalls zu stärkerem Wachstum mit steigendem Aortendurchmesser.[92]

Des Weiteren treten Komplikationen wie eine Aortenklappendysfunktion gehäuft auf. Für das Vorliegen oder Auftreten einer AI besteht bei BAV eine Prävalenz von 47 – 70%. Das Krankheitsbild tritt in vergleichbar jungem Patientenkollektiv auf. Auch eine Stenosierung der Aortenklappe manifestiert sich bei BAV im Vergleich zu TAV häufiger und durchschnittlich 5 – 10 Jahre früher.[28,47,64]

2.4.2 Unicuspide Aortenklappe

Die Formation einer UAV tritt deutlich seltener auf als eine BAV. Bei 0,02% der Patienten, die zu einer Echokardiographie überwiesen wurden, entdeckte man inzidentell eine UAV.[1,76] Jedoch ist die Nachweisbarkeit einer UAV durch ein Echokardiogramm nicht sehr zuverlässig. Bei Patienten, die aufgrund einer isolierten Aortenklappenstenose (AS) elektiv operiert wurden, fiel eine deutlich höhere Inzidenz einer UAV bei bis zu 5% der Patienten auf.[85] Auch bei der UAV wird ein deutlich häufigeres Auftreten bei Männern beobachtet.[85] Im Gegensatz zur BAV wird der Entstehung der UAV keine familiäre Häufung zugeschrieben. Bisher existiert ein Fallbericht über das gleichzeitige Auftreten einer UAV bei Geschwistern.[54]

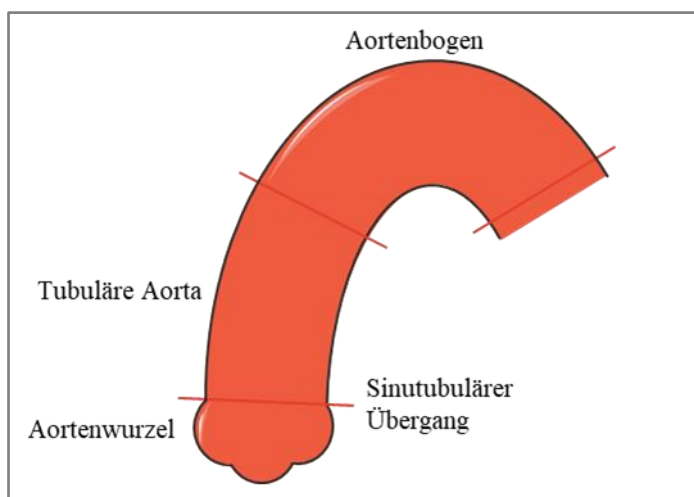
Klappendysfunktionen treten bei Patienten mit UAV häufiger auf als bei BAV und manifestieren sich früher. Bei 92% der Patienten mit UAV entsteht eine AS. Im Durchschnitt stellen sich Patienten mit UAV und AS 10 - 20 Jahre früher zur Operation vor als vergleichbare Patienten mit BAV und sogar 20-30 Jahre früher im Vergleich zu TAV.[78] Eine operative Intervention wird bei Patienten mit UAV durchschnittlich in der 3. - 5. Lebensdekade notwendig.[76,89]

Auch Komplikationen wie eine Dilatation der Aorta wurde bei vorliegender UAV in bis zu 48% beobachtet.[78] Das Risiko für eine Dissektion ist bei UAV ca. 5 - 9-mal höher als in der Gesamtpopulation und 18-mal höher als bei gesunden Patienten mit TAV.[71,76]

2.5 Dilatation der Aorta ascendens

2.5.1 Pathogenese

Die Aorta ascendens beginnt an der Aortenwurzel, geht am sinutubulären Übergang (ST) in die TA über und endet im Aortenbogen.[63] [s. Abb. 5]



◆ Abbildung 5. Schematische Darstellung der Aorta ascendens

AscA unterscheiden sich in der Pathogenese signifikant von Aneurysmen der Aorta descendens sowie der Aorta abdominalis. Hier sind vor allem arterielle Hypertonie, Nikotinabusus und Artherosklerose relevant.[51-52] Bei AscA spielen diese Risikofaktoren eine untergeordnete Rolle. Diese sind häufiger mit genetischen Mutationen, Bindegewebserkrankungen oder angeborenen Aortenklappenanomalien assoziiert.[92]

Histopathologisch lässt sich in AscA eine Mediadegeneration nachweisen.[11,40] Diese ist charakterisiert durch den Verlust von elastischen Fasern sowie glatten Muskelzellen und einer Ablagerung von Proteoglykanen in der Aortenwand.[33] Die Belastungsfähigkeit der Aortenwand basiert auf der Stärke der Extrazellulärmatrix (EZM). Gehen hier stabile Strukturen wie Elastin oder Kollagen zugrunde, wird die Aortenwand geschwächt und dilatiert konsekutiv.[52] Auch das Risiko für eine Dissektion ist bei Schwächung der Aortenwand durch Mediadegeneration signifikant erhöht.[10,47]

Eine Mediadegeneration mit Verlust der elastischen Fasern konnte bei Patienten mit angeborenen Aortenklappenanomalien (BAV oder UAV), die an einer Dissektion verstarben, in 90% der Fälle nachgewiesen werden.[83] Bei Vorliegen einer BAV konnte dies auch beobachtet werden, selbst wenn die Aorta nicht-dilatiert war und trat im Vergleich zu Patienten mit TAV deutlich häufiger auf.[27,66,90]

Diese Erkenntnisse legen nahe, dass eine pathophysiologische Gemeinsamkeit zwischen dem Vorliegen einer abnormalen Klappenmorphologie und Veränderungen der Aorta ascendens besteht.

Was jedoch die genaue Ursache der Mediadegeneration darstellt, ist Gegenstand aktueller Forschung. Zur Erklärung der Pathogenese des AscA werden zwei populäre Theorien angewendet: 1. die Strömungshypothese und 2. die Genetikhypothese.

2.5.2 Strömungshypothese

Die erste Theorie ist die sogenannte Strömungshypothese. Sie wird wie folgt begründet:

Auf die Aortenwand wirken verschiedene Kräfte. Hieraus resultieren vor allem die Schub- und die Wandspannung. Die Aorta reagiert auf Veränderungen dieser Kräfte und versucht sich entsprechend anzupassen.[92]

Die Schubspannung (τ) ergibt sich aus tangential einwirkender Reibung des Blutes an der Gefäßwand. Sie ist abhängig von Viskosität und Strömungsgeschwindigkeit des Blutes und wirkt auf das Endothel. Man kann sie mit folgender Formel berechnen:

$$\tau = \frac{4 \times \mu \times Q}{\pi \times r^3}$$

$\mu = \text{Blutviskosität}, Q = \text{Volumenfluss}, r = \text{Radius}$ [60]

Eine Erhöhung der Schubspannung resultiert in einer Dilatation des Gefäßes.[38,59]

Die sogenannte Wandspannung (K) wirkt senkrecht auf die gesamte Zirkumferenz der Aorta und lässt sich nach dem Laplace-Gesetz berechnen:

$$K = \frac{P \times r}{h}$$

$P = \text{intravasaler Druck}, r = \text{Radius}, h = \text{Dicke der Aortenwand}$ [92]

Ein erhöhter Druck in der Aorta resultiert in einer verdickten Media.[29] Durch die stärkere Aortenwand soll entsprechend dem Laplace-Gesetz die Wandspannung reduziert werden.[60]

Es konnte gezeigt werden, dass Turbulenzen im Blutfluss und höhere Strömungsgeschwindigkeiten in gesteigerter Schubspannung auf die Aortenwand resultieren.[92] Eine erhöhte Schubspannung führt zu Umbauprozessen der EZM der Aortenwand. In der Folge kommt es zu einer Dilatation der Aorta, wodurch die auf die Aorta wirkende Schubspannung sinkt.[60] Mit steigendem Diameter verliert die Aorta an Dehnbarkeit und es erhöht sich die vorliegende Wandspannung. Dies führt zu erhöhtem Risiko für Komplikationen wie Ruptur oder Dissektion.[40]

Bei Patienten mit BAV und dilatierter Aorta ascendens konnten Veränderungen der Aortenwand mit lokalen Unterschieden nachgewiesen werden; die Gefäßwand war vor allem an der Konvexität der Aorta geschädigt.[24] Zudem zeigten sich Veränderungen der EZM der konvexen Aorta in Patienten mit BAV ohne bereits vorliegendes Aneurysma.[26] Solche Veränderungen konnten auch ohne höhergradige Stenose bei vorliegender BAV beobachtet werden, sodass diese auf die exzentrische Klappenöffnung zurückgeführt werden.[67,84]

Möglicherweise kommt es demnach bei BAV und auch UAV aufgrund der divergenten Geometrie der Aortenklappe zu einem veränderten Strömungsmuster in der Aorta und konsekutiv zu strukturellen Veränderungen in der Wand der Aorta ascendens.[26]

2.5.3 Genetikhypothese

Eine alternatives Erklärungsmodell bietet die sogenannte Genetikhypothese.

Während der Embryogenese entstehen die Strukturen des linksventrikulären Ausflusstrakts – u.a. Aortenklappe, Aorta ascendens und Aortenbogen - gemeinsam aus der Neuralleiste.[11,54] Aufgrund der beobachteten familiären Häufung von sowohl AscA als auch BAV lässt sich daher eine gemeinsame genetische Ursache beider Erkrankungen vermuten.[10,50]

Eine Mediadegeneration wurde bei Patienten mit BAV beobachtet, auch wenn die Aortenklappe intakt war und die Aorta nicht dilatiert.[11,47] Ähnliche histologische Veränderungen wurden darüber hinaus auch im Truncus pulmonalis bei Patienten mit BAV nachgewiesen.[27] Das gehäufte Auftreten von Aortenisthmusstenosen bei BAV auch ohne Vorliegen einer syndromalen Erkrankung sprechen ebenfalls dafür, dass die Entwicklung der Aortenklappe mit der Entwicklung der Aorta ascendens bis hin zum Ligamentum arteriosum zusammenhängt.[92]

Zudem spricht das Vorliegen einer Dilatation der Aorta ascendens bereits bei jungen Patienten mit BAV für einen angeborenen Defekt der Entwicklung von Aortenklappe und Aorta ascendens.[11,47] Eine Studie zeigte einen erhöhten Durchmesser der Aorta ascendens und eine erhöhte Wachstumsrate derselben bereits bei Kindern mit BAV.[95] Auch der Grad der Klappendysfunktion scheint nicht mit dem Ausmaß der Dilatation oder Aortenwandveränderung in Zusammenhang zu stehen.[27,28] Diese Erkenntnisse machen eine sekundäre Dilatation der Aorta unwahrscheinlich.

Bisher sind 29 Gene bekannt, die mit der Entstehung von AscA assoziiert werden. Die betroffenen Proteine gehören weitgehend zur EZM, dem Kontraktionsmechanismus bzw. Metabolismus der glatten Gefäßmuskulatur oder dem Signalweg des Transforming Growth Factor Beta (TGF- β).[15] Hierbei zeigt sich eine große Überschneidung der bekannten genetischen Mutationen zwischen den syndromalen (z.B. MFS, LDS) und nicht-syndromalen AscA.[15] Zudem belegen Studien, dass eben diese syndromalen Erkrankungen überdurchschnittlich häufig und frühzeitig in Zusammenhang mit der Ausbildung von AscA stehen.[52] Weiterhin wurde das LDS mit einem gehäuften Auftreten von BAV assoziiert.[53] Bei vielen dieser syndromalen Erkrankungen bestehen kardiale Auswirkungen nicht nur im Sinne eines AscA. Es werden z.B. bei Patienten mit MFS überdurchschnittlich häufig Aortenklappendysfunktionen oder Aortenklappenanomalien beobachtet.[63,86]

Aber auch familiäre, nicht-syndromale AscA präsentieren sich früher als sporadische AscA und zeigen eine erhöhte Wachstumsrate.[3] Dies spricht dafür, dass die betroffenen Patienten ebenfalls eine genetische Prädisposition für eine Schwächung der Aortenwand haben können.

Bislang konnten ähnliche sowie auch weitere Genmutationen sowohl mit der Ausbildung von BAV als auch mit familiären, nicht-syndromalen AscA in Verbindung gebracht werden.[36,90]

2.6 Fragestellung

Epidemiologische Daten zeigen ein gehäuftes gemeinsames Auftreten von BAV bzw. UAV und AscA. Bisher sind einige genetische Defekte im Zusammenhang mit der Ausbildung von AscA

sowohl im Rahmen syndromaler als auch nicht-syndromaler AscA bekannt. Außerdem gibt es einige Mutationen, die mit der Ausbildung von BAV und AscA assoziiert wurden.

Wir wissen, dass Mutationen in den Genen des TGF- β -Signalweges zu Krankheitsbildern führen, die mit dem Vorkommen von AscA assoziiert sind. Bei Patienten mit MFS liegt eine Mutation mit konsekutivem Funktionsverlust von Fibrillin-1 vor, einem Strukturprotein der EZM, welches über den TGF- β -Signalweg regulatorisch wirksam ist.[40,51] Mutationen in den Genen für die TGF- β -Rezeptoren 1 und 2 verursachen das LDS.[15,40,61] Es ist bekannt, dass unter physiologischen Bedingungen TGF- β in einen Teil der regulatorischen Mechanismen in der Aortenwand und der Embryogenese des kardiovaskulären Systems involviert ist.[40] Von den TGF- β -Unterformen ist TGF- β 1 in der Tunica media der Aortenwand am stärksten vertreten.[41]

Des Weiteren wurde in bisherigen Studien die Relevanz von endothelialer Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) in der embryologischen Genese der Aortenklappe beschrieben. In einer Studie mit eNOS Knockout-Mäusen bildeten 42% eine BAV verglichen mit 0% der Wildtyp-Mäuse aus.[59] Bei Patienten mit bestehender BAV konnte verglichen mit TAV eine Veränderung des eNOS Gehaltes der Aorta nachgewiesen werden, diese war unabhängig von der Klappenfunktion und spricht auch hier wieder für eine mögliche angeborene Konstitution.[2]

Aufgrund dieser bisherigen Erkenntnisse untersuchten wir die Proteinexpression von TGF- β 1 und eNOS in der Aortenwand von Patienten mit normalweiter und dilatierter Aorta sowie unterschiedlichen Klappenmorphologien.

Unter der Annahme, dass die Strömungshypothese zutreffend sei, wären regionale Abweichungen der Proteinexpression zu erwarten. Des Weiteren würden die Proteine in der dilatierten verglichen mit der normalweiten Aorta ascendens ebenfalls unterschiedlich exprimiert werden.

Dahingegen liegt es nahe, dass bei Richtigkeit der Genetikhypothese ein uniformes Verteilungsmuster der Proteine vorliegen müsste. Darüber hinaus bestünden Unterschiede auf Proteinebene zwischen den verschiedenen Klappenmorphologien als Ausdruck einer genetischen Fehlanlage.

Daher untersuchten wir, ob auf Proteinebene abnormale Verhältnisse der oben genannten Proteine existieren und ob lokoregionäre Unterschiede bestehen.

Somit kommen wir zu folgenden Fragestellungen:

1. Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS)
 - a. Weist die Aortenwand von Patienten mit angeborener Anomalie der Aortenklappe und Aortendilatation im Vergleich zu Patienten mit regulärer Aortenklappe und normaler Aorta ascendens eine unterschiedliche Expression von eNOS auf?

- b. Gibt es bei Anomalien der Aortenklappe lokoregionäre Unterschiede in der Expression von eNOS?
 - c. Gibt es Unterschiede in der Expression von eNOS zwischen BAV und UAV?
2. Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- β 1)
- a. Weist die Aortenwand von Patienten mit angeborener Anomalie der Aortenklappe und Aortendilatation im Vergleich zu Patienten mit regulärer Aortenklappe und normaler Aorta ascendens eine unterschiedliche Expression von TGF- β 1 auf?
 - b. Gibt es bei Anomalien der Aortenklappe lokoregionäre Unterschiede in der Expression von TGF- β 1?
 - c. Gibt es Unterschiede in der Expression von TGF- β 1 zwischen BAV und UAV?

3 Material und Methodik

3.1 Studiendesign

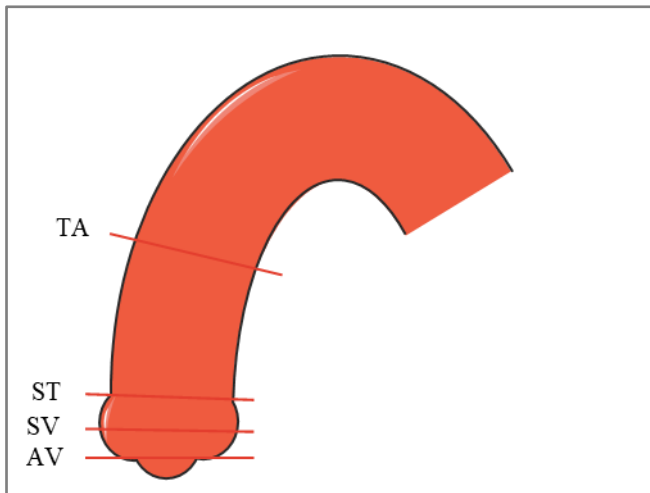
In unserer Studie wurden operativ gewonnene Gewebeproben der Aorta ascendens von 36 Patienten untersucht, die sich einer offenen Operation der Aortenklappe mit oder ohne Ascendens-Ersatz unterzogen. Die Operationen erfolgten zwischen November 2010 und September 2014 am Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg. Eingeschlossen wurden Patienten mit AS, AI oder kombiniertem Aortenklappenvitium (KAV) mit oder ohne Aneurysma der Aorta ascendens. Ausschlusskriterien waren bekannte syndromale Erkrankungen (z.B. MFS, LDS) oder Infektionskrankheiten wie HIV oder Hepatitis. In den Proben wurde der Proteingehalt von eNOS und TGF- β 1 bestimmt und auf unterschiedliche Expression in den verschiedenen Subgruppen untersucht. Zusätzlich wurden Anamnesedaten und klinische Untersuchungsergebnisse ausgewertet.

Eine Zustimmung seitens der Ethik-Kommission bei der Ärztekammer des Saarlandes lag vor (Kenn-Nr.: 205/10).

Ziel der Studie war es, die Pathogenese der AscA durch Evaluation dieser Proteine in der Aortenwand besser zu verstehen.

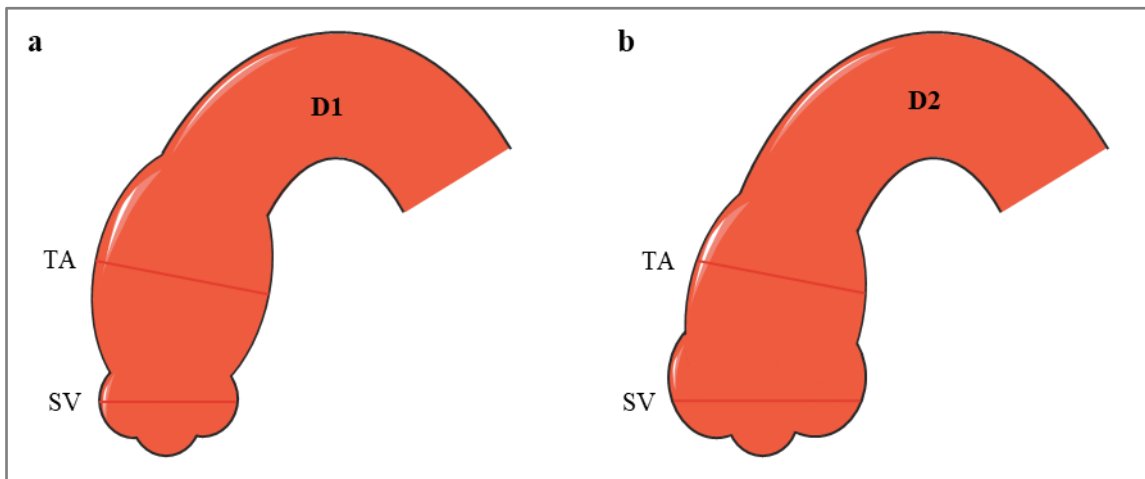
3.2 Probengewinnung

Präoperativ wurde nach vollständiger Aufklärung ein schriftliches Einverständnis aller Patienten zur Probengewinnung eingeholt. Indikation für die Operation war ein Aortenklappenvitium (AS, AI, KAV) mit oder ohne Aneurysma der Aorta ascendens. Es erfolgten eine Rekonstruktion oder ein Ersatz der Aortenklappe gegebenenfalls mit simultanem Ersatz der Aorta ascendens. Bei allen Patienten wurde vor Beginn der Operation eine transösophageale Echokardiographie (TEE) zur Bestimmung der maximalen Diameter der Aorta ascendens durchgeführt. Gemessen wurde auf Höhe des aortoventrikulären Übergangs (AV), des Sinus Valsalva (SV), des ST und der TA. [s. Abb. 6]



◆ **Abbildung 6. Schematische Darstellung der Lokalisationen der TEE Messungen**
 (TEE = transösophageale Echokardiographie, TA = tubuläre Aorta ascendens, ST = sinutubulärer Übergang, SV = Sinus Valsalva, AV = aortoventrikulärer Übergang)

Die Aorta wurde ab einem maximalen Durchmesser (AV, SV, ST oder TA) > 40 mm als dilatiert (D) angesehen. Patienten mit einem maximalen Aortendurchmesser \leq 40 mm galten in unserer Studie als nicht-dilatiert (ND). Die dilatierte Aorta wurde entsprechend der Ratio der Durchmesser auf SV und TA Höhe in zwei Dilatationstypen unterteilt, je nachdem ob $SV < TA$ war (D1) oder nicht (D2). [s. Abb. 7]



◆ **Abbildung 7. Schematische Darstellung der Dilatationstypen**
 D1 = $SV < TA$ (a) und D2 = $SV > TA$ (b). (TA = tubuläre Aorta ascendens, SV = Sinus Valsalva)

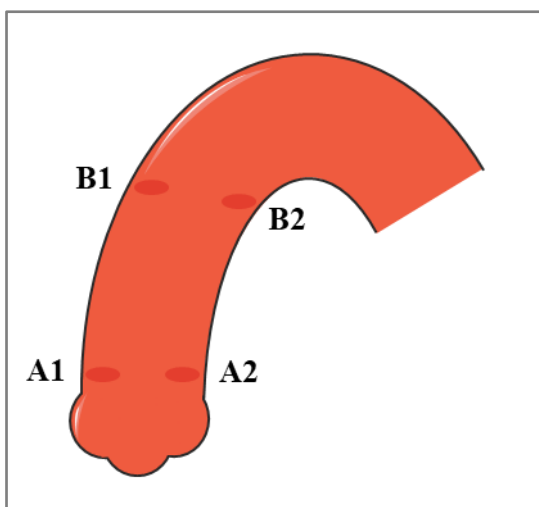
Die Morphologie der Aortenklappe wurde während der Operation durch den Chirurgen determiniert (TAV, BAV, UAV).

Daraus ergaben sich sechs Patientengruppen, die im weiteren Verlauf analysiert wurden.

- Tricuspide Aortenklappe, dilatierte Aorta ascendens (TAVD)
- Bicuspide Aortenklappe, dilatierte Aorta ascendens (BAVD)

- Unicuspide Aortenklappe, dilatierte Aorta ascendens (UAVD)
- Tricuspide Aortenklappe, nicht-dilatierte Aorta ascendens (TAVND)
- Bicuspide Aortenklappe, nicht-dilatierte Aorta ascendens (BAVND)
- Unicuspide Aortenklappe, nicht-dilatierte Aorta ascendens (UAVND)

Intraoperativ wurden Gewebeproben von verschiedenen Lokalisationen der Aortenwand gewonnen. Von allen Patienten wurde Probenmaterial auf Höhe der AV sowohl von der Konvexität (A1) als auch der Konkavität (A2) der Aorta ascendens entnommen. Nur den Patienten, die einen Ersatz der Aorta ascendens erhielten wurden weitere Proben der dilatierten TA entnommen; ebenfalls jeweils von der Konvexität (B1) und der Konkavität (B2) des Gefäßes. [s. Abb. 8]



◆ **Abbildung 8. Schematische Darstellung der Probenentnahmestellen**

Die Proben wurden umgehend steril in Flüssigstickstoff (-196°C) schockgefroren und anschließend langfristig bei -80°C gelagert.

Klinische Daten der eingeschlossenen Patienten wurden prospektiv erhoben und dokumentiert, hierzu gehörten Alter, Geschlecht, Vorerkrankungen und Medikamenteneinnahmen.

3.3 Proteinisolierung

Zur weiteren Verarbeitung der Proben wurden zunächst die Zellen der Gewebestücke lysiert und die Proteine mittels «Protein Quant Sample Lysis Kit» (Life Technologies, Nr. 4448536, Lot 00317896) isoliert. Im Kit war ein Sample Lysis Buffer enthalten. Zusätzlich wurden ein Protease Inhibitor (Protease Cocktail Set I, Calbiochem, Nr. 539131) und ein Phosphatase Inhibitor (Phosphatase Cocktail Set II, Calbiochem, Nr. 524625) zugesetzt.

Zunächst wurden im Eisbad 500µl des Sample Lysis Buffers in ein steriles 13ml fassendes Röhrchen pipettiert und je 5µl Protease Inhibitor und 5µl Phosphatase Inhibitor hinzugefügt. Das Röhrchen wurde samt Inhalt gewogen. Ein ungefähr 50µg schweres Probenstück wurde in das Puffergemisch hineingegeben. Durch erneutes Wiegen wurde das exakte Gewicht des Probenstücks berechnet. Anschließend wurde die Probe für 30 Sekunden mechanisch homogenisiert (z.B. Ultra-Turrax T25, Ika Labortechnik). Die Enzyme im Puffergemisch verhinderten eine ungewollte Denaturierung und Proteolyse der nach Zellaufschluss freigewordenen Zellbestandteile. Das Lysat wurde bei 4°C für 5 Minuten bei 1000G zentrifugiert (z.B. Rotina 48R, Hettich GmbH & Co. KG) und dadurch in Proteine und Zellbestandteile aufgetrennt. Die zytosolischen Proteine befanden sich nun in klarem Überstand, welcher abpipettiert und in 50µl Fraktionen bei -80°C eingefroren wurde.

Mit dem verbliebenen Sediment wurde das Protokoll ein zweites Mal durchgeführt, um mehr Proteine aus dem Gewebe zu extrahieren. Auch diese Fraktionen wurden bei -80°C eingefroren.

3.4 Bestimmung der Proteinkonzentration

Um die Gesamtproteinmenge der Proben zu ermitteln, wurde eine Konzentrationsbestimmung angeschlossen. Hierfür wurde das «Micro BCA Protein Assay Kit» (Thermo Scientific, Nr. 23235, Lot OC182098A) verwendet. Dieses beinhaltet einen Albumin Standard sowie die Micro BCA Reagenzien A, B und C. Daneben wurde erneut der zuvor verwendete Sample Lysis Buffer benötigt («Protein Quant Sample Lysis Kit», Life Technologies, Nr. 4448536, Lot 00317896).

Zu Beginn wurde mit den im Kit enthaltenen Reagenzien ein Arbeitsreagenz angesetzt. Für eine 96 Well Mikrotiterplatte wurden zu 2500µl Micro BCA Reagenz A sowohl 2400µl Micro BCA Reagenz B als auch 100µl Micro BCA Reagenz C gegeben und auf dem Vortexer (z.B. M52 Minishaker, Ika Labortechnik) gemischt.

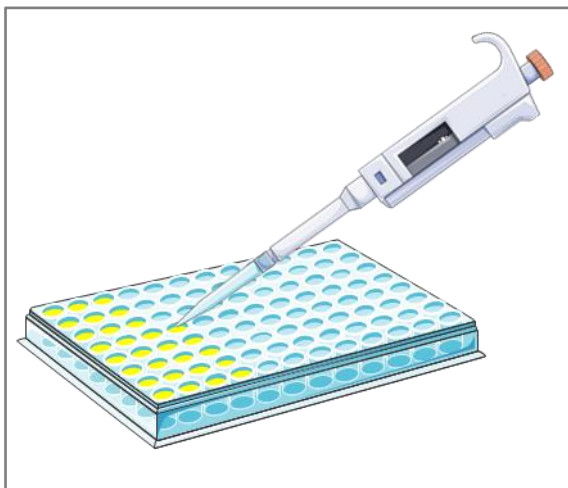
Zur weiteren Vorbereitung wurden die Standardlösungen angesetzt, die als Referenz für die spätere photometrische Messung dienten. Hierzu wurden in ein 2ml Eppendorf Reaktionsgefäß 210µl Sample Lysis Buffer sowie 30µl Albumin Standard gegeben und auf dem Vortexer gemischt. Der so entstandene Standard 1 (St1) hatte eine Albumin-Konzentration von 250µg/ml. Von diesem St1 ausgehend wurden 6 weitere Standardlösungen mit Sample Lysis Buffer hergestellt. Daraus ergab sich eine Standardreihe mit Konzentrationen zwischen 250g/ml bis 7,8125g/ml. [s. Tab. 1]

	Sample Lysis Buffer	Albumin Standard	Albumin- Konzentration
St1	210µl	30µl	250µg/ml
St2	120µl	120µl aus St1	125µg/ml
St3	120µl	120µl aus St2	62,5µg/ml
St4	120µl	120µl aus St3	31,25µg/ml
St5	120µl	120µl aus St4	15,625µg/ml
St6	120µl	120µl aus St5	7,8125µg/ml

◆ **Tabelle 1. Ansatzschema der Standardlösungen für Micro BCA**
(St = Standard)

Anschließend wurden die zu messenden Proben mit Sample Lysis Buffer auf ein Verhältnis von 1:20 verdünnt. Zu 114µl Sample Lysis Buffer wurden 6µl Probenmaterial pipettiert und anschließend sorgfältig gemischt.

In eine Mikrotiterplatte (z.B. Greiner UV-Star 96-well Platte, Sigma-Aldrich, Nr. 655801) wurden pro Well 50µl der Standard- bzw. Probenlösung pipettiert, jeweils als Doppelbestimmungen. [s. Abb. 9] Des Weiteren wurden 50µl des Arbeitsreagenzes pro Well hinzupipettiert. Die Platte wurde umgehend luftdicht abgeklebt.



◆ **Abbildung 9. Pipettieren in Mikrotiterplatte**

Nach Inkubation der Platte für 2 Stunden bei 37°C (z.B. Thermomixer comfort, Eppendorf) wurde die photometrische Dichte mit einem Photometer (z.B. Infinite M200, Tecan) bei 562nm gemessen. Zunächst wurden jeweils die Mittelwerte (MW) der Doppelbestimmungen gebildet und anschließend eine Standardkurve aus den Messungen der sechs Standards erstellt. Die aus der Standardkurve abgeleitete Funktion zur Berechnung der Proteinkonzentration wurde dazu genutzt, um unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors 20 die Gesamtproteinkonzentration der Proben zu bestimmen.

3.5 Western Blot

Zur Determinierung der Menge von eNOS in den Gewebeproben wurde eine Gelelektrophorese durchgeführt.

Vor Beginn des Versuchs wurden diverse Pufferlösungen angesetzt. Vom vierfach konzentrierten Gelladepuffer «Roti Load 1, 4x» (Roth, Nr. K929.1, Lot 085225941) wurden 250µl mit 740µl destilliertem Wasser und 10µl gelöstem Bromphenolblau auf eine einfache Konzentration verdünnt.

Für einen Laufpuffer wurden 41,85g MOPS ($\cong 1M$) (Roth, Nr. 6979.4, 209,27g/mol), 24,23g Tris ($\cong 1M$) (Roth, Nr. 4855.2, 121,14g/mol), 3,99g Sodium Dodecyl Sulfate ultra pure ($\cong 69,3mM$) (Roth, Nr. 2326.2, 288,38g/mol) sowie 1,53g EDTA ($\cong 20,5mM$) (Roth, Nr. 8043.1, 372,24g/mol) abgewogen und in 200ml destilliertem Wasser aufgelöst. Von diesem 20-fachen Konzentrat wurden jeweils Portionen von 50ml mit 950ml destilliertem Wasser verdünnt, wodurch wir einen einfach konzentrierten Laufpuffer erhielten.

Des Weiteren wurden 26,16g BisTris ($\cong 500mM$) (Roth, Nr. 9140.2, 209,24g/mol), 20,4g Bicin ($\cong 500mM$) (Roth, Nr. 9162.2, 163,2g/mol) und 1,86g EDTA ($\cong 20,5mM$) in 250ml destilliertem Wasser gelöst, wovon jeweils 50ml mit 1ml NuPAGE Antioxidant (Invitrogen, Nr. NP0005, Lot 1633722), 100ml Methanol und 849ml destilliertem Wasser zu einem Transferpuffer vermischt wurden.

Ebenso wurde eine phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) angesetzt, indem ein Päckchen 10x PBS (Genaxxon, Nr. D2016.1005) in 1000ml destilliertem Wasser aufgelöst wurde. Ein Teil davon wurde mit 0,1% Tween-20 (Roth, No. 9127.2) versetzt, indem pro 1000ml PBS je 1ml Tween-20 hinzugefügt wurde.

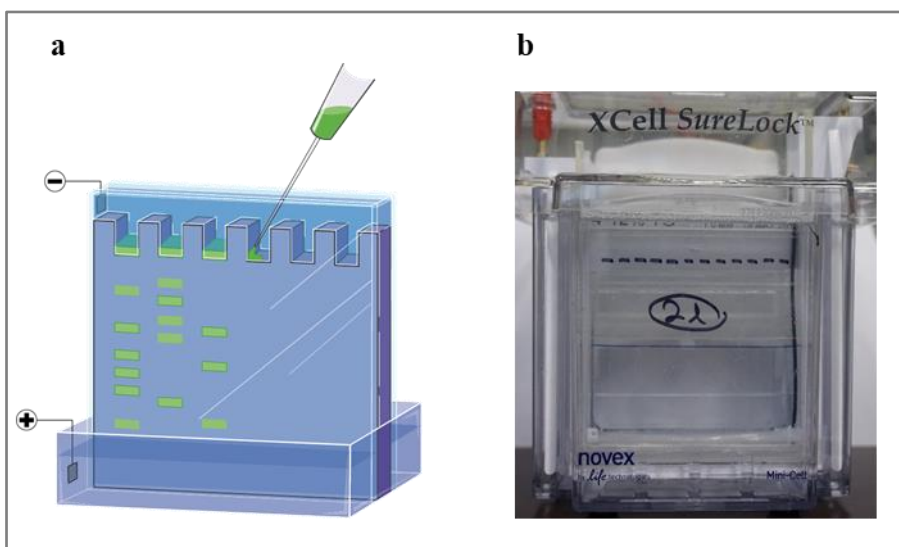
Als letzte Vorbereitung wurde ein Blocking Buffer hergestellt, indem 25mg Milchpulver (Sucofin, Magermilchpulver) in 500ml PBS/0,1% Tween-20 gelöst wurden.

Zunächst wurden die Proben mit dem Gelladepuffer verdünnt. Hierfür wurde anhand der bekannten Gesamtproteinkonzentration der Probe das Volumen berechnet, welches exakt 7,5µg Gesamtproteinmenge enthielt. Diese Probenmenge wurde nun mit einem Drittel des eigenen Volumens an 4x Gelladepuffer versetzt und anschließend mit dem einfach konzentrierten Gelladepuffer auf ein Gesamtvolumen 20µl aufgefüllt. Hierbei wurde stets die doppelte Menge angesetzt, damit eine Doppelbestimmung möglich war.

Weiterhin wurde eine Markerlösung angesetzt. Hierfür wurden zu 16,5µl einfach konzentriertem Gelladepuffer sowohl 0,5µl «MagicMark XP Western Protein Standard» (Life Technologies, Nr. LC5602, Lot 1671128) als auch 3µl «ProSieve QuadColor Protein Marker» (Lonza Rockland, Nr. 00193837, Lot 00236068) hinzugefügt.

Die so angesetzten Marker- und Probenlösungen wurden 10 Sekunden zentrifugiert (z.B. Zentrifuge 5415R, Eppendorf) und anschließend 5 Minuten im bereits auf 70°C vorgeheizten Thermomixer inkubiert. Anschließend wurden die Proben erneut 10 Sekunden zentrifugiert.

Ein Polyacrylamidgel («NuPAGE 4-12% Bis-Tris Gels», 1.0mm, 10-well, Life Technologies, Nr. NP0321BOXPR, Lot 14090911) wurde der Gebrauchsanweisung entsprechend vorbereitet und in eine Western Blot Kammer (XCell SureLock Elektrophoresis Cell, Novex Life Technologies, Nr. SN007800240) eingesetzt. Die Kammer wurde mit Laufpuffer gefüllt und die leeren Taschen mit Laufpuffer gespült, um Luftblasen zu entfernen. In die erste Tasche des Gels wurde mit einer geeigneten Pipettenspitze 20µl Markerlösung vorsichtig pipettiert. Die restlichen Taschen wurden analog mit jeweils 20µl Probenlösung befüllt. Um eine gleichmäßige Elektrophorese zu gewährleisten, wurde in freie Geltaschen 20µl Gelladepuffer pipettiert. Die fertig beladene Western Blot Kammer wurde verschlossen und an eine konstante Spannung von 200V angeschlossen. Die Stromstärke sollte bei Beginn über 100mA betragen und fiel im Verlauf des Versuchs um ca. 30 – 50% ab. Die Dauer des Gellaufs wurde individuell anhand des sichtbaren Fortschritts der Auftrennung der Marker bestimmt und betrug ungefähr eine Stunde. [s. Abb. 10]

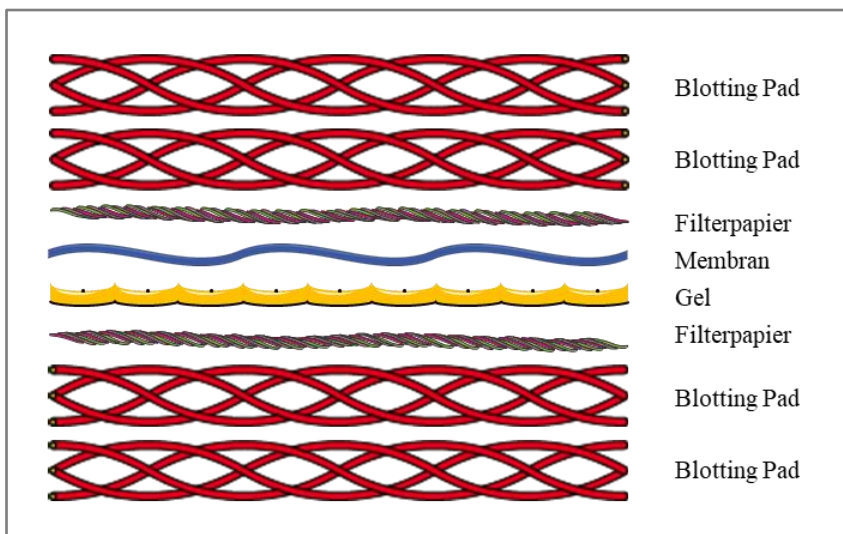


◆ **Abbildung 10. Gelelektrophorese**

Schema Befüllen der Gelladetaschen (a), Progress der Gelelektrophorese (b).

In der Zwischenzeit wurde die Transfermembran für die spätere Proteinübertragung vorbereitet. Hierzu wurde eine Roti-PVDF Transfermembran (Roth, Nr. T830.1) auf die Größe des Gels zugeschnitten. Da die Membran hydrophob ist, muss sie mindestens 20 Minuten in ausreichend 4 °C kaltem Methanol auf dem Kipptisch aktiviert werden, da sonst der nachfolgende Laufpuffer keinen Kontakt mit der Membran aufbauen kann. Die Membran, zwei Blotting Pads der Western Blot Kammer sowie zwei auf die gleiche Größe zurechtgeschnittene Filterpapiere wurden ebenso mit Transferpuffer getränkt.

Nach Beendigung der Elektrophorese wurde die Gelkassette geöffnet und das Gel entsprechend folgendem Schema in die Transferkammer überführt. [s. Abb. 11]



◆ **Abbildung 11. Schematische Darstellung Transferkammer**

Diese Transferkammer wurde in die Western Blot Kammer eingesetzt und mit Transferpuffer befüllt. Um den Temperaturanstieg während des Proteintransfers zu minimieren, wurden sowohl Eis als auch destilliertes Wasser in die Kammer gefüllt. Die Western Blot Kammer wurde verschlossen und für 60 Minuten an eine konstante Spannung von 30V angeschlossen. Hier betrug die anfängliche Stromstärke maximal 500mA und fiel im weiteren Verlauf um maximal 50% ab. Nach Ablauf der 60 Minuten wurde die Membran aus der Kammer entfernt und in 4°C kaltem destilliertem Wasser 20 Minuten gekühlt.

Im Anschluss wurde die Membran mit spezifischen Antikörpern inkubiert. Um eine unspezifische Bindung der Antikörper mit freien Proteinbindungsstellen auf der Membran und damit das Auftreten von Fehlbanden zu verhindern, wurde die Membran vorher mit Blocking Buffer bedeckt und mindestens 1 Stunde bei Raumtemperatur auf dem Kipptisch geschwenkt.

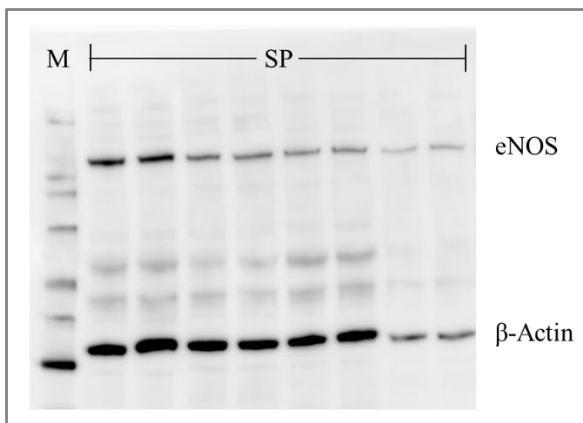
Zum Färben der Membran wurde zunächst ein primäres Antikörpergemisch (AK1) verwendet, welches sowohl unser Zielprotein eNOS als auch β -Actin als Referenzbande darstellte. Hierfür wurde Blocking Buffer mit «Anti-eNOS/NOS Type III (Mouse)» (BD Transduction Laboratories, Nr. 610296, Lot 4077705) im Verhältnis 1:1.000, sowie mit « β -Actin (8H10D10) Mouse mAB» (Cell Signaling Technology, Nr. 3700S, Lot 7) im Verhältnis 1:200.000 angesetzt.

Die Membran wurde nach dem Blocken in diesem Antikörpergemisch AK1 bei 4°C über Nacht auf dem Kipptisch inkubiert. Nach Entfernen des AK1 am Folgetag erfolgte das Waschen der Membran in 4 Schritten für jeweils 20 Minuten auf dem Kipptisch nach folgendem Schema: PBS → PBS/Tween-20 → PBS/Tween-20 → PBS.

Nun wurde ein Antikörpergemisch (AK2) hergestellt, indem Blocking Buffer mit «Peroxidase-conjugated AffiniPure Goat Anti-Mouse IgG (H+L)» (Jackson Immuno Research, Nr. 115-035-146) versetzt wurde (Verdünnung 1:1.000).

Nach dem Waschprozess wurde die Membran mit dem Antikörpergemisch AK2 bedeckt und eine weitere Stunde auf dem Kipptisch inkubiert. Nach diesem Vorgang wurde die Membran nach oben genanntem Schema erneut vier Mal gewaschen.

Die Detektion des Sekundärantikörpers erfolgte durch Chemolumineszenz, indem die Lichtemission von Luminol genutzt wurde. Hierfür wurde die Membran zwei Minuten mit «Super Signal West Femto Maximum Sensitivity Substrate» (Thermo Scientific, Nr. 34096) benetzt und anschließend im Lumi Fusion SL Advance Multi-Imagingsystem (PEQLAB) entwickelt und digitalisiert. [s. Abb. 12]



◆ **Abbildung 12. Beispielbild eNOS Western Blot**
(M = Marker, SP = Stichproben, eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase)

3.6 Erfassung Ergebnisse der Western Blots

Die digitalen Bilder der eNOS Western Blots wurden anschließend mit der Analysensoftware BIO-1DAAdvanced (Vilber Lourmat GmbH) ausgewertet. Anhand optischer Dichte und Größe wurde für jede Bande ein einheitsloser Mengenwert ermittelt. Eine absolute Bestimmung der Proteinmenge war demzufolge nicht möglich. Aus diesem Grund war in den Versuchen neben dem zu analysierenden Protein in jeder Bande ein Referenzprotein als Ladekontrolle gemessen worden: β -Actin.

Die Ermittlung der Proteinmenge von eNOS erfolgte als relative Mengenbestimmung in Abhängigkeit des β -Actins der entsprechenden Spur.

3.7 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Zur Bestimmung der Menge von TGF- β 1 in der Gesamtproteinlösung wurde ein ELISA verwendet. Eingesetzt wurde das «Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF β 1)» (Cloud-Cone Corporation, Nr. SEA124Hu, Lot L140701005). Dieses enthielt neben einer 96-well Platte mit mehreren Versiegelungsfolien einen Standard samt Standard Diluent, die Detektionsreagenzien A und B, die Assay Diluents A und B, ein Tetramethylbenzidin-Färbesubstrat (TMB), einen Waschpuffer sowie eine Stopplösung. Zudem wurde PBS, Salzsäure, Natriumhydroxid und Hepes-Puffer benötigt.

Zu den Vorbereitungen des Versuchs gehörte das Ansetzen von Standardlösungen in verschiedenen Konzentrationen. Hierfür wurde der Standard des Kits mit 1ml Standard Diluent vermischt und 10 Minuten unter regelmäßigem Schwenken aufgelöst. Diese Standardlösung stellte den Standard 1 dar (St1 = 2000pg/ml). Analog der Standardverdünnung aus den Versuchen zur Konzentrationsbestimmung der Proteinmenge (s 3.4) wurden jeweils 500 μ l des vorherig angesetzten Standards mit 500 μ l Standard Diluent verdünnt bis sieben Standardlösungen unterschiedlicher Konzentration hergestellt waren. [s. Tab. 2]

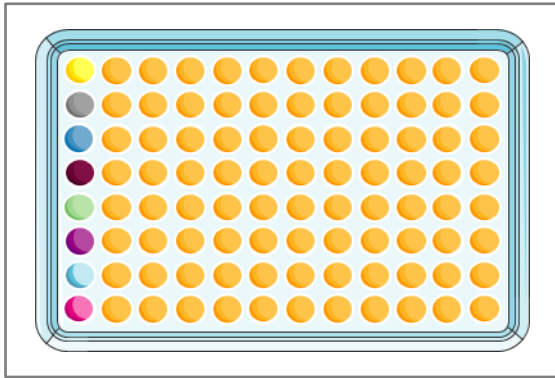
	Standard Diluent	Standardlösung	Standard-Konzentration
St1	-	1000 μ l	2000pg/ml
St2	500 μ l	500 μ l aus St1	1000pg/ml
St3	500 μ l	500 μ l aus St2	500pg/ml
St4	500 μ l	500 μ l aus St3	250pg/ml
St5	500 μ l	500 μ l aus St4	125pg/ml
St6	500 μ l	500 μ l aus St5	62,5pg/ml
St7	500 μ l	500 μ l aus St6	31,25pg/ml

◆ **Tabelle 2. Ansatzschema der Standardlösungen für ELISA**

(St = Standard)

Eine Aktivierung der Proben erfolgte durch das Zusetzen von 22 μ l 1N Salzsäure zu 110 μ l des Probenmaterials. Nach 10 Minuten Inkubationszeit bei Raumtemperatur wurde der pH-Wert der Proben durch Hinzufügen von 22 μ l 1,2N Natriumhydroxid/0,5M Hepes wieder neutralisiert.

In die mit Antikörper gecoatete 96-well Platte wurden 100 μ l Standard- bzw. Probenlösung pro Well pipettiert. Eine Einzelbestimmung des Leerwertes erfolgte durch Beschicken eines Wells mit 100 μ l Standard Diluent. Die restlichen Lösungen wurden jeweils als Doppelmessungen auf die Platte aufgetragen. [s. Abb. 13]



◆ **Abbildung 13. Schema Mikrotiterplatte mit Standards**

Nach Abdichten mit einer Versiegelungsfolie wurde die Platte 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Währenddessen wurden die beiden Detektionslösungen vorbereitet. 120µl des Detektionsreagenzes (A/B) wurden mit 11880µl der jeweils zugehörigen Assay Diluent (A/B) 1:100 verdünnt. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde die verbliebene Flüssigkeit aus der Platte entfernt und in jedes Well 100µl Detektionslösung A pipettiert. Die Platte wurde erneut verschlossen und für eine weitere Stunde bei 37°C inkubiert. Im Anschluss wurde die restliche Flüssigkeit erneut entfernt und jedes Well dreimal mit 350µl Waschlösung gewaschen. Der 30-fach konzentrierte Waschpuffer war zu diesem Zweck im Vorfeld mit 580ml destilliertem Wasser auf eine einfache Konzentration verdünnt worden. Anschließend wurden in jedes Well 100µl Detektionsreagenz B pipettiert, die Platte erneut mit Folie abgedichtete und für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Nach diesem Schritt wurden die Wells fünf Mal mit der Waschlösung wie oben beschrieben gewaschen. Zuletzt wurden in jedes Well 90µl TMB-Reagenz pipettiert, was eine photometrisch messbare Reaktion auslöste. Diese Reaktion lief vor Licht geschützt über 15 bis maximal 25 Minuten bei 37°C im Thermomix Comfort ab. Es führte zu einer Blaufärbung in unterschiedlichen Tönen, was auch die unterschiedlichen Intensitäten der Reaktion widerspiegelte. Die Reaktion wurde durch das Zugeben von 50µl Stopplösung pro Well beendet, was nach leichtem Schwenken der Platte durch einen Farbwechsel der Wells von blau zu gelb nachzuvollziehen war. Eine photometrische Messung im Photometer bei 450nm erfolgte unverzüglich.

Die gemessene Extinktion des Standards 0 wurde von allen Ergebnissen subtrahiert und der MW der Doppelbestimmungen ermittelt. Aus den Messungen der verschiedenen Standardlösungen wurde eine Standardkurve erstellt und eine Funktion abgeleitet, mittels derer die Konzentration von TGF-β1 in den einzelnen Proben berechnet wurde.

Lag die gemessene Extinktion einer Probe über der Extinktion des Standards mit der größten Proteinkonzentration, so konnte eine genaue Berechnung der tatsächlichen Proteinmenge mit der erstellten Funktion nicht gewährleistet werden. In solchen Fällen wurden die Proben mit PBS in

gewünschtem Maße verdünnt und der Versuch wiederholt. Die Verdünnung wurde am Ende der Messung bei der rechnerischen Auswertung berücksichtigt.

eNOS war aufgrund der niedrigen Konzentration in den Gewebeproben sowie der limitierten Sensitivität des ELISA mit dieser Methode nicht erfassbar. Daher wurde dieses Protein mit einer alternativen Methode gemessen.

3.8 Statistische Auswertung und Datenverarbeitung

Die Abbildungen 2 – 11 und 13 basieren auf frei verfügbaren Bildvorlagen von «SMART Servier Medical Art» und wurden mithilfe von «Microsoft Office Professional Plus 2016 PowerPoint» bearbeitet.[61,69] Schließlich unterzogen wir unsere Ergebnisse einer statistischen Evaluation. Hierfür verwendeten wir «GraphPad Prism 8.1.2».[42]

Es handelte sich bei unserer Untersuchung um eine prospektive Beobachtungsstudie.

Bei statistischen Vergleichen zwischen unseren Patientengruppen, respektive zwischen den einzelnen Klappenmorphologien unter Berücksichtigung des Dilatationsstatus, betrachteten wir die Daten als unabhängige Stichproben (SP). Bei vergleichenden Analysen der einzelnen Probenlokalitäten wurden die SP als abhängig definiert.

Jeder Satz von kontinuierlichen Daten wurde mittels Shapiro-Wilk normality test auf Normalverteilung geprüft. Lag eine Gaußsche Normalverteilung vor, wurden bei unabhängigen SP der t-Test für unabhängige SP ($n = 2$ SP) oder die Ordinary one-way ANOVA ($n \geq 3$ SP) und bei abhängigen SP der t-Test für gepaarte SP ($n = 2$ SP) oder die RM one-way ANOVA ($n \geq 3$ SP) durchgeführt. Lag keine Normalverteilung vor, wurden bei unabhängigen SP der Mann-Whitney-U-Test ($n = 2$ SP) oder der Kruskal-Wallis-Test ($n \geq 3$ SP) und bei abhängigen SP der Wilcoxon-Test ($n = 2$ SP) oder der Friedmann-Test ($n \geq 3$ SP) verwendet.

Kontingenzanalysen über das Auftreten von kategorischen Daten wurden mittels Exaktem Fisher-Test und Chi-Quadrat-Test für Trends durchgeführt.

Die Daten wurden als $MW \pm$ Standardabweichung (SD) angegeben, falls nicht anders angegeben. Statistische Analysen wurden bei einem p-Wert $<0,05$ als signifikant erachtet. Ein Trend wurde definiert bei einem p-Wert $<0,1$.

4. Ergebnisse

Insgesamt untersuchten wir Aortengewebe von 36 Patienten. Bei n = 20 Patienten (55,6%) wurde eine Operation aufgrund einer isolierten AI durchgeführt, n = 10 Patienten (27,8%) aufgrund einer isolierten AS und bei n = 6 Patienten (16,7%) aufgrund eines KAVs. Insgesamt lag bei n = 18 Patienten (50,0%) simultan eine dilatierte Aorta ascendens vor, sodass diese Patienten neben einer Aortenklappenrekonstruktion oder einem Aortenklappenersatz zusätzlich einen Ersatz der Aorta ascendens erhielten. Es wurden jeweils n = 12 Patienten (33,3%) mit TAV, BAV und UAV untersucht.

4.1 Präoperative Parameter

4.1.1 Basisdaten gesamtes Studienkollektiv

Im Durchschnitt betrug das Patientenalter $49,3 \pm 19,0$ Jahre. Der Altersumfang reichte von 9 bis 85 Jahren. Der Großteil des Studienkollektivs war männlich (86,1%). Bei den meisten Patienten (77,8%) waren neben den Erkrankungen der Aortenklappe weitere kardiale oder kardiovaskuläre Vorerkrankungen bekannt. Die Mehrheit litt an arterieller Hypertonie (55,6%), gefolgt von Mitralklappeninsuffizienz (30,6%) und Hyperlipoproteinämie (25,0%). (Ex-)Nikotinabusus als kardiovaskulärer Risikofaktor war bei 30,6% der Patienten bekannt. 86,1% der Patienten nahmen präoperativ Medikamente ein. Am häufigsten wurden hierbei β -Blocker (47,2%), ACE-Hemmer (30,6%) und/oder Diuretika (30,6%) eingenommen. [s. Tab. 3]

Alter Jahre	49,3 \pm 19,0
Geschlecht n (%)	
Männlich	31 (86,1)
Weiblich	5 (13,9)
OP-Indikation n (%)	
Isolierte AS	10 (27,8)
Isolierte AI	20 (55,6)
KAV	6 (16,7)
Vorerkrankungen n (%)	
Arterielle Hypertonie	20 (55,6)
Mitralklappeninsuffizienz	11 (30,6)
(Ex-)Nikotinabusus	11 (30,6)
Hyperlipoproteinämie	9 (25,0)
Vorhofflimmern	6 (16,7)

Koronare Herzkrankheit	5 (13,9)
Diabetes mellitus	4 (11,1)
Medikamente n (%)	
Beta-Blocker	17 (47,2)
ACE-Hemmer	11 (30,6)
Diuretika	11 (30,6)
Statine	10 (27,8)
Thrombozytenaggregationshemmer	9 (25,0)
AT1-Antagonisten	7 (19,4)
Antikoagulantien	4 (11,1)
Kalziumkanalblocker	3 (8,3)

◆ **Tabelle 3. Basisdaten des gesamten Studienkollektivs**

Die Ergebnisse werden als MW \pm SD bzw. als absolute und relative Menge angegeben. (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n = Anzahl, AS = Aortenklappenstenose, AI = Aortenklappeninsuffizienz, KAV = Kombiniertes Aortenklappenventium, ACE = Angiotensin-Converting-Enzym, AT1 = Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp I)

4.1.2 Präoperative TEE-Messungen gesamtes Studienkollektiv

Bei allen Patienten wurde präoperativ eine TEE durchgeführt. Gemessen wurde auf vier unterschiedlichen Höhen (AV, SV, ST und TA). Die präoperative TEE ergab im Schnitt einen maximalen Diameter von $42,6 \pm 12,4$ mm. Die Messpunkte mit den größten Durchmessern waren der SV ($38,9 \pm 11,1$) und die TA ($39,5 \pm 11,9$). [s. Tab. 4]

Diameter mm	
Maximaler Diameter	$42,6 \pm 12,4$
AV	$27,0 \pm 4,1$
SV	$38,9 \pm 11,1$
ST	$33,8 \pm 11,8$
TA	$39,5 \pm 11,9$

◆ **Tabelle 4. Präoperative TEE-Messungen des gesamten Studienkollektivs**

Die Messungen wurden auf Höhe der Aortenklappe, des Sinus Valsalva, des sinutubulären Übergangs und in der tubulären Aorta durchgeführt. Die Ergebnisse werden als MW \pm SD angegeben. (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, AV = Aortoventrikulärer Übergang, SV = Sinus Valsalva, ST = Sinutubulärer Übergang, TA = Tubuläre Aorta)

4.1.3 Basisdaten dilatiert versus nicht-dilatiert

Die Patientengruppen unterschieden sich bezüglich Alter, Geschlecht, Vorerkrankungen und Medikamenteneinnahme nicht signifikant voneinander. Bei den OP-Indikationen zeigte sich ein

signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Von den Patienten mit dilatiertem Aorta ascendens litten n = 1 Patient an einer isolierten AS (2,8%) und n = 14 Patienten an einer isolierten AI (38,9%), verglichen mit n = 9 Patienten mit AS (25,0%) und n = 6 Patienten mit AI (16,7%) in der nicht-dilatierten Gruppe (p = 0,0424). Die Häufigkeit der KAV war in beiden Gruppen vergleichbar. [s. Tab. 5]

	Dilatiert	Nicht-dilatiert	p-Wert
Alter Jahre	51,9 ±10,7	46,7 ±24,8	0,4125
Geschlecht n (%)			
Männlich	15 (41,7)	16 (4,4)	>0,9999
Weiblich	3 (8,3)	2 (5,6)	
OP-Indikation n (%)			
Isolierte AS	1 (2,8)	9 (25,0)	0,0425
Isolierte AI	14 (38,9)	6 (16,7)	
KAV	3 (8,3)	3 (8,3)	
Vorerkrankungen n (%)			
Arterielle Hypertonie	11 (30,6)	9 (25,0)	0,5566
Mitralklappeninsuffizienz	4 (11,1)	7 (19,4)	
(Ex-)Nikotinabusus	6 (16,7)	5 (13,9)	
Hyperlipoproteinämie	5 (13,9)	4 (11,1)	
Vorhofflimmern	3 (8,3)	3 (8,3)	
Koronare Herzkrankheit	1 (2,8)	4 (11,1)	
Diabetes mellitus	2 (5,6)	2 (5,6)	
Medikamente n (%)			
Beta-Blocker	10 (27,8)	7 (19,4)	0,5992
ACE-Hemmer	5 (13,9)	6 (16,7)	
Kalziumkanalblocker	2 (5,6)	3 (8,3)	
AT1-Antagonisten	4 (11,1)	3 (8,3)	
Diuretika	6 (16,7)	5 (13,9)	
Thrombozytenaggregationshemmer	5 (13,9)	4 (11,1)	
Antikoagulantien	2 (5,6)	2 (5,6)	
Statine	4 (11,1)	6 (16,7)	

◆ **Tabelle 5. Basisdaten des Studienkollektivs, Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert**

Die Ergebnisse werden als MW ±SD bzw. als absolute und relative Menge angegeben. (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n = Anzahl, AS = Aortenklappenstenose, AI = Aortenklappeninsuffizienz, KAV = Kombiniertes Aortenklappenventrium, ACE = Angiotensin-Converting-Enzym, AT1 = Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp I)

4.1.4 Präoperative TEE-Messungen dilatiert versus nicht-dilatiert

In der Gruppe der Patienten mit Aneurysma der Aorta ascendens waren die Durchmesser auf allen gemessenen Höhen erwartungsgemäß signifikant größer. Auf Höhe des AV betrug der durchschnittliche Durchmesser bei Vorliegen eines Aneurysmas $29,1 \pm 9,1$ mm verglichen mit $24,9 \pm 3,6$ mm bei Patienten ohne erweiterte Aorta. Im SV lag der durchschnittliche Durchmesser bei Aneurysma bei $45,9 \pm 10,7$ mm im Vergleich zu $31,8 \pm 5,8$ mm. Auf Höhe des ST war die Aorta bei Dilatation im Schnitt $42,4 \pm 10,2$ mm weit verglichen mit $25,1 \pm 4,9$ mm. In der TA lag der durchschnittliche Durchmesser der Aorta bei Aneurysma bei $49,0 \pm 7,5$ mm, ohne Aneurysma bei $30,1 \pm 6,5$ mm. [s. Tab. 6]

	Dilatiert	Nicht-dilatiert	p-Wert
Diameter mm			
Maximaler Diameter	$52,6 \pm 9,1$	$36,3 \pm 5,3$	<0,0001
AV	$29,1 \pm 3,4$	$24,9 \pm 3,6$	0,0011
SV	$45,9 \pm 10,7$	$31,8 \pm 5,8$	<0,0001
ST	$42,4 \pm 10,2$	$25,1 \pm 4,9$	<0,0001
TA	$49,0 \pm 7,5$	$30,1 \pm 6,5$	<0,0001
Dilatationstypen n (%)			
D1	13 (72,2)	-	-
D2	5 (27,8)	-	-

◆ **Tabelle 6. Präoperative TEE-Messungen des Studienkollektivs, Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert**

Die Messungen wurden auf Höhe der Aortenklappe, des Sinus Valsalva, des sinutubulären Übergangs und in der tubulären Aorta durchgeführt. Die Ergebnisse werden als MW \pm SD angegeben. (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, AV = Aortoventrikulärer Übergang, SV = Sinus Valsalva, ST = Sinutubulärer Übergang, TA = Tubuläre Aorta)

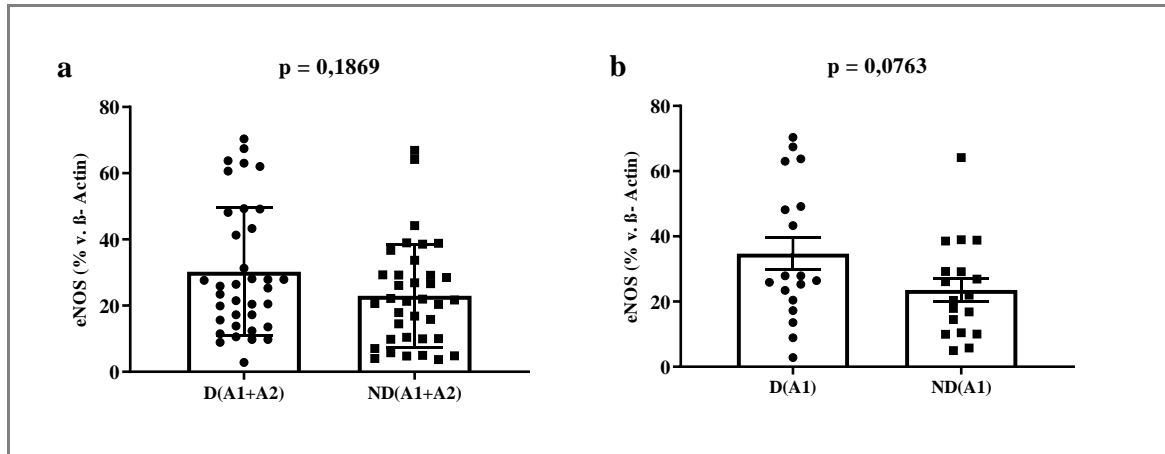
4.2 eNOS

Die Expression von eNOS wurde im Aortengewebe mittels Western Blot Analyse bestimmt und wird als relative Menge in prozentualer Abhängigkeit von β -Actin angegeben.

4.2.1 Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert

Der Proteingehalt von eNOS der Lokalisationen A1 und A2 zusammengefasst unterschied sich nicht signifikant zwischen der dilatierten und der nicht-dilatierten Gruppe (A1+A2 D $30,2 \pm 19,4\%$ vs. ND $23,0 \pm 15,5\%$; $p = 0,1869$). Bei direktem Vergleich der einzelnen Lokalisationen A1 und A2

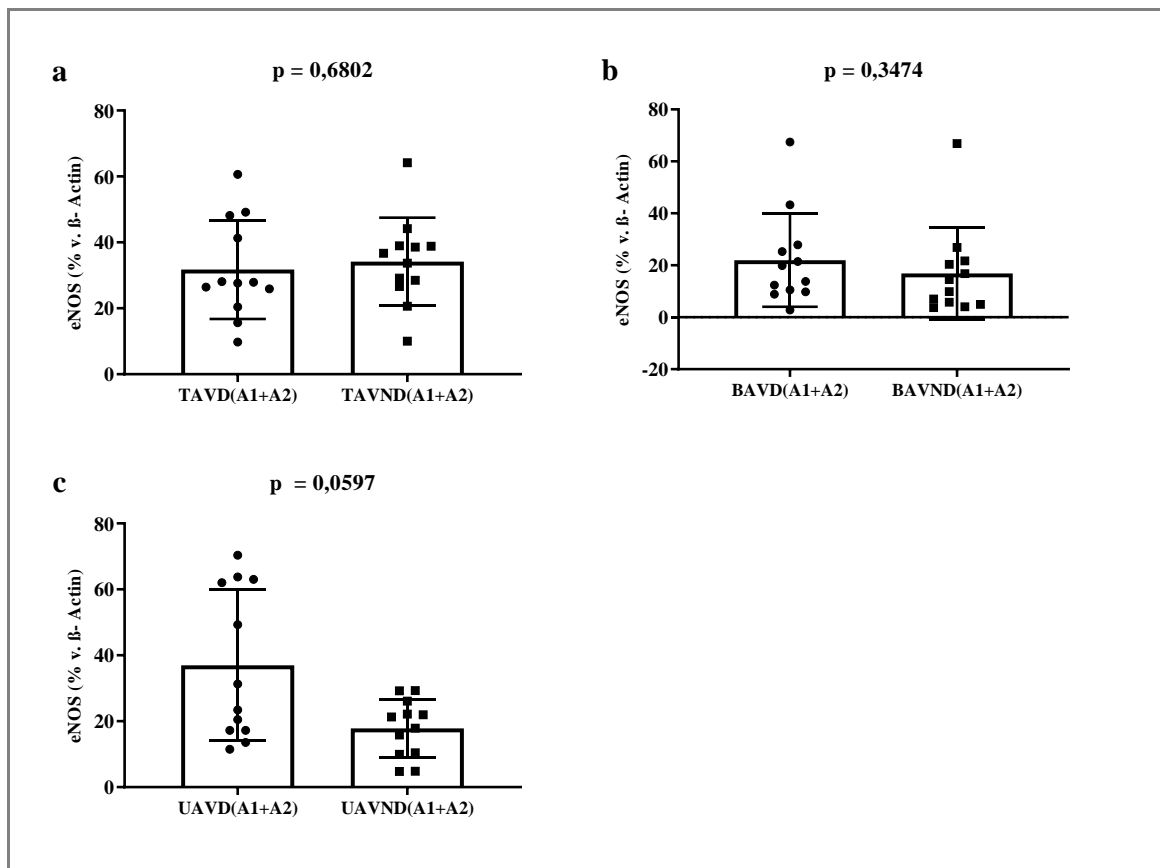
zeigte sich bei A1 ein Trend zu höherer Proteinexpression in der Gruppe der Patienten mit Aneurysma (A1 D $34,7 \pm 21,1\%$ vs. ND $23,6 \pm 15,0\%$; $p = 0,0763$), in der Lokalisation A2 zeigte sich kein signifikanter Unterschied. [s. Grafik 1] [s. Anhang Tab. 7, Grafik 21]



◆ **Grafik 1. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert; als gepoolte Lokalisationen (a) sowie für Lokalität A1 separat (b). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

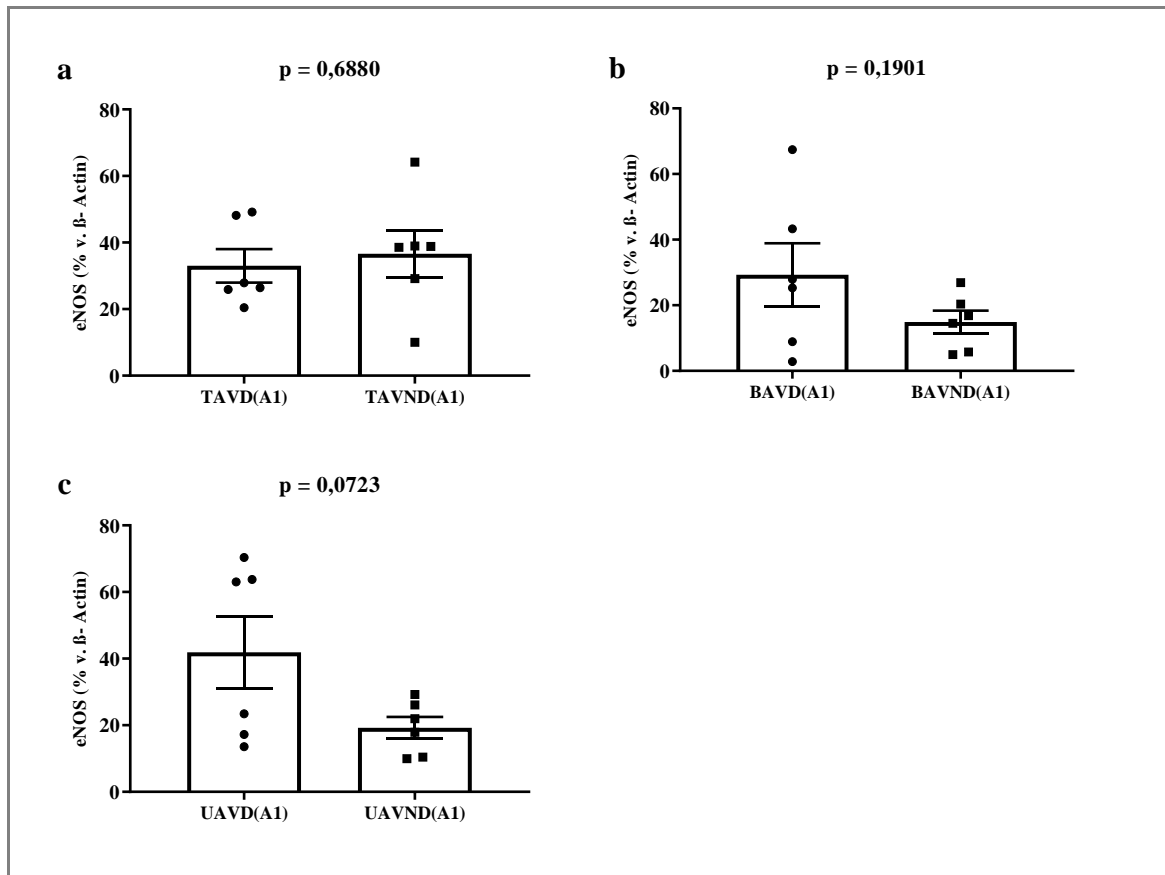
Eine Subgruppenanalyse erfolgte anhand einer Unterteilung nach den einzelnen Klappenmorphologien. Die Berechnungen wurden jeweils mit gepoolten Proben (A1+A2) und für jede Lokalität einzeln durchgeführt. In den gepoolten Analysen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den dilatierten und der nicht-dilatierten Gruppen. Lediglich in der Patientengruppe mit UAV zeigte sich ein Trend zu höherer Proteinexpression in der Gruppe mit dilatiertes Aorta ascendens (UAV A1+A2 D $36,9 \pm 22,9\%$ vs. ND $17,8 \pm 8,7\%$; $p = 0,0597$). [s. Grafik 2] [s. Anhang Tab. 7]



◆ **Grafik 2. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert. Subgruppenanalyse entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspide (a), bicuspide (b) und unicuspide (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

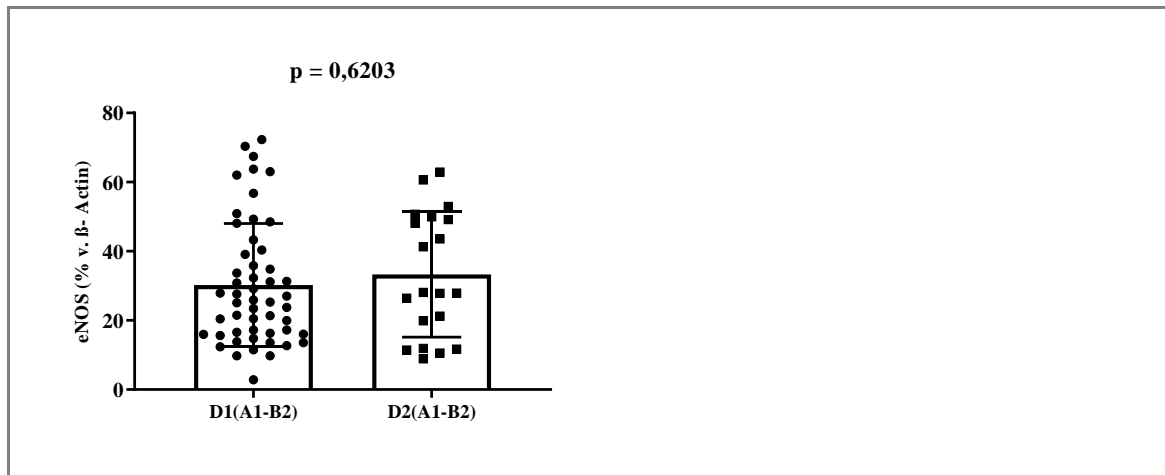
Im Weiteren analysierten wir die einzelnen Lokalitäten A1 und A2. Hier zeigte sich bei BAV in der A1 Lokalität eine höhere Proteinexpression in den dilatierten Proben, der Unterschied erreichte das Signifikanzlevel nicht (BAV A1 D $29,3 \pm 23,6\%$ vs. ND $14,9 \pm 8,5\%$; $p = 0,1901$). Bei UAV zeigte sich an beiden Lokalitäten ein gleiches Verteilungsmuster, die Analyse zeigte für A1 einen Trend (UAV A1 D $41,9 \pm 26,4\%$ vs. ND $19,3 \pm 8,0\%$; $p = 0,0723$) und für A2 ein nicht signifikantes Ergebnis (UAV A2 D $32,0 \pm 19,9\%$ vs. ND $16,4 \pm 9,9\%$; $p = 0,1159$). Die weiteren Subgruppenanalysen ergaben keine signifikanten Unterschiede. [s. Grafik 3] [s. Anhang Tab. 7, Grafik 22]



◆ **Grafik 3. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert. Subgruppenanalyse entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien der Lokalität A1: tricuspide (a), bicuspide (b) und unicuspide (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

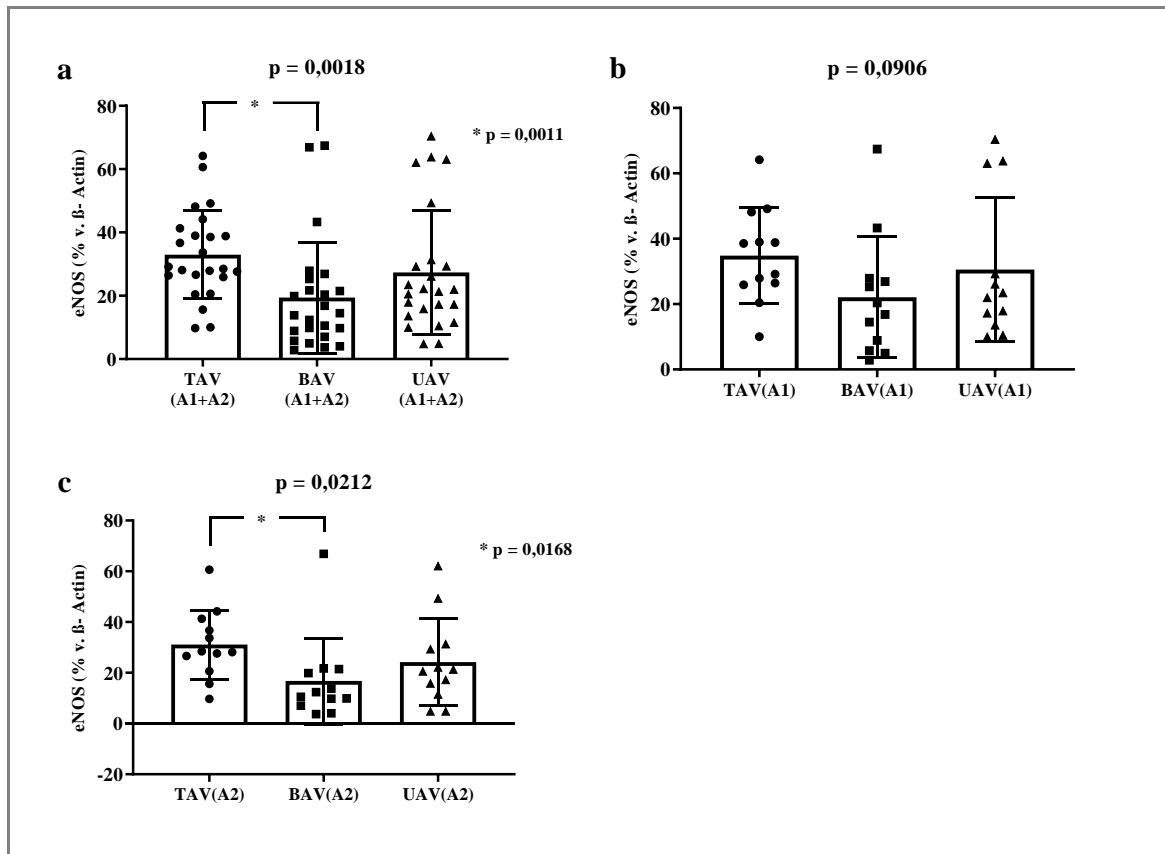
Bei einem Vergleich der einzelnen Dilatationstypen D1 und D2 zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Proteinexpression von eNOS zwischen den Gruppen (D1 $30,3 \pm 17,8\%$ vs. D2 $33,3 \pm 18,1\%$; $p = 0,6203$). Auch die Subgruppenanalysen der einzelnen Lokalitäten unterschieden sich statistisch nicht signifikant voneinander. [s. Grafik 4] [s. Anhang Tab. 8, Grafik 23]



◆ **Grafik 4. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**
 Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich Dilatationstypen D1 versus D2. (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase)

4.2.2 Vergleich Klappenmorphologien

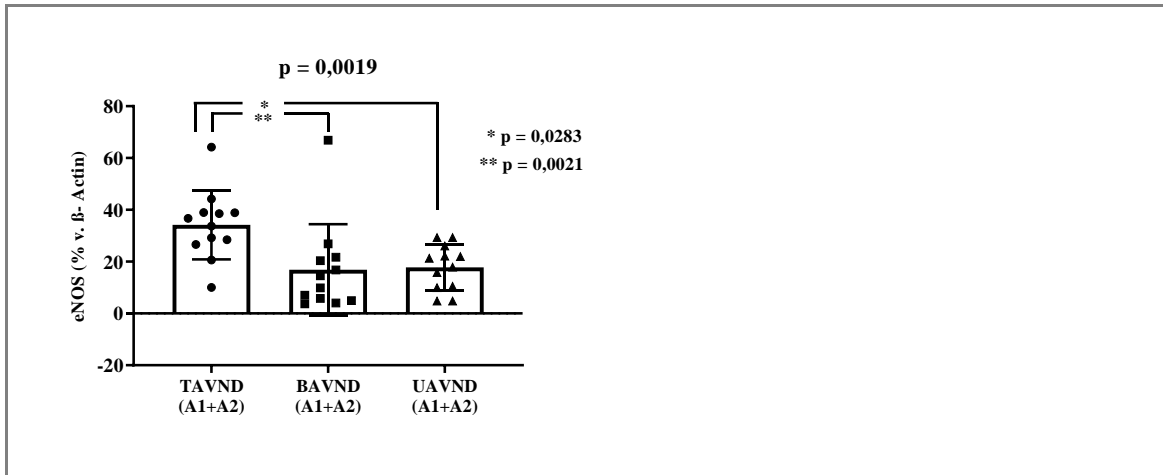
Des Weiteren erfolgte eine Analyse der einzelnen Klappentypen untereinander. Hier zeigte sich die Proteinexpression von eNOS in der Gruppe der BAV signifikant erniedrigt im Vergleich zu TAV. Dies konnte in der Analyse der gepoolten Gruppe (A1+A2) beobachtet werden (TAV $33,0 \pm 13,9\%$ vs. BAV $19,4 \pm 17,6\%$; $p = 0,0011$), mit einem Trend bei A1 (A1 TAV $34,8 \pm 14,6\%$ vs. BAV $22,1 \pm 18,5\%$ vs. UAV $30,6 \pm 22,0\%$; $p = 0,0906$) und einem signifikanten Ergebnis in der Lokalität A2 (A2 TAV $31,1 \pm 13,6\%$ vs. BAV $16,8 \pm 17,0\%$; $p = 0,0168$). [s. Grafik 5] [s. Anhang Tab. 9]



◆ **Grafik 5. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich der Klappenmorphologien untereinander; als gepoolte Lokalisationen (a) sowie für Lokalität A1 (b) und A2 separat (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspid Aortenklappe, UAV = unicuspid Aortenklappe)

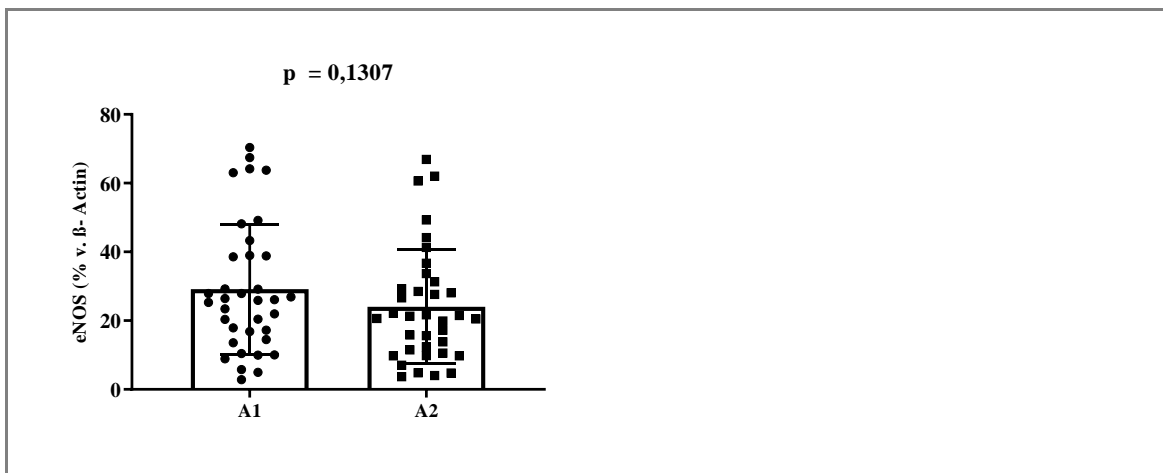
In einer weiteren Subgruppenanalyse wurden die Klappenmorphologien der dilatierten und nicht-dilatierten Patienten separat untersucht. Hier zeigte sich in der Gruppe der Patienten mit dilatierte Aorta kein signifikanter Unterschied. Dagegen konnte in der Gruppe der Patienten mit nicht-dilatierte Aorta eine signifikant niedrigere Proteinexpression bei BAV und UAV im Vergleich zu TAV beobachtet werden (TAV $34,2 \pm 13,3\%$ vs. BAV $16,9 \pm 17,6\%$ vs. UAV $17,8 \pm 8,7\%$; $p = 0,0019$). [s. Grafik 6] [s. Anhang Tab. 9, Grafiken 24-26]



◆ **Grafik 6. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**
 Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich der Klappenmorphologien untereinander. Subgruppenanalyse der Probanden mit nicht-dilatierter Aorta. (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, ND = nicht-dilatiert)

4.2.3 Vergleich lokoregionäre Unterschiede

Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied von eNOS zwischen den Lokalitäten A1 und A2. Auch in der Subgruppenanalyse entsprechend den Klappenmorphologien wurde kein signifikantes Ergebnis beobachtet. [s. Grafik 7] [s. Anhang Tab 10, Grafik 27]



◆ **Grafik 7. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**
 Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich Lokalität A1 versus A2 als Gesamtkollektiv. (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase)

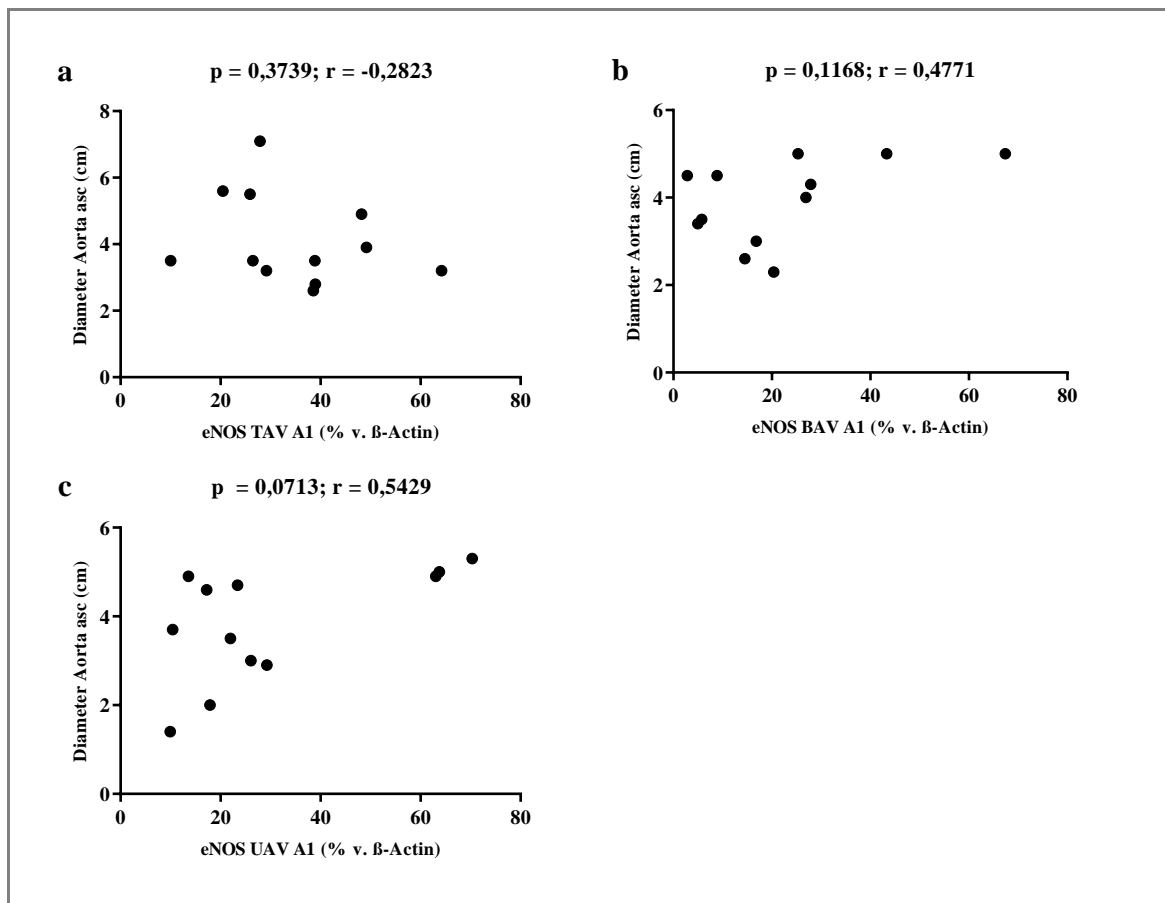
In einem weiteren Schritt erfolgte eine Subgruppenanalyse entsprechend dem Dilatationsstatus der Aorta ascendens und der Klappenmorphologie der Aortenklappe. Hier zeigte sich lediglich in der Gruppe der bicuspiden, dilatierten Probanden die Lokalität A2 erniedrigt, dieses Ergebnis war

statistisch jedoch nicht signifikant (BAVD A1 $29,3 \pm 23,6\%$ vs. A2 $14,7 \pm 4,9\%$ vs. B1 $26,9 \pm 9,9\%$ vs. B2 $32,8 \pm 18,2\%$; $p = 0,2324$). [s. Anhang Tab. 10, Grafik 28]

Auch bei den nicht-dilatierten Proben zeigten sich keine signifikanten lokoregionären Unterschiede. [s. Anhang Tab. 10, Grafik 29]

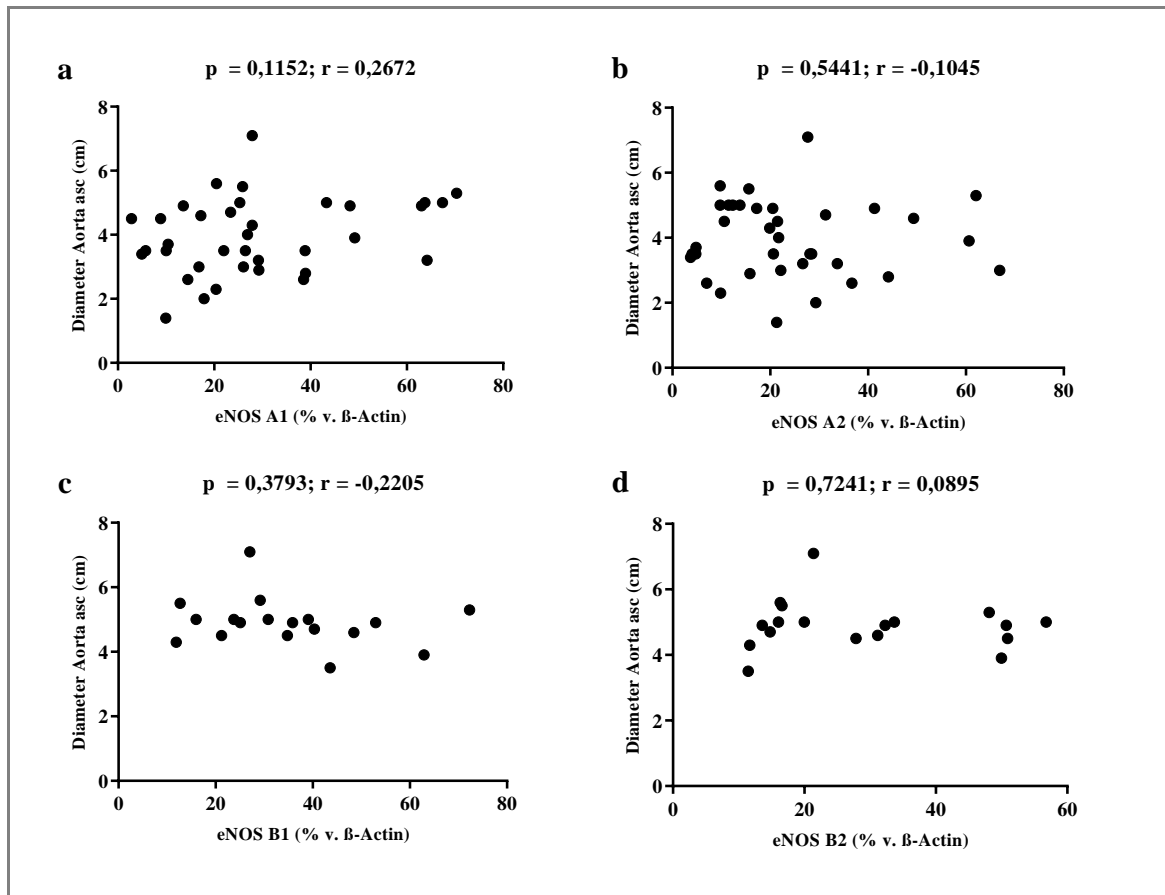
4.2.4 Korrelationsanalysen

In den Korrelationsanalyse zeigten sich keine signifikanten Ergebnisse. Lediglich in der Gruppe der UAV an der Lokalität A1 zeigte sich ein Trend zu höherer Proteinexpression von eNOS mit steigendem Diameter der Aorta ascendens ($p = 0,0713$, $r = 0,5429$). Die restlichen Analysen zeigten keine signifikanten Ergebnisse. [s. Grafiken 8-9] [s. Anhang Grafiken 30-32]



◆ Grafik 8. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Korrelationsanalyse von Lokalität A1 und Diameter Aorta ascendens. Subgruppenanalyse entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspide (a), bicuspide (b) und unicuspide (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, asc = ascendens, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe)

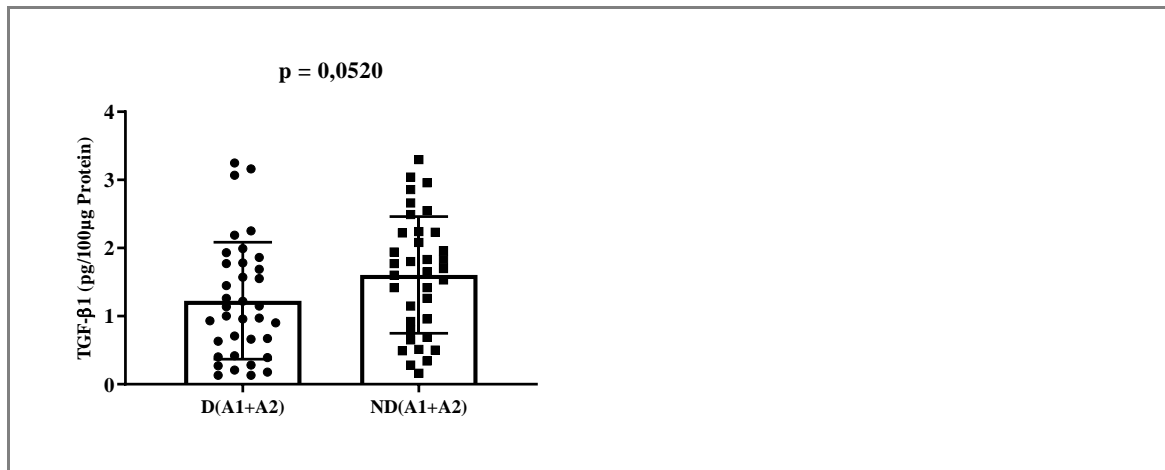


◆ **Grafik 9. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**
 Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Korrelationsanalyse der einzelnen Lokalisationen und Diameter Aorta ascendens: A1 (a), A2 (b), B1 (c) und B2 (d). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, asc = ascendens)

4.3 TGF- β 1

4.3.1 Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert

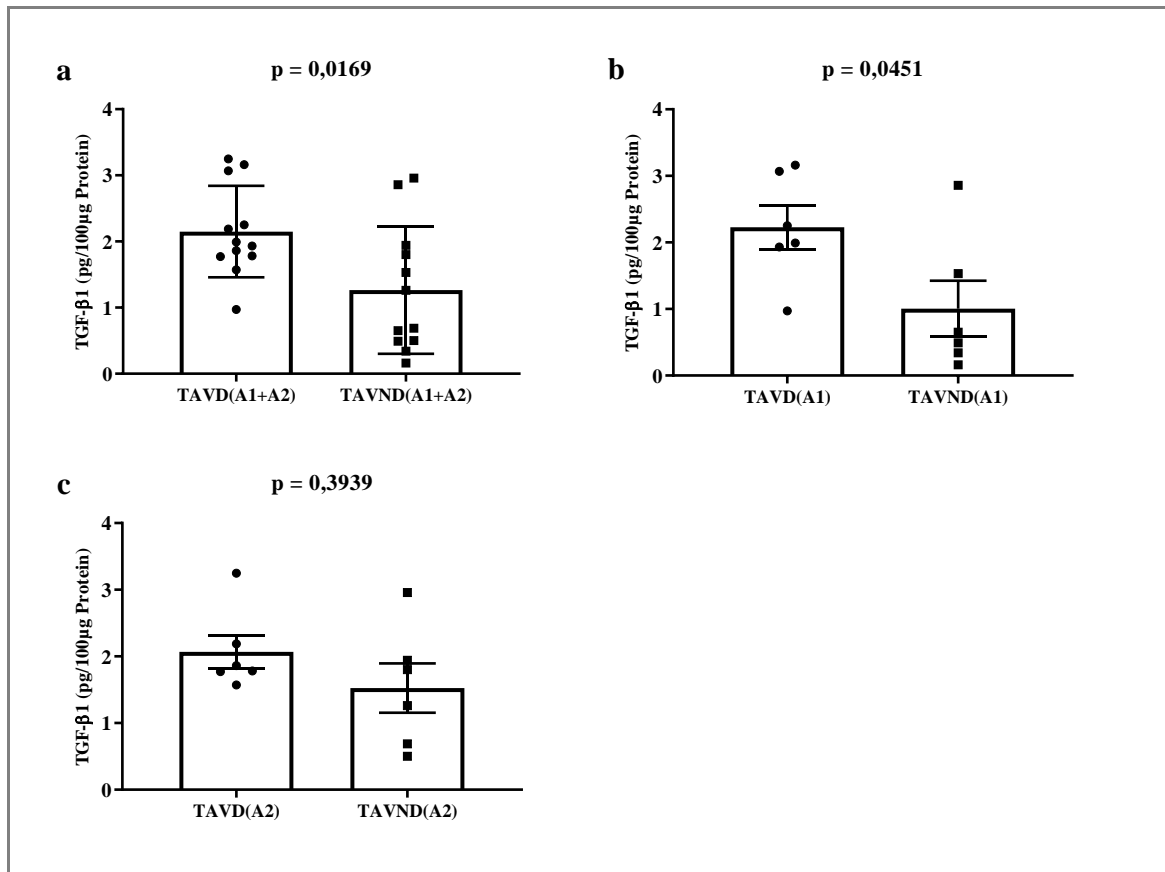
Der Proteingehalt von TGF- β 1 zeigte einen Trend zu höheren Werten in der Gruppe der nicht-dilatierten Patienten (D $1,226 \pm 0,859$ pg vs. ND $1,605 \pm 0,858$ pg; $p = 0,0520$). [s. Grafik 10] [s. Anhang Tab. 11, Grafik 33]



◆ **Grafik 10. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF-β1 mittels ELISA**

Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

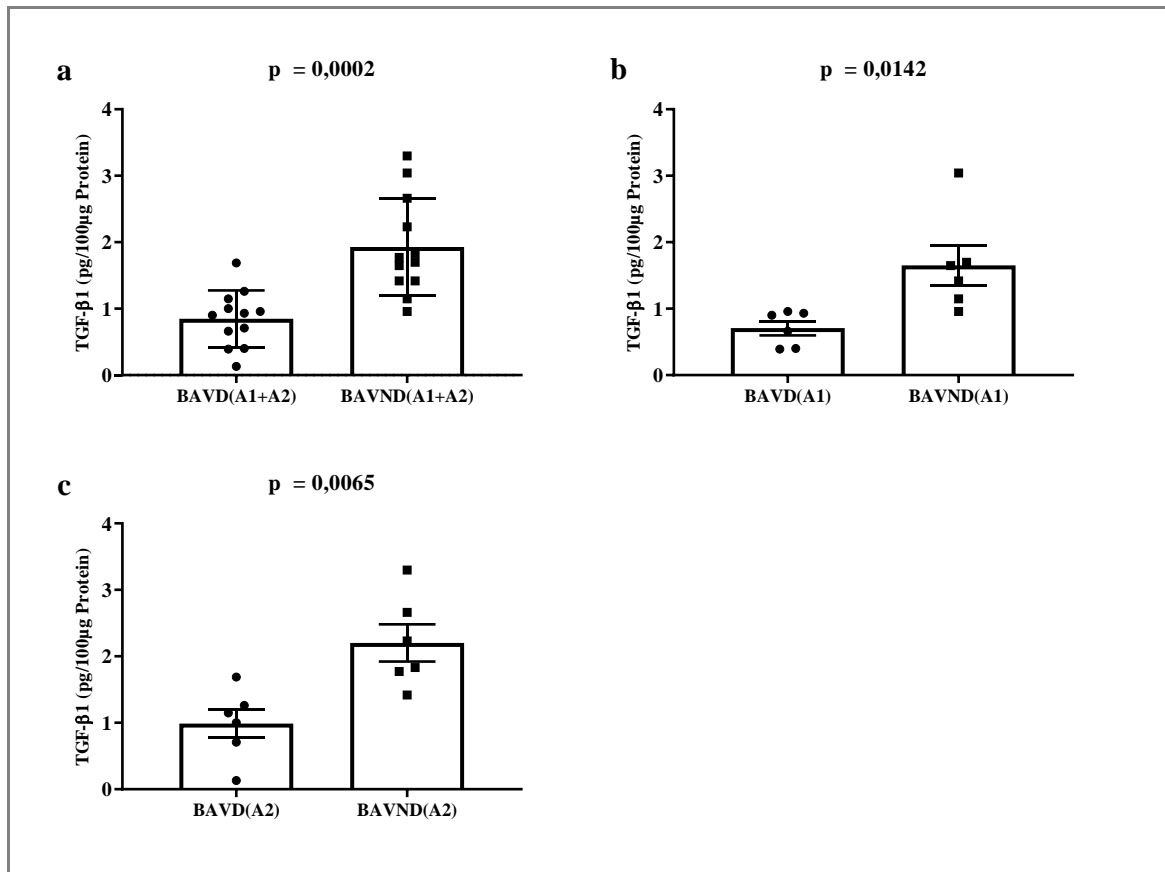
In der anschließenden Subgruppenanalyse nach Klappenmorphologien konnte diese Beobachtung lediglich bei BAV und UAV bestätigt werden. Bei TAV zeigte sich ein gegenläufiges Bild, hier war die Proteinexpression von TGF-β1 in der dilatierten Gruppe erhöht. Dies zeigte sich vor allem in der Lokalisation A1 signifikant (A1 TAV D $2,228 \pm 0,813\text{pg}$ vs. ND $1,005 \pm 1,026\text{pg}$; $p = 0,0451$) und konnte als diskreter, nicht-signifikanter Unterschied bei A2 beobachtet werden (A2 TAV D $2,070 \pm 0,612\text{pg}$ vs. ND $1,525 \pm 0,908\text{pg}$; $p = 0,3939$). [s. Grafik 11] [s. Anhang Tab. 11]



◆ **Grafik 11. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF- β 1 mittels ELISA**

Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert. Subgruppenanalyse der tricuspiden Klappenmorphologie nach einzelnen Lokaliteten: gepoolte Analyse (a), A1 (b) und A2 (c). (TGF- β 1 = Transforming Growth Factor Beta 1, TAV = tricuspide Aortenklappe, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

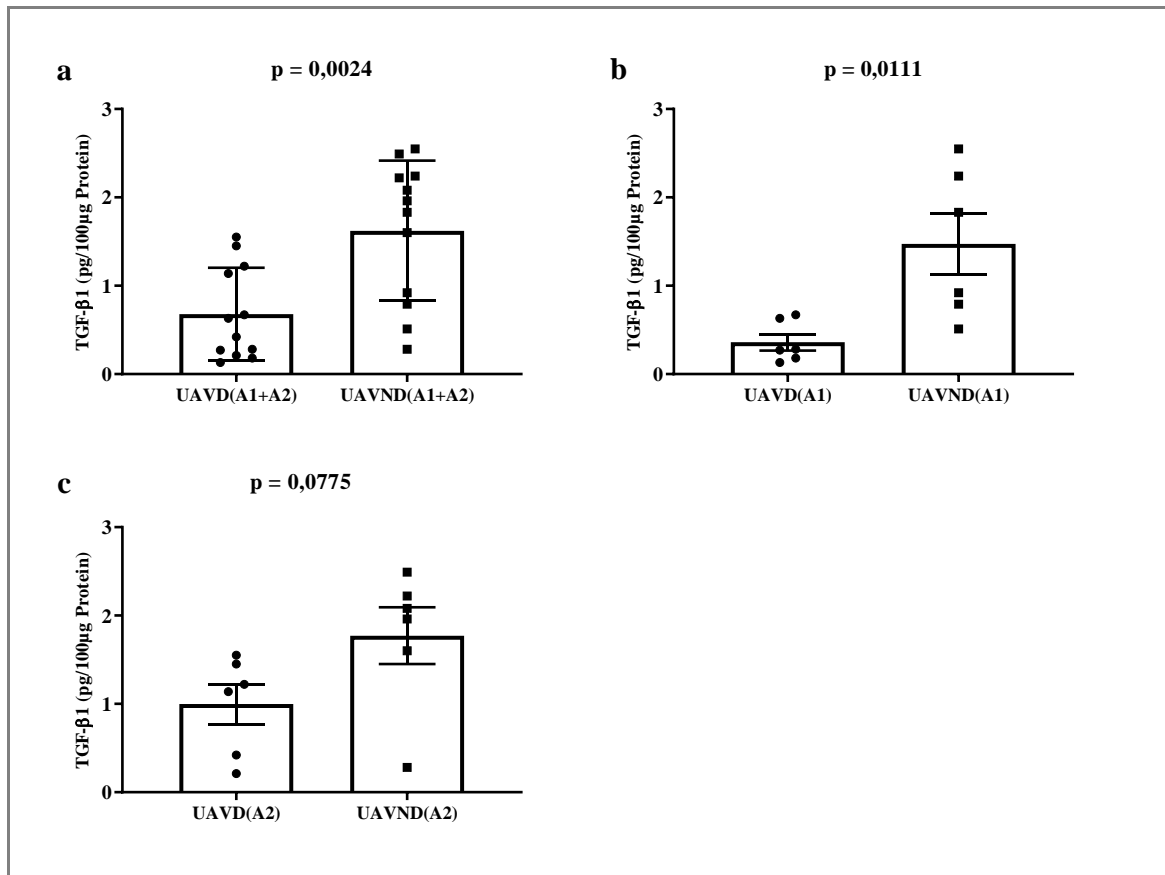
Dahingegen wurden bei BAV und UAV signifikant erhohnte Proteinmengen bei Patienten mit nicht-dilatierter Aorta nachgewiesen. Bei Patienten mit BAV war diese Beobachtung sowohl bei der Lokalität A1 (A1 BAV D $0,707 \pm 0,264$ pg vs. ND $1,653 \pm 0,737$ pg; $p = 0,0142$) als auch bei der Lokalität A2 (A2 BAV D $0,990 \pm 0,530$ pg vs. ND $2,202 \pm 0,686$ pg; $p = 0,0065$) signifikant. [s. Grafik 12] [s. Anhang Tab. 11]



◆ **Grafik 12. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF- β 1 mittels ELISA**

Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert. Subgruppenanalyse der bicuspiden Klappenmorphologie nach einzelnen Lokaliteten: gepoolte Analyse (a), A1 (b) und A2 (c). (TGF- β 1 = Transforming Growth Factor Beta 1, BAV = bicuspide Aortenklappe, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

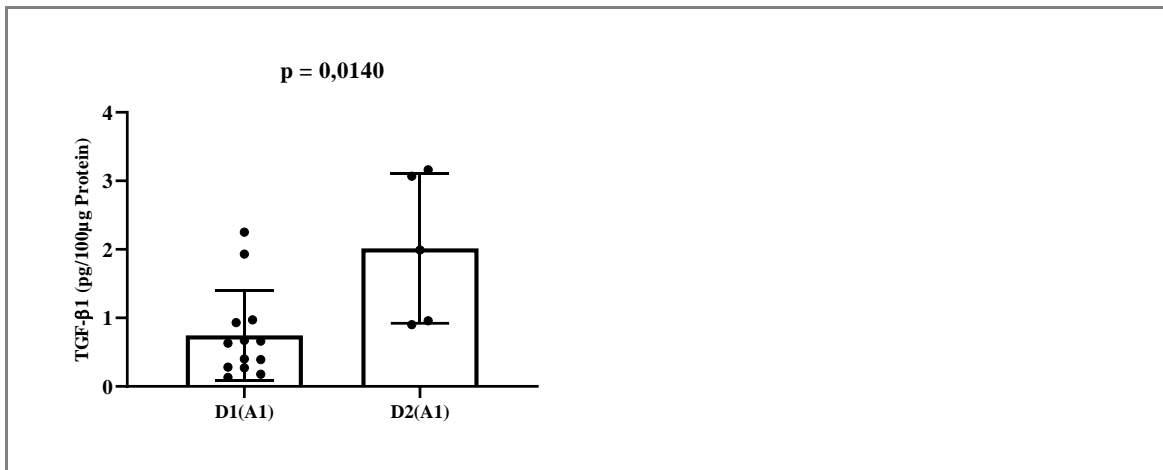
Bei UAV konnte ebenfalls ein erhohetes TGF- β 1 bei nicht-dilatierter Aorta beobachtet werden. Diese Beobachtung war bei A1 Lokalität signifikant (A1 UAV D $0,360 \pm 0,232$ pg vs. ND $1,473 \pm 0,846$ pg; $p = 0,0111$) und bei A2 Lokalität ein Trend (A2 UAV D $0,998 \pm 0,554$ pg vs. ND $1,772 \pm 0,788$ pg; $p = 0,0775$). [s. Grafik 13] [s. Tab. Anhang 11]



◆ **Grafik 13. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF-β1 mittels ELISA**

Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert. Subgruppenanalyse der unicuspiden Klappenmorphologie nach einzelnen Lokalitäten: gepoolte Analyse (a), A1 (b) und A2 (c). (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, UAV = unicuspid Aortenklappe, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

Im Anschluss wurden weiterhin die unterschiedlichen Dilatationstypen analysiert. Hierbei zeigte sich lediglich bei A1 Lokalität ein signifikant höheres Proteinlevel bei Patienten mit D2 dilatierter Aorta im Vergleich zu D1 Dilatation (A1 D1 $0,745 \pm 0,656\text{pg}$ vs. D2 $2,016 \pm 1,093\text{pg}$; $p = 0,0140$). [s. Grafik 14] Alle weiteren Subgruppenanalysen der Dilatationstypen waren statistisch nicht signifikant. [s. Anhang Tab. 12, Grafik 34]

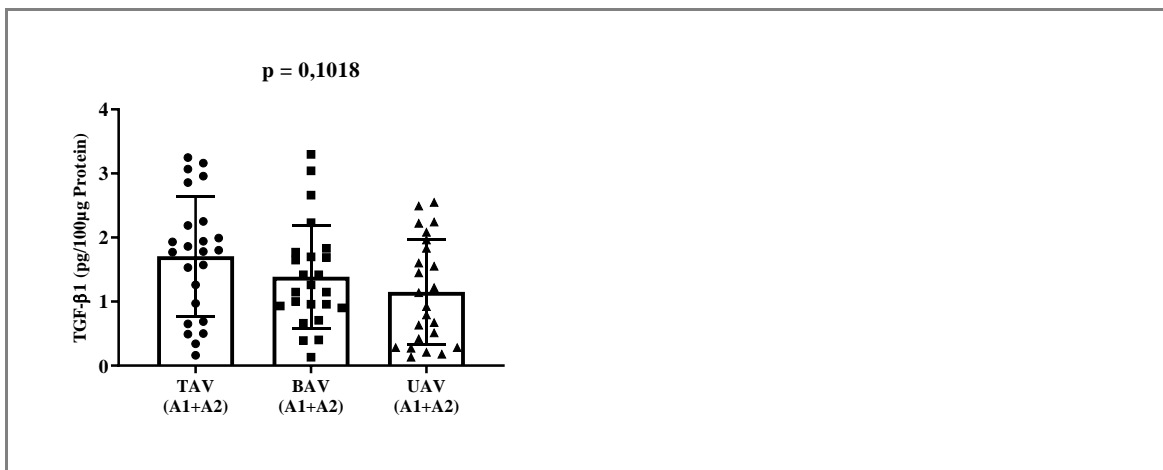


◆ **Grafik 14. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF-β1 mittels ELISA**

Vergleich Dilatationstypen D1 versus D2. Subgruppenanalyse der Lokalität A1. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, D = dilatiert)

4.3.2 Vergleich Klappenmorphologien

In der statistischen Analyse der Klappenmorphologien aller Patienten zeigte sich kein signifikanter Unterschied der TGF-β1 Konzentration (TAV $1,707 \pm 0,936\text{pg}$ vs. BAV $1,388 \pm 0,806\text{pg}$ vs. UAV $1,151 \pm 0,816\text{pg}$; $p = 0,1018$). [s. Grafik 15] In der Subgruppenanalyse der Lokalitäten A1 und A2 zeigte sich ebenfalls kein signifikantes Ergebnis. [s. Anhang Tab. 13, Grafik 35]

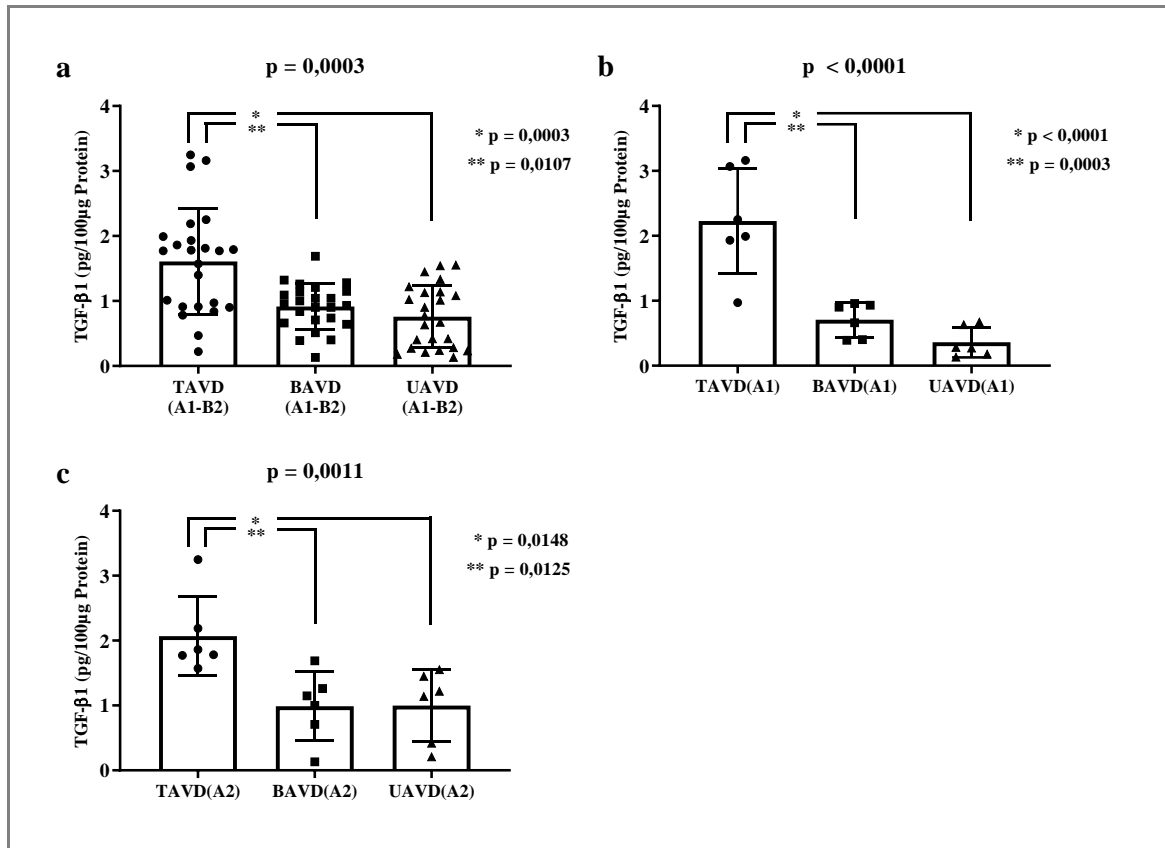


◆ **Grafik 15. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF-β1 mittels ELISA**

Vergleich der Klappenmorphologien untereinander. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe)

Bei den Patienten mit dilatierter Aorta zeigte sich ein signifikant erhöhtes Proteinlevel bei vorliegender TAV im Vergleich zu BAV oder UAV (D TAV $1,608 \pm 0,814\text{pg}$ vs. BAV $0,914 \pm 0,350\text{pg}$ vs. UAV $0,759 \pm 0,477\text{pg}$; $p = 0,0003$). Bei den Lokalitäten A1 und A2 zeigte sich

dieser Unterschied signifikant, bei den Lokalitäten B1 und B2 war diese Differenz nicht mehr zu beobachten (D A1 TAV $2,228 \pm 0,813\text{pg}$ vs. BAV $0,707 \pm 0,264\text{pg}$ vs. UAV $0,360 \pm 0,232\text{pg}$; $p < 0,0001$) (D A2 TAV $2,070 \pm 0,612\text{pg}$ vs. BAV $0,990 \pm 0,530\text{pg}$ vs. UAV $0,998 \pm 0,554\text{pg}$; $p = 0,0011$). [s. Grafik 16] [s. Anhang Tab. 13, Grafik 36]



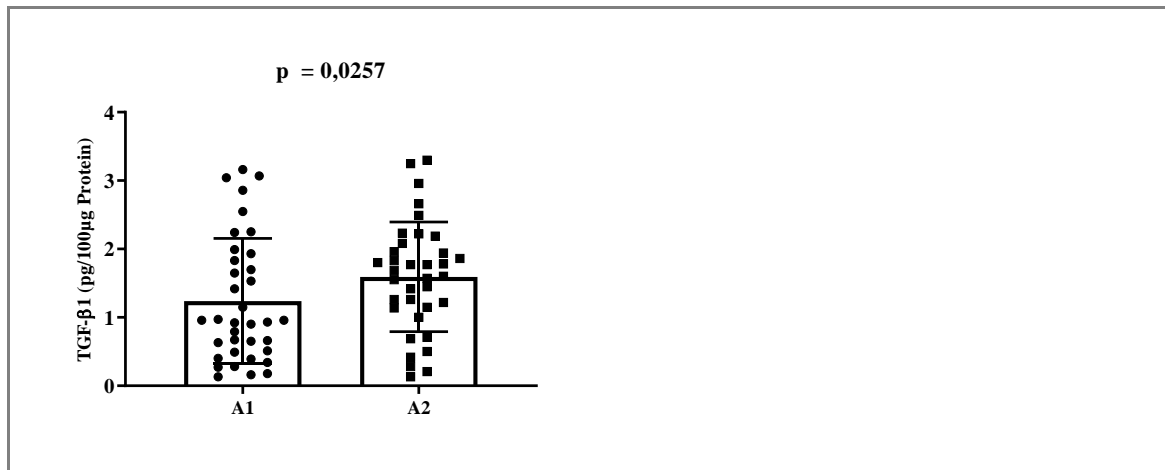
◆ Grafik 16. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF- β 1 mittels ELISA

Vergleich der Klappenmorphologien untereinander. Subgruppenanalyse der Probanden mit dilatiertem Aorta; als gepoolte Lokalisationen (a) sowie für Lokalität A1 (b) und A2 separat (c). (TGF- β 1 = Transforming Growth Factor Beta 1, TAV = tricuspid Aortenklappe, BAV = bicuspid Aortenklappe, UAV = unicuspid Aortenklappe, D = dilatiert)

Bei einem Vergleich der Klappenmorphologien innerhalb der Patienten mit nicht-dilatierter Aorta zeigte sich kein signifikanter Unterschied (ND TAV $1,265 \pm 0,963\text{pg}$ vs. BAV $1,928 \pm 0,737\text{pg}$ vs. UAV $1,623 \pm 0,795\text{pg}$; $p = 0,1680$). [s. Anhang Tab. 13, Grafik 37]

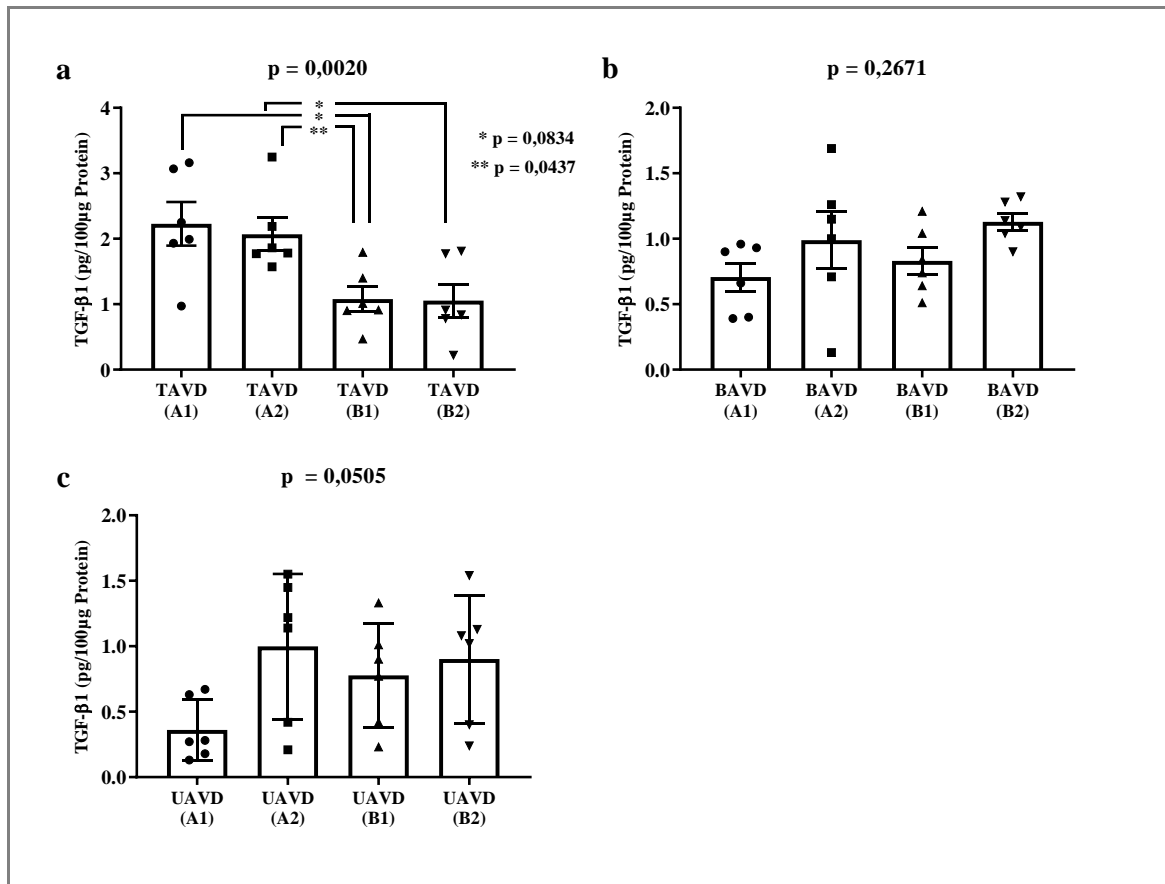
4.3.3 Vergleich lokoregionäre Unterschiede

Bei einem Vergleich der Lokalitäten A1 und A2 des gesamten Patientenkollektivs wurden signifikant niedrigere Proteinlevel bei der Lokalität A1 beobachtet (A1 $1,238 \pm 0,916\text{pg}$ vs. A2 $1,593 \pm 0,802\text{pg}$; $p = 0,0257$). [s. Grafik 17] In einer weiteren Subgruppenanalyse zeigte sich hierbei die Untergruppe der UAV relevant, dies erreichte jedoch nicht das Signifikanzlevel (UAV A1 $0,917 \pm 0,830\text{pg}$ vs. A2 $1,385 \pm 0,765\text{pg}$; $p = 0,0513$). [s. Anhang Tab. 14, Grafik 38]



◆ **Grafik 17. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF-β1 mittels ELISA**
 Vergleich der Lokalität A1 versus A2. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1)

In der weiterführenden Subgruppenanalyse der dilatierten Proben entsprechend der verschiedenen Klappenmorphologien zeigte sich bei TAV ein anderes Verteilungsmuster als bei BAV und UAV. Bei vorliegender TAV und dilatierter Aorta war der Proteingehalt von TGF-β1 an den proximalen Lokalitäten A1 und A2 signifikant höher als an den distalen Lokalitäten B1 und B2 (TAVD A1 $2,228 \pm 0,813\text{pg}$ vs. A2 $2,070 \pm 0,612\text{pg}$ vs. B1 $1,080 \pm 0,457\text{pg}$ vs. B2 $1,055 \pm 0,620\text{pg}$; $p = 0,0020$). Bei den Klappenmorphologien BAV und UAV wurde jedoch ein anderes Verteilungsmuster beobachtet. Hier zeigte sich der Proteingehalt an den konvexen Lokalisationen A1 und B1 niedriger als an den Lokalisationen A2 und B2 der konkaven Aorta ascendens. Diese Verteilung war bei BAV nicht signifikant (BAVD A1 $0,707 \pm 0,264\text{pg}$ vs. A2 $0,990 \pm 0,530\text{pg}$ vs. B1 $0,830 \pm 0,259\text{pg}$ vs. B2 $1,128 \pm 0,156\text{pg}$; $p = 0,2671$) und bei UAV als Trend sichtbar (UAVD A1 $0,360 \pm 0,232\text{pg}$ vs. A2 $0,998 \pm 0,554\text{pg}$ vs. B1 $0,777 \pm 0,401\text{pg}$ vs. B2 $0,902 \pm 0,489\text{pg}$; $p = 0,0505$). [s. Grafik 18] [s. Anhang Tab. 14]



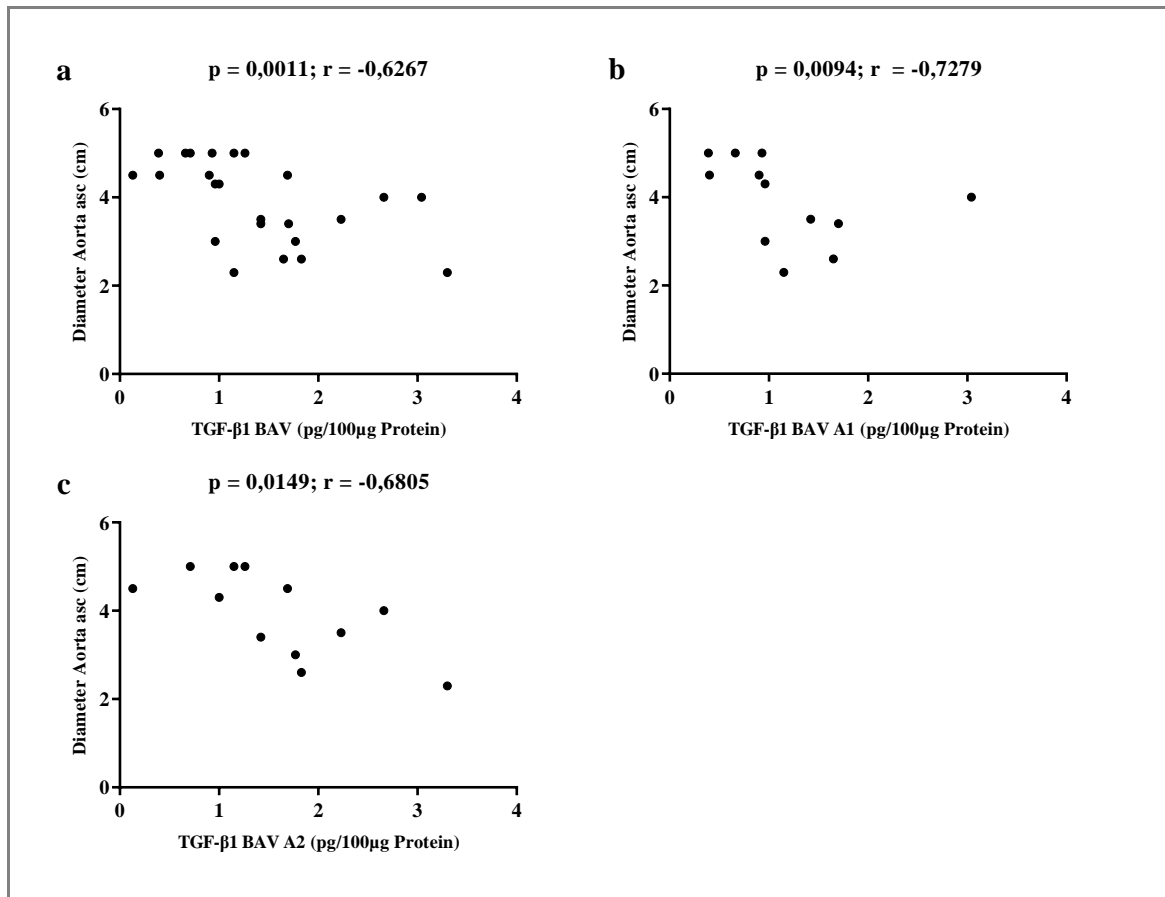
◆ Grafik 18. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF- β 1 mittels ELISA

Vergleich der verschiedenen Lokaliteten A1, A2, B1 versus B2. Subgruppenanalyse der Probanden mit dilatierter Aorta entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspid (a), bicuspid (b) und unicuspid (c). (TGF- β 1 = Transforming Growth Factor Beta 1, TAV = tricuspid Aortenklappe, BAV = bicuspid Aortenklappe, UAV = unicuspid Aortenklappe, D = dilatiert)

Die Analysen der Patienten mit nicht-dilatierter Aorta zeigten sowohl in der Gesamtanalyse als auch in den Subgruppenanalysen keine lokoregioneren Auffälligkeiten. [s. Anhang Tab. 14, Grafik 39]

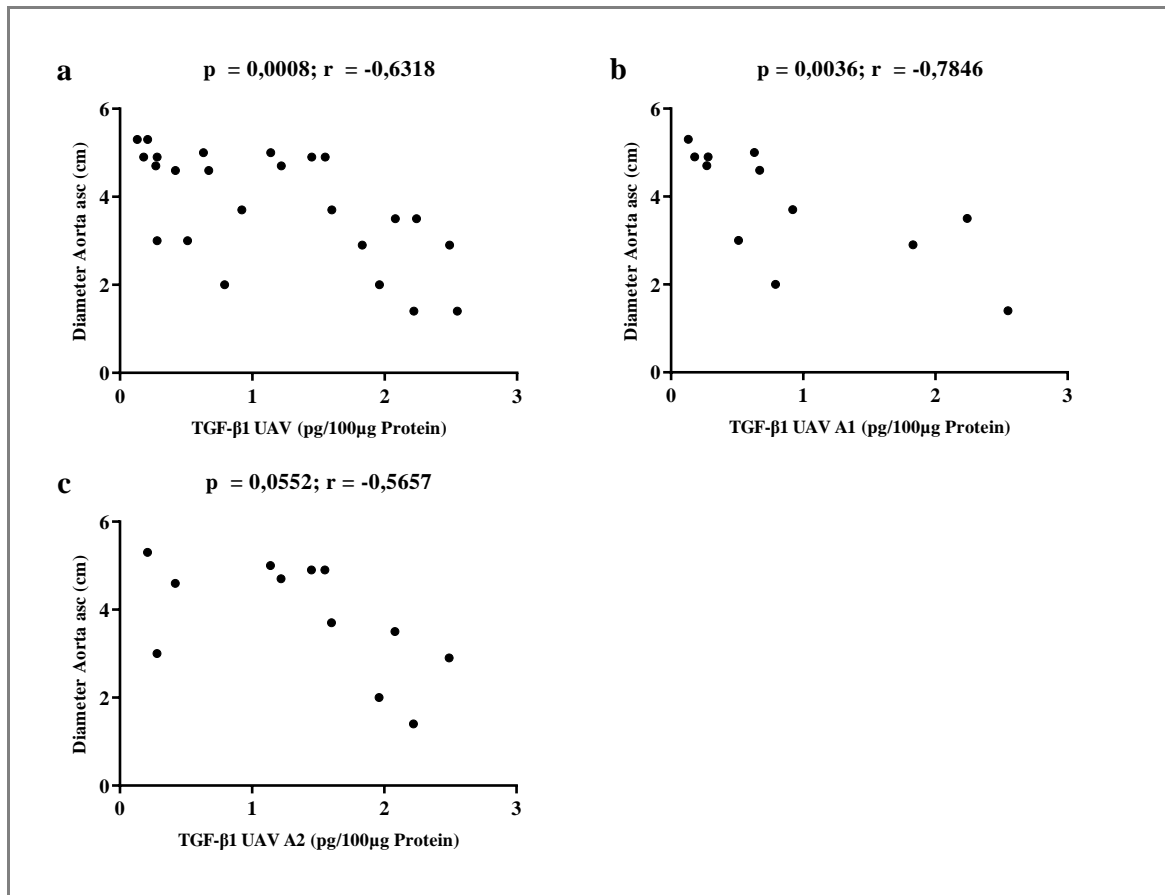
4.3.4 Korrelationsanalysen

In den Korrelationsanalysen zeigte sich eine negative Korrelation von TGF- β 1 und Diameter der Aorta ascendens bei BAV und UAV, sowohl an Lokalität A1 als auch an A2. Diese Beobachtungen waren größtenteils signifikant und bei UAV an Lokalisation A2 ein Trend. [s. Grafiken 19-20] [s. Anhang Grafik 40]



◆ **Grafik 19. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF-β1 mittels ELISA**

Korrelationsanalyse von TGF-β1 und Diameter Aorta ascendens. Subgruppenanalyse der bicuspiden Aortenklappe; als gepoolte Lokalisationen (a) sowie für Lokalität A1 (b) und A2 (c) separat. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, asc. = ascendens, BAV = bicuspide Aortenklappe)



◆ **Grafik 20. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF-β1 mittels ELISA**

Korrelationsanalyse von TGF-β1 und Diameter Aorta ascendens. Subgruppenanalyse der unicuspiden Aortenklappe; als gepoolte Lokalisationen (a) sowie für Lokalität A1 (b) und A2 (c) separat. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, asc. = ascendens, UAV = unicuspiden Aortenklappe)

5. Diskussion

5.1 Hintergrund der Arbeit

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Ausbildung von AscA bei Patienten mit TAV, BAV und UAV. Angeborene Aortenklappenmalformationen wie BAV und UAV haben nicht nur wegen des erhöhten Risikos zur Ausbildung einer Aortenklappenfehlfunktion eine hohe klinische Relevanz, sondern auch aufgrund der Assoziation zu einer häufigeren und frühen Ausbildung von Aortenaneurysmen mit entsprechendem Komplikationsrisiko.[67,90] Diese Patienten sind zum Zeitpunkt der Manifestation eines AscA meist jünger, haben ein erhöhtes Komplikationsrisiko und weisen eine höhere Wachstumsrate auf als sporadische AscA.[3,21] Daher ist es möglich, dass der Entstehungsmechanismus von AscA bei Patienten mit normalangelegter TAV von dem bei vorliegender BAV oder UAV abweicht.

Wie jedoch die zugrundeliegende Pathogenese der AscA bei Patienten mit fehlangelegter Aortenklappe abläuft, ist zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht vollständig geklärt. Es ist in jedem Fall ein einleuchtender Ansatzpunkt, von histopathologischen Strukturveränderungen der Aortenwand – entweder primärer oder sekundärer Art – auszugehen.

5.1.1 Mediadegeneration

Bereits 1928 wurde durch Gsell eine Medianekrose der Aorta beschrieben und mit spontaner Aortenruptur in Verbindung gebracht.[43] Ein Jahr später veröffentlichte Erdheim seine Arbeit zur zystischen Medianekrose.[33] Er definierte diese durch den Verlust der glatten Muskelzellen in der Gefäßwand, den Verlust von elastischen Fasern sowie eine Vermehrung der basophilen Grundsubstanz durch Anreicherung von Proteoglykanen. Insbesondere bei dissezierten Aneurysmen wurde in Studien wiederholt eine Mediadegeneration nachgewiesen.[30]

Die glatten Muskelzellen der Tunica media produzieren die Proteine der EZM. Dazu gehören unter anderem Kollagen, Elastin, Laminin, Proteoglykane und Fibronectin.[92] In histopathologischen Untersuchungen der Aortenwand bei Vorliegen einer Dilatation der Aorta und verschiedenen Aortenklappenmorphologien zeigte sich eine interessante Verknüpfung zur Mediadegeneration. Diese wurde anhand eines Apoptoseindex glatter Muskelzellen evaluiert. Eine Mediadegeneration konnte bei Patienten mit TAV nur bei dilaterter Aorta nachgewiesen werden. Jedoch lässt sich diese bei Vorliegen einer BAV sowohl bei den Patienten mit dilaterter als auch normalweiter Aorta bestätigen.[11,35,74] In einer weiteren Studie konnte eine Mediadegeneration bei 75% aller Patienten mit BAV nachgewiesen werden, die sich einem Aortenklappenersatz unterzogen. In der Kontrollgruppe mit Patienten mit TAV betrug der Anteil an Mediadegeneration lediglich 14%. [52] Auch in weiteren Analysen von Patienten mit BAV und nicht-dilaterter Aorta ascendens konnte bereits eine Mediadegeneration ohne vorhandene

Dilatation belegt werden. Es zeigte sich zudem eine ähnliche Dicke der Tunica media bei BAV und TAV, jedoch waren die elastischen Fasern bei BAV dünner, fragmentiert und lagen weiter auseinander.[92] Aufgrund der deutlich selteneren Inzidenz der UAV liegen deutlich weniger Untersuchungen zu dieser Aortenklappenmorphologie vor. Aber auch bei UAV konnte eine Mediadegeneration ähnlich wie bei BAV nachgewiesen werden und deutet auf einen ähnlichen Pathomechanismus hin.[16]

Diese Beobachtungen stützen die Hypothese, dass bei fehlangelegter Aortenklappe bereits vor Dilatation der Aorta ascendens eine Pathologie der Aortenwand vorliegt. Es wird daher diskutiert, ob diese Veränderungen angeboren sind und zur Erweiterung prädisponiert.

5.1.2 Physik der Dilatation

Es ist nachvollziehbar, dass ein Aneurysma als eine Anpassungsreaktion auf eine erhöhte Wandspannung innerhalb eines Gefäßes entsteht und einem Circulus vitiosus unterliegt. Laut dem Laplace-Gesetz berechnet sich die Wandspannung (K) eines Gefäßes aus transmuralen Druck (p) multipliziert mit dem Radius (r) in Abhängigkeit der Wanddicke (d) oder $K=p*r/d$. [40] Erhöht sich also der Radius des Gefäßes resultiert dies in einer höheren Wandspannung, was nun wiederum eine weitere Dilatation der Gefäßes bewirkt.

In Studien wurden eine deutlich abnehmende Dehnbarkeit der Aorta und ein erhöhter mechanischer Stress auf die Aortenwand mit wachsendem Durchmesser nachgewiesen. Dafür wurden der transmurale Druck, der aortale Diameter und die Dicke der Aortenwand jeweils in Systole und Diastole gemessen. Hier zeigte sich ab einem Durchmesser von 6 cm eine deutlich erniedrigte Elastizität der Aortenwand, wodurch der im Gefäß herrschende Druck in der Systole schlechter verteilt werden kann und eine erhöhte Wandspannung auf die Gefäßwand herrscht. Übersteigt nun diese Kraft den maximal vom Aortengewebe tolerierten Druck, kommt es zu katastrophalen Ereignissen wie Dissektion oder Ruptur.[17,56]

5.1.3 Strömungshypothese

Ein weiterer Einflussfaktor auf die Aortenwand besteht neben der Wandspannung im Scherstress, der auf das Aortengewebe wirkt. Bei fehlangelegter Aortenklappe, z.B. BAV oder UAV, kommt es durch die veränderte Geometrie der Aortenklappen zu einem exzentrischen Jet und turbulenten Strömungen in der Aorta ascendens.[45,67]

In einer Studie zu Patienten mit BAV wurde ein größerer Aortendurchmesser als in der Kontrollgruppe mit TAV festgestellt. Bei gleichzeitigem Vorliegen einer AS wurde eine deutlich stärkere Aortendilatation als bei AI beobachtet. Der Ort der maximalen Dilatation unterschied

sich jedoch bei beiden Gruppen. Während bei gleichzeitig vorliegender AI vor allem die Aortenwurzel dilatierte, erweiterte sich bei AS der Teil der Aorta ascendens, der oberhalb des ST lag. Eine BAV mit simultaner AI resultiert in einem erhöhten Schlagvolumen, dadurch steigt der Scherstress in der Aortenwurzel. Daher liegt dort eine stärkere Dilatation vor verglichen mit BAV und AS. Hier kommt es vorwiegend zu einer Dilatation der Aorta ascendens durch den hämodynamischen Stress auf den ST.[48] Eine Veränderung der Hämodynamik mit resultierend erhöhtem Scherstress in der Aorta ascendens konnte mittels MR-grafischer 4D-Flussmessung bei BAV nachgewiesen werden.[7] In einer Untersuchung der verschiedenen Fusionstypen der BAV konnte ebenfalls eine unterschiedliche Dilatationsneigung zwischen den einzelnen Unterformen beobachtet werden.[46] Auch bei Patienten mit UAV konnten Verwirbelungen in der Aorta ascendens aufgrund der Aortenklappen­geometrie beobachtet werden.[32]

Diese Erkenntnisse unterstützen die These, dass eine turbulente Strömung und eine hohe Strömungsgeschwindigkeit, die bei einer Aortenklappenanomalie mit ggf. simultaner Aortenklappen­fehl­funktion regional auf die Aorta ascendens treffen, zu einem Umbauprozess derselben führen, welcher in einer Dilatation resultiert.[92]

In einer Studie über BAV wurde in der Gruppe der Probanden eine höhere maximale Strömungsgeschwindigkeit in der Aorta ascendens gemessen verglichen mit gepaarten Probanden mit gesunder TAV. Dies galt für Probanden mit BAV auch ohne Vorliegen einer Klappendysfunktion. Dennoch zeigten alle Patienten mit BAV im Vergleich eine dilatierte Aorta ascendens.[77] Dies spricht dafür, dass eine ggf. simultan bestehende Aortenklappen­fehl­funktion bei BAV nicht ausschlaggebend für Strömungsverwirbelungen in der Aorta ascendens ist.

In einer Studie von Nistri et al. wurden bei Patienten mit BAV mit normaler Klappenfunktion sonographisch zwar keine erhöhten maximalen Strömungsgeschwindigkeiten beschrieben, jedoch wurden lokale Ungleichmäßigkeiten der Strömungsverhältnisse direkt supralvalvulär geschildert. Auch hier zeigte sich die Aorta dieser Patienten signifikant größer als in der Kontrollgruppe mit TAV.[76]

Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass eine Erweiterung der Aorta bei BAV auf den aberranten Strömungsverhältnissen und dem daraus resultierenden Scherstress begründet ist, auch wenn (noch) keine Klappendysfunktion besteht.[45,90]

Bisher erfolgte Analysen zu Proteinexpressionen in der Aortenwand haben die sogenannte Strömungshypothese gestützt. Eine Untersuchung von Wang et al. zeigte Veränderungen von MMPs im Serum bei nachgewiesener Aortenstenose bei BAV und gleichzeitigem Vorliegen eines AscA. Die Autoren interpretierten dies als Reaktion auf die veränderten Strömungsverhältnisse und entsprechendem Scherstress auf die Aortenwand.[94] Weitere Analysen zeigten eine Fehlregulation von MMPs in Regionen der Aorta ascendens mit erhöhtem Scherstress bei

BAV.[44] Bisher fehlen vergleichende Analysen von Patienten mit TAV und ggf. Aortenklappenfehlfunktion zur weiteren Spezifizierung der Beobachtung.

5.1.4 Genetikhypothese

Eine weitere Theorie der Aneurysmaentstehung beinhaltet die Möglichkeit einer Beeinträchtigung der gemeinsamen Entwicklung von Aortenklappe und Aorta ascendens. Embryologisch entstehen sowohl Aorta ascendens als auch die Aortenklappe gemeinsam aus dem „cardiac neural crest“.[55] Außerdem entstehen die glatten Muskelzellen der Aortenwand ebenfalls aus der gleichen embryologischen Anlage. Histopathologische Untersuchungen von Aneurysmagewebe von Marfan Patienten und Patienten mit BAV ergaben die gleichen Veränderungen der Aortenwand für bestimmte Proteine der EZM, welche von den glatten Muskelzellen produziert werden. Diese glatten Muskelzellen zeigten bei beiden Probandengruppen gleichermaßen eine gesteigerte Apoptose.[75] Somit scheint eine kausale Verbindung zwischen der Embryogenese und der beobachteten Mediadegeneration im Aneurysmagewebe denkbar.

Es konnte gezeigt werden, dass die Mediadegeneration bei BAV deutlich stärker ausgeprägt ist, als bei vorliegender TAV. Zusätzlich zeigten sich ähnliche Veränderungen im Truncus pulmonalis, welcher embryologisch aus der gleichen Anlage entsteht.[27] Eine Aortendilatation tritt bei Patienten mit BAV nachweislich bereits in jüngeren Jahren als in der Kontrollgruppe mit TAV auf und die Ausprägung der Dilatation scheint nicht altersbezogen.[48] Dies spricht ebenfalls für einen angeborenen Defekt und gegen eine Anpassungsreaktion, die sich im Laufe der Jahre ausbildet.

Eine weitere Studie zeigte bei normaler Klappenfunktion keinen Unterschied der maximalen Strömungsgeschwindigkeiten bei Patienten mit BAV und TAV. Dennoch wurde eine Erweiterung der Aorta bei den Patienten mit BAV beschrieben.[76] Auch andere Arbeitsgruppen assoziierten eine BAV bei hämodynamisch normaler Funktion mit einer Dilatation der Aorta ascendens.[47,78] Diese Erkenntnisse sprechen gegen die oben beschriebene Strömungshypothese.

Bei Untersuchungen von Patienten mit BAV, die einen Aortenklappenersatz erhielten, konnte bei grenzwertig weiter Aorta zum Zeitpunkt der Operation ein Fortschreiten der Aortendilatation auch nach Beheben der Strömungsunregelmäßigkeiten beobachtet werden.[12] Dies spricht erneut für eine angeborene Schwäche der Aortenwand in dieser Patientenkohorte. Daher ist es möglich, dass ein genetischer Defekt mit Einfluss auf die Entwicklung der Neuralleiste in einer simultanen Fehlbildung von Aortenklappe und Aorta ascendens resultieren könnte.

Bei den syndromalen AscA sind bereits einige genetische Mutationen bekannt, die mit Erkrankungen wie MFS oder LDS assoziiert werden. Aktuell werden auch immer mehr genetische Loci entdeckt, die im Zusammenhang mit nicht-syndromalen AscA stehen.[57] Brownstein et al. publizierten eine Zusammenstellung von 29 Genen, die mit der Entstehung von AscA assoziiert werden konnten.[15] Die betroffenen Proteine gehörten weitgehend zur EZM, dem Kontraktionsmechanismus bzw. Metabolismus der glatten Gefäßmuskulatur oder dem TGF- β -Signalweg. Hierbei zeigte sich eine Überschneidung der bekannten genetischen Mutationen zwischen den syndromalen und nicht-syndromalen AscA.

Inbesondere scheinen Mutationen des TGF- β -Signalweges relevant für die Entstehung von AscA zu sein. Zum einen ist bereits gut untersucht, dass sowohl das MFS als auch das LDS auf Mutationen eben dieses Signalweges beruhen.[61,69] Zum anderen gibt es für nicht-syndromale AscA ebenfalls bereits den Nachweis von TGF- β assoziierten Mutationen.[70] Es ist jedoch zum jetzigen Zeitpunkt nicht abschließend geklärt, ob diese Mutationen und die daraus resultierenden Änderungen der Konzentrationen von TGF- β oder anderer Proteine in der Aortenwand ursächlich für das Entstehen von AscA sind.

In Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe untersuchten wir bereits die Expression verschiedener Proteine in der Aortenwand bei Patienten mit BAV und UAV. Auffällig waren hierbei insbesondere Unterschiede in der mRNA Expression von eNOS zwischen BAV und UAV.[49] Dies ist ein Hinweis auf einen grundlegenden Unterschied der Proteinzusammensetzung der Aortenwand bei den unterschiedlichen Aortenklappenmorphologien. Nun wollten wir untersuchen, inwieweit diese Veränderungen sich auch auf Proteinebene abbilden.

Daher analysierten wir in unserem Studienkollektiv von n = 36 Patienten die Expression verschiedener Proteine in der Aortenwand bei dilatierter und nicht-dilatierter Aorta.

In einem ersten Teil werteten wir die klinisch erhobenen Daten der beiden Patientengruppen aus. Hier zeigten sich unsere Studienkollektive vergleichbar, weshalb wir eine Untersuchung der Proteinexpressionen anhand dieser Kollektiveinteilung als valide erachteten.

In einem zweiten Teil erfolgte die Analyse der Proteinexpressionen von eNOS und TGF- β 1. In den statistischen Analysen ergaben sich für eNOS wenige auffällige Ergebnisse, bei TGF- β 1 zeigte sich eine unterschiedliche Expression bei TAV verglichen mit BAV und UAV.

5.2 Klinische Daten der Patientenkollektive sich vergleichbar

Eine statistische Analyse klinischer Daten der dilatierten und nicht-dilatierten Patientengruppen ergaben gleichartige Ergebnisse im Hinblick auf Alter, Hausmedikation und Vorerkrankungen. Das Patientenalter reichte von 9 bis 85 Jahren, mit vergleichbaren MW in beiden Kollektiven. Die Patienten präsentierten die weit verbreiteten kardiovaskulären Vorerkrankungen, u.a. arterielle Hypertonie, koronare Herzkrankheit, Vorhofflimmern oder Diabetes mellitus mit den entsprechenden typischen Vormedikationen. Auch hier unterschieden sich unsere Patientengruppen statistisch nicht signifikant voneinander.

In den präoperativ erhobenen TEE-Messungen zeigten sich die Diameter der Aorta ascendens auf allen gemessenen Höhen erwartungsgemäß signifikant erweitert im Kollektiv der Patienten mit dilatierter Aorta.

Hieraus lässt sich ableiten, dass unsere Kollektive eine vergleichende Analyse von spezifischen Proteinexpressionen im Hinblick auf vorliegende Dilatation der Aorta ascendens im Sinne unserer Fragestellung zulassen.

5.3 eNOS

5.3.1 eNOS Proteinexpression ist bei dilatierter Aorta und fehlangelegter Aortenklappe erhöht

In unserer Analyse zeigte sich beim Vergleich aller dilatierten und nicht-dilatierten Proben miteinander zunächst ein Trend zu höherer eNOS-Konzentration bei vorliegendem Aneurysma. Dies konnte jedoch nur an der Lokalität A1 nachgewiesen werden. Um zu eruieren, ob diese Veränderung für alle Klappentypen gleichermaßen vorliegt, erfolgte daraufhin eine entsprechende Subgruppenanalyse. Bei regulärer TAV konnte keinerlei Unterschied der Proteinexpression von eNOS in Abhängigkeit einer vorliegenden Dilatation festgestellt werden. Jedoch zeigte sich bei Vergleich der eNOS Proteinkonzentration in der Aortenwurzel bei BAV an Lokalität A1 ein gesteigertes Level von eNOS bei dilatierten Proben, wenn auch nicht statistisch signifikant. Bei vorliegender UAV konnte eine deutliche Erhöhung der Proteinexpression bei vorliegendem Aneurysma registriert werden, bei A1 war dies als Trend zu verzeichnen und bei A2 konnte dies als nicht signifikante Veränderung beobachtet werden.

Bei einem Vergleich der beiden Dilatationstypen D1 und D2 zeigte sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Einschränkend muss hier jedoch auf die geringe Fallzahl hingewiesen werden, aufgrund derer eine weitere Subgruppenanalyse statistisch nicht sinnvoll war.

Diese Ergebnisse könnten auf eine reaktive Erhöhung von eNOS aufgrund der veränderten Strömungsverhältnisse bei fehlangelegter Aortenklappe hindeuten. Fraglich ist jedoch, wieso diese Veränderung nicht bei allen Patienten mit Aortenklappenanomalien zu beobachten war bzw. nicht alle Patienten mit BAV oder UAV obligatorisch eine Dilatation ausbildeten. Gegebenenfalls ist dies in der Variabilität der BAV und UAV und den damit nicht genau vorhersagbaren Strömungsverhältnissen begründet. Da die gleichen Veränderungen bei TAV nicht zu beobachten waren, muss bei dieser Patientenkohorte ein abweichender pathophysiologischer Mechanismus der Dilatation in Betracht gezogen werden.

Zudem bleibt ungeklärt, ob es im Falle einer Verwirbelung zu einer Veränderung der eNOS Proteinexpression kommt und konsekutiv die Dilatation eintritt, oder ob die Dilatation aufgrund anderer, unbekannter Veränderungen der Aortenwand bei unregelmäßiger Strömung eintritt und als Reaktion darauf eNOS hochreguliert wird.

Henn et al. untersuchten 2014 die eNOS mRNA Expression in Aortengewebe bei AscA. Hier zeigte sich bei allen Aortenklappenmorphologien ein Trend zu erniedrigter eNOS mRNA Expression bei vorliegender Dilatation.[49] Unsere Arbeitsgruppe untersuchte ebenfalls in Vorarbeiten die eNOS mRNA Expression von Patienten mit TAV und BAV jeweils bei dilatierter und nicht-dilatierter Aorta. Hier zeigten sich auf mRNA Ebene keine signifikanten Unterschiede zwischen den Dilatationstypen der jeweiligen Aortenklappenmorphologien.[37] Vergleicht man dies nun mit unseren gegenläufigen Beobachtungen auf Proteinebene, gibt es verschiedene Interpretationsmöglichkeiten. Zum einen könnte ein verminderter Abbau des Proteins mit konsekutiv erhöhtem Proteinlevel in einer kompensatorischen Herunterregulation auf genetischer und mRNA Ebene resultieren. Alternativ kommt auch eine Veränderung im Prozess der Translation in Betracht. Zu beachten ist jedoch, dass bei den Beobachtungen durch Henn et al. das Signifikanzniveau nicht und bei unseren Analysen nur partiell erreicht wurde. Hierzu sind in jedem Fall weitere Studien notwendig, um die genauen Pathomechanismen weiter zu untersuchen und mit höheren Fallzahlen zu verifizieren.

5.3.2 eNOS Proteinexpression weist keine lokoregionären Unterschiede auf

In den weiteren Analysen zeigten sich für eNOS keine relevanten lokoregionären Unterschiede, insbesondere in der Subgruppe der dilatierten Aorten nicht. Hier konnte im Speziellen keine Abweichung der Proteinkonzentration von eNOS in der konkaven im Vergleich zur konvexen Aortenwand festgestellt werden. Untersuchungen zur eNOS mRNA zeigten eine Hochregulation der eNOS mRNA Expression im Bereich der Konkavität der Aorta ascendens bei dilatierter Aorta und TAV verglichen mit der Konvexität.[37] Diese Beobachtungen ließen sich in unseren Analysen auf Proteinebene nicht mehr nachweisen.

Ebenso konnte wie oben beschrieben kein Unterschied der eNOS Proteinexpression bei den unterschiedlichen Dilatationstypen beobachtet werden. Dies wäre bei Vorliegen einer relevant wirksamen strömungsbedingten Proteinregulation gegebenenfalls zu erwarten gewesen und spricht eher für eine gemeinsame genetische Grundlage der Pathogenese.

5.3.3 eNOS Proteinexpression ist bei fehlangelegter Aortenklappe und nicht-dilatierter Aorta erniedrigt

Bei vergleichenden Analysen der unterschiedlichen Klappenmorphologien wurde eine erniedrigte Konzentration von eNOS bei BAV und UAV im Vergleich zu TAV erfasst. In den darauffolgenden Subgruppenanalysen nach Dilatationszustand erwies sich die Subgruppe der nicht-dilatierten Aorten hierbei als ausschlaggebend, mit signifikanter Reduktion bei sowohl BAV als auch UAV verglichen mit der regulären TAV. Dies stimmt mit Ergebnissen von Aicher et al. überein, die eine Reduktion von eNOS auf Proteinebene bei BAV verglichen mit TAV beobachteten. Eine weitere Subgruppenanalyse entsprechend dem Dilatationszustand war bisher nicht erfolgt.[2] In einer anderen Untersuchung konnte dagegen eine Erhöhung der eNOS Aktivität in Aneurysmen bei BAV verglichen mit TAV nachgewiesen werden.[56]

Vor kurzem publizierte Analysen unserer Arbeitsgruppe zur eNOS mRNA zeigten ähnliche Beobachtungen mit erniedrigter mRNA Expression bei BAV verglichen mit TAV. Diese Ergebnisse waren analog zu unseren Beobachtungen der eNOS Proteinkonzentration nur in der Kohorte mit nicht-dilatierter Aorta signifikant.[37] Eine bereits publizierte Studie zu eNOS mRNA im Vergleich der einzelnen Aortenklappenmorphologien ergaben hier jedoch gegensätzliche Beobachtungen mit signifikant höherer mRNA bei UAV und BAV verglichen mit TAV.[49]

Unsere Ergebnisse zeigten, dass eine fehlangelegte Aortenklappe, wie sie bei BAV und UAV vorliegt, nicht automatisch in einer Erhöhung von eNOS resultierten. Bei unseren Analysen lag sogar eine erniedrigte Konzentration von eNOS im Falle einer normalweiten Aorta vor. Möglicherweise kommt es im Falle einer aberranten Strömung bei BAV und UAV erst bei manifest erhöhtem Scherstress zu einer Dysregulation von eNOS und zu einer Aortendilatation. Durch unsere Analysen zeigt sich ein Zusammenhang zwischen Dysregulation von eNOS und Aortendilatation bei fehlangelegter Aortenklappe, eine Kausalität lässt sich hierdurch jedoch nicht sicher beurteilen.

Insgesamt sind diese Beobachtungen sehr interessant und zeigen uns, dass man insbesondere die Proteinveränderungen auch immer zusammen mit Veränderungen der mRNA begutachten sollte.

5.3.4 eNOS zeigt keine signifikante Korrelation zum Aortendiameter

Bei Auswertung der Korrelationsanalysen zwischen eNOS Proteinexpression und Aortendiameter auf verschiedenen Messhöhen ergab sich kein signifikanter Zusammenhang.

5.3.5 Die Rolle von eNOS bei Aortendilatation

eNOS ist ein relevanter Faktor in der Embryogenese. Es spielt nicht nur eine Rolle bei der Regulation von Zellwachstum und Apoptose.[72] Unter anderem ist es essentiell für die embryologische Angiogenese und die adulte Umstrukturierung von Gefäßen.[72,85]

Eine 2000 veröffentlichte Studie zeigte, dass Mäuse mit einem eNOS knockout signifikant häufiger eine BAV ausbildeten, verglichen mit den Wildtyp Mäusen (42% vs. 0%).[59] Dies bekräftigt, dass eNOS maßgeblich an der Embryogenese des kardiopulmonalen Systems, insbesondere an der Ausbildung der Aortenklappe beteiligt ist.

Es konnte bereits in vorangehenden Studien gezeigt werden, dass die Proteinexpression von eNOS in der Aortenwand der Aorta ascendens bei BAV niedriger war als in TAV.[2] Dies stimmt mit unseren Beobachtungen überein. Fraglich ist nur, ob die Änderung der Proteinexpression von eNOS Ursache oder ggf. Folge der Dilatation der Aortenwand darstellt. Jedoch wurden auch gegenläufige Beobachtungen beschrieben, die lediglich Aortenaneurysmen untersuchten und keine normalweiten Aorten als Referenzgewebe analysierten.[56]

In einer in-vitro Analyse konnte eine endotheliale Regulation der eNOS Proteinexpression durch applizierten Scherstress nachgewiesen werden.[82] Dies spricht für eine reaktive Änderung von eNOS auf aberrante Strömungsverhältnisse in der Aorta, z.B. bei fehlangelegter Aortenklappe. Dafür spricht, dass unsere Ergebnisse eine Erhöhung von eNOS in BAV und UAV bei vorliegender Dilatation zeigen. Wieso diese Beobachtung nicht auch in der Kohorte der TAV nachweisbar ist, bleibt offen. In unseren Analysen konnten wir keine lokoregionären Unterschiede von eNOS beobachten, was gegen diese These spricht.

Insgesamt zeigt sich in unserer Studie, dass die Proteinexpression von eNOS bei nicht-dilatierter Aorta ascendens bei BAV und UAV herunterreguliert ist. Die Dysregulation von eNOS besteht daher auch in Abwesenheit eines pathologischen Aneurysmas. Dieser Unterschied verschwindet bei Dilatation der Aorta ascendens. Es zeigt sich sogar eine Erhöhung von eNOS auf Proteinebene bei dilatierter Aorta verglichen mit nicht-dilatierter Aorta in den Kohorten mit fehlangelegter Aortenklappe. Dies könnte für eine sekundäre Rolle von eNOS bei den Umbauprozessen der Aortenwand sprechen. In jedem Fall scheint ein Zusammenhang zwischen der Dysregulation von eNOS und einer Dilatation der Aorta ascendens zu bestehen.

Der Pathomechanismus der Regulation der eNOS Expression in der Aortenwand ist bisher nicht vollständig verstanden. Aufgrund des gegenläufigen Verhaltens der eNOS Proteinexpression und eNOS mRNA bedarf es weiterer Analysen zur Ermittlung der zugrundeliegenden Mechanismen und Einflussfaktoren des eNOS-Signalweges.

5.4 TGF- β 1

5.4.1 TGF- β 1 ist bei Dilatation in Abhängigkeit der Klappenmorphologie dysreguliert

Bei Vergleich der TGF- β 1-Konzentration der dilatierten mit nicht-dilatierten Proben zeigte sich ein Trend zu niedrigeren Werten bei vorliegendem Aneurysma. Bei Durchführung von Subgruppenanalysen entsprechend der Klappenmorphologien stellten sich gegenläufige Ergebnisse dar. Im Falle einer TAV liegt an Lokalität A1 eine signifikant erhöhte Expression von TGF- β 1 bei bestehender Dilatation verglichen zur normalweiten Aorta vor. Bei BAV und UAV wird sowohl bei A1 als auch A2 reduzierte Proteinexpressionen bei vorliegendem Aneurysma beobachtet.

Dies lässt erneut auf eine unterschiedliche Pathogenese der Aneurysmen bei TAV verglichen mit Aneurysmen bei fehlangelegter Aortenklappe schließen.

In vorläufigen Analysen der TGF- β mRNA durch unsere Arbeitsgruppe wurde eine Reduktion in dilatiertem Aortengewebe bei allen Aortenklappenmorphologien beobachtet. Da es in unseren Beobachtungen Unterschiede der Proteinexpressionen TAV und BAV/UAV gibt, existieren möglicherweise unterschiedliche posttranskriptionale Regulationsmechanismen in Abhängigkeit der Aortenklappenmorphologie.

In der Literatur findet man gegensätzliche Beobachtungen. Gomez et al. untersuchten AscA und beobachteten ein erhöhtes Level von TGF- β 1 bei vorliegender BAV und Aneurysma.[41] Weitere Studien konnten ebenfalls erhöhte TGF- β 1-Proteinlevel in Aneurysmen bei TAV und BAV verglichen mit normalweiter Aorta feststellen.[81]

Bei Untersuchungen von induziertem MFS in Mäusen konnte dahingegen die Ausbildung von AscA unabhängig von Veränderungen des TGF- β -Signalweges beobachtet werden. [96] Weitere Untersuchungen zu Mäusen mit MFS zeigten, dass bei Inhibition von TGF- β in jungen Mäusen mittels Antikörper die Ausbildung eines AscA akzeleriert wurde. Dahingegen korrelierte die Antikörperapplikation bei erwachsenen Tieren mit einem langsameren Progress des Aneurysmas.[23] Dies zeigt wie komplex der Einfluss des TGF- β -Signalweges zumindest auf die Aneurysmaentstehung bei MFS ist.

5.4.2 TGF- β 1 weist bei Dilatation lokoregionäre Unterschiede in Abhängigkeit der Klappenmorphologie auf

Bei der Betrachtung der lokoregionären Unterschiede zeigte sich bei Analyse der Aneurysmen erneut ein anderes Ergebnis für TAV verglichen mit BAV und UAV. Bei vorliegender Dilatation und TAV ist die Konzentration von TGF- β 1 in der Aortenwurzel (Lokalität A1 und A2) höher als in der Aorta ascendens (Lokalität B1 und B2). Bei BAV und UAV mit Aneurysma hingegen zeigen sich erhöhte Werte an der Konkavität der Aorta (Lokalität A2 und B2) verglichen mit der Konvexität (Lokalität A1 und B1), auch wenn diese Beobachtung bei BAV nicht signifikant und bei UAV lediglich als Trend darstellbar sind. Diese Ergebnisse sprechen erneut für unterschiedliche pathophysiologische Abläufe bei TAV im Vergleich zur fehlangelegten Aortenklappe.

Generell sind lokoregionäre Unterschiede der TGF- β 1-Proteinexpression bei fehlangelegter Aortenklappe ein Anzeichen für regulatorische Einflüsse durch bestehende Verwirbelungen in der Aorta. In einem in-vitro Modell konnte eine Hochregulation von TGF- β 1 durch laminaren Scherstress nachgewiesen werden.[79] Diese Ergebnisse unterstützen die Strömungshypothese der AscA Entstehung.

5.4.3 TGF- β 1 ist bei fehlangelegter Aortenklappe und Dilatation erniedrigt

In der Analyse der einzelnen Aortenklappenmorphologien untereinander zeigt sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen, es fällt jedoch ein diskreter Abfall der Proteinkonzentration von TAV über BAV bis UAV auf. In den weiteren Subgruppenanalysen bestätigt sich diese Beobachtung bei Vorliegen einer Dilatation. TGF- β 1 ist in der Aortenwurzel (Lokalität A1 und A2) bei BAV und UAV gegenüber TAV signifikant erniedrigt. Diese Beobachtung bestätigt sich in der TA (Lokalität B1 und B2) nicht. Dies könnte für eine Reaktion der TGF- β 1-Produktion auf eine veränderte Strömung in der Aortenwurzel bei fehlangelegter Aortenklappe sprechen, während sich in der TA der Fluss bereits wieder größtenteils normalisiert hat. Bei TAV kommt es zu keiner Verwirbelung in der Aortenwurzel, daher ist es denkbar, dass die Herunterregulation von TGF- β 1 ausbleibt und die Aneurysmaentstehung auf einem anderen Mechanismus beruht.

5.4.4 TGF- β 1 korreliert negativ mit Aortendurchmesser

In den Korrelationsanalysen zeigt sich eine fallende Proteinkonzentration von TGF- β 1 mit steigendem Durchmesser der Aorta ascendens bei BAV und UAV. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen einer erniedrigten Proteinkonzentration von TGF- β 1 bei BAV und UAV und simultanem Aneurysma verglichen mit normalweiter Aorta.

5.4.5 Die Rolle von TGF- β 1 bei Aortendilatation

TGF- β wird von glatten Muskelzellen der Arterienwände sezerniert und moduliert als regulatorisches Zytokin zahlreiche Signalwege. Nicht nur die Modulation von Zellproliferation und Immunreaktionen, auch eine relevante Funktion in der kardiovaskulären Entwicklung – insbesondere der Aortenklappe - und beim vaskulären Umbau konnten nachgewiesen werden.[4,5]

Der Zusammenhang von Mutationen im TGF- β -Signalweg mit syndromalen AscA ist bereits bekannt. MFS und LDS sind assoziiert mit einer Erhöhung von TGF- β in der Aortenwand.[93] Bei Patienten mit MFS wurden zudem erhöhte Serumlevel von TGF- β 1 nachgewiesen.[66] In Mäusen mit induziertem MFS konnte der Progress einer Aortendilatation durch Inhibition des TGF- β Signalweg gestoppt werden.[45] In einem weiteren Mausmodell wurde der Signalweg von TGF- β gestört, was die Inzidenz und das Wachstum von Aneurysmen senkte.[50] Diese Beobachtungen sprechen für einen Zusammenhang zwischen hochreguliertem TGF- β und dem Vorliegen eines Aortenaneurysmas bei MFS und LDS. Unsere Beobachtungen von erhöhtem TGF- β 1 in Aneurysmen bei TAV stimmen mit diesen Erkenntnissen überein. Jedoch scheint dieser Mechanismus nicht obligatorisch für BAV und UAV zuzutreffen.

Auch bei nicht-syndromalen, degenerativen Aneurysmen wurden bereits gesteigerte TGF- β 1 Proteinlevel nachgewiesen.[41] Entgegen unseren Beobachtungen traf dies auch für Aneurysmen bei BAV zu.[41] In unserer Kohorte sind die TGF- β 1-Proteinlevel bei BAV im Aneurysma sogar niedriger als bei normalweiter Aorta. Anhand dieser Beobachtungen könnte man einen protektiven Effekt von TGF- β postulieren. In einem weiteren Mausmodell wurde ein erhöhtes Rupturrisiko von AscA in Mäusen bei Inhibition des TGF- β Signalweges beobachtet.[18]

Eine Studie von Cook et al. zeigte, dass die Signalwege und die Effekte von TGF- β sehr komplex und noch nicht vollständig verstanden sind. Eine antikörpervermittelte Inhibition des TGF- β Signalwegs in Mäusen zeigte sowohl protektive als auch aneurysmafördernde Effekte, abhängig vom Zeitpunkt der Applikation der Antikörper in der Entwicklung der Mäuse.[23]

Untersuchungen von Paloschi et al. zeigten bei vorliegender BAV und Aneurysma erhöhte TGF- β Proteinlevel, jedoch erniedrigte TGF- β -Aktivität. Dies wurde mit einer gesteigerten Bindung des TGF- β -Proteins in der inaktiven Form begründet und zeigt erneut, wie komplex die Interpretation des TGF- β -Signalweges und der Downstream-Regulation ist.[81]

Insgesamt zeigen unsere Ergebnisse wie vorbeschrieben, dass bei TAV-assoziiertem Aneurysma TGF- β 1 hochreguliert wird. Hingegen gibt es erstmals die gegenläufige Beobachtung bei vorliegender BAV und UAV.

5.5 Fazit

In Bezug auf unsere initiale Fragestellung zu Unterschieden der eNOS Proteinexpression bei fehlangelegter Aortenklappe und Dilatation im Vergleich zur regelrecht angelegten Aortenklappe und normalweiter Aorta zeigen sich in unseren Untersuchungen in der Tat auffällige Ergebnisse. Dass bei TAV kein Unterschied zwischen dilatierter und nicht-dilatierter Aorta vorlag, jedoch bei fehlangelegter Aortenklappe bei Dilatation eNOS erhöht war, kann sowohl für reaktive Proteinänderungen aufgrund von Strömungsanomalien bei fehlangelegter Aortenklappe als auch für eine genetische Prädisposition sprechen. Zum einen könnte bei BAV oder UAV je nach Geometrie der Aortenklappe ein Strömungsphänomen entstehen, und daher bei einem Teil der Patienten eine eNOS Erhöhung und damit eine Dilatation auslösen. Zum anderen könnte eine Subgruppe der Patienten mit BAV an einer genetisch determinierten eNOS-Erhöhung leiden, die eine Dilatation in einem Teil der Patienten bewirkt. Der Dilatation bei TAV scheint jedoch ein anderer Pathomechanismus zugrunde zu liegen.

Weiterhin wollten wir aufgrund von lokoregionären Beobachtungen die im Vorigen vorgestellten Hypothesen testen. Hierbei zeigte die eNOS Expression keinerlei signifikante regionale Unterschiede, was gegen eine ursächliche Strömungshypothese spräche.

Zuletzt analysierten wir, ob Unterschiede der eNOS Proteinexpression zwischen BAV und UAV bestehen. Hier ergaben sich keine signifikanten Unterschiede untereinander, jedoch zeigten sich insbesondere bei normalweiter Aorta erniedrigte eNOS Proteinkonzentrationen im Vergleich zur normal angelegten TAV. Mit diesen Beobachtungen lassen sich verschiedene Hypothesen aufstellen.

Einerseits könnte es möglich sein, dass es bei genetisch bedingtem Mangel an eNOS in der Proteinzusammensetzung der Aortenwand bei BAV und UAV zu einer Dilatation kommt und eNOS als Kompensationsmechanismus hochreguliert wurde, was eine Dilatation verhinderte.

Zum anderen besteht die Möglichkeit, dass veränderte Strömungsverhältnisse aufgrund einer fehlangelegten Aortenwand je nach Art der Verwirbelungen zu einer Herunterregulation von eNOS oder zu einer Überexpression von eNOS führen und es bei erhöhtem eNOS zur Ausbildung eines Aneurysmas kommt.

Allein von unseren Betrachtungen der eNOS Proteinkonzentration in der Aortenwand lassen sich die Entstehungshypothesen von AscA bei fehlangelegter Aortenklappe nicht endgültig beurteilen, es bestätigt sich jedoch die Assoziation von erhöhter eNOS Proteinexpression mit einer Aortendilatation.

Bei unseren Analysen zur Proteinexpression von TGF- β 1 im Vergleich zwischen angeborener Aortenklappenanomalie mit dilatierter Aorta ascendens und normaler Aortenklappe mit regulärer

Aorta ascendens können wir interessante Beobachtungen auswerten. Während TGF- β 1 bei normal angelegter Aortenklappe bei Dilatation erhöht ist, zeigen sich erniedrigte Proteinkonzentrationen bei dilatierter Aorta im Vergleich zur normalweiten Aorta bei BAV und UAV. Dies kann erneut sowohl durch eine strömungsbedingte Dysregulation von TGF- β 1 bei fehlangelegter Aortenklappe als auch eine genetische Prädisposition erklärt werden. Einmal mehr scheint die Pathogenese des AscA bei TAV anders zu verlaufen.

Bei Betrachtung der lokalen Proteinexpression von TGF- β 1 zeigen sich unterschiedliche lokoregionäre Verteilungen bei den verschiedenen Klappenmorphologien. Erneut gibt es ein gleichartiges Bild bei BAV und UAV wohingegen TAV ein anderes Verteilungsmuster präsentiert. Bei fehlangelegter Aortenklappe ist die Proteinkonzentration an der Konvexität der Aorta herunterreguliert, was in der Tat auf eine Proteinregulation aufgrund von Verwirbelungen hinweist.

Auf die Frage nach Unterschieden in der Proteinexpression von TGF- β 1 zwischen BAV und UAV ergibt sich kein signifikanter Unterschied. Jedoch zeigten sich bei dilatierter Aorta niedrigere Proteinlevel bei fehlangelegter Aortenklappe im Vergleich zur regulären Aortenklappe.

Insgesamt lassen diese Erkenntnisse spekulieren, ob TGF- β 1 bei fehlangelegter Aortenklappe genetisch bedingt herunterreguliert ist und es bei fehlender Möglichkeit des Organismus zur Kompensation auf Proteinebene zur Dilatation der Aorta kommt.

Alternativ ist es möglich, dass aufgrund von Strömungsverhältnissen insbesondere in der konvexen Aortenwand TGF- β 1 herunterreguliert wird und es konsekutiv zur Dilatation kommt. Für die Strömungshypothese würden die beobachteten unterschiedlichen Proteinexpressionen von TGF- β 1 der Konvexität und Konkavität der Aorta bei fehlangelegter Aortenklappe sprechen.

Zusammenfassend können wir anhand der Daten der vorliegenden Arbeit keine der beiden vorbeschriebenen Hypothesen zur Aneurysmaentstehung bei fehlangelegter Aortenklappe eindeutig beweisen oder widerlegen. Auch wenn einige Aspekte unserer Ergebnisse für die Strömungshypothese sprechen, ist unklar wieso nicht auch Patienten mit TAV und Aortenklappenerkrankung (AS, AI) aufgrund der veränderten Strömungsverhältnisse gleichartige Veränderungen wie BAV und UAV präsentieren. Bei einer alleinigen genetischen Ursache der Ausbildung eines AscA bei fehlangelegter Aortenklappe bleibt die Frage, wieso nicht alle Patienten gleichermaßen ein AscA ausbilden und weshalb teilweise lokoregionäre Unterschiede in der Aorta ascendens für bestimmte Proteine bestehen. In Zusammenschau lässt sich also vermuten, dass eine Mischung beider Hypothesen der Wahrheit am nächsten kommt und eine genetische Prädisposition mit hämodynamischer Exazerbation eine sinnvolle Erklärung der vorliegenden Ergebnisse und der heterogenen Klinik der Patienten bietet.

Insgesamt scheinen unsere Ergebnisse jedoch in jedem Fall zu bestärken, dass der Pathomechanismus der Aneurysmaentstehung in der Aorta ascendens bei fehlangelegter Aortenklappe ein anderer als bei regulärer TAV ist.

Einschränkend möchten wir zu bedenken geben, dass unsere Analysen aufgrund der niedrigen Fallzahlen der einzelnen Subgruppen limitiert sind. Diese vorläufigen Daten müssen sicherlich durch größere Patientenkohorten verifiziert und weiter analysiert werden.

Zudem möchten wir anmerken, dass unsere Kontrollgruppe der TAV einen gewissen Störfaktor darstellt, da aufgrund einer Aortenklappenerkrankung wie AS und/oder AI die Indikation zur offenen Aortenklappenoperation bestand. Gewebe der Aorta ascendens lässt sich aufgrund offensichtlicher ethischer Gründe nicht von vollkommen herzgesunden Patienten akquirieren und somit stellt unsere Kontrollgruppe lediglich eine relative Annäherung an eine gesunde Kohorte dar.

Insgesamt bieten unsere Ergebnisse einen Einblick in die mögliche Pathogenese der AscA bei BAV und UAV und zeigen, dass weitere Untersuchungen der Proteinexpressionen verschiedener Proteine der Aortenwand notwendig sind.

Warum es zudem sinnvoll sein kann, die betroffenen Proteine der Pathogenese dieser Aneurysmen zu verstehen, erklärt sich durch den potentiellen Therapieansatz, den sie bieten können.

5.6 Ausblick

5.6.1 Therapieoptionen der AscA

Das standardmäßige Therapieregime von AscA besteht aus zwei Stufen. Wenn die Erkrankung in einem frühen Stadium diagnostiziert wurde, kann die Therapie vom asymptomatischen AscA in der Minimierung von kardiovaskulären Risikofaktoren liegen. Das Ziel hierin besteht in einem langsameren Progress der Dilatation und daraus resultierender Reduktion des Dissektions- und Rupturrisikos.[40] Die Wirksamkeit medikamentöser Therapien wird aktuell noch weiter untersucht. Ein positiver Effekt von β -Blockern und AT1 konnte in Studien bei MFS in einer Verlangsamung der Dilatation beobachtet werden.[77];[40][13] Ob der gleiche Effekt bei nicht-marfanoiden AscA zu erzielen ist, wird aktuell noch untersucht.[92]

Bei nachgewiesenem AscA wird dieses in jedem Fall engmaschig verlaufskontrolliert, um ein Wachstum aufzeigen und den geeigneten Zeitpunkt für eine chirurgische Intervention festlegen

zu können. Zurzeit ist die Größe des Aneurysmas der einzige Parameter, von dem eine chirurgische Intervention und deren Zeitpunkt abhängig gemacht wird.[57]

Aktuell wird bei AscA eine operative Therapie ab einem Durchmesser von 5,5 cm empfohlen.[40]·[92]·[17] Aufgrund des erhöhten Risikos für Aortendissektion oder -ruptur wird bei vorliegender BAV, MFS oder familiärem TAA bereits früher interveniert.[57]·[92]·[17] Die Mortalität einer solchen elektiven präventiven Operation liegt selbst in großen Zentren bei 2,5 – 5%.[52]·[57]·[92] Da sich die Sicherheit und Effektivität der chirurgischen Therapie von AscA zum jetzigen Zeitpunkt nur wenig optimieren lässt, wird immer mehr auf neue Ansatzpunkte dieser Erkrankung fokussiert. Neue Therapieansätze basierend auf dem Verständnis der Pathogenese von Aortenaneurysmen könnte das Voranschreiten der Erkrankung in frühen Stadien drastisch verlangsamen oder das Risiko für aneurysma-assoziierte Komplikationen antizipieren. Hier könnten in der Zukunft sogenannte Biomarker relevant sein, die das Bestehen oder die Schwere von Aneurysmen und ggf. das Risiko für Dissektionen oder Rupturen beurteilen lassen.

5.6.2 Biomarker

Biomarker sind messbare biologische Parameter, z.B. Proteine, metabolische Nebenprodukte, Zellen oder Gene, die zu diagnostischen oder prognostischen Zwecken mit bestimmten Erkrankungen assoziiert werden können.[8]

Ein bisher gut untersuchter Biomarker bei Aortendissektion sind die D-Dimere. Bei Vorliegen einer Aortendissektion beträgt die Sensitivität 99 % und die Dimension der D-Dimere korreliert mit dem Ausmaß der Dissektion und der Mortalitätsrate. Jedoch zeigen die D-Dimere eine schlechte Spezifität, da sie bei einer Reihe anderer Erkrankungen ebenfalls erhöht sind. Außerdem eignen sich die D-Dimere lediglich als diagnostisches Mittel bei stattgehabter Dissektion und haben keinen prädiktiven Stellenwert.[17]·[6]

In der Pathogenese der Aortenaneurysmen spielt der Umbau der EZM eine essentielle Rolle. Daher werden weitere Biomarker in eben diesem Umfeld gesucht. Hierzu gehören insbesondere MMPs, die in der Pathogenese der BAV-assoziierten Aneurysmen eine Rolle spielen sollen und Teil des TGF- β -Signalweges sind.[17]·[94] Zudem haben Studien bereits gezeigt, dass bei Patienten mit MFS der Proteingehalt von zirkulierendem TGF- β 1 im Serum erhöht war. Diese Veränderung war unter Therapie mit β -Blockern nicht mehr nachweisbar.[66] Ob diese Erkenntnisse z.B. für nicht-marfanoiden Patienten mit Aneurysmen zutreffen, ist unbekannt. Jedoch wurden bereits erhöhte TGF- β Level im Serum bei aufgetretener Dissektion beschrieben, auch wenn kein MFS vorlag.[6]

Die Verfügbarkeit eines solchen Biomarkers hätte viele Vorteile. Es könnte ein potentieller Ausblick für zukünftige Screeningverfahren und Überwachungsprotokolle von Risikopatienten,

z.B. bei vorliegender familiärer Vorbelastung darstellen und ggf. sogar einen medikamentösen Therapieerfolg überwachen. Zudem bietet ein solcher gegebenenfalls bei Verständnis des molekularbiologischen Pathomechanismus auch einen therapeutischen Angriffspunkt zur Prophylaxe der Aneurysmaentstehung.

6. Anhang

6.1 Daten tabellarisch

	Dilatiert	Nicht-dilatiert	p-Wert
Gesamt A1+A2	30,2 ±19,4	23,0 ±15,5	0,1869
Gesamt A1	34,7 ±21,1	23,6 ±15,0	0,0763
Gesamt A2	25,7 ±17,0	22,3 ±16,5	0,6960
TAV A1+A2	31,8 ±15,0	34,2 ±13,3	0,6802
TAV A1	33,0 ±12,4	36,6 ±17,5	0,6880
TAV A2	30,5 ±18,4	31,7 ±8,3	0,8856
BAV A1+A2	22,0 ±18,0	16,9 ±17,6	0,3474
BAV A1	29,3 ±23,6	14,9 ±8,5	0,1901
BAV A2	14,7 ±4,9	18,9 ±24,4	0,4848
UAV A1+A2	36,9 ±22,9	17,8 ±8,7	0,0597
UAV A1	41,9 ±26,4	19,3 ±8,0	0,0723
UAV A2	32,0 ±19,9	16,4 ±9,9	0,1159

◆ **Tabelle 7. eNOS - Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert**

Die Ergebnisse werden als MW ±SD angegeben. (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, TAV = tricuspid Aortenklappe, BAV = bicuspid Aortenklappe, UAV = unicuspid Aortenklappe)

	D1	D2	p-Wert
Gesamt	30,3 ±17,8	33,3 ±18,1	0,6203
A1	35,7 ±23,0	32,1 ±16,9	0,7559
A2	23,3 ±16,0	32,1 ±19,5	0,3873
B1	33,5 ±15,3	38,5 ±21,4	0,5825
B2	28,6 ±15,0	30,3 ±19,4	0,7750

◆ **Tabelle 8. eNOS - Vergleich D1 versus D2**

Die Ergebnisse werden als MW ±SD angegeben. (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, D = dilatiert)

	TAV	BAV	UAV	p-Wert
Gesamt A1+A2	33,0 ±13,9	19,4 ±17,6	27,4 ±19,5	0,0018
Gesamt A1	34,8 ±14,6	22,1 ±18,5	30,6 ±22,0	0,0906
Gesamt A2	31,1 ±13,6	16,8 ±17,0	24,2 ±17,1	0,0212
D A1+A2+B1+B2	32,3 ±16,3	25,9 ±16,4	35,1 ±20,0	0,2048
D A1	33,0 ±12,4	29,3 ±23,6	41,9 ±26,4	0,5957
D A2	30,5 ±18,4	14,7 ±4,9	32,0 ±19,9	0,1457
D B1	38,1 ±18,5	26,9 ±9,9	39,7 ±19,7	0,3753
D B2	27,7 ±17,8	32,8 ±18,2	26,7 ±13,2	0,7761
ND A1+A2	34,2 ±13,3	16,9 ±17,6	17,8 ±8,7	0,0019
ND A1	36,6 ±17,5	14,9 ±8,5	19,3 ±8,0	0,0175
ND A2	31,7 ±8,3	18,9 ±24,4	16,4 ±9,9	0,0709

◆ **Tabelle 9. eNOS - Vergleich Klappenmorphologien**

Die Ergebnisse werden als MW ±SD angegeben. (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthese, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

	A1	A2	B1	B2	p-Wert
Gesamt	29,2 ±18,9	24,0 ±16,6	-	-	0,1307
Gesamt D	34,7 ±21,1	25,7 ±17,0	34,9 ±16,7	29,1 ±15,8	0,1053
TAVD	33,0 ±12,4	30,5 ±18,4	38,1 ±18,5	27,7 ±17,8	0,4307
BAVD	29,3 ±23,6	14,7 ±4,9	26,9 ±9,9	32,8 ±18,2	0,2324
UAVD	41,9 ±26,4	32,0 ±19,9	39,7 ±19,7	26,7 ±13,2	0,3605
Gesamt ND	23,6 ±15,0	22,3 ±16,5	-	-	0,7609
TAVND	36,6 ±17,5	31,7 ±8,3	-	-	0,5243
BAVND	14,9 ±8,5	18,9 ±24,4	-	-	0,4375
UAVND	19,3 ±8,0	16,4 ±9,9	-	-	0,5842

◆ **Tabelle 10. eNOS - Vergleich lokoregionäre Unterschiede**

Die Ergebnisse werden als MW ±SD angegeben. (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthese, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, TAV = tricuspidale Aortenklappe, BAV = bicuspidale Aortenklappe, UAV = unicuspidale Aortenklappe, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

	Dilatiert	Nicht-dilatiert	p-Wert
Gesamt A1+A2	1,226 ±0,859	1,605 ±0,858	0,0520
Gesamt A1	1,098 ±0,963	1,377 ±0,871	0,2968
Gesamt A2	1,353 ±0,745	1,833 ±0,804	0,0719
TAV A1+A2	2,149 ±0,691	1,265 ±0,963	0,0169
TAV A1	2,228 ±0,813	1,005 ±1,026	0,0451

TAV A2	2,070 ±0,612	1,525 ±0,908	0,3939
BAV A1+A2	0,848 ±0,426	1,928 ±0,737	0,0002
BAV A1	0,707 ±0,264	1,653 ±0,737	0,0142
BAV A2	0,990 ±0,530	2,202 ±0,686	0,0065
UAV A1+A2	0,679 ±0,524	1,623 ±0,795	0,0024
UAV A1	0,360 ±0,232	1,473 ±0,846	0,0111
UAV A2	0,998 ±0,554	1,772 ±0,788	0,0775

◆ **Tabelle 11. TGF-β1 - Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert**

Die Ergebnisse werden als MW ±SD angegeben. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, TAV = tricuspid Aortenklappe, BAV = bicuspid Aortenklappe, UAV = unicuspid Aortenklappe)

	D1	D2	p-Wert
Gesamt	0,985 ±0,527	1,376 ±0,939	0,2356
A1	0,745 ±0,656	2,016 ±1,093	0,0140
A2	1,263 ±0,560	1,586 ±1,151	0,4270
B1	0,900 ±0,334	0,884 ±0,537	0,9396
B2	1,032 ±0,408	1,018 ±0,592	0,9537

◆ **Tabelle 12. TGF-β1 – Vergleich D1 versus D2**

Die Ergebnisse werden als MW ±SD angegeben. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung)

	TAV	BAV	UAV	p-Wert
Gesamt A1+A2	1,707 ±0,936	1,388 ±0,806	1,151 ±0,816	0,1018
Gesamt A1	1,617 ±1,090	1,180 ±0,723	0,917 ±0,829	0,1634
Gesamt A2	1,798 ±0,792	1,596 ±0,862	1,385 ±0,765	0,4648
D A1+A2+B1+B2	1,608 ±0,814	0,914 ±0,350	0,759 ±0,477	0,0003
D A1	2,228 ±0,813	0,707 ±0,264	0,360 ±0,232	<0,0001
D A2	2,070 ±0,612	0,990 ±0,530	0,998 ±0,554	0,0011
D B1	1,080 ±0,457	0,830 ±0,259	0,777 ±0,401	0,3640
D B2	1,055 ±0,620	1,128 ±0,156	0,902 ±0,489	0,6956
ND A1+A2	1,265 ±0,963	1,928 ±0,737	1,623 ±0,795	0,1680
ND A1	1,005 ±1,026	1,653 ±0,737	1,473 ±0,846	0,4380
ND A2	1,525 ±0,908	2,202 ±0,686	1,772 ±0,788	0,3577

◆ **Tabelle 13. TGF-β1 – Vergleich Klappenmorphologien**

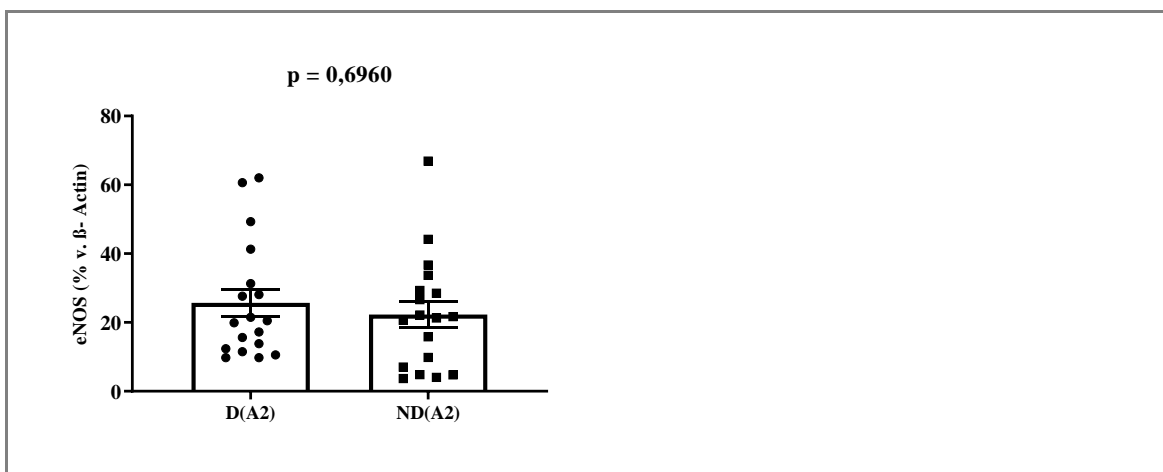
Die Ergebnisse werden als MW ±SD angegeben. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

	A1	A2	B1	B2	p-Wert
Gesamt	1,238 ±0,916	1,593 ±0,802	-	-	0,0257
Gesamt D	1,098 ±0,963	1,353 ±0,745	0,896 ±0,383	1,028 ±0,447	0,0466
TAVD	2,228 ±0,813	2,070 ±0,612	1,080 ±0,457	1,055 ±0,620	0,0020
BAVD	0,707 ±0,264	0,990 ±0,530	0,830 ±0,259	1,128 ±0,156	0,2671
UAVD	0,360 ±0,232	0,998 ±0,554	0,777 ±0,401	0,902 ±0,489	0,0505
Gesamt ND	1,377 ±0,871	1,833 ±0,804	-	-	0,0660
TAVND	1,005 ±1,026	1,525 ±0,908	-	-	0,4074
BAVND	1,653 ±0,737	2,202 ±0,686	-	-	0,2210
UAVND	1,473 ±0,846	1,772 ±0,788	-	-	0,2914

◆ **Tabelle 14. TGF-β1 – Vergleich lokoregionäre Unterschiede**

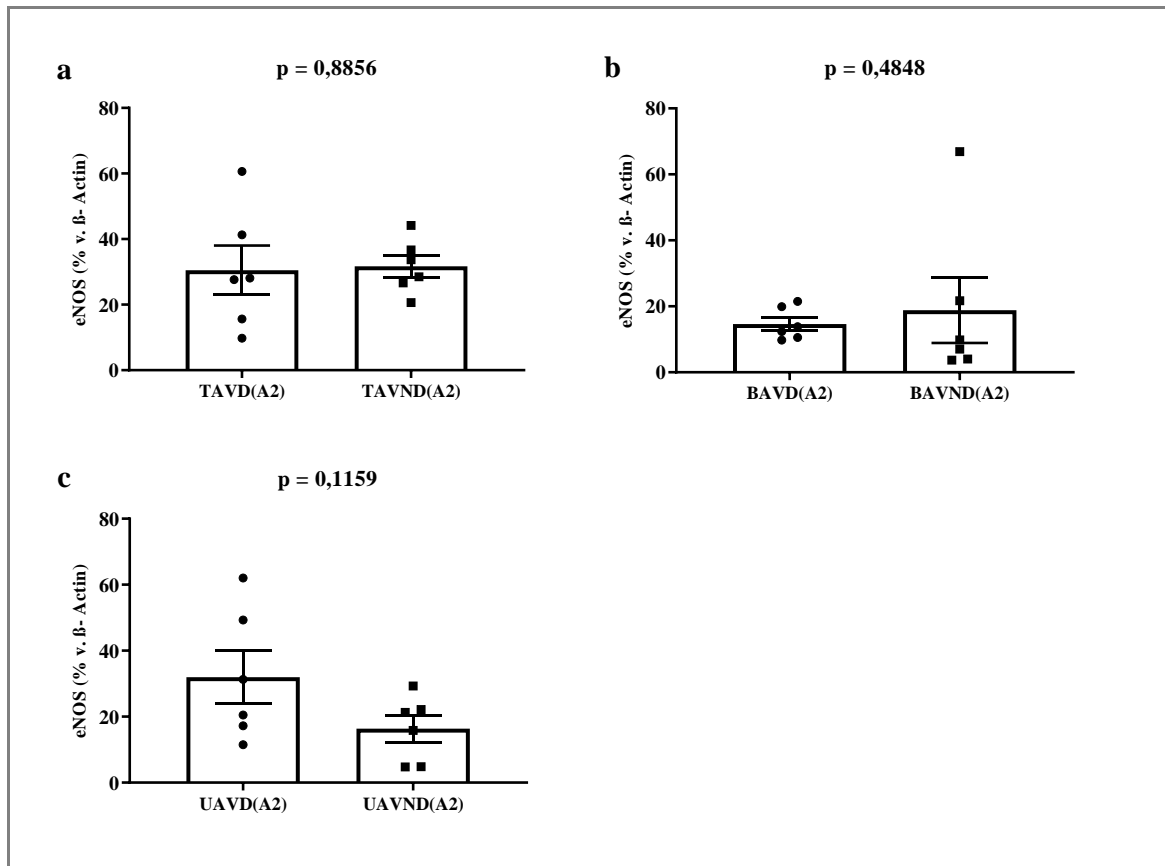
Die Ergebnisse werden als MW ±SD angegeben. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

6.2 Daten grafisch



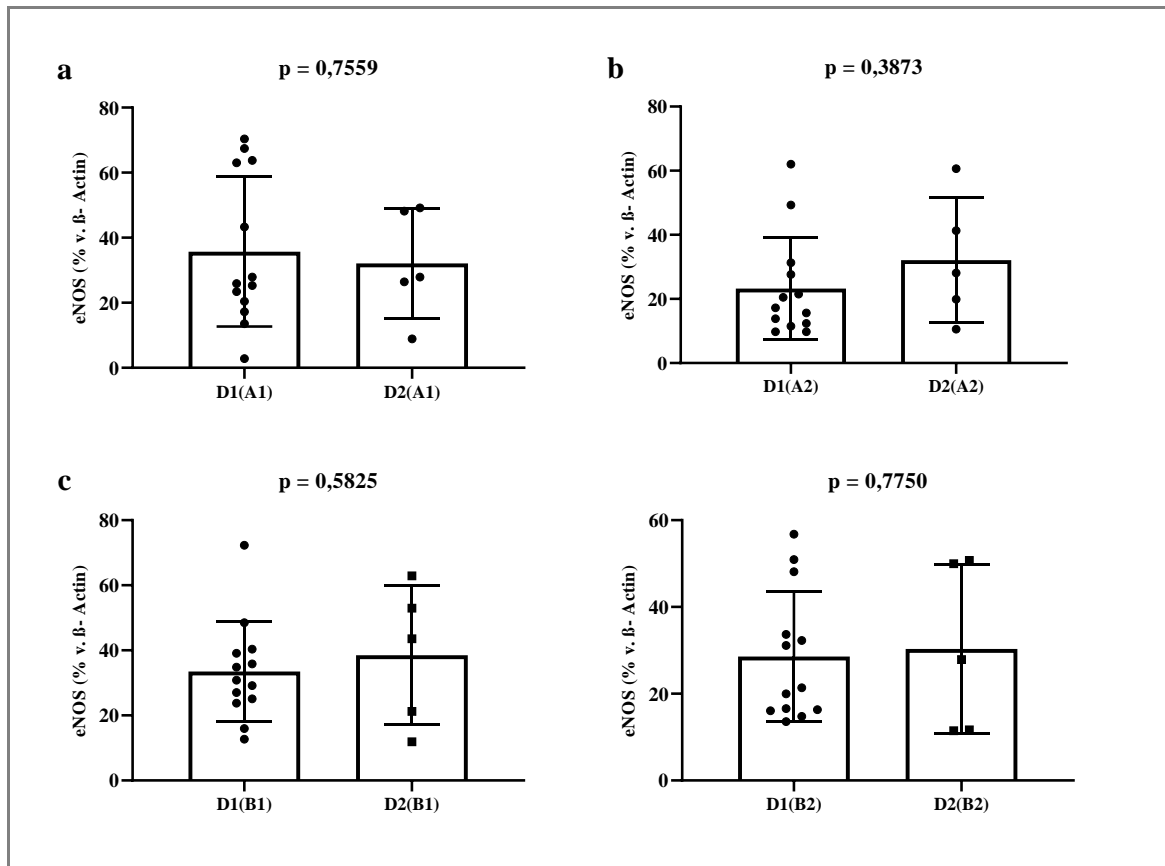
◆ **Grafik 21. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β-Actin derselben Bande. Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert für Lokalität A2. (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)

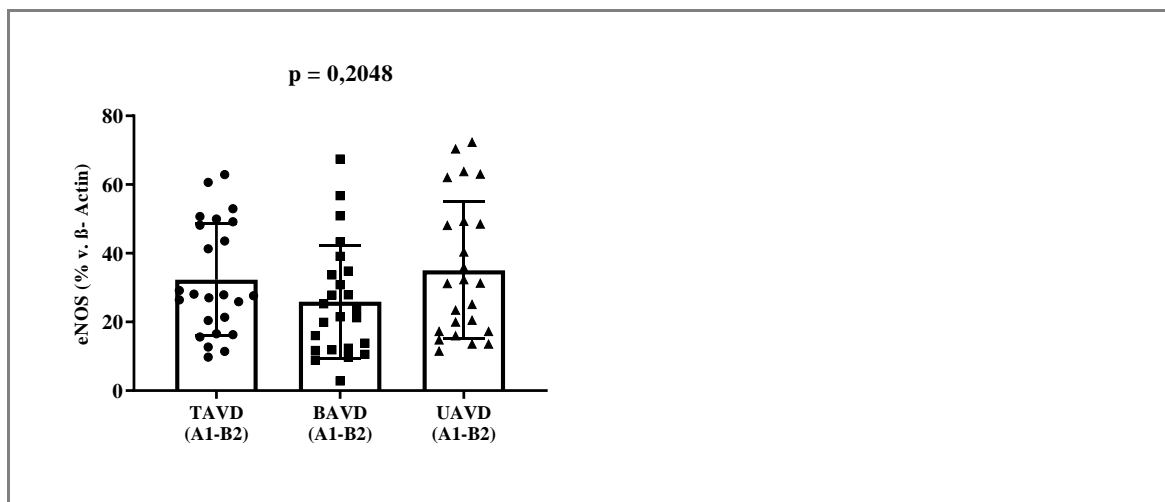


◆ **Grafik 22. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

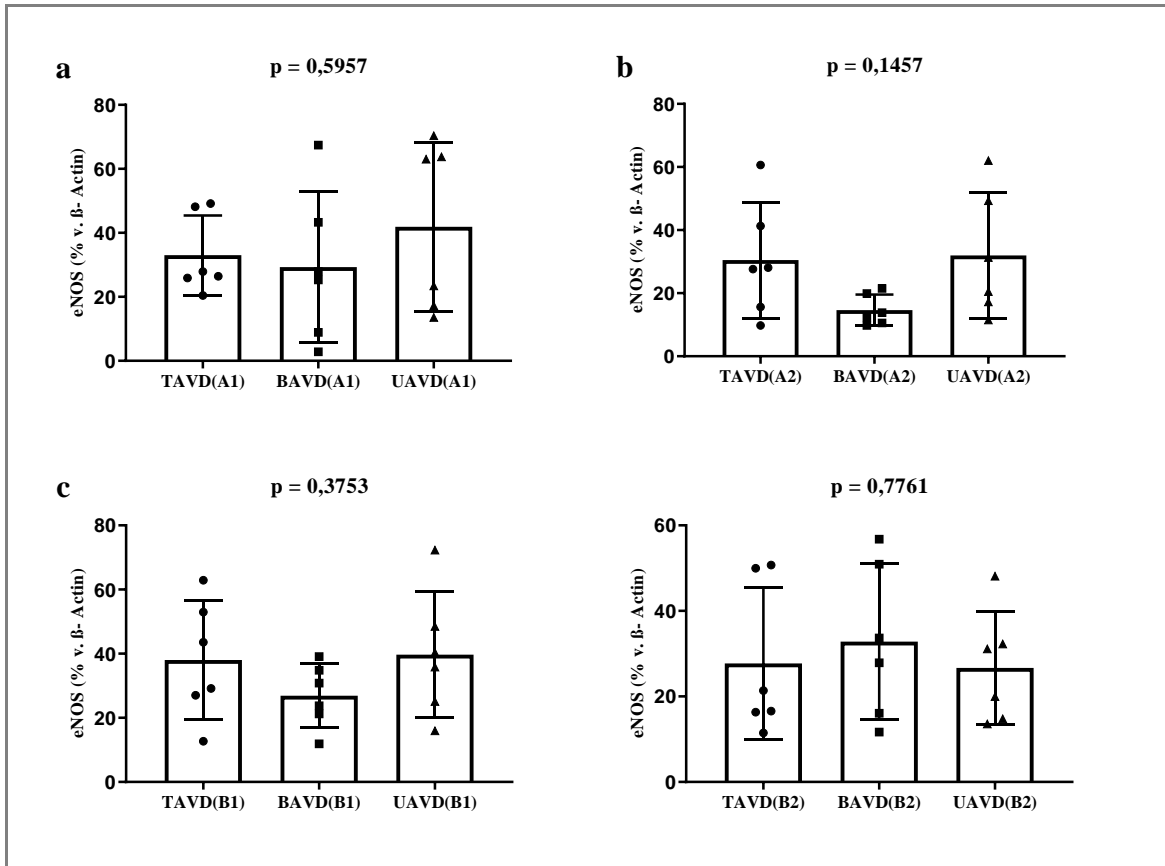
Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert. Subgruppenanalyse entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien der Lokalität A2: tricuspide (a), bicuspide (b) und unicuspide (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)



◆ **Grafik 23. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**
 Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich Dilatationstypen D1 versus D2. Subgruppenanalyse entsprechend der einzelnen Lokalitäten: A1 (a), A2 (b), B1 (c) und B2 (d). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase)

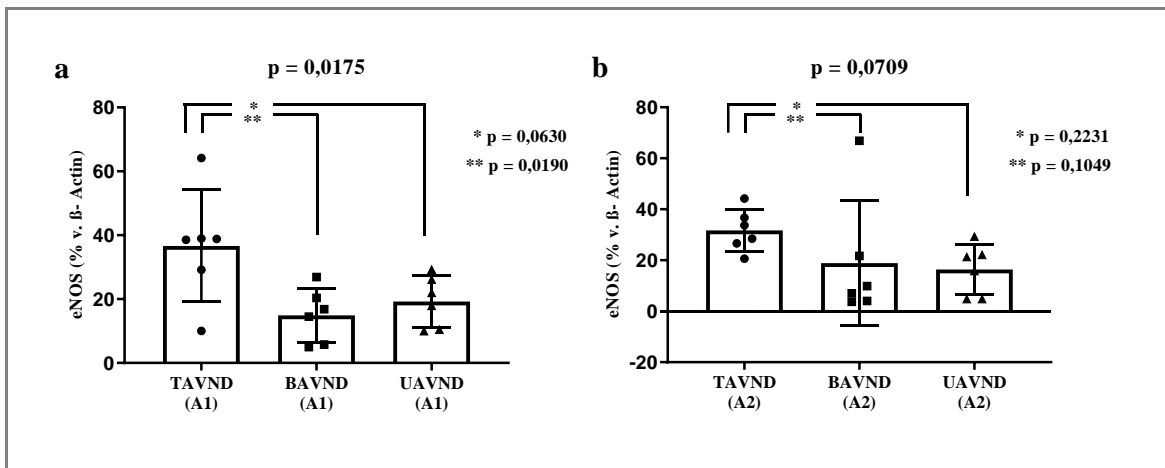


◆ **Grafik 24. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**
 Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich der Klappenmorphologien untereinander; Subgruppenanalyse der dilatierten Proben als gepoolte Lokalisationen. (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspidale Aortenklappe, BAV = bicuspidale Aortenklappe, UAV = unicuspidale Aortenklappe, D = dilatiert)



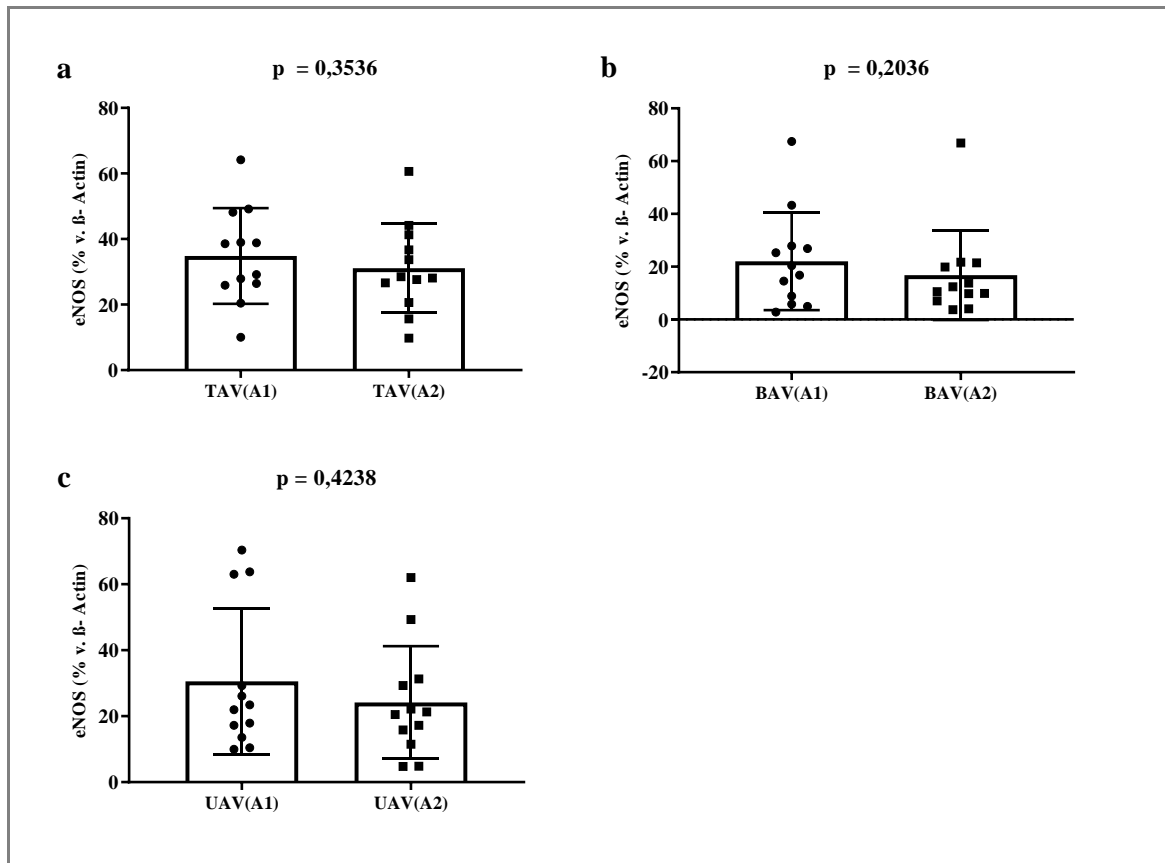
◆ **Grafik 25. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich der Klappenmorphologien untereinander; Subgruppenanalyse der dilatierten Proben entsprechend der einzelnen Lokalitäten: A1 (a), A2 (b), B1 (c) und B2 (d). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, D = dilatiert)

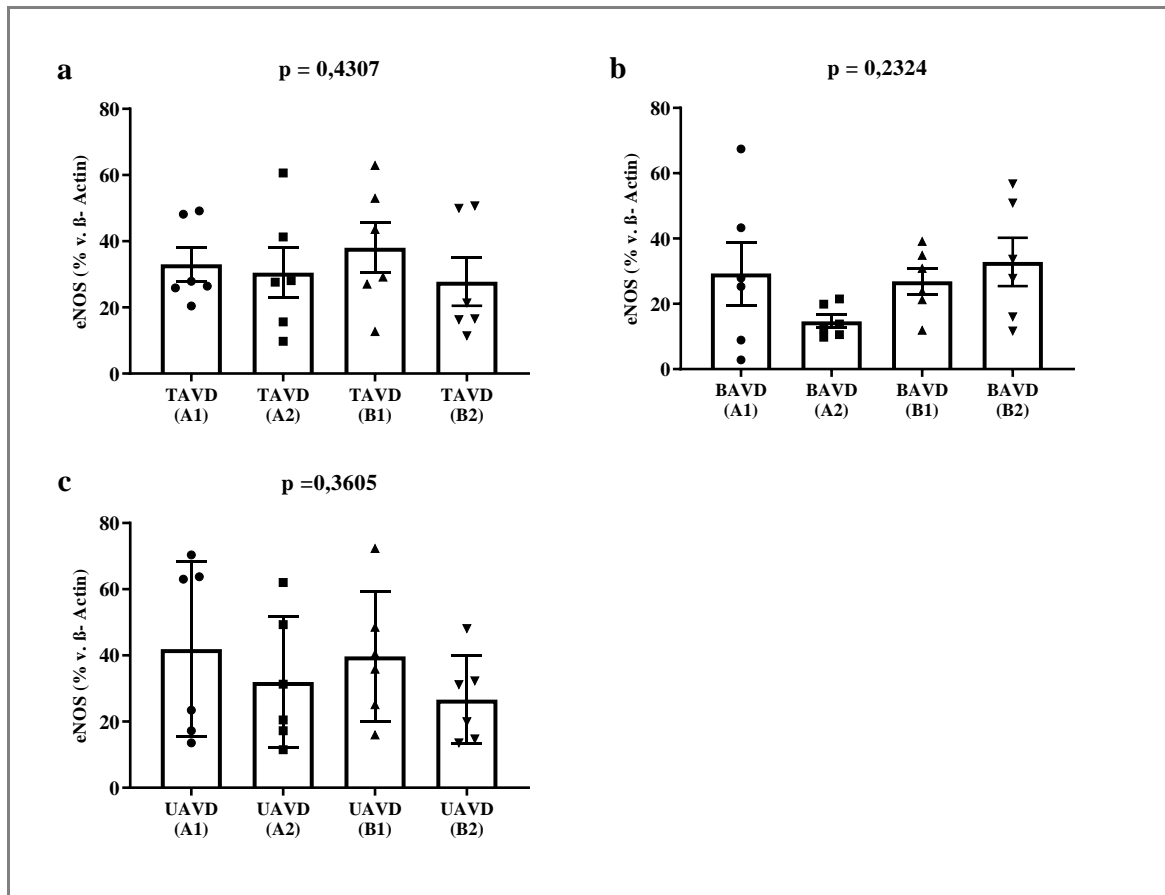


◆ **Grafik 26. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich der Klappenmorphologien untereinander; Subgruppenanalyse der nicht-dilatierten Proben entsprechend der einzelnen Lokalitäten: A1 (a), A2 (b). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, ND = nicht-dilatiert)

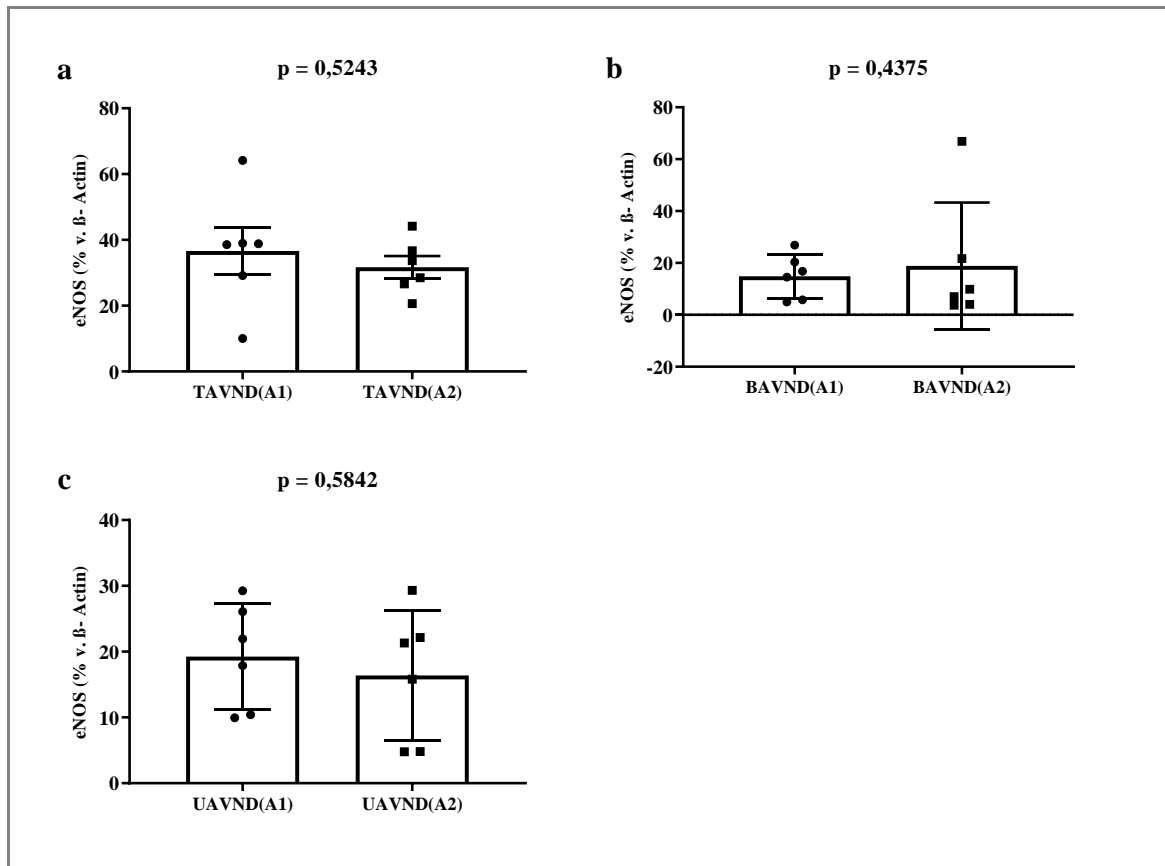


◆ **Grafik 27. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**
 Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich Lokalität A1 versus A2; Subgruppenanalyse entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspid (a), bicuspid (b) und unicuspid (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspid Aortenklappe, BAV = bicuspid Aortenklappe, UAV = unicuspid Aortenklappe)



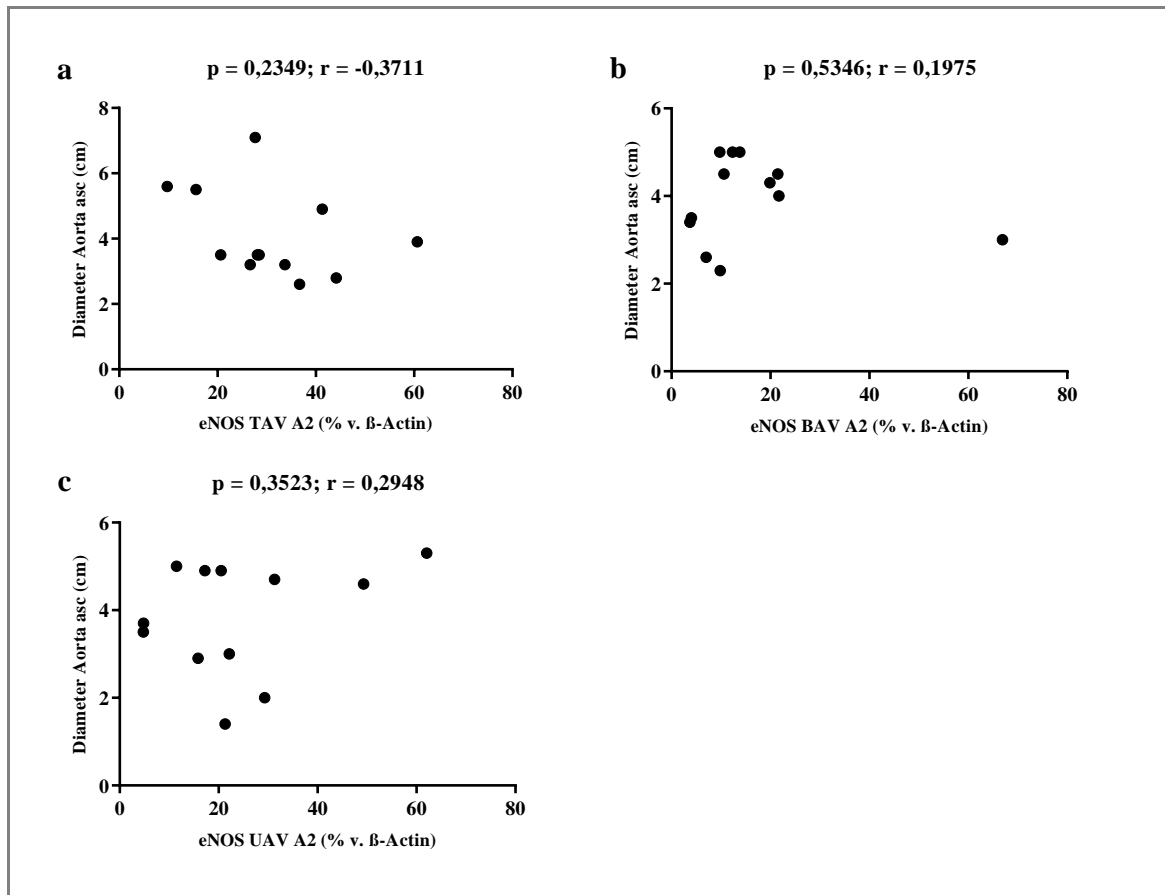
◆ **Grafik 28. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich Lokalität A1 bis B2; Subgruppenanalyse der dilatierten Proben entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspide (a), bicuspide (b) und unicuspide (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, D = dilatiert)



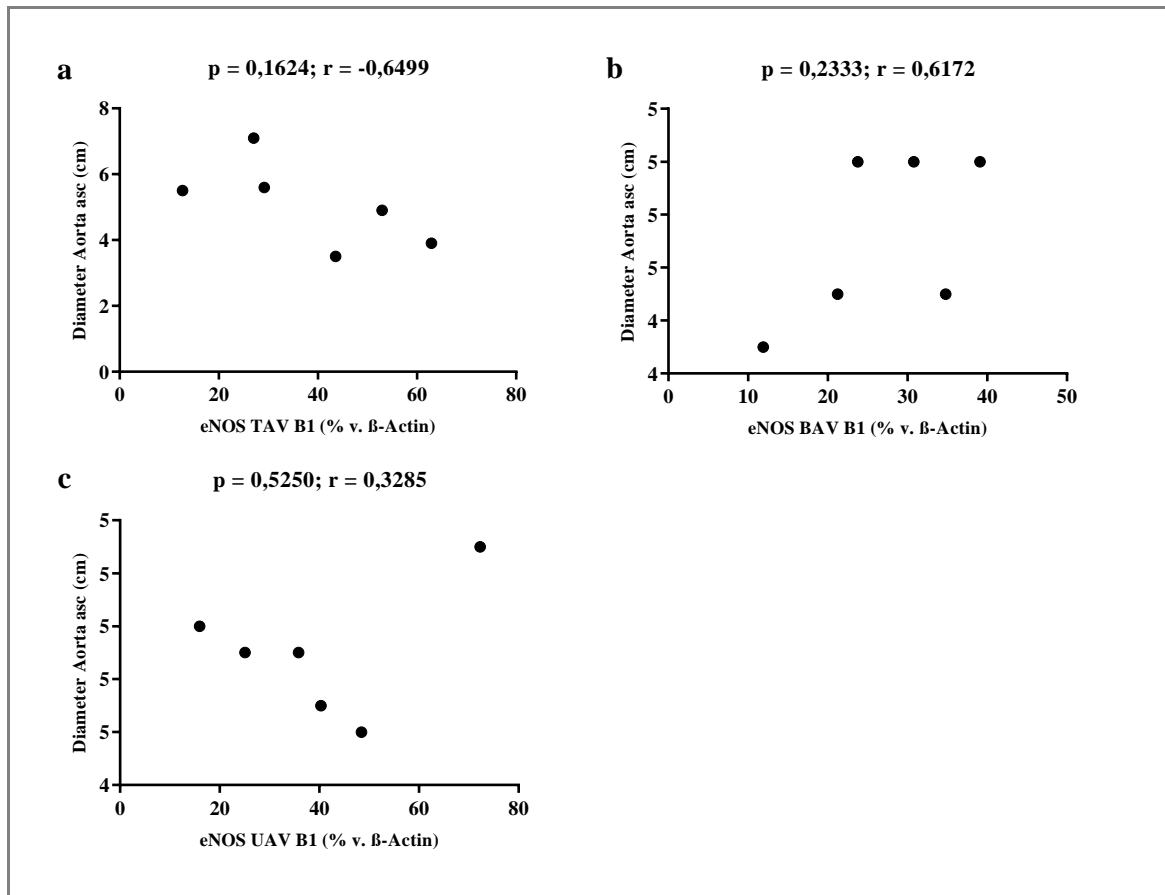
◆ **Grafik 29. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Vergleich Lokalität A1 versus A2; Subgruppenanalyse der nicht-dilatierten Proben entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspide (a), bicuspide (b) und unicuspide (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, ND = nicht-dilatiert)



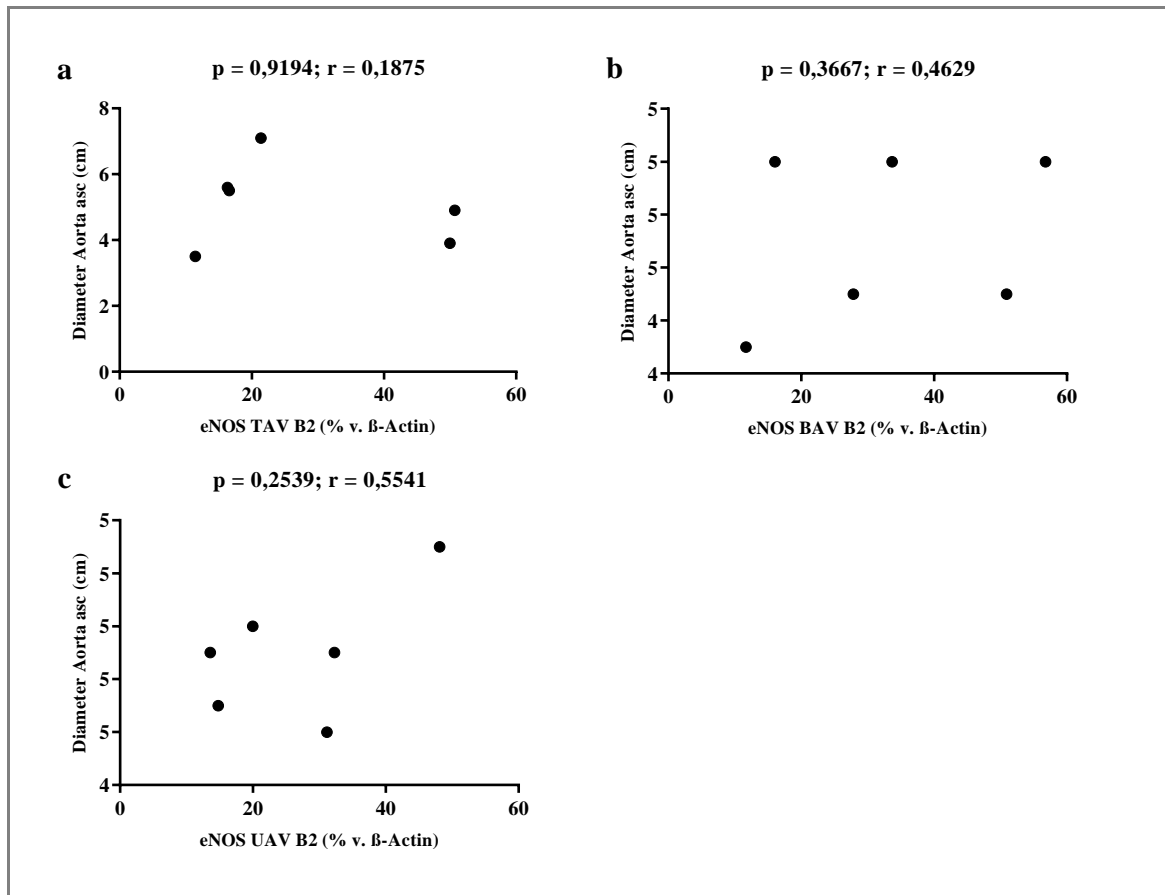
◆ **Grafik 30. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Korrelationsanalyse von Lokalität A2 und Diameter Aorta ascendens. Subgruppenanalyse entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspid (a), bicuspid (b) und unicuspid (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, asc = ascendens, TAV = tricuspid Aortenklappe, BAV = bicuspid Aortenklappe, UAV = unicuspid Aortenklappe)



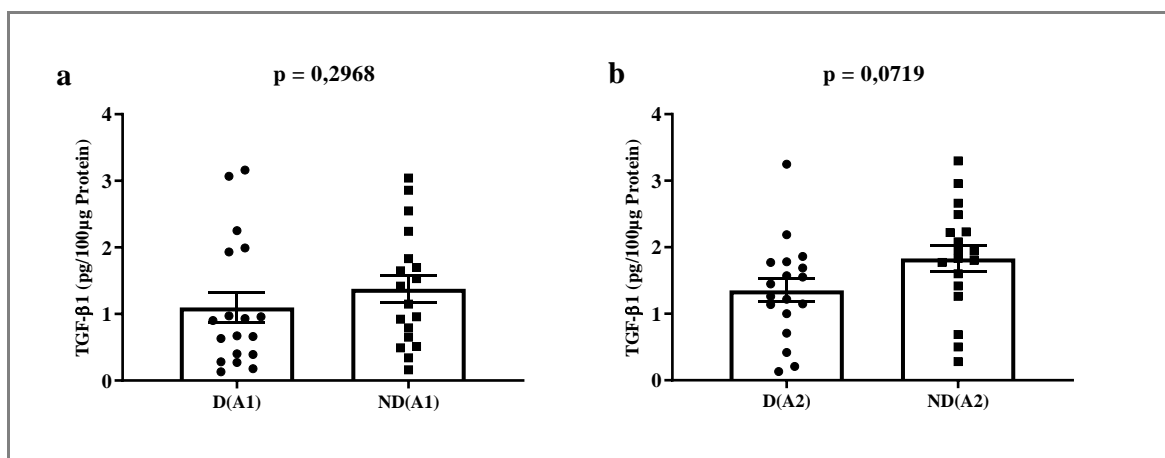
◆ **Grafik 31. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Korrelationsanalyse von Lokalität B1 und Diameter Aorta ascendens. Subgruppenanalyse entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspid (a), bicuspid (b) und unicuspid (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, asc = ascendens, TAV = tricuspid Aortenklappe, BAV = bicuspid Aortenklappe, UAV = unicuspid Aortenklappe)



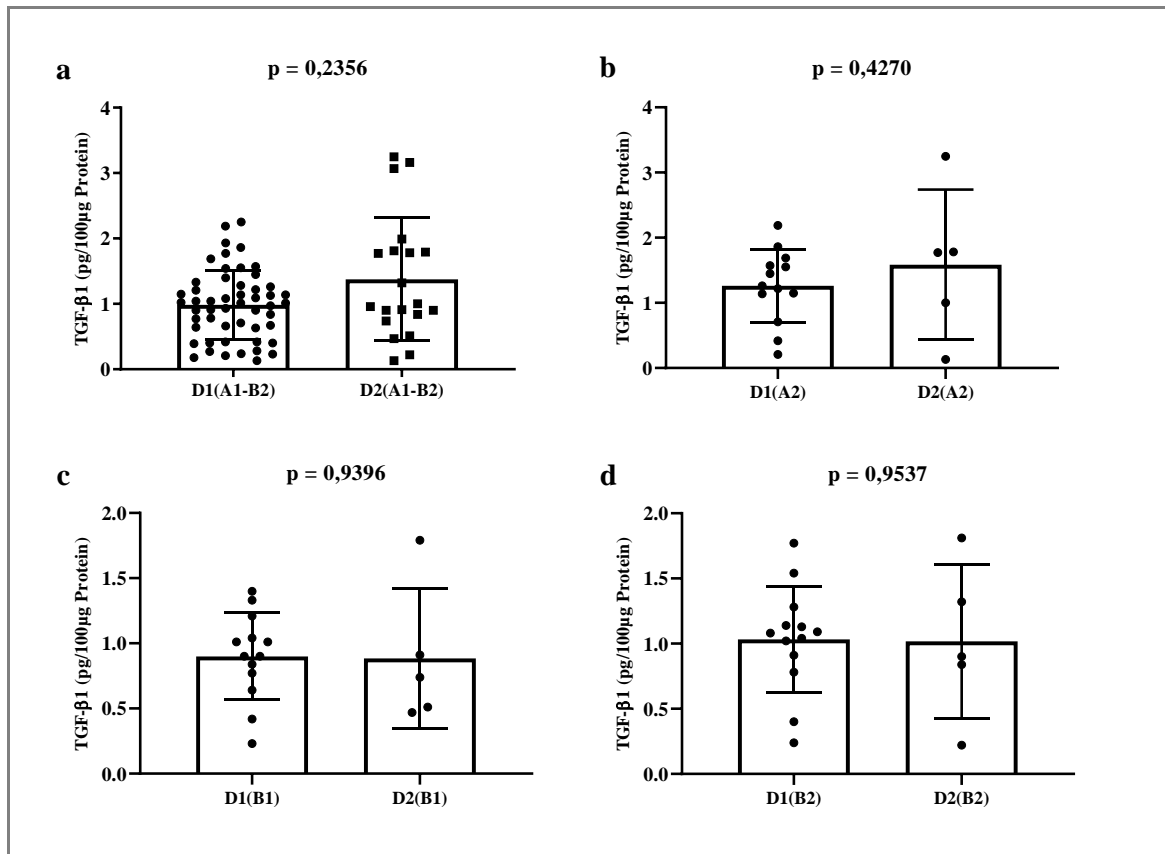
◆ **Grafik 32. Bestimmung der Proteinkonzentration von eNOS mittels Western Blot**

Angabe als relativen Wert in Abhängigkeit von β -Actin derselben Bande. Korrelationsanalyse von Lokalität B2 und Diameter Aorta ascendens. Subgruppenanalyse entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspide (a), bicuspide (b) und unicuspide (c). (eNOS = Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase, asc = ascendens, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe)



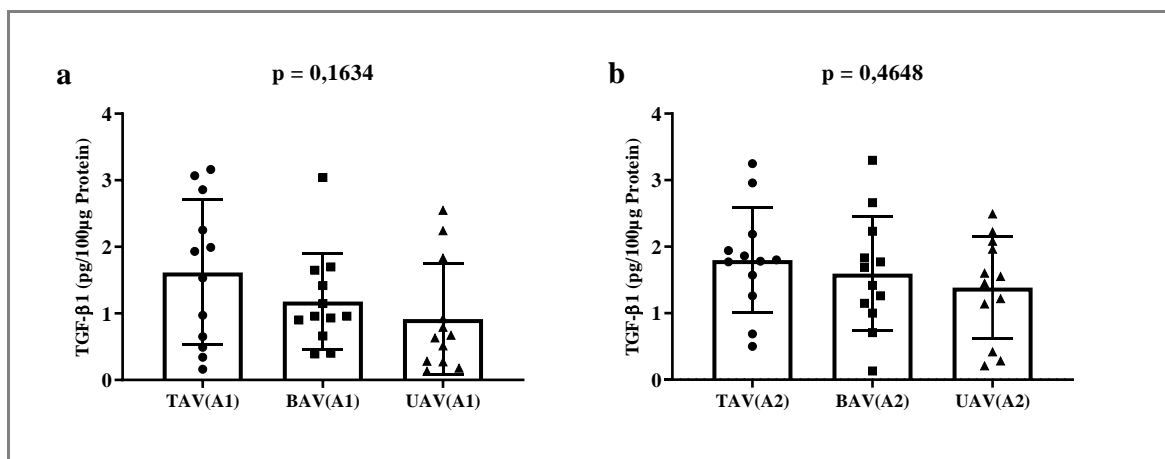
◆ **Grafik 33. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF- β 1 mittels ELISA**

Vergleich dilatiert versus nicht-dilatiert, Subgruppenanalyse nach den Lokalitäten A1 (a) und A2 (b). (TGF- β 1 = Transforming Growth Factor Beta 1, D = dilatiert, ND = nicht-dilatiert)



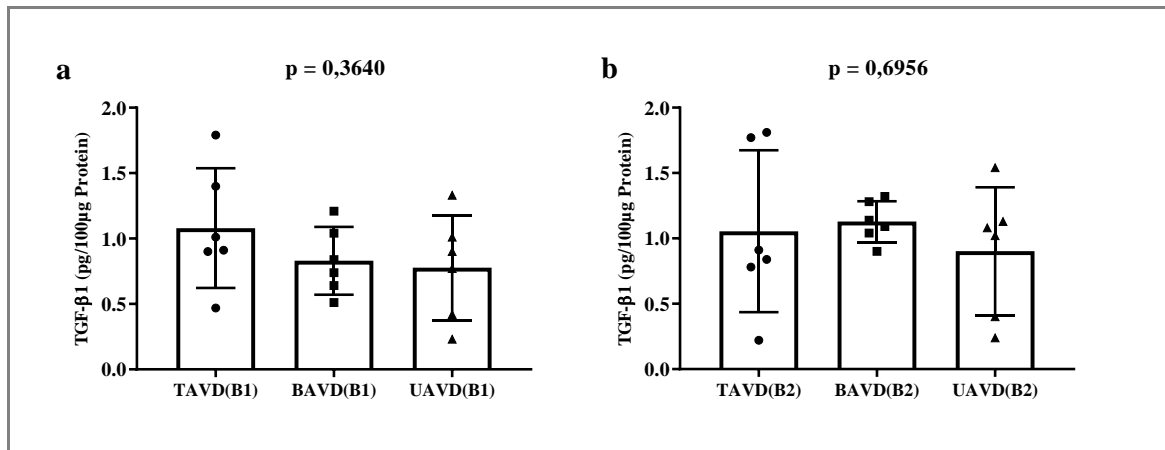
◆ **Grafik 34. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF-β1 mittels ELISA**

Vergleich Dilatationstypen D1 versus D2. Vergleich der gepoolten Lokalisationen (a), sowie Subgruppenanalyse der Lokalität A2 (b), B1 (c) und B2 (d). (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, D = dilatiert)



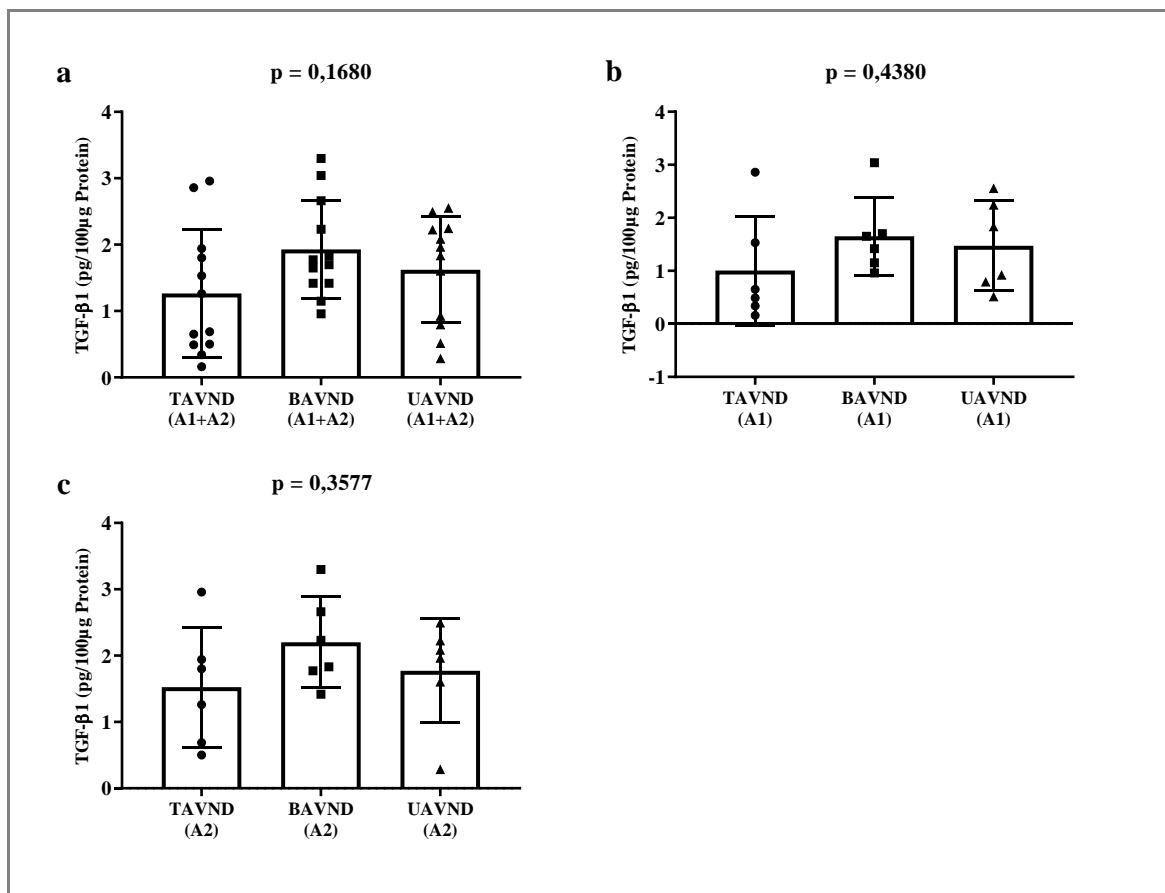
◆ **Grafik 35. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF-β1 mittels ELISA**

Vergleich der Klappenmorphologien untereinander. Subgruppenanalyse der Lokalitäten A1 (a) und A2 (b). (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe)



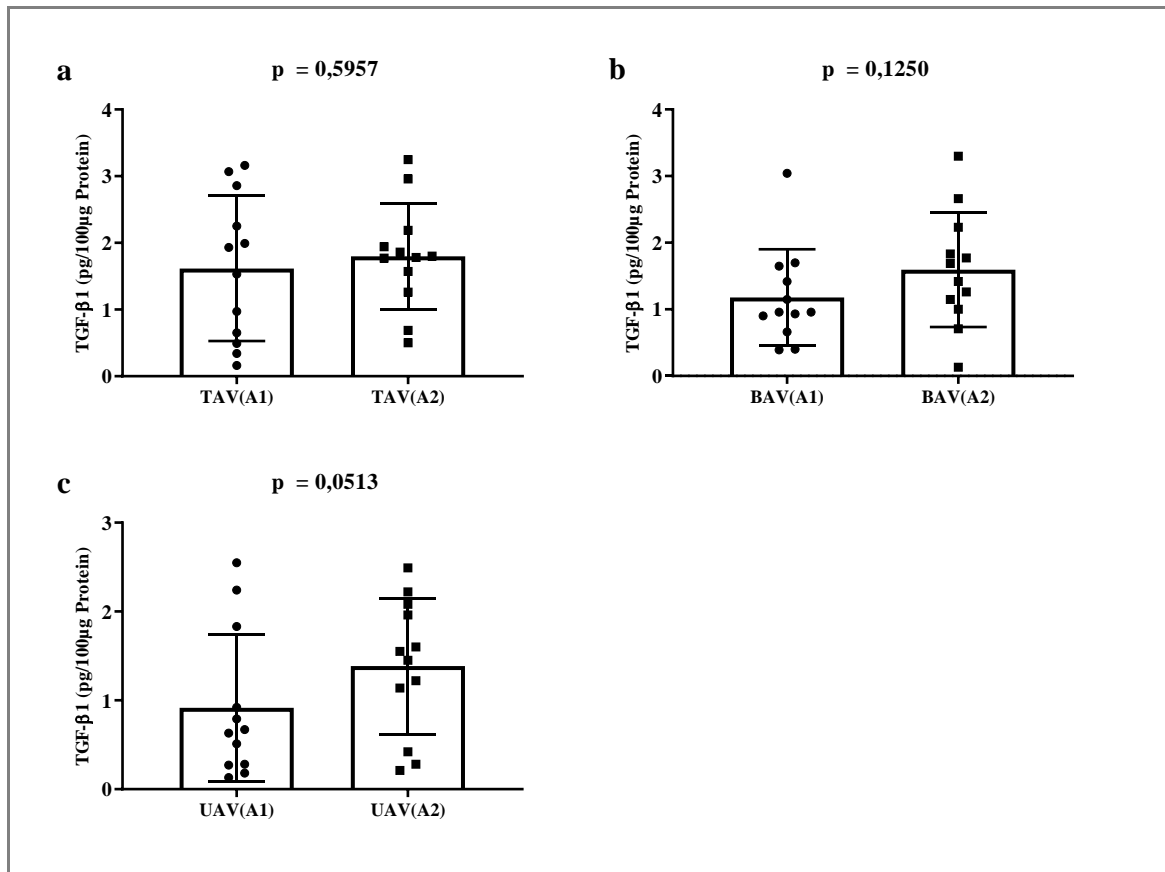
◆ **Grafik 36. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF- β 1 mittels ELISA**

Vergleich der Klappenmorphologien untereinander. Subgruppenanalyse der Probanden mit dilatiertes Aorta der Lokalität B1 (a) und B2 (b). (TGF- β 1 = Transforming Growth Factor Beta 1, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, D = dilatiert)



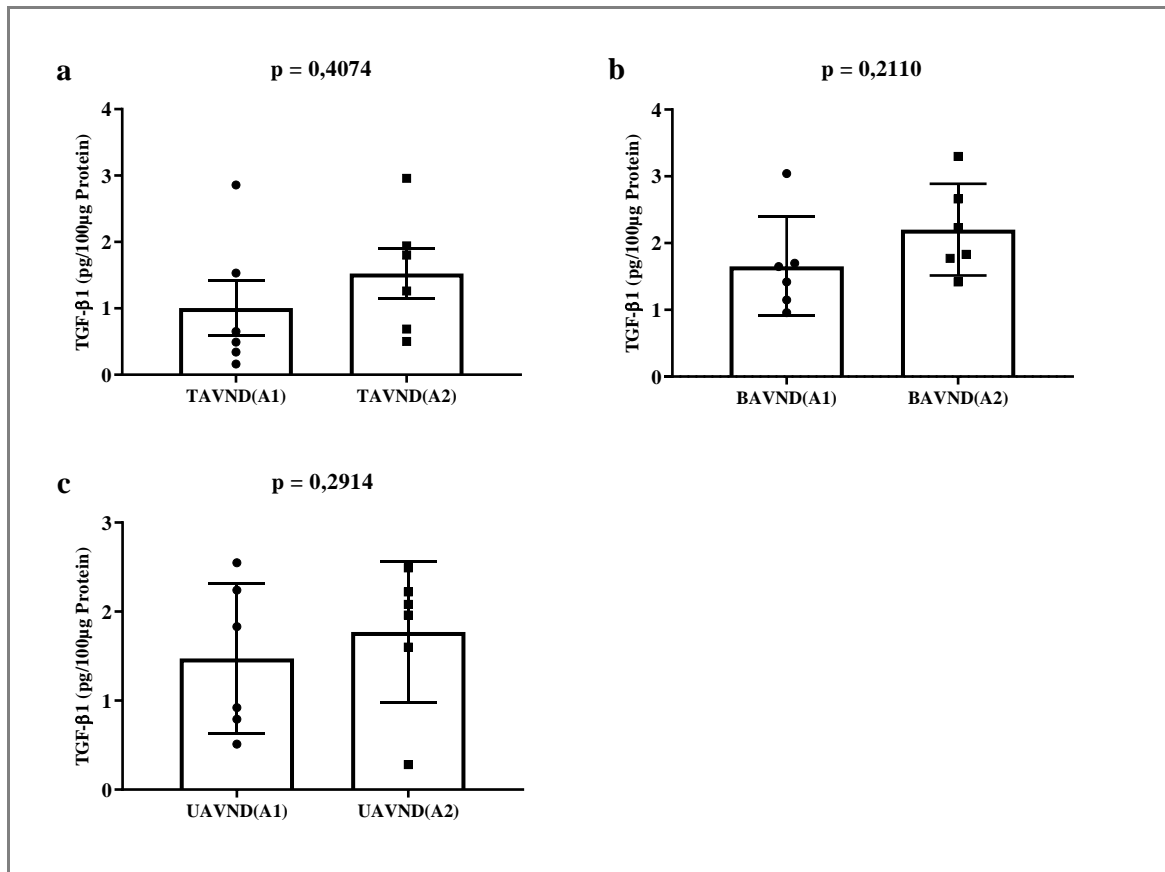
◆ **Grafik 37. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF- β 1 mittels ELISA**

Vergleich der Klappenmorphologien untereinander. Subgruppenanalyse der Probanden mit nicht-dilatierter Aorta; als gepoolte Lokalisationen (a) sowie für Lokalität A1 (b) und A2 separat (c). (TGF- β 1 = Transforming Growth Factor Beta 1, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspide Aortenklappe, ND = nicht-dilatiert)



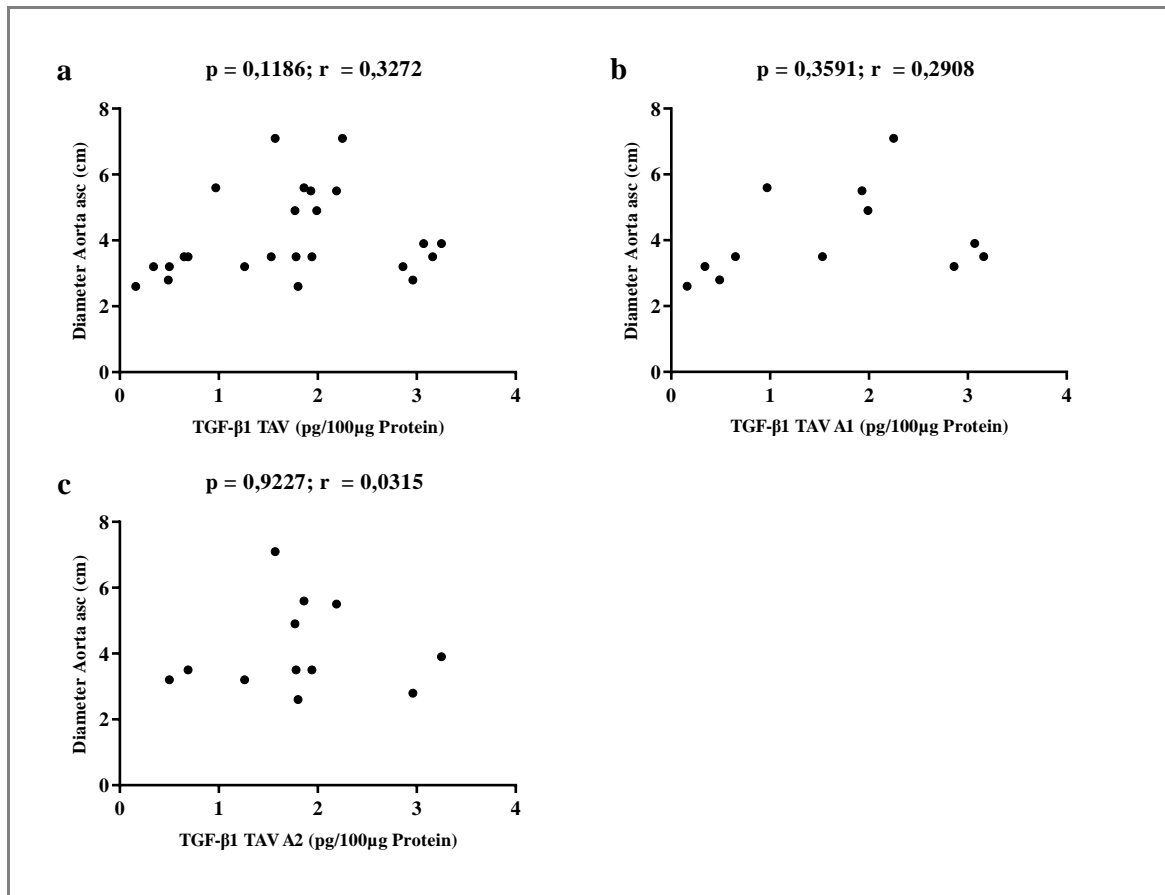
◆ **Grafik 38. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF- β 1 mittels ELISA**

Vergleich der Lokalität A1 versus A2; Subgruppenanalyse entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspide (a), bicuspide (b) und unicuspid (c). (TGF- β 1 = Transforming Growth Factor Beta 1, TAV = tricuspide Aortenklappe, BAV = bicuspide Aortenklappe, UAV = unicuspid Aortenklappe)



◆ **Grafik 39. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF- β 1 mittels ELISA**

Vergleich Lokalität A1 versus A2; Subgruppenanalyse der nicht-dilatierten Proben entsprechend der jeweiligen Klappenmorphologien: tricuspid (a), bicuspid (b) und unicuspid (c). (TGF- β 1 = Transforming Growth Factor Beta 1, TAV = tricuspid Aortenklappe, BAV = bicuspid Aortenklappe, UAV = unicuspid Aortenklappe, ND = nicht-dilatiert)



◆ **Grafik 40. Bestimmung der Proteinkonzentration von TGF-β1 mittels ELISA**

Korrelationsanalyse von TGF-β1 und Diameter Aorta ascendens. Subgruppenanalyse der tricuspiden Aortenklappe; als gepoolte Lokalisationen (a) sowie für Lokalität A1 (b) und A2 (c) separat. (TGF-β1 = Transforming Growth Factor Beta 1, asc. = ascendens, BAV = bicuspiden Aortenklappe)

7. Literaturverzeichnis

1. Agnihotri AK, Desai SC, Lai YQ, Fitzsimons MG, Hilgenberg AD, Vlahakes GJ (2006) Two distinct clinical presentations in adult unicuspid aortic valve. *J Thorac Cardiovasc Surg* 131:1169–1170.
2. Aicher D, Urbich C, Zeiher A, Dimmeler S, Schäfers HJ (2007) Endothelial Nitric Oxide Synthase in Bicuspid Aortic Valve Disease. *Ann Thorac Surg* 83:1290–1294.
3. Albornoz G, Coady MA, Roberts M, Davies RR, Tranquilli M, Rizzo JA, Elefteriades JA (2006) Familial Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections-Incidence, Modes of Inheritance, and Phenotypic Patterns. *Ann Thorac Surg* 82:1400–1405.
4. Armstrong EJ, Bischoff J (2004) Heart valve development: Endothelial cell signaling and differentiation. *Circ Res.* 95:459–470
5. Azhar M, Schultz JEJ, Grupp I, Dorn GW, Meneton P, Molin DGM, Gittenberger-de Groot AC, Doetschman T (2003) Transforming growth factor beta in cardiovascular development and function. *Cytokine Growth Factor Rev.* 14:391–407
6. Balmforth D, Harky A, Adams B, Yap J, Shipolini A, Roberts N, Uppal R, Bashir M (2019) Is there a role for biomarkers in thoracic aortic aneurysm disease? *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 67:12–19.
7. Barker AJ, Markl M, Bürk J, Lorenz R, Bock J, Bauer S, Schulz-Menger J, Von Knobelsdorff-Brenkenhoff F (2012) Bicuspid aortic valve is associated with altered wall shear stress in the ascending aorta. *Circ Cardiovasc Imaging* 5:457–466.
8. Becker RC (2005) The investigation of biomarkers in cardiovascular disease: time for a coordinated, international effort. *Eur Heart J* 26:421–422.
9. Bickerstaff LK, Pairolero PC, Hollier LH, Melton LJ, Van Peenen HJ, Cherry KJ, Joyce JW, Lie JT (1982) Thoracic aortic aneurysms: A population-based study. *Surgery* 92:1103–1108.
10. Biddinger A, Rocklin M, Coselli J, Milewicz DM (1997) Familial thoracic aortic dilatations and dissections: A case control study. *J Vasc Surg* 25:506–511.
11. Bonderman D, Gharehbaghi-Schnell E, Wollenek G, Maurer G, Baumgartner H, Lang IM (1999) Mechanisms underlying aortic dilatation in congenital aortic valve malformation. *Circulation* 99:2138–2143.
12. Borger MA, Preston M, Ivanov J, Fedak PWM, Davierwala P, Armstrong S, David TE (2004) Should the ascending aorta be replaced more frequently in patients with bicuspid aortic valve disease? *J Thorac Cardiovasc Surg* 128:677–683.
13. Braverman AC (1996) Bicuspid aortic valve and associated aortic wall abnormalities. *Curr Opin Cardiol* 11:501–503.
14. Braverman AC, Güven H, Beardslee MA, Maken M, Kates AM, Moon MR (2005) The Bicuspid Aortic Valve. *Curr Probl Cardiol* 30:470–522.

15. Brownstein A, Ziganshin B, Kuivaniemi H, Body S, Bale A, Elefteriades J (2017) Genes Associated with Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection. *Aorta* 05:11–20.
16. Butany J, Vaideeswar P, Dixit V, Lad V, Vegas A, David TE (2009) Ascending aortic aneurysms in unicommissural aortic valve disease. *Cardiovasc Pathol* 18:11–18.
17. Chau KH, Elefteriades JA (2013) Natural history of thoracic aortic aneurysms: Size matters, plus moving beyond size. *Prog Cardiovasc Dis* 56:74–80.
18. Chen X, Rateri DL, Howatt DA, Balakrishnan A, Moorlegghen JJ, Cassis LA, Daugherty A (2016) TGF- β neutralization enhances angii-induced aortic rupture and aneurysm in both thoracic and abdominal regions. *PLoS One* 11(4):e0153811.
19. Clouse WD, Hallett JW, Schaff H V., Gayari MM, Ilstrup DM, Melton LJ (1998) Improved prognosis of thoracic aortic aneurysms. A population-based study. *J Am Med Assoc* 280:1926–1929.
20. Clouse WD, Hallett JW, Schaff H V., Spittell PC, Rowland CM, Ilstrup DM, Melton LJ (2004) Acute Aortic Dissection: Population-Based Incidence Compared with Degenerative Aortic Aneurysm Rupture. *Mayo Clin Proc* 79:176–180.
21. Coady MA, Davies RR, Roberts M, Goldstein LJ, Rogalski MJ, Rizzo JA, Hammond GL, Kopf GS, Elefteriades JA (1999) Familial patterns of thoracic aortic aneurysms. *Arch Surg* 134:361–367.
22. Coady MA, Rizzo JA, Hammond GL, Kopf GS, Elefteriades JA (1999) Surgical intervention criteria for thoracic aortic aneurysms: A study of growth rates and complications. *Ann Thorac Surg* 67:1922–1926.
23. Cook JR, Clayton NP, Carta L, Galatioto J, Chiu E, Smaldone S, Nelson CA, Cheng SH, Wentworth BM, Ramirez F (2015) Dimorphic Effects of Transforming Growth Factor- β Signaling during Aortic Aneurysm Progression in Mice Suggest a Combinatorial Therapy for Marfan Syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 35:911–917.
24. Cotrufo M, Della Corte A, De Santo LS, Quarto C, De Feo M, Romano G, Amarelli C, Scardone M, Di Meglio F, Guerra G, Scarano M, Vitale S, Castaldo C, Montagnani S (2005) Different patterns of extracellular matrix protein expression in the convexity and the concavity of the dilated aorta with bicuspid aortic valve: Preliminary results. *J Thorac Cardiovasc Surg* 130:504.e1-504.e9.
25. DellaCorte A, Bancone C, Quarto C, Dialetto G, Covino FE, Scardone M, Caianiello G, Cotrufo M (2007) Predictors of ascending aortic dilatation with bicuspid aortic valve: a wide spectrum of disease expression. *Eur J Cardio-thoracic Surg* 31:397–405.
26. DellaCorte A, Quarto C, Bancone C, Castaldo C, Di Meglio F, Nurzynska D, De Santo LS, De Feo M, Scardone M, Montagnani S, Cotrufo M (2008) Spatiotemporal patterns of smooth muscle cell changes in ascending aortic dilatation with bicuspid and tricuspid aortic valve stenosis: Focus on cell-matrix signaling. *J Thorac Cardiovasc Surg* 135:8-

- 18.e2.
27. DeSa M, Moshkovitz Y, Butany J, David TE, Robicsek F, Gardner TJ, Elkins RC, Gerosa G (1999) Histologic abnormalities of the ascending aorta and pulmonary trunk in patients with bicuspid aortic valve disease: Clinical relevance to the Ross procedure. *J Thorac Cardiovasc Surg* 118:588–596.
 28. Detaint D, Michelena HI, Nkomo VT, Vahanian A, Jondeau G, Sarano ME (2014) Aortic dilatation patterns and rates in adults with bicuspid aortic valves: A comparative study with Marfan syndrome and degenerative aortopathy. *Heart* 100:126–134.
 29. Dobrin PB (1995) Mechanical factors associated with the development of intimal and medial thickening in vein grafts subjected to arterial pressure: A model of arteries exposed to hypertension. *Hypertension* 26:38–43.
 30. Edwards WD, Leaf DS, Edwards JE (1978) Dissecting aortic aneurysm associated with congenital bicuspid aortic valve. *Circulation* 57:1022–1025.
 31. Elefteriades JA, Farkas EA (2010) Thoracic Aortic Aneurysm. Clinically Pertinent Controversies and Uncertainties. *J Am Coll Cardiol.* 55:841–857.
 32. Entezari P, Schnell S, Mahadevia R, Malaisrie C, McCarthy P, Mendelson M, Collins J, Carr JC, Markl M, Barker AJ (2014) From unicuspid to quadricuspid: Influence of aortic valve morphology on aortic three-dimensional hemodynamics. *J Magn Reson Imaging* 40:1342–1346.
 33. Erdheim J (1930) Medionecrosis aortae idiopathica cystica. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klin Med* 276:187–229.
 34. Falcone MW, Roberts WC, Morrow AG, Perloff JK (1971) Congenital aortic stenosis resulting from a unicommissural valve. Clinical and anatomic features in twenty-one adult patients. *Circulation* 44:272–280.
 35. Fedak PWM, De Sa MPL, Verma S, Nili N, Kazemian P, Butany J, Strauss BH, Weisel RD, David TE, Yacoub MH, Sundt TM, Sellke FW, Pizarro C (2003) Vascular matrix remodeling in patients with bicuspid aortic valve malformations: Implications for aortic dilatation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 126:797–805.
 36. Garg V, Muth AN, Ransom JF, Schluterman MK, Barnes R, King IN, Grossfeld PD, Srivastava D (2005) Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature* 437:270–274.
 37. Gauer S, Balint B, Kollmann C, Federspiel JM, Henn D, Bandner-Risch D, Schmied W, Schäfers HJ (2020) Dysregulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase Does Not Depend on Hemodynamic Alterations in Bicuspid Aortic Valve Aortopathy. *J Am Heart Assoc* 9:e016471.
 38. Girerd X, London G, Boutouyrie P, Mourad JJ, Safar M, Laurent S (1996) Remodeling of the Radial Artery in Response to a Chronic Increase in Shear Stress. *Hypertension* 27:799–

- 803.
39. Gleason TG (2014) Bicuspid aortic valve repair by complete conversion from “raphe’d” (type 1) to “symmetric” (type 0) morphology. *J Thorac Cardiovasc Surg* 148:2862-2868.e2.
 40. Goldfinger JZ, Halperin JL, Marin ML, Stewart AS, Eagle KA, Fuster V (2014) Thoracic aortic aneurysm and dissection. *J Am Coll Cardiol* 64:1725–1739.
 41. Gomez D, Zen AAH, Borges LF, Philippe M, Gutierrez PS, Jondeau G, Michel JB, Vranckx R (2009) Syndromic and non-syndromic aneurysms of the human ascending aorta share activation of the Smad2 pathway. *J Pathol* 218:131–142.
 42. GraphPad Software Inc. (2019) GraphPad Prism 8.1.2.
 43. Gsell O (1928) Wandnekrosen der Aorta als selbständige Erkrankung und ihre Beziehung zur Spontanruptur. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klin Med* 270:1–36.
 44. Guzzardi DG, Barker AJ, Van Ooij P, Malaisrie SC, Puthumana JJ, Belke DD, Mewhort HEM, Svystonyuk DA, Kang S, Verma S, Collins J, Carr J, Bonow RO, Markl M, Thomas JD, Mccarthy PM, Fedak PWM (2015) Valve-Related Hemodynamics Mediate Human Bicuspid Aortopathy: Insights From Wall Shear Stress Mapping. *J Am Coll Cardiol* 66:892–900.
 45. Habashi JP, Judge DP, Holm TM, Cohn RD, Loeys BL, Cooper TK, Myers L, Klein EC, Liu G, Calvi C, Podowski M, Neptune ER, Halushka MK, Bedja D, Gabrielson K, Rifkin DB, Carta L, Ramirez F, Huso DL, Dietz HC (2006) Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome. *Science* 312:117–121.
 46. Habchi KM, Ashikhmina E, Vieira VM, Shahram JT, Isselbacher EM, Sundt TM, Shekar P, Muehlschlegel JD, Body SC (2017) Association between bicuspid aortic valve morphotype and regional dilatation of the aortic root and trunk. *Int J Cardiovasc Imaging* 33:341–349.
 47. Hagan PG, Nienaber CA, Isselbacher EM, Bruckman D, Karavite DJ, Russman PL, Evangelista A, Fattori R, Suzuki T, Oh JK, Moore AG, Malouf JF, Pape LA, Gaca C, Sechtem U, Lenferink S, Deutsch HJ, Diedrichs H, Marcos y Robles J, Llovet A, Gilon D, Das SK, Armstrong WF, Deeb GM, Eagle KA (2000) The International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD): New insights into an old disease. *J Am Med Assoc* 283:897–903.
 48. Hahn RT, Roman MJ, Mogtadek AH, Devereux RB (1992) Association of aortic dilation with regurgitant, stenotic and functionally normal bicuspid aortic valves. *J Am Coll Cardiol* 19:283–288.
 49. Henn D, Perttunen H, Gauer S, Schmied W, Porras C, Such M, Schäfers HJ (2014) GATA5 and endothelial nitric oxide synthase expression in the ascending aorta is related to aortic size and valve morphology. *Ann Thorac Surg* 97:2019–2025.

50. Holm TM, Habashi JP, Doyle JJ, Bedja D, Chen YC, Van Erp C, Lindsay ME, Kim D, Schoenhoff F, Cohn RD, Loeys BL, Thomas CJ, Patnaik S, Marugan JJ, Judge DP, Dietz HC (2011) Noncanonical TGF β signaling contributes to aortic aneurysm progression in marfan syndrome mice. *Science* 332:358–361.
51. Huntington K, Hunter AGW, Chan KL (1997) A prospective study to assess the frequency of familial clustering of congenital bicuspid aortic valve. *J Am Coll Cardiol* 30:1809–1812.
52. Isselbacher EM (2005) Thoracic and abdominal aortic aneurysms. *Circulation* 111:816–828.
53. Isselbacher EM, Cardenas CLL, Lindsay ME (2016) Hereditary influence in thoracic aortic aneurysm and dissection. *Circulation* 133:2516–2528.
54. Kawahara Y, Suzuki K, Takahara S, Fukasawa M (2014) Congenital unicuspid aortic valve stenosis in siblings. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 62:567–569.
55. Kirby ML, Waldo KL (1990) Role of neural crest in congenital heart disease. *Circulation* 82:332–340
56. Kotlarczyk MP, Billaud M, Green BR, Hill JC, Shiva S, Kelley EE, Phillippi JA, Gleason TG (2016) Regional Disruptions in Endothelial Nitric Oxide Pathway Associated With Bicuspid Aortic Valve. *Ann Thorac Surg* 102:1274–1281.
57. Kuzmik GA, Sang AX, Elefteriades JA (2012) Natural history of thoracic aortic aneurysms. *J Vasc Surg* 56:565–571.
58. Lavall D, Schäfers HJ, Böhm M, Laufs U (2012) Aneurysmen der Aorta ascendens. *Dtsch Arztebl Int* 109:227–233.
59. Lee TC, Zhao YD, Courtman DW, Stewart DJ (2000) Abnormal aortic valve development in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 101:2345–2348.
60. Lehoux S, Tedgui A (2003) Cellular mechanics and gene expression in blood vessels. *J Biomech* 36:631–643.
61. LesLaboratories Servier SAS (2020) SMART Servier Medical Art. <https://smart.servier.com/>. Accessed 24 Jan 2020.
62. Loeys BL, Chen J, Neptune ER, Judge DP, Podowski M, Holm T, Meyers J, Leitch CC, Katsanis N, Sharifi N, Xu FL, Myers LA, Spevak PJ, Cameron DE, De Backer J, Hellems J, Chen Y, Davis EC, Webb CL, Kress W, Coucke P, Rifkin DB, De Paepe AM, Dietz HC (2005) A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFBR2. *Nat Genet* 37:275–281.
63. Loukas M, Bilinsky E, Bilinsky S, Blaak C, Tubbs RS, Anderson RH (2014) The anatomy of the aortic root. *Clin Anat* 27:748–756.
64. Marsalese DL, Moodie DS, Vacante M, Lytle BW, Gill CC, Sterba R, Cosgrove DM,

- Passalacqua M, Goormastic M, Kovacs A (1989) Marfan's syndrome: natural history and long-term follow-up of cardiovascular involvement. *J Am Coll Cardiol* 14:422–428.
65. Masri A, Svensson LG, Griffin BP, Desai MY (2017) Contemporary natural history of bicuspid aortic valve disease: A systematic review. *Heart* 103:1323–1330.
 66. Matt P, Schoenhoff F, Habashi J, Holm T, Van Erp C, Loch D, Carlson OD, Griswold BF, Fu Q, De Backer J, Loeys B, Huso DL, McDonnell NB, Van Eyk JE, Dietz HC (2009) Circulating transforming growth factor- β in marfan syndrome. *Circulation* 120:526–532.
 67. Mckusick VA (1972) Association of Congenital Bicuspid Aortic Valve and Erdheim'S Cystic Medial Necrosis. *Lancet* 299:1026–1027.
 68. Michelena HI, Prakash SK, Corte A Della, Bissell MM, Anavekar N, Mathieu P, Bosse Y, Limongelli G, Bossone E, Benson DW, Lancellotti P, Isselbacher EM, Enriquez-Sarano M, Sundt TM, Pibarot P, Evangelista A, Milewicz DM, Body SC (2014) Bicuspid aortic valve identifying knowledge gaps and rising to the challenge from the international bicuspid aortic valve consortium (BAVCON). *Circulation* 129:2691–2704.
 69. Microsoft Corporation (2016) Microsoft Office Professional Plus 2016 PowerPoint.
 70. Milewicz DM, Michael K, Fisher N, Coselli JS, Markello T, Biddinger A (1996) Fibrillin-1 (FBN1) mutations in patients with thoracic aortic aneurysms. *Circulation* 94:2708–2711.
 71. Mizuguchi T, Collod-Beroud G, Akiyama T, Abifadel M, Harada N, Morisaki T, Allard D, Varret M, Claustres M, Morisaki H, Ihara M, Kinoshita A, Yoshiura KI, Junien C, Kajii T, Jondeau G, Ohta T, Kishino T, Furukawa Y, Nakamura Y, Niikawa N, Boileau C, Matsumoto N (2004) Heterozygous TGFBR2 mutations in Marfan syndrome. *Nat Genet* 36:855–860.
 72. Moncada S, Higgs A (1993) The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. *N Engl J Med* 329:2002–2012.
 73. Mookadam F, Thota VR, Lopez AMG, Emani UR, Tajik AJ (2010) Unicuspid aortic valve in children: A systematic review spanning four decades. *J Heart Valve Dis* 19:79–85.
 74. Murohara T, Asahara T, Silver M, Bauters C, Masuda H, Kalka C, Kearney M, Chen D, Chen D, Symes JF, Fishman MC, Huang PL, Isner JM (1998) Nitric oxide synthase modulates angiogenesis in response to tissue ischemia. *J Clin Invest* 101:2567–2578.
 75. Nataatmadja M, West M, West J, Summers K, Walker P, Nagata M, Watanabe T (2003) Abnormal extracellular matrix protein transport associated with increased apoptosis of vascular smooth muscle cells in Marfan syndrome and bicuspid aortic valve thoracic aortic aneurysm. *Circulation* 108:329--334.
 76. Nistri S, Sorbo MD, Marin M, Palisi M, Scognamiglio R, Thiene G (1999) Aortic root dilatation in young men with normally functioning bicuspid aortic valves. *Heart* 82:19–22.
 77. Nkomo VT, Enriquez-Sarano M, Ammash NM, Melton LJ, Bailey KR, Desjardins V,

- Horn RA, Tajik AJ (2003) Bicuspid aortic valve associated with aortic dilatation: A community-based study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:351–356. doi: 10.1161/01.ATV.0000055441.28842.0A
78. Novaro GM, Mishra M, Griffin BP (2003) Incidence and echocardiographic features of congenital unicuspid aortic valve in an adult population. *J Heart Valve Dis* 12:674–678
 79. Ohno M, Cooke JP, Dzau VJ, Gibbons GH (1995) Fluid Shear Stress Induces Endothelial Transforming Growth Factor Beta-1 Transcription and Production: Modulation by Potassium Channel Blockade. *J Clin Invest* 95:1363–1369.
 80. Pachulski RT, Weinberg AL, Chan KL (1991) Aortic aneurysm in patients with functionally normal or minimally stenotic bicuspid aortic valve. *Am J Cardiol* 67:781–782.
 81. Paloschi V, Gădin JR, Khan S, Björck HM, Du L, Maleki S, Roy J, Lindeman JHM, Mohamed SA, Tsuda T, Franco-Cereceda A, Eriksson P (2015) Aneurysm development in patients with a bicuspid aortic valve is not associated with transforming growth factor- β activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 35:973–980.
 82. Ranjan V, Xiao Z, Diamond SL (1995) Constitutive NOS expression in cultured endothelial cells is elevated by fluid shear stress. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol* 269:550-555.
 83. Roberts CS, Roberts WC (1991) Dissection of the aorta associated with congenital malformation of the aortic valve. *J Am Coll Cardiol* 17:712–716.
 84. Roberts WC (1970) The congenitally bicuspid aortic valve. A study of 85 autopsy cases. *Am J Cardiol* 26:72–83.
 85. Roberts WC, Ko JM (2005) Frequency by decades of unicuspid, bicuspid, and tricuspid aortic valves in adults having isolated aortic valve replacement for aortic stenosis, with or without associated aortic regurgitation. *Circulation* 111:920–925.
 86. Robicsek F, Thubrikar MJ, Cook JW, Fowler B (2004) The congenitally bicuspid aortic valve: How does it function? Why does it fail? *Ann Thorac Surg* 77:177–185.
 87. Rudic RD, Shesely EG, Maeda N, Smithies O, Segal SS, Sessa WC (1998) Direct evidence for the importance of endothelium-derived nitric oxide in vascular remodeling. *J Clin Invest* 101:731–736.
 88. Schneider U, Ehrlich T, Karliova I, Giebels C, Schäfers HJ (2017) Valve-sparing aortic root replacement in patients with Marfan syndrome-the Homburg experience. *Ann Cardiothorac Surg* 6:697–703.
 89. Schünke M, Schulte E, Schumacher U (2009) Prometheus LernAtlas der Anatomie: Innere Organe, 2nd ed. Thieme, Stuttgart.
 90. Sievers HH, Schmidtke C (2007) A classification system for the bicuspid aortic valve from 304 surgical specimens. *J Thorac Cardiovasc Surg* 133:1226–1233.

91. Singh S, Ghayal P, Mathur A, Mysliwiec M, Lovoulos C, Solanki P, Klapholz FM, Maher FJ (2015) Unicuspid unicommissural aortic valve: An extremely rare congenital anomaly. *Texas Hear Inst J* 42:273–276.
92. Tadros TM, Klein MD, Shapira OM (2009) Ascending aortic dilatation associated with bicuspid aortic valve. Pathophysiology, molecular biology, and clinical implications. *Circulation* 119:880–890.
93. Takeda N, Hara H, Fujiwara T, Kanaya T, Maemura S, Komuro I (2018) TGF- β signaling-related genes and thoracic aortic aneurysms and dissections. *Int J Mol Sci* 19:2125.
94. Wang Y, Wu B, Dong L, Wang C, Wang X, Shu X (2016) Circulating matrix metalloproteinase patterns in association with aortic dilatation in bicuspid aortic valve patients with isolated severe aortic stenosis. *Heart Vessels* 31:189–197.
95. Warren A, Boyd ML, O’Connell C, Dodds L (2006) Dilatation of the ascending aorta in paediatric patients with bicuspid aortic valve: Frequency, rate of progression and risk factors. *Heart* 92:1496–1500.
96. Wei H, Hu JH, Angelov SN, Fox K, Yan J, Enstrom R, Smith A, Dichek DA (2017) Aortopathy in a Mouse Model of Marfan Syndrome Is Not Mediated by Altered Transforming Growth Factor β Signaling. *J Am Heart Assoc* 6:e004968.

8. Publikationen

Kollmann C, Kim M (2019) Obstructed Defecation: Relevance of Sacral Neuromodulation. Zentralbl Chir 144:396-401.

Gauer S, Balint B, **Kollmann C**, Federspiel JM, Henn D, Bandner-Risch D, Schmied W, Schäfers HJ (2020) Dysregulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase Does Not Depend on Hemodynamic Alterations in Bicuspid Aortic Valve Aortopathy. J Am Heart Assoc 9:e016471.

Meir M, Salm J, Fey C, Schweinlin M, **Kollmann C**, Kannapin F, Germer C-T, Waschke J, Beck C, Burkard N, Metzger M, Schlegel N (2020) Enteroids Generated from Patients with Severe Inflammation in Crohn's Disease Maintain Alterations of Junctional Proteins. J Crohns Colitis 14:1473–1487.

Kollmann C, Pretzsch EB, Kunz A, Isbert C, Krajcinovic K, Reibetanz J, Kim M (2020) Anorectal angle at rest predicting successful sacral nerve stimulation in idiopathic fecal incontinence—a cohort analysis. Int J Colorectal Dis.

9. Danksagung

Die Anfertigung dieser Doktorarbeit wäre ohne vielseitige Unterstützung nicht möglich gewesen. An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mir geholfen und mich begleitet haben.

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Hans Joachim Schäfers bedanken. Zum einen für die Möglichkeit diese Doktorarbeit in seiner Klinik durchzuführen, zum anderen für die hervorragende Betreuung in der Anfertigung der Dissertation, für die unzähligen Anmerkungen und Korrekturen beim Verfassen dieser Arbeit, für das immer offene Ohr sowie für die Anregungen zum eigenständigen wissenschaftlichen Denken.

Besonderer Dank geht an die wissenschaftlichen Mitarbeiter/-innen unserer Arbeitsgruppe, die mich seit Beginn dieser Arbeit begleitet haben. Doris Bandner-Risch und Tanja Schwab haben mir zahlreiche Methoden beigebracht, wichtige Experimente vorangebracht und mir Begeisterung an der Wissenschaft vermittelt. Dank gilt auch Brittany Balint für die wertvolle fachliche Hilfestellung. Ich möchte mich herzlich bei allen für die fabelhafte Unterstützung und die wunderbare Arbeitsatmosphäre im Labor bedanken.

Außerordentlicher Dank geht an meine Freundinnen und Freunde für die unzähligen Gespräche, wertvollen Diskussionen, motivierenden Zusprüche und die unvergesslichen Momente der letzten Jahre. Ich danke im Besonderen Anne van den Berg auch für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Von ganzem Herzen möchte ich meiner Familie danken, meinen Eltern Barbara Miedniak-Kollmann, Friedrich Kollmann, Christine Kaub und Wolfgang Willems, meinem Bruder Nicolas Kollmann und meiner Schwägerin Eva Kollmann. Sie haben mich in meinem bisherigen Werdegang stets ermutigt und aufgebaut, mich in allem unterstützt und unerschütterlich an mich geglaubt. Insbesondere danke ich hierbei meiner lieben Mutter; für die Entstehung dieser Arbeit waren sowohl die stetige moralische Unterstützung als auch die fürsorglich mahnenden Worte unverzichtbar.

Zuletzt möchte ich mich ganz besonders bei meinem Freund Lars Plaßmeier bedanken. Danke für die wertvollen Anmerkungen, die große Geduld, das grenzenlose Verständnis und die liebevolle Unterstützung, wann immer diese notwendig war.

Danke!

10. Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.