

# **UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF**

Universitäres Herz- und Gefäßzentrum Hamburg  
Klinik für Gefäßmedizin

Klinikdirektor: Prof. Dr. med. E.S. Debus

**Das Expressionsmuster der Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptoren in aneurysmatisch  
veränderten und/oder dissezierten Abschnitten der humanen Aorta**

**Dissertation**

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Martje Katharina Odinga  
aus Hamburg

Hamburg 2020

**Angenommen von der**

**Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 10.02.2021**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der**

**Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

**Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Edzard Schwedhelm**

**Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Axel Larena-Avellaneda**

<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1 Die Aorta .....	1
1.1.1 Makroskopischer Aufbau .....	1
1.1.2 Histologischer Aufbau.....	3
1.2 Das Aortenaneurysma .....	5
1.2.1 Definition und Klassifikation.....	5
1.2.2 Ätiopathogenese, Pathophysiologie und Risikofaktoren .....	7
1.3 Die Aortendissektion .....	12
1.3.1 Definition, Pathophysiologie und Klassifikation .....	12
1.3.2 Ätiopathogenese und Risikofaktoren .....	15
1.4 Sphingosin-1-Phosphat (S1P) und die S1P-Rezeptoren .....	15
1.4.1 Sphingosin-1-Phosphat .....	15
1.4.2 Die Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptoren .....	17
<b>2 Fragestellung und Zielsetzung .....</b>	<b>23</b>
<b>3 Material und Methoden.....</b>	<b>24</b>
3.1 Material .....	24
3.1.1 Studie und Probenmaterial .....	24
3.1.2 Klassifikation der Pathologie im Sektionsprotokoll .....	24
3.1.3 Chemikalien, Kits und Geräte .....	25
3.2 Methoden .....	26
3.2.1 RNA-Isolation.....	26
3.2.2 Photometrische Konzentrationsbestimmung der RNA-Lösung und Qualitätskriterien.....	27
3.2.3 cDNA-Synthese .....	28
3.2.4 Quantitative Echtzeit-PCR.....	28
3.3 Statistische Auswertung.....	32
<b>4 Ergebnisse.....</b>	<b>33</b>
4.1 Beschreibung der Gesamtkohorte .....	33
4.1.1 Epidemiologische Parameter.....	33
4.1.2 Prävalenz der Aortenpathologien .....	33
4.1.3 Einteilung der Gruppen.....	35
4.1.4 Gruppengröße .....	36
4.2 Analyse der S1P-Rezeptoren .....	37

4.2.1	Expression der S1P-Rezeptoren in den Aortenabschnitten für die Gesamtkohorte und die Gruppe ‚Ø Pathologie‘ .....	40
4.2.2	Analyse der S1P-Rezeptorexpression innerhalb eines Aortenabschnitts zwischen der Gruppe ‚Ø Pathologie‘ und den Gruppen ‚Pathologie‘, ‚Aneurysma‘ und ‚Dissektion‘.....	41
4.2.3	Korrelationsanalysen der Expression der S1P-Rezeptoren in der Gesamtkohorte.....	44
4.2.4	Einfluss der Pathologie sowie klinischer Parameter auf die S1P-Rezeptorexpression in den verschiedenen Aortenabschnitten der Gesamtkohorte.....	46
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>50</b>
5.1	Studiengruppe und Studiendesign.....	50
5.2	Expressionsunterschiede der S1P-Rezeptoren zwischen den Aortenabschnitten ...	51
5.3	Korrelationen zwischen der Expression einzelner S1P-Rezeptoren.....	51
5.4	Assoziationen der S1P-Rezeptorexpression mit aortalen Pathologien.....	53
5.4.1	S1PR1 .....	53
5.4.2	S1PR2 .....	56
5.4.3	S1PR3 .....	58
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>Summary.....</b>	<b>62</b>
<b>8</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>63</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>65</b>
<b>10</b>	<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>76</b>
<b>11</b>	<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>77</b>
<b>12</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>78</b>
<b>13</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>83</b>
<b>14</b>	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>84</b>
<b>15</b>	<b>Eidesstattliche Erklärung.....</b>	<b>85</b>

## **1 Einleitung**

Erkrankungen der Aorta sind potentiell lebensbedrohlich. Am häufigsten vertreten sind Aneurysmen sowie Dissektionen, wobei diese Krankheiten an den verschiedenen Abschnitten der Aorta unterschiedlich häufig auftreten. (Echte) Aneurysmen findet man vor allem im Bereich der Aorta abdominalis, Dissektionen hingegen fast ausschließlich im thorakalen Bereich der Aorta; diese können sich jedoch in kaudale Richtung ausbreiten. Im Rahmen einer Dissektion kann sich die Aorta ebenfalls aneurysmatisch verändern. Die Sterblichkeit ist hoch, die Mortalitätsrate eines rupturierten abdominellen Aortenaneurysmas liegt bei ca. 60% [1]. 20% der Patienten, die eine Dissektion der Aorta ascendens erleiden, sterben bereits vor dem Eintreffen in das Krankenhaus; ohne Behandlung liegt hier die Mortalitätsrate innerhalb der ersten 24 Stunden bei 1-3% pro Stunde nach Einsetzen der Symptome [2].

Die Ursachen für die Ausbildung dieser Gefäßerkrankungen sind komplex und bisher nur teilweise geklärt. Eine genetische Disposition sowie immunologische Komponenten scheinen hierbei eine Rolle zu spielen. Für die Pathogenese anderer Gefäßerkrankungen, wie die Atherosklerose und Restenosen, wird angenommen, dass Sphingosin-1-Phosphat (S1P), ein bioaktives Sphingolipid mit Beteiligung an der Regulation diverser physiologischer und pathophysiologischer Prozesse im Herzkreislaufsystem, eine große Rolle spielt [3-6]. S1P übt seine Wirkung über fünf im menschlichen Körper exprimierte Rezeptoren (S1PR1-5) aus. Durch die ubiquitär exprimierten S1PR1, S1PR2 bzw. S1PR3 nimmt S1P im kardiovaskulären System u.a. Einfluss auf den Gefäßwandtonus, die Gefäßpermeabilität und ist an inflammatorischen Prozessen beteiligt. Die pathophysiologische Bedeutung von S1P bzw. seiner Rezeptoren im Rahmen der Entstehung von aortalen Aneurysmen oder Dissektionen ist bisher unbekannt. In dieser Arbeit wurde eine Analyse des S1P-Rezeptorexpressionsstatus von aneurysmatisch veränderten bzw. dissezierten Abschnitten der humanen Aorta durchgeführt.

### **1.1 Die Aorta**

#### **1.1.1 Makroskopischer Aufbau**

Die Aorta ist das größte arterielle Blutgefäß des menschlichen Körpers. Ihr Beginn liegt direkt hinter der Aortenklappe, anschließend verläuft sie durch den Thorax und das Abdomen und teilt sich im Becken in eine rechte und eine linke Beckenarterie auf. Herznah besitzt sie einen Querdurchmesser von ca. 3,4 - 4cm, der sich in ihrem Verlauf bis in das Becken auf ca. 2,2 - 2,4cm verjüngt. Der Durchmesser ist alters-, geschlechts-,

körpergrößen- und körperrgewichtsabhängig [7]. In Tabelle 1 sind die durchschnittlichen Normwerte der jeweiligen Aortenabschnitte dargestellt.

**Tabelle 1: Durchschnittliche Normwerte des Aortendurchmessers für die Aorta ascendens, Aorta descendens und Aorta abdominalis (infrarenaler Teil) bei 70jährigen Frauen und Männern.** Erstellt nach Wanhainen et al.; 2008 [8].

Aortenabschnitt	Mittlerer Aortendurchmesser (95% KI)	
	Frauen	Männer
Aorta ascendens	3,4 (3,3-3,5) cm	4,0 (3,9-4,1) cm
Aorta descendens	2,8 (2,7-2,8) cm	3,2 (3,2-3,3) cm
Aorta abdominalis	2,2 (2,1-2,2) cm	2,4 (2,3-2,5) cm

KI, Konfidenzintervall

Die Aorta wird in ein thorakales und ein abdominales Segment unterteilt. Das thorakale Segment umfasst wiederum drei Komponenten (die Aorta ascendens, den Aortenbogen, die Aorta descendens), während der Abschnitt unterhalb des Zwerchfells bis zur Aortenbifurkation als Aorta abdominalis bezeichnet wird.

Aorta ascendens und Aortenbogen:

Die Aorta ascendens (AS) beginnt intraperikardial direkt nach der Aortenklappe und verläuft für ca. 5cm nach kranial, bis zum Abgang des Truncus brachiocephalicus. Gefäßabgänge in diesem Abschnitt sind die rechte und linke Koronararterie. Auf die AS folgt der Aortenbogen (Arcus aortae), der im Normalfall bogenförmig nach links und dorsal, oberhalb der Pulmonalarterien, im Mediastinum superius verläuft. Regelmäßig hier abgehende arterielle Äste sind der Truncus brachiocephalicus, die A. carotis communis sinistra und die A. subclavia sinistra.

Aorta descendens:

Die Aorta descendens (DE) verläuft intrathorakal nach kaudal bis zum Durchtritt durch das Zwerchfell auf Höhe des zwölften Brustwirbelkörpers. Folgende Gefäße verlassen die Aorta descendens: Rr. bronchiales, Rr. oesophageales, Rr. mediastinales, Rr. pericardiaci, Aa. phrenicae superiores und Aa. intercostales posteriores.

Aorta abdominalis:

Nach dem Durchtritt durch das Zwerchfell beginnt die Aorta abdominalis (AB). Sie verläuft weiterhin in kaudale Richtung bis zur ihrer Aufzweigung (Aortenbifurkation) in die Beckenarterien auf Höhe des vierten Lendenwirbelkörpers. Auch in diesem Abschnitt sind

zahlreiche arterielle Gefäßabgänge zu finden. Als paarige Arterienäste sind zu nennen die Aa. phrenicae inferiores, die Aa. suprarenales mediae, die Aa. renales, die Aa. ovaricae bzw. testiculares. Als unpaare Abgänge verlassen der Truncus coeliacus sowie die A. mesenterica superior, die A. mesenterica inferior sowie mehrere Aa. lumbales die Aorta abdominalis. Als Normvariante kann eine A. sacralis mediana vorliegen [9].

### **1.1.2 Histologischer Aufbau**

Arterielle Gefäße besitzen drei histologisch voneinander abgrenzbare Schichten: Die Tunica intima (kurz: Intima), die Tunica media (kurz: Media) und die Tunica adventitia (kurz: Adventitia). Je nach vorherrschender Gewebekomponente in der Media werden Arterien vom muskulären Typ und vom elastischen Typ unterschieden. Die Aorta zählt, wie alle großen herznahen Arterien, zum Typ der elastischen Arterien. Die Elastizität der Gefäßwand dient der Umwandlung des pulsatilen Blutstroms des Herzens in einen kontinuierlichen Blutstrom, sodass eine optimale Versorgung der nachgeschalteten Strukturen und Organe auch während der Erschlaffungsphase (Diastole) des Herzens gewährleistet wird (sog. „Windkesselleffekt“). Im Folgenden ist der histologische Aufbau der drei aortalen Gefäßwandschichten näher beschrieben.

#### Tunica intima:

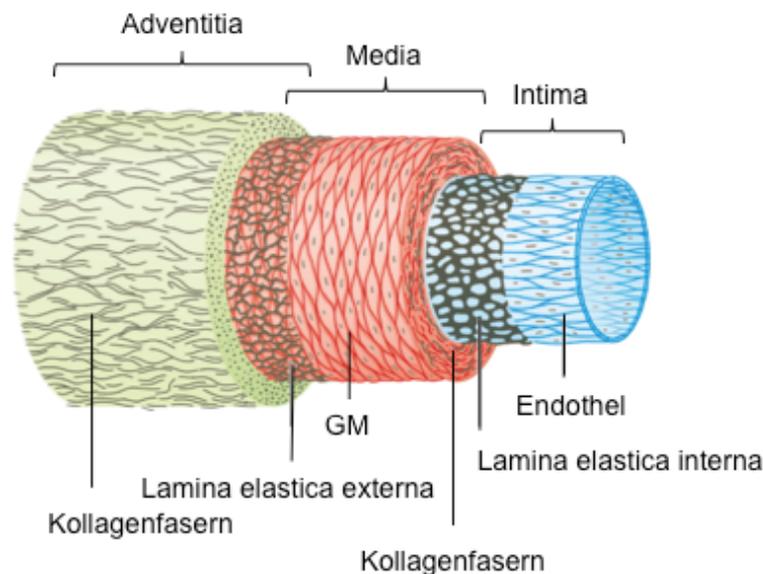
Die Intima besteht aus Endothelzellen (EZ) sowie einer dünnen, subendothelialen Bindegewebsschicht. Die EZ sind über verschiedene Zellkontakte miteinander verbunden und einzeln über besonders kräftige Aktinfasern in der Basallamina verankert [10]. Durch diese Konstruktion können die Zellen den hier vorliegenden starken Scherkräften standhalten. Sie sind mit ihrer Längsachse parallel zum Blutstrom ausgerichtet und trennen den Intravasalraum von tieferen Wandschichten; hierdurch sind sie an der Kontrolle des Durchtritts von Plasmabestandteilen beteiligt und verhindern den Kontakt zwischen den Blutzellen und der extrazellulären Matrix (EZM) [11]. Zum Gefäßlumen hin sind die EZ an ihrer Oberfläche mit einem kohlenhydrathaltigen Film, der Glykokalix, bedeckt. Diese wird von den Kohlenhydratketten (Glykosaminoglykane wie Heparansulfat, Hyaluronsäure und Chondroitinsulfat [12]) der Glykoproteine und Glykolipide der Zellmembran gebildet und steuert die selektive Permeabilität des Endothels sowie die Bindung und lokale Konzentrierung diverser Moleküle (Zytokine, Chemokine, Enzyme, Wachstumsfaktoren) [11]. Subendothelial folgt eine Bindegewebsschicht, die sich aus verschiedenen Zellen, wie z.B. glatten Muskelzellen (GM) oder Makrophagen, zusammensetzt. Die Intima grenzt sich von der Media durch eine Schicht elastischer Fasern, der Lamina elastica interna, ab [10].

Tunica media:

Die Media ist die dominante Schicht einer gesunden aortalen Gefäßwand. Sie besteht aus vielzähligen konzentrischen elastischen Lamellen und jeweils dazwischen eingelagerten vaskulären GM, die die EZM, bestehend aus Elastin, Kollagen (überwiegend Typ I und Typ III), Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen, produzieren [13]. Die dehnbaren Elastinfasern sorgen für eine Anpassung der Gefäßwand an unterschiedliche hohe Drücke, wie sie z.B. während der Systole bzw. Diastole auf die Aorta einwirken. Der Elastingehalt ist in der Aorta ascendens am höchsten und nimmt zur Aorta abdominalis hin ab [14]. Das Kollagen dient vornehmlich der Zugfestigkeit des Gefäßes und schützt vor einer Dilatation der Wand bei erhöhtem intravasalen Druck. Zur Adventitia ist die Media durch die Lamina elastica externa abgegrenzt [10].

Tunica adventitia:

Die Adventitia ist bei Arterien vom elastischen Typ relativ dünn. Hauptbestandteile dieser Schicht sind Fibroblasten, Kollagenfasern und ein lockeres Netz an elastischen Fasern. Die Adventitia enthält vegetative Nerven sowie kleinere Gefäße, die die Adventitia sowie Teile der Media mit Nährstoffen versorgen (Vasa vasorum) [10]. Eine Übersicht des Gefäßwandaufbaus zeigt Abbildung 1.



**Abbildung 1: Wandschichten der Arterie** (schematische Darstellung). Erstellt und modifiziert nach Lüllmann-Rauch; 2012 [11]. GM, glatte Muskelzellen.

## 1.2 Das Aortenaneurysma

### 1.2.1 Definition und Klassifikation

Ein Aneurysma ist definiert als eine lokalisierte, irreversible pathologische Zunahme des Gefäßdurchmessers. Klassischerweise sind folgende Entitäten eines Aneurysmas bekannt:

#### Aneurysma verum

Das Aneurysma verum (auch: echtes Aneurysma) ist gekennzeichnet durch eine Aussackung aller drei Gefäßwandschichten (Intima, Media und Adventitia) mit Erhalt der Kontinuität der Gefäßwand. Es lässt sich morphologisch weiter unterteilen in ein Aneurysma fusiformis, ein Aneurysma sacciformis und ein Aneurysma fusisacciformis.

Ein Aneurysma verum der Aorta liegt definitionsgemäß bei einer mindestens 1,5-fachen Zunahme des physiologischen aortalen Gefäßdurchmessers vor [15]. Geringere Zunahmen werden als Ektasien bezeichnet [16]. Die pathologischen Grenzwerte des Gefäßdurchmessers der einzelnen Aortenabschnitte sind in Tabelle 2 dargestellt.

**Tabelle 2: Pathologische Grenzwerte des Aortendurchmessers für die Aorta ascendens, Aorta descendens und Aorta abdominalis (infrarenaler Teil) bei 70jährigen Frauen und Männern.** Erstellt und modifiziert nach Wanhainen et al.; 2008 [8].

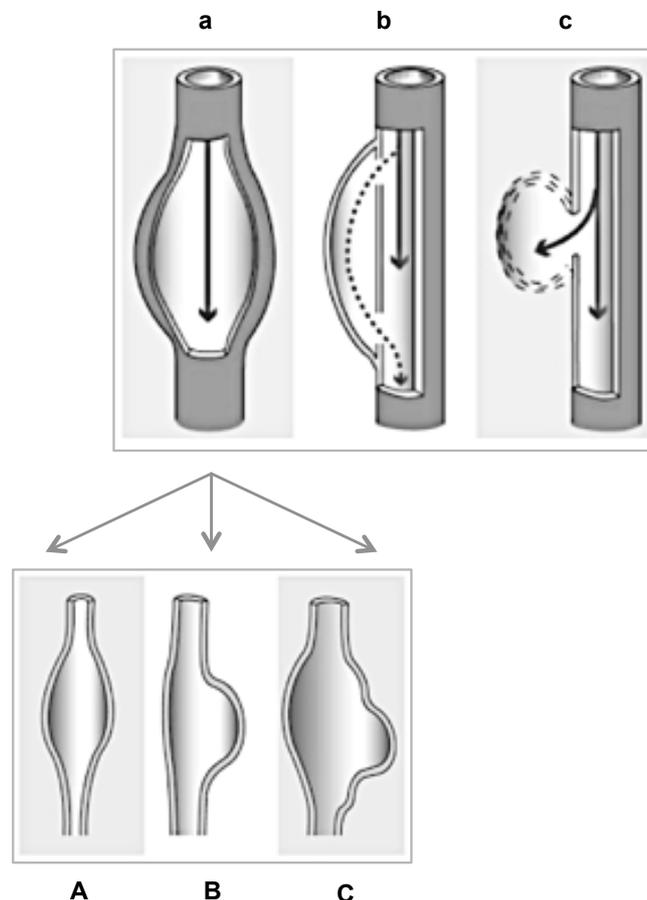
Aortenabschnitt	Aortendurchmesser	
	Frauen	Männer
Aorta ascendens	≥4,2 cm	≥4,7 cm
Aorta descendens	≥3,3 cm	≥3,7 cm
Aorta abdominalis	≥2,7 cm	≥3,0 cm

#### Aneurysma spurium

Das Aneurysma spurium (auch: falsches Aneurysma, Pseudoaneurysma) entsteht durch einen Gefäßwanddefekt, infolgedessen es zu einer perivaskulären Einblutung mit darauffolgender Ausbildung einer Bindegewebskapsel kommt. Die Genese ist häufig traumatisch, z.B. kann das Pseudoaneurysma an arteriellen Punktionsstellen im Rahmen interventioneller Eingriffe entstehen oder aber im Bereich von Gefäßanastomosen post operationem. Ein postpunktionsbedingtes Aneurysma spurium der Aorta kommt äußerst selten vor, da dieses Gefäß nur in Ausnahmefällen punktiert wird. Nahtaneurysmen der Aorta stellen ebenfalls Sonderfälle dar.

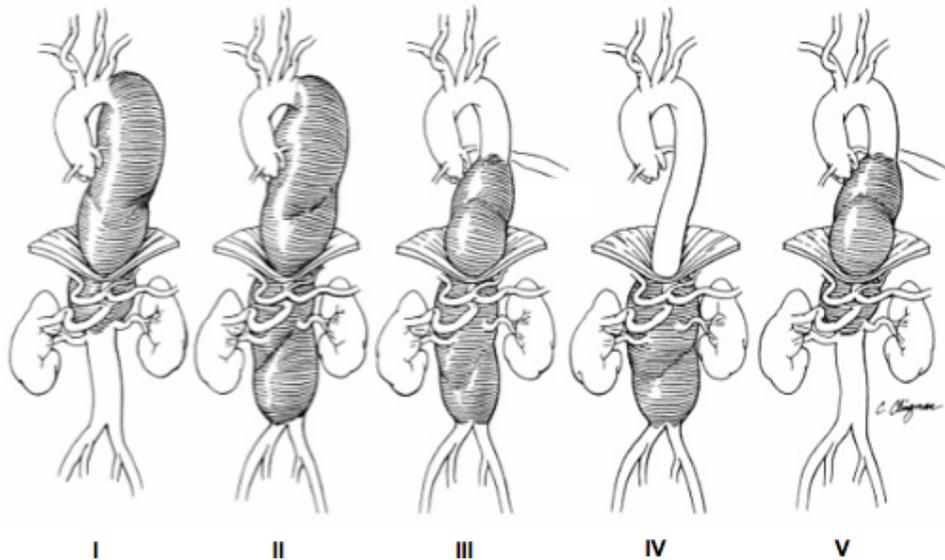
Aneurysma dissecans

Das Aneurysma dissecans kann sich infolge einer Aortendissektion ausbilden. Diese ist gekennzeichnet durch einen Einriss der Intima (*Entry*) und darauffolgender Blutansammlung in der Media mit longitudinaler Aufspaltung der Gefäßwandschichten über weite Strecken. Es kommt zu einer Ausbildung eines sogenannten „falschen“ Lumens, das von der Media und der Adventitia begrenzt wird. Dieses falsche Lumen kann entweder persistieren und das wahre Lumen verdrängen oder die entstandene Wühlblutung findet erneuten Anschluss an das wahre Lumen distal des *Entry* (*Re-Entry*) [17]. An dieser Stelle wird auf eine weitere Ausführung verzichtet und auf die Ätiopathogenese der Aortendissektion in Kapitel 1.3.2 verwiesen. Eine schematische Darstellung der Aneurysma-Typen zeigt Abbildung 2.



**Abbildung 2: Aneurysma-Typen** (schematische Darstellung). Erstellt und modifiziert nach Ludwig et al.; 2010 [17]. a, Aneurysma verum; b, Aneurysma dissecans; c, Aneurysma spurium; A, Aneurysma fusiformis; B, Aneurysma sacciformis; C, Aneurysma fusi-sacciformis.

Aortenaneurysmen werden entsprechend ihrer Lokalisation und Ausdehnung in thorakale Aortenaneurysmen (TAA), thorakoabdominelle Aortenaneurysmen (TAAA) und abdominale Aortenaneurysmen (AAA) eingeteilt. TAA umfassen die Aorta ascendens, den Aortenbogen sowie die Aorta descendens [18]. Im Jahre 1986 wurde von Crawford eine Klassifizierung des TAAA in vier Typen vorgenommen [19], die 1999 von Safi modifiziert wurde und heutzutage als „Modifizierte Crawford Klassifikation“ bezeichnet wird [20]. Sie umfasst fünf Typen und ist in Abbildung 3 dargestellt.



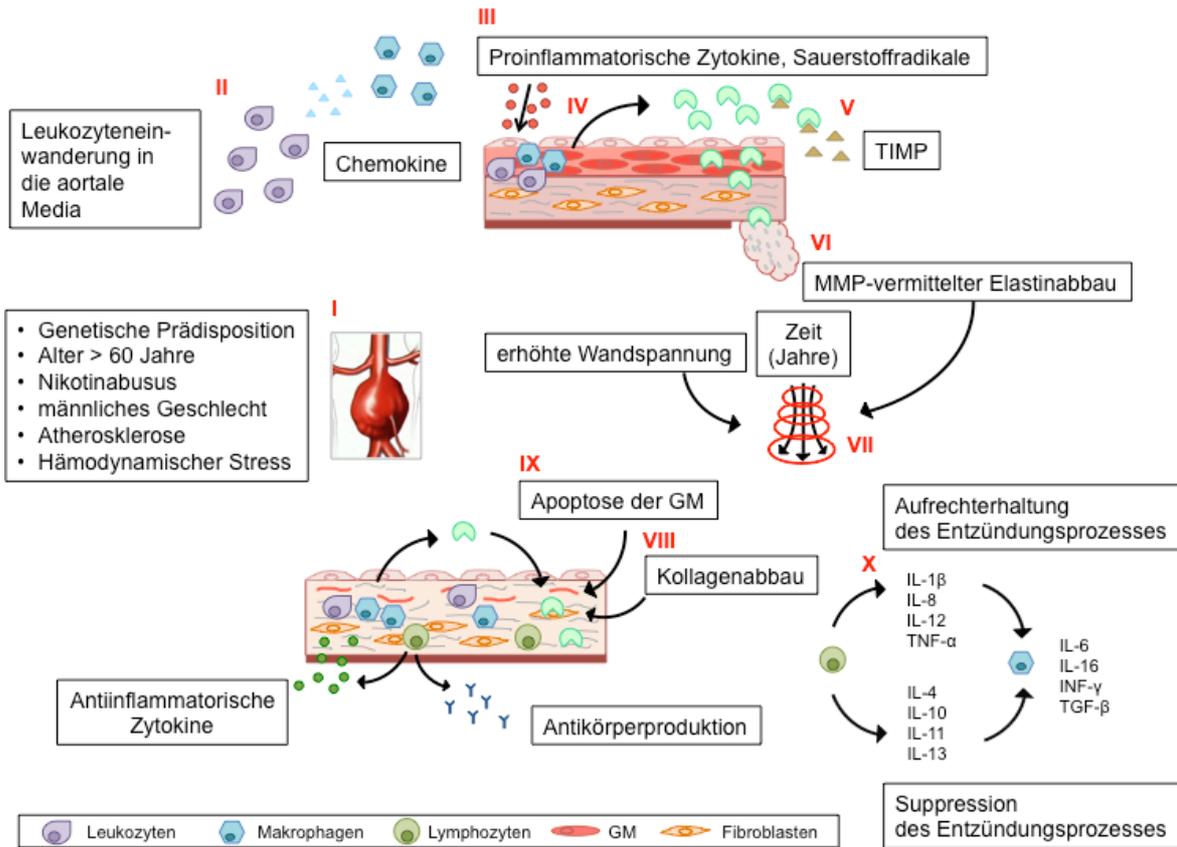
**Abbildung 3: Modifizierte Crawford Klassifikation** (schematische Darstellung). Erstellt und modifiziert nach Safi et al.; 1999 [20]. Die fünf Typen eines thorakoabdominellen Aortenaneurysmas (TAAA). Typ I, distal des Abgangs der A. subclavia sinistra bis zu den Abgängen der Aa. renales. Typ II, distal des Abgangs der A. subclavia sinistra bis zur Aortenbifurkation. Typ III, 6. ICR bis zur Aortenbifurkation. Typ IV, 12. ICR bis zur Aortenbifurkation. Typ V, 6. ICR bis zu den Abgängen der Aa. renales. ICR, Intercostalraum.

### 1.2.2 Ätiopathogenese, Pathophysiologie und Risikofaktoren

Die Entstehung eines aortalen Aneurysmas wird heutzutage als multifaktorieller Prozess mit genetischer Disposition und immunologischer Komponente beschrieben. Zudem finden sich in der Literatur Hinweise auf strukturelle sowie embryologische Unterschiede zwischen der thorakalen und der abdominalen Aorta [1], sodass eine unterschiedliche Pathogenese der Aneurysmen ober- und unterhalb des Zwerchfells teilweise auf diese Heterogenität zurückzuführen ist [21]. Beiden gemeinsam ist ein degenerativer Umbau der Media mit der Entwicklung eines aneurysmatischen Geschehens [22].

### Das abdominale Aortenaneurysma

Das abdominale Aortenaneurysma (AAA) wurde lange Zeit als spätes degeneratives Stadium der atherosklerotischen Gefäßerkrankung gesehen [23]. Tatsächlich ist die infrarenale Aorta das von einer Atherosklerose am stärksten befallene Segment der Aorta. Die Entwicklung des AAA ist jedoch multifaktorieller Genese [24]. Chronische Entzündungsprozesse, ein gesteigerter enzymatischer Abbau der elastischen und kollagenen Bindegewebsysteme und oxidativer Stress führen zur Zersetzung des vaskulären Gewebes und demzufolge zu Defiziten der strukturellen Integrität der Gefäßwand [25, 26]. Die von Endothelzellen, vaskulären glatten Muskelzellen, Fibroblasten der Adventitia und Immunzellen (Makrophagen, neutrophile Granulozyten, T- und B-Lymphozyten) sezernierten Enzyme wie Matrix-Metalloproteinasen (MMPs), Zytokine (Interleukine (IL), Interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), *Transforming Growth Factor*  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ )) und Chemokine führen zu inflammatorischen Prozessen, zur Neovaskularisation und zum Abbau der Strukturproteine der extrazellulären Matrix [27]. Die Produktion von MMPs, eine Familie zinkabhängiger Endopeptidasen mit hoher proteolytischer Aktivität und teilweise überlappender Substratspezifität für Proteinbausteine der EZM, scheint für den gesteigerten Abbau von EZM-Strukturproteinen führend zu sein [28]. Bisher sind 33 unterschiedliche MMPs bekannt, in Aortenaneurysmen konnte ein erhöhtes Vorkommen an v.a. MMP-2, -3, -8, -9, -12 und -13 nachgewiesen werden [27]. Aufgrund einer Überexpression dieser MMPs resultiert ein Ungleichgewicht zwischen dem enzymatischen Abbau des in der Media vorkommenden Elastins und Kollagens und dessen Inhibition durch *Tissue-Inhibitors-of-Metalloproteinases* (TIMPs). Es folgt der Verlust von Strukturproteinen und daraus resultierend eine Schwächung der aortalen Wand. Hinzu kommt ein Verlust an medialen GM durch Apoptose [13]. Das Entstehungsereignis für den chemotaktischen Reiz zur Einwanderung von Entzündungszellen ist bis heute nicht vollständig geklärt, es wird jedoch vermutet, dass u.a. die durch die MMPs entstandenen Abbauprodukte des Elastins als *chemoattractant* fungieren [13, 27-29]. Die erhöhte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies durch die infiltrierenden Leukozyten, aber auch die der Fibroblasten und GM, führt zu einer ständigen Rekrutierung inflammatorischer Zellen mit Folgen einer fortschreitenden Gewebeschädigung [13]. Eine schematische Darstellung der Pathophysiologie des AAA ist in Abbildung 4 gezeigt.



**Abbildung 4: Pathophysiologie des abdominalen Aortenaneurysmas** (schematische Darstellung). Erstellt und modifiziert nach Curci et al.; 2004 [30]. Die initiale Beeinträchtigung der Integrität der Aortenwand als Konsequenz vorhandener Risikofaktoren (I) führt zur Rekrutierung von Leukozyten in die aortale Media (II), zur Aktivierung von Makrophagen und zur Produktion proinflammatorischer Moleküle (III). Die Produktion von Matrix-Metallo-Proteinasen (MMPs) (IV), deren Wirkung durch die *Tissue-Inhibitors-of-Metalloproteinases* (TIMPs) (V) nur insuffizient neutralisiert wird, führt zum Abbau struktureller Komponenten der EZM (VI). Über mehrere Jahre führen der Abbau des Elastins sowie die erhöhte Wandspannung zur voranschreitenden Entwicklung einer aortalen Dilatation (VII). Der Kollagenabbau führt zu einer zunehmenden Schwächung der Aortenwand (VIII); obwohl mediale glatte Muskelzellen (GM) und Fibroblasten dem strukturellen Abbau entgegenzusteuern versuchen, kommt es zu Apoptose von GM (IX) und zur Desorganisation der kollagenen Strukturen. Zudem produzieren die infiltrierenden T- und B-Lymphozyten pro- als auch antiinflammatorische Moleküle und fördern bzw. hemmen den Progress der Aneurysmaentwicklung (X). INF- $\gamma$ , Interferon  $\gamma$ ; IL, Interleukin; TGF- $\beta$ , *Transforming Growth Factor*  $\beta$ .

Aufgrund des im Rahmen der Entstehung von Aneurysmen fortschreitenden Elastizitätsverlustes der Gefäßwand kommt es bezüglich der vorherrschenden Wandspannung zu einer Erschöpfung der Kompensationsfähigkeit der Aortenwand und zu einer Zunahme des Gefäßdurchmessers [31]. Die Wandspannung, die, gemäß des Gesetzes von Laplace (s. Abb. 5), proportional zum Gefäßradius sowie zum transmuralen Druck und umgekehrt proportional zur Gefäßwanddicke ist, erhöht sich somit mit zunehmendem Gefäßdurchmesser und zieht eine Erhöhung des Rupturrisikos nach sich.

$$\text{Laplace-Gesetz: } \mathcal{K} = \mathcal{P} * \frac{r}{2d}$$

**Abbildung 5: Laplace-Gesetz.**

$\mathcal{K}$ , Wandspannung;  $\mathcal{P}$ , transmuraler Druck;  $r$ , Gefäßradius;  $d$ , Gefäßwanddicke

Zu den Risikofaktoren, die mit der Ausbildung eines AAA und damit mit den o.g. Prozessen assoziiert sind, zählen der Nikotinabusus [32, 33], ein höheres Alter (>65 Jahre) [34], das männliche Geschlecht [35, 36] sowie eine positive Familienanamnese mit dem stärksten Risiko bei einem Verwandtschaftsverhältnis 2. Grades unter Brüdern [37, 38]. Zudem konnte eine Assoziation zwischen einem erniedrigten Spiegel an High-Density-Lipoprotein (HDL) im Serum und der Ausbildung von AAA gefunden werden [35, 39, 40].

Das thorakale Aortenaneurysma

Im Gegensatz zur chronisch inflammatorischen Pathogenese des AAA wurde beim thorakalen Aortenaneurysma (TAA) als histopathologisches Korrelat lange Zeit die erstmals im Jahre 1930 von Erdheim und Gsell beschriebene zystische Medianekrose angesehen [41]. Da sich in späteren Untersuchungen weder regelrechte Zysten noch Nekrosen zeigten, wird heutzutage der Begriff der Mediadegeneration (MD) verwendet [42], der folgende histopathologische Komponenten umfasst: Mukoide extrazelluläre Matrixakkumulation, Abbau elastischer Fasern, Fibrose der Media, Verlust und Desorganisation von GM (auch „Medianekrose“ genannt). Schlatmann und Becker stellten diesbezüglich eine Einteilung der MD auf, die in Tabelle 3 dargestellt ist. Sie stellten zudem fest, dass die MD auch Teil des physiologischen Alterungsprozesses innerhalb aller aortalen Abschnitte mit präferentiellem Auftreten in den thorakalen Segmenten ist [43].

**Tabelle 3: Einteilung der Mediadegeneration.** Erstellt nach Schlatmann und Becker; 1977 [43].

Grad	Zystische Medianekrose	Elastinfragmentation	Fibrose	Medianekrose
I	Kleine Zysten innerhalb einer einzelnen lamellären Einheit	<5 Fragmentationsherde pro Gesichtsfeld (200fache Vergrößerung); jeder Herd umfasst 2 oder 4 benachbarte elastische Lamellen; Erhalt der Orientierung der GM	Zunahme des Kollagengehalts in einem Gebiet, das <1/3 der Mediabreite ausmacht	Herdförmiger Verlust der Kerne in einem Gebiet, das <1/3 der Mediabreite ausmacht
II	Erhöhte Anzahl und Größe der Zysten, sodass die Zysten die Breite einer lamellären Einheit bedecken	5+ Fragmentationsherde pro Gesichtsfeld (200fache Vergrößerung); jeder Herd umfasst 2 oder 4 benachbarte elastische Lamellen; Erhalt der Orientierung der GM	Zunahme des Kollagengehalts in einem Gebiet, das zwischen 1/3 und 2/3 der Mediabreite ausmacht	Herdförmiger Verlust der Kerne in einem Gebiet, das zwischen 1/3 und 2/3 der Mediabreite ausmacht
III	Große Zysten über mehr als eine lamelläre Einheit verteilt	Fragmentationsherde in 5 oder mehr benachbarten elastischen Lamellen, unabhängig von der Anzahl der Herde pro Gesichtsfeld; Orientierung der GM ist gestört	Zunahme des Kollagengehalts, in einem Gebiet, das >2/3 der kompletten Mediabreite ausmacht	Herdförmiger Verlust der Kerne in einem Gebiet, das >2/3 der kompletten Mediabreite ausmacht

Eine lamelläre Einheit ist definiert als zwei benachbarte parallele elastische Lamellen mit dem dazwischenliegenden interlamellären Raum mit glatten Muskelzellen, Kollagenfasern und Grundsubstanz. GM, glatte Muskelzellen.

Die MD in Verbindung mit Aneurysmen der proximalen Aorta kann genetisch bedingt in Assoziation mit Syndromen oder isoliert vorkommen, andererseits sind ebenfalls nicht-genetische Ursachen für die Entwicklung eines TAA bekannt.

Zu den bekanntesten syndromalen genetischen Erkrankungen mit Prädisposition zur Ausbildung von TAAs und einer früh einsetzenden Entwicklung der Mediadegeneration gehören das Marfan-Syndrom (MFS), das vaskuläre Ehlers-Danlos-Syndrom (vEDS) und das Loeys-Dietz-Syndrom (LDS). Studien haben gezeigt, dass dem MFS und dem LDS eine TGF- $\beta$ -Signalopathie als Grundlage der Ausbildung eines Aneurysmas gemein ist. Diese führt, ähnlich wie bei der Ausbildung eines AAA, zu einem Ungleichgewicht der MMPs und TIMPs mit Dedifferenzierung der GM, Desorganisation und Verlust der elastischen Fasern sowie einer Infiltration inflammatorischer Zellen (T- und B-Lymphozyten sowie Makrophagen) [14, 26]. Dem vEDS liegt eine Mutation im COL3A1-Gen zugrunde, welches für das Kollagen Typ III kodiert, und die zu einer Schwächung des vaskulären Gewebes führt [26].

Zu den isoliert vorkommenden genetisch bedingten Erkrankungen mit Prädisposition zur Ausbildung eines TAA gehört die kongenitale bikuspidale Aortenklappe und die Gruppe der familiären thorakalen Aortenaneurysmen und Dissektionen (TAAD) [44].

Die nicht genetischen Ursachen des TAA umfassen Infektionen (Syphilis [45] und das infektiöse Aneurysma [46]) sowie Vaskulitiden (Takayasu- und Riesenzellaortitis) [45]. Des Weiteren kann es zur Ausbildung eines traumatischen TAA im Rahmen eines Dezelerationstraumas, beispielsweise ein Verkehrsunfall oder ein Sturz aus großer Höhe, kommen [47]. Oft ist das Auftreten von TAAs auch als Folge einer Aortendissektion beschrieben. Diese sind jedoch Spätkomplikationen chronischer Dissektionen (sog. Postdissektions-Aneurysmen), sodass hier per definitionem kein echtes Aneurysma sondern eine Erweiterung des falschen Lumens aufgrund veränderter Fließeigenschaften vorliegt [14]. Auch hier wirkt das Gesetz von Laplace, sodass das falsche Lumen, welches von der im Vergleich zur Media dünneren Adventitia begrenzt wird, einen größeren Durchmesser annehmen muss, um dieselbe Wandspannung bei gegebenem Blutdruck kompensieren zu können [48].

Zusätzlich zu den o.g. disponierenden Faktoren sind einige Risikofaktoren für die Entwicklung eines TAA bekannt: Die Mediadegeneration wird in ihrer Entwicklung durch einen bestehenden arteriellen Hypertonus ( $>140/90\text{mmHg}$ ) zusätzlich beschleunigt [49]. Ein Nikotinabusus und die chronisch obstruktive Lungenerkrankung sind ebenfalls mit der Ausbildung eines TAA assoziiert [50]. Auch Personen männlichen Geschlechts sind häufiger von TAAs betroffen als Personen weiblichen Geschlechts [51]. Die Fragestellung bezüglich eines kausalen Zusammenhangs zwischen dem Vorhandensein einer Atherosklerose und der Ausbildung eines TAA ist bisher nicht eindeutig geklärt [14].

### **1.3 Die Aortendissektion**

#### **1.3.1 Definition, Pathophysiologie und Klassifikation**

Die Aortendissektion wurde, basierend auf einer im Jahre 1999 von Svensson et al. durchgeführten Studie [52], von der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC, *European Society of Cardiology*) einer Gruppe von Notfallerkkrankungen zugeschrieben, die ähnliche klinische Charakteristika aufweisen und unter Beeinträchtigung der aortalen Intima sowie Media mit der Entstehung einer Aortendissektion und/oder -ruptur assoziiert sind. Als Bezeichnung dieser Gruppe von Erkrankungen wurde der Begriff ‚Akutes Aortensyndrom‘ verwendet und ist in Tabelle 4 dargestellt.

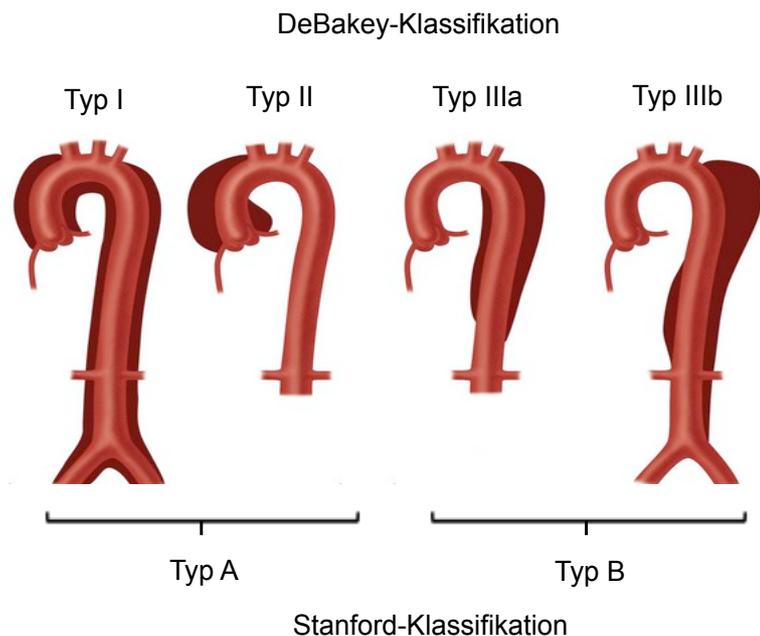
**Tabelle 4: Gruppe von Erkrankungen ‚Akutes Aortensyndrom‘.** Erstellt nach Erbel et al.; 2014 [53].

Klasse	Ätiopathologie
I	Klassische Aortendissektion mit primärem Intima-Einriss und Ausbildung eines Doppellumens durch Bildung einer Dissektionsmembran
II	Bildung eines intramuralen Hämatoms (IMH) mit Intima-Media-Desintegration
III	Diskreter Intima-Einriss ohne Ausbildung eines Hämatoms mit exzentrischer Aortenwandaussackung
IV	Penetrierendes Aortenulkus (PAU)
V	Iatrogene oder traumatische Dissektion

Die Aortendissektion ist definiert als eine Aufspaltung der Wandschichten der Aorta. Zu dieser Aufspaltung kann es entweder durch einen spontanen Einriss der Intima (*Entry*) kommen, welcher als klassische Dissektion bezeichnet wird, oder durch eine akute Blutung der Vasa vasorum der Media mit Ausbildung eines intramuralen Hämatoms (IMH), welches sich, ohne Intimaseparation, longitudinal zwischen den Mediaschichten ausbreitet [53]. Eine Plaqueruptur bei ausgeprägter Atherosklerose mit ulcerationsbedingter Arrosion der Vasa vasorum kann ebenfalls zur Ausbildung eines intramuralen Hämatoms führen, dieses ist dann jedoch meist lokalisiert und führt seltener zur klassischen Dissektion [18].

Im Falle der klassischen Aortendissektion gelangt das im Körperkreislauf zirkulierende Blut durch das entstandene *Entry* zwischen die Gefäßwandschichten und es kommt zu einer konsekutiven Desintegration der Media mit Ausbildung eines echten und eines falschen Lumens. Diese beiden Lumina sind durch die sogenannte Dissektionsmembran voneinander getrennt. Das *Entry* ist zu 65% in der AS zu finden [54], zu 25% in der DE [54] und zu 10% im Aortenbogen bzw. der AB [48]. Der Druck im falschen Lumen kann gleich oder höher als der Druck im wahren Lumen sein. Ist der Druck im falschen Lumen höher als im wahren Lumen und führt somit zu dessen Kompression, oder legt sich ein Teil der abgelösten Intima (sog. Intimalasche) über einen Gefäßabgang aus dem wahren Lumen, kann es zur sogenannten dynamischen Obstruktion des Gefäßabgangs und infolgedessen zu einer Minderperfusion nachgeschalteter Körperareale kommen. Liegt eine direkte Mitbeteiligung des Gefäßabgangs im Rahmen der Dissektion vor spricht man von einer statischen Obstruktion [55]. Grundsätzlich kann das falsche Lumen perfundiert bleiben, thrombosieren, Wiederanschluss an das wahre Lumen finden (*Re-Entry*) oder, je nach Lokalisation der Dissektion, in benachbarte Räume wie das Perikard, die Pleurahöhle oder nach intraperitoneal rupturieren [55].

Die Klassifizierung richtet sich nach dem Ort des *Entry* sowie der longitudinalen Ausbreitung der Dissektionsmembran. Die im klinischen Alltag gebräuchlichere Stanford-Klassifikation unterscheidet zwischen einer Typ A- und einer Typ B-Dissektion. Bei der Typ A-Dissektion liegt das *Entry* im proximalen Aortenabschnitt (Aorta ascendens), bei der Typ B-Dissektion im distalen Aortenabschnitt (distal der A. subclavia sinistra) [56]. Die DeBakey-Klassifikation unterliegt einer Einteilung in die Typen I, II und III und richtet sich, zusätzlich zur Lokalisation des *Entry*, nach der longitudinalen Ausbreitung der Dissektionsmembran und den damit betroffenen Aortenabschnitten. Bei Typ I findet sich das *Entry* im Bereich der AS und die Ausdehnung der Dissektion betrifft die gesamte Aorta. Bei Typ II sind *Entry* und Ausbreitung auf die AS begrenzt. Bei Typ III findet sich der Einriss im Bereich der DE und die longitudinale Ausbreitung betrifft die distale Aorta. Hier wird zusätzlich ein Typ IIIa (Ausbreitung der Dissektion bis oberhalb des Zwerchfells) von einem Typ IIIb (Ausbreitung der Dissektion bis unterhalb des Zwerchfells) unterschieden [57] (s. Abb. 6).



**Abbildung 6: Morphologische Klassifikation der Aortendissektion nach DeBakey und Stanford.** Erstellt und modifiziert nach Kim et al.; 2015 [58].

Je nach zeitlicher Relation zwischen Symptombeginn und Diagnosestellung wird die Aortendissektion in eine akute ( $\leq 14$  Tage), eine subakute (14-90 Tage) und eine chronische ( $\geq 90$  Tage) Form unterteilt [53].

### 1.3.2 Ätiopathogenese und Risikofaktoren

Die Entstehung einer Aortendissektion ist multifaktorieller Genese. Die Dissektion scheint das Endresultat pathologischer Prozesse zu sein, die, ähnlich der Ausbildung eines TAA, zu einer prinzipiellen Schwäche der Media sowie einer erhöhten aortalen Wandspannung führen. Das Entry tritt gehäuft an den Stellen der Aorta auf, an denen die höchste Wandschubspannung zu finden ist. Histologische Untersuchungen dieser Regionen zeigten, dass auch die aortale Dissektion als Charakteristikum die zystische Mediadegeneration aufweist. Mikroskopisch nachweisbar sind der Elastinabbau, eine Abnahme der EZM sowie eine ausgedünnte, teilweise fehlende Basalmembran der glatten Muskelzellen. Inflammatorische Marker (überwiegend MMP-2 und -9 und TIMPs) sowie VEGF (*vascular endothelial growth factor*) sind in aortalen GM und der infiltrierten, zerstörten aortalen Media nachweisbar, ebenso proinflammatorische Zellen wie Makrophagen, die bei Dissektionen jedoch eine untergeordnete Rolle zu spielen scheinen [54, 59].

Die Risikofaktoren für die Entstehung einer Dissektion lassen sich demnach in zwei große Gruppen einteilen: Faktoren, die die Aortenwand schwächen (z.B. genetische Mutationen, die hereditäre Bindegewebserkrankungen verursachen (Marfan-Syndrom, vaskuläres Ehlers-Danlos-Syndrom, Loeys-Dietz-Syndrom), Vaskulitiden mit Beteiligung der Aorta und kongenitale Fehlbildungen) und Faktoren, die die Wandspannung erhöhen; hier ist vor allem der arterielle Hypertonus als der am weitesten verbreitete Risikofaktor zu nennen [26]. Zudem haben Männer ein höheres Risiko als Frauen eine Aortendissektion zu erleiden (ca. 60% zu 30%) [54] und auch ein höheres Alter wurde als Risikofaktor für die Ausbildung einer Aortendissektion identifiziert [60]. Ebenfalls scheint die Atherosklerose mit der Ausbildung einer Aortendissektion assoziiert zu sein [54, 61].

## 1.4 Sphingosin-1-Phosphat (S1P) und die S1P-Rezeptoren

### 1.4.1 Sphingosin-1-Phosphat

Sphingosin-1-Phosphat ( $C_{18}H_{38}NO_5P$ ) gehört zu der Substanzklasse der Sphingolipide, eine Gruppe strukturell verwandter Lipide, die in den Membranen aller eukaryotischen Zelltypen zu finden ist. Es ist ein Metabolit des Sphingomyelin-Stoffwechsels mit diversen intra- und extrazellulären Funktionen [62]. Die Biosynthese des S1P erfolgt entweder über einen de-novo-Syntheseweg am endoplasmatischen Retikulum [63] oder durch die Sphingomyelinase, welche die Spaltung von Sphingomyelin zu Ceramid und Phosphorylcholin katalysiert [64]. Das Ceramid erfährt anschließend durch die Ceramidase eine Umwandlung zum Sphingosin, welches nachfolgend durch eine der

beiden Sphingosin-Kinasen (SphK1 oder SphK2) unter Verbrauch eines Moleküls Adenosintriphosphat (ATP) zu Sphingosin-1-Phosphat phosphoryliert wird [65]. Der Abbau des S1P kann nun einerseits über eine Dephosphorylierung durch Phosphatasen zu Sphingosin erfolgen oder andererseits durch die S1P-Lyase, die S1P irreversibel zu 2-Hexadecanal und Phosphoethanolamin spaltet [66]. In Abbildung 7 ist eine Übersicht des S1P-Metabolismus dargestellt.

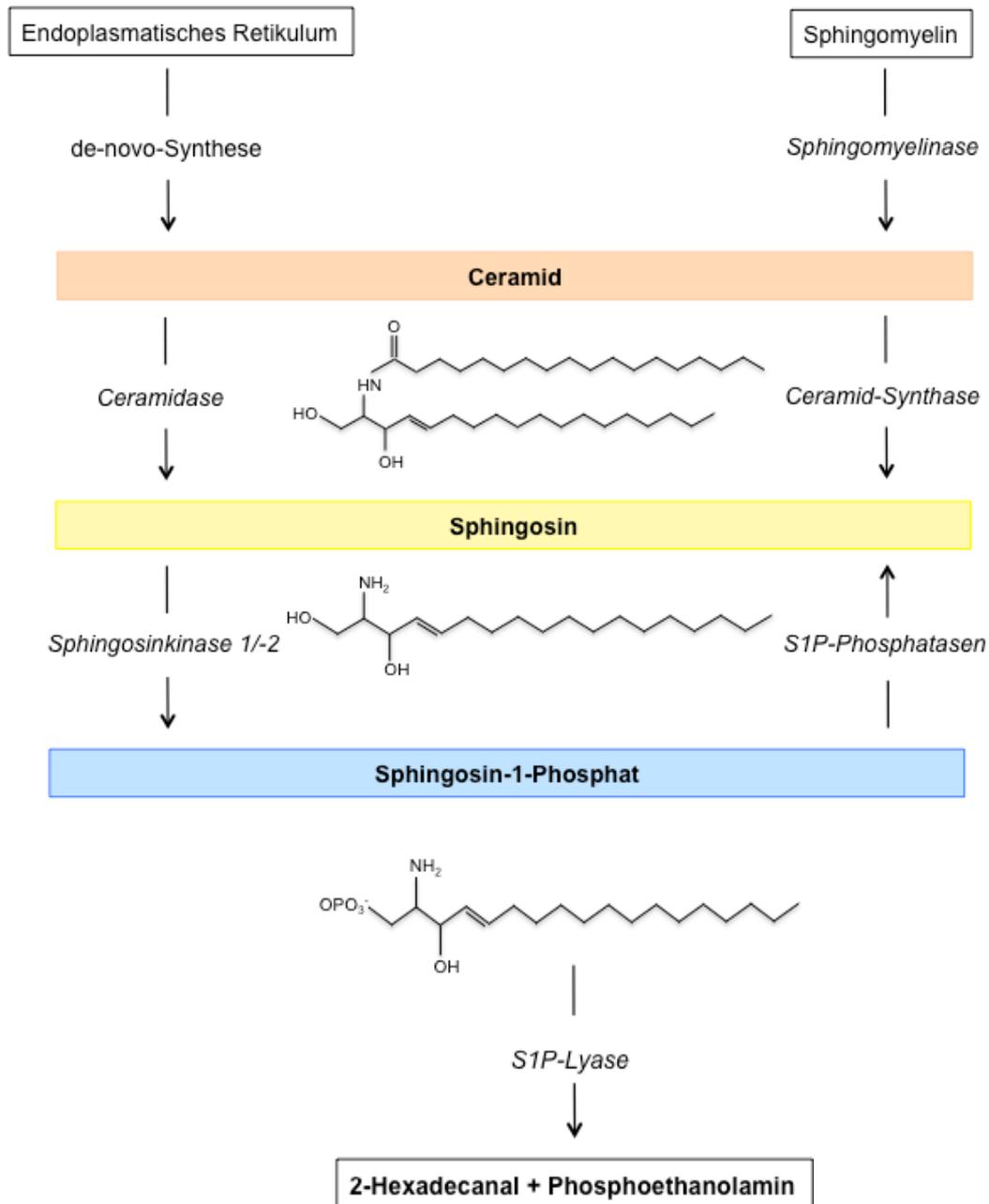


Abbildung 7: S1P-Metabolismus. S1P, Sphingosin-1-Phosphat. (Details siehe Text).

S1P kommt in hohen Konzentrationen im Plasma vor (beim Menschen etwa 200-900nmol) [67]. Hier ist es überwiegend an das Apolipoprotein M (ApoM) des HDL (*High-Density-Lipoprotein*) gebunden (ca. 60%). Ca. 30% liegen Albumin-gebunden vor und kleinere Mengen werden auch in VLDL (*Very-Low-Density-Lipoprotein*) und LDL (*Low-Density-Lipoprotein*) gefunden [68-70]. Die interstitielle S1P-Konzentration ist zwei bis drei Größenordnungen geringer als die Plasmakonzentration; das S1P im Plasma wird überwiegend von Erythrozyten [71], vaskulären [72] und lymphatischen [73] Endothelzellen sowie lokal von nach Gefäßverletzung aktivierten Thrombozyten [74] generiert, wobei das intrazellulär gebildete S1P über spezifische Transportmechanismen sezerniert wird [75]. S1P kann somit sowohl autokrine als auch parakrine Effekte auslösen [76].

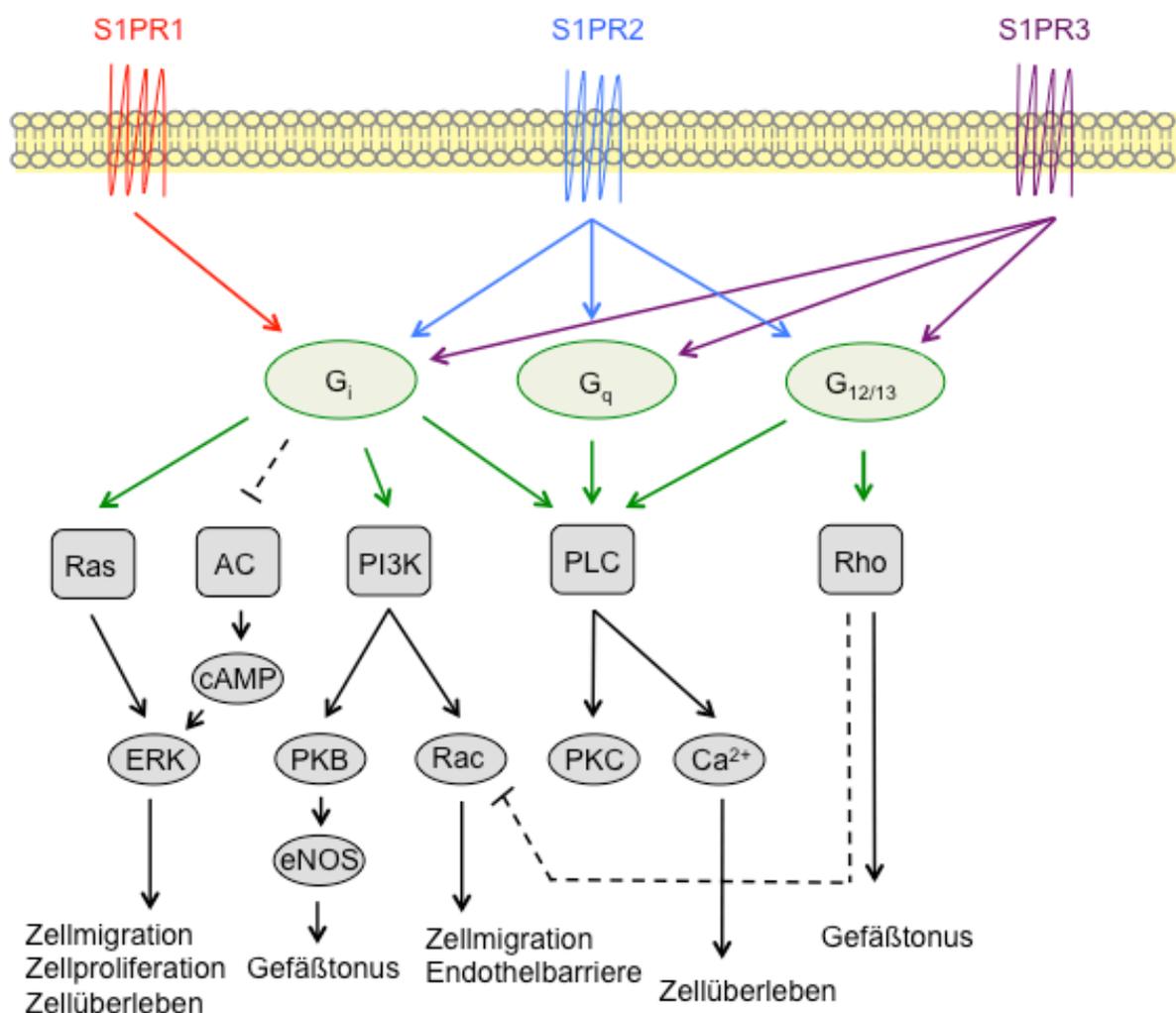
S1P bindet an fünf unterschiedliche G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (S1PR1-5) [77, 78] und reguliert so zahlreiche physiologische Prozesse wie Zellproliferation und -migration, Vaskulo- und Angiogenese, Gefäßpermeabilität und den Gefäßtonus [70, 79-81]. Des Weiteren ist S1P an pathophysiologischen Prozessen beteiligt, die bei Krankheiten wie der Multiplen Sklerose [82], tumorösen Erkrankungen [83] und der Atherosklerose [84, 85] eine Rolle spielen.

#### **1.4.2 Die Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptoren**

Die meisten biologischen Effekte des S1P basieren auf seiner Ligandenfunktion für eine Gruppe fünf unterschiedlicher G-Protein-gekoppelter Rezeptoren, den S1PR1-5 [86, 87]. Die fünf S1P-Rezeptoren zeigen gewebe- und zellabhängig verschiedene Expressionsmuster [88]. Die S1PR1-3 sind ubiquitär exprimiert, der S1PR4 sowie der S1PR5 lassen sich hingegen lediglich im Immun- und Nervensystem finden [89]. Da die verschiedenen S1P-Rezeptoren unterschiedliche heterotrimere G-Proteine binden ( $G_i$ ,  $G_q$ ,  $G_{12/13}$ ), kann S1P eine Vielzahl potentieller Kombinationen intrazellulärer Signalkaskaden initiieren [87]. Das  $G_i$  führt über eine Inhibierung der Adenylylcyclase zu einer Aktivierung des ERK/MAPK-Weges [90] und nimmt über diese Kaskade Einfluss auf die Endothelzellproliferation [91]. Des Weiteren kann über das  $G_i$  die Phospholipase C aktiviert und dadurch eine intrazelluläre Kalziummobilisation erreicht werden [92], welches in Endothelzellen eine Inhibierung der Apoptose zur Folge hat [93] und in GM zu einer Kontraktion führt [94]. Die Aktivierung der Phospholipase C kann auch über das  $G_q$  erfolgen [90]. Die Auslösung einer weiteren Signalkaskade erfolgt durch die Aktivierung der Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K), die letztendlich zu einer Proteinkinase B (PKB) - vermittelten Phosphorylierung und Aktivierung der endothelialen Stickstoffmonoxid (NO) - Synthase (eNOS) führt. Über die darauffolgende Produktion von NO kann Einfluss auf

den Gefäßtonus genommen werden [95]. Auch die kleinen GTPasen der Rho-Familie (Rac und Rho) sind Teil der S1P-Signaltransduktion [96] und steuern die Zellmigration, die Gefäßpermeabilität und den Gefäßtonus. Über das  $G_i$  und die PI3K kann Rac aktiviert [96] und die Gefäßpermeabilität herabgesetzt werden [97]. Gegenspieler hierzu stellt die Aktivierung von Rho über das  $G_{12/13}$  dar, welches die Permeabilität von Endothelzellen erhöht [98] und in vaskulären glatten Muskelzellen eine Inhibierung der Migration [99] sowie eine Steigerung der Gefäßkontraktion [100] zur Folge hat.

In Abbildung 8 ist eine Übersicht der Signalkaskaden der G-Proteine dargestellt, die durch die Aktivierung der S1PR1-3 ausgelöst werden können.



**Abbildung 8: Signaltransduktion des S1PR1, S1PR2, S1PR3.** Erstellt und modifiziert nach Blaho et Hla; 2011 [66]. AC, Adenylylcyclase; Ca<sup>2+</sup>, Kalzium; cAMP, cyclisches Adenosinmonosphat; ERK, *Extracellular-signal Regulated Kinase*; eNOS, endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase; PI3K, Phosphoinositid-3-Kinase; PKB, Proteinkinase B; PKC, Proteinkinase C; PLC, Phospholipase C; S1P, Sphingosin-1-Phosphat; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor.

Der S1PR1 assoziiert ausschließlich mit  $G_i$  [101], wohingegen der S1PR2 und auch der S1PR3 sowohl an  $G_i$ ,  $G_q$  als auch  $G_{12/13}$  koppeln [102]. Endothelzellen exprimieren überwiegend S1PR1 und S1PR3, während GM hauptsächlich S1PR2 und S1PR3 exprimieren [92].

#### Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor-1

Viele Effekte des S1P innerhalb des vaskulären Systems sind auf die Wirkung des endothelialen S1PR1 zurückzuführen [103]. In Studien konnte gezeigt werden, dass dem endothelialen S1PR1 eine Rolle in der embryonalen Gefäßentwicklung zukommt. S1PR1-*knock-out* (KO) -Mäuse zeigen eine eingeschränkte Vaskulogenese während der embryonalen Entwicklungsphase, die eine intrauterine Letalität zur Folge hat [104]. Die Gefäße der S1PR1-KO-Mäuse unterliegen einer verminderten Reifung aufgrund mangelnder Umschließung durch Perizyten und glatten Muskelzellen, was Gefäßrupturen nach sich zieht [104, 105]. In einer Studie von Allende et al. konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt auf dem S1PR1 der EZ beruht und nicht auf dem S1PR1 der GM [106]. Des Weiteren scheint der endotheliale S1PR1 das Sprouting von Gefäßen zu inhibieren und so zur Stabilisierung der Gefäße während der Angiogenese beizutragen [107].

Ferner reguliert der S1PR1 den Gefäßtonus, indem er über eine Akt-vermittelte eNOS-Phosphorylierung die NO-Synthese steigert, was zu einer Vasodilatation führt [94]. Ebenfalls Akt-vermittelt erfolgt die Aktivierung der kleinen GTPase Rac, die wiederum die Cortactin-medierte Polymerisation von Aktinfilamenten induziert und hierüber die endotheliale Barriere verstärkt [108]. Unter Verwendung von S1PR1-Antagonisten konnte hingegen eine vermehrte Gefäßdurchlässigkeit („*capillary leak*“) in pulmonalen Gefäßen festgestellt werden [109].

Yamamoto et al. konnten in einer Studie den endothelialen S1PR1 erstmals in einen direkten Zusammenhang mit der Ausbildung intrakranieller Aneurysmen bringen. In vitro konnte durch die Anwendung des S1PR1-Agonisten *ASP4058* eine Verstärkung der endothelialen Barriere erreicht und hierüber die transendotheliale Migration von Monozyten/Makrophagen supprimiert werden. Zudem konnte in einem Rattenmodell nach oraler Verabreichung von *ASP4058* die Größe von bereits bestehenden intrakraniellen Aneurysmen reduziert werden [110].

Des Weiteren wurde in Versuchen mit Endothelzellen aus humanen Aorten eine S1PR1-vermittelte Stimulation der Proliferation von Endothelzellen [91] sowie in murinen Zellkulturen die Migration von GM [111] festgestellt.

Die Integrität der Glykokalix scheint durch den S1PR1 der Endothelzellen auch positiv beeinflusst zu werden. Hier konnte gezeigt werden, dass es über den S1PR1 zur

Inhibition des Abbaus der Bestandteile der Glykokalix durch Hemmung spezifischer Matrix-Metallo-Proteinasen (MMP-9 und -13) kommt [12].

Der S1PR1 auf Lymphozyten nimmt großen Einfluss auf die Migration von Immunzellen. Der Austritt von T-Zellen aus dem Thymus ist S1PR1-abhängig. Studien an chimären S1PR1-KO-Mäusen zeigten eine periphere Lymphopenie als Folge der S1PR1-Deletion [112]. Das seit mehreren Jahren in der Behandlung der Autoimmunerkrankung Multiple Sklerose verwendete Immunsuppressivum *Fingolimod* (FTY720) wirkt als S1P-Analogen und erzeugt eine S1PR1-antagonisierende Wirkung, indem es nach eigener Phosphorylierung eine Internalisierung und Degradation des S1PR1 bewirkt. Dieses bewirkt auch ein Verbleiben der im Rahmen der Erkrankung entstandenen autoaggressiven T-Zellen in den lymphatischen Organen, sodass das Medikament breiten Anklang in der klinischen Behandlung der Multiplen Sklerose findet [113].

#### Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor-2

Der S1PR2 wird im Gefäßsystem überwiegend von glatten Muskelzellen exprimiert, lässt sich aber ebenso, wenn auch deutlich geringer als der S1PR1, auf Endothelzellen finden [92].

Eine Aktivierung des S1PR2 führte in Experimenten unter Verwendung von Endothelzellen aus humanen Umbilikalvenen zu einer verminderten endothelialen Barrierefunktion [98], zeigt also einen antagonistischen Effekt zum S1PR1 bezüglich der Gefäßpermeabilität. Ein genetischer Knockout in Mäusen führte hingegen zu einer geringeren paravasalen Ödembildung bei Reperfusion nach induzierter zerebraler Ischämie [114]. Des Weiteren wurde in in-vitro-Versuchen gezeigt, dass die Expression proinflammatorischer Marker, ausgelöst durch die Gabe von TNF- $\alpha$ , durch den S1PR2-Antagonisten *JTE013* reduziert wurde [115]. Gleiches gilt für die Aktivierung der MMP-9 in in-vitro-Versuchen unter Verwendung von Endothelzellen aus Hirngefäßen. Hier zeigte sich nach Gabe von *JTE013* eine reduzierte Aktivierung der genannten MMP. Umgekehrt führte eine Überexpression des S1PR2 zu einer erhöhten Aktivität der MMP-9 nach Stimulierung der Zellen mit TNF- $\alpha$  [114].

Der S1PR2 scheint auch einen Einfluss auf die Hämodynamik zu nehmen. S1PR2-KO-Mäuse präsentieren sich einen Monat nach Geburt taub. Grund hierfür scheint der Verlust einer S1PR2-vermittelten Vasokonstriktion eines der Stria vascularis vorgeschalteten Gefäßes (A. spiralis modioli) zu sein. Hierdurch kommt es zu abnormen Blutdruckspitzen in den nachgeschalteten, zur Stria vascularis gehörenden Gefäßen, die zur Vasodilatation und -deformation führen und dadurch die physiologische Entwicklung des Gehörs behindern [116]. Eine weitere Studie zeigte, dass es bei S1PR2-KO-Mäusen in vivo zu

einer lokalen Abnahme des Gefäßwiderstandes in bestimmten Gefäßabschnitten nach Gabe eines  $\alpha_1$ -Adrenorezeptor-Agonisten (Phenylephrin) kommt [117, 118].

Eine induzierte Überexpression des S1PR2 auf GM führte in experimentellen Studien zu einer Induktion der Expression von Differenzierungsgenen für den kontraktiven Phänotyp von glatten Muskelzellen. Eine Suppression dieser Expression konnte durch die Verwendung von *JTE013* herbeigeführt werden [119].

Auch die Migration der GM wird durch den S1PR2 beeinflusst. Der Signalweg über die  $G_{12/13}$  führt zu einer Aktivierung der kleinen GTPase Rho und darüber zu einer Inhibierung von Rac und der damit verbundenen Migration von GM [99]. Dieser Mechanismus könnte dazu beitragen, dass S1PR2-KO-Mäuse nach Ligation der A. carotis communis eine signifikant stärkere intimale Hyperplasie im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen zeigen [6].

### Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor-3

Der S1PR3 wird von Endothelzellen sowie von vaskulären glatten Muskelzellen exprimiert und koppelt an die G-Proteine  $G_i$ ,  $G_q$  und  $G_{12/13}$  [92]. In Endothelzellen erfolgt über den S1PR3/PLC/eNOS-Signalweg eine Inhibierung der Apoptose [93]. Des Weiteren stimuliert der S1PR3 in vitro die Migration sowie das Überleben von EZ und GM [120, 121]. Die Funktion des S1PR3 im Rahmen der Stabilisierung der endothelialen Barriere wird kontrovers diskutiert. Die Ergebnisse von Studien einiger Autoren sprechen für eine protektive Funktion des S1PR3 [122, 123], während andere den S1PR3 als negativen Regulator [124, 125] der Barriereintegrität identifizierten.

Dem S1PR3 werden zudem proinflammatorische Eigenschaften zugeschrieben; über eine Kopplung des Rezeptors an  $G_q$  und der damit verbundenen Aktivierung der PLC mit nachfolgender intrazellulärer Kalziummobilisation kommt es zu einer vermehrten Expression des Zelladhäsionsmoleküls P-Selektin, welches das *rolling* von Leukozyten während der Leukodiapedese fördert [126].

Bezüglich der Makrophagenrekrutierung scheint der S1PR3 eine promigratorische Eigenschaft zu besitzen: In einer Studie mit S1PR3<sup>-/-</sup>-ApoE<sup>-/-</sup>-Doppel-KO-Mäusen konnte ein verringerter Anteil von Makrophagen in atherosklerotischen Läsionen verzeichnet werden [127].

Auch an der Regulation des Gefäßtonus scheint der S1PR3 beteiligt zu sein; es werden dem S1PR3 sowohl vasodilatatorische Eigenschaften als auch vasokonstriktorische Eigenschaften zugeschrieben. In Endothelzellen stimuliert S1PR3 die PI3K, welches zur Aktivierung von eNOS und damit zu einer erhöhten Produktion von NO mit nachfolgender Vasodilatation der Gefäße führt [95, 128, 129]. Die Aktivierung des glattmuskulären S1PR3 hingegen führte in Studien zu einer Konstriktion von Gefäßen [90, 130, 131]. Es

lassen sich hier also zelltypspezifisch antagonistisch wirkende Eigenschaften des S1PR3 feststellen.

Eine zusammenfassende Übersicht der Effekte der einzelnen S1P-Rezeptoren auf das Gefäßsystem zeigt Tabelle 5.

**Tabelle 5: Effekte der S1P-Rezeptoren im Herzkreislaufsystem**

Rezeptor	Physiologische Funktion im Herzkreislaufsystem
<b>S1PR1</b>	Antiinflammatorisch [12] Promigratorisch: MΦ [110], GM [111] Verstärkung der endothelialen Barriere [108, 109] Vasodilatation: EZ [94] Proliferation: EZ [91] Förderung der Vaskulo- und Angiogenese: EZ [104-107] Förderung des Lymphozytenegress [112]
<b>S1PR2</b>	Proinflammatorisch [114, 115] Antimigratorisch: GM [99] Schwächung der endothelialen Barriere [98] Vasokonstriktion: GM [116-119]
<b>S1PR3</b>	Proinflammatorisch [126] Promigratorisch: GM [120], MΦ [127] Verstärkung [122, 123] sowie Schwächung [124, 125] der endothelialen Barriere Vasodilatation: EZ [95, 128, 129] Vasokonstriktion: GM [90, 130, 131] Antiapoptotisch: EZ [93], GM [120]

EZ, Endothelzelle; GM, glatte Muskelzelle; MΦ, Makrophage; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor

## **2 Fragestellung und Zielsetzung**

Sphingosin-1-Phosphat sowie die S1P-Rezeptoren scheinen eine wichtige Rolle in der Pathogenese von inflammatorischen Prozessen bzw. Erkrankungen im Herzkreislaufsystem einzunehmen. Bis zu diesem Zeitpunkt liegen keine Daten bezüglich einer Erhebung der Rezeptorexpression in aneurysmatisch veränderten oder dissezierten humanen Aortenabschnitten vor. Ziel dieser Arbeit ist es, herauszufinden, ob sich die Rezeptorexpression in den erkrankten Abschnitten von den nicht erkrankten Abschnitten unterscheidet. Hieraus sollen Rückschlüsse auf mögliche Funktionen der S1P-Rezeptoren im Rahmen der Pathogenese von Aortenaneurysmen bzw. -dissektionen gezogen werden.

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Material**

##### **3.1.1 Studie und Probenmaterial**

In dem Zeitraum von Dezember 2014 bis Dezember 2017 wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (Direktor: Prof. Dr. med. K. Püschel) humane Gefäßproben 106 verstorbener Personen im Rahmen von Obduktionen gewonnen. Der Tod dieser Personen trat teilweise aufgrund eines rupturierten Aortenaneurysmas oder einer Aortendissektion ein, teilweise wurden diese Erkrankungen als Zufallsbefund erhoben. Diese Studie beinhaltet die Einrichtung einer pseudonymisierten Proben- und Datensammlung zu allgemeinen Forschungszwecken gemäß § 12a Satz 1 des Hamburgischen Krankenhausgesetzes (HmbKHG) und wurde dem zuständigen hamburgischen Datenschutzbeauftragten im Gesundheitswesen am 13.02.2015 vorschriftsmäßig angezeigt. Ein zusätzliches Ethikvotum war nicht erforderlich. Nach Erfassung des Alters, des Geschlechts, der Körpergröße und des Körpergewichts wurden die Patientendaten anonymisiert. In die Studie eingeschlossen wurden Personen, die ein Aneurysma bzw. eine Dissektion an mindestens einem der folgenden drei Aortenabschnitte aufwiesen: Aorta ascendens (AS), Aorta descendens (DE) und dem infrarenalen Teil der Aorta abdominalis (AB) (zur Einteilung der Aortensegmente s. Kap. 1.1.1). Die Proben der Gefäßabschnitte wurden nach der Entnahme in Formalin bzw. in RNAlater (Thermo Fisher Scientific Inc., s. Tab. 6) asserviert. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die in RNAlater aufbewahrten Proben untersucht, die nach einer Lagerung von mindestens 24 Stunden bei Raumtemperatur bis zur Aufbereitung bei -80°C im Gefrierschrank (Sanyo) aufbewahrt wurden. Nicht in die Studie mit eingeschlossen wurden Proben von Minderjährigen, Brandopfern und Leichen mit fortgeschrittenem Verwesungsprozess.

##### **3.1.2 Klassifikation der Pathologie im Sektionsprotokoll**

Anhand der Durchsicht der zu den jeweiligen Proben gehörigen Sektionsprotokolle wurde eine Klassifikation des Gefäßstatus hinsichtlich der vorliegenden Pathologie (Aneurysma, Dissektion, Aneurysma+Dissektion) des jeweiligen Aortenabschnitts (AS, DE, AB) vorgenommen. Weitere möglicherweise zusätzlich vorliegende Pathologien innerhalb dieser Gefäßabschnitte (wie z.B. eine Atherosklerose) wurden hier nicht betrachtet. Mit der Bezeichnung ‚Ø Pathologie‘ wurden Proben klassifiziert, die einem Aortenabschnitt entnommen wurden, der weder aneurysmatisch verändert noch disseziert gewesen ist. Es sei darauf hingewiesen, dass für die Analysen dieser Arbeit keinerlei Proben gesunder

Arten verwendet wurden, sondern nicht-erkrankte Abschnitte mit erkrankten Abschnitten verglichen wurden.

### 3.1.3 Chemikalien, Kits und Geräte

Die folgenden Tabellen (Tab. 6 - 8) geben eine Übersicht über die zur Lagerung und Aufarbeitung der Proben verwendeten Chemikalien, Kits und Geräte.

**Tabelle 6: Chemikalien**

Bezeichnung	Hersteller
RNAlater <sup>®</sup> Solution	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA
β-Mercaptoethanol	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
Ethanol 99%	Walter CMP GmbH & Co., Kiel, Deutschland

**Tabelle 7: Kits**

Bezeichnung	Komponenten	Hersteller
RNeasy <sup>®</sup> Fibrous Tissue Mini Kit	RNeasy Mini Spin Columns; Collection Tubes (2ml); Collection Tubes (1,5ml); RLT-Puffer; RW1-Puffer; RPE-Puffer; Proteinase K; DNase I, RNase frei; RDD-Puffer; RNase freies Wasser	Qiagen, N.V., Venlo, Niederlande
Rotor-Gene <sup>®</sup> SYBR <sup>®</sup> Green PCR Kit	2x Rotor-Gene SYBR Green PCR Master Mix; HotStarTaq <sup>®</sup> Plus DNA Polymerase; Rotor-Gene SYBR Green PCR Puffer; dNTP mix (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	Qiagen, N.V., Venlo, Niederlande
Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit	5X Reaction Mix: Reaktionspuffer; dNTPs; oligo (dT) <sub>18</sub> ; randomisierte Hexamer-Primer; Maxima Enzym Mix: Maxima Reverse Transkriptase; RiboLock RNase Inhibitor  RNase freies Wasser	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA

**Tabelle 8: Geräte**

<b>Bezeichnung</b>	<b>Hersteller</b>
<i>Thermal Cycler T100™</i> (Thermocycler)	Bio-Rad Laboratories GmbH, Hercules, Kalifornien, USA
Epoch™ Mikroplatten Spektralphotometer (Photometer)	BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA
<i>Thermomixer comfort</i> (Thermomixer)	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
<i>Centrifuge 5810</i> (Zentrifuge)	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
<i>Comfort</i> (Gefrierschrank -20°C)	Liebherr-Int. DE GmbH, Biberach, Deutschland
<i>Rotor-Gene Q-System</i> (RT-PCR-Gerät)	Qiagen, N.V., Venlo, Niederlande
<i>Stainless Steel Beads 7mm</i> (Edelstahlkugeln)	Qiagen, N.V., Venlo, Niederlande
<i>TissueLyser® LT</i> (TissueLyser)	Qiagen, N.V., Venlo, Niederlande
<i>V.I.P.™</i> (Gefrierschrank -80°C)	Sanyo, Moriguchi, Präfektur Osaka, Japan

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 RNA-Isolation

Die RNA-Isolation erfolgte unter Verwendung des RNeasy® Fibrous Tissue Mini Kit (Qiagen; s. Tab. 7). Es wurden 2ml-Reaktionsgefäße mit jeweils einem Metallkugelchen (Stainless Steel Beads, Qiagen; s. Tab. 8) pro Reaktionsgefäß befüllt und auf Eis gekühlt. Die zuvor bei -80°C gelagerten Gefäßproben wurden bei Raumtemperatur aufgetaut und von jeder Probe jeweils ca. 30mg Vollwandgewebe abgetrennt. Dieses wurde auf einem Objektträger mit einem Skalpell zerkleinert, überschüssiges RNA later wurde entfernt und das Gewebe in die vorbereiteten 2ml-Reaktionsgefäße überführt. Es wurden 300µl RLT-Puffer (mit 1% β-Mercaptoethanol (v/v); 4°C) und ein zweites Metallkugelchen hinzugegeben. Es folgten drei Homogenisierungszyklen bei 50 Hertz à fünf Minuten mittels TissueLyser® (Qiagen; s. Tab. 8). Der Adaptereinsatz wurde zuvor auf Trockeneis (-80°C) für fünf Minuten gelagert. Zwischen den einzelnen Homogenisierungszyklen erfolgten fünfminütige Pausen, während derer die Proben auf Eis und der Adapter auf Trockeneis gekühlt wurden. Das Homogenisat sowie eine angesetzte Proteinase-K-

Verdünnung (590µl RNase freies Wasser + 10µl Proteinase K, Qiagen; s. Tab. 7) wurden anschließend in einem 1,5ml-Reaktionsgefäß gemischt. Es folgte eine 30-minütige Inkubation der Probe bei 56°C im Thermomixer (Eppendorf; s. Tab. 8). Um feste Gewebestandteile abzutrennen, wurde die Probe daraufhin für drei Minuten zentrifugiert. Alle Zentrifugationsschritte erfolgten bei 10.000 x g (Zentrifuge 5810, Eppendorf; s. Tab. 8). Der Überstand wurde mit 450µl Ethanol 99% (Walter CMP GmbH; s. Tab. 6) versetzt und gemixt. Von diesem Mix wurden 700µl auf die Membran der Eluationssäule (RNeasy Mini Spin Column, Qiagen; s. Tab. 7) pipettiert und diese für eine Minute zentrifugiert. Mit dem verbleibenden Überstand (ca. 650µl) wurde dieser Arbeitsschritt wiederholt. Das Eluat wurde jeweils verworfen. Danach erfolgte eine Zugabe von 350µl RW1-Puffer und eine einminütige Zentrifugation. Anschließend wurde ein 30-minütiger DNase-I-Verdau vorgenommen, um genomische DNA zu entfernen. Es folgten Waschvorgänge mit einmalig 350µl RW1-Puffer sowie zweimalig 500µl RPE-Puffer mit jeweils nachfolgender Zentrifugation (1 min, 1 min, 2 min). Eine letzte Zentrifugation (1 min) der Säule wurde vorgenommen, um eventuelle Waschpufferreste zu entfernen. Die RNA wurde danach durch Zugabe von 50µl RNase-freiem Wasser und anschließender Zentrifugation (1 min) eluiert und bis zur weiteren Verarbeitung im Gefrierschrank (Sanyo) bei -80°C aufbewahrt.

### 3.2.2 Photometrische Konzentrationsbestimmung der RNA-Lösung und Qualitätskriterien

Die Konzentration der isolierten RNA-Menge wurde über die Bestimmung der optischen Dichte (OD) mittels einem Epoch™ Spektralphotometer (BioTek®; s. Tab. 8) gemessen. Es wurde eine Mikrotiterplatte mit 16 Mikrosots verwendet, auf die jeweils 2µl einer RNA-Lösung aufgetragen wurden. Mittels einer Datenanalyse-Software (Gen5™ 2.0, BioTek®) erfolgte die Auswertung der Messwerte. Über die Extinktion bei einer Wellenlänge von 260nm wurde die RNA-Konzentration unter Anwendung des Lambert-Beer'schen Gesetzes in ng/µl errechnet (s. Abb. 9). Hierbei entspricht 1 OD einer reinen RNA-Konzentration von 40µg/ml.

$$E_{260} = \varepsilon_{260} * c * d \rightarrow c = \frac{E_{260}}{\varepsilon_{260} * d}$$

**Abbildung 9: Lambert-Beer'sches Gesetz.** *E*, Extinktion bei 260nm; *ε*, RNA-spezifischer Extinktionskoeffizient bei 260nm; *c*, RNA-Konzentration in der Lösung [ng/µl]; *d*, Schichtdicke der Küvette (1cm).

Neben der Konzentration der Gesamt-RNA liefert die photometrische Messung anhand des Verhältnisses der optischen Dichte bei 260nm (Absorptionsmaximum von Nukleinsäuren) bzw. 280nm (Absorptionsmaximum von Proteinen) auch ein Maß für die Reinheit der Präparation. Hierfür wurde der Extinktionsquotient  $A_{260nm}/A_{280nm}$  gebildet. Ein Quotient zwischen 1,8 und 2,0 spricht für eine reine RNA-Isolierung. Proben mit Messwerten  $\leq 1,8$  sowie  $\geq 2,5$  oder mit einer RNA-Konzentrationsbestimmung von  $\leq 5\text{ng}/\mu\text{l}$  wurden nicht in die Auswertung genommen.

### 3.2.3 cDNA-Synthese

Die Herstellung der Reaktionsansätze zur Synthese der *complementary* DNA (cDNA) wurde unter Verwendung des cDNA Kit (Maxima<sup>®</sup> First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR, Thermo Scientific; s. Tab. 7) durchgeführt. Es wurde ein Reaktionsansatz mit einem Gesamtvolumen von je 20 $\mu\text{l}$  hergestellt. Die Zusammensetzung ist in Tabelle 9 dargestellt.

**Tabelle 9: Reaktionsansatz für die cDNA-Synthese**

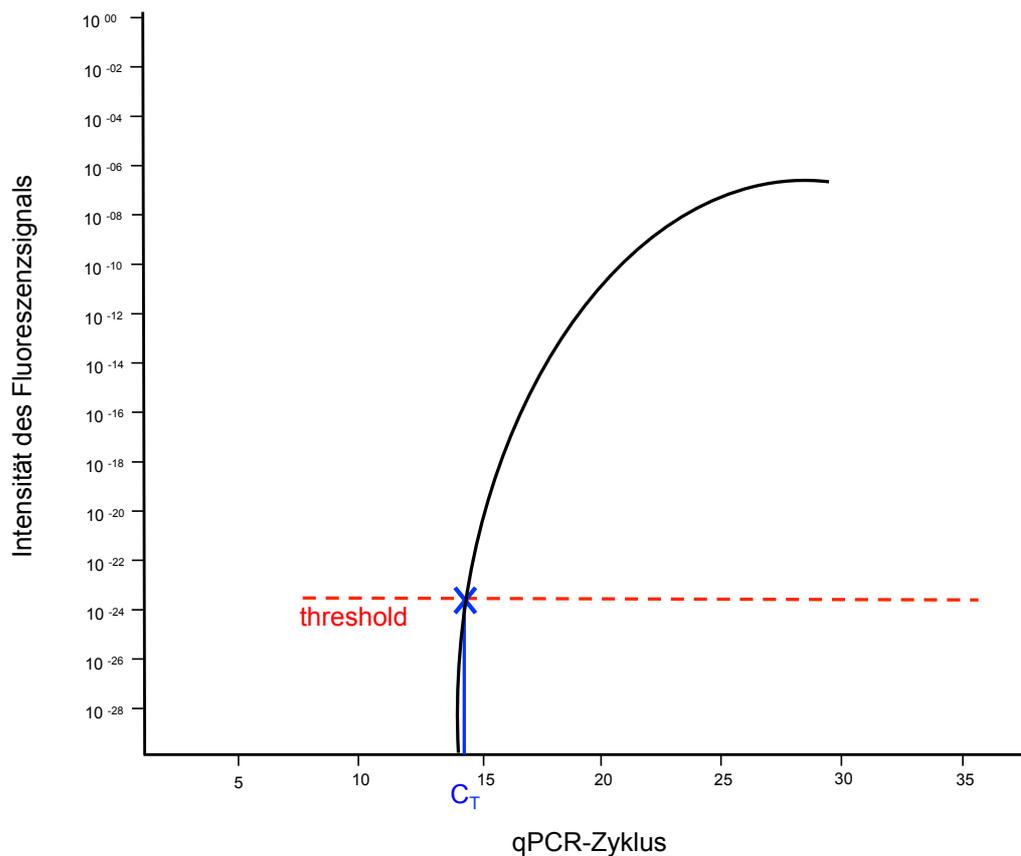
Komponenten	Volumen ( $\mu\text{l}$ )
RNA-Lösung (max. RNA-Gehalt 200ng); ggf. Verdünnung mit RNase-freiem Wasser)	14
Reaktions-Mix (5X Reaction Mix)	4
Enzym-Mix (Maxima <sup>®</sup> Enzyme Mix)	2
<b>Gesamt</b>	<b>20</b>

Der Reaktionsansatz wurde gemischt, kurz zentrifugiert und die Synthesereaktion in einem PCR-Gerät (Bio-Rad; s. Tab. 8) gemäß Herstellerprotokoll durchgeführt. Hierbei erfolgte zunächst eine Inkubation bei 25°C für 10 Minuten (*annealing* der verwendeten Primer (oligo (dT)<sub>18</sub>/randomisierte Hexamer-Primer)), gefolgt von der reversen Transkription bei 50°C für 30 Minuten sowie einem Inaktivierungsschritt bei 85°C für 5 Minuten. Bis zur qPCR-Analyse wurde die cDNA bei -20°C im Gefrierschrank (Liebherr) gelagert.

### 3.2.4 Quantitative Echtzeit-PCR

Mit der sogenannten quantitativen Echtzeit-Polymerasekettenreaktion (RT-qPCR, *real-time quantitative polymerase chain reaction*) kann die Menge der amplifizierten Produkte während des Reaktionsprozesses gemessen werden. Die Detektion des qPCR-Produkts während der Amplifikation ist durch die Zugabe eines fluoreszierenden Farbstoffes (SYBR

Green (Rotor-Gene<sup>®</sup> SYBR<sup>®</sup> Green PCR Kit, Qiagen; s. Tab. 7)) möglich. Dieser Fluoreszenzfarbstoff interkaliert in doppelsträngige DNA und emittiert Licht der Wellenlänge 521nm. Das Fluoreszenzsignal ist proportional zur Menge des Amplikons. Durch den Vergleich der Kurvenverläufe für ein Ziel- und ein Referenzgen kann die Konzentration des Zielgens im Verhältnis zum Referenzgen errechnet werden. Als Referenzgen wurde die GAPDH (Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase) verwendet. Mit der Herstellersoftware (Rotor-Gene Q Series, Version 2.3.1, Qiagen) wurde die Auswertung der qPCR-Messungen durchgeführt. Die abgelaufenen qPCR-Zyklen wurden auf der Abszissenachse dargestellt, auf der Ordinatenachse die relative Zunahme der Intensität des Fluoreszenzsignals. In diesem Diagramm wurde im linearen Bereich der exponentiell verlaufenden Kurve ein Schwellenwert (*threshold*) gesetzt, der das Fluoreszenzsignal einer bestimmten Menge amplifizierter DNA definierte. Der Zyklus, bei dem das Fluoreszenzsignal den zuvor festgelegten Schwellenwert überschreitet, wird als  $C_T$ -Wert (*cycle threshold*) bezeichnet (s. Abb. 10).



**Abbildung 10:** Schematische Darstellung des Kurvenverlaufs eines qPCR-Zyklus.  $C_T$ , *cycle threshold*.

Ein kleiner  $C_T$ -Wert spricht für das Vorhandensein einer größeren Menge Ziel-cDNA in der Probe. Zur Gewährleistung der Spezifität der Messungen wurde nach Amplifizierung der cDNA-Doppelstränge eine Schmelzkurvenanalyse durchgeführt. Zeigten sich in einer Schmelzkurve, durch zusätzliche Ausschläge, Hinweise darauf, dass der Primer ein nicht exakt komplementäres Amplifikationsprodukt bindet (=unspezifisches Amplifikat), erfolgte eine Wiederholung der Messung. Jede Probe wurde in Triplikaten gemessen und der Mittelwert der  $C_T$ -Werte errechnet. Bei Abweichung der einzelnen  $C_T$ -Werte von  $\geq 0,5$  vom Mittelwert wurde die Messung dieser Probe wiederholt. Bei exponentiellen Anstiegen beider Negativkontrollen (Wasserwerte) des gleichen Reaktionsansatzes wurden die Ergebnisse aufgrund einer anzunehmenden Verunreinigung des Ansatzes verworfen. Die generellen Komponenten für die Herstellung der Reaktionsansätze (Mastermix) sind in Tabelle 10 zusammengefasst, die Sequenzen der verwendeten Primer-Paare (Sigma-Aldrich) für die Messung der S1PR1-, S1PR2-, S1PR3- und GAPDH-Expression werden in Tabelle 11 gezeigt.

**Tabelle 10: Pipettierschema für den qPCR-Reaktionsmix**

Komponenten	Volumen ( $\mu$ l)
Mastermix (Rotor-Gene SYBR Green PCR Mastermix)	5
qPCR-Primer (Konzentration: 0,5 $\mu$ M)	1
RNase-freies Wasser	3
<b>Gesamt</b>	<b>9</b>

**Tabelle 11: Primer (qPCR)**

Gen	Primer (Vorwärtsprimer/Rückwärtsprimer)	Hersteller
S1PR1	ATCATGGGCTGGAAGTGCATCA, 5'M-S1PR1-535/ CGAGTCCTGACCAAGGAGTAGAT, 3'M-S1PR1-672	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
S1PR2	CAGACGCTAGCCCTGCTCAAGA, 5'M-S1PR2-708/ TAGTGGGCTTTGTAGAGGA, 3'M-S1PR2-826	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
S1PR3	ACAACCGCATGTACTTTTTTCAT, 5'M-S1PR3-215/ TACTGCCCTCCCTGAGGAACCA, 3'M-S1PR3-334	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA
GAPDH	5'-TCCTGCACCACCAACTGCTT-488/ 3'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-592	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA

GAPDH, Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor

Als Positivkontrolle wurde ein Gemisch der vier aufgereinigten Zielgen-PCR-Fragmente (Konzentration: jeweils 80pg/ml), als Negativkontrolle RNase-freies Wasser verwendet. Die Reaktionsgefäße des 72-Well-Rotor wurden nach folgendem Pipettierschema befüllt (s. Tab. 12).

**Tabelle 12: Pipettierschema (qPCR)**

<b>Probe</b> S1PR1, S1PR2, S1PR3, GAPDH (in Triplikaten)	<b>Negativkontrolle</b> H <sub>2</sub> O (in Duplikaten)	<b>Positivkontrolle</b> Mix (in Unikaten)
9µl qPCR-Reaktionsmix  1µl cDNA	9µl qPCR-Reaktionsmix  1µl H <sub>2</sub> O	9µl qPCR-Reaktionsmix  1µl Mix

cDNA, *complementary* DNA; GAPDH, Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase; S1PR, Sphingosin-1-Posphat-Rezeptor

Eine Zusammenfassung des qPCR-Protokolls ist in Tabelle 13 dargestellt.

**Tabelle 13: Protokoll (qPCR)**

<b>qPCR-Schritt</b>	<b>Temperatur</b>	<b>Dauer</b>	<b>Zyklus</b>
Initiale Denaturierung	95°C	10 Min.	1
Denaturierung	95°C	10 Sek.	
Primerhybridisierung	60°C	15 Sek.	40
Elongation	72°C	20 Sek.	
Schmelzkurve	72°C - 95°C	90 Sek. pro 1°C	1

Die Auswertung der Rohdaten wurde unter Anwendung der in Abbildung 11 dargestellten Formel mittels Excel (Microsoft Office 2011, Version 14.7.7) durchgeführt:

$$\text{S1P-Rezeptorexpression (in \% GAPDH)} = 2^{-(C_T(\text{Zielgen}) - C_T(\text{GAPDH}))} * 100$$

**Abbildung 11: Δ-Ct-Methode zur relativen Quantifizierung der Zielgenexpression.** Quelle: Pfaffl; 2011 [132]. Es wurde eine qPCR der drei Zielgene (S1PR1, S1PR2, S1PR3) sowie des Referenzgens (GAPDH) durchgeführt. Die qPCR-Ansätze wurden jeweils als Triplikate hergestellt, deren C<sub>T</sub>-Werte gemittelt und in die obige Formel eingesetzt. C<sub>T</sub>, *cycle threshold*; GAPDH, Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor.

Damit werden alle Expressionsdaten für S1PR1, S1PR2 und S1PR3 als Prozent GAPDH angegeben.

### **3.3 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung sowie das Erstellen der Abbildungen wurde mit Excel (Microsoft Office 2011, Version 14.7.7) sowie GraphPad Prism (Version 6.0e) und der Statistik-Software R (Version 3.5.1) durchgeführt. Die mit der Statistik-Software R durchgeführten Analysen erfolgten in Zusammenarbeit mit Herrn Gerhard Schön aus dem Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf.

Alle statistischen Berechnungen erfolgten mit den logarithmierten Messwerten (binärer Logarithmus ( $\log_2$ )) und nach der Durchführung einer Ausreißer-Analyse (ROUT-Methode) mit geringer Stringenz ( $Q = 0,1\%$ ). Die Überprüfung auf Normalverteilung der Daten wurde mittels D'Agostino Pearson Test durchgeführt. Daten wurden als Median mit Angabe des Interquartilsabstandes (IQR, *interquartile range*) und der 5.-95. Perzentile angegeben sowie als Mittelwert mit Angabe der Standardabweichung (SD, *standard deviation*). Für Signifikanzanalysen von Expressionsdaten zwischen zwei Gruppen wurde bei nicht normalverteilten Datensätzen der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Zur Analyse der Expressionsdaten von mehr als zwei Gruppen kam der Kruskal-Wallis Test mit anschließendem Post Hoc Test (Dunn's Test) zur Anwendung. Korrelationsanalysen wurden durch Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten  $\rho$  (rho) nach Spearman und des korrespondierenden P-Wertes (P) durchgeführt. Für die Berechnung linearer Regressionsanalysen wurden die logarithmierten Expressionsdaten für die einzelnen S1P-Rezeptoren als abhängige Variablen definiert und die Ausprägung der jeweils vorliegenden Pathologie (Aneurysma, Dissektion, Aneurysma+Dissektion) sowie die aus den Sektionsprotokollen ersichtlichen Parameter hinsichtlich des Alters, des Geschlechts, der Körpergröße und des Körpergewichts der Probanden als unabhängige Variablen festgelegt. Die Messdaten wurden unter Angabe des Regressionskoeffizienten, 95% Konfidenzintervall (KI) und des P-Wertes dargestellt. Als statistisch signifikant galt ein P-Wert von  $<0,05$ .

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Beschreibung der Gesamtkohorte

In dieser Arbeit wurden Gewebeproben der AS, der DE und des infrarenalen Abschnitts der AB von jeweils 106 verstorbenen Personen analysiert. Aufgrund Nicht-Ereichens der angelegten Ausschluss- und Qualitätskriterien (s. Abschnitt 3.1.1, 3.2.2 und 3.2.4) wurden die Ergebnisse der Gewebeproben von insgesamt 11 Personen verworfen, sodass für die Analysen der S1P-Rezeptorexpressionsdaten 285 Proben von insgesamt 95 Personen (jeweils 1 Probe aus jedem Aortenabschnitt (= 3 Proben pro Person; 95 Personen) =  $3 \times 95$  = 285 Proben) verwendet wurden. Nach Logarithmieren der qPCR-Daten wurden alle 285 Datensätze (ein Datensatz umfasst die drei S1P-Rezeptoren einer Probe) einer Ausreißer-Analyse (ROUT-Methode) mit geringer Stringenz ( $Q = 0,1\%$ ) unterzogen. Diese Analyse führte lediglich zum Ausschluss jeweils einer Gewebeprobe der DE sowie einer der AB. Endgültig standen daher für die Analysen die Daten von 283 Proben (im Folgenden als ‚Gesamtkohorte‘ bezeichnet) zur Verfügung. Anhand der Durchsicht der Sektionsprotokolle waren Alter, Geschlecht, Körpergröße und Körpergewicht der Personen bekannt. 16 fehlende Einträge bezüglich des Körpergewichts bzw. der Körpergröße waren zu vermerken.

#### 4.1.1 Epidemiologische Parameter

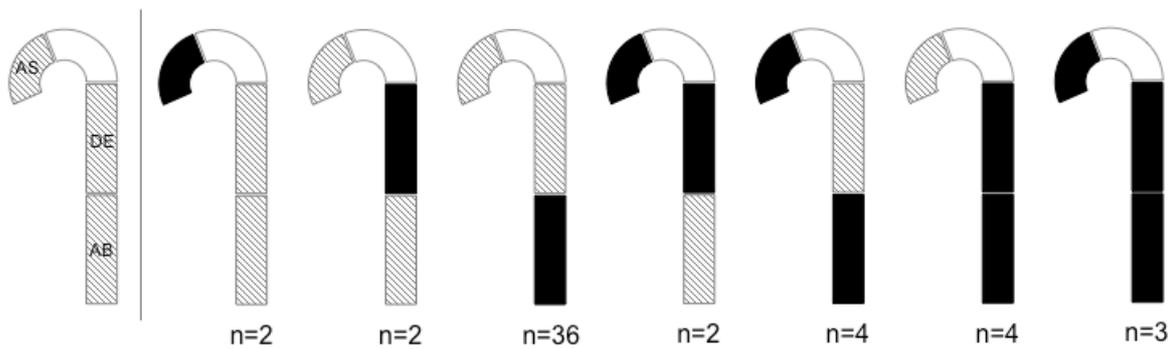
Das Durchschnittsalter der 95 Personen betrug  $69,2 \pm 12,3$  (33-91) Jahre, die durchschnittliche Körpergröße betrug  $175 \pm 11$  (147-210) cm, das durchschnittliche Körpergewicht lag bei  $83,9 \pm 23,7$  (37-160) kg und das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Verstorbenen betrug 64,2 (n=61) zu 35,8 (n=34) Prozent.

#### 4.1.2 Prävalenz der Aortenpathologien

##### Aneurysma:

Ein auf lediglich einen einzigen Gefäßabschnitt beschränktes Aneurysma (ohne kombiniertes Vorliegen mit einer Dissektion) war bei insgesamt 40 Personen zu verzeichnen. Bei 36 dieser Personen, und damit am häufigsten, trat dieses in der AB (34,2%, n=36) auf, gefolgt von der AS (1,9%, (n=2) und der DE (1,9%, n=2) (s. Abb. 12).

Die Gefäßabschnitte übergreifende Aneurysmen ließen sich bei 13 Personen finden. Die häufigsten Konstellationen waren hier die DE + AB (3,8%, n=4) sowie die AS + AB (3,8%, n=4), gefolgt von der AS + DE + AB (2,9 %, n=3) und der AS + DE (1,9%, n=2) (s. Abb. 12).

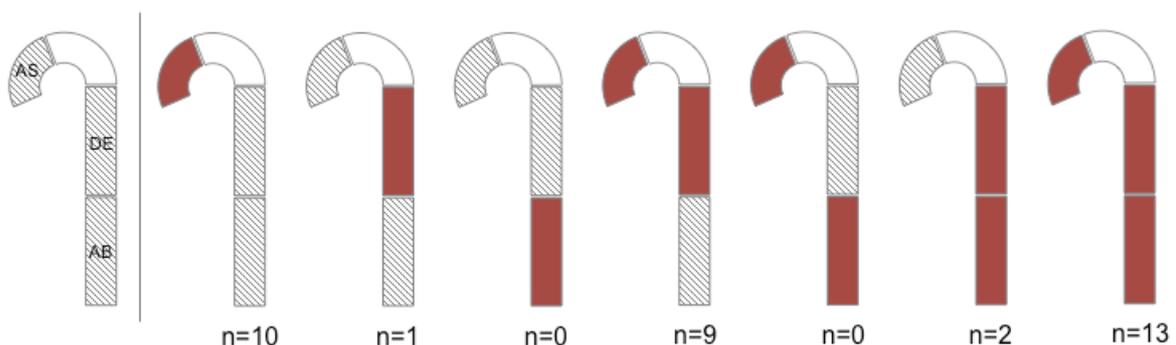


**Abbildung 12: Prävalenz eines Aneurysmas in den einzelnen Aortenabschnitten.** Die untersuchten Aortenabschnitte (grau-gestreift) sind schematisch dargestellt, der nicht untersuchte Aortenabschnitt ist weiß markiert. Aneurysmatisch veränderte Abschnitte sind schwarz markiert. AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; DE, Aorta descendens; n, Anzahl.

Dissektion:

Eine auf lediglich einen einzigen Gefäßabschnitt beschränkte Dissektion war bei insgesamt 11 Personen zu verzeichnen. Diese trat am häufigsten in der AS (9,5%, n=10) auf, gefolgt von der DE (0,95%, n=1) (s. Abb. 13).

Die Gefäßabschnitte übergreifende Dissektionen ließen sich bei 24 Personen finden. Die häufigsten Konstellation waren hier die AS + DE + AB (12,4%, n=13) sowie die AS + DE (8,6%, n=9). 1,9% der Probanden (n=2) zeigten eine Dissektion in der Konstellation DE + AB (s. Abb. 13).



**Abbildung 13: Prävalenz einer Dissektion in den einzelnen Aortenabschnitten.** Die untersuchten Aortenabschnitte (grau-gestreift) sind schematisch dargestellt, der nicht untersuchte Aortenabschnitt ist weiß markiert. Von einer Dissektion befallene Abschnitte sind rot markiert. AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; DE, Aorta descendens; n, Anzahl.

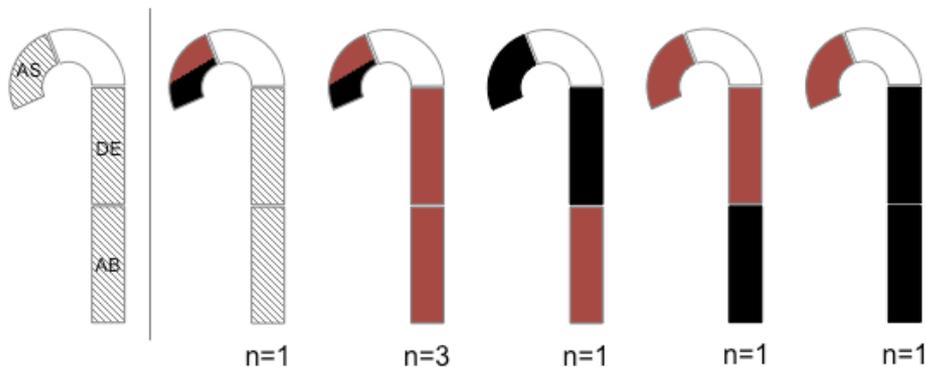
Aneurysma und Dissektion:

6,7% (n=7) der Probanden zeigten das gleichzeitige Auftreten eines aortalen Aneurysmas und einer Dissektion. Bei vier dieser Probanden wurde das Aneurysma sowie die

Dissektion im selben Gefäßabschnitt (AS) festgestellt. Hiervon waren bei einem der Probanden beide Pathologien auf die AS beschränkt, bei den übrigen drei zeigte sich neben dem Befall der AS eine Ausweitung der Dissektion auf die Abschnitte DE + AB (s. Abb. 14).

Die anderen drei Probanden zeigten folgende Konstellationen: Ein Proband mit einer Aneurysmaerkrankung in der AS + DE sowie einer Dissektion in der AB, ein Proband mit einer Dissektion in der AS + DE und einem Aneurysma in der AB sowie ein Proband mit einer Dissektion in der AS und einem Aneurysma in der DE + AB (s. Abb. 14).

Ergänzend muss darauf hingewiesen werden, dass den Sektionsprotokollen nicht zu entnehmen war, ob es sich um echte Aneurysmen oder Falsch-Lumen-Aneurysmen im Rahmen von Dissektionen handelte.



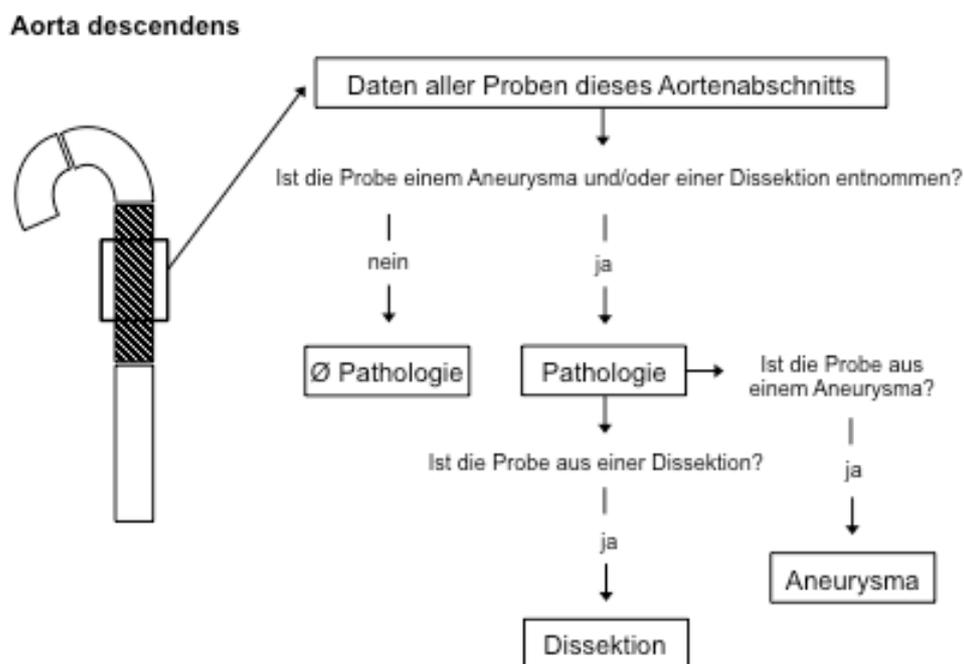
**Abbildung 14: Prävalenz des kombinierten Auftretens eines Aneurysmas und einer Dissektion in den einzelnen Aortenabschnitten.** Die untersuchten Aortenabschnitte (grau-gestreift) sind schematisch dargestellt, der nicht untersuchte Aortenabschnitt ist weiß markiert. Die von einem Aneurysma (schwarz) und/oder einer Dissektion (rot) befallenen Abschnitte sind farblich markiert. AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; DE, Aorta descendens; n, Anzahl.

#### 4.1.3 Einteilung der Gruppen

Die erhobenen S1P-Rezeptorexpressionsdaten der Gesamtkohorte wurden anhand der unter 3.1.2 beschriebenen Klassifikation in vier Subgruppen je Aortensegment (AS, DE, AB) aufgeteilt. Hierzu erfolgte zunächst die Bildung der Subgruppe ‚Ø Pathologie‘, der die Datensätze (zur Definition des Datensatzes s. Kap. 4.1) von Proben zugeordnet wurden, die weder ein Aneurysma noch eine Dissektion in dem jeweiligen Aortenabschnitt zeigten. Alle übrigen Datensätze wurden der Subgruppe ‚Pathologie‘ zugeordnet, die damit die Daten der aneurysmatischen und dissezierten Proben in dem jeweiligen Abschnitt enthielt. Die Datensätze dieser ‚Pathologie‘-Gruppe wurden dann weiter aufgeteilt in eine ‚Aneurysma‘-Gruppe, die die Daten von aneurysmatisch befallenen Proben des jeweiligen

Abschnitts enthielt, und eine ‚Dissektion‘-Gruppe, die die Daten der dissezierten Proben in diesem Abschnitt enthielt. Vier Proben der AS zeigten die Konstellation des gleichzeitigen Vorkommens eines Aneurysmas und einer Dissektion. Da den Beschreibungen der Sektionsprotokolle nicht eindeutig zu entnehmen war, ob es sich um echte Aneurysmen oder Falsch-Lumen-Aneurysmen im Rahmen von Dissektionen handelte und zudem in späteren Analysen keine Berechnungen direkt zwischen diesen beiden Gruppen durchgeführt wurden, wurden die Datensätze der jeweiligen Proben einmal der Aneurysma-Gruppe sowie auch einmal der Dissektionsgruppe zugeteilt.

Beispielhaft für die Aorta descendens ist eine schematische Übersicht der Datenverteilung auf die Gruppen in Abbildung 15 gezeigt.



**Abbildung 15: Schematische Darstellung der Datenverteilung auf die Gruppen für die Aorta descendens.** Schraffiert hervorgehoben ist exemplarisch die Aorta descendens (DE). Die Daten aller Proben aus diesem Aortenabschnitt wurden zunächst auf zwei Subgruppen aufgeteilt: Die Subgruppe ‚Ø Pathologie‘ (Proben ohne Aneurysma/Dissektion aus der DE) und die Subgruppe ‚Pathologie‘ (Proben von Aneurysmen sowie Dissektionen aus der DE). Die Daten der Proben der Gruppe ‚Pathologie‘ wurden daraufhin nochmals unterteilt in eine Subgruppe, die dann jeweils die Daten der aneurysmatischen Proben der DE enthielt (‚Aneurysma‘) und eine Subgruppe, die die Daten der dissezierten Proben der DE enthielt (‚Dissektion‘).

#### 4.1.4 Gruppengröße

Die Datensätze der Proben der Gesamtkohorte wurden nach der unter 4.1.3 beschriebenen Vorgehensweise auf die vier Subgruppen (‚Ø Pathologie‘, ‚Pathologie‘, ‚Aneurysma‘, ‚Dissektion‘) je Aortenabschnitt (AS, DE, AB) aufgeteilt. Die Datensätze der

vier Proben der AS mit gleichzeitigem Vorkommen eines Aneurysmas und einer Dissektion wurden einmal der Aneurysma-Gruppe sowie auch einmal der Dissektionsgruppe zugeteilt (Details s. Kap. 4.1.3). Eine Übersicht der Anzahl der Datensätze in den jeweiligen Gruppen ist in Tabelle 14 dargestellt.

**Tabelle 14: Anzahl der Datensätze in den jeweiligen Gruppen**

Aortenabschnitt	AS	DE	AB
Datensätze der Gesamtkohorte		283	
Datensätze je Aortenabschnitt (n=283)	95	94	94
‚Ø Pathologie‘-Gruppe (n=125)	45	53	27
‚Pathologie‘-Gruppe (n=158)	50	41	67
‚Aneurysma‘-Gruppe (n=76)	16	12	48
Dissektion‘-Gruppe (n=86)	38	29	19

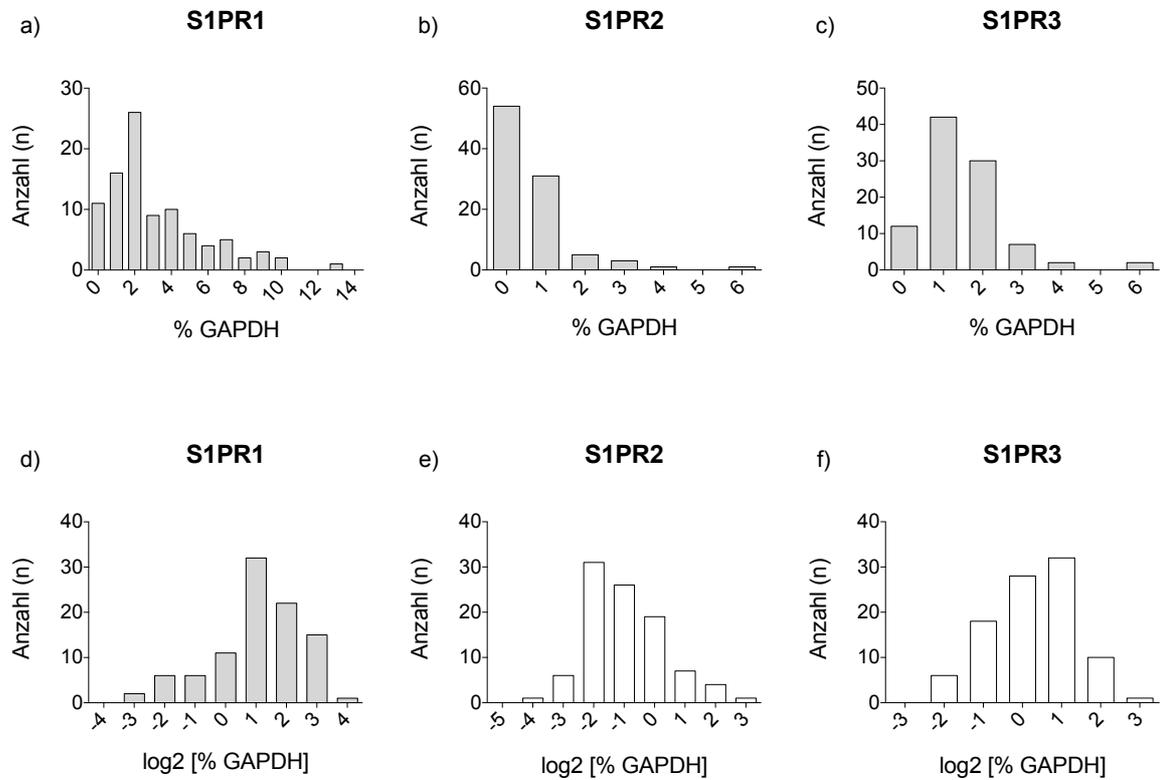
Es erfolgte eine Einteilung der Datensätze aller Proben (n=283) auf vier Subgruppen (‚Ø Pathologie‘, ‚Pathologie‘, ‚Aneurysma‘ und ‚Dissektion‘) je Aortensegment (AS, DE, AB). Die Subgruppe ‚Ø Pathologie‘ beinhaltet die Daten der Proben, die weder ein Aneurysma noch eine Dissektion in dem jeweiligen Aortenabschnitt aufwiesen (n=125). Die Untergruppe ‚Pathologie‘ beinhaltet die Daten der Proben, die ein Aneurysma und/oder eine Dissektion in dem jeweiligen Aortensegment aufwiesen (n=158). Vier Proben der AS zeigten die Konstellation eines gleichzeitigen Befalls mit einem Aneurysma und einer Dissektion. Die Datensätze dieser Proben wurden innerhalb der ‚Pathologie‘-Gruppe lediglich einmalig verwendet. Es erfolgte eine weitere Aufteilung der Datensätze der ‚Pathologie‘-Gruppe auf eine ‚Aneurysma‘-Gruppe, der die Daten von aneurysmatisch befallenen Proben des jeweiligen Abschnitts zugeteilt wurden (n=76), und eine ‚Dissektion‘-Gruppe, die die Daten der dissezierten Proben in diesem Abschnitt enthielt (n=86). Die Datensätze der vier Proben aus der AS mit gleichzeitigem Befall von Aneurysma und Dissektion wurden einmal der Aneurysma-Gruppe sowie auch einmal der Dissektionsgruppe zugeteilt, da den Beschreibungen der Sektionsprotokolle nicht eindeutig zu entnehmen war, ob es sich um echte Aneurysmen oder Falsch-Lumen-Aneurysmen im Rahmen von Dissektionen handelte und zudem in späteren Analysen keine Berechnungen direkt zwischen diesen beiden Gruppen durchgeführt wurden. AS, Aorta ascendens; DE, Aorta descendens; AB, Aorta abdominalis; n, Anzahl.

## 4.2 Analyse der S1P-Rezeptoren

Die Bestimmung der Expressionsdaten des S1PR1, S1PR2 und S1PR3 in den drei untersuchten Aortenabschnitten (AS, DE, AB) erfolgte mittels qPCR (s. Kap. 3.2.4). Alle Datensätze wurden einer Analyse zur Normalverteilung unterzogen. Dabei zeigte sich, dass keiner der Rohdatensätze eine Normalverteilung aufwies. Nach Logarithmieren erhöhte sich der Anteil an normalverteilten Datensätzen, eine durchgehende Normalverteilung war dennoch nicht zu festzustellen. Im Folgenden wurden nur die logarithmierten Daten für statistische Analysen verwendet. Abbildung 16 (Figur A-C) zeigt die Histogramme der Expressionsdaten der S1P-Rezeptoren der jeweiligen Aortenabschnitte vor und nach dem Logarithmieren.

**Fig. A**

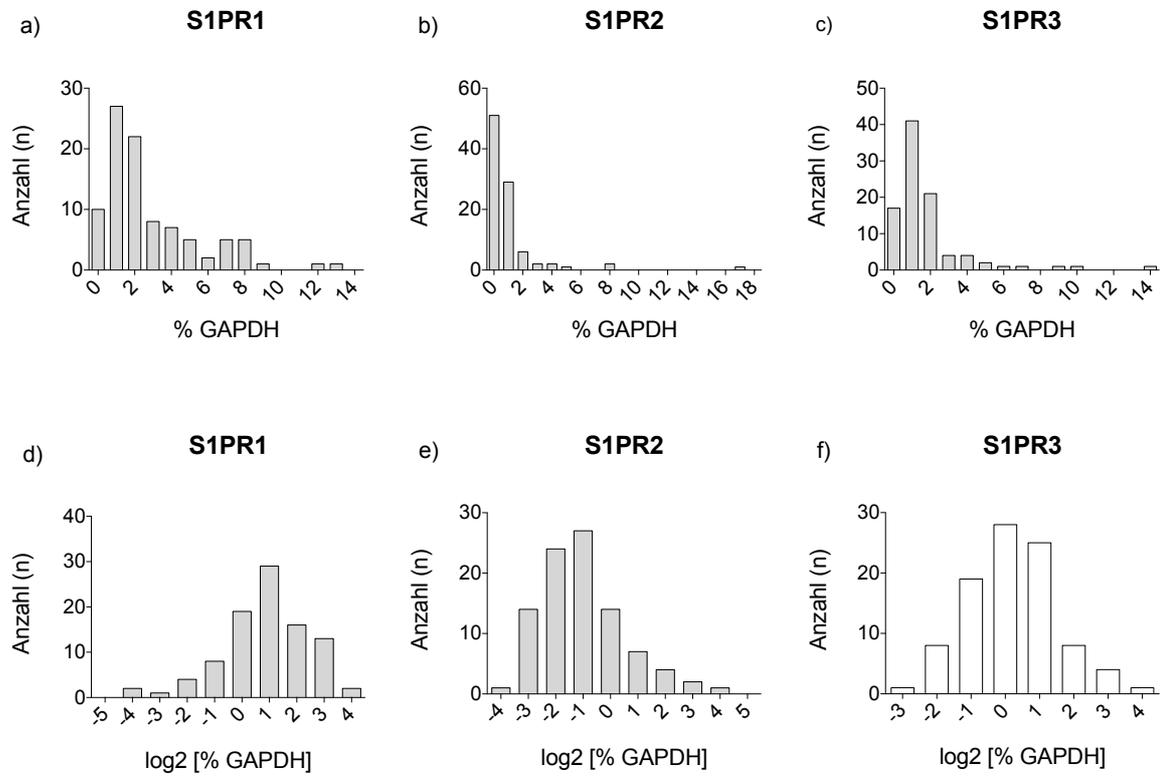
**Aorta ascendens**



Figur A zeigt die Histogramme der Expressionsdaten der S1P-Rezeptoren (S1PR1-3) der Aorta ascendens. Die Expression des S1PR1 (a,d), S1PR2 (b,e) und S1PR3 (c,f) wurde in der Aorta ascendens mittels qPCR gemessen. Gezeigt werden Histogramme vor (a,b,c) sowie nach (d,e,f) Logarithmieren der Daten. Die Normalverteilung der Daten wurde unter Anwendung des D'Agostino Pearson Tests berechnet (graue Balken, nicht normalverteilt; weiße Balken, normalverteilt).

**Fig. B**

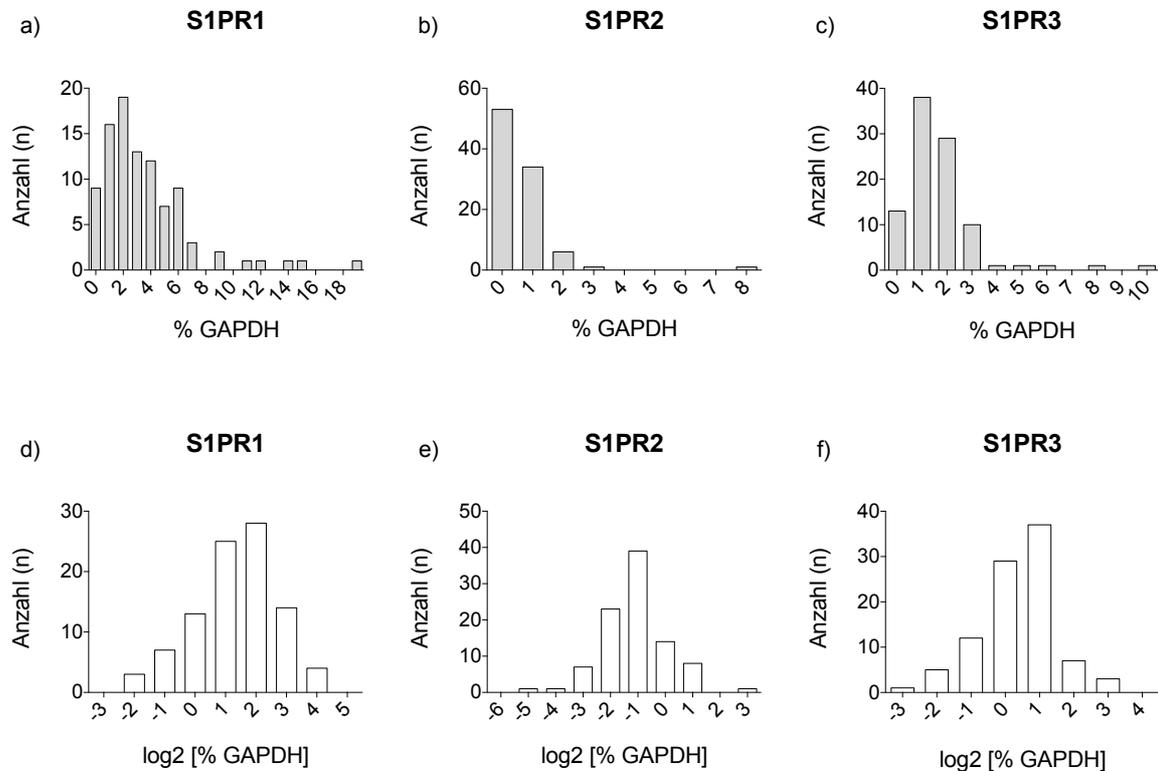
**Aorta descendens**



Figur B zeigt die Histogramme der Expressionsdaten der S1P-Rezeptoren (S1PR1-3) der Aorta descendens. Die Expression des S1PR1 (a,d), S1PR2 (b,e) und S1PR3 (c,f) wurde in der Aorta descendens mittels qPCR gemessen. Gezeigt werden Histogramme vor (a,b,c) sowie nach (d,e,f) Logarithmieren der Daten. Die Normalverteilung der Daten wurde unter Anwendung des D'Agostino Pearson Tests berechnet (graue Balken, nicht normalverteilt; weiße Balken, normalverteilt).

Fig. C

## Aorta abdominalis



Figur C zeigt die Histogramme der Expressionsdaten der S1P-Rezeptoren (S1PR1-3) der Aorta abdominalis. Die Expression des S1PR1 (a,d), S1PR2 (b,e) und S1PR3 (c,f) wurde in der Aorta abdominalis mittels qPCR gemessen. Gezeigt werden Histogramme vor (a,b,c) sowie nach (d,e,f) Logarithmieren der Daten. Die Normalverteilung der Daten wurde unter Anwendung des D'Agostino Pearson Tests berechnet (graue Balken, nicht normalverteilt; weiße Balken, normalverteilt).

**Abbildung 16: Histogramme der Expressionsdaten der S1P-Rezeptoren (S1PR1-3) in den drei Aortenabschnitten.** Figur A, Aorta ascendens; Figur B, Aorta descendens; Figur C, Aorta abdominalis. (Details s. Beschriftung)

#### 4.2.1 Expression der S1P-Rezeptoren in den Aortenabschnitten für die Gesamtkohorte und die Gruppe ‚Ø Pathologie‘

Zunächst wurde der Fragestellung nachgegangen, ob sich in der Gesamtkohorte und in der Gruppe ‚Ø Pathologie‘ (zur Gruppeneinteilung s. Kap. 4.1.3, zur Gruppengröße s. Kap. 4.1.4) Expressionsunterschiede für S1P-Rezeptoren zwischen den einzelnen Aortenabschnitten finden lassen. Weder in der Gesamtkohorte (Abb. 17, Fig. A) noch in der ‚Ø Pathologie‘-Gruppe (Abb. 17, Fig. B) zeigte sich ein signifikanter Unterschied für die Expression einer der drei S1P-Rezeptoren zwischen den drei Aortenabschnitten.

Fig. A

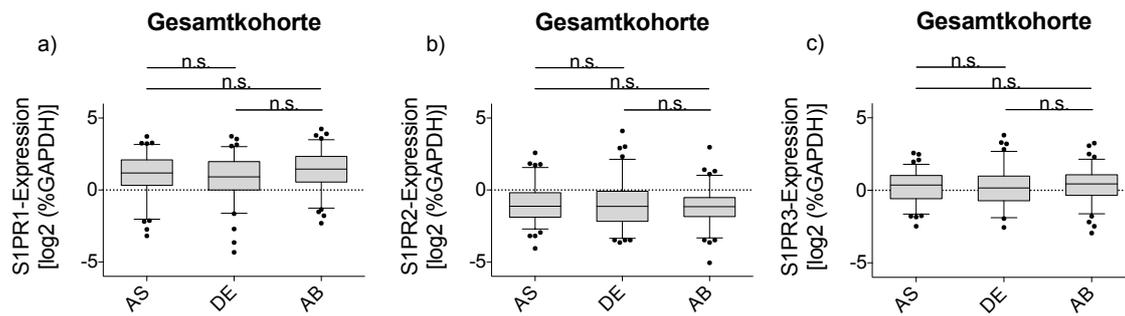
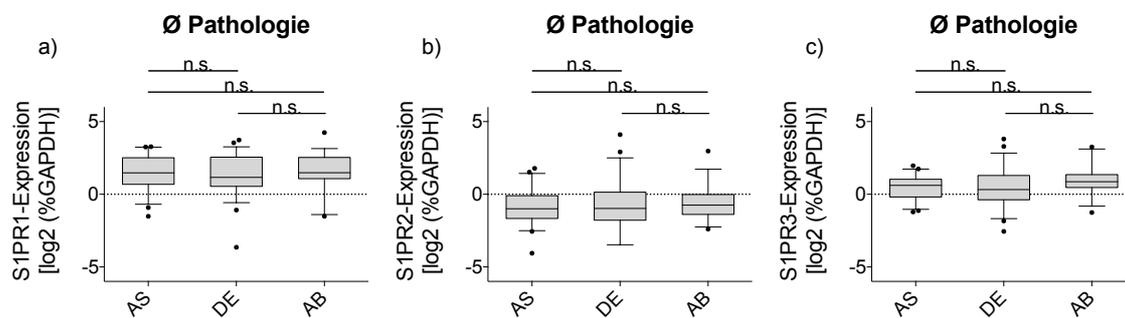


Fig. B

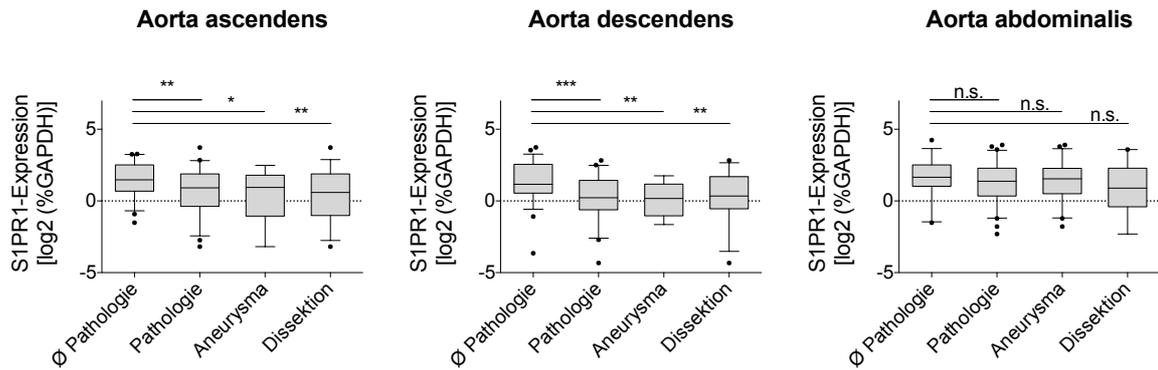


**Abbildung 17: Expressionsvergleich eines jeweiligen S1P-Rezeptors (S1PR1-3) zwischen den einzelnen Aortenabschnitten für die Gesamtkohorte und die Gruppe ‚Ø Pathologie‘.** Die Expression des S1PR1 (a), S1PR2 (b) und S1PR3 (c) wurde mittels qPCR gemessen und alle Werte logarithmiert. Gezeigt sind die Ergebnisse für die Gesamtkohorte<sup>1</sup> (Fig. A) und die Gruppe ‚Ø Pathologie‘<sup>2</sup> (Fig. B). Entsprechende Datensätze wurden mittels Kruskal-Wallis Test und Post Hoc Test (Dunn’s Test) analysiert. Dargestellt sind der Median, das erste und dritte Quartil, 5.-95. Perzentile sowie Ausreißer. n.s., nicht signifikant. <sup>1</sup>Die Gesamtkohorte enthält die erhobenen Daten aller 283 Proben. <sup>2</sup>Die Gruppe ‚Ø Pathologie‘ enthält die Daten aller weder aneurysmatisch veränderten noch dissezierten Proben des jeweils untersuchten Aortenabschnitts.

#### 4.2.2 Analyse der S1P-Rezeptorexpression innerhalb eines Aortenabschnitts zwischen der Gruppe ‚Ø Pathologie‘ und den Gruppen ‚Pathologie‘, ‚Aneurysma‘ und ‚Dissektion‘

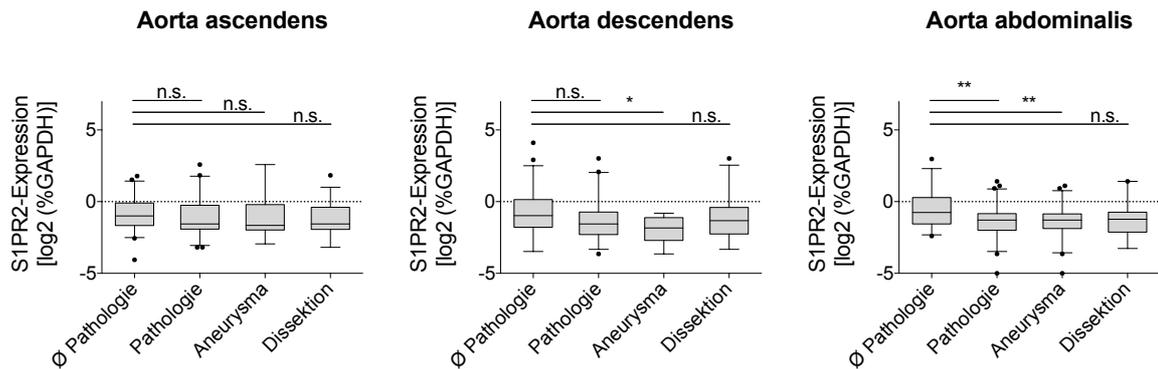
In diesem Kapitel wird untersucht, ob sich in Abhängigkeit einer Pathologie Veränderungen der S1P-Rezeptorexpression feststellen lassen. Hierzu wurde die Expression der einzelnen S1P-Rezeptoren in der Gruppe ‚Ø Pathologie‘ mit der Expression der jeweils anderen drei Gruppen (‚Pathologie‘, ‚Aneurysma‘, ‚Dissektion‘) (zur Gruppeneinteilung s. Kap. 4.1.3, zur Gruppengröße s. Kap. 4.1.4) mittels Mann-Whitney-U-Test verglichen (s. Abb. 18, Fig. A-C).

Fig. A



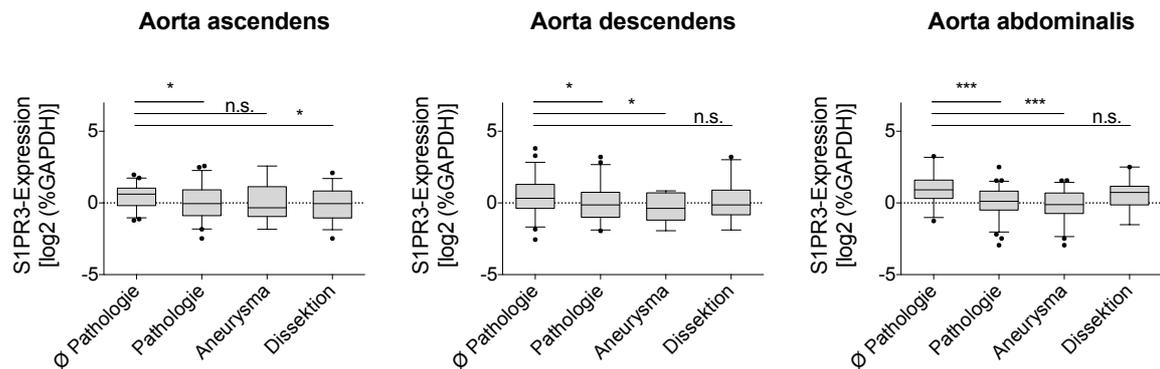
Die Expression des S1PR1 wurde mittels qPCR gemessen und alle Werte logarithmiert. Verglichen wurde die Expression des S1PR1 in einem Aortenabschnitt zwischen der Gruppe ‚Ø Pathologie‘ (Referenzgruppe) mit der Expression des S1PR1 der Gruppen ‚Pathologie‘, ‚Aneurysma‘ und ‚Dissektion‘. Entsprechende Datensätze wurden mittels Mann-Whitney U Test analysiert. Dargestellt sind der Median, das erste und dritte Quartil, 5.-95. Perzentile sowie Ausreißer. \*P<0,05; \*\*P<0,01 und \*\*\*P<0,001; n.s. nicht signifikant.

Fig. B



Die Expression des S1PR2 wurde mittels qPCR gemessen und alle Werte logarithmiert. Verglichen wurde die Expression des S1PR2 in einem Aortenabschnitt zwischen der Gruppe ‚Ø Pathologie‘ (Referenzgruppe) mit der Expression des S1PR2 der Gruppen ‚Pathologie‘, ‚Aneurysma‘ und ‚Dissektion‘. Entsprechende Datensätze wurden mittels Mann-Whitney U Test analysiert. Dargestellt sind der Median, das erste und dritte Quartil, 5.-95. Perzentile sowie Ausreißer. \*P<0,05 und \*\*P<0,01; n.s. nicht signifikant.

Fig. C



Die Expression des S1PR3 wurde mittels qPCR gemessen und alle Werte logarithmiert. Verglichen wurde die Expression des S1PR3 in einem Aortenabschnitt zwischen der Gruppe ‚Ø Pathologie‘ (Referenzgruppe) mit der Expression des S1PR3 der Gruppen ‚Pathologie‘, ‚Aneurysma‘ und ‚Dissektion‘. Entsprechende Datensätze wurden mittels Mann-Whitney U Test analysiert. Dargestellt sind der Median, das erste und dritte Quartil, 5.-95. Perzentile sowie Ausreißer. \* $P < 0,05$  und \*\*\* $P < 0,001$ ; n.s. nicht signifikant.

**Abbildung 18: Expressionsvergleich des S1PR1, S1PR2 und S1PR3 innerhalb der drei Aortenabschnitte für die Gruppe ‚Ø Pathologie‘ und die Gruppen ‚Pathologie‘, ‚Aneurysma‘ und ‚Dissektion‘.** (Details s. Beschriftung)

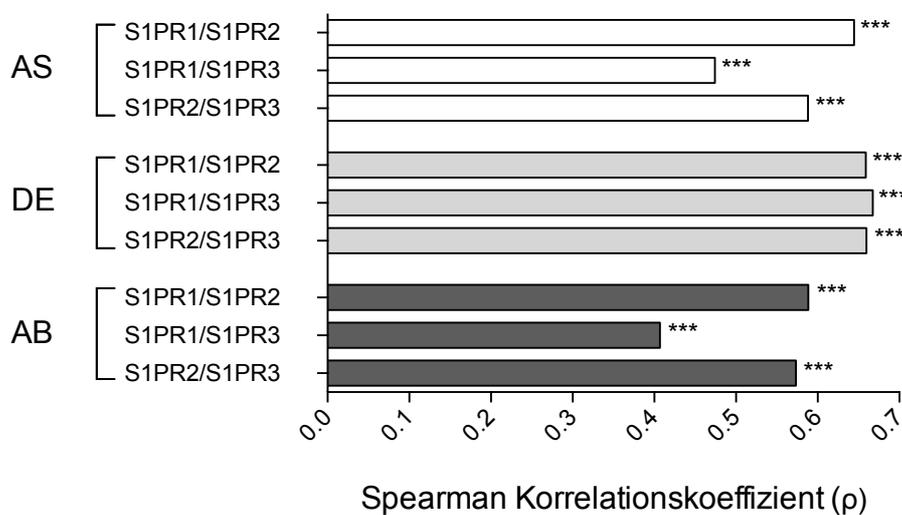
Die Analyse des S1PR1 in der AS und der DE zeigte eine signifikant verringerte Expression in allen Gruppenvergleichen, während in der AB keinerlei signifikante Expressionsunterschiede festgestellt wurden. (s. Abb. 18, Fig. A).

Die Analyse des S1PR2 zeigte bei Vorhandensein eines Aneurysmas in der DE und der AB eine signifikant geringere Expression und zusätzlich in der AB eine signifikant geringere S1PR2-Expression in der ‚Pathologie‘-Gruppe. In der AS wurden keinerlei signifikante Unterschiede in den Gruppenvergleichen beobachtet (s. Abb. 18, Fig. B).

Analysen des S1PR3 zeigten für Proben der AS eine signifikant geringere Rezeptorexpression in der ‚Pathologie‘- und in der ‚Dissektion‘-Gruppe; bei Vorhandensein eines Aneurysmas wurden jedoch keine Expressionsunterschiede festgestellt. Für Proben der DE und AB wurde eine Abnahme der Rezeptorexpression in der ‚Pathologie‘-Gruppe und der Aneurysma-Gruppe festgestellt, jedoch keine signifikanten Expressionsunterschiede bei Vorhandensein einer Dissektion (s. Abb. 18, Fig. C).

### 4.2.3 Korrelationsanalysen der Expression der S1P-Rezeptoren in der Gesamtkohorte

In diesen Analysen wurde die Fragestellung untersucht, ob sich ein Zusammenhang zwischen der Expression der einzelnen S1P-Rezeptoren feststellen lässt. Hierzu wurden zunächst Korrelationsanalysen innerhalb eines jeden Aortenabschnitts durchgeführt. Dabei ergaben sich für alle drei Aortenabschnitte hochsignifikante positive Assoziationen mit rho-Werten zwischen 0,407 und 0,667 und korrespondierenden P-Werten von  $5e-05$  bis  $2,06e-13$  (s. Abb. 19).

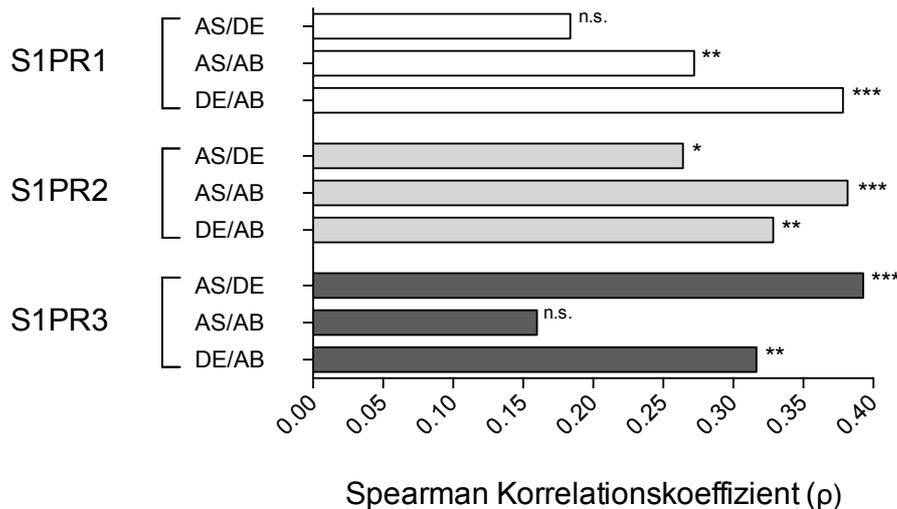


**Abbildung 19: Korrelationsanalyse der Expression der S1P-Rezeptoren untereinander innerhalb der einzelnen Aortenabschnitte.** Die Expression der S1P-Rezeptoren wurde mittels qPCR gemessen und alle Werte logarithmiert. Für jede Kombination (S1PR1/S1PR2, S1PR1/S1PR3, S1PR2/S1PR3) wurde eine Korrelationsanalyse nach Spearman durchgeführt und der Rangkorrelationskoeffizient ( $\rho$ ) angegeben sowie der korrespondierende P-Wert berechnet. \*\*\* $P < 0,001$ ; AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; DE, Aorta descendens; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor.

In der AS ließ sich die stärkste Korrelation zwischen der Expression des S1PR1 und der des S1PR2 ( $\rho = 0,645$ ,  $P < 0,001$ ) ermitteln. Qualitativ gleichwertige Beobachtungen wurden für die AB gemacht (S1PR1/S1PR2  $\rho = 0,588$ ,  $P < 0,001$ ). In der DE ließen sich für die Expression der drei S1P-Rezeptoren ähnlich stark ausgeprägte Korrelationen miteinander mit P-Werten  $< 0,001$  nachweisen (S1PR1/S1PR2  $\rho = 0,659$ ; S1PR1/S1PR3  $\rho = 0,667$ ; S1PR2/S1PR3  $\rho = 0,66$ ).

In einer weiteren Analyse wurde untersucht, ob Zusammenhänge zwischen der Expression eines S1P-Rezeptors in einem Aortensegment und der Expression des gleichen S1P-Rezeptors in einem anderen Aortenabschnitt vorliegen.

Bis auf zwei Konstellationen (S1PR1 AS/DE und S1PR3 AS/AB) wurden für die Expression der drei S1P-Rezeptoren signifikant positive Korrelationen zwischen den einzelnen Aortensegmenten gefunden (s. Abb. 20).



**Abbildung 20: Korrelationsanalyse der Expression der einzelnen S1P-Rezeptoren zwischen den Aortenabschnitten.** Die Expression der S1P-Rezeptoren wurde mittels qPCR gemessen und alle Werte logarithmiert. Für jede Kombination (AS/DE, AS/AB, DE/AB) wurde eine Korrelationsanalyse nach Spearman durchgeführt und der Rangkorrelationskoeffizient ( $\rho$ ) angegeben sowie der korrespondierende P-Wert berechnet. \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ ; AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; DE, Aorta descendens; n.s., nicht signifikant; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor.

Bezüglich der S1PR1-Expression konnte die stärkste Korrelation zwischen der DE und der AB ( $\rho = 0,378$ ,  $P < 0,001$ ) festgestellt werden, für die S1PR2-Expression ließ sich die stärkste Korrelation zwischen der AS und der AB ( $\rho = 0,382$ ,  $P < 0,001$ ) erheben und für die S1PR3-Expression konnte aus den Daten die stärkste Korrelation zwischen der AS und der DE ( $\rho = 0,393$ ,  $P < 0,001$ ) abgeleitet werden.

#### **4.2.4 Einfluss der Pathologie sowie klinischer Parameter auf die S1P-Rezeptorexpression in den verschiedenen Aortenabschnitten der Gesamtkohorte**

Es wurde eine eventuelle Einflussnahme der jeweiligen Pathologie („Aneurysma“, „Dissektion“ oder „Aneurysma+Dissektion“) sowie der klinischen Parameter „Alter“, „Geschlecht“, „Körpergröße“ sowie „Körpergewicht“ auf die S1P-Rezeptorexpression in den einzelnen Aortenabschnitten analysiert. Hierzu wurde für die Gesamtkohorte eine einfache lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Als abhängige Variablen wurden die logarithmierten Expressionsdaten der jeweiligen S1P-Rezeptoren (S1PR1, S1PR2, S1PR3) in den drei Aortenabschnitten (AS, DE, AB) definiert. Die je Aortensegment vorliegende Pathologie sowie die klinischen Parameter wurden als unabhängige Variablen festgelegt. Die Ergebnisse dieser Analyse sind in den Tabellen 15 - 17 zusammengefasst.

##### S1PR1

Für die S1PR1-Expression in der AS wurde sowohl das Vorhandensein einer Dissektion als auch die Kombination aus Dissektion und Aneurysma als signifikante Einflussgröße identifiziert. Hier führte die einzelne Dissektion zu einer Abnahme der S1PR1-Expression um durchschnittlich 1,07 (KI -1,848; -0,293). Bei kombiniertem Vorhandensein von Dissektion und Aneurysma zeigte sich eine Abnahme der S1PR1-Expression um durchschnittlich 3,42 (KI -5,043; -1,795). Auffallend hierbei ist, dass ein Aneurysma ohne zusätzliche Dissektion keinen signifikanten Einfluss auf die S1PR1-Expression zu nehmen scheint.

In der DE belief sich bei Auftreten eines Aneurysmas die Abnahme der S1PR1-Expression auf durchschnittlich 1,13 (KI -2,157; -0,105). Eine Dissektion in diesem Aortenabschnitt führte zu einer Abnahme der S1PR1-Expression um durchschnittlich 1,29 (KI -2,135; -0,446).

In der AB wurde kein Parameter identifiziert, der die S1PR1-Expression signifikant beeinflusst. Auch die untersuchten klinischen Parameter zeigten in den Analysen keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die S1PR1-Expression. Eine Übersicht der Ergebnisse ist in Tabelle 15 dargestellt.

**Tabelle 15: Einfache lineare Regression mit der S1PR1-Expression als abhängige Variable in den drei Aortenabschnitten für die Gesamtkohorte**

<b>S1PR1</b>				
	<b>Variable</b>	<b>Regressionskoeffizient</b>	<b>95% KI</b>	<b>P-Wert</b>
	Aneurysma	-0,300	-1,220; 0,620	0,518 <sup>n.s.</sup>
	Dissektion	-1,070	-1,848; -0,293	<b>0,008**</b>
	Aneurysma+Dissektion	-3,419	-5,043; -1,795	<b>&lt;0,001***</b>
<b>AS</b>	Alter/10 [Jahre]	-0,304	-0,630; 0,023	0,068 <sup>n.s.</sup>
	Geschlecht: männlich	0,399	-0,491; 1,290	0,374 <sup>n.s.</sup>
	Körpergröße [cm]	-0,024	-0,071; 0,024	0,327 <sup>n.s.</sup>
	Körpergewicht [kg]	0,003	-0,014; 0,021	0,696 <sup>n.s.</sup>
<b>DE</b>	Aneurysma	-1,131	-2,157; -0,105	<b>0,031*</b>
	Dissektion	-1,291	-2,135; -0,446	<b>0,003**</b>
	Alter/10 [Jahre]	-0,240	-0,580; 0,100	0,163 <sup>n.s.</sup>
	Geschlecht: männlich	-0,162	-1,129; 0,805	0,739 <sup>n.s.</sup>
	Körpergröße [cm]	-0,015	-0,067; 0,037	0,565 <sup>n.s.</sup>
	Körpergewicht [kg]	-0,004	-0,023; 0,016	0,696 <sup>n.s.</sup>
<b>AB</b>	Aneurysma	-0,480	-1,377; 0,416	0,289 <sup>n.s.</sup>
	Dissektion	-0,939	-2,011; 0,133	0,085 <sup>n.s.</sup>
	Alter/10 [Jahre]	0,096	-0,269; 0,461	0,601 <sup>n.s.</sup>
	Geschlecht: männlich	-0,352	-1,349; 0,645	0,484 <sup>n.s.</sup>
	Körpergröße [cm]	0,015	-0,038; 0,068	0,568 <sup>n.s.</sup>
	Körpergewicht [kg]	-0,006	-0,026; 0,013	0,517 <sup>n.s.</sup>

Die Expression der S1P-Rezeptoren wurde mittels qPCR gemessen und alle Werte logarithmiert. Eine Regressionsanalyse mit dem jeweiligen S1P-Rezeptor als abhängige Variable wurde durchgeführt. Für alle unabhängigen Variablen sind der Regressionskoeffizient, das 95% Konfidenzintervall (KI) sowie der korrespondierende P-Wert (P) angegeben. \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001; AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; DE, Aorta descendens; n.s. nicht signifikant; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor.

### S1PR2

In den Analysen zeigte keiner der in der AS gemessenen Parameter einen signifikanten Einfluss auf die Expression des S1PR2.

In der DE führte eine Alterszunahme von 10 Jahren zu einer signifikanten Abnahme der S1PR2-Expression um durchschnittlich 0,42 (KI -0,709; -0,128). In der AB führte das

Auftreten eines Aneurysmas zu einer Abnahme der S1PR2-Expression um durchschnittlich 1,1 (KI -1.828; -0,362), bei Vorhandensein einer Dissektion zeigte sich eine Abnahme um durchschnittlich 1,03 (KI -1,906; -0,154). Eine Übersicht der Ergebnisse ist in Tabelle 16 dargestellt.

**Tabelle 16: Einfache lineare Regression mit der S1PR2-Expression als abhängige Variable in den drei Aortenabschnitten für die Gesamtkohorte**

<b>S1PR2</b>				
	<b>Variable</b>	<b>Regressionskoeffizient</b>	<b>95% KI</b>	<b>P-Wert</b>
<b>AS</b>	Aneurysma	-0,188	-0,185; 0,709	0,677 <sup>n.s.</sup>
	Dissektion	-0,242	-1,000; 0,516	0,526 <sup>n.s.</sup>
	Aneurysma+Dissektion	-1,167	-2,750; 0,416	0,146 <sup>n.s.</sup>
	Alter/10 [Jahre]	-0,002	-0,320; 0,316	0,991 <sup>n.s.</sup>
	Geschlecht: männlich	-0,002	-0,870; 0,866	0,996 <sup>n.s.</sup>
	Körpergröße [cm]	0,016	-0,030; 0,063	0,486 <sup>n.s.</sup>
	Körpergewicht [kg]	-0,002	-0,019; 0,015	0,804 <sup>n.s.</sup>
<b>DE</b>	Aneurysma	-0,674	-1,552; 0,203	0,130 <sup>n.s.</sup>
	Dissektion	-0,544	-1,266; 0,179	0,138 <sup>n.s.</sup>
	Alter/10 [Jahre]	-0,418	-0,709; -0,128	<b>0,005**</b>
	Geschlecht: männlich	-0,752	-1,579; 0,076	0,074 <sup>n.s.</sup>
	Körpergröße [cm]	0,028	-0,017; 0,072	0,219 <sup>n.s.</sup>
	Körpergewicht [kg]	-0,008	-0,025; 0,008	0,322 <sup>n.s.</sup>
<b>AB</b>	Aneurysma	-1,095	-1,828; -0,362	<b>0,004**</b>
	Dissektion	-1,030	-1,906; -0,154	<b>0,022*</b>
	Alter/10 [Jahre]	-0,021	-0,320; 0,277	0,888 <sup>n.s.</sup>
	Geschlecht: männlich	-0,197	-1,012; 0,619	0,632 <sup>n.s.</sup>
	Körpergröße [cm]	-0,004	-0,047; 0,039	0,851 <sup>n.s.</sup>
	Körpergewicht [kg]	-0,000	-0,016; 0,016	0,997 <sup>n.s.</sup>

Die Expression der S1P-Rezeptoren wurde mittels qPCR gemessen und alle Werte logarithmiert. Eine Regressionsanalyse mit dem jeweiligen S1P-Rezeptor als abhängige Variable wurde durchgeführt. Für alle unabhängigen Variablen sind der Regressionskoeffizient, das 95% Konfidenzintervall (KI) sowie der korrespondierende P-Wert (P) angegeben. \*P<0,05; \*\*P<0,01; AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; DE, Aorta descendens; n.s. nicht signifikant; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor.

### S1PR3

Für den S1PR3 in der AS ergab lediglich das gleichzeitige Auftreten von ‚Aneurysma+Dissektion‘ eine signifikante Abnahme der Rezeptorexpression.

Für den S1PR3 in der DE wurde das Alter als signifikante Einflussgröße identifiziert; hier führte eine Alterszunahme von 10 Jahren zu einer Expressionsabnahme um durchschnittlich 0,38 (KI -0,645; -0,113). Für die S1PR3-Expression in der AB führte das Vorhandensein eines Aneurysmas zu einer signifikanten Abnahme der S1PR3-Expression um durchschnittlich 1,16 (KI -1,818; -0,506). Eine Übersicht der Ergebnisse ist in Tabelle 17 dargestellt.

**Tabelle 17: Einfache lineare Regression mit der S1PR3-Expression als abhängige Variable in den drei Aortenabschnitten für die Gesamtkohorte**

<b>S1PR3</b>				
	<b>Variable</b>	<b>Regressionskoeffizient</b>	<b>95% KI</b>	<b>P-Wert</b>
<b>AS</b>	Aneurysma	-0,261	-0,963; 0,442	0,462 <sup>n.s.</sup>
	Dissektion	-0,416	-1,010; 0,178	0,167 <sup>n.s.</sup>
	Aneurysma+Dissektion	-1,400	-2,640; -0,160	<b>0,028*</b>
	Alter/10 [Jahre]	-0,037	-0,286; 0,212	0,769 <sup>n.s.</sup>
	Geschlecht: männlich	0,157	-0,523; 0,837	0,647 <sup>n.s.</sup>
	Körpergröße [cm]	0,022	-0,014; 0,058	0,230 <sup>n.s.</sup>
	Körpergewicht [kg]	-0,010	-0,023; 0,003	0,135 <sup>n.s.</sup>
	<b>DE</b>	Aneurysma	-0,656	-1,458; 0,146
Dissektion		-0,508	-1,169; 0,153	0,130 <sup>n.s.</sup>
Alter/10 [Jahre]		-0,379	-0,645; -0,113	<b>0,006**</b>
Geschlecht: männlich		-0,621	-1,378; 0,135	0,106 <sup>n.s.</sup>
Körpergröße [cm]		0,018	-0,023; 0,059	0,387 <sup>n.s.</sup>
Körpergewicht [kg]		-0,002	-0,017; 0,013	0,762 <sup>n.s.</sup>
<b>AB</b>	Aneurysma	-1,162	-1,818; -0,506	<b>&lt;0,001***</b>
	Dissektion	-0,425	-1,209; 0,360	0,284 <sup>n.s.</sup>
	Alter/10 [Jahre]	-0,001	-0,268; 0,266	0,995 <sup>n.s.</sup>
	Geschlecht: männlich	-0,440	-1,170; 0,290	0,234 <sup>n.s.</sup>
	Körpergröße [cm]	0,011	-0,028; 0,050	0,571 <sup>n.s.</sup>
	Körpergewicht [kg]	0,008	-0,006; 0,023	0,247 <sup>n.s.</sup>

Die Expression der S1P-Rezeptoren wurde mittels qPCR gemessen und alle Werte logarithmiert. Eine Regressionsanalyse mit dem jeweiligen S1P-Rezeptor als abhängige Variable wurde durchgeführt. Für alle unabhängigen Variablen sind der Regressionskoeffizient, das 95% Konfidenzintervall (KI) sowie der korrespondierende P-Wert (P) angegeben. \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001; n.s. nicht signifikant; AS, Aorta ascendens; DE, Aorta descendens; AB, Aorta abdominalis; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor.

## 5 Diskussion

Das Aortenaneurysma sowie die Aortendissektion sind Erkrankungen multifaktorieller Genese des kardiovaskulären Systems. Die Krankheiten treten an den verschiedenen Abschnitten der Aorta unterschiedlich häufig auf; (echte) Aneurysmen findet man vor allem im Bereich der Aorta abdominalis, den Ursprung von Dissektionen fast ausschließlich im thorakalen Bereich der Aorta. Im Rahmen einer Dissektion kann sich die Aorta ebenfalls aneurysmatisch verändern (Falschlumenaneurysma).

Immunmodulatorische Prozesse mit gesteigertem enzymatischen Abbau der elastischen und kollagenen Bindegewebsysteme sowie oxidativer Stress führen zur Zersetzung des vaskulären Gewebes und zu Defiziten der strukturellen Integrität der Gefäßwand. Auch im Rahmen syndromaler Erkrankungen kann es zur Mediadegeneration und damit zur Ausbildung von Aneurysmen oder Dissektionen kommen [13, 14, 24, 25, 27-30, 44-48, 54, 59, 61, 133].

S1P, ein bioaktives Sphingolipid, sowie die S1P-Rezeptoren und deren Funktionen in (patho-)physiologischen Prozessen im kardiovaskulären System sind innerhalb der letzten Jahre zunehmend in den Fokus der Forschung gerückt. Die Rolle der S1P-Rezeptoren in aortalen Aneurysmen bzw. in Aortendissektionen ist bis dato unklar. In dieser Arbeit wurde daher die Expression der S1P-Rezeptoren S1PR1, S1PR2 und S1PR3 in Gewebeproben der drei Aortensegmente (Aorta ascendens (AS), Aorta descendens (DE), Aorta abdominalis (AB)) gemessen und hinsichtlich etwaiger Assoziationen mit den beiden genannten Krankheitsbildern analysiert.

### 5.1 Studiengruppe und Studiendesign

Die analysierten Proben dieser Arbeit entstammen einem Kollektiv von 95 verstorbenen Personen, die an einem oder mehreren Abschnitten der Aorta ein Aneurysma und/oder eine Dissektion aufwiesen.

Zu den Risikofaktoren, die der Ausbildung dieser Krankheitsbilder gemein sind, zählen u.a. ein höheres Alter (>65 Jahre) [34] und das männliche Geschlecht [35, 36]. Dieses deckt sich mit dem Durchschnittsalter der Gesamtkohorte dieser Arbeit ( $69,2 \pm 12,3$  (33-91) Jahre) sowie dem Verhältnis von männlichen zu weiblichen Verstorbenen (64,2 (n=61) zu 35,8 (n=34) Prozent). Zusätzlich wurde in dieser Arbeit die Körpergröße ( $175 \pm 11$  (147-210) cm) und das Körpergewicht ( $83,9 \pm 23,7$  (37-160) kg) der verstorbenen Personen ermittelt; der hieraus errechnete durchschnittliche BMI (*Body-Mass-Index*) entspricht mit einem Wert von 27,4 einer Prä-Adipositas. In einer im Jahr 2015 veröffentlichten prospektiven Kohortenstudie bezüglich des Risikoprofils für

Aortendissektionen sowie rupturierte Aortenaneurysmen konnte jedoch keine signifikante Assoziation zwischen einer Adipositas und den genannten Krankheitsbildern gefunden werden [60]. Hier zeigte sich, im Gegensatz, eher eine inverse Assoziation (nicht signifikant) zwischen der Adipositas und dem abdominellen und thorakalen Aortenaneurysma. Für eine Dissektion konnte keine Assoziation festgestellt werden [60]. Die Prävalenz dieser Krankheitsbilder in der Bevölkerung beläuft sich beim abdominalen Aortenaneurysma auf 1,3-1,7% [134], beim thorakalen Aortenaneurysma auf 0,16-0,34% [135] und die Dissektion liegt bei 5-30 Fällen pro 1 Millionen Personen pro Jahr [136]. Auch in dieser Arbeit war das abdominale Aortenaneurysma die am häufigsten vertretene Pathologie (s. Kap. 4.1.2).

Es wurde in dieser Arbeit der Fragestellung nachgegangen, ob sich die S1P-Rezeptorexpression in pathologisch veränderten Aortenabschnitten von nicht pathologischen Aortenabschnitten unterscheidet. Hieraus sollten Rückschlüsse auf mögliche Funktionen der S1P-Rezeptoren im Rahmen der Pathogenese von Aortenaneurysmen bzw. -dissektionen gezogen werden. Es sei an dieser Stelle erneut darauf hingewiesen, dass für die Analysen dieser Arbeit keinerlei Proben gesunder Aorten verwendet wurden, sondern nicht-erkrankte Abschnitte mit erkrankten Abschnitten verglichen wurden.

## **5.2 Expressionsunterschiede der S1P-Rezeptoren zwischen den Aortenabschnitten**

Vergleicht man die Expression der S1P-Rezeptoren zwischen den einzelnen Aortenabschnitten, so wurden weder für die Gesamtkohorte noch für die ‚Ø Pathologie‘-Gruppe Unterschiede gefunden (s. Kap. 4.2.1, Abb. 17). Vergleichbare Studien hierzu konnten in der Literatur nicht ausfindig gemacht werden.

## **5.3 Korrelationen zwischen der Expression einzelner S1P-Rezeptoren**

Alle S1P-Rezeptoren gehören zur Unterfamilie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren und sind spezifisch für S1P [86, 87]. Da S1P-Rezeptoren teils antagonistische Effekte aufweisen, wurde in dieser Arbeit untersucht, ob die Expression der einzelnen Rezeptoren unabhängig voneinander erfolgt oder voneinander abhängig ist. Daher wurden zum einen eventuell vorhandene Korrelationen der Expression der verschiedenen S1P-Rezeptoren untereinander innerhalb eines Aortenabschnitts analysiert und zum anderen untersucht, ob Korrelationen zwischen verschiedenen Aortenabschnitten vorliegen.

Die Ergebnisse beider Analysen zeigten überwiegend (hoch-)signifikant positive Assoziationen (s. Kap. 4.2.3, Abb. 19 und Abb. 20).

Innerhalb der drei jeweiligen Aortenabschnitte ging demnach eine erhöhte Expression des einen S1P-Rezeptors mit der erhöhten Expression eines jeweils anderen S1P-Rezeptors einher. Diese gekoppelte Regulation der Expression antagonistisch wirkender S1P-Rezeptoren könnte so möglicherweise zur Aufrechterhaltung eines physiologischen Gleichgewichts beitragen. Die verschiedenen S1P-Rezeptoren weisen hinsichtlich der Gefäßpermeabilität, der Migration von glatten Muskelzellen sowie der Einflussnahme auf Vasokonstriktion/-dilatation und auch bzgl. der Inflammation teilweise gegensätzliche Effekte auf. Der endotheliale S1PR1 stärkt beispielsweise Rac-vermittelt die endotheliale Barriere [97], wohingegen der endotheliale S1PR2 über den Rho-Signalweg zu einer Steigerung der Gefäßpermeabilität führt [98]. Der S1PR1 der glatten Muskelzellen wirkt auf diese proliferativ und promigratorisch [111], der glattmuskuläre S1PR2 hingegen hemmt die Migration der GM [99]. Ein weiterer funktioneller Antagonismus lässt sich zwischen dem endothelialen S1PR1 und dem glattmuskulär exprimierten S1PR2 und S1PR3 feststellen; S1P führt über den endothelialen S1PR1 zur Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) und damit zu einer Vasodilatation [94], während die Aktivierung von S1PR2 und S1PR3 zur Kontraktion der glatten Muskelzellen führt und somit eine Verengung des Gefäßes zur Folge hat [116-119]. Ein weiteres Beispiel sind gegensätzliche Effekte des S1P bezüglich der Inflammation; hier weist der S1PR1 antiinflammatorische Eigenschaften auf [112, 113], während der S1PR2 bzw. S1PR3 überwiegend proinflammatorisch wirkt [115, 126, 127].

Da in dieser Arbeit Vollwandproben untersucht wurden, lässt sich nicht ermitteln in welchen Zelltypen die Expression der einzelnen Rezeptoren überwiegend gemessen wurde. Eine interessante Überlegung wäre eine den Zelltyp übergreifende Regulation: Denkbar wäre z.B. eine möglicherweise vorliegende Kopplung zwischen der Expression des endothelialen S1PR1 und dem glattmuskulären S1PR2. Hier würde ein gesundes Endothel mit einer Differenzierung der GM und umgekehrt einhergehen, ein beeinträchtigtes Endothel (verringerte S1PR1-Expression und daraus folgend eine erhöhte Gefäßpermeabilität) die Dedifferenzierung (erniedrigte Expression des S1PR2) der GM bedingen.

Die Analyse der Korrelation der Expression der einzelnen S1P-Rezeptoren zwischen den Aortenabschnitten zeigte ebenfalls überwiegend signifikant positive Assoziationen. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte eine systemische Regulation der Rezeptorexpression zwischen den Aortenabschnitten sein. Lediglich die S1PR1-Expression in der AS und der DE sowie die S1PR3-Expression in der AS und der AB wiesen keine signifikante

Korrelation auf. Beide zeigten im Trend jedoch eine positive Assoziation, die eventuell bei höherer Probenzahl statistische Signifikanz erreichen würde.

#### **5.4 Assoziationen der S1P-Rezeptorexpression mit aortalen Pathologien**

Für jeden der drei Aortenabschnitte wurden Untersuchungen bezüglich einer möglichen Korrelation zwischen der Expression der S1P-Rezeptoren und der Prävalenz einer Pathologie (s. Kap. 4.2.2, Abb. 18, Fig. A-C) durchgeführt. Hierzu wurden vier Subgruppen je Aortenabschnitt gebildet (eine ‚Ø Pathologie‘-Gruppe, eine ‚Pathologie‘-Gruppe sowie eine ‚Aneurysma‘- bzw. ‚Dissektions‘-Gruppe (s. Kap. 4.1.3). Zunächst wurde die Expression der einzelnen S1P-Rezeptoren der ‚Ø Pathologie‘-Gruppe mit der jeweiligen Rezeptorexpression der anderen Gruppen verglichen. Ebenso wurden Regressionsanalysen durchgeführt, um einen eventuell vorhandenen Einfluss der jeweils vorliegenden Pathologie auf die S1P-Rezeptorexpression zu detektieren (s. Kap. 4.2.4, Tab. 15-17).

##### **5.4.1 S1PR1**

Die Analyse für den S1PR1 zeigte in der Aorta ascendens als auch in der Aorta descendens eine signifikante Abnahme der Expressionswerte in allen drei Gruppen (‚Pathologie‘-, ‚Aneurysma‘- und ‚Dissektions‘-Gruppe) (s. Kap. 4.2.2, Abb. 18, Fig. A). Zudem ließ sich in diesen beiden Aortenabschnitten auch in den Regressionsanalysen ein signifikant negativer Einfluss beider Pathologien (Aneurysma und Dissektion) auf die S1PR1-Expression feststellen (s. Kap. 4.2.4, Tab. 15). In der Aorta abdominalis war für den S1PR1 weder in der Korrelationsanalyse noch in der Regressionsanalyse eine Assoziation zwischen Rezeptorexpression und einer Aortenpathologie zu erkennen (s. Kap. 4.2.2, Abb. 18, Fig. A sowie Kap. 4.2.4, Tab. 15). Der Befund, dass in der thorakalen Aorta ein Aneurysma bzw. eine Dissektion mit verminderter Expression des S1PR1 einhergeht, ist bisher nicht bekannt. Der S1PR1 wird überwiegend von den Endothelzellen exprimiert [103]. Die im Rahmen dieser Arbeit gemessene verminderte Rezeptorexpression könnte im Zusammenhang mit veränderten Fließeigenschaften in den erkrankten Aortenabschnitten stehen. Physiologische Blutflussbedingungen unterscheiden zwischen laminaren und turbulenten Strömungen im Gefäßsystem. Laminare Strömungen herrschen in geraden Gefäßabschnitten (bspw. im distalen Teil der Aorta descendens), turbulente Strömungen mit erhöhter Wandschubspannung hingegen entstehen an Biegungen (bspw. Arcus aortae) und Aufzweigungen von Gefäßen (Bifurkation der Aorta abdominalis) oder im Rahmen veränderter Gefäßmorphologien [54].

Der bei einer Aortendissektion auftretende Einriss der Intima konnte regelmäßig in den der höchsten Wandschubspannung ausgesetzten Aortensegmenten nachgewiesen werden (rechte laterale Wand der Aorta ascendens und proximaler Teil der Aorta descendens) [59]. In Studien konnte festgestellt werden, dass der S1PR1 auf Endothelzellen in Bereichen solch turbulenter Strömungen internalisiert und in endozytotischen Vesikeln gespeichert vorliegt [137]. Der Verlust des S1PR1 in diesen Bereichen könnte von großer Bedeutung sein, da der S1PR1 physiologischerweise die endotheliale Barriere stärkt [97] und hierüber einen regulatorischen Einfluss auf die transendotheliale Migration von Entzündungszellen besitzt [110].

Eine antiinflammatorische Funktion des S1PR1 konnten Blaho et al. nachweisen, indem sie zeigten, dass es in Endothelzellen humaner Umbilikalvenen (*human umbilical vein endothelial cells*, HUVECs) unter Verwendung von ApoM-HDL-S1P zur Ausbildung eines S1PR1- $\beta$ -Arrestin-2-Komplexes kommt. Dieser Komplex mindert die Aktivierung des proinflammatorischen Zytokins TNF- $\alpha$  (Tumornekrosefaktor  $\alpha$ ), welches normalerweise über eine Aktivierung des Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B (*nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells*) die Erhöhung von ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1*), einem proinflammatorischen Adhäsionsprotein, nach sich zieht. Die endothelzellspezifische Deletion des S1PR1 führte in Untersuchungen hingegen zu einer erhöhten Ansammlung von ICAM-1 [138]. Dieser Mechanismus könnte für die im Aortenaneurysma beobachtete erhöhte ICAM-1-Expression eine Rolle spielen [139, 140]. An der Pathogenese eines Aneurysmas ist eine vermehrte Expression von Matrix-Metalloproteinasen beteiligt (s. Kap. 1.2.2). Zeng et al. zeigten, dass der S1PR1 auf Endothelzellen für eine Suppression der Expression von MMP-9 und MMP-13 sorgt und somit die Glykokalix vor Degradation (*shedding*) geschützt wird [12]. Durch den Abbau der Glykokalix kommt es zur Freilegung von Leukozyten-Adhäsionsmolekülen auf den Endothelzellen und demzufolge zu einer erhöhten Einwanderung proinflammatorischer Zellen in die Gefäßwand [141]. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass unter Verwendung des S1PR1-Agonisten *ASP4058* der Progress von bereits bestehenden intrakraniellen Aneurysmen im murinen Modell verzögert wird [110].

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die verminderte S1PR1-Expression durchaus zur Pathogenese des thorakalen Aortenaneurysmas bzw. der Aortendissektion beitragen könnte, indem die schützende Glykokalix vermehrt degradiert und die vaskuläre Permeabilität erhöht wird, und es zu einer verstärkten Adhäsion bzw. Invasion von Entzündungszellen kommt.

Im Gegensatz zur thorakalen Aorta (Aorta ascendens und Aorta descendens) wurde für die Aorta abdominalis keine signifikante Änderung der S1PR1-Expression in Verbindung mit einem Aneurysma oder einer Dissektion festgestellt.

Bei 16 der 19 analysierten Proben von Dissektionen der Aorta abdominalis wurde der Ursprung in der Aorta ascendens festgestellt. Die akute Typ A Dissektion (Klassifikation der Dissektion s. Kap. 1.3.1) ist ein lebensbedrohliches Krankheitsbild und bedarf einer sofortigen chirurgischen Versorgung. Die Operation umfasst einen prothetischen Ersatz der Aorta ascendens +/- Aortenklappe und des Aortenbogens. Als Residuum nach erfolgreicher Operation verbleibt meistens eine chronische Typ B Dissektion, welche im weiteren Verlauf aneurysmatisch degenerieren kann [142]. Diese Aneurysmen sind jedoch häufig auf den proximalen Teil der Aorta descendens beschränkt, entstehen im Verlauf mehrerer Jahre und weiten sich selten nach distal aus [143]. Die unveränderte S1PR1-Expression bei Vorliegen einer Dissektion in der Aorta abdominalis könnte somit gegebenenfalls darauf zurückzuführen sein, dass die pathologische Veränderung der Gefäßwand (respektive der S1PR1-Verlust der Endothelzelle) in einem der vorangehenden Aortenabschnitte lag und die abdominale Dissektion lediglich Folge der konsekutiven Ausbreitung der Wühlblutung ist. Um diese Vermutung zu bestätigen müssten Rezeptorexpressionsvergleiche zwischen den dissezierten Aortenabschnitten erfolgen.

Die Aneurysmen der Aorta abdominalis sind in unserer Studiengruppe hingegen überwiegend isoliert auf dieses Segment beschränkt vorgekommen. In dieser Arbeit wurden Vollwandproben untersucht, weshalb eine Detektion des den Rezeptor exprimierenden Zelltyps nicht möglich und somit unklar ist, welche Zellen zu der gemessenen S1PR1-Expression beigetragen haben. Bezüglich des S1PR1 ist die Endothelzelle jedoch vermutlich die bedeutendste Quelle [103]. In einem chronischen Entzündungsgeschehen, wie dem Aortenaneurysma, wäre am ehesten eine Abnahme der endothelialen Expression des antiinflammatorischen S1PR1 zu erwarten gewesen (verminderte Expression führt zu erhöhter Permeabilität des Endothels [108, 109]).

Im abdominalen Aortenaneurysma findet eine transmurale Infiltration proinflammatorischer Zellen [144] mit degenerativem Umbau der Media [22] statt. Es kommt zu einer Ansammlung von T- und B-Lymphozyten sowie lokal aktivierten Monozyten, die sich zu Makrophagen differenzieren [145]. All diese Zellen exprimieren den S1PR1 [103, 146, 147]. In atherosklerotischen Plaques muriner Aorten konnte eine erhöhte S1PR1-Expression erhoben werden [4] und es konnte gezeigt werden, dass abdominale Aortenaneurysmen häufig auch atherosklerotische Läsionen aufweisen [148].

Denkbar wäre somit einerseits, dass eine verminderte S1PR1-Expression des Endothels zu einer verstärkten Einwanderung von Lymphozyten und Makrophagen in die Gefäßwand führt und sich die gemessene Summe der S1PR1-Expression somit nicht ändert. Umgekehrt wäre auch eine Abnahme des S1PR1 bei vorliegendem Aneurysma und dadurch hervorgerufener Schädigung des Endothels vorstellbar. Um hier differenzieren zu können, wären beispielsweise Untersuchungen mittels Einzelkernsequenzierung erforderlich.

#### **5.4.2 S1PR2**

Die Gruppenvergleiche hinsichtlich der S1PR2-Expression zeigten in der Aorta ascendens keine Änderungen der Werte in Verbindung mit einer Pathologie, hingegen wurde in der Aorta descendens und Aorta abdominalis eine Abnahme der Werte bei Vorliegen eines Aneurysmas, nicht jedoch bei einer Dissektion beobachtet (s. Kap. 4.2.2, Abb. 18, Fig. B). Der S1PR2 scheint überwiegend von den glatten Muskelzellen im Gefäßsystem exprimiert zu werden [92]. Dem Krankheitsbild des abdominalen Aneurysmas liegen chronische Entzündungsprozesse zugrunde, die zu einer Schädigung der Media mit Apoptose von GM [149, 150] und einer Degradation der die Gefäßwand stabilisierenden Proteine wie Elastin und Kollagen führen. Die Nährstoffversorgung der Media erfolgt in der abdominalen Aorta größtenteils über den luminalen Blutfluss, da die Vasa vasorum der Adventitia, im Gegensatz zur thorakalen Aorta, in der Aorta abdominalis weniger stark ausgebildet sind [151]. Zudem lassen sich bei abdominalen Aortenaneurysmen zu 75% atherosklerotische Plaques nachweisen [29], häufig verbunden mit einem koexistenten intraluminalen Thrombus [152]. Die hierdurch verlängerte Diffusionsstrecke für die Nährstoffversorgung dieses Aortenabschnitts kann zu einer kritischen Unterversorgung und Atrophie der aortalen Media führen [153]. Die durch den Blutfluss induzierte Wandschubspannung ist ebenfalls essentieller Bestandteil der Pathogenese der Atherosklerose [29, 154]. Der durch das Aneurysma induzierte gestörte laminare Blutfluss mit nachfolgender Erhöhung der Wandschubspannung könnte somit die Ausbildung atherosklerotischer Plaques beschleunigen [29]. Die verminderte S1PR2-Expression könnte daher auf den Untergang des den Rezeptortragenden Zelltyps (hier die GM) zurückzuführen sein.

Da in dieser Studie keine zelltypspezifischen Expressionen untersucht wurden, könnte die Abnahme der Rezeptorexpression auch auf eine verminderte Expression des endothelialen S1PR2 zurückzuführen sein. Da sich in Studien jedoch zeigte, dass dem endothelialen S1PR2 proinflammatorische Eigenschaften zugeschrieben werden können [115, 155] und es sich bei den untersuchten Pathologien um chronische

Entzündungsprozesse handelt, wäre hier eher eine Zu- als eine Abnahme dieser Rezeptorexpression zu erwarten gewesen.

Bei Vorliegen einer Dissektion zeigte sich für keinen der Aortenabschnitte eine Änderung in den S1PR2-Expressionsvergleichen. Bode-Jänisch et al. analysierten Proben humaner Dissektionen der Aorta ascendens und Aorta descendens (n=30) und verglichen diese mit Kontrollproben gesunder Aorten (n=25) hinsichtlich möglicherweise vorliegender histologischer Unterschiede in der Media [156]. Peterss et al. analysierten zudem den Status der Graduierungen von akuten vs. chronischen Aortendissektionen [157]. Die Charakterisierung der histologischen Veränderungen erfolgte in Anlehnung an die von Schlatmann und Becker vorgelegten Graduierungen (s. Kap. 1.2.2, Tab. 3). Die Ergebnisse beider Studien zeigten, dass in der thorakalen Aortendissektion der Elastinabbau sowie die Akkumulation mukoider Substanz im Vordergrund zu stehen scheint (statistisch signifikant), weniger jedoch die tatsächliche Abnahme der glatten Muskelzellen in der Media. Der Unterschied der beiden Krankheitsbilder (Aneurysma vs. Dissektion) verdeutlicht sich hierüber; bei dem Krankheitsbild der Aortendissektion scheint die pathologische Veränderung des Endothels im Vordergrund zu stehen, beim Aneurysma die Schädigung der Media. Da der S1PR2 jedoch überwiegend von den GM der Gefäße exprimiert wird, ist eine Abnahme dieses Rezeptors in der Aortendissektion nicht unbedingt zu erwarten. Zudem wurden in dieser Arbeit Vollwandproben untersucht, die tendenziell mehr GM als EZ enthalten.

Die Regressionsanalysen zeigten für die thorakalen Aortenabschnitte zudem keinen signifikanten Einfluss der Dissektion auf die S1PR2-Expression (s. Kap. 4.2.4, Tab. 16). Die sich in der Regressionsanalyse darstellende Einflussnahme des Alters auf die S1PR2-Expression in der Aorta descendens könnte möglicherweise ebenfalls auf einen Verlust der den S1PR2 exprimierenden Zelltyp zurückzuführen sein. Das Alter gilt als Risikofaktor für die Ausbildung eines Aneurysmas [34]. Im Expressionsvergleich ließ sich eine Abnahme der S1PR2-Expression bei Vorliegen eines Aneurysmas in der Aorta descendens feststellen, die Regressionsanalysen ergaben jedoch weder für das Aneurysma noch für die Dissektion einen Einfluss auf die S1PR2-Expression (s. Kap. 4.2.4, Tab. 16). Somit ist der Einfluss des Alters auf die S1PR2-Expression in der Aorta descendens weiterhin unklar und fraglich bleibt auch, weshalb das Alter in der Aorta ascendens und Aorta abdominalis keinen signifikanten Einfluss auf die S1PR2-Expression zeigt.

### 5.4.3 S1PR3

In den Gruppenvergleichen bezüglich des S1PR3 zeigte sich in allen Aortenabschnitten eine signifikante Abnahme der Expression bei Vorhandensein einer Pathologie; in der Aorta ascendens zeigte sich dieser Effekt in Zusammenhang mit einer Dissektion, in der Aorta descendens und Aorta abdominalis hingegen mit einem Aneurysma (s. Kap. 4.2.2, Abb. 18, Fig. C). Der S1PR3 wird von Endothelzellen sowie glatten Muskelzellen exprimiert [92] und diesem Rezeptor lassen sich u.a. sowohl pro- als auch antiinflammatorische Eigenschaften zuordnen (s. Kap. 1.4.2, Tab. 5).

Ein Bestandteil der Pathogenese des abdominalen Aortenaneurysmas ist die Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies (*reactive oxygen species*, ROS) innerhalb des chronischen Entzündungsgeschehens. Das MCP-1 (*Monocyte chemotactic protein*) ist eines der Schlüsselenzyme für die Regulierung der Migration und Infiltration von Monozyten/Makrophagen in die Gefäßwand [158]. MCP-1 wird physiologischerweise durch die NADPH-Oxidasen (NOX) -vermittelte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies aktiviert [159]. Das HDL, als kardiovaskulär protektives Lipoprotein, inhibiert die NOX und damit die Produktion von MCP-1 [160]. In abdominalen Aortenaneurysmen konnte ein erhöhtes Vorkommen von ROS sowie von MCP-1 nachgewiesen werden [161, 162]. Untersuchungen mit aortalen glatten Muskelzellen von S1PR3-KO-Mäusen zeigten, dass die inhibitorischen Effekte des HDL auf die ROS- und MCP-1-Produktion über den S1PR3 vermittelt werden [160]. Der glattmuskuläre S1PR3 hat hier also vermutlich antiinflammatorische Eigenschaften. Eine Abnahme der Expression des glattmuskulären S1PR3 könnte demnach mit vermehrtem oxidativen Stress in der Aortenwand einhergehen, welches die Ausbildung von Aneurysmen begünstigen würde.

Die Regressionsanalyse zeigten einen signifikant negativen Einfluss des Aneurysmas auf die S1PR3-Expression in der Aorta abdominalis (s. Kap. 4.2.4, Tab. 17). Interessanterweise konnte in Studien demonstriert werden, dass pulsatiler [163] und mechanischer [164] Stress die NOX- sowie die ROS-Produktion in vaskulären glatten Muskelzellen erhöhen [165]. Die im Aneurysma durch die Wandschubspannung induzierten vorherrschenden mechanischen Kräfte könnten also die Prozesse der ROS-Produktion sowie die Zunahme des inflammatorischen Geschehens weiter fördern. Ob dieser pulsatile und mechanische Stress zu einer Abnahme der glattmuskulären S1PR3-Expression führt, ist bisher nicht untersucht.

Nicht nur dem glattmuskulären, auch dem endothelialen S1PR3 konnten antiinflammatorische Eigenschaften nachgewiesen werden. So zeigten Tsao et al., dass endotheliales Stickstoffmonoxid zur Suppression von MCP-1 in vaskulären glatten Muskelzellen in Aorten von Kaninchen führt [166]. Verschiedene Studien haben gezeigt,

dass der endotheliale S1PR3 in den eNOS-Signalweg involviert ist [95, 167]. Der durch den Mangel an eNOS provozierte oxidative Stress hat schädigenden Einfluss auf die umliegenden Zellen [168] und eine endotheliale Dysfunktion führte in Studien mit ApoE/eNOS-Doppel-KO-Mäusen zur vermehrten Inzidenz von abdominalen Aortenaneurysmen und Atherosklerose [169]. In der Aorta abdominalis ließe sich also eine endotheliale sowie eine glattmuskuläre Verringerung der S1PR3-Expression in Zusammenhang mit der Ausbildung von Aneurysmen bringen. Da die Pathogenese des Aneurysmas überwiegend die Media betrifft (s. Kap. 1.2.2), ließe sich eine dortige Abnahme am ehesten vermuten.

In der Aorta ascendens ließ sich ebenfalls eine verminderte S1PR3-Expression detektieren, diese lag jedoch bei Vorhandensein einer Dissektion vor. Da bei der Dissektion vermutlich eher eine Schädigung des Endothels im Vordergrund steht (s. Kap. 1.3), könnte hier eine Abnahme des endothelialen S1PR3 im Vordergrund stehen. Untersuchungen mit HUVECs zeigten, dass der endotheliale S1PR3 antiapoptotische Eigenschaften besitzt [170] bzw. das Überleben von Endothelzellen stimuliert [120]. Weitere Versuche zeigten, dass dieser Effekt nicht nur durch den S1PR3 sondern auch durch den S1PR1 vermittelt ist [171]. Damit könnte ein Verlust an endotheliale S1PR3 die Apoptose von Endothelzellen fördern und somit die Ausbildung einer Dissektion begünstigen.

Zusammenfassend lässt sich also feststellen, dass in der Dissektion, deren Ursprung überwiegend in der Aorta ascendens und Aorta descendens festzustellen war und der vorrangig eine Schädigung des Endothels zugrunde liegt, eine Abnahme des S1PR1 und S1PR3 in den betroffenen Abschnitten zu finden war. Zumindest der S1PR1 scheint in arteriellen Gefäßen überwiegend im Endothel exprimiert zu werden. Inwieweit diese verringerte Expression des S1PR1 bzw. S1PR3 zur Pathogenese dieses Krankheitsbildes beiträgt, beispielsweise durch vermehrte EZ-Apoptose sowie eine verminderte Endothelbarriere, und ob das Krankheitsbild zu einer Abnahme der Rezeptorexpression führt (veränderte Fließeigenschaften führen ggf. zu verminderter Expression), kann abschließend nicht geklärt werden und sollte in weiteren Untersuchungen erforscht werden.

Im Aneurysma, dem eher eine Schädigung der Media des Gefäßes zugrunde liegt und das sich überwiegend in der Aorta abdominalis und zu Teilen in der Aorta descendens finden ließ, zeigte sich eine Abnahme der auch bisher in Studien überwiegend medial exprimierten Rezeptoren (S1PR2 und S1PR3) in den betroffenen Abschnitten. Auch hier ist nicht abschließend zu klären, ob die Krankheit die Abnahme der Rezeptorexpression

bedingt (veränderte Fließeigenschaften und verminderte Oxygenierung der Gefäßwandschichten führen zur Abnahme der Expression) oder ob die Rezeptorabnahme zur Krankheit führt (verringerte Expression führt zu einer Zunahme des Inflammationsgeschehens).

Aus diesen Ergebnissen ließe sich ableiten, dass sie S1P-Rezeptoren im Krankheitsprozess des Aneurysmas sowie der Dissektion eine Rolle spielen und potentielle Ziele für pharmakologische Interventionen darstellen könnten.

## 6 Zusammenfassung

Sphingosin-1-Phosphat (S1P) ist ein bioaktives Sphingolipid, welches seine Wirkung über fünf unterschiedliche G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (S1PR1-5) ausübt. Drei dieser fünf Rezeptoren (S1PR1-3) werden ubiquitär exprimiert. Im Gefäßsystem konnte gezeigt werden, dass S1P sowohl an der Regulation zahlreicher physiologischer Prozesse wie Zellproliferation und -migration, Vaskulo- und Angiogenese, Gefäßpermeabilität und Regulation des Gefäßtonus [70, 79-81] beteiligt ist, als auch in pathologischen Prozessen wie der Atherosklerose [84, 85] und der Ausbildung von intrakraniellen Aneurysmen [110]. In dieser Arbeit wurde nun erstmalig eine Erhebung der Expression der S1P-Rezeptoren 1-3 in aneurysmatisch veränderten und/oder dissezierten Abschnitten der humanen Aorta (Aorta ascendens (AS), Aorta descendens (DE) und Aorta abdominalis (AB)) vorgenommen. Hierzu wurden Gewebeproben der AS, der DE und des infrarenalen Abschnitts der AB von jeweils 95 verstorbenen Personen asserviert und mittels qPCR hinsichtlich der Expression der genannten S1P-Rezeptoren analysiert. Anhand der Durchsicht der zu den jeweiligen Proben gehörigen Sektionsprotokolle wurde für jedes Aortensegment eine Klassifikation des Gefäßstatus hinsichtlich der vorliegenden Pathologie eines Aneurysmas, einer Dissektion oder beiden Krankheitsbildern (Aneurysma+Dissektion) vorgenommen. Somit wurden vier Subgruppen je Aortensegment gebildet, wobei der Gruppe ‚Ø Pathologie‘ Proben zugeteilt wurden, die weder aneurysmatisch verändert noch disseziert gewesen sind. Zudem wurden Daten zu Alter, Geschlecht, Körpergröße und Körpergewicht erhoben. Ziel war es, herauszufinden, ob die Expression eines der drei S1P-Rezeptoren mit einem Aneurysma oder einer Dissektion in den untersuchten Aortensegmenten assoziiert ist. Hieraus sollen nachfolgend Rückschlüsse auf mögliche Funktionen der S1P-Rezeptoren im Rahmen der Pathogenese von Aortenaneurysmen bzw. -dissektionen gezogen werden. Neben den Gruppenvergleichen wurden Regressionsanalysen durchgeführt, um einen eventuell vorhandenen Einfluss der Erkrankung sowie der erhobenen klinischen Parameter (z.B. Geschlecht) auf die S1P-Rezeptorexpression zu ermitteln. Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass eine Dissektion in der AS bzw. DE mit einer Abnahme der S1PR1- und S1PR3-Expression einhergeht, während ein Aneurysma in der DE bzw. AB mit einer Abnahme der S1PR2- und S1PR3- Expression assoziiert ist.

Daraus lässt sich folgern, dass die S1P-Rezeptoren im Krankheitsprozess des aortalen Aneurysmas sowie der aortalen Dissektion eine Rolle spielen und potentielle Ziele für pharmakologische Interventionen darstellen könnten.

## 7 Summary

Sphingosine-1-phosphate is a bioactive sphingolipid which exerts its effects via five different G protein-coupled receptors (S1PR1-5), three of which are ubiquitously expressed (S1PR1-3). In the vasculature, S1P regulates numerous physiological processes such as cell proliferation and migration, vasculogenesis, angiogenesis, vascular permeability and vascular tone but also pathophysiological processes such as atherosclerosis and the formation of intracranial aneurysms. This study is the first to measure the expression of S1PR1-3 in aneurysmal or dissected sections of the human aorta ascendens (AS), aorta descendens (DE) and the aorta abdominalis (AB). Tissue samples of AS, DE and the infrarenal part of AB were collected from 95 deceased and the expression of S1P receptors in all 285 specimen was measured by qPCR. Based on autopsy protocols, each aortic segment was scored for the prevalence of an aneurysm, a dissection or both. This way, for each aortic segment, four subgroups were formed, whereby the subgroup 'zero-pathology' comprised all specimen with neither aneurysm nor dissection. In addition, data regarding age, gender, body height and weight of the deceased tissue donors were recorded. The main objective of this study was to demonstrate potential associations between the expression of one of the S1P receptors and the prevalence of an aneurysm or a dissection which may allude to a functional involvement of S1P receptors in the pathogenesis of these disorders. In addition, linear regression analyses were performed to test for a potential influence of any of the clinical parameter recorded (e.g. age) on S1P receptor expression. In summary, the results show that dissections in the AS and DE, respectively, are associated with decreased expression of S1PR1 as well as S1PR3, while an aneurysm in the DE is associated with decreased expression of S1PR2 as well as S1PR3.

From these findings, one may conclude that S1P receptors play a role in the pathogenesis of aortic aneurysms as well as dissections and may therefore represent potential targets for pharmacological interventions.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
AAA	Abdominelles Aortenaneurysma
AB	Aorta abdominalis
AC	Adenylylcyclase
ApoE	Apolipoprotein E
ApoM	Apolipoprotein M
AS	Aorta ascendens
ATP	Adenosintriphosphat
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
cDNA	<i>complementary DNA</i>
C <sub>T</sub>	<i>Cycle threshold</i>
DE	Aorta descendens
eNOS	<i>endothelial NO synthase</i> (endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase)
ERK	<i>Extracellular-signal Regulated Kinase</i>
ESC	<i>European Society of Cardiology</i>
EZ	Endothelzellen
EZM	Extrazelluläre Matrix
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase
G <sub>i</sub>	Inhibitorisches G-Protein
G <sub>q</sub>	Phospholipase-C-gekoppeltes G-Protein
GM	glatte Muskelzellen
G-Protein	Guanosintriphosphat bindendes Protein
GTP	Guanosintriphosphat
HDL	<i>High-Density-Lipoprotein</i>
ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i>
ICR	Intercostalraum
IFN-γ	Interferon γ
IL	Interleukin
IMH	Intramurales Hämatom
IQR	Interquartilsabstand
KI	Konfidenzintervall
KO	<i>Knockout</i>
LDL	<i>Low-Density-Lipoprotein</i>

LDS	Loeys-Dietz-Syndrom
MAPK	<i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MFS	Marfan-Syndrom
MMP	<i>Matrix-Metalloproteinases</i>
n.s.	nicht signifikant
OD	Optische Dichte
PAU	Penetrierendes Aortenulkus
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Polymerasekettenreaktion)
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
PKB	Proteinkinase B
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
Rr.	Rami
RT-qPCR	<i>Real Time quantitative reverse Polymerase Chain Reaction</i> (quantitative Echtzeit-Polymerasekettenreaktion)
S1P	Sphingosin-1-Phosphat
S1PR	Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor
S1PR1	Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor 1
S1PR2	Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor 2
S1PR3	Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor 3
SD	<i>Standard Deviation</i> (Standardabweichung)
SphK	Sphingosinkinase
TAA	Thorakales Aortenaneurysma
TAAA	Thorakoabdominelles Aortenaneurysma
TAAD	Thorakale Aortenaneurysmen und Dissektionen
TGF- $\beta$	<i>Transforming Growth Factor <math>\beta</math></i>
TIMP	<i>Tissue-Inhibitors-of-Matrix-Metalloproteinases</i>
TNF- $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor <math>\alpha</math></i>
vEDS	vaskuläres Ehlers-Danlos-Syndrom
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VLDL	<i>Very-Low-Density-Lipoprotein</i>

## 9 Literaturverzeichnis

1. Kuivaniemi, H., et al., Understanding the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2015. 13(9): 975-987.
2. Farber, M.A. und T.S. Ahmad. Aortic Dissection. 2019 Mai 2019 [Online aus dem Internet] URL: <https://www.msmanuals.com/professional/cardiovascular-disorders/diseases-of-the-aorta-and-ist-branches/aortic-dissection>. (Letzter Zugriff: 20.11.2019).
3. Hla, T.. Physiological and pathological actions of sphingosine 1-phosphate. *Semin Cell Dev Biol*, 2004. 15(5): 513-520.
4. Liu, H., et al.. Upregulated Sphingosine 1-Phosphate Receptor 1 Expression in Human and Murine Atherosclerotic Plaques. *Mol Imaging Biol*, 2018. 20(3): 448-456.
5. Daum, G., A. Grabski und M.A. Reidy. Sphingosine 1-phosphate: a regulator of arterial lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009. 29(10): 1439-1443.
6. Shimizu, T., et al.. Sphingosine 1-phosphate receptor 2 negatively regulates neointimal formation in mouse arteries. *Circ Res*, 2007. 101(10): 995-1000.
7. Hannuksela, M., S. Lundqvist und B. Carlberg. Thoracic aorta--dilated or not? *Scand Cardiovasc J*, 2006. 40(3): 175-178.
8. Wanhainen, A., et al.. Thoracic and abdominal aortic dimension in 70-year-old men and women--a population-based whole-body magnetic resonance imaging (MRI) study. *J Vasc Surg*, 2008. 47(3): 504-512.
9. Schünke, M., E. Schulte und U. Schumacher. Rumpfwand - Systematik der Leitungsbahnen. In *Prometheus Lernatlas der Anatomie Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem*. M. Schünke, E. Schulte und U. Schumacher, Hrsg.. 2011; Georg Thieme Verlag: Stuttgart: 190-191.
10. Welsch, U. und T. Deller. Organe des Kreislaufs und Lymphgefäße: Blutgefäße. In: *Lehrbuch Histologie*. U. Welsch und T. Deller, Hrsg.. 2010; Elsevier Urban und Fischer Verlag: München: 200-204.
11. Lüllmann-Rauch, R.. Blutgefäße. In: *Taschenlehrbuch Histologie*. R. Lüllmann-Rauch, Hrsg.. 2012; Georg Thieme Verlag: Stuttgart: 256-257.
12. Zeng, Y., et al.. Sphingosine-1-phosphate protects endothelial glycocalyx by inhibiting syndecan-1 shedding. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014. 306(3): H363-372.
13. Curci, J.A. und N. Airhart. Arterial Aneurysms. In: *Rutherford's Vascular Surgery*. J.L. Cronenwett und K.W. Johnston, Hrsg.. 2014; Elsevier: Philadelphia: 113-129.
14. Attia, R., R.E. Clough und P.R. Taylor. Thoracic aortic aneurysms. In: *Oxford Textbook of Vascular Surgery*. M. Thompson, Hrsg.. 2016; Oxford University Press: Großbritannien.
15. Zankl, A.R., et al.. Pathology, natural history and treatment of abdominal aortic aneurysms. *Clin Res Cardiol*, 2007. 96(3): 140-151.

16. Eckstein, H.H., et al.. Ultrasonographic screening for the detection of abdominal aortic aneurysms. *Dtsch Arztebl Int*, 2009. 106(41): 657-663.
17. Ludwig, M., J. Rieger und V. Ruppert. Arterielle Aneurysmen. In: *Gefäßmedizin in Klinik und Praxis*. M. Ludwig, J. Rieger und V. Ruppert, Hrsg.. 2010; Thieme Verlag: Stuttgart. 150-152.
18. Detter, C., Y. v. Kodolitsch und H. Reichenspurner. Aorta: Typ-A-Dissektion und Ascendensaneurysmen. In: *Operative und interventionelle Gefäßmedizin*. E.S. Debus und W. Gross-Fengels, Hrsg.. 2012; Springer Verlag: Berlin, Heidelberg: 447-448.
19. Crawford, E.S. und J.S. Coselli. Thoracoabdominal aneurysm surgery. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 1991. 3(4): 300-322.
20. Safi, H.J. und C.C. Miller. 3rd, Spinal cord protection in descending thoracic and thoracoabdominal aortic repair. *Ann Thorac Surg*, 1999. 67(6): 1937-1939; Diskussion 1953-1958.
21. Kirsch, E.W.M., et al.. Heterogeneity in the remodeling of aneurysms of the ascending aorta with tricuspid aortic valves. *J Thorac and Cardiovasc Surg*, 2006. 132(5): 1010-1016.
22. Ruddy, J.M., J.A. Jones und J.S. Ikonomidis. Pathophysiology of Thoracic Aortic Aneurysm (TAA): Is it not one Uniform Aorta? Role of Embryologic Origin. *Prog Cardiovasc Dis*, 2013. 56(1): 68-73.
23. Dobrin, P.B.. Pathophysiology and pathogenesis of aortic aneurysms. Current concepts. *Surg Clin North Am*, 1989. 69(4): 687-703.
24. Isselbacher, E.M.. 78 - Diseases of the Aorta. In: *Goldman's Cecil Medicine* (24. Auflage). L. Goldman und A.I. Schafer, Hrsg.. 2012; W.B. Saunders: Philadelphia: 482-486.
25. Wassef, M., et al.. Pathogenesis of abdominal aortic aneurysms: a multidisciplinary research program supported by the National Heart, Lung, and Blood Institute. *J Vasc Surg*, 2001. 34(4): 730-738.
26. Goldfinger, J.Z., et al.. Thoracic aortic aneurysm and dissection. *J Am Coll Cardiol*, 2014. 64(16): 1725-1739.
27. Rizas, K.D., N. Ippagunta und M.D. Tilson. 3rd, Immune cells and molecular mediators in the pathogenesis of the abdominal aortic aneurysm. *Cardiol Rev*, 2009. 17(5): 201-210.
28. Altmeyer, P.. Die Online Enzyklopädie der Dermatologie, Venerologie, Allergologie und Umweltmedizin. 2017 [Online aus dem Internet] URL: <http://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/artikel?id=14082>. (Letzter Zugriff: 24.07.2017).
29. Nordon, I.M.. Abdominal aortic aneurysms: fundamental concepts. In: *Oxford Textbook of Vascular Surgery*. M. Thompson, Hrsg.. 2016; Oxford University Press: Großbritannien: 469-484.
30. Curci, J.A. und R.W. Thompson. Adaptive cellular immunity in aortic aneurysms: cause, consequence, or context? *J Clin Invest*, 2004. 114(2): 168-171.

31. Husman, M.. Aortenaneurysma und - dissektion: Pathophysiologie, Epidemiologie und Diagnostik. Zeitschrift für Gefäßmedizin 2015. 12(2): 4-8.
32. Wilmink, T.B., C.R. Quick und N.E. Day. The association between cigarette smoking and abdominal aortic aneurysms. J Vasc Surg, 1999. 30(6): 1099-1105.
33. Lederle, F.A., D.B. Nelson und A.M. Joseph. Smokers' relative risk for aortic aneurysm compared with other smoking-related diseases: a systematic review. J Vasc Surg, 2003. 38(2): 329-334.
34. Gussmann, A., J. Kühn und U. Weise. Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gefäßchirurgie (vaskuläre und endovaskuläre Chirurgie) (DGG). 2008. [Online aus dem Internet] URL: [http://www.gefaesschirurgie.de/fileadmin/websites/dgg/download/LL\\_Aneurysmen\\_Bauch\\_BEcken\\_2011.pdf](http://www.gefaesschirurgie.de/fileadmin/websites/dgg/download/LL_Aneurysmen_Bauch_BEcken_2011.pdf) (Ltzter Zugriff: 07.08.2018).
35. Singh, K., et al.. Prevalence of and risk factors for abdominal aortic aneurysms in a population-based study : The Tromso Study. Am J Epidemiol, 2001. 154(3): 236-244.
36. Forsdahl, S.H., et al.. Risk factors for abdominal aortic aneurysms: a 7-year prospective study: the Tromso Study, 1994-2001. Circulation, 2009. 119(16): 2202-2208.
37. Blanchard, J.F., H.K. Armenian und P.P. Friesen. Risk factors for abdominal aortic aneurysm: results of a case-control study. Am J Epidemiol, 2000. 151(6): 575-583.
38. Kuivaniemi, H., et al.. Familial abdominal aortic aneurysms: collection of 233 multiplex families. J Vasc Surg, 2003. 37(2): 340-345.
39. Golledge, J., et al.. Association between serum lipoproteins and abdominal aortic aneurysm. Am J Cardiol, 2010. 105(10): 1480-1484.
40. Takagi, H., H. Manabe und T. Umemoto. A meta-analysis of association between serum lipoproteins and abdominal aortic aneurysm. Am J Cardiol, 2010. 106(5): 753-754.
41. Erdheim, J.. Medionecrosis aortae idiopathica. Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin, 1929. 273(2): 454-479.
42. He, R., et al.. Characterization of the inflammatory and apoptotic cells in the aortas of patients with ascending thoracic aortic aneurysms and dissections. J Thorac Cardiovasc Surg, 2006. 131(3): 671-678.
43. Schlatmann, T.J.M. und A.E. Becker. Histologic changes in the normal aging aorta: Implications for dissecting aortic aneurysm. Am J Cardiol, 1977. 39(1): 13-20.
44. Halushka, M.K., et al.. Consensus statement on surgical pathology of the aorta from the Society for Cardiovascular Pathology and the Association For European Cardiovascular Pathology: II. Noninflammatory degenerative diseases - nomenclature and diagnostic criteria. Cardiovasc Pathol, 2016. 25(3): 247-257.
45. Tavora, F. und A. Burke. Review of isolated ascending aortitis: differential diagnosis, including syphilitic, Takayasu's and giant cell aortitis. Pathology, 2006. 38(4): 302-308.

46. Lopes, R.J., et al.. Infectious thoracic aortitis: a literature review. *Clin Cardiol*, 2009. 32(9): 488-490.
47. Isselbacher, E.M.. Thoracic and abdominal aortic aneurysms. *Circulation*, 2005. 111(6): 816-828.
48. Conrad, M.F. und R.P. Cambria. Aortic Dissection. In: *Rutherford's Vascular Surgery*. J.L. Cronenwett und K.W. Johnston, Hrsg.. 2014; Elsevier: Philadelphia: 2169-2172.
49. Gilbert, R. und J.R. Upchurch. Thoracic and Thoracoabdominal Aortic Aneurysms: Evaluation and Decision Making. In: *Rutherford's Vascular Surgery*. J.L. Cronenwett und K.W. Johnston, Hrsg.. 2014; Elsevier: Philadelphia: 2084-2088.
50. Ramanath, V.S., et al.. Acute Aortic Syndromes and Thoracic Aortic Aneurysm. *Mayo Clinic Proceedings*, 2009. 84(5): 465-481.
51. Milewicz, D.M., S.K. Prakash und F. Ramirez. Therapeutics Targeting Drivers of Thoracic Aortic Aneurysms and Acute Aortic Dissections: Insights from Predisposing Genes and Mouse Models. *Annu Rev Med*, 2017. 68: 51-67.
52. Svensson, L.G., et al.. Intimal tear without hematoma: an important variant of aortic dissection that can elude current imaging techniques. *Circulation*, 1999. 99(10): 1331-1336.
53. Erbel, R., et al.. 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases: Document covering acute and chronic aortic diseases of the thoracic and abdominal aorta of the adult. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Aortic Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*, 2014. 35(41): 2873-2926.
54. Nordon, I.M.. Thoracic aortic dissections. In: *Oxford Textbook of Vascular Surgery*. M.M. Thompson, Hrsg.. 2016; Oxford University Press: Großbritannien: 606-611.
55. Mahnken, A.H.. Große Gefäße. In: *Radiologische Diagnostik Abdomen und Thorax*. G.A. Krombach und A.H. Mahnken, Hrsg.. 2015; Georg Thieme Verlag: Stuttgart:195-231.
56. Daily, P.O., et al.. Management of acute aortic dissections. *Ann Thorac Surg*, 1970. 10(3): 237-247.
57. DeBakey, M.E., et al.. SURGICAL MANAGEMENT OF DISSECTING ANEURYSMS OF THE AORTA. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1965. 49: 130-149.
58. Kim, T.H. und H. Litt. Acute Aortic Syndrome. 2015. [Online aus dem Internet] URL: <https://radiologykey.com/acute-aortic-syndrome/> (Letzter Zugriff: 07.06.2018).
59. Gawinecka, J., F. Schonrath und A. von Eckardstein. Acute aortic dissection: pathogenesis, risk factors and diagnosis. *Swiss Med Wkly*, 2017. 147: w14489.
60. Landenhed, M., et al.. Risk profiles for aortic dissection and ruptured or surgically treated aneurysms: a prospective cohort study. *J Am Heart Assoc*, 2015. 4(1): e001513.

61. Barbetseas, J., et al.. Atherosclerosis of the aorta in patients with acute thoracic aortic dissection. *Circ J*, 2008. 72(11): 1773-1776.
62. Strub, G.M., et al.. Extracellular and Intracellular Actions of Sphingosine-1-Phosphate. *Adv Exp Med Biol*, 2010. 688: 141-155.
63. Hannun, Y.A. und L.M. Obeid. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008. 9(2): 139-150.
64. Mendelson, K., T. Evans und T. Hla. Sphingosine 1-phosphate signalling. *Development*, 2014. 141(1): 5-9.
65. Spiegel, S. und S. Milstien. Functions of the multifaceted family of sphingosine kinases and some close relatives. *J Biol Chem*, 2007. 282(4): 2125-2129.
66. Blaho, V.A. und T. Hla. Regulation of mammalian physiology, development, and disease by the sphingosine 1-phosphate and lysophosphatidic acid receptors. *Chem Rev*, 2011. 111(10): 6299-6320.
67. Okajima, F.. Plasma lipoproteins behave as carriers of extracellular sphingosine 1-phosphate: is this an atherogenic mediator or an anti-atherogenic mediator? *Biochim Biophys Acta*, 2002. 1582(1-3): 132-137.
68. Christoffersen, C., et al.. Endothelium-protective sphingosine-1-phosphate provided by HDL-associated apolipoprotein M. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011. 108(23): 9613-9618.
69. Thuy, A.V., et al.. Sphingosine 1-Phosphate in Blood: Function, Metabolism, and Fate. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2014. 34(1): 158-171.
70. Proia, R.L. und T. Hla. Emerging biology of sphingosine-1-phosphate: its role in pathogenesis and therapy. *J Clin Invest*, 2015. 125(4): 1379-1387.
71. Bode, C., et al.. Erythrocytes serve as a reservoir for cellular and extracellular sphingosine 1-phosphate. *J Cell Biochem*, 2010. 109(6): 1232-1243.
72. Venkataraman, K., et al.. Vascular Endothelium As a Contributor of Plasma Sphingosine 1-Phosphate. *Circ Res*, 2008. 102(6): 669-676.
73. Pham, T.H.M., et al.. Lymphatic endothelial cell sphingosine kinase activity is required for lymphocyte egress and lymphatic patterning. *J Exp Med*, 2010. 207(1): 17.
74. Jonnalagadda, D., et al.. Granule-mediated release of sphingosine-1-phosphate by activated platelets. *Biochim Biophys Acta*, 2014. 1841(11): 1581-1589.
75. Obinata, H. und T. Hla. Sphingosine 1-phosphate in coagulation and inflammation. *Semin Immunopathol*, 2012. 34(1): 73-91.
76. Alvarez, S.E., S. Milstien und S. Spiegel. Autocrine and paracrine roles of sphingosine-1-phosphate. *Trends Endocrinol Metab*, 2007. 18(8): 300-307.
77. Van Brocklyn, J.R., et al.. Dual actions of sphingosine-1-phosphate: extracellular through the Gi-coupled receptor Edg-1 and intracellular to regulate proliferation and survival. *J Cell Biol*, 1998. 142(1): 229-240.

78. Rosen, H. und E.J. Goetzl. Sphingosine 1-phosphate and its receptors: an autocrine and paracrine network. *Nat Rev Immunol*, 2005. 5(7): 560-570.
79. Spiegel, S. und S. Milstien. The outs and the ins of sphingosine-1-phosphate in immunity. *Nat Rev Immunol*, 2011. 11(6): 403-415.
80. Maceyka, M., et al.. SPHINGOSINE-1-PHOSPHATE SIGNALING AND ITS ROLE IN DISEASE. *Trends Cell Biol*, 2012. 22(1): 50-60.
81. Patmanathan, S.N., et al.. Mechanisms of sphingosine 1-phosphate receptor signalling in cancer. *Cell Signal*, 2017. 34: 66-75.
82. Brinkmann, V., et al.. Fingolimod (FTY720): discovery and development of an oral drug to treat multiple sclerosis. *Nat Rev Drug Discov*, 2010. 9(11): 883-897.
83. Huang, W.C., et al.. Emerging Role of Sphingosine-1-phosphate in Inflammation, Cancer, and Lymphangiogenesis. *Biomolecules*, 2013. 3(3).
84. Kim, R.H., et al.. Export and functions of sphingosine-1-phosphate. *Biochim Biophys Acta*, 2009. 1791(7): 692-696.
85. Nadro, B., et al.. [The role of apolipoprotein M and sphingosine 1-phosphate axis in the prevention of atherosclerosis]. *Orv Hetil*, 2018. 159(5): 168-175.
86. Chun, J., et al.. International Union of Pharmacology. XXXIV. Lysophospholipid receptor nomenclature. *Pharmacol Rev*, 2002. 54(2): 265-269.
87. Takabe, K., et al.. "Inside-Out" Signaling of Sphingosine-1-Phosphate: Therapeutic Targets. *Pharmacol Rev*, 2008. 60(2): 181-195.
88. Sanchez, T. und T. Hla. Structural and functional characteristics of S1P receptors. *J Cell Biochem*, 2004. 92(5): 913-922.
89. Meyer zu Heringdorf, D. und K.H. Jakobs, Lysophospholipid receptors: signalling, pharmacology and regulation by lysophospholipid metabolism. *Biochim Biophys Acta*, 2007. 1768(4): 923-940.
90. Murakami, A., et al.. Sphingosine 1-phosphate (S1P) regulates vascular contraction via S1P3 receptor: investigation based on a new S1P3 receptor antagonist. *Mol Pharmacol*, 2010. 77(4): 704-713.
91. Kimura, T., et al.. Sphingosine 1-phosphate stimulates proliferation and migration of human endothelial cells possibly through the lipid receptors, Edg-1 and Edg-3. *Biochem J*, 2000. 348 Pt 1: 71-76.
92. Machida, T., et al.. Cellular function and signaling pathways of vascular smooth muscle cells modulated by sphingosine 1-phosphate. *J Pharmacol Sci*, 2016. 132(4): 211-217.
93. Kwon, Y.G., et al.. Sphingosine 1-phosphate protects human umbilical vein endothelial cells from serum-deprived apoptosis by nitric oxide production. *J Biol Chem*, 2001. 276(14): 10627-10633.
94. Igarashi, J. und T. Michel. Sphingosine-1-phosphate and modulation of vascular tone. *Cardiovasc Res*, 2009. 82(2): 212-220.

95. Nofer, J.R., et al.. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. *J Clin Invest*, 2004. 113(4): 569-581.
96. Xiong, Y. und T. Hla, S1P Control of Endothelial Integrity. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2014. 378: 85-105.
97. Ozaki, H., T. Hla und M.J. Lee. Sphingosine-1-phosphate signaling in endothelial activation. *J Atheroscler Thromb*, 2003. 10(3): 125-131.
98. Sanchez, T., et al.. Induction of vascular permeability by the sphingosine-1-phosphate receptor-2 (S1P2R) and its downstream effectors ROCK and PTEN. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007. 27(6): 1312-1318.
99. Takashima, S., et al.. G12/13 and Gq mediate S1P2-induced inhibition of Rac and migration in vascular smooth muscle in a manner dependent on Rho but not Rho kinase. *Cardiovasc Res*, 2008. 79(4): 689-697.
100. Adada, M., et al.. Sphingosine-1-phosphate receptor 2. *Febs j*, 2013. 280(24): 6354-6366.
101. Windh, R.T., et al.. Differential coupling of the sphingosine 1-phosphate receptors Edg-1, Edg-3, and H218/Edg-5 to the G(i), G(q), and G(12) families of heterotrimeric G proteins. *J Biol Chem*, 1999. 274(39): 27351-27358.
102. Takuwa, Y., et al.. Roles of sphingosine-1-phosphate signaling in angiogenesis. *World J Biol Chem*, 2010. 1(10): 298-306.
103. Blaho, V.A. und T. Hla. An update on the biology of sphingosine 1-phosphate receptors. *J Lipid Res*, 2014. 55(8): 1596-1608.
104. Liu, Y., et al.. Edg-1, the G protein-coupled receptor for sphingosine-1-phosphate, is essential for vascular maturation. *J Clin Invest*, 2000. 106(8): 951-961.
105. Kono, M., et al.. The sphingosine-1-phosphate receptors S1P1, S1P2, and S1P3 function coordinately during embryonic angiogenesis. *J Biol Chem*, 2004. 279(28): 29367-29373.
106. Allende, M.L., T. Yamashita und R.L. Proia. G-protein-coupled receptor S1P1 acts within endothelial cells to regulate vascular maturation. *Blood*, 2003. 102(10): 3665-3667.
107. Gaengel, K., et al.. The sphingosine-1-phosphate receptor S1PR1 restricts sprouting angiogenesis by regulating the interplay between VE-cadherin and VEGFR2. *Dev Cell*, 2012. 23(3): 587-599.
108. Wilkerson, B.A. und K.M. Argraves. The role of sphingosine-1-phosphate in endothelial barrier function. *Biochim Biophys Acta*, 2014. 1841(10): 1403-1412.
109. Sanna, M.G., et al.. Enhancement of capillary leakage and restoration of lymphocyte egress by a chiral S1P1 antagonist in vivo. *Nat Chem Biol*, 2006. 2(8): 434-441.
110. Yamamoto, R., et al.. A sphingosine-1-phosphate receptor type 1 agonist, ASP4058, suppresses intracranial aneurysm through promoting endothelial integrity and blocking macrophage transmigration. *Br J Pharmacol*, 2017. 174(13): 2085-2101.

111. Kluk, M.J. und T. Hla. Role of the sphingosine 1-phosphate receptor EDG-1 in vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *Circ Res*, 2001. 89(6): 496-502.
112. Matloubian, M., et al.. Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on S1P receptor 1. *Nature*, 2004. 427(6972): 355-360.
113. Brinkmann, V.. FTY720 (fingolimod) in Multiple Sclerosis: therapeutic effects in the immune and the central nervous system. *Br J Pharmacol*, 2009. 158(5): 1173-1182.
114. Kim, G.S., et al.. Critical role of sphingosine-1-phosphate receptor-2 in the disruption of cerebrovascular integrity in experimental stroke. *Nat Commun*, 2015. 6.
115. Zhang, G., et al.. Critical role of sphingosine-1-phosphate receptor 2 (S1PR2) in acute vascular inflammation. *Blood*, 2013. 122(3): 443-455.
116. Kono, M., et al.. Deafness and stria vascularis defects in S1P2 receptor-null mice. *J Biol Chem*, 2007. 282(14): 10690-10696.
117. Lorenz, J.N., et al.. Vascular dysfunction in S1P2 sphingosine 1-phosphate receptor knockout mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007. 292(1): R440-446.
118. Skoura, A. und T. Hla. Regulation of vascular physiology and pathology by the S1P2 receptor subtype. *Cardiovasc Res*, 2009. 82(2): 221-228.
119. Wamhoff, B.R., et al.. Sphingosine-1-phosphate receptor subtypes differentially regulate smooth muscle cell phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008. 28(8): 1454-1461.
120. Kimura, T., et al.. High-density lipoprotein stimulates endothelial cell migration and survival through sphingosine 1-phosphate and its receptors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003. 23(7): 1283-1288.
121. Waeber, C., N. Blondeau und S. Salomone. Vascular sphingosine-1-phosphate S1P1 and S1P3 receptors. *Drug News Perspect*, 2004. 17(6): 365-382.
122. Garcia, J.G., et al.. Sphingosine 1-phosphate promotes endothelial cell barrier integrity by Edg-dependent cytoskeletal rearrangement. *J Clin Invest*, 2001. 108(5): 689-701.
123. Lucke, S. und B. Levkau. Endothelial functions of sphingosine-1-phosphate. *Cell Physiol Biochem*, 2010. 26(1): 87-96.
124. Singleton, P.A., et al.. Transactivation of sphingosine 1-phosphate receptors is essential for vascular barrier regulation. Novel role for hyaluronan and CD44 receptor family. *J Biol Chem*, 2006. 281(45): 34381-34393.
125. Gon, Y., et al.. S1P3 receptor-induced reorganization of epithelial tight junctions compromises lung barrier integrity and is potentiated by TNF. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005. 102(26): 9270-9275.
126. Nussbaum, C., et al.. Sphingosine-1-phosphate receptor 3 promotes leukocyte rolling by mobilizing endothelial P-selectin. *Nat Commun*, 2015. 6: 6416.

127. Keul, P., et al.. Sphingosine-1-phosphate receptor 3 promotes recruitment of monocyte/macrophages in inflammation and atherosclerosis. *Circ Res*, 2011. 108(3): 314-323.
128. Igarashi, J., S.G. Bernier und T. Michel. Sphingosine 1-phosphate and activation of endothelial nitric-oxide synthase. differential regulation of Akt and MAP kinase pathways by EDG and bradykinin receptors in vascular endothelial cells. *J Biol Chem*, 2001. 276(15): 12420-12426.
129. Morales-Ruiz, M., et al.. Sphingosine 1-phosphate activates Akt, nitric oxide production, and chemotaxis through a Gi protein/phosphoinositide 3-kinase pathway in endothelial cells. *J Biol Chem*, 2001. 276(22): 19672-19677.
130. Salomone, S., et al.. S1P3 receptors mediate the potent constriction of cerebral arteries by sphingosine-1-phosphate. *Eur J Pharmacol*, 2003. 469(1-3): 125-134.
131. Salomone, S., et al.. Analysis of sphingosine 1-phosphate receptors involved in constriction of isolated cerebral arteries with receptor null mice and pharmacological tools. *Br J Pharmacol*, 2008. 153(1): 140-147.
132. Pfaffl, M.W.. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*, 2001. 29(9): e45.
133. Kuivaniemi, H., C.D. Platsoucas und M.D. Tilson. 3rd, Aortic aneurysms: an immune disease with a strong genetic component. *Circulation*, 2008. 117(2): 242-252.
134. Debus, E.S., et al.. S3-Leitlinie zu Screening, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Bauchaortenaneurysmas. 2018. [Online aus dem Internet] URL: [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/004-014l\\_S3\\_Bauchaortenaneurysma\\_2018-08.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/004-014l_S3_Bauchaortenaneurysma_2018-08.pdf) (Letzter Zugriff: 07.07.2018).
135. Kuzmik, G.A., A.X. Sang und J.A. Elefteriades. Natural history of thoracic aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 2012. 56(2): 565-571.
136. Levy, D. und J.K. Le. Aortic Dissection. In: *StatPearls*. 2020: Treasure Island (FL).
137. Jung, B., et al.. Flow-regulated endothelial S1P receptor-1 signaling sustains vascular development. *Dev Cell*, 2012. 23(3): 600-610.
138. Blaho, V.A., et al.. HDL-bound sphingosine 1-phosphate restrains lymphopoiesis and neuroinflammation. *Nature*, 2015. 523(7560): 342-346.
139. Szekanecz, Z., et al.. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and soluble ICAM-1 (sICAM-1) production by cytokine-activated human aortic endothelial cells: a possible role for ICAM-1 and sICAM-1 in atherosclerotic aortic aneurysms. *Clin Exp Immunol*, 1994. 98(2): 337-343.
140. Davis, C.A., 3rd, et al.. Increased ICAM-1 expression in aortic disease. *J Vasc Surg*, 1993. 18(5): 875-880.
141. McDonald, K.K., et al.. Glycocalyx Degradation Induces a Proinflammatory Phenotype and Increased Leukocyte Adhesion in Cultured Endothelial Cells under Flow. *PLoS One*, 2016. 11(12): e0167576.

142. Weigang, E.. Management von Patienten mit Aortendissektion. In: Deutsches Ärzteblatt. 2018: 639-645.
143. Ziganshin, B.A., J. Dumfarth und J.A. Elefteriades. Natural history of Type B aortic dissection: ten tips. *Ann Cardiothorac Surg*, 2014. 3(3): 247-254.
144. Moxon, J.V., et al.. Diagnosis and monitoring of abdominal aortic aneurysm: current status and future prospects. *Curr Probl Cardiol*, 2010. 35(10): 512-548.
145. Koch, A.E., et al.. Human abdominal aortic aneurysms. Immunophenotypic analysis suggesting an immune-mediated response. *Am J Pathol*, 1990. 137(5): 1199-1213.
146. Schwab, S.R., et al.. Lymphocyte sequestration through S1P lyase inhibition and disruption of S1P gradients. *Science*, 2005. 309(5741): 1735-1739.
147. Larena-Avellaneda, A. und E.S. Debus. Aneurysmatische Gefäßerkrankungen: Pathogenese und Klinische Grundlagen. In: Operative und Interventionelle Gefäßmedizin. E.S. Debus und W. Gross-Fengels, Hrsg.. 2012; Springer Verlag: Berlin, Heidelberg: 131-138.
148. Johnsen, S.H., et al.. Atherosclerosis in Abdominal Aortic Aneurysms: A Causal Event or a Process Running in Parallel? The Tromsø; Study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2010. 30(6): 1263-1268.
149. Lopez-Candales, A., et al.. Decreased vascular smooth muscle cell density in medial degeneration of human abdominal aortic aneurysms. *Am J Pathol*, 1997. 150(3): 993-1007.
150. Henderson, E.L., et al.. Death of smooth muscle cells and expression of mediators of apoptosis by T lymphocytes in human abdominal aortic aneurysms. *Circulation*, 1999. 99(1): 96-104.
151. Wolinsky, H. und S. Glagov. Nature of species differences in the medial distribution of aortic vasa vasorum in mammals. *Circ Res*, 1967. 20(4): 409-421.
152. Harter, L.P., et al.. Ultrasonic evaluation of abdominal aortic thrombus. *J Ultrasound Med*, 1982. 1(8): 315-318.
153. Vorp, D.A., et al.. Association of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysm with local hypoxia and wall weakening. *J Vasc Surg*, 2001. 34(2): 291-299.
154. Cunningham, K.S. und A.I. Gotlieb. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis. *Lab Invest*, 2005. 85(1): 9-23.
155. Zhao, J., et al.. Sphingosine-1-phosphate receptor subtype 2 signaling in endothelial senescence-associated functional impairments and inflammation. *Curr Atheroscler Rep*, 2015. 17(5): 504.
156. Bode-Jänisch, S., et al.. Aortic dissecting aneurysms—Histopathological findings. *Forensic Science International*, 2012. 214(1): 13-17.
157. Peterss, S., et al.. Changing Pathology of the Thoracic Aorta From Acute to Chronic Dissection: Literature Review and Insights. *J Am Col Cardiol*, 2016. 68(10): 1054-1065.

158. Deshmane, S.L., et al.. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res*, 2009. 29(6): 313-326.
159. Griendling, K.K., D. Sorescu und M. Ushio-Fukai. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*, 2000. 86(5): 494-501.
160. Tölle, M., et al.. HDL-associated lysosphingolipids inhibit NAD(P)H oxidase-dependent monocyte chemoattractant protein-1 production. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008. 28(8): 1542-1548.
161. Koch, A.E., et al.. Enhanced production of the chemotactic cytokines interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 in human abdominal aortic aneurysms. *Am J Pathol*, 1993. 142(5): 1423-1431.
162. Middleton, R.K., et al.. The pro-inflammatory and chemotactic cytokine microenvironment of the abdominal aortic aneurysm wall: a protein array study. *J Vasc Surg*, 2007. 45(3): 574-580.
163. Hishikawa, K., et al.. Pulsatile stretch stimulates superoxide production and activates nuclear factor-kappa B in human coronary smooth muscle. *Circ Res*, 1997. 81(5): 797-803.
164. Grote, K., et al.. Mechanical stretch enhances mRNA expression and proenzyme release of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) via NAD(P)H oxidase-derived reactive oxygen species. *Circ Res*, 2003. 92(11): e80-6.
165. McCormick, M.L., D. Gavrilu und N.L. Weintraub. Role of oxidative stress in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007. 27(3): 461-469.
166. Tsao, P.S., et al.. Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein-1. *Circulation*, 1997. 96(3): 934-940.
167. Tolle, M., et al.. Immunomodulator FTY720 Induces eNOS-dependent arterial vasodilatation via the lysophospholipid receptor S1P3. *Circ Res*, 2005. 96(8): 913-920.
168. Sun, J., et al.. Endothelium as a Potential Target for Treatment of Abdominal Aortic Aneurysm. *Oxid Med Cell Longev*, 2018. 2018: 6306542.
169. Kuhlencordt, P.J., et al.. Accelerated atherosclerosis, aortic aneurysm formation, and ischemic heart disease in apolipoprotein E/endothelial nitric oxide synthase double-knockout mice. *Circulation*, 2001. 104(4): 448-454.
170. Nofer, J.R., et al.. Suppression of endothelial cell apoptosis by high density lipoproteins (HDL) and HDL-associated lysosphingolipids. *J Biol Chem*, 2001. 276(37): 34480-34485.
171. Ruiz, M., H. Okada und B. Dahlback. HDL-associated ApoM is anti-apoptotic by delivering sphingosine 1-phosphate to S1P1 & S1P3 receptors on vascular endothelium. *Lipids Health Dis*, 2017. 16(1): 36.

## 10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wandschichten der Arterie .....	4
Abbildung 2: Aneurysma-Typen .....	6
Abbildung 3: Modifizierte Crawford Klassifikation.....	7
Abbildung 4: Pathophysiologie des abdominalen Aortenaneurysmas.....	9
Abbildung 5: Laplace-Gesetz .....	10
Abbildung 6: Morphologische Klassifikation der Aortendissektion nach DeBakey und Stanford.....	14
Abbildung 7: S1P-Metabolismus .....	16
Abbildung 8: Signaltransduktion des S1PR1, S1PR2, S1PR3.....	18
Abbildung 9: Lambert-Beer´sches Gesetz.....	27
Abbildung 10: Schematische Darstellung des Kurvenverlaufs eines qPCR-Zyklus .....	29
Abbildung 11: $\Delta$ -Ct-Methode zur relativen Quantifizierung der Zielgenexpression.....	31
Abbildung 12: Prävalenz eines Aneurysmas in den einzelnen Aortenabschnitten.....	34
Abbildung 13: Prävalenz einer Dissektion in den einzelnen Aortenabschnitten.....	34
Abbildung 14: Prävalenz des kombinierten Auftretens eines Aneurysmas und einer Dissektion in den einzelnen Aortenabschnitten.....	35
Abbildung 15: Schematische Darstellung der Datenverteilung auf die Gruppen für die Aorta descendens .....	36
Abbildung 16: Histogramme der Expressionsdaten der S1P-Rezeptoren (S1PR1-3) in den drei Aortenabschnitten.....	38-40
Abbildung 17: Expressionsvergleich eines jeweiligen S1P-Rezeptors (S1PR1-3) zwischen den einzelnen Aortenabschnitten für die Gesamtkohorte und die Gruppe ‚Ø Pathologie‘.....	41
Abbildung 18: Expressionsvergleich des S1PR1, S1PR2 und S1PR3 innerhalb der drei Aortenabschnitte für die Gruppe ‚Ø Pathologie‘ und die Gruppen ‚Pathologie‘, ‚Aneurysma‘ und ‚Dissektion‘.....	42-43
Abbildung 19: Korrelationsanalyse der Expression der S1P-Rezeptoren untereinander innerhalb der einzelnen Aortenabschnitte .....	44
Abbildung 20: Korrelationsanalyse der Expression der einzelnen S1P-Rezeptoren zwischen den Aortenabschnitten .....	45

## 11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Durchschnittliche Normwerte des Aortendurchmessers für die Aorta ascendens, Aorta descendens und Aorta abdominalis (infrarenaler Teil) bei 70jährigen Frauen und Männern .....	2
Tabelle 2: Pathologische Grenzwerte des Aortendurchmessers für die Aorta ascendens, Aorta descendens und Aorta abdominalis (infrarenaler Teil) bei 70jährigen Frauen und Männern .....	5
Tabelle 3: Einteilung der Mediadegeneration .....	11
Tabelle 4: Gruppe von Erkrankungen ‚Akutes Aortensyndrom‘ .....	13
Tabelle 5: Effekte der S1P-Rezeptoren im Herzkreislaufsystem.....	22
Tabelle 6: Chemikalien .....	25
Tabelle 7: Kits .....	25
Tabelle 8: Geräte .....	26
Tabelle 9: Reaktionsansatz für die cDNA-Synthese.....	28
Tabelle 10: Pipettierschema für den qPCR-Reaktionsmix .....	30
Tabelle 11: Primer (qPCR) .....	30
Tabelle 12: Pipettierschema (qPCR) .....	31
Tabelle 13: Protokoll (qPCR).....	31
Tabelle 14: Anzahl der Datensätze in den jeweiligen Gruppen.....	37
Tabelle 15: Einfache lineare Regression mit der S1PR1-Expression als abhängige Variable in den drei Aortenabschnitten für die Gesamtkohorte.....	47
Tabelle 16: Einfache lineare Regression mit der S1PR2-Expression als abhängige Variable in den drei Aortenabschnitten für die Gesamtkohorte.....	48
Tabelle 17: Einfache lineare Regression mit der S1PR3-Expression als abhängige Variable in den drei Aortenabschnitten für die Gesamtkohorte.....	49

## 12 Anhang

Patientennummer	Alter	Geschlecht 0=M 1=F	BMI	AS S1PR1	AS S1PR2	AS S1PR3	DE S1PR1	DE S1PR2	DE S1PR3	AB S1PR1	AB S1PR2	AB S1PR3	AS Aneurysma 0=nein 1=ja	AS Dissektion 0=nein 1=ja	DE Aneurysma 0=nein 1=ja	DE Dissektion 0=nein 1=ja	AB Aneurysma 0=nein 1=ja	AB Dissektion 0=nein 1=ja
1	69	1	25	3,720	0,956	1,566	2,362	-0,515	1,269	2,778	0,714	1,599	0	1	0	1	0	0
2	49	0	28	2,054	-0,263	1,284	-2,706	-2,419	-0,756	-2,306	-3,269	-0,796	0	1	0	1	0	1
3	33	0	29	1,231	-0,336	0,387	2,047	2,071	3,204	1,797	0,994	3,071	0	1	0	1	0	0
4	75	1	22	1,217	-0,339	-0,486	0,114	-0,806	-0,839	2,117	-0,729	0,621	1	0	1	0	1	0
5	75	0	28	2,091	2,584	2,577	-	-	-	3,197	-0,179	1,271	1	0	1	0	1	0
6	53	0	28	0,322	0,390	1,189	1,239	2,328	2,637	1,660	2,971	3,254	0	1	0	0	0	0
7	79	0	16	2,701	0,891	1,624	1,244	-2,166	0,327	3,797	-1,286	1,566	0	0	0	0	1	0
8	82	1	-	-0,549	-2,089	0,397	3,547	4,104	3,807	-1,356	-2,193	0,314	0	1	0	0	0	0
9	65	0	34	-2,126	-1,579	0,847	-1,513	-1,356	-1,093	-1,026	-0,929	1,211	0	1	0	1	0	1
10	80	0	-	2,414	1,731	2,481	2,914	0,367	0,971	3,901	1,101	1,287	1	0	0	0	1	0
11	67	1	18	2,084	0,094	0,861	1,884	0,751	1,877	1,864	-0,916	0,284	0	0	0	0	1	0
12	86	1	-	0,617	-1,039	-0,206	2,324	2,017	3,294	2,514	0,074	2,097	0	1	0	0	0	0
13	47	1	-	-1,816	-1,233	-1,789	1,444	1,094	0,957	0,621	-0,753	1,464	0	1	0	1	0	0
14	83	1	39	2,647	1,527	0,624	2,767	1,461	1,447	2,501	0,927	0,887	0	0	0	0	1	0
15	67	0	27	2,791	1,837	2,091	-4,323	-2,259	-0,699	-0,273	-0,969	1,167	0	1	0	1	0	1
16	73	1	-	2,727	0,464	0,941	0,341	0,354	0,441	2,431	-0,916	0,557	0	1	0	1	0	1
17	76	0	-	-1,999	-1,709	-1,753	-1,539	-1,259	-0,589	-0,406	-1,229	1,041	1	1	0	1	0	1
18	75	0	25	0,544	0,531	1,684	2,824	3,017	2,827	2,657	0,351	0,934	0	1	0	1	0	0
19	72	0	25	3,223	-0,044	1,043	2,763	-0,074	2,183	-1,152	-3,644	-1,322	0	0	0	0	1	0
20	64	1	37	0,848	-2,322	0,138	1,757	-1,889	0,740	0,575	-2,474	-0,862	0	0	1	0	1	0

AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; BMI, Body-Mass-Index; DE, Aorta descendens; F, female; M, male; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor

Patientennummer	Alter	Geschlecht 0=M 1=F	BMI	AS S1PR1	AS S1PR2	AS S1PR3	DE S1PR1	DE S1PR2	DE S1PR3	AB S1PR1	AB S1PR2	AB S1PR3	AS Aneurysma 0=nein 1=ja	AS Dissektion 0=nein 1=ja	DE Aneurysma 0=nein 1=ja	DE Dissektion 0=nein 1=ja	AB Aneurysma 0=nein 1=ja	AB Dissektion 0=nein 1=ja
22	70	0	27	0,678	-2,396	0,816	0,748	-1,059	0,614	0,433	-1,029	0,287	0	0	0	0	1	0
23	72	0	39	1,111	-1,690	1,029	1,433	-1,286	0,566	2,333	-0,578	0,239	0	0	1	0	1	0
24	43	0	-	1,722	-0,415	1,131	2,098	1,748	1,281	2,284	1,411	1,454	0	1	0	1	0	1
25	65	0	30	1,736	-1,322	1,678	1,411	-0,286	1,872	1,379	-1,474	1,124	0	0	0	0	1	0
26	40	0	35	0,263	-2,396	-1,599	2,170	-0,089	1,642	1,876	-0,862	1,787	0	1	0	0	0	0
27	65	0	27	0,963	-2,184	-1,000	0,816	-3,059	-1,837	1,195	-1,059	-0,340	1	0	0	0	0	0
28	86	1	17	-0,152	-2,556	1,208	1,949	-2,556	0,705	2,348	-1,120	0,379	0	0	0	0	1	0
29	58	0	-	0,614	-2,059	-0,201	0,816	-0,644	0,057	2,029	-0,761	0,757	0	1	0	0	0	0
31	79	1	25	2,483	-2,000	-0,474	0,903	-2,322	0,124	0,774	-0,737	1,322	1	0	1	0	0	0
32	75	0	21	0,934	-1,889	1,214	1,098	-1,059	0,832	1,084	-1,644	1,322	1	0	1	0	0	0
33	73	0	20	-3,184	-1,889	0,356	-0,415	-1,556	0,971	0,322	-0,599	0,740	1	1	0	1	0	1
34	71	0	26	0,687	-1,889	0,614	-1,089	-3,474	-0,168	0,485	-2,396	-1,218	0	0	0	0	1	0
37	57	0	22	0,422	-1,252	0,993	-0,074	-0,515	0,986	1,556	-0,322	0,138	0	0	0	0	1	0
38	62	0	34	2,387	0,367	0,496	1,609	-0,943	0,333	1,428	-0,044	0,816	0	0	0	1	0	0
39	91	1	28	0,660	-0,837	-1,120	1,202	-1,556	-1,000	-0,811	-1,358	-1,556	0	0	1	0	1	0
41	71	1	29	2,639	1,787	1,963	0,227	-2,252	0,757	1,417	-1,515	0,251	0	0	1	0	1	0
42	47	0	28	0,903	-0,184	0,911	2,245	0,098	1,091	1,480	-0,916	0,731	1	0	0	0	0	0
43	57	0	-	0,696	-1,089	0,124	0,566	-1,515	-1,152	-0,105	-1,184	-2,474	0	0	0	0	1	0
45	64	1	20	1,208	-1,120	-1,218	-0,644	-1,943	-1,889	0,714	-0,916	-0,340	0	0	0	1	0	1
46	71	1	-	1,021	-1,556	-0,862	0,043	-2,737	-0,889	1,131	-2,000	-0,415	0	1	0	1	0	0
47	68	1	24	2,029	-1,252	0,731	1,163	-1,889	1,077	1,556	-1,786	-0,340	0	0	0	0	1	0
48	77	1	28	1,014	-0,515	-0,120	1,233	-0,494	-0,737	4,244	1,316	1,705	0	1	0	0	0	0

AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; BMI, Body-Mass-Index; DE, Aorta descendens; F, *female*; M, *male*; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor

Patientennummer	Alter	Geschlecht 0=M 1=F	BMI	AS S1PR1	AS S1PR2	AS S1PR3	DE S1PR1	DE S1PR2	DE S1PR3	AB S1PR1	AB S1PR2	AB S1PR3	AS Aneurysma 0=nein 1=ja	AS Dissektion 0=nein 1=ja	DE Aneurysma 0=nein 1=ja	DE Dissektion 0=nein 1=ja	AB Aneurysma 0=nein 1=ja	AB Dissektion 0=nein 1=ja
49	55	0	30	2,844	-1,184	0,623	-3,644	-3,474	0,202	0,585	-1,252	1,281	0	1	0	0	0	0
50	79	1	27	-1,000	-1,889	0,696	0,227	-1,322	0,840	1,575	-1,059	-0,252	0	1	0	1	1	0
51	74	0	31	0,678	-0,644	0,595	-0,105	-2,837	-1,889	1,379	-2,837	0,526	0	1	0	1	0	1
53	67	0	28	1,952	-0,916	0,084	2,954	-0,862	-0,621	0,832	-1,837	-1,120	0	0	0	0	1	0
54	70	0	29	1,111	-0,269	1,124	3,144	-0,761	0,356	2,573	0,202	0,714	0	0	0	0	1	0
55	85	0	23	0,918	-1,786	-0,578	-0,304	-3,059	-0,168	2,053	-1,322	0,856	0	0	0	0	1	0
56	63	0	16	0,595	-1,120	0,367	-1,644	-1,786	-1,943	2,585	-0,358	0,516	0	0	1	0	0	0
57	86	1	26	-1,515	-2,184	-0,286	0,227	-1,556	-0,059	0,782	-1,837	1,118	0	0	0	0	1	0
58	59	0	27	1,475	1,043	1,709	2,674	1,138	1,566	1,949	-1,184	-0,184	0	0	0	0	1	0
59	56	0	32	1,799	-2,184	-1,089	0,880	0,070	0,111	-1,515	-2,120	-1,252	0	1	0	0	0	0
60	64	0	29	2,870	-0,152	1,614	-0,201	-1,152	-0,713	2,021	-0,943	0,757	0	0	0	0	1	0
61	80	0	13	1,848	-0,252	1,251	3,057	-1,029	0,029	3,138	0,566	-0,454	1	0	0	0	1	0
62	74	0	27	-0,136	-1,599	-0,286	1,070	-1,474	-0,234	0,993	-1,000	-0,761	1	0	0	0	1	0
63	53	1	20	0,575	-2,252	1,021	1,782	0,390	1,104	1,104	-2,059	1,379	0	1	0	1	0	1
64	64	0	27	2,373	-1,252	0,029	0,098	-2,474	-1,599	1,275	-1,599	-0,667	0	1	0	1	0	0
65	70	1	20	0,070	-1,599	-1,515	0,642	0,057	-0,690	2,395	-0,269	1,183	0	1	0	0	0	0
66	43	1	23	2,563	-0,014	0,832	-0,578	-1,943	-0,136	1,655	-1,474	-0,029	0	1	0	1	0	1
67	49	1	-	1,345	0,111	0,176	2,963	0,895	1,064	2,658	0,465	0,696	0	1	0	0	0	0
68	59	0	26	3,257	0,575	1,176	3,738	0,782	0,766	3,463	-1,515	-0,644	0	0	0	0	1	0
69	47	0	22	-1,286	-3,184	-2,474	1,422	-0,690	0,546	-1,152	-2,322	-1,515	0	1	0	1	0	1
70	76	0	38	2,084	-1,120	-0,074	0,516	-2,184	1,195	1,214	-3,184	-0,105	0	0	0	0	1	0
71	60	0	21	3,147	-0,690	0,824	2,996	-0,837	0,993	1,163	-1,286	-0,152	0	0	0	0	1	0

AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; BMI, Body-Mass-Index; DE, Aorta descendens; F, *female*; M, *male*; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor

Patientennummer	Alter	Geschlecht 0=M 1=F	BMI	AS S1PR1	AS S1PR2	AS S1PR3	DE S1PR1	DE S1PR2	DE S1PR3	AB S1PR1	AB S1PR2	AB S1PR3	AS Aneurysma 0=nein 1=ja	AS Dissektion 0=nein 1=ja	DE Aneurysma 0=nein 1=ja	DE Dissektion 0=nein 1=ja	AB Aneurysma 0=nein 1=ja	AB Dissektion 0=nein 1=ja
72	88	0	26	1,183	-1,737	-0,377	-1,120	-2,837	-1,889	1,526	-2,000	-0,136	1	0	1	0	0	1
73	82	1	30	-2,184	-2,556	-1,837	-1,029	-3,322	-1,786	2,428	-0,737	1,064	1	1	0	1	0	1
74	76	0	23	-1,786	-1,556	-1,322	-0,515	-3,322	-1,000	1,029	-2,396	-0,415	0	1	0	1	0	0
75	77	0	26	0,604	-1,120	0,176	0,029	-1,000	-0,434	-0,136	-2,644	-1,059	0	0	0	0	1	0
76	60	0	-	1,989	-1,644	0,043	1,799	-0,667	-0,136	0,151	-1,556	-0,074	0	1	0	1	0	0
78	71	1	24	-1,059	-1,599	-1,322	1,848	-0,971	1,956	1,820	-1,322	2,302	1	1	0	0	0	0
80	76	1	41	1,362	-0,556	-0,837	1,811	-1,690	0,239	2,858	-0,340	0,642	0	0	0	0	1	0
82	82	0	26	2,911	-1,644	-0,621	0,367	-2,322	-1,599	-1,218	-5,059	-2,943	0	0	0	0	1	0
83	73	0	28	-1,059	-2,943	-0,761	-1,599	-3,059	-1,218	0,345	-2,943	1,551	1	0	1	0	1	0
84	78	1	41	1,642	-0,136	0,506	0,864	-0,152	-0,322	2,888	-1,358	-0,322	1	0	0	0	1	0
85	86	0	25	1,118	-1,358	-0,218	0,202	-3,184	0,475	1,000	-1,889	-1,474	0	0	0	0	1	0
86	87	0	-	1,202	-1,000	-0,105	0,516	-2,556	-1,474	-1,786	-3,474	-1,786	0	0	0	0	1	0
87	55	1	17	-0,322	-2,644	-0,943	0,971	-1,644	-0,340	0,895	-2,474	-0,916	0	1	0	1	0	1
88	77	1	-	-0,916	-4,059	0,856	1,064	-1,152	-0,105	1,526	-1,322	-0,120	0	0	0	0	1	0
89	85	1	19	0,287	-1,644	-0,837	1,091	-1,120	0,310	2,170	0,287	0,642	0	1	0	1	0	0
90	71	1	32	-2,737	-3,184	-0,761	0,475	-0,761	0,345	0,496	-1,396	0,791	0	1	0	1	0	1
91	86	0	25	0,614	-1,089	-0,786	-0,201	-3,474	-2,556	0,000	-0,837	-0,105	0	0	0	0	1	0
92	56	0	36	2,091	-1,474	-0,396	2,501	-1,786	0,623	3,580	0,824	2,503	0	1	0	1	0	1
93	72	0	29	0,227	-2,000	-0,152	2,797	0,189	1,401	1,807	-2,322	-2,184	0	0	0	0	1	0
95	86	0	21	2,322	0,714	1,208	-0,358	-1,690	-1,120	0,774	-1,218	-0,120	0	0	0	0	1	0
96	76	0	29	1,526	1,233	1,748	0,911	0,401	0,791	2,118	-0,074	0,848	0	0	0	0	1	0

AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; BMI, Body-Mass-Index; DE, Aorta descendens; F, female; M, male; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor

Patientennummer	Alter	Geschlecht 0=M 1=F	BMI	AS S1PR1	AS S1PR2	AS S1PR3	DE S1PR1	DE S1PR2	DE S1PR3	AB S1PR1	AB S1PR2	AB S1PR3	AS Aneurysma 0=nein 1=ja	AS Dissektion 0=nein 1=ja	DE Aneurysma 0=nein 1=ja	DE Dissektion 0=nein 1=ja	AB Aneurysma 0=nein 1=ja	AB Dissektion 0=nein 1=ja
97	64	0	27	3,128	-1,000	0,807	2,891	0,595	1,820	1,911	-3,474	0,731	0	0	0	0	1	0
98	78	0	26	1,281	-2,059	-0,454	0,911	-2,000	-0,105	2,039	-1,943	-0,218	0	0	0	0	1	0
99	74	0	32	0,287	-2,000	-0,837	0,731	-1,184	-1,152	-0,218	-0,916	0,029	0	0	0	0	1	0
100	70	0	23	2,217	-0,184	0,367	2,446	2,915	2,313	1,299	-1,089	-0,494	0	0	0	0	1	0
101	85	1	-	3,014	0,202	1,021	-0,556	-3,644	0,070	2,664	-0,120	0,911	0	0	1	0	0	0
102	77	0	-	1,485	-0,811	0,642	1,098	-0,971	-0,074	0,322	-0,578	0,111	0	0	0	0	1	0
103	48	1	24	-0,201	-1,184	-1,029	-0,234	-0,304	-0,184	-0,599	-2,120	0,660	0	1	0	1	0	1
104	75	0	30	3,276	-0,136	0,556	0,642	-2,252	-0,474	2,595	-0,322	0,824	0	0	0	1	0	1
105	69	0	33	2,230	-0,811	-0,415	2,046	-1,599	-1,396	2,470	-1,556	-0,322	0	0	0	0	1	0
106	72	1	27	1,844	-1,786	-0,667	-0,761	-0,862	-1,152	-	-	-	0	1	1	0	1	0

AB, Aorta abdominalis; AS, Aorta ascendens; BMI, Body-Mass-Index; DE, Aorta descendens; F, *female*; M, *male*; S1PR, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptor

### **13 Danksagung**

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Axel Larena-Avellaneda, danke ich zunächst für die Überlassung des interessanten Dissertationsthemas. Zudem möchte ich mich für die ausdauernde Unterstützung bei der Erstellung dieser Dissertation bedanken, für den regen Austausch und die stets konstruktive Kritik.

Ein besonderer Dank gilt meinem Betreuer, Herrn Dr. Günter Daum, für die stete Unterstützung sowie Hilfs- und Diskussionsbereitschaft. Auch für Rat und Tat zu jeder Zeit und das stets rasche Korrekturlesen möchte ich mich bedanken.

Ein weiterer Dank gilt Herrn Gerhard Schön (Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie, Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf) für die kompetente Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. med. Klaus Püschel und dem Team des Instituts für Rechtsmedizin des Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf für die Durchführung der Sektionen, die Erstellung der Sektionsprotokolle und die Überlassung der Proben.

Weiterhin möchte ich dem Team aus dem Labor für Gefäßmedizin danken, v.a. Astrid Becker und Dr. Markus Geißen für die Einführung in die Laborarbeit, das stets offene Ohr und die gute Stimmung.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern für ihre uneingeschränkte Unterstützung und ihre stets positive Energie mit der sie mir das Medizinstudium und damit auch das Verfassen dieser Dissertation ermöglichten. Meinem Freund danke ich ganz besonders für die unermüdliche Geduld während der Jahre des Studiums und darüber hinaus während des Verfassens dieser Dissertation, mich immer wieder zu motivieren, aber ebenso den Blick auf mich selbst und das Nehmen von Auszeiten nicht zu verlieren. Meinen Schwestern und meinen Freunden/innen, danke ich für die direkte und indirekte Unterstützung, die zum Gelingen dieser Arbeit mit beigetragen hat.

## **14 Lebenslauf**

Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

## **15 Eidesstattliche Erklärung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift:.....