

Aus dem Zentrum für operative Medizin der Universität zu Köln
Klinik und Poliklinik für Gefäßchirurgie, insbesondere vaskuläre
und endovaskuläre Chirurgie

Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. J. S. Brunkwall

Die Wertigkeit von Elastase zur Induktion experimenteller Aortenaneurysmen

Inaugural–Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Thorsten Theis

aus Köln

Promoviert am 23.02.2011

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität zu Köln
Gedruckt: 2011

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. J. Klosterkötter

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. med. J. Heckenkamp

2. Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. med. Th. Wahlers

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe, die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von Herrn Privatdozent Dr. med. J. Heckenkamp erhalten.

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die in Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Köln, den 01.07.2010

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente sind nach entsprechender Anleitung durch Herrn Privatdozent Dr. med. J. Heckenkamp (Chefarzt der Klinik für Gefäßchirurgie, Chirurgisches Zentrum, Marienhospital Osnabrück), von mir persönlich und Herrn cand. med. Lukas Schumacher durchgeführt worden.

Die operativen Eingriffe an den Versuchstieren wurden gemeinsam mit Herrn Privatdozent Dr. med. J. Heckenkamp und Herrn cand. med. Lukas Schumacher durchgeführt.

Danksagung

Herrn Universitätsprofessor Dr. med. J. Brunkwall, Direktor der Klinik und Poliklinik für Gefäßchirurgie danke ich sehr für die Überlassung des Themas dieser Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Privatdozent Dr. med. J. Heckenkamp (Chefarzt der Klinik für Gefäßchirurgie, Marienhospital Osnabrück) für seine ständige Hilfsbereitschaft und die engagierte Betreuung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Herrn Privatdozent Dr. med. J. Fries und Frau Roth (Zentrum für Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie der Universität zu Köln, Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. H. P. Dienes) gilt mein Dank für ihre Hilfe und Einweisung in die Untersuchungsmethoden und Materialbearbeitung.

Herrn Privatdozent Dr. med. J. Fries (Zentrum für Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie der Universität zu Köln, Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. H. P. Dienes) danke ich für seine Beratung und fachkundigen Ratschläge.

Herrn S. Tawadros (Tierlabor der Klinik und Poliklinik für Viszeral- und Gefäßchirurgie der Universität zu Köln, Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. A. H. Hölscher) möchte ich für vorbildliche Tierpflege und viele Ratschläge danken.

Herrn cand. med. Lukas Schumacher danke ich für exzellente Zusammenarbeit.

Außerdem gilt mein Dank allen nicht namentlich genannten Mitarbeitern der Institute und Kliniken der Universität zu Köln, die mir bei den Vorbereitungen und bei der Durchführung dieser Arbeit halfen.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie.

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung	9
1.1 Aneurysmen der abdominalen Aorta	9
1.1.1 Epidemiologie, Ätiologie	9
1.1.2 Pathophysiologie	13
1.2 Tiermodelle zu Induktion von Aortenaneurysmen	21
1.2.1 Atherosklerose und atherosklerotische Regression	21
1.2.2 Genetische Variationen	22
1.2.3 Experimentelle Veränderungen des Metabolismus: Beta-Aminopropionitril, Theophyllin und hormonelle Manipulation	23
1.2.4 Mechanische und chemische Verletzung	25
1.2.5 Hämodynamik	26
1.2.6 Allografts und Xenografts	28
1.2.7 Entzündung	30
1.2.8 Elastase	31
1.3 Fragestellung	34
2. Material und Methoden	35
2.1 Tierexperimenteller Teil	35
2.1.1 Tiermodell	35
2.1.2 Operativer Eingriff	36
2.2 Gruppeneinteilung	38
2.3 Materialgewinnung	39
2.3.1 2. operativer Eingriff	39
2.4 Färbungen	41
2.5 Morphometrie	46
2.6 Statistische Analyse	46
3. Ergebnisse	47
3.1 Histologie	47
3.2 Morphometrie	57
4. Diskussion	62
5. Zusammenfassung	67

6. Literaturverzeichnis	69
7. Erklärung zur Vorabveröffentlichung	80
8. Verzeichnis der Abbildungen	81
9. Lebenslauf	83

Liste der Abkürzungen

BAA	Abdominelles Aortenaneurysma
ACE–Hemmer	<i>Angiotensin converting enzyme</i> –Hemmer
BAA	Bauchaortenaneurysma
cm	Zentimeter
°C	Grad Celsius
D	Tage
EvG	Elastica von Gieson
G	Gramm
H & E	Hämatoxylin & Eosin
kD	Kilodalton
kg	Kilogramm
µm	Mikrometer
M	Meter
mg	Milligramm
min	Minute
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilber
MMP	Matrixmetalloproteinase
U	Unit
Üz	Überlebenszeit

1 Einleitung

1.1 Aneurysmen der abdominalen Aorta

1.1.1 Epidemiologie und Ätiologie

Gefäßerkrankungen stellen heute eine der führenden Todesursachen in den Industrienationen dar. Nach Angaben des deutschen Ärzteblattes litten 1997 in Deutschland ca. 220.000 Personen an einem Bauchaortenaneurysma (BAA). [3]

Die Prävalenz von Aortenaneurysmen ist abhängig von Alter und Geschlecht, so sind Männer ca. 4-mal häufiger betroffen als Frauen. Mit zunehmendem Alter steigt die Prävalenz bei beiden Geschlechtern stetig an.

Ein Aneurysma wird als eine permanente lokalisierte Aufweitung eines Gefäßes um mehr als 50 % des physiologischen Durchmessers definiert.

Für die europäische und amerikanische Bevölkerung ist in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Ethnologie ab einem Durchmesser von über 3 cm von einem Aneurysma zu sprechen. Für Männer wird der physiologische Durchmesser der Aorta im infrarenalen Bereich mit 1,4 – 2,4 cm und für Frauen mit 1,2 – 2,2 cm angegeben. [29, 37, 65, 66, 67, 136]

Die meisten Bauchaortenaneurysmen sind spindelförmig, beginnen unterhalb der Nierenarterien und enden an der Aortenbifurkation, nur rund 5 % betreffen auch den suprarenalen Abschnitt. [99] Als suprarenales BAA bezeichnet man Aneurysmen, welche oberhalb der Nierenarterien lokalisiert sind. Hier muss bei der chirurgischen Therapie zumindest eine Nierenarterie reimplantiert werden. Bei juxtarenalen Aneurysmen besteht aufgrund der Nähe des Aneurysmas zu den Nierenarterien die Notwendigkeit die Gefäßklemme proximal deren Abgänge zu setzen. Obwohl in ca. 25 % der BAA die iliakalen Gefäße mit betroffen sind, sind isolierte Aneurysmen dieser Gefäße sehr selten (< 1 %) [24].

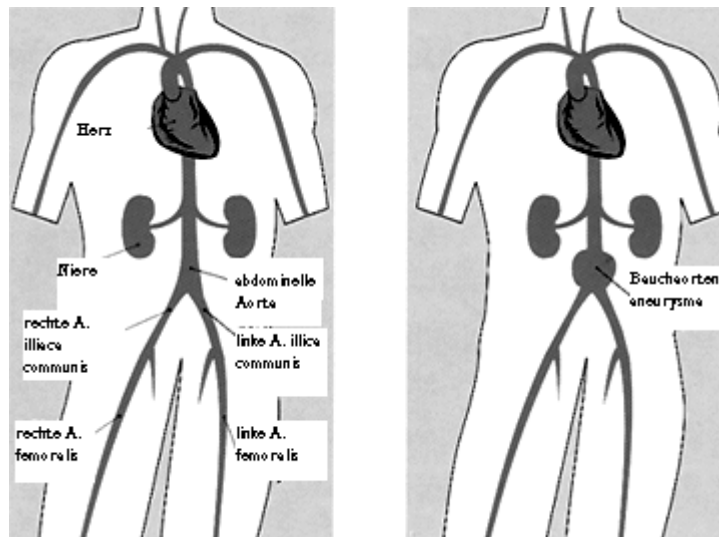


Abb. 1: Typische Lage eines Aortenaneurysmas

Ein BAA ist eine progressive Erkrankung, die lange beschwerdefrei bleibt. Patienten klagen gelegentlich über abdominelle Pulsationen. Gelegentlich kommt es aufgrund des verdrängenden Wachstums und einer duodenalen Kompression zu Nausea oder Erbrechen. Urologische Komplikationen wie Hydronephrose durch ureterale Kompression oder venöse Thrombose durch ilioecavale Kompression treten ebenfalls selten auf.

Aneurysmen bleiben häufig unentdeckt, gegebenenfalls werden sie im Ultraschall des Abdomens zufällig entdeckt, oder erst, wenn es zu einer Ruptur des Aneurysmas kommt. Diese geht mit einer massiven Blutung einher und einer Mortalität von 78 %, drei Viertel dieser Patienten versterben bereits, bevor sie die Klinik erreichen. [27] Rupturiert ein Aneurysma, klagen die Patienten häufig über plötzlich eintretende massive Bauch- und oder Rückenschmerzen, die in die Flanke oder Leistengegend ausstrahlen. In 20 % der Rupturen befindet sich der Defekt ventral, so dass es zu keiner wesentlichen Tamponade der Blutungsstelle kommt und somit die Mortalität höher ist, als bei den restlichen 80 %, bei denen das BAA im dorsalen Bereich rupturiert. Eine Tamponade im Retroperitoneum kann zu einem geringeren Blutverlust führen und einer geringeren zu erwartenden Mortalität. [34]

Die Rupturgefahr eines Aneurysmas steigt mit zunehmendem Durchmesser an. Es scheint jedoch einen Übergangspunkt zwischen 5 und 6 cm zu geben, unter dem nur ein geringes Risiko einer Ruptur besteht, jenseits dieses Durchmessers steigt das Rupturrisiko stetig an. [94] Es gilt als sicher, ein Aneurysma mit einem Durchmesser von weniger als 5,5 cm regelmäßig zu kontrollieren und zu überwachen, erst bei einer Überschreitung dieses Wertes wird eine chirurgische Aneurysmaausschaltung empfohlen. [82, 106]

BAA Durchmesser	< 4 cm	4–5 cm	5–6 cm	6–7 cm	7–8 cm	> 8 cm
Rupturrisiko pro Jahr	0 %	0,5–5 %	3–15 %	10–20 %	20–40 %	30–50 %

Tab. 1: Rupturrisiko eines Aortenaneurysmas in Abhängigkeit vom Durchmesser [94]

Für ein Aneurysma einer bestimmten Größe sind Geschlecht, Hypertonus, COPD, Rauchen und die Wandbelastung voneinander unabhängige Risikofaktoren, die die Gefahr einer Ruptur beeinflussen. Eine positive Familienanamnese und eine hohe Expansionsrate scheinen eine Ruptur zu begünstigen. [33, 45, 137, 140, 147]

Bis heute gibt es lediglich experimentelle therapeutische Ansätze, um in die pathophysiologischen Mechanismen einzugreifen und so die Entstehung und das Wachstum von Aneurysmen zu vermeiden. Vor allem wurde versucht, die Funktion von Matrixmetalloproteinasen (MMPs) zu hemmen. Hier sind vor allem Doxacyclin und *Angiotensin-Converting-Enzyme*-Inhibitoren (ACE-Hemmer) zu nennen. [31, 83, 113] Klinisch konnten sich diese therapeutischen Ansätze jedoch nicht etablieren. Seit den 60er Jahren ist die Therapiestrategie der von Creech [30] beschriebene offene operative Eingriff, bei dem das Aneurysma entfernt und ein Kunststoffinterponat eingefügt wird. Hierbei wird zunächst das Aneurysma freigelegt, die Strombahn proximal und distal des Aneurysmas nach Gabe von Heparin zur Thromboseprophylaxe ausgeklemmt. Der Aneurysmasack wird längs eröffnet, ein vorhandener Thrombus wird entfernt, die in den Aneurysmasack zurückblutenden Lumbalarterien werden

ligiert. Die *Arteria mesenterica inferior* wird gegebenenfalls abgebunden und die Interposition einer Prothese kann durchgeführt werden. Hierbei können aorto–aortale (Rohrprothesen) oder aorto–biiliakale / bifemorale (Y–Prothese) Interponate verwendet werden.

In neuerer Zeit wird der 1991 von Parodi [105] eingeführte endovaskuläre, minimal–invasive Eingriff mittels eines Aortenstents vermehrt angewendet. Bei diesem Eingriff wird der Aortenstent über die Femoralgefäße nach proximal in die Aorta platziert und so das Aneurysma ausgeschaltet. Die endovaskulären Prothesensysteme bestehen aus einem selbstexpandierenden Nickel–Titan–Skelett, die von einer dünnwandigen Polyester– oder Polytetrafluorethylen–(PTFE) Prothese überzogen sind. Am gebräuchlichsten, und in der elektiven Situation fast ausschließlich gebraucht, sind modular aufgebaute Bifurkationsprothesen. Das Hauptmodul besteht aus dem Prothesenkörper mit einem langen und einem zweiten, kurzen Schenkel. Letzterer wird mit einem gesonderten, kontralateralen Schenkel ergänzt. Beide Komponenten sind in getrennten Entladungssystemen verpackt. Sie werden über eine Inzision der *A. femoralis* eingeführt, unter radiologischer Kontrolle in das Aneurysma platziert und expandiert.



Abb. 2: Aorto–biiliakale und Rohrprothese

1.1.2 Pathophysiologie

BAA repräsentieren einen degenerativen Prozess, der in dem Großteil der Fälle atherosklerotisch bedingt ist.

Eine atherosklerotische Ätiologie versagt jedoch bei der Erklärung der alternativen Entwicklung von okklusiven statt aneurysmatischen Veränderungen in der Aorta sich ähnelnder Patienten, dies impliziert eine multifaktorielle Genese der Entstehung von BAA.

Anstatt sie atherosklerotisch zu nennen, werden BAA daher degenerativ oder unspezifisch in der Ätiologie bezeichnet.

Degenerative Aneurysmen machen mehr als 90 % aller infrarenalen Aneurysmen aus. Weniger häufigere Gründe sind Infektionen, zystische Medianekrose, Arteriitis, Trauma, vererbte Bindegewebserkrankungen und Pseudoaneurysmen durch Anastomosendisruption.

Aortenaneurysmen sind bei Kindern Seltenheiten und von unterschiedlicher Ätiologie, dann jedoch meist durch Umbilicalarterienkatheter verursacht. [138]

Die gesunde Aortenwand enthält nicht nur glatte Muskelzellen, sondern auch die wichtigen Matrixproteine Elastin und Kollagen, welche in organisierten, konzentrischen Lagen arrangiert sind, um dem arteriellen Hochdruck zu widerstehen. [56]

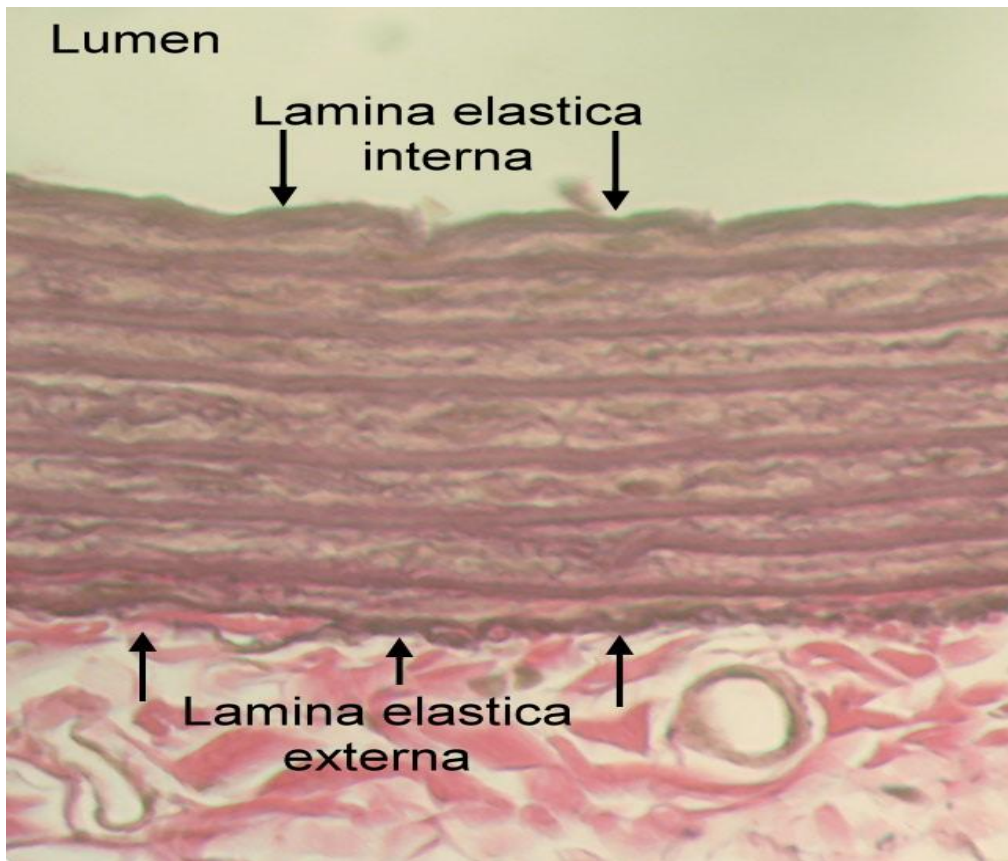


Abb. 3: Ausschnitt mikroskopisches Präparat thorakale Aorta, Elastica van Gieson Färbung
400 fach vergrößert, Ratte

Kollagene sind eine heterogene Gruppe von Proteinen, die etwa ein Viertel der Gesamtproteinmenge des menschlichen Organismus ausmachen. Kollagene sind die wichtigsten Faserbestandteile von Haut, Knochen, Sehnen, Knorpel, Zähnen und Blutgefäßen. Bisher wurden 25 Kollagenpolypeptide beschrieben, die 19 Kollagentypen in der extrazellulären Matrix aufbauen. Kollagenmoleküle weisen einen hohen Anteil an Prolin und Glycin auf, daneben enthalten sie eine Reihe von hydroxylierten Aminosäuren wie Hydroxyprolin und Hydroxylysin, die eine Quervernetzung der Proteine und die Ausbildung einer stabilen Kollagenmatrix ermöglichen. Kollagenfasern bestehen aus drei α -helikalen Proteinketten, von denen jeweils drei Moleküle sich in Form einer Superhelix umeinander winden, und auf diese Weise Fasern ausbilden. Die Synthese von Kollagen ist Ascorbinsäure abhängig. Ein Mangel an Vitamin C resultiert in der Ausbildung des Krankheitsbilds Skorbut. Eine Vielzahl genetischer Erkrankungen beruhen auf Defekten des Kollagens oder der damit assoziierten Proteine, wie das Ehlers–Danlos–Syndrom oder die *Osteogenesis imperfecta*.

Bei dem Kollagen der Gefäße handelt es sich hauptsächlich um den Typ III.
[112]

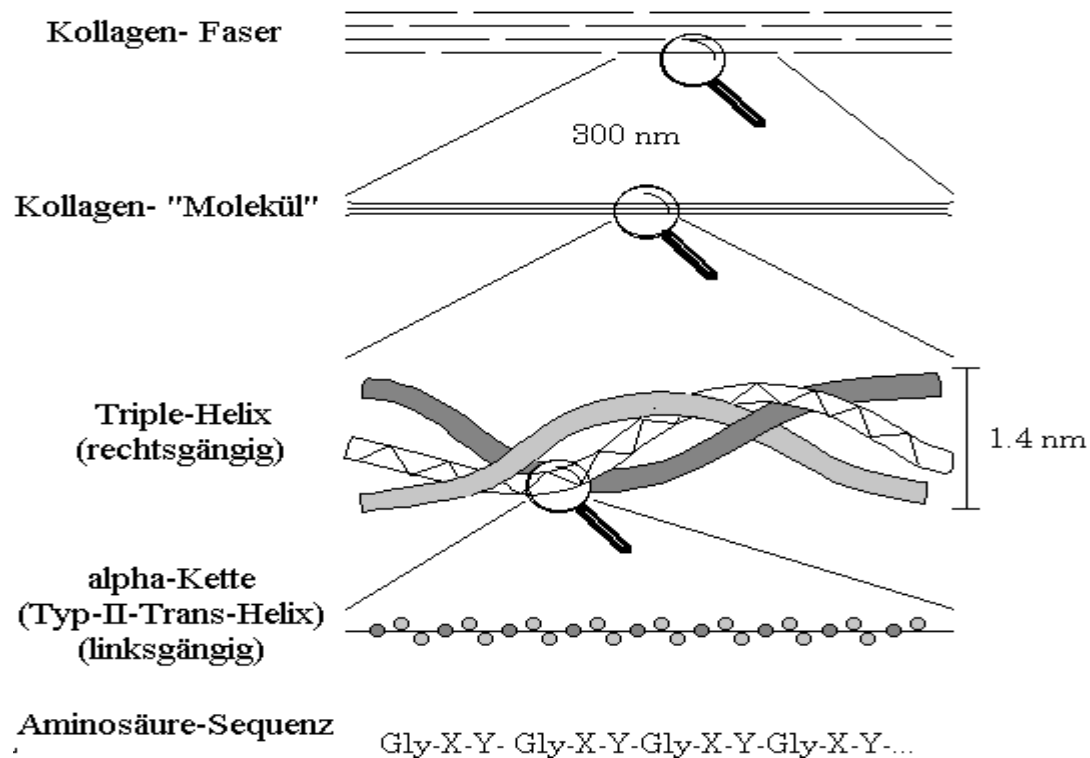


Abb. 4: Molekularer Aufbau von Kollagen, schematische Darstellung

Elastin ist ein unlösliches, quervernetztes Polymer, das aus monomeren Tropoelastin-Untereinheiten besteht. Dieses 70 kD große Protein setzt sich zum großen Teil aus alternierenden Bereichen hydrophober Reste und Quervernetzungs-Domänen zusammen, welche reich an Glycin, Alanin, Valin und Prolin sind und so wesentlich für die elastischen Eigenschaften sind. Elastin kommt zu einem großen Teil in der Lunge, der Haut und in Blutgefäßen vor und verleiht diesen Organen ihre charakteristische Eigenschaft Elastizität. Im histologischen Präparat lässt es sich durch die Elastica-van-Gieson (EvG) Färbung darstellen. Tropoelastin wird von der Zelle in löslicher Form sezerniert und anschließend durch das Enzym Lysiloxidase vernetzt. [112]

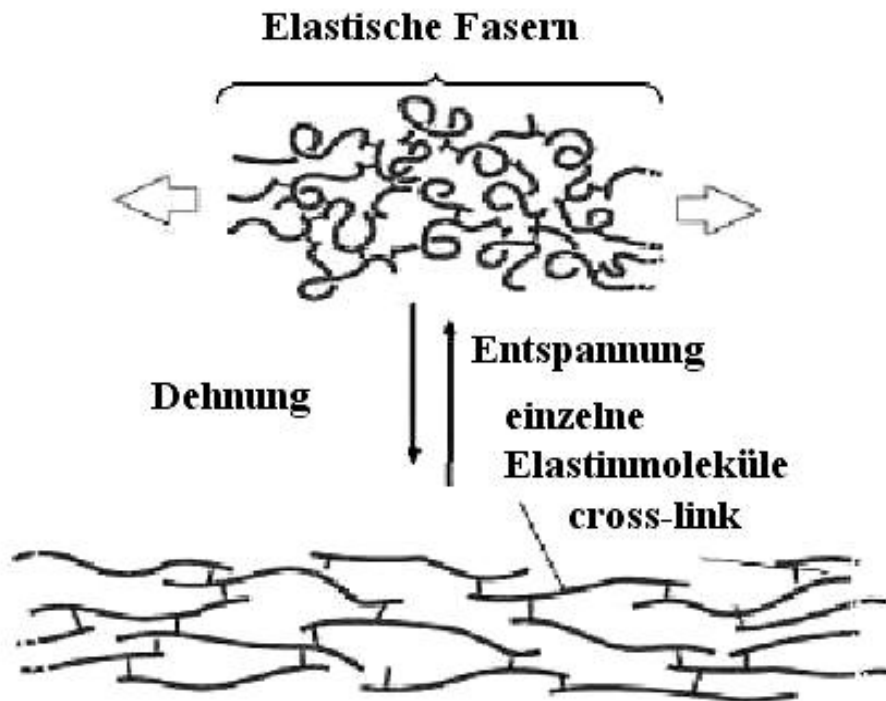


Abb. 5: Schematische Darstellung von elastischen Fasern unter Zug und Entspannung

Durch den Verbund von Elastin und Kollagen werden die Gewebe gleichzeitig elastisch und reißfest, da sich die Eigenschaften der Strukturproteine ergänzen. Elastin ist prinzipiell das lasttragende Element der Aorta, das sich einer Aneurysmabildung entgegen stellt, wohingegen sich Kollagen eher als starkes Sicherheitsnetz verhält, um eine Ruptur eines bereits vorhandenen Aneurysmas zu verhindern. [41]

In der menschlichen, gesunden Aorta sinkt die Anzahl der Elastinlagen in der Media von der proximalen (60 – 80 Lagen) zur infrarenalen Aorta (28 – 32 Lagen), einhergehend mit einer Verdünnung der Media und Verdickung der Intima. [56, 154]

Vergesellschaftet mit dieser Strukturveränderung der Aorta ist eine Reduktion im Kollagen- und Elastingehalt von proximal nach distal. [56]

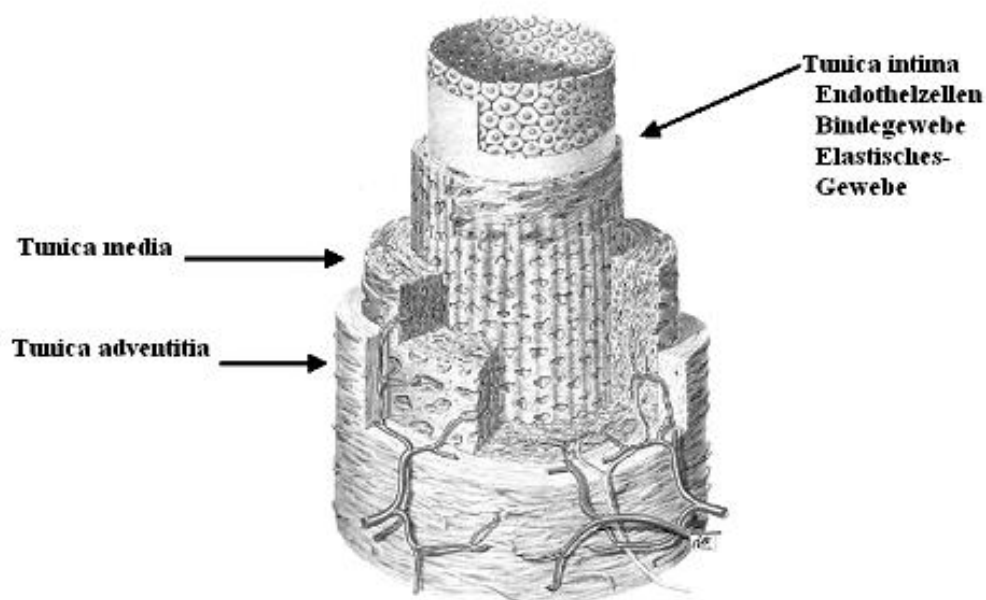


Abb. 6: dreidimensionaler Aufbau einer Arterie

Elastinfragmentierung und –degeneration können im histologischen Präparat von BAA beobachtet werden. Der Elastingehalt sinkt zwischen der supra- und infrarenalen Aorta um 58 % und es ist eine Stelle, an der der Gehalt an Elastin relativ zum Kollagen abnimmt. Dies erklärt die Prädispositionsstelle für Aneurysmen an der infrarenalen Aorta. [153]

Elastin wird in der Aorta eines Erwachsenen nicht mehr produziert, hat jedoch eine Halbwertszeit von 40 – 70 Jahren. Berücksichtigt man die Reduktion im Alter erklärt dies das Erscheinen von BAA vor allem bei älteren Patienten.

Zusätzlich zum reduzierten Elastingehalt in der infrarenalen Aorta wurde die gesteigerte Anfälligkeit für Aneurysmabildung auf hämodynamische, strukturelle und autoimmune Prozesse zurückgeführt. Von der Aortenbifurkation reflektierte Wellen erhöhen die Pulsation und Wandspannung in der distalen weniger complianten, atherosklerotischen Aorta. [92]

Ein autoimmuner Mechanismus für die Entstehung von Aneurysmen wurde diskutiert, da immunoreaktives Protein in der infrarenalen Aorta im Vergleich zur thorakalen auffällig stark exprimiert wird, was die gesteigerte Frequenz der Bildung von Aneurysmen an dieser Stelle erklären kann. [155]

Eine Verringerung der Aortenmedia durch Proteolyse in Aneurysmen impliziert einen Anstieg proteolytischer Enzyme relativ zu deren Inhibitoren. Zahlreiche Berichte haben eine gesteigerte Expression und Aktivität von Matrixmetalloproteinasen (MMP) in der Aneurysmawand gezeigt. [52, 88, 107, 153]

McMillan [88] fand eine dreifach gesteigerte Aktivität von MMP-9 (dem primären elastolytischen Enzym) in Aneurysmen mit einem Durchmesser von 5 – 7cm im Vergleich zu unter 5cm. Diese Arbeitsgruppe beobachtete auch gesteigerte Werte von MMP-9 im Aortengewebe und Serum von Patienten mit BAA im Vergleich zu Patienten mit aortoiliacaler Verschlusskrankheit. [87]

Ailawadi zeigte eine gesteigerte Expression von MMP-9 in der infrarenalen Aorta im Vergleich zum Aortenbogen und der absteigenden thorakalen Aorta. Andere MMPs, Serine Proteasen, wie Plasmin und neutrophile Elastase konnten in Aneurysmagewebe im Vergleich zu gesundem Aortengewebe verstärkt nachgewiesen werden, wohingegen deren Inhibitoren unverändert blieben, was zu einem netto Anstieg an Matrixzerstörung in BAA führt. [1, 52]

Reaktive Sauerstoffarten wie Superoxid konnten in Aneurysmen gesteigert nachgewiesen werden. [90]

Tiermodelle konnten zeigen, dass eine Elastaseperfusion inflammatorische Zellen rekrutiert, welche in einer Aneurysmabildung endet, die durch Behinderung der Einwanderung inflammatorischer Zellen oder Blockade der MMP-Aktivität mit einem Inhibitor wie Doxacyclin verhindert werden kann. [7, 19, 113, 122] Elastaseperfusion in Tiermodellen zeigte einen Anstieg der induzierbaren Nitrat-Oxid-Synthetase-Genexpression und eine gesenkte Expression der antioxidierenden Superoxid Dismutase. [156] Diese Studien zeigen die Wichtigkeit von Proteinaseaktivität in der Entstehung von BAA und die wahrscheinlich inflammatorische Quelle oder Stimulation dieser Enzyme.

Histologische Studien von BAA zeigen nicht nur eine Fragmentierung von Elastinfasern und gesunkenem Elastingehalt, sondern auch ein chronisch entzündliches Infiltrat der Media und Adventitia. Dieses unterscheidet sich von dem Infiltrat der okklusiven Prozesse. Hierbei tritt es vor allem in der Media der Gefäßwand auf. [146] Diese transmurale, entzündliche Reaktion in abdominellen Aortenaneurysmen scheint für die Entstehung von Aneurysmen eine zentrale Bedeutung zu haben, jedoch ist die Ursache nicht gänzlich geklärt und verstanden.

Der Nachweis von *Chlamydia pneumoniae* in der Wand von BAA lässt vermuten, dass eine Infektion mit diesem gewöhnlichen Pathogen eine mögliche Ursache sein könnte. [72, 110] Im Kaninchenmodell konnten Aneurysmen durch *Chlamydia pneumoniae* induziert werden. [141] Die Datenlage ist jedoch bis heute nicht einheitlich.

Die charakteristische Zusammensetzung des entzündlichen Infiltrates beim Menschen in abdominellen Aortenaneurysmen, einschließlich des Vorhandenseins von B-Lymphozyten, Plasmazellen und großen Mengen von Immunglobulinen, legt eine autoimmune Komponente nahe. [21, 142, 153] Es konnte ein 40-kD-Matrixprotein aus der Wand von BAA isoliert werden, das immunreaktiv mit Immunglobulin G ist. [54] Dieses Autoantigen scheint eine kollagenassoziierte Mikrofibrille zu sein, die *aortic-aneurysm-antigenic-protein* (AAP-40) genannt wurde, und auffällig häufig in der Wand von Aneurysmen zu finden ist. [155]

AAP-40 hat Ähnlichkeiten in der Aminosäuresequenz mit *Treponema pallidum* und Zytomegalievirus, also Mikroorganismen die bekannterweise mit Aneurysmen assoziiert sind. [103]

Diese Ähnlichkeit erhöht die Möglichkeit, dass Aneurysmen bei diesen Infektionen aus einer Immunantwort gegen das Pathogen resultieren, die gebildeten Antikörper sich dann aber auch gegen ein körpereigenes Protein in der Aortenwand richten. Ein Konzept, welches als *molecular mimicry* (Molekulare Nachahmung) bekannt ist.

Die mikrofibrilläre Einheit ist als wichtig für die Verhinderung eines BAA bekannt. Ist diese mikrofibrilläre Einheit gestört, wie es bei dem Marfan-Syndrom der Fall ist, kommt es aufgrund des defekten Fibrillins zu einer Aneurysmaformation. [36]

Eine Vielzahl von Studien hat auf eine familiäre Häufung von BAA hingewiesen, welche in 15 – 25 % der Patienten, die an einem BAA operiert werden, beobachtet werden kann. [33, 71, 147, 148] Autosomal dominante–, autosomal rezessive– und autosomal dominante Erbgänge mit inkompletter Penetranz konnten gezeigt werden. [79]

Obwohl die genetische Komponente bei der Entstehung von BAA schwer zu definieren ist, scheint es eine multifaktoriell durch genetische und umweltbedingte Faktoren beeinflusste Erkrankung zu sein. [79] Auch eine genetische Basis für eine autoimmune Manifestation wurde beschrieben. [142] Potenziell anfällige Allele für die Entstehung von BAA einschließlich des *DR-β1 major histocompatibility locus* konnten identifiziert werden. [142]

Diese Gene erscheinen nur selten in der nordamerikanischen farbigen Bevölkerung, konnten jedoch bei allen farbigen Patienten mit Aneurysma gefunden werden. [142] Diese DR-β1 Allele wurden in 75 – 100 % der weißen Patienten mit BAA gefunden, abhängig von der benötigten Übereinstimmung. Der *DR-β1 major histocompatibility locus* scheint eine genetische Ursache für entzündliche BAA zu sein. [119]

Die vielfältigen Ursachen der Erkrankung sind bis heute noch nicht zusammenhängend geklärt, viele unterschiedliche Faktoren haben einen wesentlichen Einfluss auf die Entwicklung eines Aneurysmas. Im Vordergrund steht eine Matrixveränderung durch eine Imbalance zwischen Bildung und Abbau von Elastin und Kollagen. Es kommt zu einer Invasion von Entzündungszellen in die Gefäßwand und einer Matrixdegeneration. Es entsteht ein Ungleichgewicht zwischen Proteinasen und deren Inhibitoren. [9, 43, 127]

Insbesondere sind die Matrixmetalloproteinasen (MMP)–2, MMP–9 und MMP–12 in aneurysmatisch veränderten Gefäßen hochreguliert und führen so zu einer Fragmentierung wichtiger Matrixkomponenten. Gesichert ist, dass es zu einer Strukturänderung des Elastins im Sinne einer Fragmentierung kommt und der Gesamtgehalt an Elastin in der Gefäßwand bei der Expansion eines Aneurysmas abnimmt. Auch kommen fragmentierte Kollagenfibrillen vor, wobei der Gesamtgehalt an Kollagen jedoch nicht abnimmt. [13]

1.2 Tiermodelle zur Induktion von Aneurysmen

Um die Expansion und die Ruptur von Aneurysmen besser zu verstehen, bedarf es einem reproduzierbarem *in vivo* Modell. Mehrere dieser Modelle wurden entwickelt, die sich auf

1. Atherosklerose
2. genetische Variationen
3. experimentelle Abänderungen des Metabolismus
4. mechanische oder chemische Verletzungen
5. hämodynamische Faktoren
6. Allografts und Xenografts
7. Induktion einer Entzündung
8. Infusion von Elastase beziehen bzw. derer bedienen.

Diese Modelle werden im Folgenden näher beleuchtet.

1.2.1 Atherosklerose und atherosklerotische Regression

Aneurysmen können spontan in atherosklerotischen Tiermodellen eintreten, dies ist jedoch eher ungewöhnlich. In einer großen Versuchsreihe, entwickelten nur 1,5 % der Versuchstiere, in diesem Falle Affen, Aneurysmen. Diese beinhalteten Dissektion, fusiforme und sacculäre Läsionen der *Arteria carotis* oder Aorta. [16] Fusiforme und sacculäre Aneurysmen wurden nur in Tieren gefunden, die mit einer atherosklerose-fördernden Diät gefüttert wurden, wohingegen dissezierende Aneurysmen sowohl in Tieren mit normalem Cholesterinspiegel, als auch in Tieren mit erhöhtem Cholesterinspiegel auftraten. [139]

Zarins und Glagov [162] postulieren, dass Aneurysmen durch die Degeneration der Gefäßwand als Resultat der Atherosklerose verursacht werden. Unter einigen Bedingungen führen atherosklerotische Läsionen zu einer Gefäßokklusion, wohingegen bei anderen Bedingungen die atherosklerotischen Läsionen zur Ausdünnung der Media führen und somit Aneurysmen verursachen.

In einem Experiment von Zarins und Kollegen [163] wurden Cynomoglus und Rhesus Affen mit einer Atherosklerose-fördernden-Diät gefüttert. Nach 6 bis 12 Monaten wurde die Diät durch eine Atherosklerose-regressions-Diät ersetzt. Bei Regression der Atherosklerose entwickelten 13 % der Cynomoglus und 1 % der Rhesus Affen Aneurysmen. [164]

Tilson und Stansil [143] bieten einen kontrastreichen Blick durch ihre Studie an 100 aufeinander folgende Patienten, die ein Aortentransplantat erhielten. Sie zeigten, dass Patienten mit Aneurysmen und okklusiven Erkrankungen häufig unterschiedlichen Alters und Geschlechts sind und unterschiedliche Langzeitprognosen haben. Die Autoren postulieren, dass Aneurysmen aus einem Prozess resultieren, der sich von dem der Atherosklerose unterscheidet.

1.2.2 Genetische Variationen

Die *Blotchy-Maus* entwickelt genetisch determiniert Aneurysmen. Der genetische Defekt resultiert aus Abnormitäten des X-Chromosoms und verursacht Defekte im Bindegewebe, der Hautfarbe und der neurologischen Funktionen. Der zu Grunde liegende Defekt beruht auf einer Abnormalität des Kupfer-Stoffwechsels. [68]

Kupfer ist essenziell für die Lysyl-Oxidase-Aktivität, einem Enzym, das die Verknüpfung von Elastin und Kollagen katalysiert. [46] Kupfer ist auch für die Tyrosinkinase essenziell, sie ist in die Synthese von Melanin involviert, daher resultiert die veränderte Hautfarbe. Zudem ist Kupfer essenziell für das Enzym Dopamin-Beta-Hydrolase, welches wichtig für die Synthese von Neurotransmittern ist. Der Defekt der *Blotchy-Maus* ähnelt dem des *Menke-kinky-hair-syndrome / Trichopoliodystrophie* beim Menschen, eine Erkrankung, bei der die Lamina elastica interna fragmentiert ist [32, 149] und die Hirn-, Viszeral- und Extremitätengefäße elongiert und verschlungen sind. Die Aneurysmen der *Blotchy-Maus* sind fusiform und werden häufig in der thorakalen Aorta gefunden, können aber auch in anderen Bereichen der Aorta auftreten. [6] In der Aortenmedia dieser Tiere färbt sich nur spärlich Elastin, zudem enthält sie abnorme glatte Muskelzellen. [22] Die Haut der *blotchy-Maus* zeigt eine reduzierte Festigkeit. [42] Kupferentzug bei Hühnern führte zu

ähnlichen Bindegewebsschwächen. [97] Die Behandlung der *Blotchy-Maus* mit Propanolol konnte die Entwicklung von Aneurysmen aufhalten [20] und erhöhte die Konzentration nicht-kollagenen Bindegewebes in der Wand. [23] Propanolol senkt auch den Blutdruck, es resultieren hämodynamisch günstige Eigenschaften durch dieses Medikament, und es gibt Hinweise darauf, dass Propanolol die Verknüpfung zwischen Kollagen und Elastin erhöht. [17] Für einen Zeitraum schien Kupfermangel oder veränderter Kupfermetabolismus viel versprechend zu sein, die herabgesetzte Spannungskraft des Elastins und die Entwicklung von Aneurysmen beim Menschen zu erklären, es konnte jedoch nicht gezeigt werden, dass dies eine beim Menschen wesentliche Rolle spielt. [4, 120, 129] Des Weiteren wird berichtet, dass bei Meerschweinchen, die unter Kupfermangel lebten, eine erhöhte Produktion von Elastin und Kollagen nachgewiesen werden konnte. [63]

1.2.3 Experimentelle Veränderungen des Metabolismus: Beta-Aminopropionitril, Theophyllin und hormonelle Manipulationen

Eine weitere experimentelle Methode Aneurysmen auszulösen, ist die absichtliche Unterbrechung der normalen Synthese des Bindegewebes in der Arterienwand. Ein einzigartiges Beispiel ist die Entstehung von *Lathyrismus*. Diese Erkrankung ist vergesellschaftet mit Skelettdeformitäten [47] und konnte bei Tieren durch Fütterung mit Kichererbsen-/ Platterbsen- (*Lathyrus sativus*) Futter herbei geführt werden. Das aktive Agens dieses Futters ist Beta-Aminopropionitril (BAPN). [128] Die Fütterung der Tiere mit diesem Futtermittel bewirkte eine aneurysmatische Aufdehnung der Aorta bis hin zur spontanen Aortenruptur. [114] Dies trat in 8 – 36 % der mit BAPN-gefütterten Tiere auf, abhängig von der Aminosäuremischung der Diät. [80] In anderen Experimenten wurden Versuchstiere mit BAPN, Dioxycorticosteron und Salz gefüttert, um eine Hypertonie zu erzeugen. Bei Ligatur einer *Arteria carotis* entwickelten 14 % dieser Tiere sakkuläre Hirnaneurysmen. [60, 61, 62]

Defekte des Bindegewebes wurden mit anderen Veränderungen im Aminosäurestoffwechsel beobachtet. Kollagenlösungen, die Homocystein enthielten, versagten einen unlöslichen Kollagenniederschlag auszulösen. [73]

Sie schwächten die Gefäßwand, und bei Tieren, die mit Cystamin gefüttert wurden, unterlagen die elastischen Fasern einer Degeneration mit der Entwicklung von Aortenaneurysmen. [70] Versuchstiere, hier Truthahnarten, entwickelten Aneurysmen mit Ruptur von dissezierenden Aortenaneurysmen. [10, 55, 89] Hier zeigte sich, dass eine Dissektion meist dort auftrat, wo ein Lipidplaque vorhanden war. [55] Wurden diese Tiere mit BAPN gefüttert stieg das Risiko einer Ruptur an. [11] Sowohl Monoaminoxidase-Inhibitoren [85] als auch Hydralazin [132] verstärkten die genetischen Effekte von BAPN. Die Mortalitätsrate von 24 % nach BAPN Verfütterung stieg auf 91 %, wenn Versuchstiere mit BAPN und Hydralazin gefüttert wurden. Hydralazin erhöht nicht die Herzfrequenz, sondern senkt den systolischen und diastolischen Druck. Hydralazin akkumuliert in der Aorten Media [91], wo es wahrscheinlich mit Aldehydgruppen des Kollagens reagiert. [108] Die elastische Eigenschaft von Kollagenfibrillen ist reduziert, wenn Kollagen mit Hydralazin inkubiert wird. [78] Im Gegensatz dazu reduzieren Propanolol und Reserpin die Gefahr einer Aortenruptur. [131, 132, 133] Die Mortalität von mit BAPN und Hydralazin gefütterten Truthähnen konnte durch eine Behandlung mit Propanolol oder Reserpin gesenkt werden. Propanolol senkt den Blutdruck und erhöht die Verknüpfung von Kollagen und Elastin. [17, 133] Reserpin reduziert die Herzfrequenz und den arteriellen Druck, erhöht aber nicht die Kollagen–Elastin–Verknüpfung. [133]

Theophyllin induzierte bei Hühnern Aortenaneurysmen, wenn diese *in utero* mit diesem Wirkstoff exponiert wurden. [50, 69, 160] Diese Entstehung scheint durch die Wirkung von Theophyllin auf die zyklische Adenosin-3´5´-monophosphatase (AMP) bedingt zu sein. Intrazelluläres Theophyllin erhöht die AMP-Konzentration und ist mit einer Inhibition der mitotischen Zellteilung vergesellschaftet. [35, 77] Histologische Präparate von Hühnern nach Theophyllinexposition *in utero* zeigten eine Verdünnung der Aortenmedia und Störungen der Elastin- und Kollagen-Fasern in der Gefäßwand.

Eine Vielzahl von Steroiden kann Aortenaneurysmen auslösen. Hamster, die mit Cortisonacetat [134] oder antioovulatorischen Progesteronen [28] behandelt wurden, *Blotchy-Mäuse* behandelt mit Hydrocortison [121] und Puten, behandelt mit Diethylstilbesterol, zeigten alle dissezierende Aortenaneurysmen. Einige davon mit spontaner Ruptur. [14]

1.2.4 Mechanische und chemische Verletzung

Eine mechanische oder chemische Zerstörung der Arterienwand wurde genutzt, um experimentelle Aortenaneurysmen *in vivo* zu induzieren. Ein Venenpatch, um eine absichtliche Arteriotomie abzudecken, führte zu einer experimentellen Aneurysmaformation. [15, 48] Ähnliche chirurgische Eingriffe wurden genutzt, um experimentelle Aneurysmen zu induzieren. Dabei konnten drei verschiedene Arten von Aortendissektionen verursacht werden. [96, 104, 135, 161] In einem Experiment wurde durch die Insufflation von CO₂ in die thorakale Aortenwand ein zweites Lumen geschaffen. Ein Intimaleck wurde durch Exzision eines kleinen Stückes Intima geschaffen. Der Grad der Dissektion konnte erhöht werden, indem man den systemischen Bluthochdruck erhöhte. Dieses Modell resultierte in einer Dissektion, jedoch nicht in einem echten Aneurysma. [104]

Die intramurale Gabe von Azetrizolat (monomeres jodhaltiges Kontrastmittel) induzierte nach drei Wochen Aneurysmen. Diese Technik induzierte intramurale Blutungen zwischen den elastischen Lamellen, mit Zerstörung des Bindegewebes der Gefäßwand und Ausdünnung der Media. Die Aneurysmen persistierten, und es zeigten sich keine Anhaltspunkte für eine Regeneration.

In einem weiteren Modell wurde eine cryogene Sonde genutzt, um eine vollständige Erfrierung der Gefäßwand zu erreichen. Die histologische Aufarbeitung dieser Gewebe zeigte eine Proliferation subendothelialer Zellen, welche für eine Reparatur der Gefäßwand nach 6 Wochen verantwortlich waren. [135]

In einem anderen Modell wurde ein mikrochirurgischer CO–Laser genutzt, um einen Defekt in die *A. carotis communis* zu brennen. Die Adventitia wurde dann über dem Defekt verschweißt, um die Gefäßwand zu reparieren. Die überlebenden Tiere entwickelten an dieser Stelle ein Aneurysma. [161]

Eine chirurgische Inzision wurde auch genutzt, um eine lokale Arteriotomie zu produzieren, welche dann mit einem Laser versiegelt wurde. Auch dies führte zur Entstehung von Aneurysmen. [5] Die Größe der Aneurysmen korrelierte mit der Höhe des Blutdruckes der Tiere. [117] Wurde diese Art der Verletzung an der Aortenbifurkation von Ratten durchgeführt, zeigten sich sakkuläre Aneurysmen, ähnlich derer aus dem cerebralen Flussgebiet. [118] Ein laterales

Aneurysma konnte durch einen longitudinalen Schnitt von 2 – 4 mm in der Länge und darauf folgendem Verschluss mit *Kodak methyl-2-cyanoacrylate* (Eastman 910) Zement erreicht werden. Die meisten dieser so behandelten Tiere entwickelten uniforme oder zylindrische Aneurysmen. Einige dieser Aneurysmen stellten sich angiographisch als Divertikel oder Pseudoaneurysmen dar. [145] Eine Vielzahl von toxischen Substanzen wurde in die Wand der Aorta oder Gefäße des Hirnkreislaufs injiziert, um lokale Aneurysmen zu induzieren. [84, 150]

Zu diesen Substanzen gehörten hypertone und Isotone Kochsalzlösung, Hyaluronidase, Natrium-Morrhuat, Plasmozid und *nitrogen mustard* (Stickstoff-Lostverbindung). Hypertone Kochsalzlösung und *nitrogen mustard* stellten sich als die wirksamsten heraus. Eine weitere Methode um experimentelle Aneurysmen zu erzielen, ist die Applikation graduierter zerstörender Kräfte. Die thorakale Aorta von Schweinen wurde graduierter Zerstörung unterzogen. [165] Die Aorta dieser Tiere enthält normalerweise ca. 75 elastische Lamellen. Wenn 35 dieser Lamellen durch externe graduierte Kraft zerstört wurden, indem die Gefäße gequetscht wurden, wurden diese Gefäße aneurysmatisch. Die restlichen 40 Lamellen sind einer größeren Umfangsspannung unterworfen, ansteigend von 1316 dynes/cm/Lamelle in der normalen Aorta bis 4087 dynes/cm/Lamelle im aneurysmatischen Gefäß.[165]

1.2.5 Hämodynamik

Veränderungen des Blutflusses können Gefäßausweitungen bewirken. Dies manifestiert sich häufig in poststenotischen Aufweitungen, so wie sie in arteriovenösen Fisteln auftreten. Halstead [58] verengte die unbenannte Arterie eines Patienten, um ein Aneurysma der *Arteria subclavia* zu behandeln. Vier Jahre später hatte sich die Arterie distal der Region der Einengung aufgeweitet. Poststenotische Aufweitung wird häufig beim *Thoracic-Outlet-Syndrom* bei Vorhandensein einer zervikalen Rippe beobachtet. Es wird auch bei der Aortenisthmusstenose und in anderen Gefäßen mit dauerhafter, partieller Einengung eines Gefäßes beobachtet. Gefäße, die poststenotisch dilatiert sind, können sich in echte Aneurysmen entwickeln, und die histologische

Aufarbeitung zeigt eine Fragmentierung der elastischen Lamellen. [144] Fünf mechanische Faktoren werden für poststenotische Dilatation beschrieben. [38] Diese sind Stase, erhöhter Druck, Kavitation, Turbulenzen und angehobene bzw. fluktuierende Scherkräfte. Eine Bewertung der veröffentlichten Daten zeigt jedoch, dass nur Turbulenzen und Scherkräfte für die Entstehung von poststenotischen Erweiterungen ursächlich sind. [38] Turbulenzen treten vor allem am Ausgang der Stenose auf und sie sind verbunden mit Vibrationen der Gefäßwand. Experimentelle Analysen zeigen *in vitro* Gefäßaufweitungen bei einer Applikation von Vibrationen mit 25–30 Hz, wohingegen Frequenzen von 80 bis 1500 Hz keinen Effekt haben. Gefäße von Patienten unter 44 Jahren antworten eher auf niedrige Frequenzen, wo hingegen die Gefäße älterer Patienten bei höheren Frequenzen dilatieren. [123] Dies scheint ein physikalisches Phänomen zu sein, da flüssigkeitsgefüllte *Penrose*–Drainagen auch dilatierten, wenn sie einer Frequenz von 90 Hz ausgesetzt wurden.[25] Die durch Resonanz beeinflussten *in vivo* Vibrationen [86] verursachten die poststenotische Aufweitung und letztendlich die Formation eines Aneurysmas. Ein weiterer möglicher Grund für poststenotische Aufweitung sind abnorme Scherkräfte an der Gefäßwand verursacht durch den veränderten Blutfluss. Flussmessungen durch Stenosen zeigten verstärkte Scherkräfte an und jenseits des Auslasses. [75, 124] Experimentelle Studien zeigten, dass der Flussstrahl in mehrere Flusslamellen gebrochen wurde und die Scherkräfte hinter der Stenose mehr als das achtfache größer waren. [98] Fluktuierende Scherkräfte waren für die Dilatation von Gefäßen verantwortlich. Eine vergleichbare Situation betrifft den Fall eines, durch einen atherosklerotisch Plaque eingeengten Gefäßes, bei dem das Kaliber des Gefäßes durch die Größe der Scherkräfte des fließenden Blutes generiert wurde.

1.2.6 Allografts und Xenografts

Es existieren Studien, bei denen die infrarenale Aorta zwischen hypertensiven und normotensiven Ratten transplantiert wurden.[111] Die Durchmesser der Transplantate wurden mittels Magnetresonanztomographie (MRT) gemessen und direkte Messungen wurden am Ende der Versuche durchgeführt. Kontrolltransplantate behielten ihren ursprünglichen Durchmesser und ihre normale zelluläre und histologische Struktur. In hypertensive Ratten transplantierte Allografts entwickelten eine aneurysmatische Dilatation. Dies trat nicht bei Allografts von hypertensiven Ratten, die in normotensive Ratten transplantiert wurden ein. Der endgültige Transplantat-Durchmesser bei hypertensiven Ratten, die mit antihypertensiven Substanzen behandelt wurden, war ähnlich dem der unbehandelten hypertensiven Ratten. Alle Transplantate entwickelten inflammatorische Zellinfiltrate mit Verlust glatter Muskelzellen der Media. [111] Eine Verstärkung der Antikörper-Antwort beschleunigte die aneurysmatische Veränderung bei hypertensiven Ratten, bei normotensiven Ratten war der Effekt nicht zu beobachten. Es zeigte sich, dass in diesem Modell die immunologische Antwort wesentlich wichtiger für die Entstehung von Aneurysmen war, als eine Hypertonie. [111]

Andere Studien untersuchten die Transplantation von Meerschwein-zu-Ratte-Xenografts. [2] Dezellularisierte Grafts wurden mit glatten-Muskelzellen aus Fischer 344 Ratten besiedelt und retroviral mit Ratten-Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-Gen-1 (PAI-1) oder Kontroll-Vektor ohne Gen transduziert. Dabei wurden glatte-muskelzellhaltige Lösungen hergestellt, indem Aorten enzymatisch mit Kollagenase Typ I, Elastase, Trypsin-Inhibitor und Serum-Albumin behandelt wurden. Diese glatte Muskelzell-Lösung wurde mit dem entsprechenden Gen-tragenden Vektor inkubiert. Die zu transplantierenden Grafts wurden durch eine Behandlung in einer *sodium dodecyl sulfate*-Lösung (SDS-Lösung) dezellularisiert und transplantiert. Die transplantierten Grafts wurden dann über einen Polyethylen Katheter mit den gen-tragenden glatte-Muskelzellen besiedelt. Kontroll-Grafts blieben unbesiedelt. Alle nicht besiedelten Grafts und 40 % der besiedelten Grafts ohne Gen rupturierten 4 bis 14 Tage nach der Transplantation. Die Transplantate, die nicht rupturierten, waren aneurysmatisch. Keiner der besiedelten Grafts mit dem PAI-1 Gen

rupturierte, war aneurysmatisch oder zeigte eine Zerstörung des Elastins. Die Durchführung einer quantitativen Zymography zeigte zudem eine abgesenkte Matrixmetalloproteinase-9-Aktivität (MMP) und verminderte 28 kD Caseinase-Aktivität.

1.2.7 Entzündung

Aneurysmen der *Arteria carotis communis* konnten bei Kaninchen durch Inkubation mit einer 0,5 M Kalziumchlorid-Lösung ausgelöst werden. [49] Der Durchmesser der Arterien stieg innerhalb von 21 Tage um 60 % an. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten fokale Intima-Schäden. Leukozyten und Plättchen waren adhärent an den beschädigten Stellen des Endothels und der Lamina elastica. Nach 7 Tagen zeigte sich ein Infiltrat der Media und Adventitia, bestehend aus Polymorphkernigen-Zellen, Lymphozyten und Monozyten. Nach drei Wochen zeigte die Färbung einen Mangel an Elastin und die Lamina Elastica Interna konnte nicht aufgefunden werden. Kalzium-Elastin-Komplexe, umgeben von massiven entzündlichen Reaktionen, waren sichtbar. Diese bestanden aus Entzündungszellen, einschließlich Plasmazellen und Riesenzellen. Nach 6 – 12 Wochen beschränkte sich der entzündliche Prozess auf die Media. Auch bei Ratten konnten durch Kalziumchlorid Aneurysmen der infrarenalen Aorta induziert werden. Perivaskuläre Applikation von Kalziumchlorid an der infrarenalen Aorta führte innerhalb einer Woche zur Gefäßwandkalzifikation und Desorganisation der aortalen extrazellulären Matrix. [12, 74] In anderen Experimenten wurden Aortenaneurysmen durch die Verbindung der chemotaktischen Wirkung von Baumwolle und mechanischem Stress induziert. Eine stenosierende Baumwoll-Ligatur wurde über der Aorta zwischen den Nierenarterien angebracht und verursachte Aneurysmen an dieser Stelle. Aneurysmen konnten nicht im gleichen Ausmaß verursacht werden, wenn die Ligatur nicht stenosierend war, dem Tier antihypertensive Mittel verabreicht wurden und die Ligatur anstatt aus einem Baumwollfaden aus einem stenosierendem Nylonfaden bestand. Es wurde darauf geschlossen, dass die Entwicklung eines Aneurysmas in diesem Modell drei simultane Bedingungen benötigte, eine Stenose, Hypertension proximal der Stenose und eine inflammatorische Reaktion durch den Baumwollfaden. Es ist wichtig zu bemerken, dass das entzündliche Infiltrat polymorphkernige Zellen, monozytäre Makrophagen und mehrkernige Riesenzellen beinhaltete. Beim Menschen können genau diese Zellen in Aneurysmen identifiziert werden. [21, 76, 101, 109]

1.2.8 Elastase

Das Elastase–Perfusions–Modell wurde erstmalig von Anidjar und Kollegen beschrieben. [7, 8] Wistar Ratten werden anästhesiert und ein medianer Bauchschnitt durchgeführt. Die Aorta wird aufgesucht und ein Polyethylen–Katheter in die Femoralarterie eingeführt und bis in die infrarenale Aorta vorgeschoben. Eine atraumatische mikrovaskuläre Klemme wird direkt unterhalb der Abgänge der Nierenarterien angebracht und eine Nahtschlinge oberhalb der Aortenbifurkation angebracht. Dieses ermöglicht ein 1 cm langes Stück isolierter Aorta. Die isolierte Region des Gefäßes wird mit 2 ml einer Elastase Lösung gefüllt und mit 1 ml/h perfundiert. Nach 2 Stunden wird der Katheter entfernt und das Abdomen verschlossen. Die Perfusion mit einer Lösung, die 15 – 30 Units, dies entspricht 1 – 2 Units nach heutiger Definition, Pankreas Elastase vom Schwein enthielt, konnte verlässlich Aneurysmen der infrarenalen Aorta produzieren.

Das Modell entwickelt sich wie folgt: Während der Perfusion wird die Gefäßwand innerhalb 50 Minuten transparent, innerhalb der ersten 30 Minuten erfährt sie einen raschen Zuwachs des Durchmessers, nach 60 Minuten kommt es zu einem kompletten Verlust des elastischen Bindegewebes. [158]

Direkt nach der Perfusion kommt es zu einer ca. 30 %igen Dilatation des Gefäßes mit Zerstörung der elastischen Lamellen. Diese Aufweitung ist jedoch kein echtes Aneurysma. Innerhalb der nächsten 2 – 5 Tage erfährt das Gefäß aneurysmatische Erweiterung, diese erreicht eine bis zu 300 – 400 %ige Zunahme des Durchmessers. Diese bemerkenswerte Zunahme ist synchron zu einem Einwandern von Entzündungszellen, zum Teil Makrophagen und T–Zellen. Wenn die Infusionslösung keine Elastase sondern die Kombination von Thioglykolat und Plasmin enthält, beides unspezifische Stimulantien des Immunsystems, kommt es ebenfalls zu einer aneurysmatischen Entwicklung, jedoch ohne den anfänglichen Zuwachs von 30 % direkt nach der Elastaseperfusion. Die Gefäßerweiterung ist nicht auf die T– Zellen sondern auf die Makrophagen zurückzuführen. Makrophagen sezernieren bekannterweise Elastase, Kollagenase und eine Vielzahl von Zytokinen, diese können alle zur Zerstörung des Bindegewebes führen. In *in vitro* Experimenten konnte gezeigt werden, dass Kollagendegeneration für die Aneurysmaentstehung notwendig

ist. [39, 41] Jedoch war in diesem Modell der initiale Faktor die Zerstörung des Elastins. [39, 41, 151, 152] Ein ähnlicher Mechanismus konnte bei der Zerstörung des Bindegewebes der Lunge bei der chronisch obstruktiven Lungen Erkrankung (COPD) aufgezeigt werden. [130]

Es wurden Versuche mit dem Elastindegradationsprodukt Val–Gly–Val–Ala–Pro–Gly (VGVAPG) durchgeführt, um Aneurysmen zu induzieren. Dieses Elastindegradationsprodukt löste jedoch keine Aneurysmen aus. [93]

Ein interessanter Aspekt dieses Modells ist die Latenz. Sie impliziert, dass weitere Schritte nach der initialen Verletzung der Gefäßwand durch Elastase zur vollständigen Entwicklung von Aneurysmen notwendig sind. Histochemische Studien wurden durchgeführt um die Veränderungen der Matrixproteine zu untersuchen, und die Substrat–Gel–Enzymographie wurde verwendet, um das Auftreten endogener Proteinasen zu bestimmen. Es zeigte sich, dass die exogen zugeführte Elastase am zweiten Tag nach der Applikation nicht mehr nachweisbar war. Der Zuwachs des Durchmessers der Aorta bis hin zu einem Aneurysma pausierte bis zum Intervall von Tag 3 bis 6. In diesem Zeitraum konnten multiple endogene Matrixproteinasen in der Aorta detektiert werden. [57]

Detaillierte Analysen der Entzündungszellen in diesem Modell zeigten Proteinase mit einem molekularen Gewicht von 50 und 90 kD. Pankreatische Elastase konnte nach Tag 2 nicht mehr gefunden werden. Dies zeigte, dass die Proteinase nicht durch das Infusat herangebracht wurden, sondern Entzündungszellen Proteinase freisetzen. ED–22+ Zellen konnten an Tag 3 nachgewiesen werden, CD–4+ Zellen an Tag 2 und 3, CD–8+ und CD–5+ Zellen an Tag 3 und 6. LCA+ Zellen und Immunglobulin G (IgG) und IgM waren an Tag 6 erhöht.

Polymorphkernige Zellen traten in der Media und Adventitia auf und wanderten sowohl von luminal als auch von abluminal in die Gefäßwand ein. Weitergehende Studien untersuchten die Rolle der matrixdegenerierenden Proteinase. [95] Diese Experimente lokalisierten MMP–9 und MMP–3 bei mononuklearen Zellen in der Aneurysmawand. MMP–1 wurde in Bindegewebszellen der Aneurysmawand gefunden.

L-Selectin scheint für die Rekrutierung von Neutrophilen hierbei wichtig zu sein. Bei Knock-out Mäusen waren die durch mit Elastase induzierten Aneurysmen wesentlich kleiner als bei Wildtyp Mäusen. [59]

In Betracht des entzündlichen Prozesses kann man erwarten, dass anti-inflammatorische Substanzen die Entwicklung eines Aneurysmas eindämmen. Bei dem oben beschriebenen Elastase-Modell konnte gezeigt werden, dass die Behandlung mit Methylprednisolon oder Cyclosporin, [40] mit einem monoklonalen anti-CD18-adhäsions-Antikörper [122], Indomethacin (Cyclooxygenase Inhibitor) [64] und Doxycyclin [113] die Entwicklung von Aneurysmen verminderten. Alle diese Substanzen, außer Doxycyclin, hemmten die Einwanderung entzündlicher Zellen in die Gefäßwand. Doxycyclin wirkte über eine Synthesehemmung der MMPs. MMP-Inhibitoren werden auch bei der chronischen Arthritis als antiinflammatorische Substanzen eingesetzt. [53, 113]

Das von Anidjar entwickelte Modell ist zur Induktion von abdominalen Aortenaneurysmen geeignet. Es ist jedoch auch durch negative Aspekte gekennzeichnet. Dieses Modell weist eine hohe Letalität der Versuchstiere auf. [157] Yamaguchi untersuchte die einzelnen Schritte des Anidjar-Modells hinsichtlich der Letalität. Hierfür teilte er die Versuchstiere in verschiedene Gruppen, eine, bei der der Blutfluss der Aorta durch eine atraumatische Klemme unterbrochen und dann wieder freigegeben wurde, eine, bei der die Aorta lediglich katheterisiert wurde und jeweils eine mit 30, 60 und 120 min Elastaseperfusion. Die Letalität betrug in der Abklemm-Gruppe 0 %, bei der Katheter-Gruppe 29 %, bei 30 min 0 – 71 %, bei 60 min 14 – 100 % und in der 120 min Gruppe 43 – 100 %.

Einen wesentlichen Einfluss auf die Ausbildung eines Aneurysmas im Anidjar-Modell besitzt die verwendete Elastase-Lösung. [26] Besonders aufgearbeitete Elastase-Lösungen mit einem hohen Reinheitsgrad waren weniger gut geeignet ein Aneurysma auszulösen als wenig aufgearbeitete Elastase-Präparationen. Je nach Lot unterscheiden sich die Elastase-Präparationen in ihrem Reinheitsgrad. Daher ist die Ausbildung eines Aneurysmas abhängig von dem verwendeten Elastase Lot.

1.3. Fragestellung

Bisher wurden mehrere Modelle entwickelt, um bei einem Versuchstier ein Aortenaneurysma zu induzieren. Hierbei bedient man sich Aspekten der Ernährung, hämodynamischen und atherosklerotischer Faktoren, Transplantationen und vor allem der Entzündung.

Das von Anidjar entwickelte Elastaseperfusionsmodell induziert abdominale Aortenaneurysmen. Dieses Modell entspricht dem Pathomechanismus der Entstehung eines Aneurysmas beim Menschen in wesentlichen Teilen, es kommt zu einer Imbalance zwischen matrixprotektiven und matrixdestruierenden Proteinen und einer Anreicherung von Entzündungszellen in der Gefäßwand. Es ist jedoch auch durch eine hohe Letalität des Versuches und einer schlechten Reproduzierbarkeit gekennzeichnet. [157]

Oskoui induziert bei Versuchstieren Aneurysmen der Arteria femoralis, indem er das freigelegte Gefäß mit einer Elastaselösung von abluminal benetzt. [102]

Diese Arbeit soll klären, inwiefern die Induktion eines Aortenaneurysmas durch eine abluminale, also die Gefäßwand nicht eröffnende, externe Behandlung, auf die Aorta übertragbar ist, und ob durch die geringere Invasivität des Eingriffs die Letalität gesenkt werden kann.

2. Material und Methoden:

2.1 Tierexperimenteller Teil

2.1.1 Tiermodell

Für die vorliegenden Experimente wurden männliche Sprague Dawley Ratten (Tierzucht Charles River GmbH, Deutschland) in der Größe von 300 bis 350 g. verwendet. Die Tiere hatten einen konventionellen Keimstatus.

Die Tierhaltung und Fütterung erfolgte im Tierlabor der Klinik und Poliklinik für Viszeral- und Gefäßchirurgie der Universität zu Köln. Alle Tiere wurden dort während der gesamten präoperativen und postoperativen Phase gemäß den Anforderungen der Spezies gehalten und gepflegt. Dies wurde in offenen Systemen auf unbehandeltem Weichholzgranulat in Makrolonkäfigen Typ IV (vier Tiere pro Käfig) erreicht.

Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit lagen bei $21\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, $60\% \pm 10\%$. Fütterung der Tiere wurde im Fütterungsregime *ad libitum* mit Standarddiät Altromin™ durchgeführt. Das Trinkwasser wurde den Tieren unbehandelt bereitgestellt und täglich gewechselt.

Ziel des operativen Eingriffs war die Induktion eines infrarenalen Aneurysmas der Bauchaorta der Ratte.

Die Eingriffe wurden mit mikrochirurgischen Instrumenten N. Müller, Tierexpr. Chir. AA760R (Aesculap AG & CO. KG, Deutschland) in mikrochirurgischer Technik unter dem Operationsmikroskop OPMI6-DF (Carl Zeiss AG, Deutschland) durchgeführt.

Vorgenommen wurde der Eingriff im Labor für experimentelle Gefäßchirurgie der Klinik und Poliklinik für Gefäßchirurgie (Direktor: Univ. Prof. Dr. med. J. S. Brunckwall) der Universität zu Köln.

2.1.2 Operativer Eingriff

Narkose

Eine Mischung aus 3 ml Ketanest-S™ (Wirkstoff: Ketaminhydrochlorid 25mg/ml, Parke–Davis GmbH, Deutschland) und 0,5 ml Rompun™ 2 % (Wirkstoff: Xylazin 20 mg/ml, Bayer AG, Deutschland) wurde hergestellt. 1 bis 1,3 ml dieser Lösung wurde dem zu operierenden Tier intraperitoneal injiziert.

Operationsablauf

Der operative Eingriff wurde von einem Operateur und einem Assistenten in mikrochirurgischer aseptischer Technik vorgenommen. Das mit der Ketamin™ / Rompun™ Mischung narkotisierte Tier wurde auf dem Operationstisch in Rückenlage fixiert.

Durch einen medianen Hautschnitt und Durchtrennung der Bauchmuskulatur wurde die Bauchhöhle eröffnet. Die Baueingeweide wurden vorsichtig verlagert und die Aorta aufgesucht. Durch vorsichtige Präparation wurde die Aorta im Bereich unterhalb der Nierenarterien bis einschließlich der Bifurkation von der *Vena cava* getrennt, freigelegt und mobilisiert. Die Abgänge der *Aa. testiculares* wurden unterbunden. Gegebenenfalls wurden weitere kleinere, von der Aorta abgehende Äste koaguliert oder ligiert. Die *Arteria mesenterica inferior* wurde ebenfalls unterbunden.

Unter den freigelegten, mobilisierten infrarenalen Abschnitt der Aorta wurde ein 1 x 2 cm großes Stück Latex–Handschuh gelegt, um einen Schutz des periaortalen Gewebes zu erreichen.

Es wurde durch den Einsatz steriler Kompressen proximal und distal des zu behandelnden Areals eine weitere Verteilung von Elastase im Bauchraum verhindert.

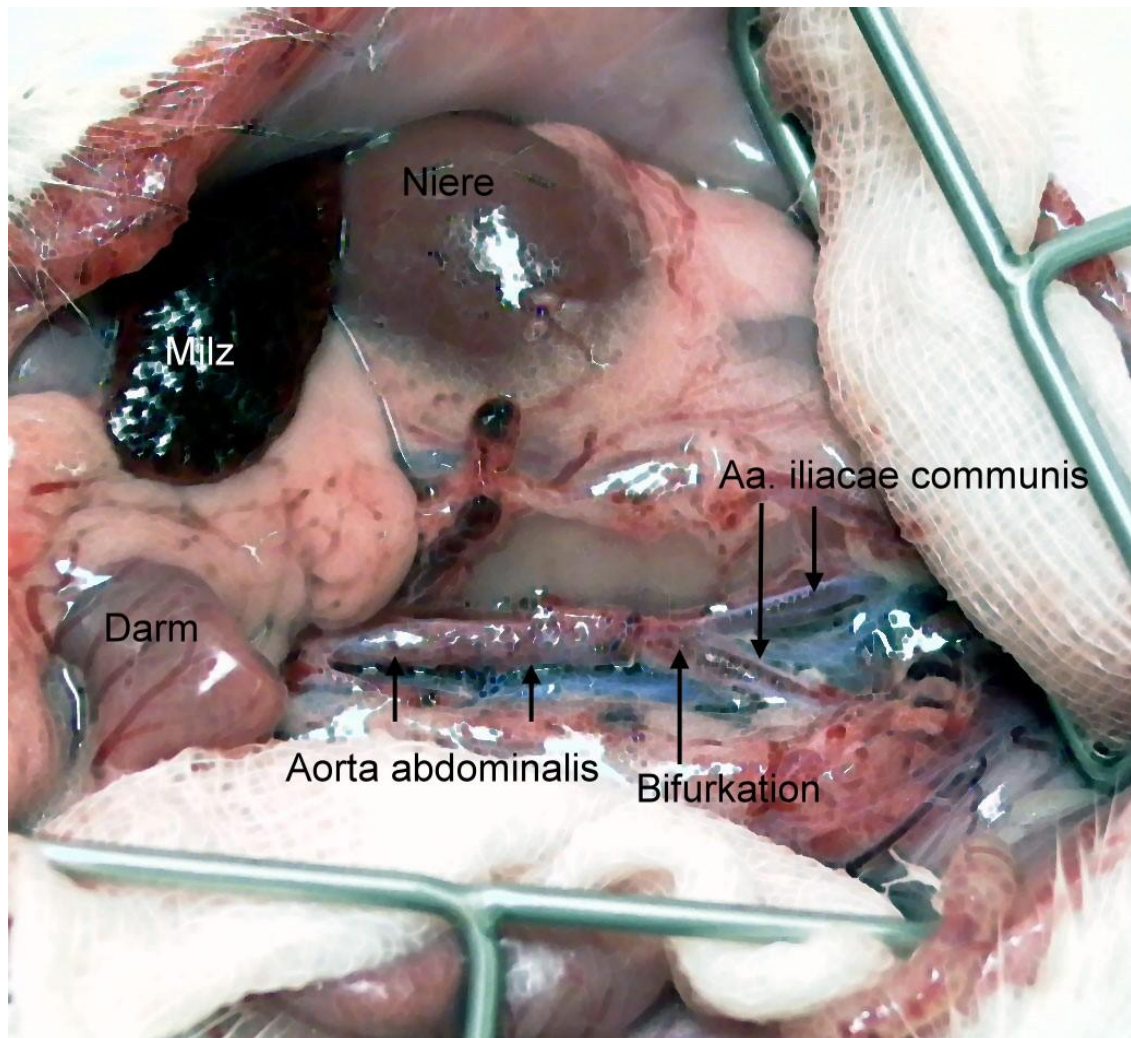


Abb. 7: Operationssitus, die Abbildung zeigt die freigelegte Aorta abdominalis eines Versuchstieres

Es wurde eine Elastaselösung aus 1 mg Elastase (pancreatic from porcine pancreas, Enzyme Comission Number: 3.4.21.36, 3,5 U/mg, E 6883, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deutschland) und 1 ml NaCl Lösung hergestellt. Eine Unit dieser Elastase hydrolysiert 1 μmol N-Succinyl-L-Ala-Ala-Ala-p-nitroanillid pro Minute bei 25 °C und pH 8.0. Ein Milliliter dieser Lösung enthält 3,5 Units.

Die Elastase Lösung wurde mit einem feinen Pinsel auf die Aorta aufgetragen, sodass sich ein Film der Lösung auf dem gesamten Abschnitt an allen Stellen befand. Nach 90 Sekunden wurde der Vorgang wiederholt. Insgesamt wurde die Aorta solange mit der Elastaselösung benetzt, bis sich eine beginnende Aufweitung des Gefäßes zeigte und die Gefäßwand eine beginnende Permeabilität für Blut aufwies. Dies war der Zeitpunkt, an dem die Elastase-

Einwirkung beendet wurde. Es wurde anschließend die Peritonealhöhle gespült, um Reste der Elastaselösung zu extrahieren.

Der Latexschutz wurde entfernt, die Aorta mit Peritoneum bedeckt, der Darm reponiert und darauf folgte ein schichtweiser Wundverschluss mit einem 4–0 Ethilon Faden durch eine fortlaufende Naht.

Infektionen und Wundheilungsstörungen traten nicht auf. Antibiotika und Antikoagulantien könnten die Entwicklung eines Aneurysmas unkontrolliert beeinflussen, aus diesem Grund wurde auf sie in dieser Studie verzichtet.

2.2 Gruppeneinteilung

Die Versuchstiere wurden in Gruppen mit 30 Tagen und 14 Tagen Überlebenszeit und eine Kontrollgruppe ohne Elastasebehandlung eingeteilt.

.

30 Tage: n = 6

14 Tage: n = 6

Kontrolle: n = 6

Um den direkten Einfluss der Elastase auf die Gefäßwand zu visualisieren wurde ein weiteres Tier direkt nach der Elastasebehandlung getötet und histologisch untersucht.

2.3 Materialgewinnung

2.3.1 2. Operativer Eingriff

Der zweite operative Eingriff diente dazu, die induzierten Aneurysmen zu entnehmen. Dabei wurden die Tiere getötet.

In der Zeit vom Beginn des Eingriffs bis zur Tötung befanden sich die Tiere in Vollnarkose, wodurch die vollständige Schmerzlosigkeit des Eingriffes und der Tötung gewährleistet wurde.

Für die Narkose wurde wie beim Ersteingriff die Mischung aus 3 ml Ketanest-S™ (Wirkstoff: Ketaminhydrochlorid 25 mg/ml) und 0,5 ml Rompun™ (Wirkstoff: Xylazin 20 mg/ml) hergestellt. 1 bis 1,3 ml dieser Lösung wurde den zu operierenden Tieren intraperitoneal verabreicht.

Über einen medialen Bauchschnitt wurde die Bauchhöhle eröffnet. Der Darm wurde verlagert und die Aorta freigelegt. Nach inspektorischer Kontrolle des Aneurysmas wurde der Thorax eröffnet. Die thorakale Aorta wurde aufgesucht und mit einer rosa Venenverweilkanüle wurde diese punktiert, und die Venenverweilkanüle eingeführt. Eine 500 ml NaCl-Infusionsflasche wurde in einer Druckmanschette befestigt und auf einen Druck von 180 mmHg aufgepumpt. Die Infusionsleitung wurde an die Venenverweilkanüle angeschlossen und die Infusion gestartet. Im gleichen Moment wurde die rechte Nierenvene durchtrennt um den Blutaustritt aus dem Kreislaufsystem des Tieres zu ermöglichen und dadurch der effiziente Ersatz des Blutes isotonische Kochsalzlösung erreicht.

Als Erfolgskriterium für die erfolgreich durchgeführte Perfusion galt die Ablassung der Leber, der Extremitäten und der austretenden Flüssigkeit. Die Perfusion mit Kochsalzlösung wurde gestoppt. Die Druckmanschette wurde entlüftet, die Infusionsflasche mit Kochsalzlösung entfernt und gegen eine Infusionsflasche, gefüllt mit 10 % gepuffertem Formalin, ausgetauscht und die Manschette erneut auf 180 mmHg aufgepumpt. Die Infusionsleitung wurde an die Venenverweilkanüle angeschlossen und die Perfusion mit Formalin gestartet. Der Druck der Manschette wurde ständig kontrolliert und auf 180 mmHg gehalten. Nach 5 Minuten wurde die Aorta distal des Aneurysmas

durchtrennt und die Formalinperfusion so lange weitergeführt, bis der gesamte Inhalt der Infusionsflasche (500 ml) perfundiert wurde.

Das Aneurysma wurde unter mikroskopischer Sicht entnommen. Diese Proben wurden nun für 24 Stunden in 10 % gepuffertem Formalin belassen. Danach wurden sie im Institut für Pathologie zunächst automatisch entwässert und paraffinisiert (Sakura, Tissue–Tek–VIP) und dann auf einem Schlittenmikrotom (Leica, SM 2000R), nach Einweisung und unter Aufsicht der Mitarbeiter des Instituts für Pathologie der Universität zu Köln (Direktor: Univ. Prof. Dr. med. P. H. Dienes) geschnitten, und auf Objektträger aufgezozen. Dabei wurden die tiefgefrorenen Paraffinblöcke im Mikrotom eingespannt und mit einer Schichtdicke von 2 µm geschnitten. Die Schnitte wurden zunächst in eine Schale mit kaltem Wasser befördert, auf einen Objektträger gezogen und anschließend zum Strecken in ein 49 °C warmes Wasserbad überführt. Die fertigen Schnittpräparate wurden über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet und standen nun für die weitere Bearbeitung bereit.

2.4 Färbungen

Zur Histologischen und morphometrischen Aufarbeitung der Proben wurden die Präparate in Hämatoxylin–Eosin und in der Elastica van Gieson Färbung gefärbt. Es wurde zunächst eine Hämatoxylin–Eosin–Färbung (H & E) an den angefertigten Schnitten vorgenommen. Diese Färbungen wurden automatisch in einem Färbeautomat hergestellt (BioGenex, Autostainer i6000). Die Färbung setzte sich aus folgenden Schritten zusammen:

Die Schnitte wurden 5 min. in der Hämatoxylin–Lösung gefärbt, anschließend 10 min in fließendem Wasser ausgewaschen. Es folgte die Färbung in Eosin–Lösung für 5 min., anschließend wurden die Schnitte direkt in einer aufsteigenden alkoholischen Reihe differenziert: zunächst in 70 %iger, dann in 96 %iger, und zum Schluss in 100 %iger Alkohollösung gewaschen.

Zellkerne werden in dieser Färbung blau und die inter– und intrazellulären Komponenten rot dargestellt.

Zur besseren Darstellung der elastischen Fasern wurde eine spezielle Färbung der Schnitte nach van Gieson verwendet. Die Färbung setzte sich aus folgenden Arbeitsschritten zusammen:

Die Schnitte wurden für 20 min. in eine Resorcinfuchsin–Färbelösung übertragen, anschließend 1 min. lang in fließendem Wasser und in *Aqua destillata* ausgewaschen. Es folgte eine Differenzierung in HCl–Alkohol–Lösung mit anschließender Spülung in fließendem Wasser. 10 min. wurden die Schnitte in der Weigertschen Lösung gefärbt (Weigertscher Eisenhämatoxylin), anschließend erneut in fließendem Wasser ausgewaschen. Es folgte die Färbung in van Gieson–Färbelösung (7,5 ml in einer 1 %igen wässrigen Thiazinrotlösung wurden zu 100 ml gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung gemischt) für maximal 3 min., anschließend folgte die Abspülung in *Aqua destillata*. In 96 %igem Alkohol wurden das Differenzieren der Elastinfärbung und das Auswaschen der Pikrinsäure erreicht. Am Schluss wurden die Schnitte mit Xylol gewaschen. Beim Eindecken der Präparate wurde eine Pertex–Lösung verwendet.

In dieser Färbung stellen sich elastische Fasern schwarz und Kollagen rot dar.

Immunhistochemie

Die ABC-Methode (Avidin-Biotin-Complex) ist eine etablierte immunhistochemische, indirekte Methode zum Nachweis von zellulären Antigenen, die sich die hohe Affinität von Avidin zu Biotin zunutze macht.

Das gentechnisch hergestellte und reinere Korrelat zum Avidin, ein Glycoprotein mit vier Bindungsstellen für Biotin, stellt das Streptavidin dar. [18]

Für die ABC-Methode verwendet man nach einem Primärantikörper; der spezifisch gegen das zu bestimmende Antigen gerichtet ist, einen Sekundär- oder Brückenantikörper, der mit Biotin markiert ist. Er ist meist gegen den Fc-Terminus (fragment crystalizing = nicht antigenbindender Teil des Antikörpers) des Primärantikörpers gerichtet. An die Biotinkomponente des Sekundärantikörpers bindet nun der ABC-Komplex (enzymmarkierter Streptavidin-Biotin-Complex). Dieser Komplex kann an drei von vier Bindungsstellen Biotin binden und ist entweder mit alkalischer Phosphatase oder wie in diesem Fall mit Horseradish-Peroxidase markiert. Das Enzym setzt ein Chromogen um, wodurch das Antigen sichtbar gemacht wird. Der Horseradish-Peroxidase (HRP) wird Wasserstoffperoxid als Substrat angeboten. Die frei werdenden Protonen oxidieren das vorher fast farblose Chromogen zu seinem farbigen Endprodukt unter Bildung von Wasser. Wird das Chromogen 3,3'-Diaminobenzidin umgesetzt wird ein braunes Endprodukt gebildet und somit für die Lichtmikroskopie sichtbar gemacht. [81, 125]

Reihenfolge der Reagenzien:

Unkonjugierter Primärantikörper + biotinmarkierter (= biotynlierter)
Sekundärantikörper + Avidin- Biotin- Enzymkonjugat + Substrat/ Chromogen
→ Farbniederschlag

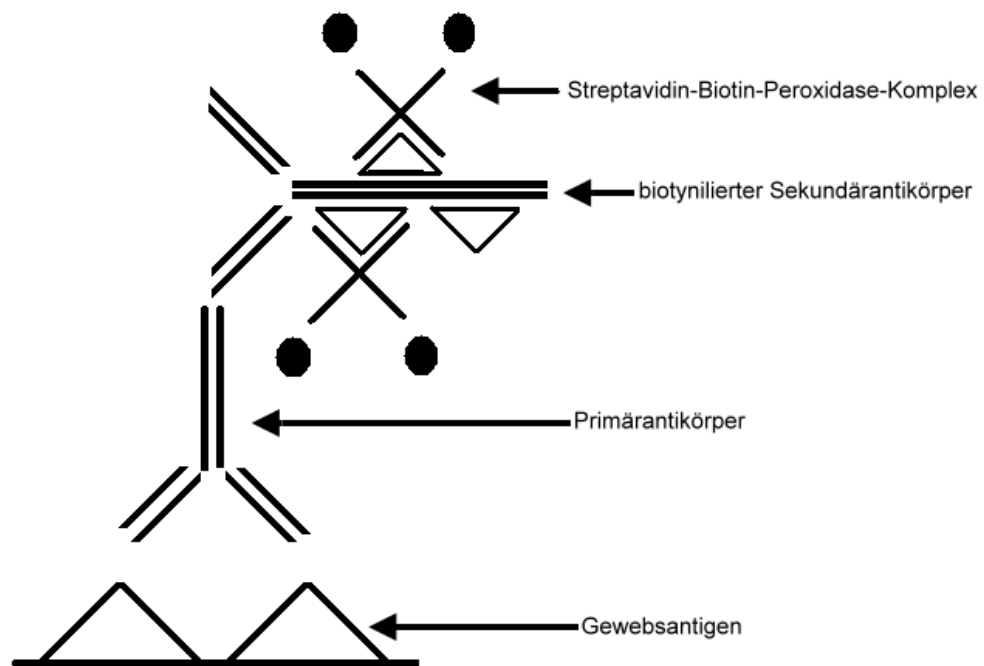


Abb. 8: Schematische Darstellung der immunhistochemischen Darstellung mit der Streptavidin–Biotin–Methode

Diese immunhistologische Methode ist aufgrund der hohen Affinität des Streptavidins zum Biotins sensitiver als die meisten anderen indirekten Nachweismethoden [4 – 8–fach stärker als bei der PAP– (Peroxidase–anti–Peroxidase–Methode) und APAAP–Methode (Alkalische Phosphatase–Anti Alkalische Phosphatase–Methode)]. [18, 81, 125]

Zur Identifizierung von Makrophagen wird ein Antikörper gegen CD 68 verwendet. Dieses Antigen ist Bestandteil eines für Makrophagen, Kupferzellen und Langerhanszellen charakteristischen Glykoproteins mit einem Molekulargewicht von ca. 110 kD. Die Expression dieses Moleküls erfolgt überwiegend intrazytoplasmatisch. [115, 116, 126]

T– Lymphozyten lassen sich mit einem höchst spezifischen Antikörper gegen den intrazytoplasmatischen Anteil des CD 3 Antigens nachweisen. Dieses Protein besteht aus fünf Polypeptidketten (gamma, delta, epsilon, zeta und eta) mit einem Molekulargewicht zwischen 16 kD und 28 kD. [44]

B-Lymphozyten lassen sich mit einem Antikörper, der gegen CD 20 gerichtet ist nachweisen. [44]

Um in dieser Versuchsreihe gezielt Entzündungszellen nachzuweisen wurde mit dem Autostainer i6000 (Bio Genex) eine immunhistochemische Färbung durchgeführt.

Die verwendeten Primärantikörper richten sich gegen CD 68 (Dako; clone PG-M1; Art.-nr. M0876; dilution 1:400), CD 3 (NovoCastr; clone PS1; NCL-L-CD3PS1; dilution 1:100) und CD 20 (Dako; L26; M0755; dilution 1:5000). Dabei werden durch CD 68 Makrophagen, durch CD 3 T-Lymphozyten und durch CD 20 gezielt B-Lymphozyten angefärbt.

Arbeitsschritte:

- Entparaffinisieren der Schnitte in vorgewärmten (37 °C) Xylol

- absteigende Alkoholreihe

- Waschen mit Aqua destillata

- Die CD 68 und CD 3 Färbung benötigen eine Vorbehandlung.

Dabei werden sie in vorgewärmten Citrat-Puffer (pH 6,5) für 25 Minuten bei 95 °C im Dampfgerar behandelt. Danach werden diese in einem kalten Wasserbad für 10 Minuten abgekühlt.

- Die CD 20 Färbung benötigt keine Vorbehandlung.

- Waschen mit einem Waschpuffer (Fa. DCS Lab Life).

- Inkubation mit dem Primärantikörper, je nach Färbung CD 68, CD 3 oder CD 20

- Inkubation mit dem biotinylierten Sekundärantikörper für 10 Minuten

- Waschen mit Streptavidin (Zytomed, Art.–Nr. HRP 500; Biotinylated Second ab, polyvalent/Streptavidin–HRP–Konjugated).
- Inkubation für 5 Minuten mit 3,3´-Diaminobenzidin (Zytomed, Art.–Nr–DAB530; DAB Substratepuffer + DAB Chromogen).
- Gegenfärben mit Hämatoxilin Lösung

2.5 Morphometrie

Die digitalen Aufnahmen der Präparate erfolgte mit Hilfe des Lichtmikroskopes Leitz Aristoplan (Typ: 020–503.030 512854/128314; Wild Lights GmbH) mit einer integrierten digitalen Kamera (Hitachi; HV–C20AMP3CCD: Hitachi Kokusai Electrica Inc. Japan). Bild– und Datenverarbeitung inklusive der morphometrischen Qualifizierung wurden mit dem Programm DISKUS (Fa. Carl H. Hilgers; Ver. 4.3.0.670#211, 16.03.2005) durchgeführt.

Es wurden digitale Bildaufnahmen der einzelnen Präparate in unterschiedlichen Vergrößerungen (mit Objektiven 4x, 25x und 40x) erstellt.

Mit einem 4x–Objektiv wurden die Präparate der abdominalen und thorakalen Aorta so eingestellt, dass sich das Gefäßlumen gänzlich darstellte. Mit Hilfe des Bildverarbeitungsprogramms DISKUS wurden die Umfänge der einzelnen Präparate gemessen. Um einheitliche Bedingungen zu gewährleisten wurde die Lamina elastica interna als Orientierung gewählt.

Mit dem Bildverarbeitungsprogramm DISKUS konnte so die Länge der Lamina elastica interna gemessen werden.

2.6 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung der Daten aus dieser Studie erfolgte mit dem Stengel–Blatt–Diagramm und Mann–Whitney–U–Test mit dem Programm SPSS 14.0 (Vers. 14.0.1).

3. Ergebnisse

3.1. Histologie

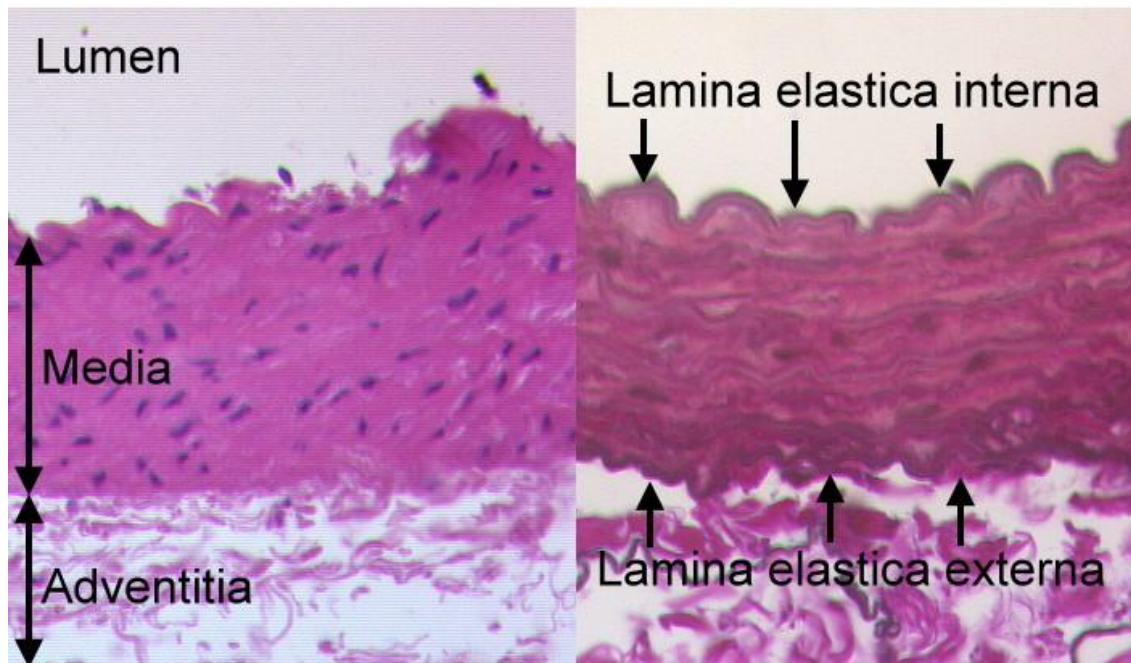


Abb. 9: Mikroskopisches Bild eines Kontrolltieres, links HE–, rechts EvG–Färbung, regelrechter Aufbau der Gefäßwand, gut abgrenzbare Lamina elastica interna und externa, normale Zelldichte der Media, lockeres Gewebe der Adventitia

Abbildung 9 zeigt den histologischen Aufbau der abdominellen Aorta eines Tieres der Kontrollgruppe. Die Wandstruktur ist regelrecht. Es handelt sich um eine normale, gesunde Gefäßwand mit zahlreichen Myozyten und deutlich zu erkennenden elastischen Fasern.



Abb. 10: Übersichtsaufnahmen von Kontrolltier (a), direkt getötet (b) und 14 d nach Elastasebehandlung (c), gleiche Vergrößerung

Abbildung 10 zeigt Übersichtsaufnahmen der abdominellen Aorta von Tieren aus der Kontrollgruppe (a), direkt getötet nach Elastaseapplikation (b) und 14 Tage nach Elastasebehandlung (c). Auffällig ist der enorme Zuwachs des Durchmessers und des Umfanges des Gefäßes 14 Tage nach Elastaseapplikation. Bereits direkt nach Elastasebehandlung ist das Gefäß vergrößert und die Wand verdünnt.

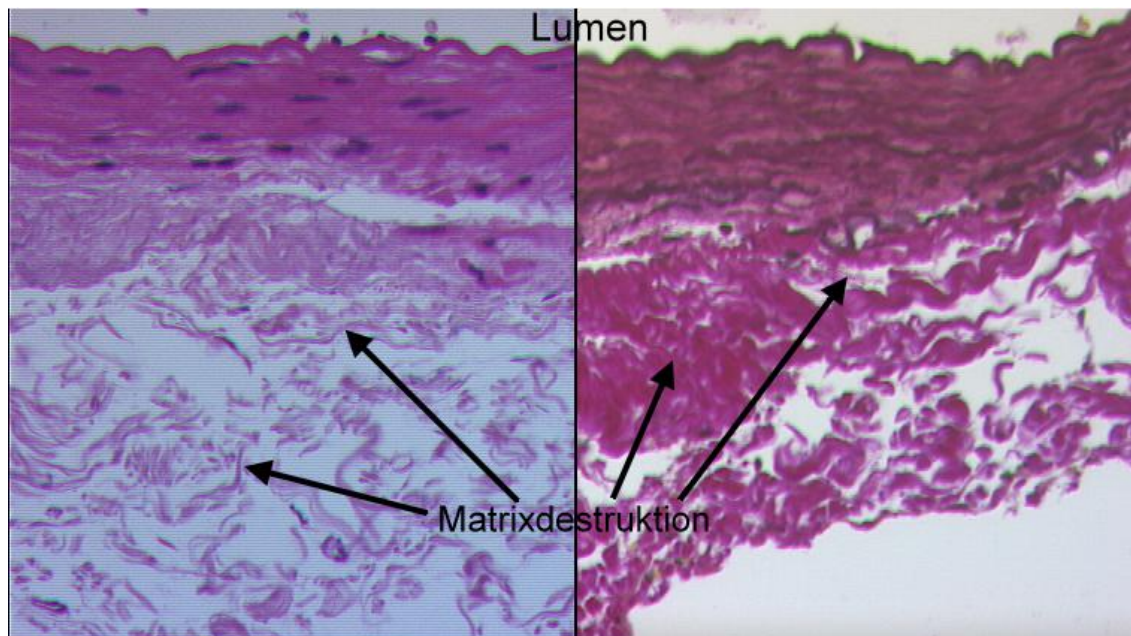


Abb. 11: Mikroskopisches Bild, Tier direkt nach Elastasebehandlung getötet, HE– (links) und EvG (rechts) Färbung, gleiche Vergrößerung, gut erkennbare beginnende Matrixdestruktion und Desorganisation der elastischen Lamellen

Abbildung 11 zeigt Detailaufnahmen des Tieres, welches direkt nach Elastasebehandlung getötet wurde. In der Übersichtsaufnahme ist eine Verdünnung der Gefäßwand auffällig. Man erkennt hier auch eine Zerstörung der Wandstrukturen der kleinen muskulären Arterien. In der EvG–Färbung fällt eine segmentale Zerstörung der elastischen Fasern, vor allem im Bereich der Ausdünnung der Gefäßwand, auf. Es kommt zu einer partiellen Matrixzerstörung.

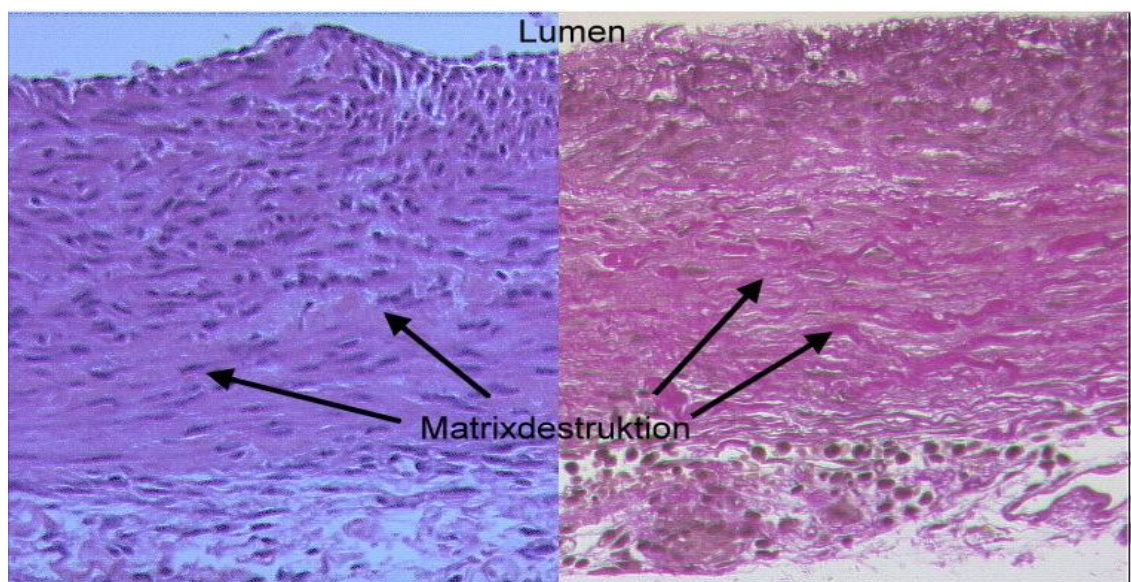


Abb. 12: Detailaufnahme, 14 d nach Elastase, HE– (links) und EvG–Färbung (rechts) Massive Matrixdestruktion mit hoher Zellzahl und großer Media

Abbildung 12 zeigt Detailaufnahmen von Tieren aus der Elastasegruppe welche nach 14 Tagen getötet wurden. Man erkennt eine deutliche Ummodellierung der Gefäßwandmatrix. Die Gefäßwanddicke ist größer als die der Kontrolltiere. Es zeigt sich eine deutliche Reduzierung der Wanddicke der elastischen Fasern. Die elastischen Fasern sind fragmentiert, desorganisiert und zum Teil fehlen sie vollkommen. Es zeigt sich eine diffuse Vernarbungsreaktion mit einer Zunahme des fibrotischen Bindegewebes, welches die Verdickung der Gefäßwand bedingt. Abschnittsweise erkennt man eine Verdickung der Media mit mesenchymaler Proliferation. In den Schnitten erkennt man Hohlräume in der Gefäßwand welche für Mucopolysaccharidablagerungen sprechen, die durch die Fixierung und die Färbevorgänge herausgelöst sind. Ein Tier zeigte auch Einblutungen in die Gefäßwand bis in die Adventitia auf, welche sich als lokale Dissektion der Aorta deuten lässt (nicht abgebildet).

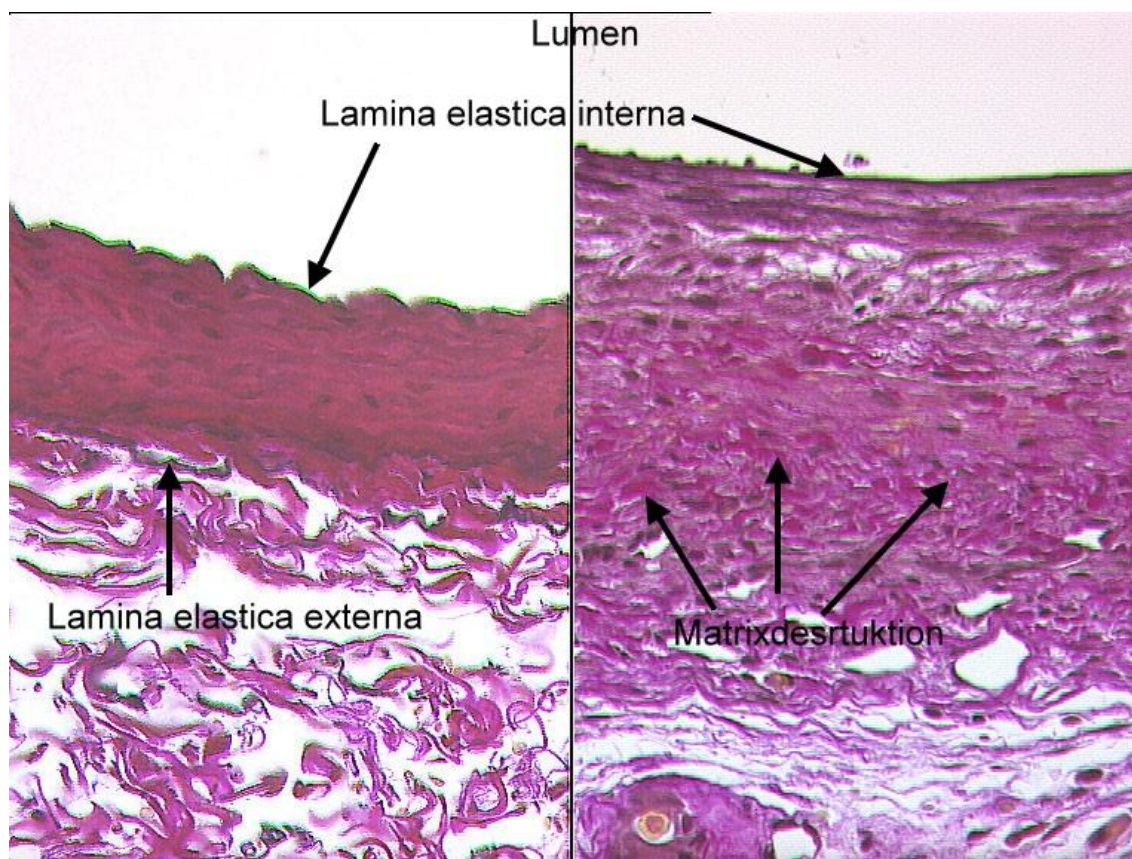


Abb. 13: Vergleich Aorta, Kontrolle (links) und 30 d nach Elastasebehandlung (rechts), Verlust der typischen Struktur der Gefäßwand und der elastischen Lamellen, Zunahme der Mediadicke

Abbildung 13 zeigt Detailaufnahmen von Kontrolltieren und Tieren aus der Elastasegruppe mit 30 Tagen Überlebenszeit. Im Vergleich zur Kontrollgruppe sind in der Elastasegruppe mit 30 Tagen Überlebenszeit elastische Fasern nur minimal, dann aber fragmentiert und desorganisiert nachweisbar. Eine deutliche Zunahme der Wandstärke aufgrund einer mesenchymalen Proliferation ist erkennbar. Morphologisch handelt es sich hierbei um myofibroblastische Zellen.

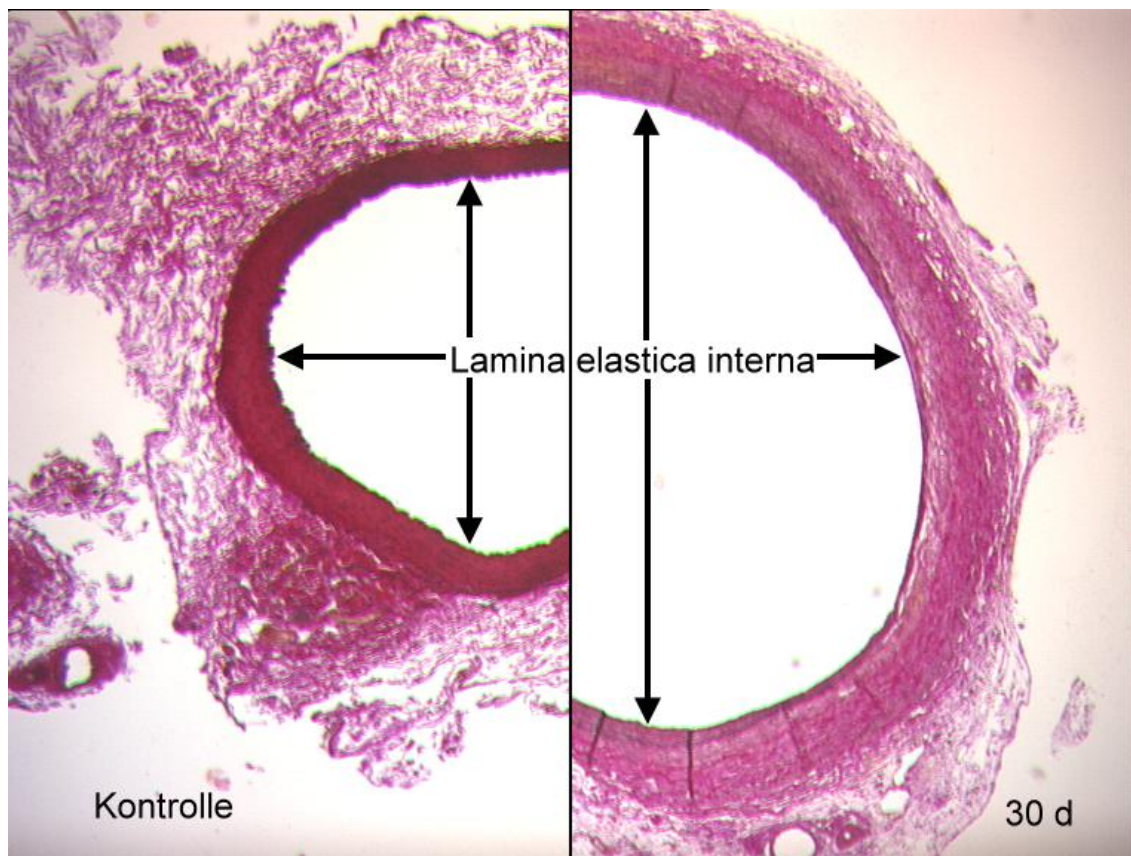


Abb. 14: Vergleich Umfang abdominelle Aorta (Kontrolle, links) mit Elastase (30 d)
Massive Umfangsvergrößerung der mit Elastase-behandelten Aorta mit Destruktion der Media

Abbildung 14 verdeutlicht die Differenz des Umfanges der abdominalen Aorta von Kontrolltieren und Tieren die mit Elastase behandelt wurden mit einem Überleben von 30 Tagen. Auch hier verdeutlicht sich die Zunahme der Wanddicke und die Destruktion des regelrechten Wandaufbaus.

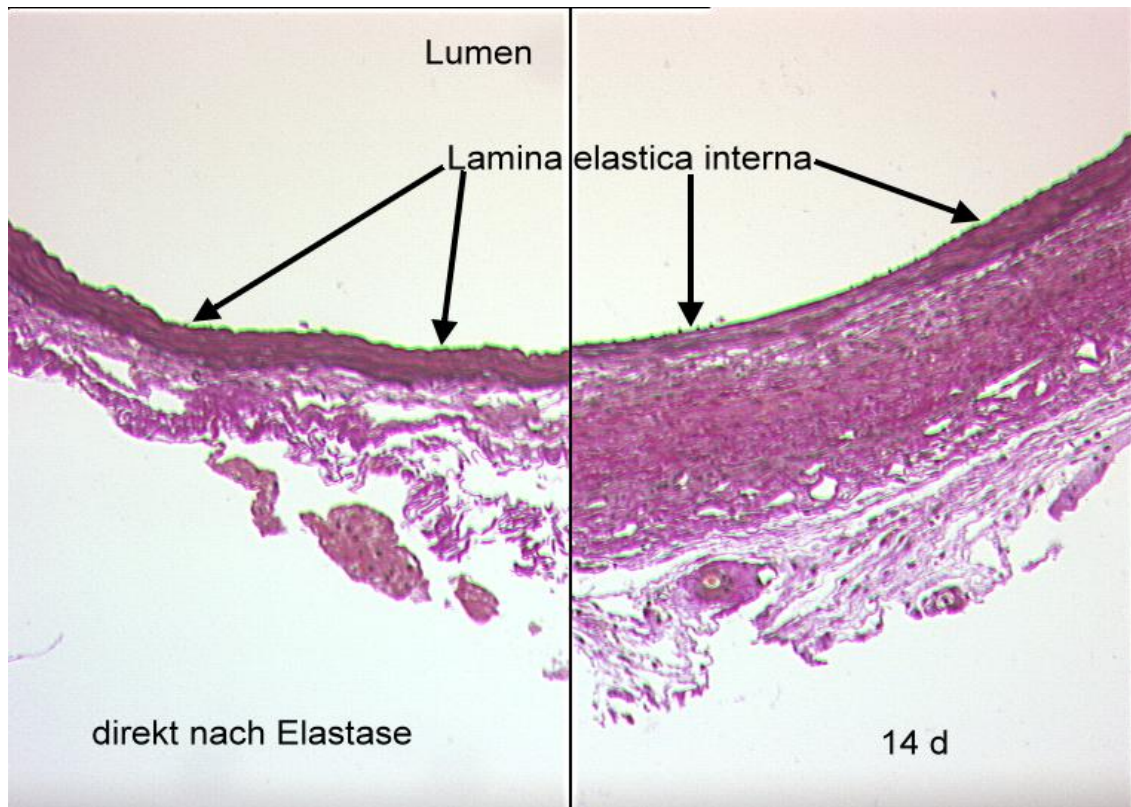


Abb. 15: Vergleich zwischen Aorta direkt nach (links) und 14 d nach Elastase (rechts)
Zunahme der Gefäßwanddicke und Verlust der elastischen Lamellen

Abbildung 15 zeigt die Veränderungen der Gefäßwand direkt nach der Elastasebehandlung und nach Elastasebehandlung mit einer Überlebenszeit von 14 Tagen. Es zeigt sich eine Verdickung der Gefäßwand der Aorta 14 Tage nach Elastasebehandlung im Vergleich zur Aorta direkt nach Elastasebehandlung.

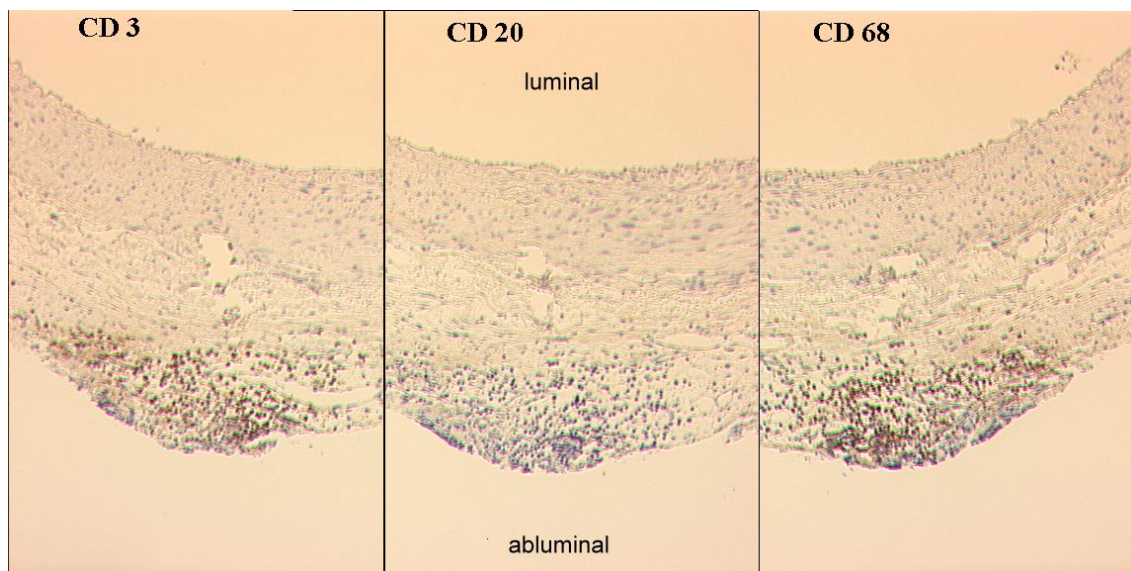


Abb. 16: Immunhistochemische Färbung der Aorta eines Tieres aus der Elastase 14 d Gruppe.
gleicher Gefäßabschnitt,, gleiche Vergrößerung, CD 3, CD 20, CD 68– Färbung

Abbildung 16 zeigt einen Abschnitt der Aorta eines Tieres aus der Elastasegruppe mit 14 Tagen Überlebenszeit. Die Spezialfärbungen zeigen, ein entzündliches Infiltrat, welches die Gefäßwand von abluminal durchwandert. Bei diesen Färbungen werden spezifisch CD 3–, CD 20– und CD 68–positive Zellen angefärbt. Es zeigt sich, dass in diesem Abschnitt das Infiltrat hauptsächlich aus T–Lymphozyten und Makrophagen, also CD 3– und CD 68–positive Zellen, besteht. B–Lymphozyten sind nur vereinzelt nachzuweisen.

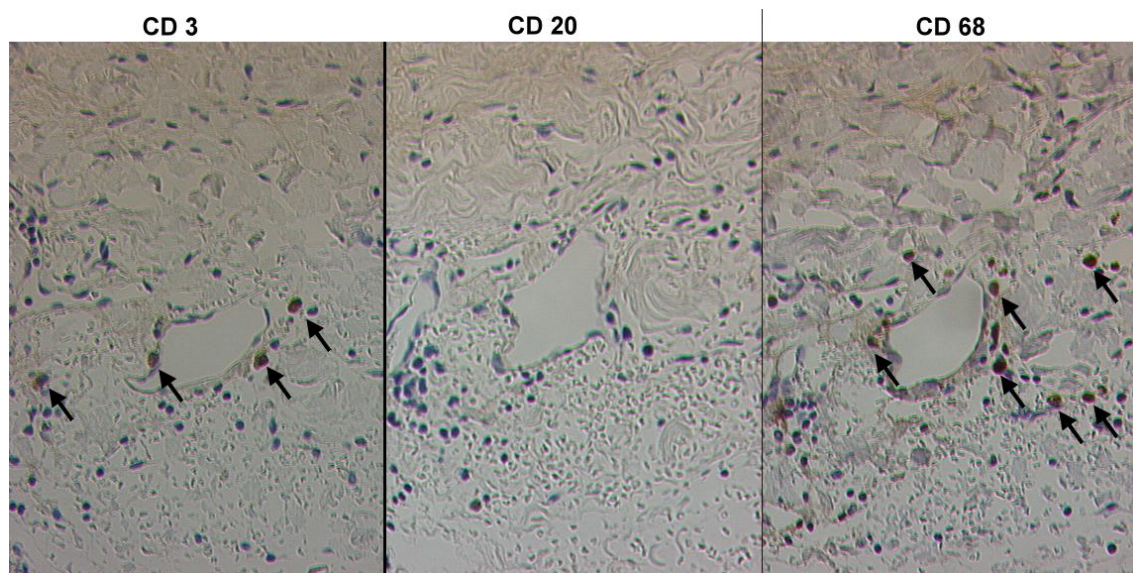


Abb. 17: Immunhistochemische Darstellung der Gefäßwand Elastasegruppe 14 d, gleicher Gefäßabschnitt, gleiche Vergrößerung, CD 3, CD 20, CD 68 Färbung

Abbildung 17 zeigt einen Ausschnitt aus der Aorta eines Tieres aus der Elastasegruppe mit 14 Tagen Überlebenszeit. Es zeigen sich entzündliche Zellen, welche CD 3 und CD 68 positiv sind, in der Gefäßwand, bei denen es sich um T–Lymphozyten und Makrophagen handelt.

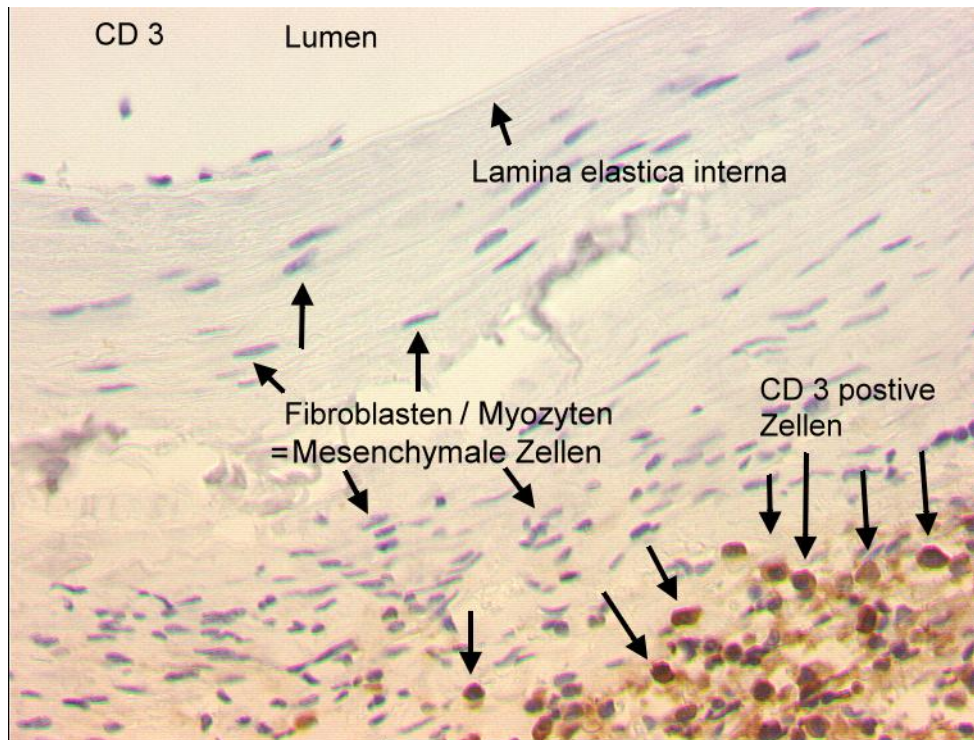


Abb. 18: Immunhistochemische Detailaufnahme, Aorta, Elastase 14 d, CD 3 Färbung

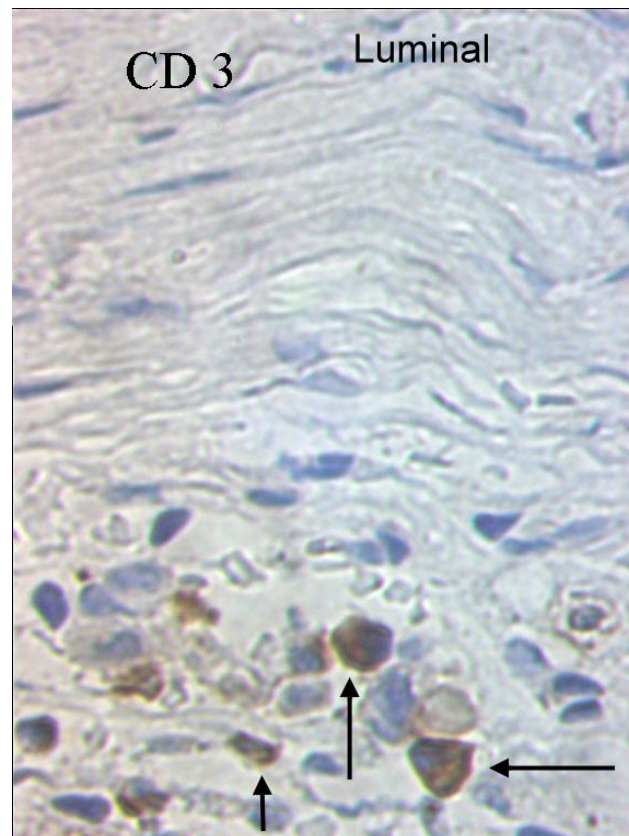


Abb. 19: Immunhistochemische Detailansicht, Aorta, Elastasegruppe 14 d, CD 3 Färbung

Abbildung 18 und Abbildung 19 zeigen Detailansichten einer Aorta eines Tieres aus der Elastasegruppe mit 14 Tagen Überlebenszeit in einer CD 3 Färbung. Es zeigt sich hier ein dichtes entzündliches Infiltrat der Gefäßwand, welches diese von abluminal durchwandert. Die reguläre Anordnung der Fibroblasten lässt sich nur in den innersten Schichten der Media erkennen, je weiter die Zellen vom Lumen entfernt sind, desto unorganisierter wird der Zellverband der Mesenchymzellen.

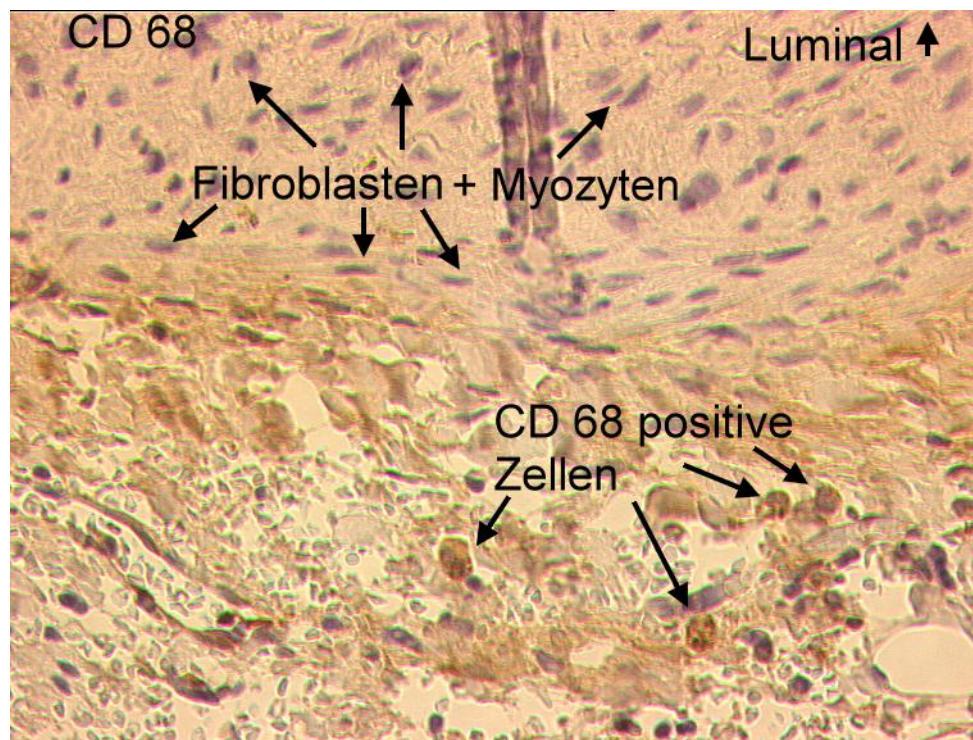


Abb. 20: Immunhistochemische Detailansicht CD 68, Aorta, Elastasegruppe 14 d

Abbildung 20 zeigt eine Detailaufnahme einer Aorta eines Tieres aus der Elastasegruppe mit 14 Tagen Überlebenszeit in einer CD 68 Färbung. Auch hier zeigt sich, dass die Makrophagen sich von abluminal nach luminal bewegen. Die Organisation der Gefäßwand ist abluminal bereits aufgehoben, luminal findet sich eine noch erkennbare Organisation der Fibroblasten, diese ist im Vergleich zur unbehandelten Aorta jedoch unruhiger und unregelmäßiger.

In allen immunhistochemisch–untersuchten Proben der Tiere, welche mit Elastase perfundiert wurden und einen Überlebenszeitraum von 14 und 30 Tagen hatten, ließen sich Entzündungszellen nachweisen. In Kontrolltieren ließ sich kein entzündliches Infiltrat nachweisen.

In der Gruppe 30 Tage nach Elastasebehandlung fanden sich die gleichen Veränderungen wie in der Gruppe 14 Tage nach Elastasebehandlung. Auch hier hat eine Ummodellierung der Gefäßwandmatrix stattgefunden. Elastische Fasern waren, wenn überhaupt, fragmentiert und desorganisiert darstellbar. Die diffuse Fibrosierung hatte das gleiche Ausmaß wie nach 14 Tagen. Zwischen den Gruppen 14 Tage und 30 Tage nach Elastasebehandlung fand sich somit kein histologischer Unterschied.

Die Inkubation der Aorta mit Elastaselösung führte zuverlässig zur Ausbildung von Aortenaneurysmen. Besonders eindrücklich zeigte sich der Effekt der Elastase auf die Media der Gefäßwand.

Die typische Anordnung der elastischen Fasern in der Media der Gefäßwand war vollkommen zerstört und elastische Lamellen konnten kaum oder nur stark fragmentiert und desorganisiert dargestellt werden.

Es zeigten sich segmentale Ausdünnungen der Gefäßwand aber auch segmentale Verdickungen der Gefäßwand.

Ein entzündliches Infiltrat der Gefäßwand wurde durch die immunhistochemischen Spezialfärbungen dargestellt. Hierbei handelt es sich hauptsächlich um CD 3– und CD 68–positive Zellen, vereinzelt konnten auch CD 20–positive Zellen nachgewiesen werden.

3.2 Morphometrie:

Die gemessenen Umfänge der gewonnenen Aortenproben, wurden mittels einer digitalen, morphometrischen Analyse untersucht. Die statistische Analyse wurde mit Hilfe des Programmes SPSS (Vers. 14.0.1) durchgeführt.

Zunächst werden die Kontrollgruppe und die Elastasegruppen anhand einer deskriptiven Analyse miteinander verglichen. In den Elastasegruppen werden Tiere mit einer Überlebenszeit von 14 Tagen mit Tieren mit einer Überlebenszeit von 30 Tagen verglichen.

Umfang (mm)	Kontrolle	Elastase 14 d	Elastase 30 d
Mittelwert	2,95	5,03	5,23
Minimum	2,69	4,22	3,97
Maximum	3,27	6,09	6,89
Spannweite	0,58	1,87	2,92
Median	2,92	4,96	4,84
95 % Konfidenzintervall			
Untergrenze	2,73	4,26	4,03
Obergrenze	3,18	5,80	6,44
Standardabweichung	0,22	0,73	1,15
Varianz	0,05	0,54	1,31

Tab. 2: Deskriptive Datenanalyse Kontrolle und Elastasebehandlung nach 14 d und 30 d

In Tabelle 2 sind die statistischen Maßzahlen der einzelnen Gruppen dargestellt. Die Abbildung 21 zeigt die dazugehörigen Box- Plots.

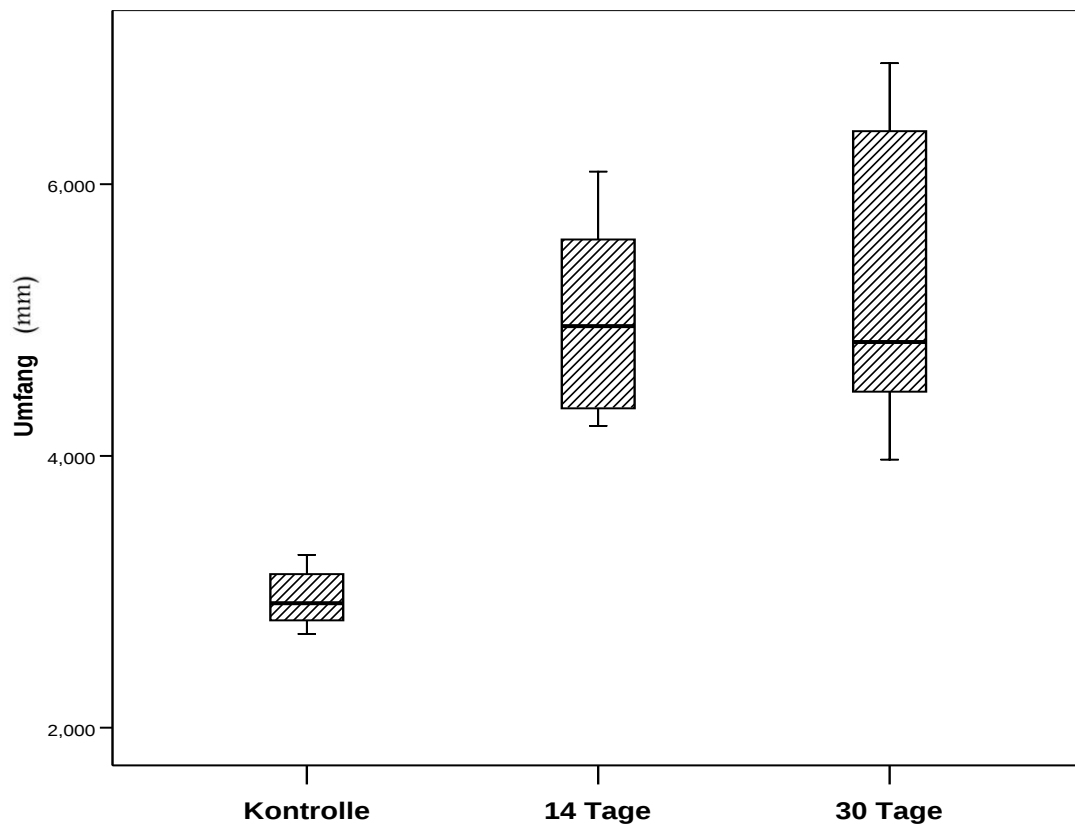


Abb. 21: Box-Plots der Gruppen, ohne Behandlung (Kontrolle) und mit Elastasebehandlung nach 14 und 30 Tagen.

Die Mittelwerte unterscheiden sich in den beiden Elastasegruppen nur gering. Im Vergleich zur Kontrollgruppe ist jedoch ein Unterschied feststellbar. Mit einer Standardabweichung von 1,15 variieren die Werte in der Elastasegruppe mit einer Überlebenszeit von 30 Tagen stärker als in der Elastasegruppe mit 14 Tagen Überlebenszeit. In der Kontrollgruppe ist die Standardabweichung am geringsten.

In Abbildung 22 sind die Mittelwerte der einzelnen Gruppen und deren 95 % Konfidenzintervall dargestellt.

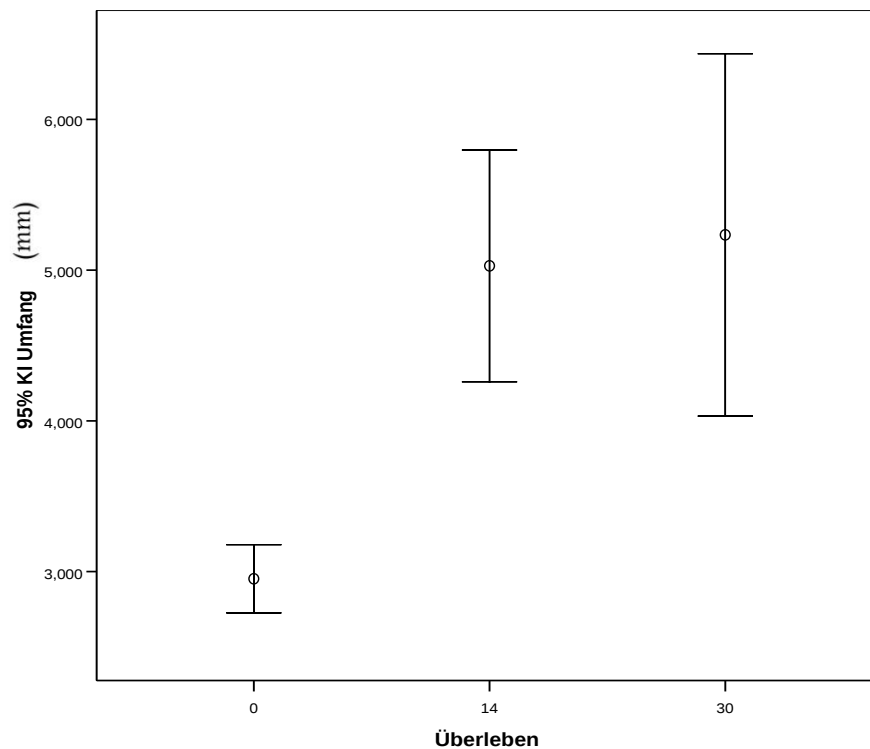


Abb. 22: Mittelwert der einzelnen Gruppen mit 95 % Konfidenzintervall

Mit einem Mann–Whitney–U–Test wurde überprüft, ob es einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der 14 Tage und der 30 Tage Gruppe gibt. In diesem Test zeigt sich, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe mit einer Überlebenszeit von 14 Tagen und der mit 30 Tagen zu einem 5 % Niveau gibt ($p=0,82$).

Da die Elastasegruppen sich statistisch nicht unterscheiden, kann man diese beiden Gruppen zu einer Gruppe zusammenfassen und mit der Kontrollgruppe vergleichen.

Umfang (mm)	Kontrolle	Elastasebehandlung
Mittelwert	2,95	5,13
Minimum	2,69	3,97
Maximum	3,27	6,89
Spannweite	0,58	2,92
Median	2,92	4,84
95 % Konfidenzintervall		
Untergrenze	2,73	4,54
Obergrenze	3,18	5,72
Standardabweichung	0,22	0,93
Varianz	0,05	0,85

Tab. 3: Statistische Maßzahlen der Kontrollgruppe und der Elastasebehandlungsgruppe

Tabelle 3 zeigt die statistischen Maßzahlen der Kontrollgruppe und der Gruppe mit Elastasebehandlung. Abbildung 23 zeigt die dazugehörigen Box-Plots dieser beiden Gruppen.

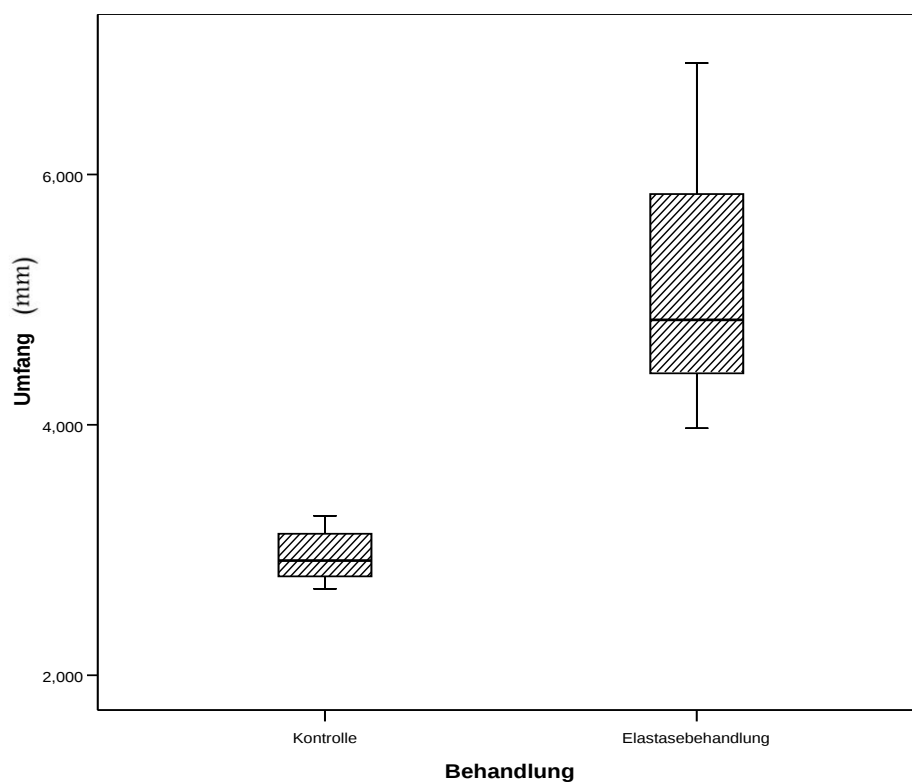


Abb. 23: Box-Plots der Kontrollgruppe und der Gruppe mit Elastasebehandlung

Der Mittelwert der mit Elastase behandelten Tiere unterscheidet sich deutlich im Vergleich zu dem der Kontrollgruppe. Die Spannweite der Werte ist bei der Elastasegruppe wesentlich größer als bei der Kontrollgruppe. Mit einer Standardabweichung von 0,93 variieren die Werte der Elastasegruppe stärker als die der Kontrollgruppe.

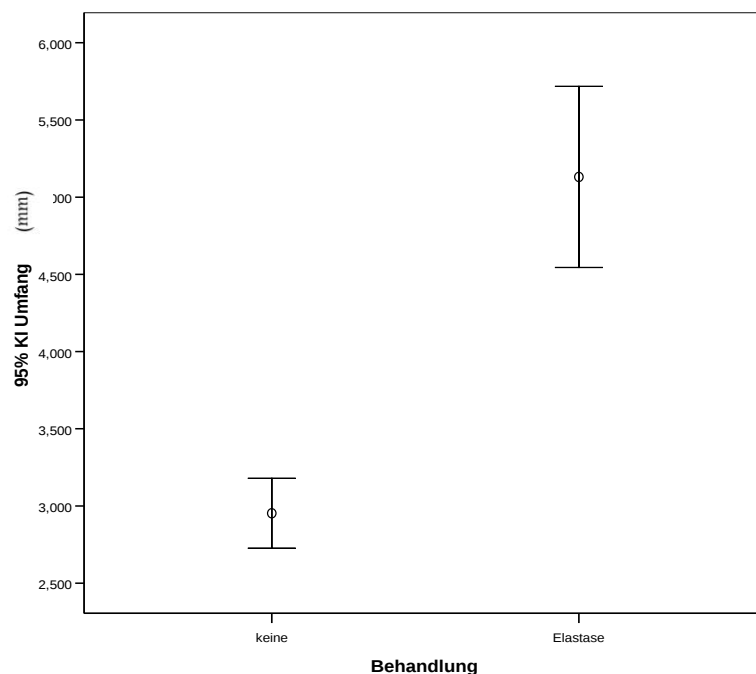


Abb. 24: Mittelwert der Kontrollgruppe und der Gruppe mit Elastasebehandlung mit 95 %-Konfidenzintervall

Mit dem Mann-Whitney-U-Test wurde geprüft, ob es einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe mit Elastasebehandlung und der Kontrollgruppe ohne Behandlung gibt. Dieser Test zeigt, dass es einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen zum 5 % Niveau gibt ($p=0,002$).

Die Aortenumfänge der Tiere nach Elastase sind somit signifikant größer als die Aortenumfänge der Kontrolltiere.

4. Diskussion

In der vorliegenden *in-vivo* Studie sollten zuverlässig Aneurysmen produziert und die Frage geklärt werden, ob die abgeänderte Applikationsweise und –dauer eine geringere Letalität der Versuchstiere im Vergleich zum Anidjar-Modell aufweist. Im Anidjar-Modell wird die Elastase durch einen intraluminalen Katheter appliziert. In dieser Studie wird die Elastase-Lösung von abluminal auf die Gefäßwand aufgetragen.

Diese Studie zeigt, dass die gezielte extraluminale Applikation einer Elastaselösung mit 3,5 U / ml auf Bauchaorten von Ratten statistisch signifikant Gefäßwandaufweitungen induziert, verglichen mit der unbehandelten Gefäßwand der Tiere der Kontrollgruppe. Durch die Behandlung der Gefäßwand mit Elastase von extraluminal mit Hilfe eines Pinsels treten nach 14 Tagen alle typischen Veränderungen eines Aneurysmas auf. Es kommt zu einer makroskopischen Dilatation der Gefäßwand. Mikroskopisch zeigt sich eine ausgeprägte Gefäßwandveränderung mit Zerstörung und fast völligem Verlust der elastischen Fasern. Die noch darstellbaren elastischen Fasern sind fragmentiert und desorganisiert. Ein entzündliches Infiltrat der Gefäßwand ist nachweisbar, bestehend aus vorwiegend CD 3- und CD 68-positiven und vereinzelt nachweisbaren CD 20-positiven Zellen. Es treten reaktive Veränderungen der Gefäßwand auf, wie eine diffuse Fibrosierung, als Ausdruck einer Vernarbungsreaktion, mit einer Zunahme der Anzahl der mesenchymalen Zellpopulation. Die extraluminale Applikation einer Elastaselösung (3,5 U / ml) löst bei der Ratte ein Bauchaortenaneurysma aus.

Aortenaneurysmen stellen eine häufige Gefäßerkrankung dar, deren Pathomechanismus noch nicht eindeutig geklärt ist. Bisher sind die Therapieansätze zur Behandlung von Patienten mit BAA eher symptomatisch, indem das Aneurysma entweder operativ entfernt oder endovaskulär mit einer Prothese überbrückt wird, anstatt an den Ursachen der Erkrankung anzugreifen. Aktuelle pathophysiologische Konzepte zur Entstehung von abdominellen Aortenaneurysmen wurden durch die Untersuchung von humanem Aortengewebe und einer eng begrenzten Anzahl an Tiermodellen

gewonnen. Diese Studien haben aufgezeigt, dass die proteolytische Degradation von Elastin und die inflammatorische Antwort kritische Ereignisse in der Entstehung von Aortenaneurysmen darstellen. Daher ist es für die Zukunft äußerst wichtig, sich eines einfachen, gut funktionierenden, reproduzierbaren Modelles zur Induktion von Aortenaneurysmen bedienen zu können. Einige der bisherigen Modelle liefern reproduzierbar BAA.

In anderen Modellen lassen sich Aneurysmen nur in einer geringen Frequenz induzieren. Sie sind somit nicht geeignet um mögliche Therapiemöglichkeiten an ihnen zu testen. Zu diesen ist das Modell von Zarins et al. zu zählen, welches sich der Ernährung bedienen, sie erzielten nur in 13 % der Versuchstiere ein Aneurysma. [163]

Das Modell der *blotchy*-Maus [68] zeigt die Wichtigkeit der Integrität des kollagenen und elastischen Bindegewebes zur normalen Funktion der Aortengefäßwand. Ist diese Integrität gestört, in diesem Fall aufgrund der Funktionsstörung des Enzyms Lysyl-Oxidase, bilden sich Aneurysmen der Gefäßwände. Beim Menschen konnte die Entstehung von BAA jedoch nicht auf einen gestörten Kupfermetabolismus zurückgeführt werden.

Das Modell von Zatina und Kollegen zielt auf eine mechanische Zerstörung eines Teils der elastischen Lamellen der Gefäßwand. Reduziert man durch Quetschen der Aorta die Anzahl der elastischen Lamellen um die Hälfte, entwickelt sich ein Aneurysma. Dieses Modell nutzt die Reduktion der Anzahl der elastischen Fasern, ähnlich wie es bei dem Modell von Dobrin und Anidjar der Fall ist. [165]

Die Datenlage zu den Modellen, die sich einer Vibrationsquelle zur Induktion eines Aneurysmas bedienen, ist uneinheitlich. [51, 86]

Petersen und Kollegen zeigten mit ihrem Versuch, in dem sie die infrarenalen Aorten von hypertensiven und normotensiven Ratten transplantierten, dass die immunologische Antwort eine wesentlich größere Bedeutung für die Entstehung von Aneurysmen hat, als eine Hypertonie. [111]

Basalyga und Kollegen lösten durch Kalziumchlorid Gefäßwandkalzifikationen und Desorganisation der aortalen extrazellulären Matrix aus. [12] Karapolat und Kollegen untersuchten mit dieser Methode den Einfluss von Indometacin auf die Entwicklung eines Aneurysmas. [74] Das Ausmaß des entstandenen Aneurysmas war in der mit Indometacin-behandelten Gruppe kleiner als in der

Kontrollgruppe mit Kalziumchlorid–Behandlung aber ohne orale Indometacin–Gabe.

Für die Erprobung eines neuen Medikamentes oder einer neuen Therapie ist es notwendig, dass die Frequenz der Induktion eines Aneurysmas hoch ist. Wie es beim Modell von Anidjar et al. der Fall ist. Dieses Modell besitzt jedoch zwei große negative Aspekte. Zum einen ist es durch eine hohe Letalität gekennzeichnet, bedingt durch die Invasivität des Eingriffes. Des Weiteren ist die Ausbildung eines Aneurysmas stark von der verwendeten Elastaselösung abhängig. Die hohe Letalität beruht aufgrund des äußerst invasiven operativen Vorgehens. Die Kanülierung der Aorta für die Elastaseperfusion stellt einen wichtigen, die Letalität negativ beeinflussenden Faktor dar, den man ausschalten kann, indem man die Elastase mit einem feinen Pinsel von extraluminal auf die Aorta appliziert. Ein weiterer Schwachpunkt des Modells ist die verwendete Elastasepräparation. Experimentelle Studien konnten zeigen, dass stark aufgearbeitete Elastaselösungen, d.h. Elastasepräparationen mit einem sehr hohen Reinheitsgrad, weniger verlässlich Aneurysmen ausbilden konnten als Elastasepräparationen mit einem geringeren Reinheitsgrad. [26] Man sollte eine wenig aufgearbeitete Elastase Präparation verwenden, da bei diesen die Frequenz der Aneurysmaausbildung wesentlich größer ist als bei stark aufgearbeiteten Präparationen. [26] Dies spiegelt die großen Variationen in der Aneurysmaausbildung in Abhängigkeit vom Lot der Elastase wieder.

In Hinsicht auf die Elastase bleibt zu berücksichtigen, dass die Einheit der Elastase vor einigen Jahren verändert wurde. Seit 1998 ist die Definition einer Unit die Menge, die 1 $\mu\text{mol/L}$ Succinyl–Ala–Ala–Ala–p–nitroanalide (SucAla3–pNA) pro Minute bei einem pH von 8,0 bei 25 °C hydrolysiert.

Vor 1998 definierte Sigma die Einheit über die Elastin–Orcein–Methode, weshalb man in den Publikationen aus den Jahren vor der Neudefinition der Units berücksichtigen muss, dass eine Unit nach der heutigen Definition ungefähr 30 Units der alten Definition entsprechen. [100] Dies schafft bei dem Vergleich zwischen Studiendesigns verschiedener Autoren Verwirrung.

Yamguchi untersuchte die Faktoren, welche die Letalität des Anidjar Elastase Modells beeinflussten. Tiere wurden in verschiedene Gruppen unterteilt. In einer Gruppe wurden lediglich partiell Teile der abdominalen Aorta mit einer atraumatischen Gefäßklemme abgeklemmt und später wieder frei gegeben. Eine weitere wurde lediglich katheterisiert und jeweils eine Gruppe wurde 30 min, 60 min und 120 min mit Elastase perfundiert. Hier wurden unterschiedliche Lots angewendet. Es zeigte sich, dass die Letalität in der Abklemmgruppe 0 %, bei der Kathetergruppe 29 %, bei 30 min 0 – 71 %, bei 60 min zwischen 14 – 100 % und in der 120 min Gruppe bei 43 – 100 % betrug. Somit ist die Letalität bedingt durch die Katheterisierung der *Arteria illiaca externa*, dem Elastase Lot und der Infusionsdauer. [157]

Ursprünglich war die Infusionsdauer des Modells von Anidjar auf 120 min festgelegt. Yamaguchi untersuchte dieses Modell und beschrieb die morphologischen Veränderungen während der Elastase Perfusion. Innerhalb der ersten 50 min wurde die Gefäßwand transparent. Innerhalb der ersten 30 min kommt es zu einem schnellen Zuwachs des Durchmessers und nach 60 min zu einem kompletten Verlust des elastischen Gewebes. Er untersuchte weiter ob es einen Unterschied zwischen einer Infusionsdauer von 60 min und 120 min gibt. Er konnte keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen feststellen und schlug vor die Infusionsdauer von 120 min auf 60 min zu reduzieren. [158]

In einer weiteren Studie untersuchte Yamaguchi ob sich die Infusionsdauer von 15 min und 30 min bei einer Elastaselösung mit 15 U Elastase unterscheiden. Direkt nach der Infusion von 30 min waren keine Elastinfasern mehr anfärbbar, bei der 15 min kam es im Beobachtungszeitraum zu keiner weiteren Zerstörung der elastischen Fasern nach der Elastase Perfusion obwohl ein Einwandern von Entzündungszellen, vor allem in der Adventitia, zu beobachten war. [159]

In der vorliegenden Studie entwickelten alle von abluminal mit Elastase behandelten Tiere ein Aneurysma der abdominalen Aorta. Die Letalität der Tiere lag, nach Erlernen der Operationstechnik, bei Null. Alle mit Elastase behandelten Tiere überlebten für mindestens 14 oder 30 Tage, je nach Zugehörigkeit der Gruppe, bis sie absichtlich zur Probengewinnung euthanasiert wurden.

Der Unterschied zwischen den Gruppen mit Elastasebehandlung bei einer Überlebenszeit von 14 und 30 Tagen ist nicht signifikant. Dies zeigt, dass es zu keiner weiteren Zunahme des Aortenumfanges während des Zeitraumes von 14 bis 30 Tagen postoperativ kommt.

Bei dem Vergleich der Kontrollgruppe mit der Elastasegruppe zeigt sich, dass die Tiere nach Elastasebehandlung einen signifikant größeren Aortenumfang aufweisen als die Kontrollgruppe.

Der Nachweis der Entzündungszellen in dieser Studie zeigt, dass die applizierte Elastase der Anstoß zur Entwicklung eines Aneurysmas ist. Die eigentliche Entwicklung eines Aneurysmas jedoch durch die Einwanderung von Entzündungszellen bedingt ist. Dies bestätigt die Studie von Halpern [57], welche ab dem zweiten Tag nach der Elastaseperfusion keine exogen zugeführte Elastase mehr nachweisen konnte.

Somit ist die extraluminale Applikation von Elastase im Stande, ein abdominelles Aortenaneurysma auszulösen. Die Vorteile dieser Methode sind die geringere Invasivität des Eingriffes und die daraus resultierende Abnahme der Letalität des bisher etablierten Anidjar/ Dobrin Modelles.

5. Zusammenfassung

Hintergrund:

Ein Aneurysma resultiert durch die Zerstörung des Bindegewebes der Gefäßwand, vor allem der strukturellen Einheit von Elastin und Kollagen. Es existieren zahlreiche Studien zur Induktion von Aortenaneurysmen, die sich unterschiedlichen Ansatzpunkten bedienen, wie z. B. der Atherosklerose, genetischer Variationen, der Induktion einer Entzündung und vor allem der Infusion von Elastase. In dieser Studie wurde das von Anidjar und Dobrin etablierte Modell aufgrund der humanen Situation ähnlichen Pathophysiologie als Orientierung gewählt. Bei diesem Modell wird eine Elastaselösung von intraluminal zur Induktion eines Aneurysmas appliziert. Dieses ist jedoch durch eine hohe Mortalität und schlechte Reproduzierbarkeit gekennzeichnet. Daher wurde ein Femoralarterien-Modell modifiziert.

Studiendesign/Material und Methoden:

Die Versuchstiere wurden in eine Kontrollgruppe und jeweils eine Gruppe mit 14 bzw. 30 Tagen Überlebenszeit randomisiert.

Männliche Sprague Dawley Ratten (300–350 g) wurden einer Laparotomie unterzogen. Die abdominale Aorta wurde freigelegt. Ein 1 cm langer Abschnitt wurde so lange alle 90 Sekunden mit einer Elastaselösung, die 3,5 U/ml enthielt benetzt, bis sich eine beginnende Aufweitung des Gefäßes zeigte und die Gefäßwand eine beginnende Permeabilität für Blut aufwies. Anschließend wurde die Peritonealhöhle gespült. Es erfolgte ein schichtweiser Wundverschluss. Je nach Zugehörigkeit zur Gruppe erfolgte der zweite Eingriff zur Gewinnung der Proben nach 14 bzw. 30 Tagen. Die Proben der Kontrollgruppe wurden direkt gewonnen. Die in Formalin fixierten und in Paraffin gebetteten Proben wurden in 2 µm dicken Schnitten auf Objektträger gezogen. Es erfolgte eine Hämatoxylin–Eosin–, eine Elastica van Gieson– und eine immunhistochemische (CD 3, CD 20, CD 68) Färbung. Die Durchmesser und morphologischen Veränderungen wurden durch Lichtmikroskopie und dem Programm DISKUS ermittelt.

Resultate:

In den mit Elastase behandelten Gruppen, sowohl 14 Tage als auch 30 Tage, zeigte sich eine deutliche Ummodellierung der Gefäßwandmatrix mit deutlicher Reduzierung, Fragmentierung und Desorganisation der elastischen Fasern im Sinne eines Aortenaneurysmas. Durch die immunhistochemische Färbung konnte ein entzündliches Infiltrat bestehend vor allem aus CD 3 und CD 68 positiven Zellen nachgewiesen werden. Die morphometrische Analyse der Gruppen zeigte einen Mittelwert des Gefäßumfanges von 2,95 mm der Kontrollgruppe, 5,03 mm der 14 Tage und 5,23 mm der 30 Tage Gruppe. Es besteht ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit Elastasebehandlung und der Kontrollgruppe zum 5%-Niveau ($p=0,002$).

Ergebnis:

Alle von abluminal mit Elastase behandelten Tiere entwickelten gut reproduzierbar ein Aneurysma. Die Mortalität des Anidjar und Dobrin Modells konnte durch die extraluminale Applikation auf 0 gesenkt werden.

Somit stellt das untersuchte Modell eine entscheidende Verbesserung der aktuell verfügbaren Tiermodelle zur Induktion von Aortenaneurysmen dar.

6. Literaturverzeichnis:

1. Ailawadi, G., J.L. Eliason, and G.R. Upchurch, Jr., *Current concepts in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysm*. J Vasc Surg, 2003. **38**(3): p. 584-8.
2. Allaire, E., D. Hasenstab, R. D. Kenagy, B. Starcher, M. M. Clowes, A. W. Clowes, A. W., *Prevention of aneurysm development and rupture by local overexpression of plasminogen activator inhibitor-1*. Circulation, 1998. **98**(3): p. 249-55.
3. Allenberg, J.R., *Current status of abdominal aortic aneurysm therapy*. Langenbecks Arch Chir, 1997. **382**(3): p. 117-8.
4. Alston, J., E. Fody, and L. Couch, *A prospective study of hepatic and skin copper levels in patients with abdominal aortic aneurysms*. Surg Forum, 1983. **24**: p. 466-468.
5. Ammirati, M., I. Ciric, and E. Rabin, *Induction of experimental aneurysms on the rat common carotid artery using a microsurgical CO2 laser*. Microsurgery, 1988. **9**(2): p. 78-81.
6. Andrews, E.J., W.J. White, and L.P. Bullock, *Spontaneous aortic aneurysms in blotchy mice*. Am J Pathol, 1975. **78**(2): p. 199-210.
7. Anidjar, S., P. B. Dobrin, M. Eichorst, G. P. Graham, G. Chejfec, *Correlation of inflammatory infiltrate with the enlargement of experimental aortic aneurysms*. J Vasc Surg, 1992. **16**(2): p. 139-47.
8. Anidjar, S., J. L. Salzmänn, D. Gentric, P. Lagneau, J. P. Camilleri, J. B. Michel, *Elastase-induced experimental aneurysms in rats*. Circulation, 1990. **82**(3): p. 973-81.
9. Annabi, B., D. Shedid, P. Ghosn, R. L. Kenigsberg, R. R. Desrosiers, M. W. Bojanowski, E. Beaulieu, E. Nassif, R. Moumdjian, R. Beliveau, *Differential regulation of matrix metalloproteinase activities in abdominal aortic aneurysms*. J Vasc Surg, 2002. **35**(3): p. 539-46.
10. Ball, R.A., J. H. Sautter, B. S. Pomeroy, P. E. Waibel, *Natural and Experimental Dissecting Aneurysms in Turkeys*. J Pathol Bacteriol, 1965. **89**: p. 599-606.
11. Barnett, B.D., H. R. Bird, J. J. Lulich, F. M. Strong, *Toxicity of beta-amino-propionitrile for turkey poults*. Proc Soc Exp Biol Med, 1957. **94**(1): p. 67-70.
12. Basalyga, D.M., D. T. Simionescu, W. Xiong, B. T. Baxter, B. C. Starcher, N. R. Vyavahare, *Elastin degradation and calcification in an abdominal aorta injury model: role of matrix metalloproteinases*. Circulation, 2004. **110**(22): p. 3480-7.
13. Baxter, B.T., V. A. Davis, D. J. Minion, Y. P. Wang, T. G. Lynch, B. M. McManus, *Abdominal aortic aneurysms are associated with altered matrix proteins of the nonaneurysmal aortic segments*. J Vasc Surg, 1994. **19**(5): p. 797-802; discussion 803.
14. Beall, C.W., C.F. Simpson, and W.R. Pritchard, *Aortic rupture in turkeys induced by diethylstilbesterol*. Proc Soc Exp Biol Med, 1963. **113**: p. 442-443.
15. Black, S.P.W. and W.J. German, *Observations on the relationship between the volume and the size of the orifice of experimental aneurysms*. J Neurosurg, 1960. **17**: p. 984-990.

16. Boorman, G.A., S. Silverman, and J.H. Anderson, *Spontaneous dissecting aortic aneurysm in a squirrel monkey (Saimiri sciureus)*. Lab Anim Sci, 1976. **26**(6 Pt 1): p. 942-7.
17. Boucek, R.J., Z. Gunja-Smith, N. L. Noble, C. F. Simpson, *Modulation by propranolol of the lysyl cross-links in aortic elastin and collagen of the aneurysm-prone turkey*. Biochem Pharmacol, 1983. **32**(2): p. 275-80.
18. Bourne, J.A., *Handbuch 1 immunhistochemischer Färbungen*. Immunhistochemistry Laboratory, Dako Corporation, Carpinteria, USA, 1995.
19. Boyle, J.R., E. McDermott, M. Crowther, A. D. Wills, P. R. Bell, M. M. Thompson, *Doxycycline inhibits elastin degradation and reduces metalloproteinase activity in a model of aneurysmal disease*. J Vasc Surg, 1998. **27**(2): p. 354-61.
20. Brophy, C., J.E. Tilson, and M.D. Tilson, *Propranolol delays the formation of aneurysms in the male blotchy mouse*. J Surg Res, 1988. **44**(6): p. 687-9.
21. Brophy, C.M., J. M. Reilly, G. J. Smith, M. D. Tilson, *The role of inflammation in nonspecific abdominal aortic aneurysm disease*. Ann Vasc Surg, 1991. **5**(3): p. 229-33.
22. Brophy, C.M., J. E. Tilson, I. M. Braverman, M. D. Tilson, *Age of onset, pattern of distribution, and histology of aneurysm development in a genetically predisposed mouse model*. J Vasc Surg, 1988. **8**(1): p. 45-8.
23. Brophy, C.M., J.E. Tilson, and M.D. Tilson, *Propranolol stimulates the crosslinking of matrix components in skin from the aneurysm-prone blotchy mouse*. J Surg Res, 1989. **46**(4): p. 330-2.
24. Brunkwall, J., H. Hauksson, H. Bengtsson, D. Bergqvist, R. Takolander, S. E. Bergentz, *Solitary aneurysms of the iliac arterial system: an estimate of their frequency of occurrence*. J Vasc Surg, 1989. **10**(4): p. 381-4.
25. Bruns, D.L., J. E. Connolly, E. Holman, R. C. Stofer, *Experimental observations on post-stenotic dilatation*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1959. **38**: p. 662-9.
26. Carsten, C.G., 3rd, W. C. Calton, J. M. Johanning, P. J. Armstrong, D. P. Franklin, D. J. Carey, J. R. Elmore, *Elastase is not sufficient to induce experimental abdominal aortic aneurysms*. J Vasc Surg, 2001. **33**(6): p. 1255-62.
27. Choksy, S.A., A.B. Wilmink, and C.R. Quick, *Ruptured abdominal aortic aneurysm in the Huntingdon district: a 10-year experience*. Ann R Coll Surg Engl, 1999. **81**(1): p. 27-31.
28. Cobb, L.M., H. J. Bloom, F. J. Roe, H. M. MacKenzie, *Rupture of the aorta produced in the hamster by anti-ovulatory progestogens*. Nature, 1971. **229**(5279): p. 50-1.
29. Collin, J., L. Araujo, J. Walton, D. Lindsell, *Oxford screening programme for abdominal aortic aneurysm in men aged 65 to 74 years*. Lancet, 1988. **2**(8611): p. 613-5.
30. Creech, O., Jr., *Endo-aneurysmorrhaphy and treatment of aortic aneurysm*. Ann Surg, 1966. **164**(6): p. 935-46.
31. Curci, J.A., D. Mao, D. G. Bohner, B. T. Allen, B. G. Rubin, J. M. Reilly, G. A. Sicard, R. W. Thompson, *Preoperative treatment with doxycycline reduces aortic wall expression and activation of matrix*

- metalloproteinases in patients with abdominal aortic aneurysms. J Vasc Surg*, 2000. **31**(2): p. 325-42.
32. Danks, D.M., P. E. Campbell, B. J. Stevens, V. Mayne, E. Cartwright, *Menkes's kinky hair syndrome. An inherited defect in copper absorption with widespread effects. Pediatrics*, 1972. **50**(2): p. 188-201.
 33. Darling, R.C., 3rd, D. C. Brewster, R. C. Darling, G. M. LaMuraglia, A. C. Moncure, R. P. Cambria, W. M. Abbott, *Are familial abdominal aortic aneurysms different? J Vasc Surg*, 1989. **10**(1): p. 39-43.
 34. Darling, R.C., C. R. Messina, D. C. Brewster, L. W. Ottinger, *Autopsy study of unoperated abdominal aortic aneurysms. The case for early resection. Circulation*, 1977. **56**(3 Suppl): p. II161-4.
 35. DeWys, W.D. and S.H. Bathina, *Synergistic antileukemic effect of theophylline and 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea. Cancer Res*, 1980. **40**(7): p. 2202-8.
 36. Dietz, H.C., G. R. Cutting, R. E. Pyeritz, C. L. Maslen, L. Y. Sakai, G. M. Corson, E. G. Puffenberger, A. Hamosh, E. J. Nanthakumar, S. M. Curristin, *Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. Nature*, 1991. **352**(6333): p. 337-9.
 37. Dixon, A.K., J.P. Lawrence, and J.R. Mitchell, *Age-related changes in the abdominal aorta shown by computed tomography. Clin Radiol*, 1984. **35**(1): p. 33-7.
 38. Dobrin, P.B., *Poststenotic dilatation. Surg Gynecol Obstet*, 1991. **172**(6): p. 503-8.
 39. Dobrin, P.B., W.H. Baker, and W.C. Gley, *Elastolytic and collagenolytic studies of arteries. Implications for the mechanical properties of aneurysms. Arch Surg*, 1984. **119**(4): p. 405-9.
 40. Dobrin, P.B., N. Baumgartner, S. Anidjar, G. Chejfec, R. Mrkvicka, *Inflammatory aspects of experimental aneurysms. Effect of methylprednisolone and cyclosporine. Ann N Y Acad Sci*, 1996. **800**: p. 74-88.
 41. Dobrin, P.B. and R. Mrkvicka, *Failure of elastin or collagen as possible critical connective tissue alterations underlying aneurysmal dilatation. Cardiovasc Surg*, 1994. **2**(4): p. 484-8.
 42. Elefteriades, J., *Reduced tensile strength of skin from the spontaneously aneurysm-prone Blotchy mouse. Surg Forum*, 1982. **33**: p. 58-60.
 43. Elmore, J.R., B. F. Keister, D. P. Franklin, J. R. Youkey, D. J. Carey, *Expression of matrix metalloproteinases and TIMPs in human abdominal aortic aneurysms. Ann Vasc Surg*, 1998. **12**(3): p. 221-8.
 44. Erb, W.N., *Immunocytochemical detection of T-cell and B-cell populations in routine blood smear. Lancet*, 1984: p. 1:1042-1045.
 45. Foster, J.H., B. L. Bolasny, W. G. Gobbel Jr., H. W. Scott, Jr., *Comparative study of elective resection and expectant treatment of abdominal aortic aneurysm. Surg Gynecol Obstet*, 1969. **129**(1): p. 1-9.
 46. Gacheru, S., C. McGee, J. Y. Uriu-Hare, T. Kosonen, S. Packman, D. Tinker, S. A. Krawetz, *Expression and accumulation of lysyl oxidase, elastin, and type I procollagen in human Menkes and mottled mouse fibroblasts. Arch Biochem Biophys*, 1993. **301**(2): p. 325-9.
 47. Geiger, B.J., H. Steenbock, and H.T. Parsons, *Nutrition Classics. The Journal of Nutrition* 6:427-442, 1933. *Lathyrism in the rat. Beatrice J. Geiger, Harry Steenbock, and Helen T. Parsons. Nutr Rev*, 1976. **34**(8): p. 240-1.

48. German, W.J. and S.P.W. Black, *Experimental production of carotid aneurysms*. N Engl J Med, 1954. **250**: p. 1104-106.
49. Gertz, S.D., A. Kurgan, and D. Eisenberg, *Aneurysm of the rabbit common carotid artery induced by periarterial application of calcium chloride in vivo*. J Clin Invest, 1988. **81**(3): p. 649-56.
50. Gilbert, E.F., H. J. Bruyere Jr., S. Ishikawa, M. O. Cheung, R. J. Hodach, *The effects of methylxanthines on catecholamine-stimulated and normal chick embryos*. Teratology, 1977. **16**(1): p. 47-52.
51. Gow, B.S., M. J. Legg, W. Yu, U. Kukongviriyapan, L. L. Lee, *Does vibration cause poststenotic dilatation in vivo and influence atherogenesis in cholesterol-fed rabbits?* J Biomech Eng, 1992. **114**(1): p. 20-5.
52. Grange, J.J., V. Davis, and B.T. Baxter, *Pathogenesis of abdominal aortic aneurysm: an update and look toward the future*. Cardiovasc Surg, 1997. **5**(3): p. 256-65.
53. Greenwald, R.A., S. A. Moak, N. S. Ramamurthy, L. M. Golub, *Tetracyclines suppress matrix metalloproteinase activity in adjuvant arthritis and in combination with flurbiprofen, ameliorate bone damage*. J Rheumatol, 1992. **19**(6): p. 927-38.
54. Gregory, A.K., N. X. Yin, J. Capella, S. Xia, K. M. Newman, M. D. Tilson, *Features of autoimmunity in the abdominal aortic aneurysm*. Arch Surg, 1996. **131**(1): p. 85-8.
55. Gresham, G.A. and A.N. Howard, *Aortic rupture in the turkey*. J Atheroscler Res, 1961. **1**: p. 75-80.
56. Halloran, B.G., V. A. Davis, B. M. McManus, T. G. Lynch, B. T. Baxter, *Localization of aortic disease is associated with intrinsic differences in aortic structure*. J Surg Res, 1995. **59**(1): p. 17-22.
57. Halpern, V.J., G. B. Nackman, R. H. Gandhi, E. Irizarry, J. V. Scholes, W. G. Ramey, M. D. Tilson, *The elastase infusion model of experimental aortic aneurysms: synchrony of induction of endogenous proteinases with matrix destruction and inflammatory cell response*. J Vasc Surg, 1994. **20**(1): p. 51-60.
58. Halsted.W.S., *Cylindrical dilation of the common carotid artery following partial occlusion of the innominate and ligation of the subclavian*. Surg Gynecol Obstet, 1981. **27**: p. 547-554.
59. Hannawa, K.K., J. L. Eliason, D. T. Woodrum, C. G. Pearce, K. J. Roelofs, V. Grigoryants, M. J. Eagleton, *L-selectin-mediated neutrophil recruitment in experimental rodent aneurysm formation*. Circulation, 2005. **112**(2): p. 241-7.
60. Hashimoto, N., H. Handa, and F. Hazama, *Experimentally induced cerebral aneurysms in rats*. Surg Neurol, 1978. **10**(1): p. 3-8.
61. Hashimoto, N., H. Handa, and F. Hazama, *Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: part II*. Surg Neurol, 1979. **11**(3): p. 243-6.
62. Hashimoto, N., H. Handa, and F. Hazama, *Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Part III. Pathology*. Surg Neurol, 1979. **11**(4): p. 299-304.
63. Hill, K.E. and J.M. Davidson, *Induction of increased collagen and elastin biosynthesis in copper-deficient pig aorta*. Arteriosclerosis, 1986. **6**(1): p. 98-104.

64. Holmes, D.R., D. Petrinec, W. Wester, R. W. Thompson, J. M. Reilly, *Indomethacin prevents elastase-induced abdominal aortic aneurysms in the rat*. J Surg Res, 1996. **63**(1): p. 305-9.
65. Horejs, D., P. M. Gilbert, S. Burstein, R. L. Vogelzang, *Normal aortoiliac diameters by CT*. J Comput Assist Tomogr, 1988. **12**(4): p. 602-3.
66. Hugue, C.J., M. E. Safar, M. C. Aliefierakis, R. G. Asmar, G. M. London, *The ratio between ankle and brachial systolic pressure in patients with sustained uncomplicated essential hypertension*. Clin Sci (Lond), 1988. **74**(2): p. 179-82.
67. Hugues, C.J., R. G. Asmar, G. M. London, M. E. Safar, *Age- and sex-related changes in the ratio between ankle and brachial systolic pressure in normal subjects*. Angiology, 1988. **39**(3 Pt 1): p. 219-26.
68. Hunt, D.M., *Primary defect in copper transport underlies mottled mutants in the mouse*. Nature, 1974. **249**(460): p. 852-4.
69. Ishikawa, S., E. F. Gilbert, H. J. Bruyere Jr., M. O. Cheung, *Aortic aneurysm associated with cardiac defects in theophylline stimulated chick embryos*. Teratology, 1978. **18**(1): p. 23-30.
70. Jayaraj, A.P., *Dissecting aneurysm of aorta in rats fed with cysteamine*. Br J Exp Pathol, 1983. **64**(5): p. 548-52.
71. Johansen, K. and T. Koepsell, *Familial tendency for abdominal aortic aneurysms*. Jama, 1986. **256**(14): p. 1934-6.
72. Juvonen, J., T. Juvonen, A. Laurila, H. Alakarppa, K. Lounatmaa, H. M. Surcel, M. Leinonen, M. I. Kairaluoma, P. Saikku, *Demonstration of Chlamydia pneumoniae in the walls of abdominal aortic aneurysms*. J Vasc Surg, 1997. **25**(3): p. 499-505.
73. Kang, A.H. and R.L. Trelstad, *A collagen defect in homocystinuria*. J Clin Invest, 1973. **52**(10): p. 2571-8.
74. Karapolat, S., Y. Unlu, B. Erkut, H. Kocak, F. Erdogan, *Influence of Indomethacin in the Rat Aneurysm Model*. Ann Vasc Surg, 2006.
75. Kawaguti, M. and A. Hamano, *Numerical study on post-stenotic dilatation*. Biorheology, 1983. **20**(5): p. 507-18.
76. Koch, A.E., G. K. Haines, R. J. Rizzo, J. A. Radosovich, R. M. Pope, P. G. Robinson, W. H. Pearce, *Human abdominal aortic aneurysms. Immunophenotypic analysis suggesting an immune-mediated response*. Am J Pathol, 1990. **137**(5): p. 1199-213.
77. Kolb, C.A. and J.M. Mansfield, *Effects of theophylline treatment on mouse B-16 melanoma cells in vitro*. Oncology, 1980. **37**(5): p. 343-52.
78. Kraemer, H.P., T. Nemetschek, and F. Gross, *Effects of hydralazine on the elasticity of collagen*. Experientia, 1979. **35**(4): p. 527-8.
79. Kuivaniemi, H., H. Shibamura, C. Arthur, R. Berguer, C. W. Cole, T. Juvonen, R. A. Kline, R. Limet, G. Mackean, O. Norrgard, G. Pals, J. T. Powell, P. Rainio, N. Sakalihasan, C. van Vlijmen-van Keulen, A. Verloes, G. Tromp, *Familial abdominal aortic aneurysms: collection of 233 multiplex families*. J Vasc Surg, 2003. **37**(2): p. 340-5.
80. Lalach, J.J., *Production of aortic rupture in rats fed purified diets and beta-aminopropionitrile*. AMA Arch Pathol, 1956. **61**(6): p. 520-4.
81. Lan, H.Y. and D.J. Nikolic Paterson, *Multiple Immunoenzyme Staining*. In: S. R. Shi, J. Gu, C. R. Taylor: *Antigen Retrieval Techniques: Immunohistochemistry and Molecular Morphology*. Kap. 7, 129-138, 1. Aufl., Eaton Publishing, Natick, MA. 2000.

82. Lederle, F.A., S. E. Wilson, G. R. Johnson, D. B. Reinke, F. N. Littooy, C. W. Acher, D. J. Ballard, L. M. Messina, I. L. Gordon, E. P. Chute, W. C. Krupski, S. J. Busuttil, G. W. Barone, S. Sparks, L. M. Graham, J. H. Rapp, M. S. Makaroun, G. L. Moneta, R. A. Cambria, R. G. Makhoul, D. Eton, H. J. Ansel, J. A. Freischlag, D. Bandyk, *Immediate repair compared with surveillance of small abdominal aortic aneurysms*. N Engl J Med, 2002. **346**(19): p. 1437-44.
83. Liao, S., M. Miralles, B. J. Kelley, J. A. Curci, M. Borhani, R. W. Thompson, *Suppression of experimental abdominal aortic aneurysms in the rat by treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors*. J Vasc Surg, 2001. **33**(5): p. 1057-64.
84. McCune, W.S., A. Samadi, and B. Blades, *Experimental aneurysms*. Ann Surg, 1953. **138**(2): p. 216-8.
85. McDonald, B.E., H.R. Bird, and F.M. Strong, *Production of aortic aneurysms in turkeys and effect of various compounds in potentiating induced aortic aneurysms*. Proc Soc Exp Biol Med, 1963. **113**: p. 728-732.
86. McDonald, D.A., *Blood Flow in Arteries*, ed. W.a. Wilkins. 1974, Baltimore.
87. McMillan, W.D. and W.H. Pearce, *Increased plasma levels of metalloproteinase-9 are associated with abdominal aortic aneurysms*. J Vasc Surg, 1999. **29**(1): p. 122-7; discussion 127-9.
88. McMillan, W.D., N. A. Tamarina, M. Cipollone, D. A. Johnson, M. A. Parker, W. H. Pearce, *Size matters: the relationship between MMP-9 expression and aortic diameter*. Circulation, 1997. **96**(7): p. 2228-32.
89. Middleton, C.C., *Naturally occurring atherosclerosis in turkeys*. Proc Soc Exp Biol Med, 1969. **130**(2): p. 638-42.
90. Miller, F.J., Jr., W. J. Sharp, X. Fang, L. W. Oberley, T. D. Oberley, N. L. Weintraub, *Oxidative stress in human abdominal aortic aneurysms: a potential mediator of aneurysmal remodeling*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002. **22**(4): p. 560-5.
91. Moore-Jones, D. and H.M. Perry, Jr., *Radioautographic localization of hydralazine-1-C-14 in arterial walls*. Proc Soc Exp Biol Med, 1966. **122**(2): p. 576-9.
92. Moulder, P.V., *Physiology and biomechanics of aneurysms*. In Webb WR (ed): Aneurysms. Baltimore, Williams & Wilkins, 1983: p. 19.
93. Nackman, G.B., F. J. Karkowski, V. J. Halpern, H. P. Gaetz, M. D. Tilson, *Elastin degradation products induce adventitial angiogenesis in the Anidjar/Dobrin rat aneurysm model*. Surgery, 1997. **122**(1): p. 39-44.
94. Nevitt, M.P., D.J. Ballard, and J.W. Hallett, Jr., *Prognosis of abdominal aortic aneurysms. A population-based study*. N Engl J Med, 1989. **321**(15): p. 1009-14.
95. Newman, K.M., J. Jean-Claude, H. Li, W. G. Ramey, M. D. Tilson, *Cytokines that activate proteolysis are increased in abdominal aortic aneurysms*. Circulation, 1994. **90**(5 Pt 2): p. II224-7.
96. Nishikawa, M., Y. Yonekawa, and I. Matsuda, *Experimental aneurysms*. Surg Neurol, 1976. **5**(1): p. 15-8.
97. O'Dell, B.L., B. C. Hardwick, G. Reynolds, J. E. Savage, *Connective tissue defect in the chick resulting from copper deficiency*. Proc Soc Exp Biol Med, 1961. **108**: p. 402-5.

98. Ojha, M., K.W. Johnston, and R.S. Cobbold, *Evidence of a possible link between poststenotic dilation and wall shear stress*. J Vasc Surg, 1990. **11**(1): p. 127-33; discussion 133-5.
99. Olsen, P.S., T. Schroeder, K. Agerskov, O. Roder, S. Sorensen, M. Perko, J. E. Lorentzen, *Surgery for abdominal aortic aneurysms. A survey of 656 patients*. J Cardiovasc Surg (Torino), 1991. **32**(5): p. 636-42.
100. Oral communication, *Sigma technical service*. March 11, 1998.
101. Osborne-Pellegrin, M.J., M. Coutard, P. Poitevin, J. B. Michel, B. I. Levy, *Induction of aneurysms in the rat by a stenosing cotton ligature around the inter-renal aorta*. Int J Exp Pathol, 1994. **75**(3): p. 179-90.
102. Oskoui, P., I. Stadler, and R.J. Lanzafame, *A preliminary study of laser tissue soldering as arterial wall reinforcement in an acute experimental aneurysm model*. Lasers Surg Med, 2003. **32**(5): p. 346-8.
103. Ozsvath, K.J., H. Hirose, S. Xia, M. D. Tilson, *Molecular mimicry in human aortic aneurysmal diseases*. Ann N Y Acad Sci, 1996. **800**: p. 288-93.
104. Pappas, G. and J. Burquist, *Creation of dissecting thoracic aortic aneurysms in dogs*. J Surg Res, 1970. **10**(7): p. 333-6.
105. Parodi, J.C., J.C. Palmaz, and H.D. Barone, *Transfemoral intraluminal graft implantation for abdominal aortic aneurysms*. Ann Vasc Surg, 1991. **5**(6): p. 491-9.
106. Participants, U.K.S.A.T., *Long-term outcomes of immediate repair compared with surveillance of small abdominal aortic aneurysms*. N Engl J Med, 2002. **346**(19): p. 1445-52.
107. Patel, M.I., D. T. Hardman, C. M. Fisher, M. Appleberg, *Current views on the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms*. J Am Coll Surg, 1995. **181**(4): p. 371-82.
108. Paz, M.A. and S. Seifter, *Immunological studies of collagens modified by reaction with hydralazine*. Am J Med Sci, 1972. **263**(4): p. 281-90.
109. Pearce, W.H. and A.E. Koch, *Cellular components and features of immune response in abdominal aortic aneurysms*. Ann N Y Acad Sci, 1996. **800**: p. 175-85.
110. Petersen, E., J. Boman, K. Persson, C. Arnerlov, G. Wadell, P. Juto, A. Eriksson, G. Dahlen, K.A. Angquist, *Chlamydia pneumoniae in human abdominal aortic aneurysms*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1998. **15**(2): p. 138-42.
111. Petersen, M.J., W. M. Abbott, P. B. H'Doubler Jr., G. J. L'Italien, B. E. Hoppel, B. R. Rosen, J. T. Fallon, R. W. Orkin, *Hemodynamics and aneurysm development in vascular allografts*. J Vasc Surg, 1993. **18**(6): p. 955-63; discussion 963-4.
112. Petrides, G.L.P.E., *Biochemie und Pathobiochemie*. 7 ed: Springer Verlag.
113. Petrincic, D., S. Liao, D. R. Holmes, J. M. Reilly, W. C. Parks, R. W. Thompson, *Doxycycline inhibition of aneurysmal degeneration in an elastase-induced rat model of abdominal aortic aneurysm: preservation of aortic elastin associated with suppressed production of 92 kD gelatinase*. J Vasc Surg, 1996. **23**(2): p. 336-46.
114. Ponseti, I.V. and W.A. Baird, *Scoliosis and dissecting aneurysm of the aorta in rats fed with Lathyrus odoratus seeds*. Am J Pathol, 1952. **28**(6): p. 1059-77.

115. Pulford, K.A., D. Y. Mason, E. M. Rigney, K. J. Micklem, M. Jones, W. P. Stross, K. C. Gatter, *KP1: A new monoclonal antibody that detects a monocyte/macrophage associated antigen in routinely processed tissue sections*. J Clin Pathol, 1989.
116. Pulford, K.A., A. Sispos, J. L. Cordell, W. P. Stross, D. Y. Mason, *Distribution of the CD68 macrophage/myeloid associated antigen*. Int Immunol, 1990: p. 2:973-980.
117. Quigley, M.R., K. Heiferman, H. C. Kwaan, D. Vidovich, P. Nora, L. J. Cerullo, *Laser-sealed arteriotomy: a reliable aneurysm model*. J Neurosurg, 1987. **67**(2): p. 284-7.
118. Quigley, M.R., G.F. Tuite, and J.W. Cozzens, *Histology and angiography in a bifurcation aneurysm model*. Surg Neurol, 1988. **30**(6): p. 445-51.
119. Rasmussen, T.E. and J.W. Hallett, Jr., *Inflammatory aortic aneurysms. A clinical review with new perspectives in pathogenesis*. Ann Surg, 1997. **225**(2): p. 155-64.
120. Read, R., *Deficiencies of copper and a compound with ion-exchange characteristics of pyridinoline in skin from patients with abdominal aortic aneurysms (Discussion of paper by Tilson, M.D., Davis, G.)*. Surgery, 1983. **24**: p. 134-141.
121. Reilly, J.M., E. B. Savage, C. M. Brophy, M. D. Tilson, *Hydrocortisone rapidly induces aortic rupture in a genetically susceptible mouse*. Arch Surg, 1990. **125**(6): p. 707-9.
122. Ricci, M.A., G. Strindberg, J. M. Slaiby, R. Guibord, L. J. Bergersen, P. Nichols, E. D. Hendley, D. B. Pilcher, *Anti-CD 18 monoclonal antibody slows experimental aortic aneurysm expansion*. J Vasc Surg, 1996. **23**(2): p. 301-7.
123. Roach, M.R. and E. Melech, *The effect of sonic vibration on isolated human iliac arteries*. Can J Physiol Pharmacol, 1971. **49**(4): p. 288-91.
124. Rodbard, S., K. Ikeda, and M. Montes, *An analysis of mechanisms of post stenotic dilatation*. Angiology, 1967. **18**(6): p. 349-67.
125. S. Noll, S.S.-K., *Praxis der immunhistochemie. 1. Aufl., 15-18, Urban und Fischer, München*. 2000.
126. Saito, N., K. A. Pulford, J. Breton-Gorius, J. M. Masse, D. Y. Mason, E. M. Cramer, *Ultrastructural localization of the CD 68 macrophage-associated antigen in human blood neutrophils and monocytes*. Am J Pathol, 1991.
127. Sakalihasan, N., P. Delvenne, B. V. Nussgens, R. Limet, C. M. Lapiere, *Activated forms of MMP2 and MMP9 in abdominal aortic aneurysms*. J Vasc Surg, 1996. **24**(1): p. 127-33.
128. Schilling, E.D. and F.M. Strong, *Nutrition Classics. Journal of the American Chemical Society 76: 2848, 1954. Isolation, structure and synthesis of a lathyrus factor from L. odoratus*. Nutr Rev, 1976. **34**(8): p. 242.
129. Senapati, A., L. K. Carlsson, C. D. Fletcher, N. L. Browse, R. P. Thompson, *Is tissue copper deficiency associated with aortic aneurysms?* Br J Surg, 1985. **72**(5): p. 352-3.
130. Senior, R.M., N. L. Connolly, J. D. Cury, H. G. Welgus, E. J. Campbell, *Elastin degradation by human alveolar macrophages. A prominent role of metalloproteinase activity*. Am Rev Respir Dis, 1989. **139**(5): p. 1251-6.

131. Simpson, C.F., J.M. Kling, and R.F. Palmer, *Beta-aminopropionitrile-induced dissecting aneurysms of turkeys: treatment with propranolol*. Toxicol Appl Pharmacol, 1970. **16**(1): p. 143-53.
132. Simpson, C.F., J. M. Kling, R. C. Robbins, R. H. Harms, *Beta-aminopropionitrile-induced aortic ruptures in turkeys: inhibition by reserpine and enhancement by monoamine oxidase inhibitors*. Toxicol Appl Pharmacol, 1968. **12**(1): p. 48-59.
133. Simpson, C.F. and W.J. Taylor, *Effect of hydralazine on aortic rupture induced by B-aminopropionitrile in turkeys*. Circulation, 1982. **65**(4): p. 704-8.
134. Steffee, C.H. and K.C. Snell, *Dissecting aortic aneurysm in hamsters treated with cortisone acetate*. Proc Soc Exp Biol Med, 1955. **90**(3): p. 712-4.
135. Stehbens, W.E., *Experimental production of aneurysms by microvascular surgery in rabbits*. Vasc Surg, 1973. **7**(3): p. 165-75.
136. Steinberg, C.R., M. Archer, and I. Steinberg, *Measurement of the abdominal aorta after intravenous aortography in health and arteriosclerotic peripheral vascular disease*. Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med, 1965. **95**(3): p. 703-8.
137. Sterpetti, A.V., A. Cavallaro, N. Cavallari, P. Allegrucci, A. Tamburelli, F. Agosta, S. Bartoli, *Factors influencing the rupture of abdominal aortic aneurysms*. Surg Gynecol Obstet, 1991. **173**(3): p. 175-8.
138. Sterpetti, A.V., W.J. Hunter, and R.D. Schultz, *Congenital abdominal aortic aneurysms in the young. Case report and review of the literature*. J Vasc Surg, 1988. **7**(6): p. 763-9.
139. Strickland, H.L. and M.G. Bond, *Aneurysms in a large colony of squirrel monkeys (Saimiri sciureus)*. Lab Anim Sci, 1983. **33**(6): p. 589-92.
140. Szilagyi, D.E., J.P. Elliott, and R.F. Smith, *Clinical fate of the patient with asymptomatic abdominal aortic aneurysm and unfit for surgical treatment*. Arch Surg, 1972. **104**(4): p. 600-6.
141. Tambiah, J. and J.T. Powell, *Chlamydia pneumoniae antigens facilitate experimental aortic dilatation: prevention with azithromycin*. J Vasc Surg, 2002. **36**(5): p. 1011-7.
142. Tilson, M.D., K. J. Ozsvath, H. Hirose, S. Xia, *A genetic basis for autoimmune manifestations in the abdominal aortic aneurysm resides in the MHC class II locus DR-beta-1*. Ann N Y Acad Sci, 1996. **800**: p. 208-15.
143. Tilson, M.D. and H.C. Stansel, *Differences in results for aneurysm vs occlusive disease after bifurcation grafts: results of 100 elective grafts*. Arch Surg, 1980. **115**(10): p. 1173-5.
144. Trillo, A. and M.D. Haust, *Arterial elastic tissue and collagen in experimental poststenotic dilatation in dogs*. Exp Mol Pathol, 1975. **23**(3): p. 473-90.
145. Troupp, H. and T. Rinne, *Methyl-2-Cyanoacrylate (Eastman 910) in Experimental Vascular Surgery with a Note on Experimental Arterial Aneurysms*. J Neurosurg, 1964. **21**: p. 1067-9.
146. van der Vliet, J.A. and A.P. Boll, *Abdominal aortic aneurysm*. Lancet, 1997. **349**(9055): p. 863-6.
147. Verloes, A., N. Sakalihasan, L. Koulischer, R. Limet, *Aneurysms of the abdominal aorta: familial and genetic aspects in three hundred thirteen pedigrees*. J Vasc Surg, 1995. **21**(4): p. 646-55.

148. Webster, M.W., R. E. Ferrell, P. L. St Jean, P. P. Majumder, S. R. Fogel, D. L. Steed, *Ultrasound screening of first-degree relatives of patients with an abdominal aortic aneurysm*. J Vasc Surg, 1991. **13**(1): p. 9-13; discussion 13-4.
149. Wesenberg, R.L., J.L. Gwinn, and G.R. Barnes, Jr., *Radiological findings in the kinky-hair syndrome*. Radiology, 1969. **92**(3): p. 500-6.
150. White, J.C., G.P. Sayre, and J.P. Whisnant, *Experimental destruction of the media for the production of intracranial arterial aneurysms*. J Neurosurg, 1961. **18**: p. 741-5.
151. White, J.V., K. Haas, S. Phillips, A. J. Comerota, *Adventitial elastolysis is a primary event in aneurysm formation*. J Vasc Surg, 1993. **17**(2): p. 371-80; discussion 380-1.
152. White, J.V. and S.L. Mazzacco, *Formation and growth of aortic aneurysms induced by adventitial elastolysis*. Ann N Y Acad Sci, 1996. **800**: p. 97-120.
153. Wills, A., M. M. Thompson, M. Crowther, R. D. Sayers, P. R. Bell, *Pathogenesis of abdominal aortic aneurysms--cellular and biochemical mechanisms*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1996. **12**(4): p. 391-400.
154. Wolinsky, H. and S. Glagov, *Comparison of abdominal and thoracic aortic medial structure in mammals. Deviation of man from the usual pattern*. Circ Res, 1969. **25**(6): p. 677-86.
155. Xia, S., K. Ozsvath, H. Hirose, M. D. Tilson, *Partial amino acid sequence of a novel 40-kDa human aortic protein, with vitronectin-like, fibrinogen-like, and calcium binding domains: aortic aneurysm-associated protein-40 (AAAP-40) [human MAGP-3, proposed]*. Biochem Biophys Res Commun, 1996. **219**(1): p. 36-9.
156. Yajima, N., M. Masuda, M. Miyazaki, N. Nakajima, S. Chien, J. Y. Shyy, *Oxidative stress is involved in the development of experimental abdominal aortic aneurysm: a study of the transcription profile with complementary DNA microarray*. J Vasc Surg, 2002. **36**(2): p. 379-85.
157. Yamaguchi, T., M. Yokokawa, M. Suzuki, S. Higashide, Y. Katoh, S. Sugiyama, T. Misaki, *Factors influencing mortality in the rat elastase-induced-aneurysm model*. J Surg Res, 2000. **94**(2): p. 81-3.
158. Yamaguchi, T., M. Yokokawa, M. Suzuki, S. Higashide, Y. Katoh, S. Sugiyama, T. Misaki, *Morphologic changes in the aorta during elastase infusion in the rat aneurysm model*. J Surg Res, 2001. **95**(2): p. 161-6.
159. Yamaguchi, T., M. Yokokawa, M. Suzuki, S. Higashide, Y. Katoh, S. Sugiyama, T. Misaki, *The time course of elastin fiber degeneration in a rat aneurysm model*. Surg Today, 2000. **30**(8): p. 727-31.
160. Yokoyama, H., R. Matsuoka, H. J. Bruyere Jr., E. F. Gilbert, H. Uno, *Light- and electron-microscopic observations of theophylline-induced aortic aneurysms in embryonic chicks*. Am J Pathol, 1983. **112**(3): p. 258-66.
161. Young, P.H. and M.G. Yasargil, *Experimental carotid artery aneurysms in rats: a new model for microsurgical practice*. J Microsurg, 1982. **3**(3): p. 135-46.
162. Zarins, C.K. and S. Glagov, *Aneurysms and obstructive plaques: different local responses to atherosclerosis*. Aneurysms: Diagnosis and Treatment, ed. Y.J. Bergan JJ, eds. 1992, New York: Grune & Stratton, 61-82.

163. Zarins, C.K., S. Glagov, D. Vesselinovitch, R. W. Wissler, *Aneurysm formation in experimental atherosclerosis: relationship to plaque evolution*. J Vasc Surg, 1990. **12**(3): p. 246-56.
164. Zarins, C.K., C.P. Xu, and S. Glagov, *Aneurysmal enlargement of the aorta during regression of experimental atherosclerosis*. J Vasc Surg, 1992. **15**(1): p. 90-8; discussion 99-101.
165. Zatina, M.A., C. K. Zarins, B. L. Gewertz, S. Glagov, *Role of medial lamellar architecture in the pathogenesis of aortic aneurysms*. J Vasc Surg, 1984. **1**(3): p. 442-8.

7. Erklärung zur Vorabveröffentlichung

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden nach Genehmigung vom 11.02.2008 durch Herrn PD Dr. J. Heckenkamp sowie dem Dekan der medizinischen Fakultät der Universität Köln zum Teil in folgenden Schriften vorab veröffentlicht:

Heckenkamp J, Theis T, Schumacher L, Aleksic M, Gawenda M, Fries JWU, Brunkwall J: Photodynamic therapy strengthens the arterial wall but fails to limit growth in experimental aortic aneurysms. XX Annual Meeting of the European Society for Vascular Surgery, Prag, Tschechische Republik, 21-24.09.2006

Heckenkamp J, Aleksic M, Theis T, Schumacher L, Gawenda M, Brunkwall J: Einfluss photodynamischer Therapie auf die Gefäßwandmatrix und das Wachstum experimenteller Aortenaneurysmen. Jahreskongress 2005 der deutschen Gesellschaft für Gefäßchirurgie – Gesellschaft für vaskuläre und endovaskuläre Chirurgie, Stuttgart, 21. – 24.09.2005

8. Verzeichnis der Abbildungen

- Abb. 1: Typische Lage eines Aortenaneurysmas
- Abb. 2: Aorto-biiliakale und Rohrprothese
- Abb. 3: Ausschnitt mikroskopisches Präparat thorakale Aorta, Elastica van Gieson Färbung
- Abb. 4: Molekularer Aufbau von Kollagen, schematische Darstellung
- Abb. 5: Schematische Darstellung von Elastischen Fasern unter Zug und Entspannung
- Abb. 6: Dreidimensionaler Aufbau eines Gefäßes
- Abb. 7: Operationssitus
- Abb. 8: Schematische Darstellung der immunhistochemischen Darstellung mit der Streptavidin–Biotin–Methode
- Abb. 9: Mikroskopisches Bild eines Kontrolltieres, links HE–, rechts EvG–Färbung
- Abb. 10: Übersichtsaufnahmen von Kontrolltier (oben), direkt getötet (Mitte) und nach 14 d Elastasebehandlung (unten), gleiche Vergrößerung
- Abb. 11: Mikroskopisches Bild, Tier direkt nach Elastasebehandlung getötet, HE– (links) und EvG– (rechts) Färbung, gleiche Vergrößerung
- Abb. 12: Detailaufnahmen 14 d nach Elastasebehandlung, HE– (links) und EvG– (rechts) Färbung
- Abb. 13: Vergleich Aorta, Kontrolle (links) mit Elastasebehandlung (30 d)
- Abb. 14: Vergleich Umfang abdominelle Aorta (Kontrolle, links) mit Elastase (30 d)
- Abb. 15: Vergleich zwischen Aorta direkt nach Elastase (links) und Bauchaortenaneurysma (14 d)
- Abb. 16: Immunhistochemische Färbung der Aorta eines Tieres aus der Elastase 14 d Gruppe, Gleicher Abschnitt des Gefäßes, gleiche Vergrößerung, CD 3, CD 20, CD 68
- Abb. 17: Immunhistochemische Darstellung der Gefäßwand Elastasegruppe 14 d, gleicher Gefäßabschnitt, CD 3, CD 20, CD 68
- Abb. 18: Immunhistochemische Detailaufnahme, Aorta, Elastase 14 d, CD 3
- Abb. 19: Immunhistochemische Detailansicht, Aorta, Elastasegruppe 14 d, CD 3

Abb. 20: Immunhistochemische Detailansicht, Aorta, Elastasegruppe 14 d, CD 68

Abb. 21: Box-Plots der Gruppen, ohne Behandlung (Kontrolle) und mit Elastasebehandlung nach 14 d und 30 d

Abb. 22: Mittelwert der einzelnen Gruppen mit 95 % Konfidenzintervall

Abb. 23: Statistischer Vergleich zwischen Kontrolle und Tieren mit Elastasebehandlung

Abb. 24: Mittelwert der Gruppen mit Elastasebehandlung und ohne Behandlung mit 95 % Konfidenzintervall

Tab. 1: Rupturrisiko eines Aortenaneurysmas in Abhängigkeit vom Durchmesser

Tab. 2: Deskriptive Datenanalyse Kontrolle und Elastasebehandlung nach 14 d und 30 d

Tab. 3: Statistische Maßzahlen der Kontrollgruppe und der Elastasebehandlungsgruppe

9. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Thorsten Theis
Geburtsdatum	06.01.1981
Geburtsort	Köln
Familienstand	Ledig

Schulbildung

1987–1991	Grundschule
1991–2000	Rhein – Gymnasium Köln – Mülheim

Hochschulausbildung

WS 01/02– SS 03	Vorklinik (Universität zu Köln)
09.09.03	Physikum
WS 03/04– SS 07	Klinik (Universität zu Köln)
13.11.2007	Ärztliche Prüfung, bestanden mit Gesamtnote gut
28.11.2007	Approbation als Arzt, ausgestellt von der Bezirksregierung Köln

Famulaturen

03.2004	Abteilung für Unfallchirurgie, St. Antonius Krankenhaus Schleiden
03.2005	Abteilung für Gefäßchirurgie, Klinikum der Universität zu Köln
08.2005	Department Chirurgie Universitätsspital Zürich
09.2005	Chirurgische Ambulanz der Klinken der Stadt Köln Merheim

Praktisches Jahr

08.–12.2006	Innere Medizin, Kantonsspital Glarus, Dr. Brack
12.06–03.2007	Chirurgie, Kliniken der Stadt Köln Merheim, Prof. Bouillon
04.–07.2007	HNO, Kliniken der Universität zu Köln, Prof. Hüttenbrink

Berufserfahrung

Seit 01.01.2008	Assistenzarzt, Chirurgie Marienhospital Osnabrück
-----------------	---