

Simon Schwill

Dr. med.

Charakterisierung der Fibrillin-1-defizienten Maus (mgR/mgR) und Etablierung der in vivo Transplantation von adenoviral transduzierten Aorten im Mausmodell für die Gentherapie des Marfan-Syndroms

Promotionsfach: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. Klaus Kallenbach

Bis heute stellen Aneurysmabildung und Aortendissektion lebensbedrohliche Komplikationen des Marfan-Syndroms (MFS) dar. Die Pathogenese dieser Aortenerkrankung ist nicht abschließend geklärt. Die Fibrillin-1-defiziente Maus (mgR/mgR) ist als Modell des MFS bekannt, eine Quantifizierung ihrer phänotypischen Charakteristika und eine detaillierte histologische Untersuchung aller Abschnitte der Aorta waren bisher nicht durchgeführt worden. Die Ziele dieser Arbeit stellten die Etablierung einer verlässlichen Genotypisierung der mgR/mgR-Maus, die detaillierte Beschreibung der makroskopischen und histologischen Merkmale der mgR/mgR-Maus im Geschlechtervergleich und die Reduktion der proteolytischen Aktivität von Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) durch eine adenovirale Gentherapie mit TIMP-1 (Gewebspezifischer Inhibitor der MMPs) als Pilotversuch einer somatischen Gentherapie bei MFS dar.

Nach Etablierung einer Genotypisierung mittels q-PCR wurde eine Nekropsie an 50 männlichen Mäusen zur Validierung der Genotyp-Phänotyp-Korrelation durchgeführt. Im Anschluss wurden männliche und weibliche mgR/mgR-Mäuse im Alter von 14 bis 19 Wochen im Vergleich zu altersgleichen Wildtypen (WT) makroskopisch charakterisiert (n=10 je Gruppe), der Körperbau und die Aorta mittels Computertomographie in vivo dargestellt (n=3 je Gruppe) und eine histologische Untersuchung in vier Abschnitten der Aorta durchgeführt (n=7 je Gruppe). Die Endpunkte der histologischen Untersuchung stellten die Anzahl der Elastinbrüche pro Gesichtsfeld und der Innendurchmesser der Aorta dar, welche in verblindeten und randomisierten Schnitten von zwei unabhängigen Untersuchern bestimmt wurden. In einem dritten Schritt erfolgte die adenovirale Transduktion von Zellen und Mauseaorten (Ad.β-Gal und Ad.TIMP-1) ex vivo.

Abschließend wurde die Transplantation von adenoviral transduzierten Aorten im mgR/mgR-Mausmodell etabliert.

MgR/mgR-Mäuse starben in 98% an einer Aortenruptur. Im Gegensatz zu WT-Mäusen zeigten männliche und weibliche mgR/mgR-Mäuse phänotypische Charakteristika des MFS wie verlängerte Extremitäten ($p < 0.001$), eine ventrale Zwerchfellhernie ($p < 0.001$) und eine Kypho-Skoliose ($p < 0.001$). Männliche mgR/mgR-Mäuse wiesen eine geringere Lebenserwartung als weibliche mgR/mgR-Mäuse auf (m: 107 Tage, w: 164 Tage, $p < 0.001$). Die Elastolyse der Media als histologisches Korrelat der Aortenerkrankung war im Gesamtverlauf der Aorta – bei Männchen und bei Weibchen und im Gegensatz zu WT-Mäusen - zu beobachten ($p < 0.001$). Die Aorta ascendens von männlichen mgR/mgR-Mäusen zeigte mehr Elastinbrüche als die anderen Abschnitte der Aorta ($p < 0.001$) und im Vergleich zu WT-Mäusen einen vergrößerten Durchmesser ($p = 0.01$). Im Gegensatz dazu war der Durchmesser der abdominalen Aorta bei männlichen und weiblichen mgR/mgR-Mäusen kleiner verglichen mit WT-Mäusen ($p < 0.001$, $p = 0.01$).

Im Anschluss an die Charakterisierung konnte die erfolgreiche adenovirale Transduktion von Zellen und Mauseaorten mit X-Gal-Färbung, Westernblot und Immunhistochemie nachgewiesen werden. Mittels in-situ-Zymographie konnte gezeigt werden, dass die proteolytische Aktivität von MMPs durch die Überexpression von TIMP-1 reduziert werden kann. Abschließend konnte die Transplantation von adenoviral transduzierten Aorten im mgR/mgR-Mausmodell erfolgreich etabliert und eine persistierende Genexpression des Transgens (humanes TIMP-1) nach drei Tagen in vivo nachgewiesen werden.

Die mgR/mgR-Maus ist als Modell des MFS geeignet und kann sowohl zu der Erforschung der molekularen Mechanismen der Aortenerkrankung, als auch für weitere Untersuchungen der geschlechtsspezifischen Unterschiede bei MFS genutzt werden. Die adenovirale Gentherapie mit Ad.TIMP-1 stellt einen vielversprechenden Ansatz zur Behandlung der kardiovaskulären Manifestationen des MFS dar.