

Abstract

Fibrillin-1 is a glycoprotein of the extracellular matrix that assembles into fibrillin microfibrils, which provide a scaffold for targeting and sequestration of growth factors of the TGF- β superfamily in the extracellular space. Fibrillin-1 deficiency leads to Marfan syndrome which is characterised by long-bone overgrowth and aortic aneurysm formation. Dysregulated TGF- β signalling has been associated with the initiation of aneurysm formation in Marfan syndrome. However, deletion mutations in fibrillin-1 affecting TGF- β anchorage on fibrillin microfibrils do not cause aortic disease.

Mouse models with functional fibrillin-1 mutations have been studied to investigate the pathomechanisms caused by fibrillin-1 deficiency that lead to aneurysm formation. Studies on dominant negative *Fbn1GT8* Marfan mice showed that MMP13 is upregulated and causes severe adventitial collagen degradation in the aorta. Interestingly, in haploinsufficient *Fbn1C1041G* Marfan mice adventitial collagen was less reduced compared to *Fbn1GT8* mice but showed an abnormally increased deposition within the aortic media. This suggests different aortic pathologies in the course of aneurysm formation between the two Marfan mouse models. Genetic ablation of *Mmp13* in *Fbn1GT8* and *Fbn1C1041G* mice improved the observed collagen abnormalities and resulted in a reduction of aneurysm growth in both Marfan mouse models. Both Marfan mice showed a decorin defect in the adventitia, which was only restored in *Fbn1GT8* mice upon *Mmp13* ablation. In addition, pharmacological inhibition of MMP13 in *Fbn1GT8* mice resulted in a reduction of aneurysm growth and may represent a new therapeutic option for aneurysm prevention and formation.

Results from histological and immunofluorescence analyses of *Fbn1GT8* aortas and human aortic biopsies together with cell culture studies suggested that fibrillin-1 deficiency impacts collagen integrity by altering expression levels of collagen modifying enzymes or collagenases due to aberrantly activated BMP signalling. The resulting instability makes collagen more susceptible for MMP13 mediated degradation that also cleave modulators of collagen fibrillogenesis such as decorin.

The findings of this thesis provide new insights into the underlying pathological mechanisms that drive aortic aneurysm formation as a result of fibrillin-1 deficiency. Different fibrillin-1 mutations may induce distinct defects in the FMF ultrastructure that trigger different pathologies which require different treatment regimen. This opens up new treatment strategies for Marfan patients by which different pathomechanisms may be targeted at different stages in the course of the disease.

Zusammenfassung

Fibrillin-1 ist ein Glykoprotein der extrazellulären Matrix, das im Gewebe Mikrofibrillen bildet, welche ein Gerüst für die Bindung und Sequestrierung von Wachstumsfaktoren der TGF- β Superfamilie im Extrazellularraum darstellen. Eine Fibrillin-1 Defizienz führt zum Marfan Syndrom, das durch ein Überwachstum der langen Knochen und die Bildung von Aortenaneurysmen gekennzeichnet ist. Eine gestörte TGF- β Signalübertragung wurde mit der Entstehung von Aneurysmen beim Marfan Syndrom in Verbindung gebracht. Fibrillin-1 Mutationen, die die Verankerung von TGF- β auf Fibrillin Mikrofibrillen deletieren, verursachen jedoch keine Aortenerkrankung.

Mausmodelle mit funktionellen Fibrillin-1 Mutationen wurden untersucht, um die durch Fibrillin-1 Defizienz verursachten Pathomechanismen zu erforschen, die zur Aneurysmenbildung führen. Studien an dominant negativen *Fbn1GT8* Marfan Mäusen zeigten, dass MMP13 hochreguliert wird und einen vermehrten Abbau des adventitiellen Kollagens in der Aorta verursacht. Interessanterweise war bei haploinsuffizienten *Fbn1C1041G* Marfan Mäusen das adventitielle Kollagen im Vergleich zu *Fbn1GT8* Mäusen weniger stark reduziert, zeigte aber eine abnorm erhöhte Ablagerung in der Aortenmedia. Dies deutet auf unterschiedliche Aortenpathologien im Verlauf der Aneurysmenbildung in den beiden Marfan Mausmodellen hin. Die genetische Ablation von *Mmp13* in *Fbn1GT8* und *Fbn1C1041G* verbesserte die beobachteten Kollagenanomalien und führte zu einem Rückgang des Aneurysmawachstums in beiden Marfan Mausmodellen. Beide Marfan Mauslinien zeigten einen Decorin Defekt in der Adventitia, der nur bei *Fbn1GT8* Mäusen durch die Ablation von *Mmp13* wiederhergestellt wurde. Darüber hinaus führte die pharmakologische Inhibition von MMP13 in *Fbn1GT8* Mäusen zu einer Verringerung des Aneurysma-Wachstums und könnte eine neue therapeutische Option für die Prävention und Bildung von Aneurysmen darstellen.

Histologische Färbungen und Immunfluoreszenz Analysen von *Fbn1GT8* Aorta und humanen Aortenbiopsien sowie Zellkulturstudien deuten darauf hin, dass der Fibrillin-1 Mangel die Integrität des Kollagens beeinträchtigt, indem er die Expression von kollagenmodifizierenden Enzymen oder Kollagenasen aufgrund einer abnormal aktivierten BMP Aktivität verändert. Die daraus resultierende Instabilität macht das Kollagen anfälliger für eine durch MMP13 vermittelte Degradation, die auch Modulatoren der Kollagenfibrillogenese wie Decorin betrifft. Die Ergebnisse dieser Arbeit geben neue Einblicke in die zugrundeliegenden pathologischen Mechanismen, die die Bildung von Aortenaneurysmen als Folge einer Fibrillin-1 Defizienz befördern. Verschiedene Fibrillin-1 Mutationen können zu unterschiedlichen Defekten in der Fibrillin Mikrofibrillen Ultrastruktur führen, die verschiedene Pathologien auslösen, die unterschiedliche Behandlungsmethoden erfordern. Dies eröffnet neue Behandlungsstrategien für Marfan Patienten, um unterschiedlichen Pathomechanismen in verschiedenen Stadien des Krankheitsverlaufs gezielt entgegenzuwirken.