

Einleitung

1.1 Funktion des Endothels

Das Endothel bildet eine einreihige Zellschicht, die das Lumen des arteriellen und venösen Gefäßsystems auskleidet. Es stellt nicht nur eine permeable Grenzmembran zwischen extra- und intravasalem Raum dar, sondern ist ein eigenständiges und metabolisch hochaktives Organ (Busse & Fleming, 1993). Neben seiner Funktion als aktive Diffusionsbarriere reguliert das Endothel das vaskuläre Zellwachstum und die Gefäßwandreparatur (Busse & Fleming, 1993; Griendling & Alexander, 1996; Schiffrin, 1994) und moduliert den Gefäßtonus (Furchgott & Zawadzki, 1980; Busse et al., 1985; Vanhoutte, 1988; Busse & Fleming, 1993; Pohl et al., 1986). Darüber hinaus spielt es eine wichtige Rolle beim Stofftransport, bei der Kontrolle von Blutgerinnung und Thrombozytenaggregation und bei immunologischen Prozessen.

1.2 Rolle des Endothels bei der Regulation des Gefäßtonus

Durch eine an die metabolischen und hämodynamischen Bedürfnisse angepasste Regulation des Gefäßtonus wird eine adäquate Durchblutung der Organe gewährleistet und der systemische Blutdruck reguliert. Der Gefäßtonus wird durch den Kontraktionszustand der glatten Muskelzellen der Gefäßwand (*vascular smooth muscle cells*, VSMC) bestimmt und durch zirkulierende humorale Faktoren (z.B. Acetylcholin, Bradykinin, Angiotensin II) und hämodynamische Kräfte (z.B. *shear stress*) reguliert. Das Endothel fungiert als Sensor für diese Reize und vermittelt die Änderungen des Gefäßdurchmessers, indem es vasodilatatorische und vasokonstriktorische Faktoren (Autakoide) synthetisiert und sezerniert. Stickstoffmonoxid (NO), Prostazyklin (PGI₂) und der endotheliale hyperpolarisierende Faktor (EDHF) sind die wichtigsten endothelialen Vasodilatoren, dagegen sind Endothelin-1, Thromboxan A₂ und Prostaglandin H₂ die wesentlichen Vasokonstriktoren. Abb. 1 zeigt eine schematische Übersicht der Rolle des Endothels bei der Vasodilatation.

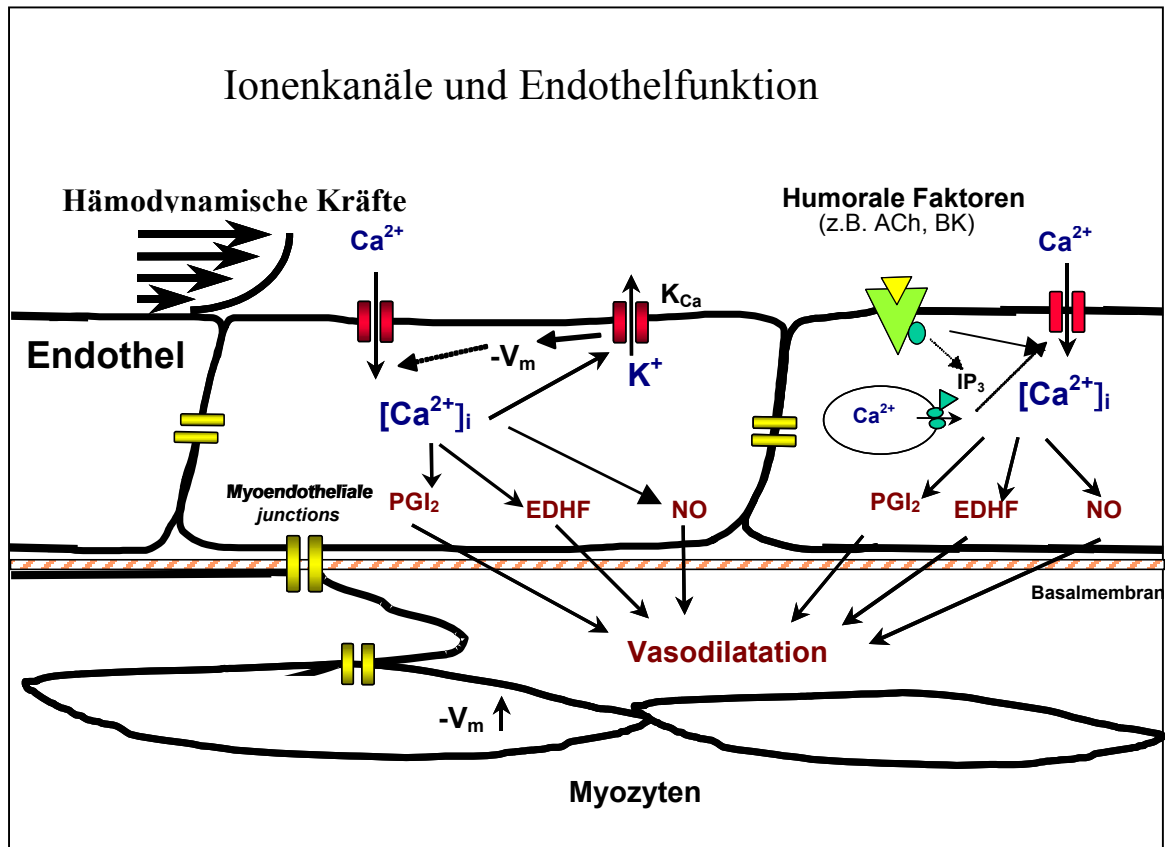


Abb. 1: Schematische Darstellung der Ionenkanäle und Endothelfunktion

Das Schema verdeutlicht die Rolle des Endothels bei der Regulation des Gefäßtonus. Durch hämodynamische Kräfte bzw. humorale Faktoren steigt die intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration an. Darauf folgt die Freisetzung vasoaktiver Substanzen, die eine Gefäßdilataion hervorrufen.

1.2.1 Endotheliale Vasodilatoren

Stickstoffmonoxid (NO)

Stickstoffmonoxid ist einer der wichtigsten Mediatoren der endothelvermittelten Vasodilatation (Busse & Fleming, 1995; Moncada et al., 1991; Palmer et al., 1987). Neben seiner vasoregulatorischen Wirkung inhibiert es die Proliferation der Gefäßmuskelzellen und hat einen antithrombotischen Effekt, da es die Thrombozytenaggregation und -adhäsion hemmt (Radomski et al., 1990; Walter, 1989).

Die NO-Bildung erfolgt durch Abspaltung einer Nitrogruppe von L-Arginin durch die katalytische Wirkung der NO-Synthase (Moncada et al., 1976; Nathan, 1993; Palmer et al., 1988). Das endotheliale Isoenzym der NO-Synthase (eNOS) ist membrangebunden und bindet in Abhängigkeit von Kalzium reversibel Calmodulin (Hecker et al., 1994). Durch Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration erfolgt eine Aktivierung der eNOS (Pollock et al., 1991). Zusätzlich zu einer basalen Produktion, die kontinuierlich erfolgt, kann die NO-Synthese durch einen Anstieg hämodynamischer Kräfte und humorale Faktoren um ein Vielfaches gesteigert werden (Newby & Henderson, 1990; Busse et al., 1993; Lüscher, 1990), indem diese die intrazelluläre Kalziumkonzentration erhöhen.

Nach der Freisetzung aus dem Endothel aktiviert NO an den glatten Gefäßmuskelzellen die zytosolische Guanylylzyklase, wodurch ein Anstieg der intrazellulären Konzentration von cGMP erfolgt. Eine Aktivierung cGMP-abhängiger Proteinkinasen bewirkt daraufhin die Phosphorylierung von Enzymsystemen, die an der Regulation der kontraktilen Elemente, des intrazellulären Kalziumspiegels und der Stimulierung von Kaliumkanälen beteiligt sind (Mackie et al., 1986; Mac Millan-Crow et al., 1986). Es kommt zu einer Erniedrigung der intrazellulären Kalziumkonzentration und zu einer Hyperpolarisation, woraus eine Relaxation der VSMC mit konsekutiver Vasodilatation resultiert (Walsh et al., 1995; Hassid, 1986).

Prostazyklin (PGI₂)

Prostazyklin wird aus Arachidonsäure gebildet, welche durch die Ca²⁺-abhängige Phospholipase A₂ aus Membranlipiden freigesetzt wird (Hong & Deykin, 1982). Die Synthese und Freisetzung wird durch hämodynamische und humorale Stimuli gesteigert (Frangos et al., 1985; Alhenc-Gelas et al., 1982). An VSMC und Thrombozyten bindet PGI₂ an einen membranständigen Rezeptor und erhöht durch Aktivierung der Adenylatzyklase die intrazelluläre Konzentration von cAMP. Dadurch kommt es zu einer Vasodilatation bzw. zu einer Hemmung der Thrombozytenaggregation. Zusätzlich fördert PGI₂ die Freisetzung von NO.

Endothelialer hyperpolarisierender Faktor (EDHF)

EDHF bewirkt über eine Aktivierung von Ca^+ -abhängigen Kaliumkanälen eine Hyperpolarisation der VSMC (Komori & Vanhoutte, 1990). Daraufhin werden spannungsabhängige Kalziumkanäle inaktiviert und es resultiert eine Vasodilatation. Die exakte Identifizierung des EDHF ist bisher nicht gelungen und wird in der Literatur noch kontrovers diskutiert. Es werden diffusible Faktoren, darunter Arachidonsäuremetaboliten (Adeagbo, 1997; Campbell et al., 1996) und K^+ -Ionen (Edwards et al., 1998), als EDHF beschrieben.

Außerdem kann eine endotheliale Hyperpolarisation über myoendotheliale Koppelung (sog. *myoendotheliale junctions*) direkt auf die Membran der Myozyten übertragen werden (Edwards et al., 1999; Mombouli & Vanhoutte, 1997; von der Weid et al., 1993; Yamamoto et al., 1999) und dort durch die Membranhyperpolarisation zu einer Schließung spannungsaktivierter Ca^{2+} -Kanäle führen.

1.2.2 Endotheliale Vasokonstriktoren

Die Endothelin-1-Freisetzung aus den Endothelzellen wird durch Thrombin, Angiotensin II und Vasopressin stimuliert (Schini & Hendrickson, 1989; Yanagisawa et al., 1988). Bei niedrigen Konzentrationen kommt es zu einer kurzfristigen Vasodilatation, da Endothelin-1 über ET_B -Rezeptoren die Endothelzellen (EC) zur Bildung von NO und PGI_2 anregt. Darauf folgt bei höheren Konzentrationen eine lang anhaltende Vasokonstriktion, die über die ET_A -Rezeptoren der VSMC vermittelt wird (Arai et al., 1990; Sakurai et al., 1990). Endothelin-1 fördert außerdem das Wachstum glatter Gefäßmuskelzellen (Lüscher et al., 1989, 1992; Busse & Fleming, 1993).

Weitere endotheliale Vasokonstriktoren sind die Zyklooxygenaseprodukte Thromboxan A_2 und Prostaglandin H_2 .

1.2.3 Gefäßregulation und endotheliale Ionenkanäle

Da die Bildung insbesondere der vasodilatatorischen endothelialen Faktoren auf einer Ca^{2+} -abhängigen Synthese beruht, spielen die Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration und die Aktivierung endothelialer Ionenkanäle eine entscheidende Rolle bei der Vermittlung der humoralen und hämodynamischen Vasodilatation (Himmel et al., 1993).

Stimulation des Endothels durch humorale Faktoren

Die Stimulation des Endothels mit einem Agonisten wie z.B. Acetylcholin oder Bradykinin bewirkt einen biphasischen Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration. Ein initialer kurzer Ca^{2+} -Anstieg (sog. *Ca²⁺-peak*) beruht auf einer inositoltriphosphatvermittelten Ca^{2+} -Freisetzung aus Speichern des endoplasmatischen Retikulums (Adams et al., 1989; Nilius et al., 1997). Es folgt eine lang anhaltende Plateauphase der intrazellulären Kalziumkonzentrationserhöhung, die auf einem Ca^{2+} -Einstrom aus dem Extrazellulärraum in die Zelle beruht (Schilling et al., 1989; Jacob, 1990). Es werden in der Literatur verschiedene Kanäle für den Ca^{2+} -Einstrom beschrieben. Neben Inositoltetraphosphat (IP_4)-regulierten Ca^{2+} -Kanälen (Lückhoff & Clapham, 1992; Neher, 1992) und Ca^{2+} -selektiven Kationenkanälen, die durch Entleerung der Ca^{2+} -Speicher aktiviert werden (Vaca & Kunze, 1994), wurden Ca^{2+} -permeable nicht-selektive Kationenkanäle beobachtet (Hoyer et al., 1996; Nilius et al., 1993; Lansmann et al., 1987; Popp et al., 1992).

Elektrophysiologisch zeigt sich neben dem Ca^{2+} -Einstrom eine Zellhyperpolarisierung, die durch einen K^+ -Ausstrom durch Ca^{2+} -aktivierte K^+ -Kanäle (K_{Ca} -Kanäle) zustande kommt (Colden-Stanfield et al., 1987, 1990; Fichtner et al., 1987; Ikeuchi et al., 1995; Johns et al., 1987; Nilius et al., 1991, 1997; Rusko et al., 1992; Vaca et al., 1996; Yamamoto et al., 1999). Diese Hyperpolarisierung ermöglicht den lang anhaltenden Ca^{2+} -Einstrom, indem sie den elektrochemischen Gradienten für Ca^{2+} erhöht.

Es konnte gezeigt werden, daß der Ca^{2+} -Einstrom und die Bildung von NO direkt von der Zellhyperpolarisierung abhängen (Lückhoff & Busse, 1990). Die Aktivierung endothelialer Ca^{2+} -permeabler Kationen- und Ca^{2+} -aktivierter K^+ -Kanäle ist also von entscheidender Bedeutung für die Synthese endothelialer Vasodilatoren.

Stimulation des Endothels durch hämodynamische Kräfte

Der Gefäßtonus wird nicht nur durch zirkulierende Substanzen reguliert, sondern auch durch die Blutflussrate und die mit dem Blutfluss assoziierte Wandschubspannung (*shear stress*) beeinflusst. Bei einem erhöhten Blutfluss wird eine Vasodilatation ausgelöst (Pohl et al., 1986; Busse et al., 1985; Kuo et al., 1990; Busse & Fleming, 1993). Dieser Mechanismus schützt das Endothel vor mechanischer Schädigung und gewährleistet eine adäquate Blutversorgung nachfolgender Organe und Gewebe (Davies, 1995; Hoyer, 1997; Melkumyants et al., 1995). Die Signaltransduktion nach hämodynamischer Stimulation des Endothels ist noch nicht vollständig aufgeklärt, doch anscheinend spielen die Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration und die Aktivierung von Ionenkanälen eine entscheidende Rolle (Himmel et al, 1993).

Bei einer Erhöhung der Blutflussrate wurden einerseits ein Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration (Falcone et al., 1993; Shen et al., 1992) als auch Ca^{2+} -Oszillationen beobachtet (Hoyer et al., 1998; Shen et al., 1992). Der Ca^{2+} -Einstrom erfolgte dabei sowohl aus dem Extrazellulärraum als auch aus ryanodin-sensitiven intrazellulären Speichern (Hoyer et al., 1998).

An kultivierten EC (Lansmann et al., 1987) und an Gefäßsegmenten mit intaktem Endothel von Arterien und Blutkapillaren (Hoyer et al., 1996; Popp et al., 1992) konnten mechanosensitive nicht-selektive Kationenkanäle mit Hilfe der Patch-clamp-Technik detektiert werden, die einen Ca^{2+} -Einstrom nach *shear stress* ermöglichen (Davies, 1995). Dieser Ca^{2+} -Einstrom reicht aus, um benachbarte Ca^{2+} -abhängige Kaliumkanäle zu aktivieren (Hoyer et al., 1994). Die mechanisch aktivierten EC zeigten daraufhin eine Zellhyperpolarisation, die auf einem K^+ -Ausstrom beruhte (Nakache & Gaub, 1988; Olesen et al., 1988). Die Hyperpolarisation steigert wiederum den Ca^{2+} -Einstrom, da sie den elektrochemischen Gradienten für Ca^{2+} erhöht. Durch den Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration erfolgt nun eine Aktivierung der Ca^{2+} -abhängigen Synthese vasoaktiver Substanzen. Außerdem kann die Zellhyperpolarisierung durch *myoendothelialen junctions* direkt auf die glatten Gefäßmuskelzellen übertragen werden.

1.3 Ca^{2+} -aktivierte Kaliumkanäle (K_{Ca} -Kanäle)

Bei der humoralen und hämodynamischen Stimulation des Endothels ist neben der Aktivierung Ca^{2+} -permeabler Kationenkanäle auch die Ko-Aktivierung von K_{Ca} -Kanälen für den Ca^{2+} -Einstrom wichtig.

Die K_{Ca} -Kanäle können das Endothel hyperpolarisieren und stellen somit die elektrochemische Triebkraft für den Ca^{2+} -Einstrom bereit, der sich ansonsten selbst limitieren würde. Die K_{Ca} werden aufgrund der unterschiedlichen Kanalleitfähigkeiten in drei Gruppen unterteilt (Blatz & Magelby, 1987): a) *Maxi* oder *Big* K_{Ca} (MK_{Ca}) b) *Intermediate* K_{Ca} (IK_{Ca}) und c) *Small* K_{Ca} (SK_{Ca}). Die Kanäle unterscheiden sich auch hinsichtlich ihrer Kalziumsensitivität, Spannungsabhängigkeit und Pharmakologie.

Untersuchungen an kultivierten EC zeigten, dass die meisten EC zusätzlich einwärts-rectifizierende Kaliumkanäle exprimieren, die das Ruhemembranpotenzial aufrecht erhalten (Colden-Stanfield, 1990) und durch *shear stress* aktiviert werden (Jacobs et al., 1995; Hoyer et al., 1991).

Ca^{2+} -aktivierter K^{+} -Kanal mit hoher Leitfähigkeit (MK_{Ca})

Der MK_{Ca} besitzt eine hohe Selektivität für Kalium (Hoyer et al., 1996; Latorre et al., 1989), ist spannungsabhängig und wird durch einen Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration aktiviert (Ishii et al., 1997). Er hat in verschiedenen Geweben recht unterschiedlich Leitfähigkeiten zwischen 100 und 220 pS (Ishii et al., 1997). Der MK_{Ca} lässt sich durch Iberiotoxin, Charybdotoxin, TEA und d-Tubocurarin blockieren (Miller et al., 1985; Galvez et al., 1990; Baron et al., 1996; Daut et al., 1994). Im vaskulären System sind MK_{Ca} in EC und in VSMC nachgewiesen worden (Hoyer et al., 1996; Nelson & Quayle, 1995; Nilius & Riemann, 1990; Rusko et al., 1992). Sie spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation des Gefäßtonus. Sowohl die bradykinin-induzierte als auch die flussinduzierte Vasodilatation konnten durch die spezifische Blockade des MK_{Ca} inhibiert werden (Cooke et al., 1991; Hardy et al., 1998).

Ca²⁺-aktivierter K⁺-Kanal mit intermediärer Leitfähigkeit (IK_{Ca})

Der IK_{Ca} hat eine Leitfähigkeit zwischen 20 und 85 pS (Ishii et al., 1997) und ist bei einer Spannung von ca. 40 mV leicht einwärtsrektifizierend (Nilius et al., 1997). Er ist in seiner Offenwahrscheinlichkeit spannungsunabhängig und kalziumsensitiver als der MK_{Ca} (Namba et al., 2000; Ishii et al., 1997; Latorre et al., 1989). Inhibitoren des IK_{Ca} sind Charybdotoxin (CTX), Clotrimazol (CLT) und TEA, dahingegen beeinflussen Apamin und Iberiotoxin seine Aktivität nicht (Ishii et al., 1997; Logsdon et al., 1997). K_{Ca}-Kanäle mit intermediärer Leitfähigkeit sind in VSMC (Neylon et al., 1999) und verschiedenen Endothelzellarten beschrieben worden (Cai et al., 1998; Van Renterghemet al., 1995). In der Niere der Ratte wird der IK_{Ca} für die Bradykinin-induzierte endotheliale Hyperpolarisation mit daraus resultierender Vasodilatation verantwortlich gemacht (Rapacon et al., 1996). In einer anderen Nomenklatur wird der IK_{Ca} auch SK_{Ca4} oder KCNM 4 genannt.

Ca²⁺-aktivierter K⁺-Kanal mit niedriger Leitfähigkeit (SK_{Ca})

Der SK_{Ca} hat eine Leitfähigkeit zwischen 5 und 20 pS (Kohler et al., 1996) und ist wie der IK_{Ca} in seiner Aktivität spannungsunabhängig und kalziumsensitiver als der MK_{Ca} (Ishii et al., 1997). Er ist kaliumselektiv und wird durch TBA und Apamin (APA) inhibiert (Bond et al., 1999; Zhang & McBain, 1995; Pennefather et al., 1995; Park, 1994). Daneben wurde auch ein Apamin-insensitiver SK_{Ca} beschrieben (Lancaster et al., 1991; Sah, 1996). Im vaskulären System wurde der SK_{Ca} in EC und VSMC beobachtet (Marchenko & Sage, 1996; Dong et al., 1998; Brayden, 1996). Kohler et al. (1996) beschrieben die Gensequenzen von drei verschiedenen Subtypen des K_{Ca}-Kanals mit niedriger Leitfähigkeit (SK_{Ca1}, SK_{Ca2} und SK_{Ca3}). Diese Subtypen werden in verschiedenen Geweben mit unterschiedlicher Häufigkeit beobachtet.

1.4 Neointimabildung nach Gefäßwandverletzung

Die Stenosierung von Blutgefäßen durch arteriosklerotische Wandveränderungen ist eine häufige Erkrankung des Menschen und tritt an verschiedenen Stellen des arteriellen Gefäßsystems auf. Häufig sind die Halsschlagader, die Koronararterien oder die peripheren Arterien der Extremitäten betroffen. Ein Verfahren zur Beseitigung arterieller Stenosen ist die

Gefäßdilatation mittels Ballonkatheter nach Fogarty. Dabei wird eine Vergrößerung des Gefäßdurchmessers und eine Verbesserung des Blutflusses erreicht. Allerdings kann es nach einiger Zeit zu einer Restenose des Gefäßes kommen. Die Mechanismen, die zu dieser Restenose führen, sind noch nicht vollständig aufgeklärt, doch wird bei der Ballondilatation häufig das Gefäßendothel zerstört und es kommt zu einer Intimaproliferation mit daraus folgender Verengung des Gefäßdurchmessers (McBride et al., 1988).

Die Strukturen der Gefäßwände werden entscheidend von endothelabhängigen Faktoren beeinflusst. So fungiert das Endothel als Barriere zwischen VSMC und mitogenen sowie chemotaktischen Substanzen (Clowes et al., 1983; Furchgott et al., 1980; Haudenschild et al., 1979; Stemerman et al., 1977). Darüber hinaus inhibieren endotheliale Faktoren wie NO und Prostazyklin die Proliferation und Migration von VSMC (Garg et al., 1989; Vanhoutte et al., 1994) und hemmen die Thrombozytenadhäsion und –aggregation (Kadowitz et al., 1983). Die mechanische Entfernung des Endothels durch Ballondilatation (*balloon catheter injury*, BCI) setzt einen komplexen Prozess in Gang, bei dem eine Vielzahl von Faktoren aus den geschädigten EC, VSMC, Thrombozyten, Makrophagen/Monozyten u.a. zusammenwirkt (Ross, 1993). Aktivierte Thrombozyten sezernieren eine Reihe von vasokonstriktiven, mitogenen und prokoagulatorischen Substanzen wie den sog. *platelet-derived growth factor*, *insulin-like growth factor*, Thromboxan A₂, Thrombin, Serotonin, von-Willebrand-Faktor und ADP. Die Bildung eines Wandthrombus wird dadurch gefördert, und die freigesetzten mitogenen Substanzen aktivieren die ruhenden VSMC, so dass eine Transformation vom normalen kontraktilen Phänotyp zu einem mehr proliferativen und sekretorisch aktiven Phänotyp stattfindet. VSMC wandern durch Lücken der *Lamina elastica interna* in die Gefäßintima ein, wo sie proliferieren und extrazelluläre Matrix synthetisieren (Schiller et al., 1999). Die Kombination aus vermehrter Produktion mitogener Substanzen und verminderter Freisetzung endothelialer inhibitorischer Faktoren führt zu einer unkontrollierten neointimalen Hyperplasie (Weidinger et al., 1991). Die endotheliale Regeneration entsteht durch Proliferation und Migration der an die Gefäßläsion angrenzenden intakten Endothelzellen. Es konnte gezeigt werden, dass in Bereichen, in denen das Endothel schnell regenerierte, eine geringere neointimale Hyperplasie stattfand als in Bereichen mit langsamer endothelialer Regeneration (Haudenschild et al., 1979; Stemerman et al., 1977).

1.5 Endotheliale Dysfunktion von neointimalem Endothel

Die Störung der endothelialen Funktion spielt eine Schlüsselrolle in der Pathogenese vieler kardiovaskulärer Erkrankungen. So können sich Arteriosklerose, Hypertonie, Thrombosen und Vasospasmen auf der Grundlage einer gestörten Endothelfunktion entwickeln (Quaschnig et al., 2000). Zudem wirken alle etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren wie Rauchen, Dyslipidämie, Diabetes mellitus und Hypertonie endothelschädigend (Cohen, 1995).

Das regenerierte Endothel nach BCI zeigt phänotypische und funktionelle Veränderungen. So befand sich in der Primärkultur des regenerierten Koronarendothels des Schweins eine vermehrte Heterogenität mit signifikant erhöhter Anzahl von großen Zellen. Die Apoptoserate war erhöht und die Fähigkeit zur Proliferation vermindert. Außerdem war die Aufnahme von acetyliertem LDL gesteigert (Fournet-Bourguignon et al., 2000). In Koronararterien des Schweins zeigte sich vier Wochen nach Ballondilatation eine signifikant verminderte endothelabhängige Vasodilatation durch Serotonin oder α_2 -Agonisten, dahingegen war die Gefäßrelaxation nach Stimulation mit anderen endothelabhängigen Vasodilatoren wie Bradykinin, ADP und Kalziumionophoren nur mäßig vermindert oder normal (Shimokawa et al., 1987, 1989; Borg-Capra et al., 1997, Thollon et al., 1999). Im gleichen Tiermodell zeigte sich auch eine Veränderung des Ruhemembranpotenzials der VSMC und eine gestörte endothelabhängige Hyperpolarisation dieser Zellen durch Serotonin (Thollen et al., 1999), sowie eine verminderte Aktivität von G-Proteinen (Borg-Capra et al., 1997). In kultiviertem regenerierten Endothel konnte auch eine verminderte Aktivität der eNOS mit geringerer Synthese von NO beobachtet werden, dabei war die Expression der eNOS allerdings nicht geringer als in den Kontrollendothelzellen (Fournet-Bourguignon et al., 2000).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das neugebildete Endothel nach Ballondilatation funktionelle Veränderungen aufweist, die eine Rolle bei der Pathogenese von Gefäßerkrankungen spielen könnten.

1.6 Modell der Neointimabildung

Als experimentelles Modell der Neointimabildung wurde in der vorliegenden Arbeit eine Ballonkatheterdilatation der *Arteria carotis communis* (ACC) durchgeführt. Dies ist ein häufig angewandtes Verfahren zur Untersuchung der Gefäßregeneration nach Endothel- und Intimaverletzung (Haudenschild et al., 1979, Barone et al., 1989, Thollon et al., 1999). Die Prozesse der Endothelregeneration und der Neointimabildung können hierbei unter gut definierten Bedingungen untersucht werden. Es ist einschränkend zu bedenken, dass in diesem experimentellen Modell die Ballondilatation an gesunden Gefäßen durchgeführt wurde, die nicht arteriosklerotisch verändert oder stenosiert waren. Ein Vergleich mit der beim Menschen durchgeführten therapeutischen Ballondilatation, beispielsweise bei der koronaren Herzkrankheit, ist daher nur bedingt möglich.

1.7 Fragestellung

K_{Ca}-Kanäle spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation der Ca²⁺-Homöostase in der Endothelzelle und sind daher an der Signaltransduktion der endothelabhängigen Vasodilatation wesentlich beteiligt. Die Expression und Funktion der verschiedenen Subtypen von K_{Ca}-Kanälen variiert sehr stark in den verschiedenen Endothelarten. Auch innerhalb eines Zellverbandes sind diese Kanäle nicht in jeder Zelle nachweisbar. Es ist noch nicht bekannt, welche Subtypen der K_{Ca}-Kanäle im Endothel der *Arteria carotis communis* (ACC) der Ratte *in situ* exprimiert werden.

Nach Ballondilatation wurde eine endotheliale Dysfunktion mit einer gestörten endothelabhängigen Hyperpolarisation (Thollen et al., 1999) und einer verminderten Vasodilatation beobachtet (Shimokawa et al., 1987, 1989; Borg-Capra et al., 1997, Thollon et al., 1999). In der vorliegenden Arbeit wurde daher untersucht, ob in dem regenerierten Endothel eine verminderte Expression und Funktion der K_{Ca}-Kanäle vorliegt und dadurch die Fähigkeit zur endothelialen Hyperpolarisation reduziert ist. Dies könnte wiederum zu einer gestörten Vasodilatation im geschädigten Gefäß führen.

Die Expression und Funktion der K_{Ca}-Kanäle im Endothel nach Ballondilatation ist bisher nicht untersucht worden.

Daraus ergab sich für die vorliegende Arbeit folgende Zielsetzung:

1. Untersuchung der Expression und Funktion der K_{Ca} -Kanäle im nativen Endothel der ACC der Ratte *in situ*
 - a) Elektrophysiologische Charakterisierung der K_{Ca} -Kanäle im Endothel der ACC der Ratte mit der Patch-clamp-Technik
 - b) Paralleler Nachweis der Expression dieser Kanäle mit Hilfe einer Einzelzell-RT-PCR
2. Untersuchung der Expression und Funktion der K_{Ca} -Kanäle im regenerierten Endothel nach Ballondilatation der ACC.