

CharitéCentrum für Magen-, Darm-, Nieren- und Stoffwechselmedizin
Medizinische Klinik für
Nephrologie und Endokrinologie, Campus Benjamin Franklin
(Leiter Prof. Dr. W. Zidek)

Habilitationsschrift

Humorale, endotheliale und mechanische Faktoren der Vasoregulation – Detektion neuer Systeme und therapeutische Beeinflussbarkeit

Zur Erlangung der venia legendi
für das Fach
Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité Universitätsmedizin Berlin

Dr. med. Timm Henning Westhoff
aus Wuppertal

Eingereicht: April 2008

Dekan: Prof. Dr. med. M. Paul

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. P. Gross, Dresden

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. Dr. St.-M. Brand-Herrmann, Münster

Meiner Mutter

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1.	Komponenten der Regulation des arteriellen Vasotonus	4
1.2.	Messverfahren mechanischer und funktioneller Gefäßeigenschaften	6
1.3.	Klinische Bedeutung der mechanischen und funktionellen Gefäßeigenschaften	9
1.3.1.	Arterielle Hypertonie	10
1.3.2.	Isolierte systolische Hypertonie	11
1.3.3.	Arterielle Steifigkeit und endotheliale Dysfunktion als kardiovaskuläre Risikofaktoren	13
1.4.	Therapeutische Beeinflussbarkeit von Vasotonus und Endothelfunktion	16
1.5.	Fragestellung und Zielsetzung	18

2. Ergebnisse und Diskussion

2.1.	Detektion neuer vasoregulatorischer Systeme	21
2.1.1.	Identifikation und pharmakologische Charakterisierung neuer humoraler vasoaktiver Substanzen	21
2.1.2.	Entwicklung eines physiogenomischen Modells zur Detektion neuer vasoregulatorischer Systeme	25
2.2.	Untersuchungen zur klinischen Messbarkeit von Gefäßeigenschaften	28
2.3.	Therapeutische Beeinflussbarkeit endothelialer und mechanischer Gefäßeigenschaften	31
2.3.1.	Beeinflussbarkeit der arteriellen Funktion durch Nierentransplantation	31
2.3.2.	Medikamentöse Beeinflussbarkeit der arteriellen Funktion am Beispiel von FTY720 (Fingolimod)	34
2.3.3.	Beeinflussbarkeit der arteriellen Funktion durch körperliche Aktivität	37

3.	Zusammenfassung	46
----	-----------------	----

4.	Referenzen	49
----	------------	----

5.	Danksagung	63
----	------------	----

6.	Erklärung	65
----	-----------	----

1. Einleitung

1.1. Komponenten der Regulation des arteriellen Vasotonus

Die Regulation des arteriellen Vasotonus wird durch ein dynamisches Zusammenspiel verschiedener lokaler und systemischer Komponenten gewährleistet. Die systemischen Determinanten der neural-vegetativen Steuerung und der humoralen vasoaktiven Substanzen stehen den lokalen parakrinen, chemisch-metabolischen und mechanischen Determinanten gegenüber. Auf dem Hintergrund ihrer zentralen Rolle in der Volumenregulation und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) kommt der Niere eine zentrale Position in der systemischen Regulation des Vasotonus zu. Sympathikus und Parasympathikus nehmen über zentrale und periphere adrenerge Rezeptoren Einfluss auf das Herzzeitvolumen und den peripheren Gefäßwiderstand. An humoralen Faktoren sind insbesondere die Katecholamine, das Angiotensin, das Aldosteron, und das Vasopressin zu nennen. Ferner sind bis heute das Endothelin, das Urotensin, das endogene Quabain, das atriale natriuretische Peptid, die Prostaglandine, das Stickstoffmonoxid (NO) und das High Density Lipoprotein (HDL) als vasoaktive Substanzen identifiziert.

In der lokalen Vasoregulation stellt das Endothel durch seine anatomische und funktionelle Mittlerposition zwischen der Strömung im Gefäßlumen und den Myozyten der Media eine bedeutsame regulatorische Struktur dar. Das „gesunde“ Endothel ist nicht nur von großer Bedeutung für die Regulation des Vasotonus, sondern besitzt antiaggregatorische und antiinflammatorische Eigenschaften [1]. Die zentrale Rolle des Endothels für die Vasoregulation geht auf die Arbeiten von Robert Furchgott zurück [2], der dafür 1998 mit Louis Ignarro und Ferid Murad mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurde. Eine Aktivierung des Endothels kann durch humorale, chemische und mechanische Stimuli erfolgen. An humoralen und chemischen Reizen sind Substanzen wie Bradykinin und Acetylcholin, der lokale pH sowie der O₂- und CO₂-Partialdruck zu nennen. Ferner besteht ein mechanischer Rückkopplungsmechanismus, der zu einer Aktivierung des Endothels durch Zunahme der Scherkräfte (Shear stress) führt. Bei zunehmenden Scherkräften kommt es zu einer zunehmenden endothelialen Synthese vasodilatatorischer Substanzen wie NO, Prostazyklin und Endothelium-derived Hyperpolarizing Factor (EDHF) [1]. Zum einen wird über einen Calciumeinstrom und eine Phosphorylierung der endothelialen NO-Synthase (eNOS) eine Enzyminduktion

erzielt, die binnen Sekunden zu einer vermehrten NO-Produktion führt. Zum anderen kommt es bei anhaltend erhöhten Scherkräften zu einem vermehrten Nachweis von eNOS mRNA, was auf eine gesteigerte Expression schließen lässt. Neben der Synthese der oben genannten Vasodilatoren ist das Endothel in der Lage, vasokonstriktive Substanzen wie Thromboxan A₂, Endothelin, Angiotensin II und Sauerstoffradikale (reactive oxygen species, ROS) zu produzieren, die sowohl nach intraluminal als auch in den subendothelialen Raum abgegeben werden [3, 4]. Bei einem gesunden Endothel liegt eine ausgeglichene Bilanz der vasodilatatorisch und vasokonstriktiv wirkenden Substanzen vor.

Neben der Regulation des lokalen Vasotonus spielt das Endothel eine entscheidende Rolle für die Aufrechterhaltung der dynamischen Balance fibrinolytischer und thrombotischer Prozesse. Das intakte Endothel verhindert den Kontakt korpuskulärer Blutbestandteile mit subendothelial gelegenen Strukturen und ist in der Lage, thrombozytenaggregations- und -adhäsionshemmende (z.B. Prostacyclin, NO) oder -fördernde Substanzen (z.B. Thromboxan A₂) zu synthetisieren. Ferner erleichtern geschädigte Endothelzellen durch Expression von Adhäsionsmolekülen und chemotaktischen Mediatoren die Adhäsion und Immigration von Leukozyten und monozytären Zellen [5]. Seit die Atherosklerose in zunehmendem Maße als chronische vaskuläre inflammatorische Erkrankung verstanden wird, tritt zunehmend die antiinflammatorische Funktion des Endothels in den Mittelpunkt experimenteller und klinischer Untersuchungen. Eine endotheliale Dysfunktion vermittelt eine intraarterielle Inflammation, und umgekehrt führt eine chronische Entzündung zu einer endothelialen Dysfunktion. Letzterer Zusammenhang wurde kürzlich sehr anschaulich in einer Studie nachgewiesen, in der bei Patienten mit chronischer Periodontitis vor und nach Sanierung der chronischen Entzündung eine Messung der Endothelfunktion durchgeführt wurde. Die endothelabhängige Vasodilatation war nach Sanierung signifikant verbessert [6].

Während die Aufgaben des Endothels somit mannigfaltig sind, hat sich in der Klinik der Begriff „Endothelfunktion“ vereinfachend als Angabe für die NO-abhängige vasodilatatorische Kapazität etabliert. „Endotheliale Dysfunktion“ wird daher häufig als Ausdruck für eine gestörte endotheliale NO-Produktion mit konsekutiv herabgesetzter NO-Bioverfügbarkeit und reduzierter endothelabhängiger Dilatation benutzt. Dieses Vorgehen ist zum einen darin begründet, dass sich eine Vasodilatation einfacher messen lässt als die antithrombotischen oder antiinflammatorischen Eigenschaften

eines Gefäßes, zum anderen erscheint es sinnvoll, weil auch letztere Eigenschaften des Endothels maßgeblich wenn auch nicht ausschließlich NO-vermittelt sind [7].

Neben den beschriebenen funktionellen Aspekten der Gefäßregulation wird der lokale Gefäßwiderstand maßgeblich von der Anatomie des Gefäßes bestimmt. Mit zunehmendem Alter kommt es im Rahmen der fortschreitenden Atherosklerose zu einer Abnahme der arteriellen Elastizität und somit einer Erhöhung des peripheren Widerstands mit konsekutiver Blutdruckerhöhung. Bis vor wenigen Jahren wurde davon ausgegangen, dass morphologisch fassbare Schädigungen des Endothels der initiale Schritt in der Entwicklung der Arteriosklerose seien [8]. Mittlerweile wurde diese sogenannte „Response-to-Injury-Theorie“ in Teilen modifiziert. Unter dem Begriff „injury“ wurde initial allein eine morphologische Schädigung der Endothelzellschicht verstanden. Inzwischen ist jedoch bekannt, dass diesen morphologischen Veränderungen eine funktionelle Störung im Sinne einer endothelialen Dysfunktion vorausgeht [9]. Auch eine Minderung der arteriellen Compliance tritt bereits lange vor klinisch fassbaren atherosklerotisch-degenerativen Veränderungen auf. Es sind daher über viele Jahre hinweg Versuche unternommen worden, nicht-invasive, valide und reliable Messverfahren zu entwickeln, anhand derer eine endotheliale Dysfunktion und eine reduzierte arterielle Elastizität detektierbar werden. Anhand dieser Messverfahren erhoffte man sich, Frühstadien atherosklerotischer Gefäßveränderungen lange vor dem Auftreten sonographisch oder angiographisch darstellbarer Gefäßveränderungen in einem noch reversiblen Stadium erkennbar zu machen.

1.2. Messverfahren mechanischer und funktioneller Gefäßeigenschaften

Da sich die vorliegende Arbeit auch mit methodischen Aspekten von Messverfahren der Gefäßfunktion auseinandersetzt, seien an dieser Stelle die wichtigsten Fakten zu den *in-vitro* und *in-vivo* etablierten Verfahren genannt.

In-vitro stehen sowohl Gesamtorganmodelle als auch isolierte Gefäßmodelle zur Verfügung. In der vorliegenden Arbeit ist als Gesamtorganmodell die isolierte perfundierte Rattenniere und das isolierte perfundierte Rattenherz genutzt worden. Die Organe werden mit einer oxygenierten Elektrolytlösung perfundiert, die Testsubstanzen können als Bolus appliziert werden. Über einen Druckabnehmer können Widerstandsänderungen im Organ registriert werden. Als isoliertes Gefäßmodell ist die

Kleingefäßmyographie etabliert. Ein ringförmiges intaktes Gefäßexzidat – z.B. thorakale Rattenaorta – wird in einem Bad aus oxygenierter Elektrolytlösung in einen Myographen eingespannt. Die Hinzugabe von Vasokonstriktoren führt nun zu einer Zunahme des Gefäßtonus, die gemessen und aufgezeichnet wird. Die NO-abhängige vasodilatatorische Kapazität („Endothelfunktion“) lässt sich messen, indem die endotheliale NO-Synthese durch ein Agens wie Acetylcholin bei einem vorkontrahierten Gefäß stimuliert wird.

In-vivo sind für die Messung der arteriellen Elastizität (Compliance) bzw. Steifigkeit heute verschiedene applanationstonometrische Pulswellenanalyseverfahren kommerziell erhältlich. Nach der Windkessel-Theorie nehmen die großen, arteriellen Gefäße (Aorta und große aortale Äste) während der Systole einen Teil des ejezierten Blutvolumens als elastisches Reservoir auf, um es in der Diastole durch passive Kontraktion wieder abzugeben und somit die Aufrechterhaltung des diastolischen Blutflusses zu gewährleisten. Dieser Mechanismus ist in besonderer Weise für die Koronarperfusion von Bedeutung. Die Elastizität der proximalen großen Arterien ist durch das hohe Elastin/Kollagen-Verhältnis bedingt, das in der Gefäßperipherie geringer wird. Die mit zunehmendem Alter steigende arterielle Steifigkeit ist in erster Linie in einer Degeneration elastischer Fasern begründet [10, 11]. Die applanationstonometrischen Verfahren machen sich die aus diesem Mechanismus resultierenden Veränderungen der Pulswelle in den peripheren Arterien zunutze. Durch Vergleiche mit invasiven intraarteriellen Messungen sind zwei Verfahren gut validiert: Der Augmentationsindex und die Pulswellengeschwindigkeit.

Das aus dem linken Ventrikel ejezierte Schlagvolumen bewirkt eine sich in die Peripherie fortbewegende arterielle Druckwelle. Diese Druckwelle wird an Orten unterschiedlicher mechanischer Impedanz – somit vornehmlich am arterio-arteriolären Übergang – reflektiert. Durch die unterschiedliche Elastizität der einzelnen arteriellen Gefäßabschnitte und die Reflexionsphänomene ändert sich die Form der arteriellen Druckwelle auf dem Weg von den zentralen Aortenabschnitten in die Peripherie. In gesunden jungen Menschen mit guter arterieller Elastizität nimmt die Amplitude der Druckwelle in der Peripherie zu. Mit zunehmender Steifigkeit der großen Arterien nimmt diese Druckwellenamplifizierung ab. Dies ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt. Haben die großen Arterien eine gute Compliance, so ist die initiale, unmittelbar durch das systolisch ejezierte Schlagvolumen hervorgerufene Druckwelle P_1 für die Amplitude

des zentralen Aortendrucks verantwortlich. Die reflektierte Pulswelle P_2 erreicht die zentralen Aortenabschnitte erst in der Diastole und amplifiziert daher den zentralen systolischen Aortendruck nicht. Mit zunehmender arterieller Steifigkeit nimmt jedoch die Pulswellengeschwindigkeit zu, so dass die in die Peripherie wandernde Welle schneller reflektiert wird und die zentralen Aortenabschnitte noch in der Systole wieder erreicht. Daher wird der systolische zentrale Aortendruck augmentiert, während der diastolische Druck fällt und die Koronarperfusion sinkt. Der sogenannte "Augmentationsindex" errechnet sich als das Verhältnis der Differenz des zweiten (P_2) und des ersten Peaks (P_1) zum Pulsdruck. In gesunden, jungen Patienten ist der Pulsdruck daher negativ, während mit zunehmendem Alter und zunehmendem kardiovaskulären Risiko die arterielle Steifigkeit zunimmt und der Augmentationsindex positiv wird. Abweichend von dieser Definition wird von einigen Autoren das Verhältnis von P_2 zu P_1 als Augmentationsindex bezeichnet. Gemäß dieser Definition gilt „je steifer, desto höher der Augmentationsindex“. Der Augmentationsindex wird entweder an der A. radialis oder A. femoralis gemessen. Für die Messung der Pulswellengeschwindigkeit benötigt man EKG-getriggerte Messungen an A. carotis und A. femoralis/radialis sowie eine Angabe über die Distanz zwischen den Messpunkten. Somit lässt sich die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Pulswelle als Maß für die arterielle Steifigkeit errechnen. Verschiedene Autoren entwickelten einen Algorithmus, der – basierend auf einem modifizierten Windkesselmodell – anhand der Steilheit der Abnahme des diastolischen Drucks (diastolic decay) eine Unterscheidung der Compliance großer und kleiner arterieller Gefäße (C_1 und C_2) erlauben soll [12]. Nach Ansicht der Autoren dieses Modells geht in der Pathogenese der Atherosklerose eine Reduktion der Elastizität der kleinen arteriellen Gefäße (C_2) derjenigen der großen Gefäße (C_1) voraus. C_2 wird daher als ein Ausdruck eines frühen, reversiblen Stadiums der Atherosklerose interpretiert und soll unter anderem eine endotheliale Dysfunktion reflektieren [13]. Die vorliegende Arbeit überprüft letztere Hypothese durch Vergleich mit einem etablierten Endothelfunktionsmessverfahren.

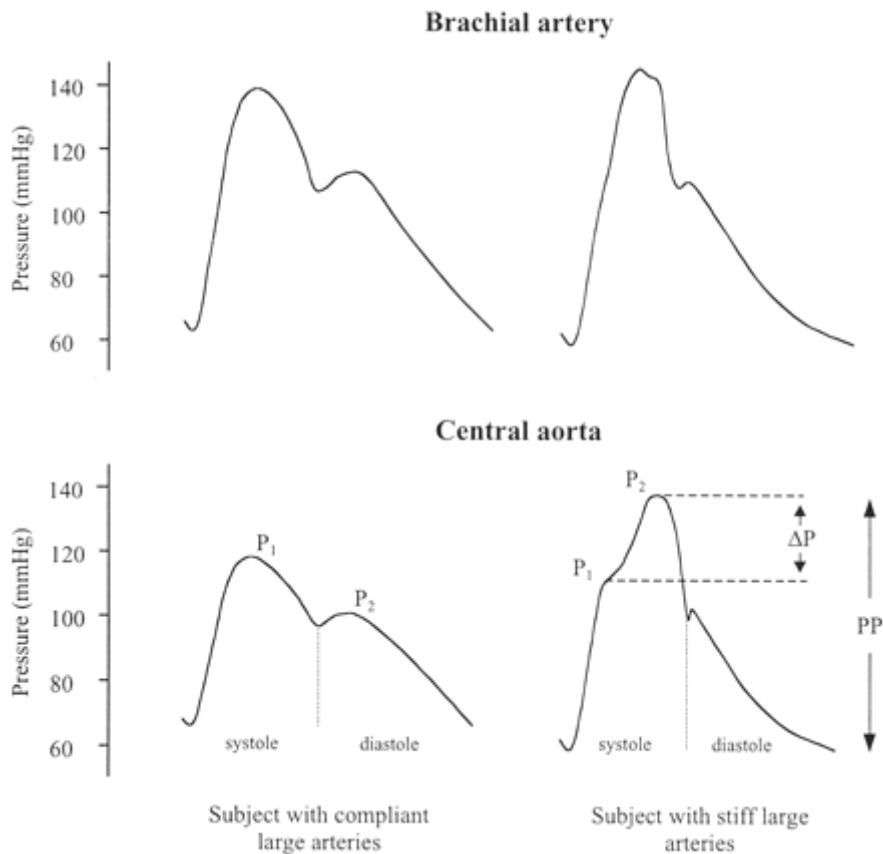


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Pulswellenamplifizierung. Gegenüberstellung der Druckkurven der zentralen Aorta sowie der A. brachialis bei einem gesunden Probanden mit normaler arterieller Elastizität und einem Probanden mit hoher arterieller Steifigkeit. Nach Oliver, 2003 [14].

1.3. Klinische Bedeutung der mechanischen und funktionellen Gefäßeigenschaften

Die beschriebenen Komponenten der Vasoregulation dienen der Aufrechterhaltung eines physiologischen Vasotonus, der sich flexibel systemischen und lokalen Anforderungen anpassen kann. So wird der Vasotonus auf Temperaturunterschiede, Beanspruchung der Skelettmuskulatur, psychischen Stress, Änderungen des lokalen chemisch-metabolischen Milieus, usw. adäquat eingestellt. Kommt es jedoch zu einem Ungleichgewicht vasokonstriktiver und vasodilatativer Faktoren, so kann es zu einer pathologischen Erhöhung des Vasotonus mit konsekutiver Erhöhung des totalen peripheren Widerstands und des Blutdrucks kommen. Eine solche Fehlregulation wird u.a. für die arterielle Hypertonie angenommen.

1.3.1. Arterielle Hypertonie

Die arterielle Hypertonie (Blutdruck $\geq 140/90$ mmHg) ist die häufigste internistische Erkrankung. Epidemiologische Untersuchungen zur Prävalenz der Hypertonie in verschiedenen Ländern der Welt zeigen eine starke Schwankungsbreite. In der Bundesrepublik Deutschland wird eine mittlere Prävalenz von 20-25% berichtet; ab dem 65. Lebensjahr sind über 50% der Bevölkerung betroffen. Weltweit leiden etwa eine Milliarde Menschen an einer Hypertonie. Die Hypertonie stellt einen zentralen kardiovaskulären Risikofaktor mit gravierendem Einfluß auf die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität dar und ist von großer volkswirtschaftlicher Relevanz. In über 90% der Fälle handelt es sich um eine essentielle Hypertonie. Die Genese der essentiellen Hypertonie ist bis heute weitgehend ungeklärt. An dieser Stelle konnten auch die immensen Fortschritte in der Molekularbiologie die in sie gesetzten Hoffnungen nicht erfüllen.

Die essentielle Hypertonie wird nach derzeitiger Meinung als multifaktorielles Krankheitsbild sowohl durch Umweltfaktoren als auch genetische Determinanten geprägt. Hinsichtlich der genetischen Komponente legen epidemiologische Untersuchungen in großen Kohorten eine Vererbungswahrscheinlichkeit zwischen 30 und 50% nahe [15]. Im Gegensatz zu monogenetischen Hypertonieformen wie dem Liddle-Syndrom [16] ist die Manifestation einer essentiellen Hypertonie nach heutiger Meinung durch eine Vielzahl von Genen mit blutdruckregulierenden Effekten bedingt [17]. Entsprechend zeigen Blutdruckdaten von tierischen und menschlichen Populationen keinen klassisch mendelschen Vererbungsmodus, wie es bei einer monogenetischen Genese zu vermuten wäre [18]. Der Nachweis eines speziellen genetischen Markers bzw. eine Kombination verschiedener pathogenetisch wichtiger Marker ist bisher nicht gelungen. Auch ein Kandidatengen der essentiellen Hypertonie mit starkem Effekt auf den Blutdruck ist bisher nicht bekannt. Eine Vielzahl von Strategien zur Identifizierung hypertonieassoziiierter Genloci wie die ungerichtete Suche mittels DNA-Fragmentuntersuchungen nach Anwendung von Restriktionsendonukleasen in Hypertonikerkollektiven („genome-wide search“) und die gezielte Untersuchung von Genen bekannter blutdruckregulierender Systeme sind bisher zur Anwendung gekommen. Letzterer Ansatz führte zur Identifizierung von hypertonieassoziierten Polymorphismen in den Genloci von Angiotensin [19], Angiotensin Konvertierungsenzym (ACE) [20], Aldosteron Synthase [21], adrenergen Rezeptoren [22] oder Alpha-Adducin [23]. Diese Polymorphismen zeigen jedoch nur

geringen Einfluß auf die Blutdruckregulation, so dass von der Existenz weiterer, bisher nicht identifizierter Kandidatengene der essentiellen Hypertonie ausgegangen werden muss.

Eine weitere Hypothese zur Entstehung der essentiellen Hypertonie ist, dass der vermehrten Vasokonstriktion humorale Faktoren zugrunde liegen. Diese Hypothese wird tierexperimentell gestützt: Eine Infusion von Blut hypertensiver Ratten in normotensive Ratten führt zu einer Zunahme des Blutdrucks [24]. Um auszuschließen, dass es sich lediglich um einen volumenbedingte Blutdruckzunahme handelt, wurden Kreuzzirkulationsversuche durchgeführt, in denen hypertensive und normotensive Ratten unter konstanten Blutaustauschraten miteinander verbunden waren. Auch hier wurden die normotensiven Ratten hypertensiv [25]. Diese Übertragung des Bluthochdrucks ließ sich bei nephrektomierten und adrenaletomierten Tieren nicht hervorrufen [26]. Bei der jahrzentelang andauernden Suche nach neuen vasoaktiven Substanzen sind unter anderem das Endothelin, das endogene Strophanthin, das NO sowie die atrialen natriuretischen Peptide entdeckt worden. In verschiedenen Studien wurden die Serumkonzentrationen aller bekannten vasoaktiven oder den Wasserhaushalt regulierenden Hormone wie Noradrenalin, Angiotensin II und ADH von Hypertonikern und Normotonikern verglichen, ohne dass ein signifikanter Unterschied nachweisbar war. Folgerichtig muss sich entweder die Sensitivität des Zielorgans (Gefäß, Niere) unterscheiden oder es muß von der Existenz noch unidentifizierter humoraler vasoaktiver Faktoren ausgegangen werden. Die Erforschung der Pathogenese der essentiellen Hypertonie darf sich daher nicht auf die Untersuchung der bekannten blutdruckregulierenden Systeme beschränken. Vielmehr muss es ausdrückliches Ziel sein, neue Regulationssysteme zu identifizieren und zu charakterisieren. Der erste Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich daher mit der Suche nach neuen humoralen vasoaktiven Faktoren. Hierzu wurden zum einen chromatographische Methoden genutzt, zum anderen wurde ein physiogenomisches Modell zur transkriptomweiten Suche nach differentiell exprimierten blutdruckregulierenden Genen entwickelt.

1.3.2. Die isolierte systolische Hypertonie

Im Laufe des Lebens kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg des systolischen Blutdrucks. Als Folge einer zunehmenden Erhöhung des peripheren Widerstandes

steigt der diastolische Blutdruck bis etwa zur 5. Lebensdekade an, fällt danach jedoch wieder ab [27]. Der Abfall des diastolischen Blutdrucks in fortgeschrittenem Alter ist durch die abnehmende Elastizität der Aorta mit konsekutiver Reduktion der Windkesselfunktion zu erklären. In der Folge steigt die Blutdruckamplitude (Pulsdruck). Mit zunehmendem Lebensalter steigt somit nicht nur die Anzahl der Hypertoniker, es steigt auch der Anteil derjenigen Hypertoniker, die eine alleinige Erhöhung des systolischen Blutdruckwertes zeigen (isolierte systolische Hypertonie). Im Alter > 65 Jahre liegt die Prävalenz der Hypertonie in Deutschland über 50%. Über 60% dieser Hypertoniker leiden an einer isolierten systolischen Hypertonie. Damit leidet annähernd jeder dritte Mensch über 65 an einer isolierten systolischen Hypertonie.

Der Pulsdruck ist vor allem bei älteren Menschen mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko assoziiert, auch unabhängig von der Höhe des systolischen und diastolischen Blutdrucks. Ein erhöhter Pulsdruck stellt somit einen unabhängigen kardiovaskulären Risikoparameter dar und wird als ein Zeichen fortgeschrittener morphologischer Veränderungen der Arterienwand gewertet. Der gravierende Einfluss auf die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität ist dadurch zu erklären, dass sowohl ein hoher systolischer als auch ein zu niedriger diastolischer Druck mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergehen. Ein zu niedriger diastolischer Druck führt zu einer reduzierten Perfusion der Koronararterien mit einer erhöhten Inzidenz von koronaren Ereignissen (s. Abbildung 2).

Durch die strukturellen Gefäßveränderungen bei Patienten mit isolierter systolischer Hypertonie ergeben sich Probleme in der Therapie. Da die meisten Antihypertensiva Vasodilatoren darstellen, ist das Ansprechen auf die Therapie durch die fortgeschrittene Arteriosklerose deutlich reduziert. Bildlich gesprochen lässt sich der Vasotonus eines „Kalkrohres“ durch einen Vasodilatator kaum beeinflussen. Die Mehrzahl der betroffenen Patienten steht daher unter einer medikamentösen Kombinationstherapie und ist dennoch unzureichend eingestellt. Die vorliegende Arbeit setzt sich mit alternativen Therapieoptionen auseinander.

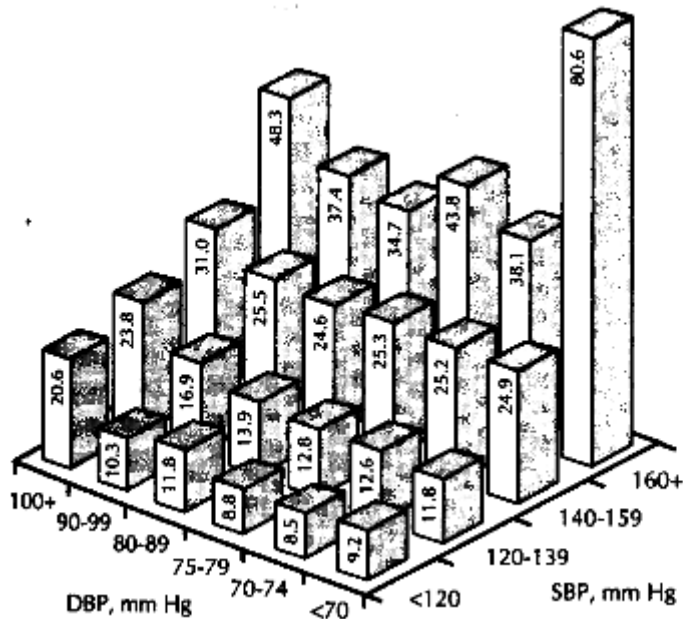


Abbildung 2: Todesfälle durch koronare Herzkrankheit in Abhängigkeit vom Blutdruck
Angaben in 1000 Patienten, Gesamtanzahl 316099, DBP diastolischer Blutdruck, SBP systolischer Blutdruck; nach Neaton, 1992 [28].

1.3.3. Arterielle Steifigkeit und endotheliale Dysfunktion als kardiovaskuläre Risikofaktoren

Über viele Jahre waren die Therapie und die Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen allein auf die Behandlung klassischer Risikofaktoren wie Hypercholesterinämie, Hypertonie, Nikotinabusus oder Diabetes mellitus fokussiert. Da jedoch kardiovaskuläre Ereignisse auch bei Personen auftreten, die keine der konventionellen Risikofaktoren aufweisen [29], wird bis heute viel Forschungsarbeit darauf verwendet, Verfahren zu entwickeln, die eine Aussage über das vaskuläre Risiko jenseits der konventionellen Risikofaktoren zulassen. Somit könnten Personen mit erhöhtem Risiko identifiziert und ggf. prophylaktisch therapiert werden. Ein Ansatz zur Risikostratifizierung ist die Messung weiterer biochemischer Marker wie CRP, BNP (brain natriuretic peptide), NT-proANP (N-terminales proatriales natriuretisches Peptid), Aldosteron, Renin, Fibrinogen, D-Dimere, PAI-I (Plasminogen-Aktivator-Inhibitor Typ 1), Homocystein und die Albumin/Kreatinin-Ratio im Urin. Eine kürzlich veröffentlichte Studie konnte jedoch zeigen, dass eine Prognoseeinschätzung für das Auftreten eines kardiovaskulären Ereignisses anhand der Parameter Alter, Geschlecht und konventionelle Risikofaktoren durch die Hinzunahme dieser zehn biochemischen Risikoparameter nur unwesentlich verbessert wird (prädiktiver Wert von 0,76 vs. 0,77) [30]. Die Messung der arteriellen

Steifigkeit erschien in diesem Zusammenhang ein erfolgsversprechenderer Parameter zu sein, da der Mehrheit der kardiovaskulären Ereignisse eine atherosklerotische Wandschädigung zugrunde liegt. Die klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren ändern die Integrität, Funktion und Struktur der Arterien [31-33], so dass die arterielle Steifigkeit den kumulativen Effekt verschiedener schädigender Faktoren auf die Gefäßwand darstellen sollte. Eine zunehmende Versteifung der Aorta führt zu einer Steigerung des systolischen und einer Erniedrigung des diastolischen Drucks. Dies steigert die Nachlast des Herzens und reduziert die Koronarperfusion, wodurch eine linksventrikuläre Hypertrophie mit koronarer Hypoperfusion induziert wird [34-36]. Ferner steigert eine erhöhte arterielle Steifigkeit die arterielle Wandspannung, was Plaquerupturen begünstigt [37], so dass durch die Summe der beschriebenen Veränderungen das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse steigt [38]. Der Wert der arteriellen Steifigkeit als kardiovaskulärer Risikofaktor ist mittlerweile gut belegt. Wir wissen heute, dass die Pulswellengeschwindigkeit bei terminal Niereninsuffizienten [39], Hypertonikern [40], Diabetikern [41] und alten Menschen [42] ein unabhängiger kardiovaskulärer Risikofaktor ist. Der Augmentationsindex stellt bei terminal Niereninsuffizienten unabhängig vom Blutdruck einen prognostischen Faktor für kardiovaskuläre Ereignisse dar [43]. Ferner ist in vielen Studien der Wert des Pulsdrucks als unabhängiger Risikofaktor bei Menschen über 50 Jahre belegt [44-48]. Bei jüngeren Menschen scheint hingegen der diastolische Blutdruck der bessere prognostische Parameter für Koronarereignisse zu sein [49]. Diese Daten legen nahe, dass der periphere Widerstand die zentrale Determinante für das kardiovaskuläre Risiko beim Jüngeren darstellt, während beim älteren Menschen die zunehmende arterielle Steifigkeit der großen Gefäße von zentraler Bedeutung ist.

Eine endotheliale Dysfunktion stellt – wie oben beschrieben – den ersten Schritt in der Entstehung atherosklerotischer Gefäßveränderungen dar [50]. Mehrere Studien haben gezeigt, dass eine endotheliale Dysfunktion mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse einhergeht [51, 52]. Einer reduzierten NO-Bioverfügbarkeit können sowohl eine geringere Expression/Aktivität der endothelialen NO-Synthase (eNOS) als auch erhöhte Konzentrationen an Sauerstoffradikalen (Reactive oxygen species, ROS) zugrunde liegen. Letztere entsteht bei einer gesteigerten Aktivität der NADPH-Oxidase und anderer ROS-produzierender Enzyme wie der Xanthin-Oxidase, Cytochrom P450, Myeloperoxidase, Häm-Oxygenase, Lipoxigenase und Enzymen der

Atmungskette [53]. Ferner existiert mit dem asymmetrischen Dimethylarginin (ADMA) ein endogener Inhibitor der eNOS [54]. Hypertonie, Diabetes mellitus, inhalatives Tabakrauchen, das LDL, Homocystein und ein reduzierter Östrogenspiegel führen über Sauerstoffradikale und andere Mediatoren zu einer endothelialen Dysfunktion. Diese führt über eine Steigerung des Vasotonus, Verminderung der antiaggregatorischen Eigenschaften des Endothels, Leukozytenadhäsion, gesteigerte Apoptose, Verstärkung der vaskulären Lipidablagerung und einer Proliferationsstimulation vaskulärer glatter Gefäßmuskelzellen zu atherosklerotischen Wandveränderungen. Somit nimmt das Endothel die Mittlerposition zwischen der Mehrzahl der verschiedenen vaskulären Noxen und dem vaskulären Schaden ein. Abbildung 3 fasst die Beeinflussbarkeit der Endothelfunktion und die Folgen einer endothelialen Dysfunktion schematisch zusammen. In Übereinstimmung mit diesem Modell sind bei Hypertonikern, Diabetikern, KHK-Patienten, Herzinsuffizienten, Schlaganfallpatienten und Rauchern Einschränkungen der Endothelfunktion nachgewiesen worden [53].

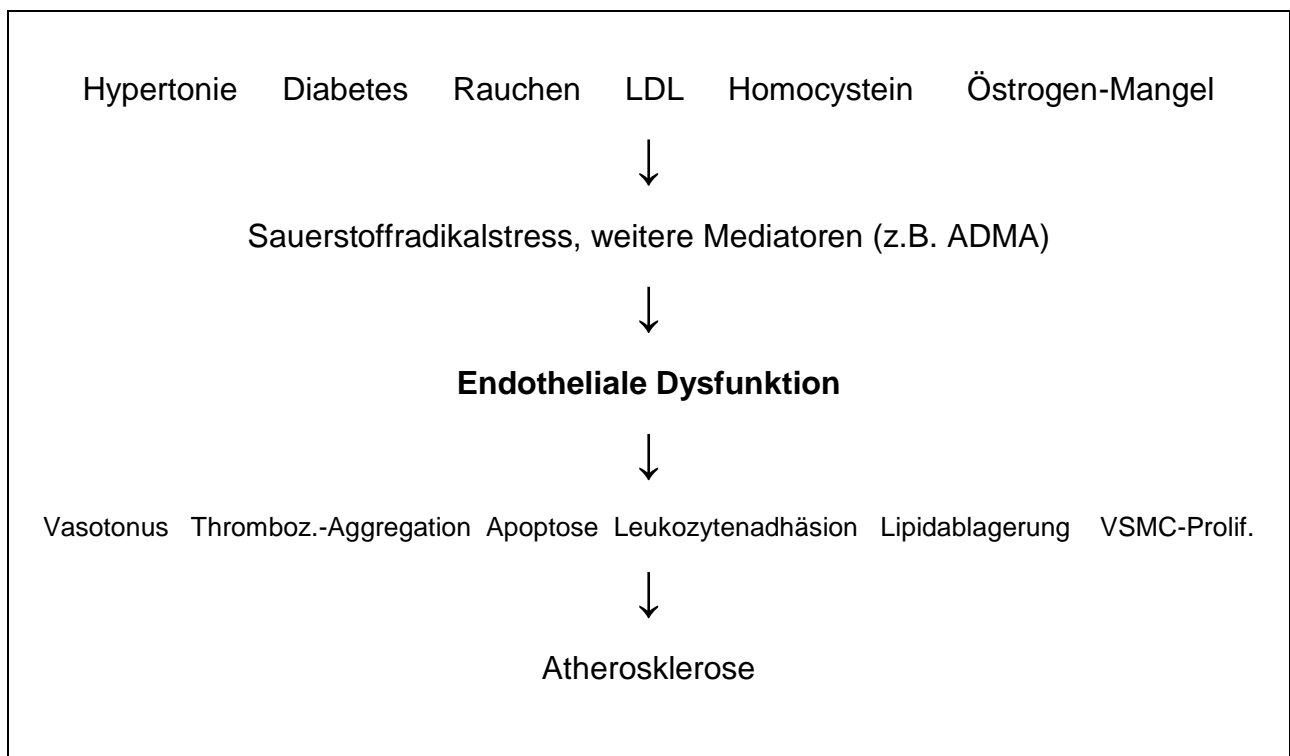


Abbildung 3: Vom kardiovaskulären Risikofaktor zur Atherosklerose – Mittlerposition des Endothels; VSMC: vascular smooth muscle cells; ADMA: asymmetrisches Dimethylarginin.

Auf dem Hintergrund des hohen Stellenwertes einer endothelialen Dysfunktion als kardiovaskulärer Risikoparameter wird vielfach diskutiert, ob die Messung der

endothelialen Funktion in der klinischen Routine eingesetzt werden sollte. Aktuelle prospektive Studien wie die PREVENT-it Studie untersuchen daher derzeit den additiven prädiktiven Wert der Endothelfunktionsmessung jenseits der klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren.

1.4. Therapeutische Beeinflussbarkeit von Vasotonus und Endothelfunktion

Bis vor einiger Zeit wurde die arterielle Steifigkeit als eine statische Größe verstanden, die durch den Kollagen- und Elastingehalt sowie durch den transmuralen Druck über der Gefäßwand bestimmt wird. Dieses Modell spiegelt jedoch die Realität nur unzureichend wieder. Wir wissen heute, dass die glatten Gefäßmuskelzellen in der Gefäßwand die Gefäßsteifigkeit aktiv regulieren können [55]. Somit steigern Vasokonstriktoren wie Noradrenalin oder Angiotensin die arterielle Steifigkeit, während Vasodilatoren – in erster Linie das NO – die arterielle Steifigkeit reduzieren [49]. Diese Regulation ist unabhängig von Veränderungen des Blutdrucks und peripheren Widerstands und zeigt, dass die arterielle Steifigkeit nicht eine statische sondern eine dynamisch regulierte Größe darstellt. Dies bedeutet, dass sie nicht nur durch eine Progressionsverlangsamung der Atherosklerose beeinflussbar ist sondern auch ein kurzfristiges therapeutisches Ziel für Medikamente und sonstige Maßnahmen darstellt. Antihypertensiva können die arterielle Steifigkeit durch eine Senkung des Blutdrucks und der Wandspannung reduzieren. Ferner ist tierexperimentell kürzlich am Beispiel einer pharmakologischen Hemmung der NO-Synthase gezeigt worden, dass eine Beeinflussung der arteriellen Steifigkeit auch blutdruckunabhängig möglich ist [49].

Die isolierte systolische Hypertonie ist – wie oben beschrieben – eine Erkrankung, die sich durch eine pathologisch erhöhte Steifigkeit der arteriellen Gefäße auszeichnet und therapeutisch schwer zu beeinflussen ist. Ein Problem der medikamentösen Blutdrucksenkung ist, dass stets auch der diastolische Druck und damit auch die Koronarperfusion reduziert wird. Eine post hoc Analyse der Daten der Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP) Studie zeigt, dass eine ausgeprägte Senkung des diastolischen Drucks zu einer Verschlechterung der Prognose führte [56]. Aktuell wird daher u.a. an der Entwicklung sogenannter „Cross link breakers“ gearbeitet, die unmittelbar in die arterielle Wandtextur eingreifen und die arterielle Steifigkeit reduzieren sollen. Unter den bereits erhältlichen Medikamenten erscheinen diejenigen für die Behandlung der isolierten systolischen Hypertonie von besonderem Interesse, die bevorzugt auf die großen arteriellen Gefäße wirken, wie z.B. die

Nitroglycerinverbindungen. So konnte Glyceroltrinitrat tatsächlich die arterielle Steifigkeit bei Patienten mit isolierter systolischer Hypertonie senken [57]. Bis heute haben mehrere Studien die gute Wirksamkeit von Nitroverbindungen auf den systolischen Blutdruck bei isolierter systolischer Hypertonie belegt [58-61]. Die vorliegende Arbeit untersucht alternative, nicht-medikamentöse Therapieoptionen zur Behandlung der isolierten systolischen Hypertonie.

Da die endotheliale Dysfunktion reversibel ist und als erster fassbarer Schritt in der Entstehung der Atherosklerose verstanden wird, ist die Endothelfunktion ein äußerst vielversprechender therapeutischer Ansatzpunkt. Eine Medline Recherche zeigt, dass jedes Jahr mehrere hundert Arbeiten zu den Einflüssen verschiedener therapeutischer Interventionen auf die Endothelfunktion erscheinen. Die Verbesserung der Endothelfunktion durch CSE-Hemmer ist besonders gut belegt [62, 63]. Eine Statinbehandlung führt bereits vor einer signifikant messbaren Reduktion des LDL-Cholesterins zu einer Verbesserung der Endothelfunktion. Diese lipidunabhängige Verbesserung der Endothelfunktion wurde schon nach einer Behandlungsdauer von einem Tag beobachtet [64] und intensivierte sich mit zunehmender Therapiedauer [65]. Dieses Phänomen ist möglicherweise dafür verantwortlich, dass der kardiovaskuläre Benefit durch Statine den durch eine reine Cholesterinsenkung erwarteten Effekt in großen Studien noch übersteigt [66]. Bei Hypertonikern führt eine Blutdrucksenkung *per se* nicht zu einer Verbesserung der Endothelfunktion. Modena *et al.* untersuchten 400 postmenopausale Frauen mit erstdiagnostizierter arterieller Hypertonie und einer reduzierten endothelabhängigen Vasodilatation (FMD < 10%) [67]. Die Patientinnen, bei denen die FMD nicht während einer antihypertensiven Behandlung von 6 Monaten über 10% angehoben werden konnte, hatten ein erhöhtes Risiko kardiovaskulärer Ereignisse (5-Jahreszeitraum), auch wenn der Ziel-Blutdruck von < 140/90 mmHg erreicht wurde. Das Ausmaß der Blutdrucksenkung korrelierte nicht signifikant mit dem Ausmaß der Endothelfunktionsverbesserung. Es ist bekannt, dass unterschiedliche Antihypertensiva die Endothelfunktion unterschiedlich beeinflussen können. So konnte gezeigt werden, dass sich unter Bluthochdruckbehandlung mit ACE-Hemmern die FMD verbessert, während sich unter Calciumantagonisten, β -Blockern und Diuretika keine Änderung zeigte [68]. Unter Medikation mit Calciumantagonisten, β -Blockern und Diuretika zeigte sich weder ein Unterschied der FMD zwischen den einzelnen Antihypertensivagruppen, noch zwischen behandelten und unbehandelten Hypertonikern, obwohl der Blutdruck

unter den behandelten Hypertonikern signifikant niedriger war. Neben den ACE-Hemmern konnte auch die Hormonersatztherapie postmenopausaler Frauen eine Verbesserung der Endothelfunktion erzielen [69]. Trotz des nachgewiesenen Benefits der Hormontherapie auf die Endothelfunktion konnte in klinischen Studien bisher kein kardiovaskulärer Prognosebenefit beobachtet werden [70, 71]. Neben einer medikamentösen Einflussnahme auf das Endothel lässt sich die Endothelfunktion auch durch sportliche Aktivität in Form eines regelmäßig durchgeführten aeroben Ausdauertrainings verbessern [72]. Bisher liegen jedoch nur unzureichende Daten über die Auswirkungen sportlicher Aktivität auf Endothelfunktion, arterielle Steifigkeit und Blutdruck in höherem Alter vor.

1.5. Fragestellung und Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit setzt sich mit der Regulation des Vasotonus auseinander und verfolgt mehrere Ziele. Der erste Teil der Arbeit widmet sich der Identifizierung und physiologisch-pharmakologischen Charakterisierung neuer humoraler, vasoaktiver Substanzen sowie der Suche nach neuen differentiell exprimierten blutdruckregulierenden Genen. Im zweiten Teil der Arbeit wird anhand von klinischen Studien untersucht, wie sich die arterielle Gefäßfunktion messen und therapeutisch beeinflussen lässt. So werden die Auswirkungen von Nierentransplantation, einer medikamentösen Intervention und regelmäßiger sportlicher Aktivität auf die Endothelfunktion, die arterielle Compliance und – daraus resultierend – auf den Blutdruck untersucht. Ein Schwerpunkt dieses Teils der Arbeit liegt auf der Entwicklung alternativer Therapieoptionen für die isolierte systolische Hypertonie, die sich durch eine alleinige medikamentöse Therapie oft nur unzureichend behandeln lässt.

Im Einzelnen werden folgende Ziele verfolgt:

a) Tierexperimentelle Daten deuten darauf hin, dass für die Entstehung der essentiellen Hypertonie noch unentdeckte vasoregulatorische Systeme eine zentrale Rolle spielen. Ziel des ersten Teils der Arbeit ist es, derartige Substanzen zu identifizieren und zu charakterisieren. Zu diesem Zweck erfolgt eine chromatographische Isolierung einzelner Substanzen aus menschlichen Organen, die nachfolgend auf Vasoaktivität untersucht und physiologisch-pharmakologisch an der

isolierten perfundierten Rattenniere und am isolierten perfundierten Rattenherzen charakterisiert werden.

b) Ziel dieses Teils der Arbeit ist die Identifizierung differentiell exprimierter blutdruckregulierender Gene mit Hilfe der Microarray-Technologie. Es wird ein physiogenomisches Modell entwickelt, in dem durch Herbeiführen einer Hypotension im Rattenmodell eine blutdrucksteigernde Gegenregulation hervorgerufen wird. Die für die Blutdrucksteigerung verantwortlichen, differentiell exprimierten Gene werden in der Niere auf Transkriptomebene microarraygestützt genomweit detektiert. Im Anschluß erfolgt eine Untersuchung der physiologischen Bedeutung der identifizierten Gene mittels Small-Vessel-Myographie. Die essentielle Hypertonie ist eine multifaktoriell bedingte Störung der Blutdruckregulation, die auf Umweltfaktoren und eine Vielzahl blutdruckrelevanter Gene zurückzuführen ist. Bisher konnten nur wenige solcher Kandidatengene mit lediglich geringem Einfluß auf den Blutdruck identifiziert werden. Das beschriebene Modell soll es ermöglichen, weitere Kandidatengene der arteriellen Hypertonie zu identifizieren.

c) Seit die endotheliale Dysfunktion als Initialstadium der Atherosklerose und als unabhängiger kardiovaskulärer Risikofaktor verstanden wird, wurden viele Versuche unternommen, die Endothelfunktion in der klinischen Routine nicht-invasiv messbar zu machen. Die aktuell als Goldstandard geltende Messung der FMD nach Unterarmkompression ist zeitlich aufwendig, bedarf mehrerer kostenintensiver Geräte und liefert nur bei lang erfahrenen und geschulten Untersuchern reliable Ergebnisse. In diesem Teil der Arbeit wird daher untersucht, ob ein automatisiertes, computergestütztes Pulswellenanalyseverfahren ohne medikamentöse oder mechanische Stimulation in der Lage ist, die Endothelfunktion zu messen.

d) In den weiteren Teilen der Arbeit werden die Effekte verschiedener Interventionen auf die Gefäßfunktion untersucht. Kardiovaskuläre Ereignisse stellen die führende Todesursache bei terminaler Niereninsuffizienz dar. Eine Nierentransplantation führt gegenüber der Dialysetherapie zu einer Prognoseverbesserung. Es wird daher untersucht, ob die Transplantation zu messbaren Veränderungen der arteriellen Compliance führt.

e) Der neu entwickelte Immunmodulator FTY720 (Fingolimod) wurde kürzlich in Phase III Studien bei *de novo* Nierentransplantierten untersucht [73]. Unsere Arbeitsgruppe konnte *in vitro* zeigen, dass FTY720 S1P₃-Rezeptor-vermittelt über Akt/eNOS/NO eine endothelabhängige Vasodilatation verursacht [74]. In diesem Teil der Arbeit wird bei Patienten aus der Phase III Studie untersucht, ob FTY720 auch *in vivo* die Endothelfunktion beeinflusst.

f) Die auf dem Boden einer fortgeschrittenen Atherosklerose entstehende isolierte systolische Hypertonie ist auf dem Hintergrund der erhöhten arteriellen Steifigkeit medikamentös oft kaum zu beherrschen. Die vorliegende Arbeit untersucht, ob regelmäßige sportliche Aktivität hier eine sinnvolle Therapiealternative darstellt. Es wird ein Trainingsmodell für den alten Menschen entwickelt, die resultierenden Blutdruckveränderungen werden quantifiziert, und die zugrunde liegenden vaskulären Mechanismen werden identifiziert. In Folgearbeiten wird untersucht, ob eine Betablockermedikation einen etwaigen bewegungsinduzierten kardiovaskulären Benefit reduziert. Abschließend wird untersucht, ob bei Patienten mit Arthrose- oder pAVK-bedingter Gehbehinderung auch ein Ausdauertraining der oberen Extremität zu einem messbaren kardiovaskulären Benefit führt.

2. Ergebnisse und Diskussion

2.1. Detektion neuer vasoregulatorischer Systeme

2.1.1. Identifikation und pharmakologische Charakterisierung neuer humoraler vasoaktiver Substanzen

Auf der Suche nach neuen humoralen vasoaktiven Substanzen wurden von uns verschiedene menschliche Gewebe lysiert und die beinhaltenen Substanzen chromatographisch aufgereinigt. Nach Applikation auf verschiedene Anionenaustauschersäulen erhielt man Fraktionen, von denen alle diejenigen, die eine signifikante UV-Absorption aufwiesen, mit einer Reversed Phase Column (Supersher RP-18 encapped) weiter fraktioniert wurden. Die einzelnen Fraktionen wurden nachfolgend an der isolierten perfundierten Rattenniere auf Vasoaktivität untersucht. Fand sich eine vasoaktive Fraktion, so wurde sie mittels Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI), Post Source Decay-MALDI und enzymatischen Aufreinigungsverfahren identifiziert. Auf diesem Wege gelang es der Arbeitsgruppe um Professor Zidek 1994, aus menschlichen Thrombozyten Diadenosinpolyphosphate (Ap_nA) zu isolieren und als potente Vasokonstriktoren zu beschreiben [75]. Nun identifizierten wir Adenosin- und Diguanosinpolyphosphate in menschlichen Thrombozyten [76]. Folgende Substanzen wurden zuletzt identifiziert:

Adenosin(5')tetraphospho-(5')guanosin	(Ap_4G)
Adenosin(5')pentaphospho-(5')guanosin	(Ap_5G)
Adenosin(5')hexaphospho-(5')guanosin	(Ap_6G)
Guanosin(5')tetraphospho-(5')guanosin	(Gp_4G)
Guanosin(5')pentaphospho-(5')guanosin	(Gp_5G)
Guanosin(5')hexaphospho-(5')guanosin	(Gp_6G)

Verglichen mit der intrathrombozytären ATP-Konzentration belief sich die Konzentration der einzelnen gefundenen Ap_nG und Gp_nG auf 1/500 bis 1/200. Nach Zugabe von Thrombin zu einer Thrombozytensuspension konnte nachgewiesen werden dass bei der Thrombozytenaggregation mindesten 60% der Dinukleosidpolyphosphate ins Plasma gelangen [76]. Der Nachweis in Thrombozyten stellt den ersten Nachweis dieser Substanzen im Menschen dar.

Anhand von Experimenten an der isolierten perfundierten Rattenniere zeigte ich, dass Ap_nG potente Vasokonstriktoren sind [77]. Die Gp_nG zeigten keine signifikante vasoaktive Potenz. Um die Rolle von Adenosin, Guanosin und der Phosphatkettlänge für die Affinität der Dinukleosidpolyphosphate zum P_{2X} -Rezeptor beschreiben zu können, wurden in Antagonisierungs- und Desensitisierungsexperimenten die vasoaktiven Eigenschaften von Ap_nA , Ap_nG und Gp_nG miteinander verglichen [77]. Durch Antagonisierung mit Suramin und Pyridoxalphosphat-6-azophenyl-2; 4-Disulfonsäure (PPADS) ließ sich nachweisen, dass die Vasokonstriktion der Ap_nA und Ap_nG über einen P_{2X} -Rezeptor vermittelt wird, der zur Gruppe der sogenannten „purinergen Rezeptoren“ gehört. Die Vasokonstriktion von Ap_6A und α,β -methylene ATP ließ sich nicht durch den selektiven P_{2X1} -Rezeptorantagonisten NF023 hemmen, wohingegen Ap_4A , Ap_4G , Ap_5A , Ap_5G und Ap_6G partiell inhibiert wurden. Eine Blockierung der NO-Synthase mittels $N\omega$ -nitro-L-Arginin-Methylester (L-NAME) führte zu keiner Änderung der vasokonstriktiven Antworten der Ap_nA und Ap_nG . In Zusammenschau dieser Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass der P_{2X} -Rezeptor nur dann durch ein Dinukleosidpolyphosphat aktiviert wird, wenn zumindest ein Adenosin im Molekül vorliegt. Jedes Ap_nG ist schwächer aktiv als das zugehörige Ap_nA , so dass die Affinität zum Rezeptor mit der Anzahl der vorhandenen Adenosinmoleküle zunimmt. Die Xp_nX mit fünf Phosphatgruppen rufen die stärksten Vasokonstriktionen hervor, die Xp_nX mit vier Phosphatgruppen die schwächsten. Die Länge der Phosphatkette ist daher von entscheidender Bedeutung für die Rezeptoraffinität. Ergänzende Dauerperfusionsexperimente mit α,β -methylene ATP und NF023 zeigten, dass die neu entdeckten Dinukleosidpolyphosphate den vaskulären P_{2X1} -Rezeptor und einen erst kürzlich identifizierten P_{2X} -Rezeptorsubtypen aktivieren [77, 78]. Zusammenfassend gelang mit der Identifizierung und Charakterisierung der Dinukleosidpolyphosphate die Erstbeschreibung einer Gruppe von humanen vasoaktiven Substanzen, die über die Variation der Anzahl von Adenosin- und Phosphatgruppen eine Feinregulation der lokalen Perfusion eines Gefäßes ermöglichen [77]. Ob diese Substanzen eine Rolle in der Pathogenese der arteriellen Hypertonie spielen, ist derzeit noch nicht abschließend geklärt.

In einer weiteren Versuchsreihe suchten wir in humanem Myokardgewebe nach neuen vasoaktiven Faktoren. Dass das Herz endokrine Eigenschaften hat, ist bereits in der Vergangenheit gut belegt worden. Unter den bisher identifizierten myokardialen

hormonellen Faktoren sind das atriale natriuretische Peptid (ANP) [79] und das Angiotensin II [80] von besonderer Bedeutung. Die ventrikulären Myozyten besitzen spezifische Granula, bei deren Sekretion auto- und parakrin wirksame Substanzen freigesetzt werden [81, 82]. Im Herzen sind verschiedene purinerge Rezeptoren (P_1 - und P_2 -Rezeptoren) beschrieben worden, die u. a. an der Regulation der Koronarperfusion beteiligt sein sollen [83, 84]. Über viele Jahre war das ATP jedoch das einzige bekannte myokardiale Nukleotid, bis kürzlich Diadenosinpolyphosphate nachgewiesen wurden [85]. Ich untersuchte daher menschliches Myokard auf das Vorhandensein weiterer Nukleotide [86]: Nach Homogenisierung des Materials wurden mehrere chromatographische Aufreinigungsschritte durchgeführt. Die bis zur Homogenität aufgereinigten Fraktionen wurden mittels MALDI, Post Source Decay-MALDI und enzymatischen Aufreinigungsverfahren analysiert. Mit dieser Strategie ließ sich Adenosin 5'-tetrphosphat (Ap_4) nachweisen. Diese Substanz unterscheidet sich lediglich durch eine zusätzliche Phosphatgruppe vom ATP. Wir wiesen Ap_4 auch in myokardialen spezifischen Granula (Isolation nach De Bold und Bencosme [87]) nach [86]. Eine mögliche auto- und parakrine Wirksamkeit auf die Koronarperfusion wurde an isolierten, perfundierten Rattenherzen untersucht. Ap_4 induzierte hier eine dosisabhängige Vasodilatation. Die Vasodilatationen konnten sowohl durch Applikation des selektiven P_{2Y1} -Rezeptorantagonisten MRS 2179 als auch des NO-Synthase Hemmers L-NAME unterdrückt werden. Nach Entfernung des Endothels durch Triton X-100 verursachte Ap_4 dosisabhängige Vasokonstriktionen. Sowohl eine Hemmung des P_{2X} -Rezeptors durch PPADS als auch eine Desensibilisierung des P_{2X} -Rezeptors durch α,β -methylene ATP unterdrückte die Vasokonstriktion vollständig. Die Vasodilatation von Ap_4 im Bereich der Koronarien ist somit von einem endothelständigen P_{2Y1} -Rezeptor vermittelt, die Vasokonstriktion wird über einen P_{2X} -Rezeptor auf den glatten Gefäßmuskelzellen induziert.

Meine Experimente wiesen erstmalig Ap_4 im menschlichem Myokard nach [86]. Wie auch das ATP besitzen die meisten Nukleotide intra- und extrazelluläre Funktionen. Der Nachweis in sekretorischen Granula legt nahe, dass Ap_4 auch extrazelluläre Funktionen besitzt. In Zusammenschau mit der beschriebenen vasoaktiven Potenz erscheint es wahrscheinlich, dass Ap_4 als auto- und parakriner Botenstoff an der Regulation der lokalen Koronarperfusion mitwirkt. Verglichen mit ATP ist die Konzentration von Ap_4 im Myokard zwar etwa zehnfach geringer, die Halbwertszeit ist jedoch um ein Vielfaches höher als die des ATP. Die pharmakologische Charakterisierung der Wirkung von Ap_4

zeigt interessanterweise, dass die vasorelaxierende Wirkung des Ap_4 von einem intakten Endothel abhängt. Kommt es – wie bei einem atherosklerotisch geschädigten Gefäß – zu einer Schädigung des Endothels, so wirkt Ap_4 vasokonstriktiv und kann somit die Koronarperfusion reduzieren. Dies unterstreicht abermals die zentrale Rolle, die das Endothel für eine physiologische Regulation des Vasotonus und – im Falle einer Schädigung – die Pathogenese der Atherosklerose spielt.

In den beschriebenen Arbeiten ist es somit gelungen, mit den Ap_nG und dem Ap_4 neue endogene vasoaktive Substanzen zu isolieren und pharmakologisch zu charakterisieren.

Eigene Referenzen:

Westhoff TH. Pharmakologische Charakterisierung der vasoaktiven Eigenschaften von Adenosin(5')oligophospho-(5')guanosinen und Guanosin(5')oligophospho-(5')guanosinen. Dissertation, Ruhr-Universität Bochum 2000.

Van der Giet M., **Westhoff T.H.**, Cinkilic O., Jankowski J., Schluter H., Zidek W., Tepel M. The critical role of adenosine and guanosine in the affinity of dinucleoside polyphosphates to P(2X)-receptors in the isolated perfused rat kidney. Br J Pharmacol 2001; 132:467-474.

Westhoff T.H., Jankowski J., Schmidt S., Luo J., Giebing G., Schluter H., et al. Identification and characterization of adenosine 5'-tetrphosphate in human myocardial tissue. J Biol Chem 2003; 278:17735-17740.

2.1.2. Entwicklung eines physiogenomischen Modells zur Detektion neuer vasoregulatorischer Systeme

Auf der Suche nach neuen vasoregulatorischen Systemen bietet sich neben der chromatographischen Isolierung humoraler Substanzen ein genetischer Ansatz an. Die in den letzten Jahren entwickelte Microarray-Technologie eröffnet die Möglichkeit, eine differentielle Genexpression genomweit zu untersuchen. Die auf einen beliebigen Stimulus erfolgende Änderung der Genexpression in einem Organismus lässt sich so darstellen. In der Diabetesforschung wurde auf diese Art kürzlich das *resistin*-Gen entdeckt, nachdem im Mausmodell eine Hypoglykämie induziert wurde [88]. Die Hypoglykämie induzierte als physiologische Gegenregulation eine vermehrte Expression von Genen mit blutzuckersteigerndem Genprodukt. Unter den mittels Microarray detektierten blutzuckersteigernden Genen fand sich ein bisher unbekanntes Gen, das mittlerweile als *resistin*-Gen bezeichnet wird. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein solches physiogenomisches Modell zur Detektion differentiell exprimierter Gene in der Blutdruckregulation zu etablieren [89].

Die molekularbiologischen Anteile der folgenden Arbeit führte ich am Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in der Arbeitsgruppe von Frau Dr. Silke Sperling durch. Durch eine Blutentnahme wurde bei Wistar Kyoto Ratten eine hypovolämische Hypotension erzeugt. Der systolische arterielle Druck lag unmittelbar nach Punktion bei knapp 70% seines Ausgangswertes und stieg durch die zu untersuchenden Gegenregulationsmechanismen innerhalb der nächsten sechs Stunden wieder auf 87% seines Ausgangswertes an. Die Ratten in der Kontrollgruppe wurden ebenfalls punktiert, es wurde jedoch kein Blut entnommen. Nach sechs Stunden wurden die Nieren und die thorakale Aorta der Tiere entnommen und schockgefroren. Aus dem Nierenparenchymgewebe wurde RNA zur Microarray-Analyse gewonnen. Es erfolgte eine Verifikation der Ergebnisse mittels real-time PCR. Es zeigten sich signifikante Expressionssteigerungen von sechs funktionell bekannten Genen (*Igfbp1*, *Xdh*, *Sult1a1*, *Mawbp*, *Por*, *Gstm1*) und zwei sogenannten „expressed sequence tags (ESTs)“ (*BI277460*, *AI411345*). Vier dieser Gene (*Igfbp1*, *Xdh*, *Por*, *Gstm1*) spielen eine bekannte Rolle im kardiovaskulären System. Insulin-like growth factor (IGF-I) ist ein Regulatorprotein in der Embryonalentwicklung. Ferner wurden in den letzten Jahren zunehmend vaskuläre endo-, para- und autokrine Effekte beschrieben. Unter anderem beeinflusst IGF-I die NO-Produktion der Endothelzellen. Das IGF-I-Binding Protein 1 wird von *Igfbp1* kodiert und steht in einer regulatorischen Schlüsselposition zwischen

IGF-I und dem IGF-I-Rezeptor. *Xdh* kodiert für die Xanthinoxidoreduktase, dass die Oxidation von Hypoxanthin zu Xanthin im Purinstoffwechsel katalysiert. Die Xanthinoxidase generiert H_2O_2 und O_2^- und findet sich u.a. in hoher Dichte auf der luminalen Oberfläche des Endothels [90]. *Por* kodiert für die NADPH-Cytochrom P-450 Oxidoreduktase, einem Teil des membrangebundenen P-450 Multienzymsystems. Dieses Enzym hat sogar mehrere Funktionen im kardiovaskulären System: Zum einen generiert es Arachidonsäuremetabolite, die vasoaktiv sind und die Nierenfunktion über eine Depolarisation der glatten Gefäßmuskelzellen und eine Modulation der Natriumreabsorption modifizieren [91]. Zum zweiten produziert auch dieses Enzym ROS (H_2O_2 und O_2^- , Hydroxylradikale) [92, 93]. Glutathion S-Transferase ist das Genprodukt von *Gstm1* und schützt verschiedene Zellen, u.a. Endothelzellen, vor oxidativem Stress [94].

Mit den Genprodukten von *Xdh*, *Por*, und *Gstm1* sind somit drei der gefundenen Gene in den Metabolismus von Sauerstoffradikalen involviert. Ferner zeigt eines der beiden ESTs, das AI411345, interessanterweise eine 99%ige Übereinstimmung mit der Sequenz der Prolinoxidase, einem Enzym, das ebenfalls ROS produzieren kann [95]. Da O_2^- mit NO zu Peroxynitrit reagiert und damit die dilatative Potenz des Endothels abnimmt, untersuchte ich daraufhin die thorakale Aorta der normo- und hypotensiven Ratten am Small-Vessel Myographen auf ihre endotheliale Funktion [89]. Während sich die Phenylephrin-induzierten Kontraktionen beider Tiergruppen nicht signifikant unterschieden, zeigte sich für die hypotensiven Tiere eine deutlich geringere maximale NO-abhängige Dilatationsfähigkeit auf Acetylcholin. Die NO-unabhängige dilatative Potenz auf den direkten Vasodilatator Natriumnitroprussid war in beiden Gruppen identisch. Die Dilatationsfähigkeit des Endothels wurde durch den Sauerstoffradikalfänger Tiron weitgehend wiederhergestellt.

Bisher wurde angenommen, dass eine reduzierte NO-Verfügbarkeit durch Sauerstoffradikale lediglich Ausdruck pathologischer Zustände ist, wie z.B. Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus oder Nikotinabusus. Unsere Versuche zeigen, dass die sauerstoffradikalvermittelte Kontrolle der endothelialen NO-Verfügbarkeit zur physiologischen Regulation des Gefäßtonus beitragen kann.

Die beschriebene Arbeit zeigt, dass das entwickelte physiogenomische Modell in der Lage ist, differentiell exprimierte, blutdruckregulierende Gene zu detektieren. Somit ist es für die Identifikation von Kandidatengenen der essentiellen Hypertonie von Interesse.

Bisher konnten nur wenige solcher Kandidatengene mit lediglich geringem Einfluß auf den Blutdruck identifiziert werden (Renin-Angiotensin-System, Endothelinsystem und sympathisches Nervensystem). Mit der rasanten Entwicklung der Molekularbiologie war in der Hypertonieforschung die Hoffnung auf rasche und umfassende Einsichten in die Genetik der essentiellen Hypertonie verbunden. Die Erfüllung dieser Hoffnung ist die Molekularbiologie der Hypertensiologie jedoch weitgehend schuldig geblieben. Bis heute war jedoch das Augenmerk der Molekularbiologen v. a. auf die Suche nach Polymorphismen in Kandidatengenen der Hypertonie gerichtet. Möglicherweise spielen jedoch in der Pathogenese der Hypertonie weniger „statische“ genetische Variationen, als vielmehr „dynamische“ genetische Faktoren wie eine pathologische Steigerung oder Reduktion der Expression differentiell exprimierter vasoregulatorischer Gene eine Rolle. An dieser Stelle hebt sich das vorgestellte Modell von der bisherigen hypertensiologischen Genetik ab und bietet neue explorative Möglichkeiten.

Eigene Referenzen:

Westhoff T.H., Scheid S., Tolle M., Kaynak B., Schmidt S., Zidek W., et al. A physiogenomic approach to study the regulation of blood pressure. *Physiol Genomics* 2005;23:46-53.

2.2. Untersuchungen zur klinischen Messbarkeit von Gefäßeigenschaften

Die endotheliale Dysfunktion stellt den Initialschritt in der Pathogenese der Atherosklerose dar, ist jedoch noch reversibel [50]. Eine Vielzahl von Studien haben die zentrale Rolle der endothelialen Dysfunktion als unabhängigen kardiovaskulären Risikofaktor beschrieben [51, 52]. Die Endothelfunktion ist daher sowohl für die klinische Einschätzung des kardiovaskulären Risikos eines Patienten als auch als therapeutischer Ansatzpunkt hochinteressant. Daher verwundert es nicht, dass – wie oben beschrieben – jährlich mehrere hundert Arbeiten zur therapeutischen Beeinflussbarkeit der Endothelfunktion erscheinen. Soll jedoch die Bestimmung der endothelabhängigen Vasodilatation eines Tages tatsächlich Einzug in die klinische Routine erhalten soll, so bedarf dies eines einfach durchzuführenden, mit möglichst geringem zeitlichen, räumlichen und finanziellen Aufwand verbundenem, weitgehend untersucherunabhängigem, nicht-invasivem Messverfahren. Derzeit gilt die sonographisch gestützte Untersuchung der FMD nach Unterarmkompression als Goldstandard der nicht-invasiven Endothelfunktionsmessung. Von einigen Autoren wird ferner die Applikation eines β_2 -Mimetikums als Stimulus für eine vermehrte endotheliale NO-Produktion akzeptiert. Es existiert jedoch aktuell kein Messverfahren, das die oben genannten Anforderungen erfüllt.

Die Arbeitsgruppe um J. N. Cohn postulierte kürzlich, dass die Pulswellenanalyse hier eine Alternative darstellen könne [96]. Mittels einer recht einfach durchführbaren Tonometrie der A. radialis sei eine Aussage über die Endothelfunktion möglich. Die genannte Untersuchung wird mit dem CR-2000 Gerät (Hypertension Diagnostics, Eagan, Minnesota, USA) durchgeführt. Die Bestimmung ist tatsächlich rasch durchführbar und weitgehend untersucherunabhängig. Wie in der Einleitung beschrieben basiert das Gerät auf einem modifizierten Windkesselmodell. Anhand der Steilheit der Abnahme des diastolischen Drucks (diastolic decay) sei eine Unterscheidung der Compliance großer und kleiner arterieller Gefäße (C_1 und C_2) möglich [12]. Der C_2 -Wert ist nach Ansicht der Autoren ein Maß für die Endothelfunktion [96]. Ließe sich diese These belegen, so wäre erstmalig ein Verfahren zur Messung der Endothelfunktion verfügbar, das ohne einen spezifischen endothelialen Stimulus „statisch“ eine endotheliale Dysfunktion identifizieren könnte. Ich führte eine Untersuchung durch, in der die Messung von C_2 den etablierten, nicht-invasiven Messverfahren der Endothelfunktion gegenübergestellt wird.

Es wurden 136 Probanden (65 Männer, 71 Frauen) in die Studie eingeschlossen. Um ein Kollektiv zu untersuchen, dass zu einem relevanten Anteil tatsächlich eine endotheliale Dysfunktion zeigt, wurden mehrheitlich Patienten mit anamnestisch bestehendem Hypertonus eingeschlossen. An etablierten Verfahren zur Messung der endothelabhängigen Vasodilatation nutzte ich zum einen die sonographische Messung der FMD nach Unterarmkompression. Das Vorgehen entsprach einem etablierten Standardprotokoll [97]. Zum anderen maß ich die Änderung des Reflektions-Index (ΔRI) nach Applikation von Salbutamol. Auch diese Messung wurde nach einem Standardprotokoll durchgeführt [98]. Der RI wurde photoplethysmographisch am Finger gemessen (Pulse Trace, MicroMedical) und entspricht dem Verhältnis der Amplituden des diastolischen zum systolischen Peak der Pulswelle. Der diastolische Peak der Pulswelle kommt durch Reflexion der systolisch emittierten Pulswelle in der Peripherie zustande. Ihre Amplitude ist maßgeblich vom Vasotonus der kleinen, peripheren Arterien abhängig. Die Compliance der großen und kleinen Gefäße (C_1 und C_2) wurde applanationstonometrisch an der A. radialis mit dem CR-2000 Gerät bestimmt.

In der Regressionsanalyse zeigte sich, dass FMD weder mit C_2 noch mit C_1 korrelierte. Auch zwischen ΔRI und C_2 lag keine signifikante Korrelation vor. Analysierte man normotensive und hypertensive Probanden separat, ergab sich ebenfalls keine signifikante Korrelation [99].

Die beschriebenen Daten zeigen, dass C_2 kein Maß für die endothelabhängige Vasodilatation darstellt. In der Literatur sind – wie auch für die endotheliale Dysfunktion – erniedrigte C_2 -Werte für Raucher, Diabetiker und Hypertoniker beschrieben [100-104]. Möglicherweise veranlasste dies die Gruppe um J. Cohn die Vermutung zu äußern, der C_2 -Wert sei ein Maß für die Endothelfunktion. Auch in unserer Studie haben die Hypertoniker im Mittel einen niedrigeren C_2 -Wert als die Normotoniker. Die Compliance arterieller Gefäße – unabhängig, ob große kapazitative oder kleine oszillatorische – setzt sich jedoch aus funktionellen und strukturellen Aspekten zusammen, u.a. dem Ausmaß der atherosklerotisch-degenerativen Veränderungen, der Wandspannung und der Endothelfunktion. Die Endothelfunktion hat somit sicherlich einen Einfluss auf C_2 , ist jedoch als alleiniges Maß für C_2 unzureichend.

Die Pulswellenanalyse ist ein rasch durchführbares, unkompliziertes, automatisiertes Verfahren, das weitgehend untersucherabhängig ist. Die beschriebenen Daten legen jedoch nahe, dass eine statische Pulswellenanalyse nicht in der Lage ist, die Endothelfunktion zu messen. Die „Endothelfunktion“ beschreibt die Fähigkeit eines

Gefäßes, sich durch die endotheliale NO-Produktion angeregt, zu dilatieren. Ein statisches Messverfahren kann dies nicht reflektieren. Auch zukünftig wird zur Messung der Endothelfunktion daher ein Stimulus, wie z. B. eine reaktive Hyperämie, notwendig sein. Es ist jedoch durchaus denkbar, dass auch die Pulswellenanalyse zur Messung der endothelabhängigen Vasodilatation genutzt werden kann, so sie denn als „dynamische“ Messung durchgeführt wird (Messung der arteriellen Compliance vor und nach einem definierten Stimulus). Dieser Ansatz sollte in zukünftigen Studien untersucht werden.

Eigene Referenzen:

Westhoff T.H., Schmidt S., Vallbracht-Israng K., Yildirim H., Franke N., Dimeo F., et al. Small artery elasticity assessed by pulse wave analysis is no measure of endothelial dysfunction. *J Hypertens* 2007; 25:571-576.

2.3. Therapeutische Beeinflussbarkeit endothelialer und mechanischer Gefäßeigenschaften

Strukturelle und funktionelle Gefäßeigenschaften haben einen hohen prädiktiven Wert für die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität. Wie oben dargestellt, besteht daher ein großes Interesse an der therapeutischen Beeinflussbarkeit dieser Parameter. So wurde beispielsweise der Einfluss von CSE-Hemmern, Antihypertensiva und Hormontherapie auf die Endothelfunktion untersucht (s. Punkt 1.4). Im folgenden Teil der vorliegenden Arbeit wird die therapeutische Beeinflussbarkeit der funktionellen und mechanischen Gefäßeigenschaften durch weitere therapeutische Maßnahmen untersucht. Als Zielgruppe wurden Patienten mit besonders ausgeprägter Gefäßschädigung und somit besonders hohem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse ausgewählt: Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz und ältere Patienten mit Bluthochdruck.

2.3.1. Beeinflussbarkeit der arteriellen Funktion durch Nierentransplantation

Mechanische und funktionelle Gefäßeigenschaften spielen bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz eine besondere Rolle. Dialysepatienten zeigen eine besonders rasch progrediente Atherosklerose, die auch durch die bei diesen Patienten gehäuft vorliegenden klassischen Risikofaktoren wie Bluthochdruck, Diabetes und Hyperlipoproteinämie nur unzureichend zu erklären sind [105, 106]. Die arterielle Compliance der großen und kleinen Gefäße nimmt mit zunehmender Dauer der terminalen Niereninsuffizienz kontinuierlich ab [39, 107, 108]. Kardiovaskuläre Ereignisse sind die Haupttodesursache dieser Patienten. Die arterielle Steifigkeit ist bei terminaler Niereninsuffizienz ein starker und unabhängiger Prädiktor für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse [39]. Patienten nach Nierentransplantation zeigen gegenüber altersentsprechenden Dialysepatienten auf den Transplantationswartelisten einen deutlichen Überlebensvorteil [109]. Da kardiovaskuläre Ereignisse die Haupttodesursache bei terminaler Niereninsuffizienz darstellen, stellt sich die Frage, ob die Nierentransplantation das vaskuläre Risiko senkt. Die folgende Arbeit untersucht daher die Entwicklung der arteriellen Compliance großer und kleiner Gefäße nach Nierentransplantation.

Es wurden 36 Patienten untersucht, die innerhalb von acht Monaten in unserem Zentrum *de novo* nierentranplantiert wurden. Vor der Transplantation (Tag 0) und zu sechs definierten Zeitpunkt nach der Transplantation wurde eine Pulswellenanalyse der A. radialis zur Bestimmung der Compliance großer (C_1) und kleiner (C_2) arterieller

Gefäße mit dem CR-2000 Gerät (Hypertension Diagnostics, Eagan, Minnesota, USA) durchgeführt. Um eine gute Vergleichbarkeit der Werte zwischen den Patienten zu gewährleisten, wurden Patienten mit bilateraler Fistel oder Peritonealdialyse ausgeschlossen. Das immunsuppressive Initialregime bestand bei allen Patienten aus Cyclosporin A (CsA), Mycophenolatmofetil und Prednisolon. Die Nierentransplantation war bei allen 36 Patienten erfolgreich.

Die arterielle Elastizität lag bei unserem Studienkollektiv wie erwartet unter den für gesunde Menschen bekannten Werten. Die Compliance der großen und kleinen Arterien nahm innerhalb der ersten vier Wochen gegenüber dem Ausgangswert vor Transplantation zu. Die Verbesserung lag bei 22% für die großen und 47% bei den kleinen Arterien [110]. Das Maximum wurde nach drei Wochen erreicht. Jenseits des ersten Monats nach der Transplantation nahm die Compliance jedoch wieder ab und lag nach drei Monaten wieder bei ihrem Ausgangswert. Die Verbesserung der arteriellen Compliance hatte somit lediglich temporären Charakter [110].

Die Gründe für diesen Verlauf bleiben spekulativ. Es ist bekannt, dass Urämietoxine die arterielle Steifigkeit sowohl über funktionelle als auch strukturelle Faktoren steigern können [111-114]. Urämie-assoziiertes oxidativer Stress führt zu einer Reduktion der endothelabhängigen Vasodilatation mit einem konsekutiv erhöhten Vasotonus [111, 114]. Die strukturellen Gefäßschäden terminal niereninsuffizienter Patienten gehen auf diverse Faktoren zurück, von denen zwei Mechanismen kurz genannt sein sollen: Phosphat und andere Urämietoxine spielen bei der Transformation glatter Gefäßmuskelzellen in osteoblastenähnliche Zellen („osteoblast-like cells“) eine wichtige Rolle, die an der progredienten Verkalkung der Gefäßmedia beteiligt sind [113, 115, 116]. Ferner ist die Calcium-bindende und antiatherosklerotisch wirkende Substanz Fetuin-A im Blut von Dialysepatienten deutlich reduziert [117]. Während diese strukturellen Gefäßveränderungen mit großer Wahrscheinlichkeit in den ersten Wochen nach Transplantation weitgehend unbeeinflusst bleiben, können sich die funktionellen Aspekte rasch ändern. So nimmt die Konzentration an Urämietoxinen mit zunehmender Entgiftungsfunktion des Transplantates ab. Dies kann die transiente Verbesserung der arteriellen Compliance erklären. Wie aber kommt es zu der nachfolgenden erneuten Verschlechterung? Ein möglicher Erklärungsansatz liegt in den Nebenwirkungen der Immunsuppressiva. Insbesondere die Calcineurininhibitoren haben multiple Effekte auf die Gefäßfunktion. CsA ist ein potenter Vasokonstriktor. Es reduziert die endothelabhängige Vasodilatation über eine verminderte Produktion von Prostaglandin

E2 und NO und eine erhöhte Freisetzung von Endothelin und Thromboxan [118-120]. CsA führt ferner zu einer erhöhten Freisetzung von Sauerstoffradikalen [121] und steigert den Sympathikotonus [122]. Die genannten Mechanismen sind für die akute Nephrotoxizität von CsA nach Nierentransplantation verantwortlich. Langfristig kommt es zu einer obliterativen Arteriopathie (chronische CsA-Nephrotoxizität). Möglicherweise sind diese Nebenwirkungen für die erneute Verschlechterung der arteriellen Compliance verantwortlich. Leider existieren bis heute keine Daten über die Entwicklung der arteriellen Compliance nach Nierentransplantation bei Patienten mit calcineurininhibitorfreien immunsuppressiven Regimen. Mit Blick auf das reduzierte kardiovaskuläre Risiko nach Nierentransplantation sind die Befunde unserer Studie überraschend. Es bedarf daher weiterer, langfristig angelegter longitudinaler Studien zur Beurteilung der Beeinflussung der arterieller Compliance und Endothelfunktion durch Nierentransplantation.

Eigene Referenzen:

Westhoff T.H., Straub-Hohenbleicher H., Basdorf M., van der Giet S., Schmidt S., Offermann G., et al. Time-dependent effects of cadaveric renal transplantation on arterial compliance in patients with end-stage renal disease. *Transplantation* 2006; 81:1410-1414.

2.3.2. Medikamentöse Beeinflussbarkeit der arteriellen Funktion am Beispiel von FTY720 (Fingolimod)

Die oben dargestellte Studie zeigt, dass der Benefit der arteriellen Compliance nach Nierentransplantation nur passager ist. Die nach der Transplantation eingesetzten Immunsuppressiva haben negative Auswirkungen auf die Endothelfunktion und die arterielle Steifigkeit und reduzieren somit den kardiovaskulären Benefit der Nierentransplantation. In den letzten Jahren hat jedoch ein neu entwickelter Immunmodulator für Hoffnung gesorgt: FTY720 (Fingolimod) zeigte in Phase II Studien vielversprechende Ergebnisse in der Vermeidung von Rejektionen nach Nierentransplantation [123-125]. In Tierexperimenten konnte im Vorfeld der ersten Phase III Studie gezeigt werden, dass FTY720 über den S1P₃-Rezeptor eine endothelabhängige Vasodilatation durch Aktivierung des Akt/eNOS/NO Pathways induzierte [74]. Ferner reduziert FTY720 atherosklerotische Wandveränderungen in Apolipoprotein E-defizienten Mäusen [126, 127]. Diese Ergebnisse ließen hoffen, ein Immunsuppressivum entwickelt zu haben, das sich nicht nur durch fehlende negative Einflüsse auf das arterielle Gefäßsystem von den Calcineurininhibitoren abhob, sondern sogar einen kardiovaskulären Benefit erwarten ließ. In einer ersten Phase III Studie zeigte FTY720 in Kombination mit normalen CsA Konzentrationen eine identische Effizienz in der Verhinderung akuter Rejektionen wie CsA und mykophenolische Säure (MMF) [73]. Die Studie zeigte jedoch andererseits, dass eine Therapie mit FTY720 mit einer geringeren Kreatininclearance und einer häufigeren Inzidenz von Makulaödemen einherging [73], woraufhin der Einsatz von FTY720 als Immunsuppressivum nach Nierentransplantation gestoppt wurde. Heute wird das Medikament sehr erfolgreich in der Behandlung der Multiplen Sklerose eingesetzt. Die Ursache der eingeschränkten Nierenfunktion unter FTY720 blieb jedoch zunächst ungeklärt. Die *in-vitro* erhobenen Daten über die Auswirkungen dieser Substanz auf die Endothelfunktion sind *in-vivo* nie überprüft worden. In der folgenden Arbeit überprüfte ich bei den in Berlin in die multizentrische Phase III Studie eingeschlossenen *de novo* Nierentransplantierten den Einfluss von FTY720 auf die endothelabhängige Vasodilatation und die arterielle Compliance.

Die randomisierte, kontrollierte, multizentrische Dreiarmsstudie wurde von April 2003 bis April 2005 in 62 Transplantationszentren in Europa, Asien und Australien durchgeführt. Die Patienten wurden 1:1:1 in eine Gruppe mit FTY720 5.0 mg plus niedrigdosiertem CsA (initial 3-4 mg/kg/d, Gruppe 1), eine Gruppe mit FTY720 2.5 mg plus Normaldosis

CsA (initial 8-10 mg/kg/d, Gruppe 2) und eine Gruppe mit MMF 2g plus Normaldosis CsA (Gruppe 3) randomisiert [73]. Im Oktober 2004 wurden auf Empfehlung des Data Safety Monitoring Boards alle Patienten mit FTY720 5.0 mg plus niedrigdosiertem CsA wegen eines erhöhten Rejektionsrisikos auf FTY720 2,5mg plus Normaldosis CsA umgestellt. Wegen der Beendigung des Einsatzes von FTY720 in der Transplantationsmedizin wurden im Oktober und November 2005 alle FTY720-Patienten auf MMF umgestellt.

Achtzehn Patienten (12 FTY720, 6 MMF) erklärten sich einverstanden, an der Untersuchung der Gefäßfunktion teilzunehmen. Die Untersuchung fand 1,5 Jahre nach der Nierentransplantation statt und wurde drei Monate nach Umstellung von FTY720 auf MMF wiederholt. Die Patienten in der MMF-Gruppe (Gruppe 3) dienten als Kontrolle und wurde zu identischen Zeitpunkten untersucht. Die arterielle Steifigkeit wurde über den pulsadjustierten Augmentationsindex (AI_{75}) bestimmt. Die endothelabhängige und endothelunabhängige Vasodilatation wurde sonographisch nach Unterarmkompression (FMD) und nach Applikation von Glyceroltrinitrat (GTN) ermittelt.

Nach Konversion von FTY720 auf MMF zeigte sich eine signifikante Verbesserung der endothelabhängigen Dilatation, während AI_{75} and GTN keine signifikanten Unterschiede zeigten [128]. In der MMF Gruppe blieben alle drei Parameter zwischen der ersten und zweiten Untersuchung unverändert. Aus dem Dreiarmdesign der Studie ergab sich eine Verteilung von 2:1 zwischen FTY720- und MMF-Patienten. Auf einen unmittelbaren statistischen Vergleich zwischen FTY720 und MMF-Patienten wurde daher verzichtet. In beiden Gruppen wurde lediglich ein longitudinaler Vergleich der arteriellen Parameter durchgeführt, so dass bei unveränderter Komedikation und stabilen Blutdruckwerten ein Bias durch andere die Gefäßfunktion beeinflussende Faktoren weitgehend ausgeschlossen war.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind überraschend. Während die oben dargestellte Experimente im Tierversuch einen positiven Einfluss von FTY720 auf die Endothelfunktion nahelegen, kam es bei den untersuchten Patienten zu einer Verbesserung der Endothelfunktion, nachdem von FTY720 auf MMF umgestellt wurde. Für die Diskrepanz der *in-vitro* und *in-vivo* Daten gibt es mehrere mögliche Erklärungen: Zum einen könnte es sich um ein Dosisphänomen handeln. In den Untersuchungen an Mausarten, wurden FTY720-Konzentrationen zwischen 1 nmol/l und 10 μ mol/l eingesetzt, zu signifikanten Dilatationen kam es erst ab einer Konzentration von 10 nmol/l [74]. In den Dosisfindungsstudien an Nierentransplantierten erzielten FTY720 Dosen

von 0,25 bis 2,5 mg/d Plasmakonzentrationen von 1.0 to 8.8 ng/l, entsprechend 2,9 bis 25,6 pmol/l [129]. Somit lagen die Konzentrationen im Tierexperiment um einen Faktor 390 – 3448 höher als im Menschen. Ein zweiter Grund für die Diskrepanz kann in der gewebespezifischen Expression der verschiedenen S1P-Rezeptor-Subtypen liegen. Die über Sphingosin-1-Phosphat (S1P, endogener Agonist der S1P-Rezeptoren) und FTY720 hervorgerufene Akt- und eNOS-vermittelte Vasodilatation wird über den S1P₃ Rezeptor vermittelt [74]. S1P kann jedoch u.a. über S1P₂ auch Vasokonstriktionen hervorrufen [130-133]. Neben einem Dosisphänomen und der differentiellen S1P-Rezeptorsubtypexpression muss für die Diskrepanz der *in-vitro* und *in-vivo* Daten der Einfluss des Calcineurininhibitors diskutiert werden. Es ist bekannt, dass CsA u. a. über eine Freisetzung von Sauerstoffradikalen die endothelabhängige Vasodilatation reduziert. Somit könnte CsA etwaigen positiven Effekten von FTY720 auf die Endothelfunktion über den S1P₃-Rezeptor entgegenwirken, so dass in der Bilanz die vasokonstriktiven Effekte auf die glatten Gefäßmuskelzellen vorherrschen.

Unsere Studie untersuchte erstmalig den Einfluss des neuen Immunmodulators FTY720 auf die Gefäßfunktion im Menschen. Meine Daten zeigen eine Verbesserung der endothelabhängigen Vasodilatation nach Absetzen von FTY720. Eine intakte endothelabhängige und –unabhängige arterielle Vasodilatation ist eine zentrale Voraussetzung für die Regulation des glomerulären Filtrationsdrucks. Die Ergebnisse zeigen daher eine mögliche Erklärung für die eingeschränkte Nierenfunktion FTY720-behandelter Nierentransplantierte, die zur Beendigung des Einsatzes von FTY720 in der Nierentransplantation geführt hat. Eine zukünftige Untersuchung größerer Zahlen nierentransplantierte Patienten mit FTY720 ist wegen der Beendigung des Programms unmöglich. Auf dem Hintergrund des zunehmenden Einsatzes von FTY720 bei Multipler Sklerose sollten meine Daten jedoch ein Anreiz für größere Untersuchungen über die Auswirkungen dieser Substanz auf die Endothelfunktion bei MS-Patienten sein.

Eigene Referenzen:

Westhoff T.H., Schmidt S., Glander P., Liefeld L., Martini S., Offermann G., et al. The impact of FTY720 (fingolimod) on vasodilatory function and arterial elasticity in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22:2354-2358.

2.3.3. Beeinflussbarkeit der arteriellen Funktion durch körperliche Aktivität

Die endothelialen und mechanischen Gefäßeigenschaften lassen sich nicht nur medikamentös beeinflussen. Regelmäßige sportliche Aktivität kann zu einer Verbesserung der Endothelfunktion und einer Abnahme des peripheren Widerstands durch eine Reduktion des Sympathikotonus führen. So wird die regelmäßige Ausübung eines aeroben Ausdauertrainings von den europäischen und amerikanischen Hypertonierichtlinien übereinstimmend als Basismaßnahme zur Bekämpfung eines erhöhten Blutdrucks empfohlen [134-136]. Insbesondere bei einer milden Hypertonie sowie als Ergänzung zu einer medikamentösen Therapie wird körperliche Aktivität als erfolgversprechend angesehen. Hypertonikern wird in den Leitlinien empfohlen, ein aerobes Ausdauertraining wie Walking, Jogging oder Schwimmen für 30 bis 45 Minuten drei bis vier mal pro Woche durchzuführen [134]. Die Daten, die diesen Empfehlungen zugrunde liegen, sind jedoch meist bei Probanden/Patienten mittleren Alters erhoben worden. In keiner der Leitlinien wird eine Aussage zu Sport im Alter gemacht. Gibt es auch im Alter einen kardiovaskulären Benefit durch sportliche Aktivität? Angesichts der häufig weit fortgeschritten atherosklerotischen Gefäßwandveränderungen, der Komorbidität und der in der Regel reduzierten körperlichen Belastbarkeit erscheint es fraglich, ob im Alter immer noch relevante Blutdrucksenkungen und eine Verbesserung der arteriellen Funktion durch sportliche Aktivität erzielt werden kann. Bisherige Daten über körperliche Aktivität im Alter > 60 Jahre sind äußerst rar und uneinheitlich [137-139]. Wie im Abschnitt 1.3.2. dargestellt, ist die isolierte systolische Hypertonie (ISH) die vorherrschende Bluthochdruckform im Alter. Nach der Framingham-Studie leiden 57,4% der Männer und 65,1% der Frauen > 65 Jahre an einer ISH [27, 140]. Mechanistisch liegt diesem Phänomen die zunehmende arterielle Steifigkeit mit reduzierter Windkesselfunktion der großen arteriellen Gefäße zugrunde [141]. Wie oben dargestellt ist die ISH durch eine medikamentöse Therapie häufig nur unzureichend zu beeinflussen. Eine große Metaanalyse hat gezeigt, dass mehr als 75% aller Patienten mit unzureichend eingestellter Hypertonie an einer isolierten systolischen Hypertonie leiden [142]. In der EISBERG-Studie erreichten 50% der beobachteten Patienten die Zielwerte für den diastolischen Blutdruck, jedoch nur 5% die Zielwerte für den systolischen Blutdruck [143]. Angesichts dieser Problematik besteht ein dringender Bedarf an zusätzlichen nicht-medikamentösen Behandlungsoptionen.

Die folgende Arbeit ist eine randomisierte, kontrollierte Studie im Parallelgruppendesign über die Auswirkungen eines zwölfwöchigen Ausdauertrainings auf Blutdruck und

arterielle Gefäßfunktion bei Hypertonikern im Alter. Die Studie zielt auf die Beantwortung der Frage, ob auch Patienten mit deutlich erhöhtem Pulsdruck und der damit einhergehenden verminderten Sensitivität gegenüber einer konventionellen medikamentösen Therapie einen kardiovaskulären Benefit durch Sport erfahren.

54 Patienten ≥ 60 Jahre mit einem systolischen 24h-Blutdruckwert (ambulatory blood pressure, ABP) > 140 mmHg und/oder einer antihypertensiven Therapie und einem diastolischen ABP ≤ 90 mmHg in der 24-Stunden Messung wurde in zwei Gruppen randomisiert. Ausschlusskriterien waren regelmäßige sportliche Aktivität in den letzten 12 Wochen vor Studienbeginn, eine symptomatische pAVK, eine Aortenklappeninsuffizienz oder –stenose $> 1.$ Grades, eine hypertrophische obstruktive Kardiomyopathie, eine schwere Herzinsuffizienz \geq NYHA II, unkontrollierte Herzrhythmusstörungen mit hämodynamischer Relevanz, ein Ruheblutdruck ≥ 180 mmHg, Ischämiezeichen im Belastungs-EKG und eine Änderung der antihypertensiven Medikation in den letzten sechs Wochen vor Studienbeginn. Die „Trainingsgruppe“ führte ein zwölfwöchiges, laktatbasiertes (Zielwert 2.5 ± 0.5 mmol/l) Ausdauertraining auf dem Laufband durch, die Kontrollgruppe wurde keiner sportlicher Aktivität unterzogen. Das Training war als Intervalltraining konzipiert und wurde drei mal wöchentlich durchgeführt. Die initiale Dauer einer Trainingseinheit betrug 30 Minuten. Während der ersten Woche bestand eine Einheit aus 5 Belastungen von 3 min, zwischen denen die Patienten als Ruhepause 3 min mit halber Geschwindigkeit gingen. Die Dauer des Belastungsintervalls wurde kontinuierlich gesteigert und betrug ab der sechsten Woche 30 min mit wöchentlichen Steigerungen um 2 min bis maximal 45 min ohne Unterbrechung. Die Ziel-Laktat Konzentration wurde nach jeder fünften Trainingseinheit mit einer Trainingsherzfrequenz korreliert. Die Herzfrequenz der Probanden wurde während des Trainings kontinuierlich über eine Pulsuhr erfasst. Die Intensität des Trainings wurde über die Geschwindigkeit und den Anstellwinkel des Laufbandes an die Zielherzfrequenz angepasst. Zu Beginn und am Ende der Studie wurde bei allen Probanden der Trainings- und Kontrollgruppe eine 24h-ABP-Messung (Spacelabs, Redmond, Washington, USA), eine Ergometrie auf dem Laufband mit Messung des Laktats im Kapillarbluts auf jeder Belastungsstufe, sowie Messungen der Compliance großer und kleiner Arterien (C_1 und C_2 ; CR-2000, Hypertension Diagnostics, Eagan, Minnesota, USA), der endothelabhängigen Vasodilatation (FMD)

und der endothelunabhängigen Vasodilatation nach Applikation von Glyceroltrinitrat (GTN) durchgeführt.

In der Eingangsuntersuchung zeigten Trainings- und Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Alter, Anzahl der Antihypertensiva (Median 3 in beiden Gruppen), des Body Mass Indexes, des systolischen und diastolischen ABP, des systolischen und diastolischen Blutdrucks bei 100 W, C₁ und C₂, FMD und GTN. In der Trainingsgruppe gab es drei Studienabbrecher. Die Gründe für den Abbruch hatten nur bei einem Probanden (Knieschmerzen) mit dem Training selbst zu tun. Alle anderen Patienten tolerierten das Training gut. Die Patienten in der Trainingsgruppe zeigten in der Ausgangsergometrie eine signifikante Rechtsverschiebung der Laktat- und Herzfrequenzkurven im Sinne eine Steigerung der Leistungsfähigkeit gegenüber der Eingangsuntersuchung. Der systolische ABP sank signifikant um 9 mmHg, der diastolische um 5 mmHg. Die arterielle Compliance blieb unverändert, wohingegen sich die Endothelfunktion signifikant verbesserte. Um den Einfluss des Pulsdrucks als ein Marker zunehmender Gefäßalterung und –steifigkeit auf die sportinduzierte Blutdruckabnahme zu erfassen, errechneten wir ein lineares Regressionsmodell. In Übereinstimmung mit der Literatur galt „je höher der systolische Blutdruck in der Eingangsuntersuchung, desto höher die sportinduzierte Blutdruckabnahme“. Um eine vom systolischen Initialdruck unabhängige Aussage über den Pulsdruck machen zu können, adjustierte ich die Werte mittels einer Kovarianzanalyse. Nach Adjustierung der Werte zeigt sich, dass der Pulsdruck keinen Einfluss auf die zu erwartende Abnahme des Blutdrucks hat.

Die Ergebnisse meiner Studie zeigen, dass regelmäßige sportliche Aktivität auch in fortgeschrittenem Alter ein probates Mittel zur Blutdrucksenkung ist [144]. Mit 9 mmHg in der 24h-Messung war die systolische Blutdrucksenkung beträchtlich und von klinischer Relevanz. Mechanistisch liegt dieser Blutdrucksenkung eine signifikante Verbesserung der Endothelfunktion zugrunde. Neben der Blutdrucksenkung selbst, bedeutet auch die Verbesserung der Endothelfunktion eine Senkung des kardiovaskulären Risikos. Erwähnenswert ist, dass ein Großteil der Patienten die Kriterien einer „therapierefraktären Hypertonie“ (\geq drei Antihypertensiva ohne ausreichende Blutdruckeinstellung) erfüllte und die meisten der Patienten mit einem Pulsdruck > 65 mmHg sogar unter einer antihypertensive Fünffachtherapie standen. Somit scheint sportliche Aktivität in der Lage zu sein, den Blutdruck über eine Verbesserung der Endothelfunktion auch dann noch zu senken, wenn durch eine

fortgeschrittene Atherosklerose eine weitgehende Resistenz gegenüber einer medikamentösen Therapie besteht.

Meine Untersuchung stellt die erste randomisierte, kontrollierte Studie zur Bedeutung des Pulsdrucks auf den kardiovaskulären Benefit eines Ausdauertrainings bei Hypertonikern im Alter dar. Die Daten zeigen, dass sportliche Aktivität auch bei älteren Hypertonikern mit fortgeschrittener Atherosklerose, hohem Pulsdruck und geringem Ansprechen auf medikamentöse Therapie durch eine Verbesserung der Endothelfunktion ein probates Mittel zur Blutdrucksenkung darstellt.

Viele ältere Hypertoniker werden mit Betablockern behandelt. Betablocker beeinflussen die Herzfrequenz, den Sympathikotonus, die maximale Leistungsfähigkeit und die lokale Laktatproduktion. Somit sind sie für die Ausübung eines Ausdauertrainings in mehrfacher Hinsicht von Bedeutung: Es wurde gezeigt, dass eine akute Einnahme von Betablockern zu einer erhöhten Belastungswahrnehmung ("perceived exertion") und einer geringeren maximalen Sauerstoffaufnahme (VO_{2max}) als Maß für die maximale Leistungsfähigkeit führt. Verantwortlich gemacht wird u.a. die β_2 -rezeptorvermittelte periphere Vasokonstriktion. Nicht-selektive Betablocker können so die Laktatkonzentration während der Belastung steigern [145]. Auch Metoprolol als β_1 -selektiver Betablocker führt zu einer Linksverschiebung der Laktatkurve und der ventilatorischen anaeroben Schwelle [146]. In jungen, gesunden Menschen führt eine Betablockade zu einem Rückgang des Schlagvolumens und des Herzzeitvolumens, während die arteriovenöse Sauerstoffausschöpfung steigt [147]. Diese Effekte werden von sämtlichen Betablockerklassen ausgeübt [148].

Das zweite ungeklärte Problem für sportmotivierte Patienten mit Betablockern besteht in der Festlegung der Intensität des Trainings. Diese wird in der Regel über die Herzfrequenz festgelegt. Das American College of Sports Medicine empfiehlt, dass ein Training bei 40-60% der VO_2 -Reserve (VO_2R) erfolgen sollte [149]. Körperliche Belastung über 60% der VO_2R führen zu keiner weiteren Blutdrucksenkung mehr und können bei Hypertonikern sogar den Blutdruck steigern [150, 151]. Die Zielbelastung liegt bei etwa 60 bis 70% der maximalen Herzfrequenz und lässt sich in ausreichender Näherung mit der Faustregel „ $0,7 \times 220 - \text{Lebensalter}$ “ oder – weiter vereinfacht – „ $180 - \text{Lebensalter}$ “ errechnen. Für Patienten mit Betablockern existieren jedoch keinerlei Empfehlungen zur Trainingsherzfrequenz.

Die Auswirkungen von Betablockern auf den kardiovaskulären Benefit körperlicher Aktivität sind noch nie untersucht worden. Wir führten daher eine kontrollierte, randomisierte Studie durch, in der die kardiovaskulären Effekte eines zwölfwöchigen Ausdauertrainings bei älteren Hypertonikern mit und ohne Betablockern verglichen wurden [152]. Ferner entwickelten wir erstmalig einen Ansatz zur Festlegung einer Trainingsherzfrequenz für Patienten mit Betablockern.

Es wurden 52 Patienten (23 mit Betablocker, 29 ohne Betablocker) ≥ 60 Jahre mit einem systolischen 24h-ABP ≥ 140 mmHg und/oder antihypertensiver Behandlung in die Studie eingeschlossen und in eine Trainings- und eine Kontrollgruppe randomisiert. Die Ausschlusskriterien sind mit der oben beschriebenen Studie identisch. Das Training war laktatbasiert (Zielkonzentration 2 mmol/l), das Konzept des Trainings entsprach dem oben dargestellten. Eine 24h-Blutdruckmessung, eine Ergometrie, eine Messung der arteriellen Compliance (C_1 und C_2), sowie der endothelabhängigen und unabhängigen Vasodilatation erfolgte zu Beginn und am Ende des Untersuchungszeitraums.

Alle Patienten erhielten mindestens ein Antihypertensivum. Die Randomisierung in Trainings- und Kontrollgruppe erfolgte unabhängig von der Einnahme von Betablockern. 25 Patienten wurden in die Trainingsgruppe, 27 in die Kontrollgruppe randomisiert. 9 Patienten in der Trainingsgruppe und 14 in der Kontrollgruppe nahmen Betablocker ein. Die Patienten mit Betablockern in der Trainingsgruppe nahmen entweder Metoprolol, Bisoprolol oder Atenolol ein. In der Kontrollgruppe nahmen zwei Patienten Carvedilol, ein Patient Nebivolol und die anderen ebenfalls Metoprolol, Bisoprolol oder Atenolol ein. Weitere negativ chronotrope Substanzen wie Verapamil oder Diltiazem wurden nicht eingenommen.

Alle Patienten nahmen bis zum Ende der Studie an der Untersuchung teil. In der initialen Ergometrie zeigte die gemittelte Laktatkurve der Betablockerpatienten eine geringere Steigung als die der Patienten ohne Betablocker. Ferner zeigte sich eine Linksverschiebung, die anzeigt, dass bereits bei geringeren Herzfrequenzen höhere Laktatwerte erreicht werden. Die Leistungsfähigkeit und die subjektiv wahrgenommene Belastung waren bei den Patienten mit Betablockern ebenfalls bereits unter geringeren Herzfrequenzen erhöht. In der Trainingsgruppe kam es sowohl bei den Patienten ohne als auch bei den Patienten mit Betablockern zu einer signifikanten Senkung des systolischen und diastolischen 24h-ABP und des Blutdrucks unter Belastung (100 W) sowie zu einer signifikanten Steigerung der Endothelfunktion und der Leistungsfähigkeit.

Die arterielle Compliance und die endothelunabhängige Vasodilatation änderten sich nicht. Das Ausmaß der Blutdrucksenkung zeigte zwischen der Gruppe mit und der Gruppe ohne Betablocker keinen signifikanten Unterschied (Δ systolischer ABP 10.6 ± 10.5 vs. 10.6 ± 8.8 mmHg, Δ diastolischer ABP 5.7 ± 8.6 vs. 5.8 ± 4.0 mmHg). In der Kontrollgruppe ergab sich keine Änderung des Blutdrucks oder der vaskulären Parameter. Die Herzfrequenz während des Trainings wurde kontinuierlich registriert, in fünfminütigen Abständen dokumentiert und an ein Ziel von 2 mmol/l Lactat adjustiert. Die mittlere Trainingsherzfrequenz war bei den Patienten mit Betablockern 18% niedriger als bei den Patienten ohne Betablocker (97.2 ± 7.7 /min vs. 118.3 ± 7.5 /min). Der Unterschied war hochsignifikant ($p < 0.001$). Diese Aussage ist jedoch durch die verschiedenen Dosen und Klassen von Betablockern in der Studie limitiert und sollte in weiteren Studien bestätigt werden, um Patienten mit Betablockern eine evidenzbasierte Empfehlung zu einer optimalen Trainingsherzfrequenz machen zu können.

Zusammenfassend zeigen unsere Daten, dass Betablocker den kardiovaskulären Benefit eines aeroben Ausdauertrainings nicht reduzieren. Weder die sportinduzierte Blutdrucksenkung noch das Ausmaß der Verbesserung der Endothelfunktion wird durch das Vorhandensein eines Betablockers signifikant beeinflusst.

Die beiden oben dargestellten Arbeiten zeigen, dass regelmäßige sportliche Aktivität auch beim älteren Hypertoniker trotz einer fortgeschrittenen Atherosklerose und einer etwaigen Betablockertherapie eine Verbesserung der Endothelfunktion und eine Blutdrucksenkung hervorruft. Viele der betroffenen Hypertoniker haben jedoch auf dem Hintergrund ihrer fortgeschrittenen Atherosklerose eine symptomatische periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK). Ferner bestehen mit zunehmendem Alter häufig arthrotische Beschwerden im Hüft- und Kniebereich, die ein regelmäßiges Geh-, Lauf- oder Radfahrtraining unmöglich ist. Die obere Extremität ist von diesen muskuloskelettalen Beschwerden wie auch von einer klinisch manifesten pAVK deutlich seltener betroffen. Aufgrund der geringeren Muskelmasse der oberen Extremität ist jedoch die maximal erreichbare Leistung geringer. In der letzten der nachfolgend aufgeführten Arbeiten untersuchte ich daher, ob ein aerobes, nicht-isometrisches Ausdauertraining der oberen Extremität ebenfalls in der Lage ist, einen messbaren kardiovaskulären Benefit hervorzurufen.

Einschlusskriterien waren ein systolischer Blutdruck ≥ 140 mmHg und/oder eine bestehende antihypertensive Therapie. Die Ausschlusskriterien stimmen mit denen der

zwei erstgenannten Studien überein. Wir schlossen 24 Patienten (13 weiblich, 11 männlich) in die Studie ein und randomisierten sie in eine Trainingsgruppe (12 Probanden) und eine Kontrollgruppe (12 Probanden). Um ein für die pAVK- und Arthroseproblematik repräsentatives Studienkollektiv zu schaffen, untersuchten wir ältere Hypertoniker mit einem mittleren Alter von 66 in der Trainings- und 68 Jahren in der Kontrollgruppe. Das Training wurde an einem Armergometer (MOTOmed Viva 2, Reck-Technik, Betzenweiler) durchgeführt, an dem - ähnlich einem Fahrradergometer - kreisende, nicht-isometrische Bewegungen gegen einen modifizierbaren Widerstand ausgeübt werden. Dauer und Häufigkeit der Trainingseinheiten entsprach dem Konzept der ersten beiden Studien (12 Wochen, drei mal pro Woche, 30 bis 45 min). Es wurde ein Intervalltraining mit zunehmender Dauer der Belastungseinheiten durchgeführt. Die Drehgeschwindigkeit lag bei 80 bis 90/min, der Widerstand wurde individuell festgelegt und richtete sich nach dem Laktatwert des Probanden. Eine Laktatkonzentration von 2,0 mmol/l wurde als Zielwert definiert, über den die Trainingsherzfrequenz festgelegt wurde. Am Anfang und am Ende des Untersuchungszeitraums wurden eine Ergometrie mit der oberen und eine mit der unteren Extremität, eine Messung des Augmentationsindex (AI_{75}), eine Messung der Compliance großer und kleiner Arterien (C_1 und C_2) sowie eine Messung der endothelabhängigen Vasodilatation (FMD) durchgeführt. In der Eingangsuntersuchung zeigten sich Trainings- und Kontrollgruppe hinsichtlich Alter, Blutdruck, Gefäßparametern, BMI und maximaler Leistung in der Ergometrie homogen. Alle Patienten führten die Studie zu Ende, sämtliche Patienten in der Trainingsgruppe tolerierten das Training ohne Probleme. In der Ergometrie der unteren Extremität zeigte sich in beiden Gruppen in den Laktat- und Herzfrequenzkurven kein Hinweis für eine signifikante Leistungszunahme. Die maximale Leistung in der Armergometrie nahm hingegen in der Trainingsgruppe zu. Das Training führte zu einer signifikanten Senkung des systolischen und des diastolischen Ruheblutdrucks sowie zu einer signifikanten Verbesserung der Compliance der kleinen arteriellen Gefäße (C_2). FMD, AI, and C_1 waren nicht signifikant verändert. In der Kontrollgruppe blieben sämtliche Parameter unverändert.

Diese Untersuchung stellt die erste kontrollierte, randomisierte Studie zu den kardiovaskulären Auswirkungen eines aeroben nicht-isometrischen Ausdauertrainings der oberen Extremität dar. Die Daten zeigen, dass ein Armtraining tatsächlich in der Lage ist, den Blutdruck zu senken. Das Ausmaß der Blutdrucksenkung von 7 mmHg systolisch und 6 mmHg diastolisch ist von klinischer Relevanz. Warum es in dieser

Studie nicht zu einer Verbesserung der Endothelfunktion gekommen ist, bleibt spekulativ. Einerseits war in der statistischen Planung der Studie eine Änderung des Blutdrucks als primärer Endpunkt definiert, so dass möglicherweise das Studienkollektiv nicht groß genug war, um Änderungen der Endothelfunktion zu erfassen. Andererseits kann die fehlende Zunahme der Leistungsfähigkeit in der Ergometrie der unteren Extremität ein Hinweis dafür sein, dass die körperliche Belastung aufgrund der geringeren Muskelmasse der oberen Extremität während des Trainings nicht groß genug war, um eine Verbesserung der Endothelfunktion hervorzurufen. Die Induktion der endothelialen NO-Synthase durch körperliche Aktivität wird durch die Steigerung des Herzzeitvolumens während der Belastung und der damit einhergehenden Scherspannungssteigerung hervorgerufen. Die mit einer Steigerung der Compliance der kleinen Gefäße einhergehende Blutdrucksenkung lässt sich z. B. über die sportinduzierte Senkung des Sympathikotonus erklären. Der Sympathikotonus reguliert den peripheren Widerstand vornehmlich über Vasoregulation der kleinen Arterien und Arteriolen. Eine sportinduzierte Senkung des Sympathikotonus führt zu einer Reduktion der peripheren Vasokonstriktion, einer Senkung der arteriellen Wandspannung und damit zu einer Verbesserung der Compliance der kleinen arteriellen Gefäße [49].

Die dargestellten Ergebnisse zeigen, dass auch ein regelmäßiges nicht-isometrisches Training mit der oberen Extremität zu einer Blutdrucksenkung führt und die Compliance der kleinen arteriellen Gefäße verbessert. Diese Art des Trainings stellt eine Option für Hypertoniker mit pAVK oder Arthroseproblemen dar, die trotz ihrer Gehbehinderung ihre Blutdruckeinstellung durch sportliche Aktivität verbessern wollen.

Die drei genannten Studien zeigen, dass sportliche Aktivität auch in fortgeschrittenem Alter in die Vasoregulation eingreift und über eine Verbesserung der Endothelfunktion und der arteriellen Compliance zu einer Blutdrucksenkung bei Hypertonikern führt. Weder eine fortgeschrittene Atherosklerose bei isolierter systolischer Hypertonie, noch die Behandlung mit Betablockern oder eine Gehbehinderung stellen ein Hindernis für einen kardiovaskulären Benefit durch Sport dar.

Eigene Referenzen:

Westhoff T.H., Franke N., Schmidt S., Vallbracht-Israng K., Meissner R., Yildirim H., et al. Too old to benefit from sports? The cardiovascular effects of exercise training in

elderly subjects treated for isolated systolic hypertension. *Kidney Blood Press Res* 2007; 30:240-247.

Westhoff T.H., Franke N., Schmidt S., Vallbracht-Israng K., Zidek W., Dimeo F., van der Giet M. Beta-blockers do not impair the cardiovascular benefits of endurance training in hypertensives. *J Hum Hypertens* 2007; 21:486-493.

Westhoff T.H., Schmidt S., Gross V., Joppke M., Zidek W., van der Giet M., Dimeo F. The cardiovascular effects of upper limb aerobic exercise in hypertensive patients. *J Hypertens* 2008; 26:1336-42.

3. Zusammenfassung

Die Regulation des arteriellen Vasotonus wird durch ein dynamisches Zusammenspiel verschiedener lokaler und systemischer Komponenten gewährleistet. Ein Ungleichgewicht dieser Komponenten spielt in der Pathogenese der Hypertonie und der Atherosklerose eine zentrale Rolle. Tierexperimentelle Daten deuten darauf hin, dass für die Entstehung der essentiellen Hypertonie noch unentdeckte vasoregulatorische Systeme eine zentrale Rolle spielen. Der erste Teil der vorliegenden Arbeit widmet sich der Identifizierung und pharmakologischen Charakterisierung neuer humoraler, vasoaktiver Substanzen sowie der Suche nach neuen blutdruckregulierenden differentiell exprimierten Genen. Im zweiten Teil der Arbeit wird anhand von klinischen Studien untersucht, wie sich die arterielle Gefäßfunktion messen und therapeutisch beeinflussen lässt.

Mit der Isolierung der Adenosinpolyphosphate (Ap_nG) aus menschlichen Thrombozyten gelang der Nachweis einer neuen Klasse von humanen vasoaktiven Substanzen, die über die Variation der Anzahl von Adenosin- und Phosphatgruppen eine Feinregulation der lokalen Perfusion eines Gefäßes ermöglichen. Die pharmakologische Charakterisierung dieser Substanzen zeigte, dass die vasoaktiven Effekte über den vaskulären P_{2X1} -Rezeptor und einen kürzlich identifizierten P_{2X} -Rezeptorsubtypen vermittelt werden.

Die chromatographische Aufreinigung humanen Myokards führte zum erstmaligen Nachweis von Adenosintetraphosphat (Ap_4) im Herzen. Es konnte gezeigt werden, dass sich Ap_4 in den sekretorischen Granula der Myozyten befindet. Die Untersuchungen am Rattenherzen zeigten, dass Ap_4 ein potenter Vasoregulator der Koronararterien ist. Bei intaktem Endothel kommt es zu einer P_{2Y1} -vermittelten Vasodilatation. Bei geschädigtem Endothel kommt es hingegen zu einem Überwiegen der P_{2X} -vermittelten Vasokonstriktion, was abermals die zentrale Rolle eines intakten Endothels für die physiologische Vasoregulation unterstreicht. Diese Daten zeigen, dass die endokrinen Funktionen des Herzens über die Synthese des atrialen natriuretischen Peptids hinausgehen.

Im nächsten Teil der Arbeit gelang es, ein physiogenomisches Modell zur microarray-gestützten transkriptomweiten Detektion differentiell exprimierter, vasoregulatorischer Gene zu etablieren. Mit Hilfe dieses Modells konnte ich nachweisen, dass eine

vermehrte Produktion von Sauerstoffradikalen mit einer konsekutiven Verminderung der NO-Bioverfügbarkeit nicht zwingend Zeichen einer endothelialen Dysfunktion mit Krankheitswert sein muss, sondern auch Teil eines physiologischen Regelkreises sein kann. Neben der Identifizierung von neuen Vasoregulationssystemen ist dieses Modell für die Detektion von Kandidatengeneten der essentiellen Hypertonie von Interesse.

Eine Vielzahl von Studien haben die zentrale Rolle der endothelialen Dysfunktion als unabhängigen kardiovaskulären Risikofaktor beschrieben. Die nicht-invasive Messung der endothelialen Funktion über den derzeitigen Goldstandard, die sonographisch gestützte Untersuchung der FMD nach Unterarmkompression, ist jedoch aufwendig und für den klinischen Alltag ungeeignet. Von einigen Autoren wurde daher postuliert, dass eine statische, automatisierte Pulswellenanalyse zur Messung der Compliance der kleinen arteriellen Gefäße in der Lage sei, die Endothelfunktion mit hinreichender Genauigkeit zu reflektieren. Diese These wurde von mir überprüft und an einem großen Kollektiv hypertensiver und normotensiver Patienten widerlegt. Die Messung der NO-abhängigen Vasodilatation bedarf eines dynamischen Messvorgangs, in dem die Reaktion des Endothels auf einen definierten Stimulus dargestellt wird.

Die Endothelfunktion und die arterielle Compliance haben einen hohen prädiktiven Wert für die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität. Es besteht daher ein großes Interesse an der therapeutischen Beeinflussbarkeit dieser Parameter. Im letzten Teil der vorliegenden Arbeit wurde nach Therapiekonzepten für Patienten mit besonders stark ausgeprägter Gefäßschädigung gesucht: Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz und Patienten mit isolierter systolischer Hypertonie. Es wurden zunächst die Auswirkungen einer *de novo* Nierentransplantation auf die arterielle Compliance untersucht. Es zeigte sich, dass die Transplantation lediglich zu einer transienten Besserung der Gefäßelastizität führte. Da der Grund für die erneute Abnahme der Compliance am ehesten in den vasotoxischen Nebenwirkungen der Immunsuppressiva zu finden war, untersuchte ich in einer weiteren Arbeit die Auswirkungen des alternativen Immunmodulators FTY720 auf die funktionellen und mechanischen Gefäßeigenschaften. In Tierexperimenten hatte diese neu entwickelte Substanz bewiesen, dass sie eine S1P₃-Rezeptor-vermittelte NO-abhängige Vasodilatation induziert. Die von mir innerhalb einer Phase III Studie erhobenen Daten zeigten jedoch, dass FTY720 *in-vivo* nicht in der Lage war, die Endothelfunktion zu verbessern.

Vielmehr kam es zu einer Verbesserung der NO-abhängigen Vasodilation nach Konversion auf Mykophenolatmofetil. Diese Ergebnisse stellen den bisher einzigen Erklärungsansatz für die in der Phase III Studie aufgefallene reduzierte glomeruläre Filtrationsrate unter FTY720 dar.

Regelmäßige sportliche Aktivität kann zu einer Verbesserung der Endothelfunktion und einer Abnahme des totalen peripheren Widerstands führen. Es wurde jedoch bezweifelt, dass körperliche Aktivität auch beim alten Menschen mit limitierter körperlicher Fitness, vermehrten muskuloskelettalen Problemen und einer fortgeschrittenen Atherosklerose mit dem Bild einer isolierten systolischen Hypertonie zu einer messbaren Verbesserung der Gefäßfunktion und einer Blutdrucksenkung führen kann. Unsere randomisierte, kontrollierte Studie konnte jedoch zeigen, dass auch bei diesen Patienten eine Verbesserung der Endothelfunktion erzielt wird, die zu einer klinisch relevanten Blutdrucksenkung führt. Die sportinduzierte Abnahme des Blutdrucks erwies sich als unabhängig vom Pulsdruck als Maß für arterielle Steifigkeit. In einer weiteren Studie wurde erstmalig der Einfluss einer chronischen Betablockade auf den kardiovaskulären Benefit durch Sport untersucht. Es zeigte sich, dass weder die Verbesserung der Endothelfunktion, noch die Abnahme des Blutdrucks durch Betablocker reduziert wurde. Diese Studie stellt einen ersten Ansatz zur Festlegung einer Trainingsherzfrequenz für Patienten mit Betablockern dar. In einer abschließenden kontrollierten, randomisierten Studie ließ sich nachweisen, dass auch ein Ausdauertraining der oberen Extremität zu messbaren Veränderungen der arteriellen Compliance und einer Blutdrucksenkung führt. Somit stellen für den älteren Hypertoniker weder eine fortgeschrittene Atherosklerose mit isolierter systolischer Hypertonie, noch eine Betablockertherapie oder Gehprobleme ein Hindernis dar, um durch regelmäßige sportliche Aktivität einen kardiovaskulären Benefit zu erzielen.

Zusammenfassend gelang es in der vorliegenden Habilitationsschrift, neue vasoregulatorische Systeme zu detektieren und klinische Therapieoptionen zur Verbesserung der funktionellen und mechanischen Gefäßeigenschaften aufzuzeigen.

4. Referenzen

1. Quyyumi A.A. Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. *Am J Med* 1998; 105:32S-39S.
2. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288:373-376.
3. Katusic Z.S., Vanhoutte P.M. Superoxide anion is an endothelium-derived contracting factor. *Am J Physiol* 1989; 257:H33-37.
4. Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobayashi M., Mitsui Y., et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332:411-415.
5. Goliás C., Tsoutsis E., Matziridis A., Makridis P., Batistatou A., Charalabopoulos K. Review. Leukocyte and endothelial cell adhesion molecules in inflammation focusing on inflammatory heart disease. *In Vivo* 2007; 21:757-769.
6. Tonetti M.S., D'Aiuto F., Nibali L., Donald A., Storry C., Parkar M., et al. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med* 2007; 356:911-920.
7. Giannotti G., Landmesser U. Endothelial dysfunction as an early sign of atherosclerosis. *Herz* 2007; 32:568-572.
8. Ross R., Glomset J.A. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science* 1973; 180:1332-1339.
9. Hambrecht R., Wolf A., Gielen S., Linke A., Hofer J., Erbs S., et al. Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342:454-460.
10. Hallock P., Benson I.C. Studies on the Elastic Properties of Human Isolated Aorta. *J Clin Invest* 1937; 16:595-602.
11. Avolio A., Jones D., Tafazzoli-Shadpour M. Quantification of alterations in structure and function of elastin in the arterial media. *Hypertension* 1998; 32:170-175.
12. Finkelstein S.M., Cohn J.N. First- and third-order models for determining arterial compliance. *J Hypertens Suppl* 1992; 10:S11-14.
13. Cohn J.N. Vascular wall function as a risk marker for cardiovascular disease. *J Hypertens Suppl* 1999; 17:S41-44.

14. Oliver J.J., Webb D.J. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:554-566.
15. Ward R. (1990) Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. In: *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*. (ed. B. Laragh), p. 81-100. Raven Press.
16. Shimkets R.A., Warnock D.G., Bositis C.M., Nelson-Williams C., Hansson J.H., Schambelan M., et al. Liddle's syndrome: heritable human hypertension caused by mutations in the beta subunit of the epithelial sodium channel. *Cell* 1994; 79:407-414.
17. Timberlake D.S., O'Connor D.T., Parmer R.J. Molecular genetics of essential hypertension: recent results and emerging strategies. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10:71-79.
18. Deng A.Y. Genetic basis of polygenic hypertension. *Hum Mol Genet* 2007; 16 Spec No. 2:R195-202.
19. Kunz R., Kreutz R., Beige J., Distler A., Sharma A.M. Association between the angiotensinogen 235T-variant and essential hypertension in whites: a systematic review and methodological appraisal. *Hypertension* 1997; 30:1331-1337.
20. Staessen J.A., Wang J.G., Ginocchio G., Petrov V., Saavedra A.P., Soubrier F., et al. The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. *J Hypertens* 1997; 15:1579-1592.
21. Davies E., Holloway C.D., Ingram M.C., Inglis G.C., Friel E.C., Morrison C., et al. Aldosterone excretion rate and blood pressure in essential hypertension are related to polymorphic differences in the aldosterone synthase gene CYP11B2. *Hypertension* 1999; 33:703-707.
22. O'Connor D.T., Insel P.A., Ziegler M.G., Hook V.Y., Smith D.W., Hamilton B.A., et al. Heredity and the autonomic nervous system in human hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2000; 2:16-22.
23. Cusi D., Barlassina C., Azzani T., Casari G., Citterio L., Devoto M., et al. Polymorphisms of alpha-adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension. *Lancet* 1997; 349:1353-1357.
24. Dahl L.K., Knudsen K.D., Iwai J. Humoral transmission of hypertension: evidence from parabiosis. *Circ Res* 1969; 24:Suppl:21-33.

25. Zidek W., Heckmann U., Lange-Asschenfeldt H., Losse H., Vetter H. Humoral factors in the pathogenesis of primary hypertension. *Klin Wochenschr* 1985; 63 Suppl 3:94-96.
26. Zidek W., Heckmann U., Losse H., Vetter H. Effects on blood pressure of cross circulation between spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Clin Exp Hypertens A* 1986; 8:347-354.
27. Franklin S.S., Gustin W.t., Wong N.D., Larson M.G., Weber M.A., Kannel W.B., Levy D. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1997; 96:308-315.
28. Neaton J.D., Blackburn H., Jacobs D., Kuller L., Lee D.J., Sherwin R., et al. Serum cholesterol level and mortality findings for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. *Arch Intern Med* 1992; 152:1490-1500.
29. Herrington D.M., Brown W.V., Mosca L., Davis W., Eggleston B., Hundley W.G., Raines J. Relationship between arterial stiffness and subclinical aortic atherosclerosis. *Circulation* 2004; 110:432-437.
30. Wang T.J., Gona P., Larson M.G., Tofler G.H., Levy D., Newton-Cheh C., et al. Multiple biomarkers for the prediction of first major cardiovascular events and death. *N Engl J Med* 2006; 355:2631-2639.
31. Gibbons G.H., Dzau V.J. The emerging concept of vascular remodeling. *N Engl J Med* 1994; 330:1431-1438.
32. Cohn J.N., Finkelstein S., McVeigh G., Morgan D., LeMay L., Robinson J., Mock J. Noninvasive pulse wave analysis for the early detection of vascular disease. *Hypertension* 1995; 26:503-508.
33. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362:801-809.
34. Girerd X., Laurent S., Pannier B., Asmar R., Safar M. Arterial distensibility and left ventricular hypertrophy in patients with sustained essential hypertension. *Am Heart J* 1991; 122:1210-1214.
35. Fukuda D., Yoshiyama M., Shimada K., Yamashita H., Ehara S., Nakamura Y., et al. Relation between aortic stiffness and coronary flow reserve in patients with coronary artery disease. *Heart* 2006; 92:759-762.

36. Leung M.C., Meredith I.T., Cameron J.D. Aortic stiffness affects the coronary blood flow response to percutaneous coronary intervention. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290:H624-630.
37. O'Rourke M.F. Basic concepts for the understanding of large arteries in hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 Suppl 2:S14-21.
38. McEniery C.M. Novel therapeutic strategies for reducing arterial stiffness. *Br J Pharmacol* 2006; 148:881-883.
39. Blacher J., Guerin A.P., Pannier B., Marchais S.J., Safar M.E., London G.M. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation* 1999; 99:2434-2439.
40. Laurent S., Boutouyrie P., Asmar R., Gautier I., Laloux B., Guize L., et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 2001; 37:1236-1241.
41. Cruickshank K., Riste L., Anderson S.G., Wright J.S., Dunn G., Gosling R.G. Aortic pulse-wave velocity and its relationship to mortality in diabetes and glucose intolerance: an integrated index of vascular function? *Circulation* 2002; 106:2085-2090.
42. Meaume S., Benetos A., Henry O.F., Rudnichi A., Safar M.E. Aortic pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality in subjects >70 years of age. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:2046-2050.
43. London G.M., Blacher J., Pannier B., Guerin A.P., Marchais S.J., Safar M.E. Arterial wave reflections and survival in end-stage renal failure. *Hypertension* 2001; 38:434-438.
44. Lee M.L., Rosner B.A., Weiss S.T. Relationship of blood pressure to cardiovascular death: the effects of pulse pressure in the elderly. *Ann Epidemiol* 1999; 9:101-107.
45. Domanski M.J., Davis B.R., Pfeffer M.A., Kastantin M., Mitchell G.F. Isolated systolic hypertension : prognostic information provided by pulse pressure. *Hypertension* 1999; 34:375-380.
46. Millar J.A., Lever A.F., Burke V. Pulse pressure as a risk factor for cardiovascular events in the MRC Mild Hypertension Trial. *J Hypertens* 1999; 17:1065-1072.
47. Glynn R.J., Chae C.U., Guralnik J.M., Taylor J.O., Hennekens C.H. Pulse pressure and mortality in older people. *Arch Intern Med* 2000; 160:2765-2772.

48. Khattar R.S., Swales J.D., Dore C., Senior R., Lahiri A. Effect of aging on the prognostic significance of ambulatory systolic, diastolic, and pulse pressure in essential hypertension. *Circulation* 2001; 104:783-789.
49. Wilkinson I.B., McEniery C.M. Arterial stiffness, endothelial function and novel pharmacological approaches. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004; 31:795-799.
50. Egashira K. Clinical importance of endothelial function in arteriosclerosis and ischemic heart disease. *Circ J* 2002; 66:529-533.
51. Halcox J.P., Schenke W.H., Zalos G., Mincemoyer R., Prasad A., Waclawiw M.A., et al. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation* 2002; 106:653-658.
52. Targonski P.V., Bonetti P.O., Pumper G.M., Higano S.T., Holmes D.R., Jr., Lerman A. Coronary endothelial dysfunction is associated with an increased risk of cerebrovascular events. *Circulation* 2003; 107:2805-2809.
53. Kasprzak J.D., Klosinska M., Drozd J. Clinical aspects of assessment of endothelial function. *Pharmacol Rep* 2006; 58 Suppl:33-40.
54. Ito A., Tsao P.S., Adimoolam S., Kimoto M., Ogawa T., Cooke J.P. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999; 99:3092-3095.
55. Cox R.H. Mechanics of canine iliac artery smooth muscle in vitro. *Am J Physiol* 1976; 230:462-470.
56. Shorr R.I., Somes G.W. Can Diastolic Blood Pressure be Excessively Lowered in the Treatment of Isolated Systolic Hypertension? *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2000; 2:134-137.
57. Simon A.C., Levenson J.A., Levy B.Y., Bouthier J.E., Peronneau P.P., Safar M.E. Effect of nitroglycerin on peripheral large arteries in hypertension. *Br J Clin Pharmacol* 1982; 14:241-246.
58. Duchier J., Iannascoli F., Safar M. Antihypertensive effect of sustained-release isosorbide dinitrate for isolated systolic systemic hypertension in the elderly. *Am J Cardiol* 1987; 60:99-102.
59. Stokes G.S., Ryan M. Can Extended-Release Isosorbide Mononitrate be Used as Adjunctive Therapy for Systolic Hypertension? An Open Study Employing Pulse-Wave Analysis to Determine Effects of Antihypertensive Therapy. *Am J Geriatr Cardiol* 1997; 6:11-19.

60. Stokes G.S., Bune A.J., Huon N., Barin E.S. Long-term effectiveness of extended-release nitrate for the treatment of systolic hypertension. *Hypertension* 2005; 45:380-384.
61. Stokes G.S., Barin E.S., Gilfillan K.L. Effects of isosorbide mononitrate and All inhibition on pulse wave reflection in hypertension. *Hypertension* 2003; 41:297-301.
62. Egashira K., Hirooka Y., Kai H., Sugimachi M., Suzuki S., Inou T., Takeshita A. Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia. *Circulation* 1994; 89:2519-2524.
63. Treasure C.B., Klein J.L., Weintraub W.S., Talley J.D., Stillabower M.E., Kosinski A.S., et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995; 332:481-487.
64. Laufs U., Wassmann S., Hilgers S., Ribaldo N., Bohm M., Nickenig G. Rapid effects on vascular function after initiation and withdrawal of atorvastatin in healthy, normocholesterolemic men. *Am J Cardiol* 2001; 88:1306-1307.
65. O'Driscoll G., Green D., Taylor R.R. Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 1997; 95:1126-1131.
66. Rosenson R.S., Tangney C.C. Antiatherothrombotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction. *Jama* 1998; 279:1643-1650.
67. Modena M.G., Bonetti L., Coppi F., Bursi F., Rossi R. Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40:505-510.
68. Higashi Y., Sasaki S., Nakagawa K., Ueda T., Yoshimizu A., Kurisu S., et al. A comparison of angiotensin-converting enzyme inhibitors, calcium antagonists, beta-blockers and diuretic agents on reactive hyperemia in patients with essential hypertension: a multicenter study. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:284-291.
69. Gerhard M., Walsh B.W., Tawakol A., Haley E.A., Creager S.J., Seely E.W., et al. Estradiol therapy combined with progesterone and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Circulation* 1998; 98:1158-1163.
70. Hulley S., Grady D., Bush T., Furberg C., Herrington D., Riggs B., Vittinghoff E. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary

- heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *Jama* 1998; 280:605-613.
71. Rossouw J.E., Anderson G.L., Prentice R.L., LaCroix A.Z., Kooperberg C., Stefanick M.L., et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *Jama* 2002; 288:321-333.
 72. Maiorana A., O'Driscoll G., Taylor R., Green D. Exercise and the nitric oxide vasodilator system. *Sports Med* 2003; 33:1013-1035.
 73. Salvadori M., Budde K., Charpentier B., Klempnauer J., Nashan B., Pallardo L.M., et al. FTY720 versus MMF with Cyclosporine in de novo Renal Transplantation: A 1-Year, Randomized Controlled Trial in Europe and Australasia. *Am J Transplant* 2006; 6:2912-2921.
 74. Tolle M., Levkau B., Keul P., Brinkmann V., Giebinger G., Schonfelder G., et al. Immunomodulator FTY720 Induces eNOS-dependent arterial vasodilatation via the lysophospholipid receptor S1P3. *Circ Res* 2005; 96:913-920.
 75. Schluter H., Offers E., Bruggemann G., van der Giet M., Tepel M., Nordhoff E., et al. Diadenosine phosphates and the physiological control of blood pressure. *Nature* 1994; 367:186-188.
 76. Schluter H., Grobeta I., Bachmann J., Kaufmann R., van der Giet M., Tepel M., et al. Adenosine(5') oligophospho-(5') guanosines and guanosine(5') oligophospho-(5') guanosines in human platelets. *J Clin Invest* 1998; 101:682-688.
 77. van der Giet M., Westhoff T., Cinkilic O., Jankowski J., Schluter H., Zidek W., Tepel M. The critical role of adenosine and guanosine in the affinity of dinucleoside polyphosphates to P(2X)-receptors in the isolated perfused rat kidney. *Br J Pharmacol* 2001; 132:467-474.
 78. van der Giet M., Cinkilic O., Jankowski J., Tepel M., Zidek W., Schluter H. Evidence for two different P2X-receptors mediating vasoconstriction of Ap5A and Ap6A in the isolated perfused rat kidney. *Br J Pharmacol* 1999; 127:1463-1469.
 79. Currie M.G., Geller D.M., Cole B.R., Siegel N.R., Fok K.F., Adams S.P., et al. Purification and sequence analysis of bioactive atrial peptides (atriopeptins). *Science* 1984; 223:67-69.
 80. Zisman L.S., Abraham W.T., Meixell G.E., Vamvakias B.N., Quaife R.A., Lowes B.D., et al. Angiotensin II formation in the intact human heart. Predominance of the angiotensin-converting enzyme pathway. *J Clin Invest* 1995; 96:1490-1498.

81. Vassort G. Adenosine 5'-triphosphate: a P₂-purinergic agonist in the myocardium. *Physiol Rev* 2001; 81:767-806.
82. Flores N.A., Stavrou B.M., Sheridan D.J. The effects of diadenosine polyphosphates on the cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 1999; 42:15-26.
83. R. Broad J.L. (2001) In: *Purinergic und Pyrimidinergic Signalling II: Cardiovascular, Respiratory, Immune, Metabolic and Gastrointestinal Tract Function* (ed. M. W. M. Abbraccio), Vol. 151/II, p. 3-23. Springer, Berlin.
84. A. Pelleg G.V. (2001) In: *Purinergic und Pyrimidinergic Signalling II: Cardiovascular, Respiratory, Immune, Metabolic and Gastrointestinal Tract Function* (ed. M. W. M. Abbraccio), Vol. 151/II, p. 73-100. Springer, Berlin.
85. Luo J., Jankowski J., Knobloch M., Van der Giet M., Gardanis K., Russ T., et al. Identification and characterization of diadenosine 5',5''-P₁,P₂-diphosphate and diadenosine 5',5''-P₁,P₃-triphosphate in human myocardial tissue. *Faseb J* 1999; 13:695-705.
86. Westhoff T., Jankowski J., Schmidt S., Luo J., Giebing G., Schluter H., et al. Identification and characterization of adenosine 5'-tetrphosphate in human myocardial tissue. *J Biol Chem* 2003; 278:17735-17740.
87. De Bold A.J., Bencosme S.A. Studies on the relationship between the catecholamine distribution in the atrium and the specific granules present in atrial muscle cells. 2. Studies on the sedimentation pattern of atrial noradrenaline and adrenaline. *Cardiovasc Res* 1973; 7:364-369.
88. Kim K.H., Lee K., Moon Y.S., Sul H.S. A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 2001; 276:11252-11256.
89. Westhoff T.H., Scheid S., Tolle M., Kaynak B., Schmidt S., Zidek W., et al. A physiogenomic approach to study the regulation of blood pressure. *Physiol Genomics* 2005; 23:46-53.
90. Ellis A., Triggle C.R. Endothelium-derived reactive oxygen species: their relationship to endothelium-dependent hyperpolarization and vascular tone. *Can J Physiol Pharmacol* 2003; 81:1013-1028.
91. Roman R.J. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev* 2002; 82:131-185.
92. Fleming I. Cytochrome p450 and vascular homeostasis. *Circ Res* 2001; 89:753-762.

93. Fleming I., Michaelis U.R., Bredenkotter D., Fisslthaler B., Dehghani F., Brandes R.P., Busse R. Endothelium-derived hyperpolarizing factor synthase (Cytochrome P450 2C9) is a functionally significant source of reactive oxygen species in coronary arteries. *Circ Res* 2001; 88:44-51.
94. Yang Y., Trent M.B., He N., Lick S.D., Zimniak P., Awasthi Y.C., Boor P.J. Glutathione-S-transferase A4-4 modulates oxidative stress in endothelium: possible role in human atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2004; 173:211-221.
95. Donald S.P., Sun X.Y., Hu C.A., Yu J., Mei J.M., Valle D., Phang J.M. Proline oxidase, encoded by p53-induced gene-6, catalyzes the generation of proline-dependent reactive oxygen species. *Cancer Res* 2001; 61:1810-1815.
96. Grey E., Bratteli C., Glasser S.P., Alinder C., Finkelstein S.M., Lindgren B.R., Cohn J.N. Reduced small artery but not large artery elasticity is an independent risk marker for cardiovascular events. *Am J Hypertens* 2003; 16:265-269.
97. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan I.D., et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340:1111-1115.
98. Wilkinson I.B., Hall I.R., MacCallum H., Mackenzie I.S., McEniery C.M., van der Arend B.J., et al. Pulse-wave analysis: clinical evaluation of a noninvasive, widely applicable method for assessing endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:147-152.
99. Westhoff T.H., Schmidt S., Vallbracht-Israng K., Yildirim H., Franke N., Dimeo F., et al. Small artery elasticity assessed by pulse wave analysis is no measure of endothelial dysfunction. *J Hypertens* 2007; 25:571-576.
100. McVeigh G.E., Burns D.E., Finkelstein S.M., McDonald K.M., Mock J.E., Feske W., et al. Reduced vascular compliance as a marker for essential hypertension. *Am J Hypertens* 1991; 4:245-251.
101. McVeigh G., Brennan G., Hayes R., Cohn J., Finkelstein S., Johnston D. Vascular abnormalities in non-insulin-dependent diabetes mellitus identified by arterial waveform analysis. *Am J Med* 1993; 95:424-430.
102. McVeigh G.E., Morgan D.J., Finkelstein S.M., Lemay L.A., Cohn J.N. Vascular abnormalities associated with long-term cigarette smoking identified by arterial waveform analysis. *Am J Med* 1997; 102:227-231.

103. Glasser S.P., Arnett D.K., McVeigh G.E., Finkelstein S.M., Bank A.J., Morgan D.J., Cohn J.N. Vascular compliance and cardiovascular disease: a risk factor or a marker? *Am J Hypertens* 1997; 10:1175-1189.
104. McVeigh G.E., Bratteli C.W., Morgan D.J., Alinder C.M., Glasser S.P., Finkelstein S.M., Cohn J.N. Age-related abnormalities in arterial compliance identified by pressure pulse contour analysis: aging and arterial compliance. *Hypertension* 1999; 33:1392-1398.
105. London G.M., Guerin A.P., Marchais S.J., Pannier B., Safar M.E., Day M., Metivier F. Cardiac and arterial interactions in end-stage renal disease. *Kidney Int* 1996; 50:600-608.
106. Jono S., McKee M.D., Murry C.E., Shioi A., Nishizawa Y., Mori K., et al. Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 2000; 87:E10-17.
107. Blacher J., Pannier B., Guerin A.P., Marchais S.J., Safar M.E., London G.M. Carotid arterial stiffness as a predictor of cardiovascular and all-cause mortality in end-stage renal disease. *Hypertension* 1998; 32:570-574.
108. Blacher J., Guerin A.P., Pannier B., Marchais S.J., London G.M. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension* 2001; 38:938-942.
109. Wolfe R.A., Ashby V.B., Milford E.L., Ojo A.O., Ettenger R.E., Agodoa L.Y., et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999; 341:1725-1730.
110. Westhoff T.H., Straub-Hohenbleicher H., Basdorf M., van der Giet S., Schmidt S., Offermann G., et al. Time-dependent effects of cadaveric renal transplantation on arterial compliance in patients with end-stage renal disease. *Transplantation* 2006; 81:1410-1414.
111. Annuk M., Zilmer M., Fellstrom B. Endothelium-dependent vasodilation and oxidative stress in chronic renal failure: impact on cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2003:S50-53.
112. Vanholder R., Glorieux G., Lameire N. New insights in uremic toxicity. *Contrib Nephrol* 2005; 149:315-324.
113. Moe S.M. Uremic vasculopathy. *Semin Nephrol* 2004; 24:413-416.

114. Jankowski J., van der Giet M., Jankowski V., Schmidt S., Hemeier M., Mahn B., et al. Increased plasma phenylacetic acid in patients with end-stage renal failure inhibits iNOS expression. *J Clin Invest* 2003; 112:256-264.
115. Shanahan C.M. Mechanisms of vascular calcification in renal disease. *Clin Nephrol* 2005; 63:146-157.
116. Moe S.M., Chen N.X. Pathophysiology of vascular calcification in chronic kidney disease. *Circ Res* 2004; 95:560-567.
117. Ketteler M., Bongartz P., Westenfeld R., Wildberger J.E., Mahnken A.H., Bohm R., et al. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet* 2003; 361:827-833.
118. Lanese D.M., Conger J.D. Effects of endothelin receptor antagonist on cyclosporine-induced vasoconstriction in isolated rat renal arterioles. *J Clin Invest* 1993; 91:2144-2149.
119. De Nicola L., Thomson S.C., Wead L.M., Brown M.R., Gabbai F.B. Arginine feeding modifies cyclosporine nephrotoxicity in rats. *J Clin Invest* 1993; 92:1859-1865.
120. Ruggenti P., Perico N., Mosconi L., Gaspari F., Benigni A., Amuchastegui C.S., et al. Calcium channel blockers protect transplant patients from cyclosporine-induced daily renal hypoperfusion. *Kidney Int* 1993; 43:706-711.
121. Wolf A., Trendelenburg C.F., Diez-Fernandez C., Prieto P., Houy S., Trommer W.E., Cordier A. Cyclosporine A-induced oxidative stress in rat hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 280:1328-1334.
122. Scherrer U., Vissing S.F., Morgan B.J., Rollins J.A., Tindall R.S., Ring S., et al. Cyclosporine-induced sympathetic activation and hypertension after heart transplantation. *N Engl J Med* 1990; 323:693-699.
123. Tedesco-Silva H., Mourad G., Kahan B.D., Boira J.G., Weimar W., Mulgaonkar S., et al. FTY720, a novel immunomodulator: efficacy and safety results from the first phase 2A study in de novo renal transplantation. *Transplantation* 2005; 79:1553-1560.
124. Budde K., Schutz M., Glander P., Peters H., Waiser J., Liefeldt L., et al. FTY720 (fingolimod) in renal transplantation. *Clin Transplant* 2006; 20 Suppl 17:17-24.

125. Mulgaonkar S., Tedesco H., Oppenheimer F., Walker R., Kunzendorf U., Russ G., et al. FTY720/cyclosporine regimens in de novo renal transplantation: a 1-year dose-finding study. *Am J Transplant* 2006; 6:1848-1857.
126. Keul P., Tolle M., Lucke S., von Wnuck Lipinski K., Heusch G., Schuchardt M., et al. The Sphingosine-1-Phosphate Analogue FTY720 Reduces Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 27:607-613.
127. Walter D.H., Rochwalsky U., Reinhold J., Seeger F., Aicher A., Urbich C., et al. Sphingosine-1-Phosphate Stimulates the Functional Capacity of Progenitor Cells by Activation of the CXCR4-Dependent Signaling Pathway via the S1P3 Receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006.
128. Westhoff T.H., Schmidt S., Glander P., Liefeld L., Martini S., Offermann G., et al. The impact of FTY720 (fingolimod) on vasodilatory function and arterial elasticity in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22:2354-2358.
129. Skerjanec A., Tedesco H., Neumayer H.H., Cole E., Budde K., Hsu C.H., Schmouder R. FTY720, a novel immunomodulator in de novo kidney transplant patients: pharmacokinetics and exposure-response relationship. *J Clin Pharmacol* 2005; 45:1268-1278.
130. Nofer J.R., van der Giet M., Tolle M., Wolinska I., von Wnuck Lipinski K., Baba H.A., et al. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. *J Clin Invest* 2004; 113:569-581.
131. Salomone S., Yoshimura S., Reuter U., Foley M., Thomas S.S., Moskowitz M.A., Waeber C. S1P3 receptors mediate the potent constriction of cerebral arteries by sphingosine-1-phosphate. *Eur J Pharmacol* 2003; 469:125-134.
132. Coussin F., Scott R.H., Wise A., Nixon G.F. Comparison of sphingosine 1-phosphate-induced intracellular signaling pathways in vascular smooth muscles: differential role in vasoconstriction. *Circ Res* 2002; 91:151-157.
133. Watterson K.R., Ratz P.H., Spiegel S. The role of sphingosine-1-phosphate in smooth muscle contraction. *Cell Signal* 2005; 17:289-298.
134. 2003 European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2003; 21:1011-1053.
135. Chobanian A.V., Bakris G.L., Black H.R., Cushman W.C., Green L.A., Izzo J.L., Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention,

- Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *Jama* 2003; 289:2560-2572.
136. Williams B., Poulter N.R., Brown M.J., Davis M., McInnes G.T., Potter J.F., et al. Guidelines for management of hypertension: report of the fourth working party of the British Hypertension Society, 2004-BHS IV. *J Hum Hypertens* 2004; 18:139-185.
 137. Cononie C.C., Graves J.E., Pollock M.L., Phillips M.I., Sumners C., Hagberg J.M. Effect of exercise training on blood pressure in 70- to 79-yr-old men and women. *Med Sci Sports Exerc* 1991; 23:505-511.
 138. Ferrier K.E., Waddell T.K., Gatzka C.D., Cameron J.D., Dart A.M., Kingwell B.A. Aerobic exercise training does not modify large-artery compliance in isolated systolic hypertension. *Hypertension* 2001; 38:222-226.
 139. Hagberg J.M., Montain S.J., Martin W.H., 3rd, Ehsani A.A. Effect of exercise training in 60- to 69-year-old persons with essential hypertension. *Am J Cardiol* 1989; 64:348-353.
 140. Franklin S.S., Khan S.A., Wong N.D., Larson M.G., Levy D. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart Disease? The Framingham heart study. *Circulation* 1999; 100:354-360.
 141. O'Rourke M.F., Nichols W.W. Aortic diameter, aortic stiffness, and wave reflection increase with age and isolated systolic hypertension. *Hypertension* 2005; 45:652-658.
 142. Alam M.G., Barri Y.M. Systolic blood pressure is the main etiology for poorly controlled hypertension. *Am J Hypertens* 2003; 16:140-143.
 143. Swales J.D. Current clinical practice in hypertension: the EISBERG (Evaluation and Interventions for Systolic Blood pressure Elevation-Regional and Global) project. *Am Heart J* 1999; 138:231-237.
 144. Westhoff T.H., Franke N., Schmidt S., Vallbracht-Israng K., Meissner R., Yildirim H., et al. Too old to benefit from sports? The cardiovascular effects of exercise training in elderly subjects treated for isolated systolic hypertension. *Kidney Blood Press Res* 2007; 30:240-247.
 145. Howlett K.F., Watt M.J., Hargreaves M., Febbraio M.A. Regulation of glucose kinetics during intense exercise in humans: effects of alpha- and beta-adrenergic blockade. *Metabolism* 2003; 52:1615-1620.

146. Hambrecht R.P., Niebauer J., Fiehn E., Marburger C.T., Muth T., Offner B., et al. Effect of an acute beta-adrenergic blockade on the relationship between ventilatory and plasma lactate threshold. *Int J Sports Med* 1995; 16:219-224.
147. Pokan R., Huonker M., Lehmann M., Dickhuth H.H., Keul J. [Effect of beta blockade on hemodynamics in physical exertion]. *Wien Med Wochenschr* 1990; 140:178-184.
148. Van Baak M.A. Beta-adrenoceptor blockade and exercise. An update. *Sports Med* 1988; 5:209-225.
149. Thiele H., Pohlink C., Schuler G. [Hypertension and exercise. Sports methods for the hypertensive patient]. *Herz* 2004; 29:401-405.
150. Hagberg J.M., Park J.J., Brown M.D. The role of exercise training in the treatment of hypertension: an update. *Sports Med* 2000; 30:193-206.
151. Whelton S.P., Chin A., Xin X., He J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 2002; 136:493-503.
152. Westhoff T.H., Franke N., Schmidt S., Vallbracht-Israng K., Zidek W., Dimeo F., van der Giet M. Beta-blockers do not impair the cardiovascular benefits of endurance training in hypertensives. *J Hum Hypertens* 2007; 21:486-493.

5. Danksagung

Mehreren Menschen ist für die Unterstützung meines wissenschaftlichen Werdeganges besonderer Dank auszusprechen. Ich danke Herrn Prof. Walter Zidek für die Möglichkeit, in seiner Abteilung wissenschaftlich tätig zu sein. Herr Prof. Zidek hat mit seinen Ideen und seiner langjährigen Erfahrung meine Arbeit entscheidend geprägt. Er verstand es in besonderer Weise, meine persönlichen wissenschaftlichen Interessen und Wege zu unterstützen und mir motivierend zur Seite zu stehen. Sein großes Interesse an den Projekten seiner Mitarbeiter, sein Engagement in der Entwicklung von Ideen und der Interpretation von Ergebnissen und seine ständige Ansprechbarkeit bei auftretenden Fragen zeugen von einer ungebrochenen wissenschaftlichen Neugierde, die mich bis heute beeindruckt. Auch meine klinische Ausbildung wurde durch Herrn Prof. Zidek maßgeblich geprägt. Mit seiner großen klinischen Kompetenz wusste er mir stets zu beweisen, dass wissenschaftliches Engagement nicht auf Kosten klinischer Expertise gehen muss.

In besonderer Weise möchte ich Herrn Prof. Markus van der Giet danken. Unsere wissenschaftliche Zusammenarbeit begann, als Herr Prof. van der Giet in Bochum meine Promotion betreute. Er erwies sich als verlässlicher Ansprechpartner bei jeglichen inhaltlichen Fragen. In den folgenden Jahren in Berlin wuchs eine Zusammenarbeit heran, in der Herr Prof. van der Giet maßgeblich an der Ideengebung und der Umsetzung der grundlagenwissenschaftlichen wie auch klinisch-wissenschaftlichen Projekte beteiligt war. Der ständige und rege Austausch mit ihm war die Basis für die erfolgreiche Erarbeitung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

Herrn PD Dr. Fernando Dimeo möchte ich für unsere bis heute andauernden erfolgreichen Kooperationen zu den hypertensiologisch-sportmedizinischen Fragestellungen danken. Sein Enthusiasmus, mit dem er den Wert des „Medikamentes Sport“ in die Welt hinausträgt, konnte mich rasch infizieren und bereitet mir weiterhin große Freude.

Frau Dr. Silke Sperling möchte ich für meine molekularbiologische Ausbildung und unsere erfolgreiche Kooperation am Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik danken. Ihre Unterstützung war maßgeblich an der erfolgreichen Etablierung des physiogenomischen Modells zur Detektion differentiell exprimierter vasoregulatorischer Gene beteiligt. In Frau Dr. Sperlings Labor gilt mein weiterer Dank Herrn Bogac Kaynak, der mich mit Geduld und großer Erfahrung in sämtliche Methoden einwies und mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand.

Mit Herrn Dr. Sven Schmidt teile ich nicht nur mein Büro sondern auch eine langjährige Freundschaft, die den klinischen und wissenschaftlichen Arbeitsalltag stets angenehm machte. Der wissenschaftlich-inhaltliche und methodische Ideenaustausch mit ihm war eine wichtige Grundlage meiner Arbeit. Den im Laufe der Jahre betreuten Doktoranden danke ich für eine angenehme und erfolgreiche Zusammenarbeit.

Zuletzt möchte ich voller Dankbarkeit auf die Person zu sprechen kommen, ohne deren Unterstützung die vorliegende Arbeit nie zustande gekommen wäre: meine Frau Nadine. Ein großer Einsatz im Beruf droht stets, die eigene Familie in den Hintergrund zu drängen. Meine Frau verstand es trotz eigener Berufstätigkeit und parallel absolviertem Studium immer, mir die notwendige Rückendeckung und Freiheit für meine Arbeit zu geben. Ihrem großen Engagement und ihrer Organisationsfähigkeit ist es zu verdanken, dass auch nach der Geburt unseres Sohnes das „Projekt Familie“ mit dem „Projekt Wissenschaft“ vereinbar war. Ihr gilt mein größter Dank. Nicht vergessen werden soll an dieser Stelle auch die großartige Familie meiner Frau, die uns regelmäßig an durchgearbeiteten Wochenenden und Nachtdiensten als Babysitter zur Verfügung stand. Ohne diese Menschen wäre eine Berufstätigkeit zweier Jungeltern nicht möglich gewesen. Jonathan, verzeih, dass Du so häufig auf Papa verzichten musstest!

6. Erklärung

§4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité Berlin

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- Mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....

Datum

.....

Unterschrift