

## **4. Eigene Arbeiten**

### **4.1. Projekt 1 und 2 (P1,P2): Prävalenz und Korrelation des Schweregrades der renovaskulären Erkrankung (RE) bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung (KHK)**

#### **4.1.1. Einleitung und Fragestellung**

Die renovaskuläre Erkrankung (RE) wurde lange als eine grundsätzlich therapierbare Ursache der sekundären arteriellen Hypertonie angesehen.<sup>(87)</sup> Zurückliegende Untersuchungen belegen, dass bei Vorliegen von Risikofaktoren ein Anstieg der Häufigkeit der RE festzustellen ist.<sup>(29,88,89)</sup> Dabei liegt in unterschiedlichen Patientenpopulationen die Prävalenz der RE zwischen 4% und 53%.<sup>(19,27-29)</sup> Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit, manifester Herzinsuffizienz oder Patienten mit begleitender schwerer koronarer Herzerkrankung können als Risikogruppe für das Vorhandensein einer begleitenden RE charakterisiert werden.<sup>(90,91,19,28,29,30)</sup>

Für den Zusammenhang zwischen Schweregrad der renovaskulären Atherosklerose und Schweregrad der koronaren Herzerkrankung fehlen bislang zuverlässige Beweise. Es liegen bisher nur Hinweise vor, die die Hypothese einer akzelerierten koronaren Atherosklerose bei Vorhandensein einer schweren RE mit ihren klinischen Konsequenzen unterstützen.<sup>(92,93)</sup>

In einer Untersuchung an 609 Patienten, die sich einer Koronarangiographie unterzogen, wurde die Prävalenz der RE und die Korrelation zwischen dem Schweregrad und der Ausprägung einer begleitenden KHK untersucht.

#### **4.1.2. Methode**

Wir führten bei 609 Patienten, die zur invasiven Diagnostik unter dem Verdacht einer koronaren Herzerkrankung vorstellig wurden, eine Renovasographie durch. Nach retrograder Punktion der Arteria femoralis erfolgte die Herzkatheteruntersuchung in üblicher Weise. Stenosen des koronaren Gefäßsystems wurden als signifikant eingestuft, wenn visuell der Durchmesserstenosegrad 50% überschritt. Die koronare Herzerkrankung wurde definitionsgemäß in 1-, 2- oder 3-Gefäßerkrankung klassifiziert. In gleicher Sitzung erfolgte am Ende der koronaren Diagnostik die Angiographie der Nierenarterien. Die Platzierung eines 6 French-Pigtail-Katheters wurde ca. einen Zentimeter oberhalb des Abganges der Nierenarterien vorgenommen. Eine digitale Subtraktionsangiographie

(DSA) wurde mit nichtionischem Kontrastmittel (Optiray®, Schering AG Berlin) und einer Injektionsrate von 18 ml/sec (Gesamtvolumen 30 ml) durchgeführt. Die erzielten Angiogramme wurden klassifiziert. Eine Läsion wurde als atherosklerotisch definiert, wenn keine Zeichen der fibromuskulären Dysplasie zu erkennen waren. Ostiale Läsionen waren charakterisiert als Stenosen, die ihren Ausgang max. 5 mm distal des Abgangs der Nierenarterie nahmen. Die Einteilung der Nierenarterienstenosen erfolgte als nicht signifikante, geringgradige Stenosen (Plaques) < 40%, mittelschwere Stenosen (borderline) 40-60% und signifikante Stenosen > 60% im Diameter. Eine quantitative Vermessung wurde vorgenommen.

#### **4.1.3. Ergebnisse**

Die Häufigkeit der renovaskulären Atherosklerose liegt mit 38% für Patienten mit koronarer Herzerkrankung deutlich über der Prävalenz von 4.3% für Patienten ohne koronare Atherosklerose. Patienten mit renovaskulärer Atherosklerose sind signifikant älter und haben signifikant häufiger eine weitere Manifestation einer nicht-koronaren Atherosklerose (periphere arterielle Verschlusskrankheit, zerebrovaskuläre Atherosklerose; 35% vs. 9%; 23% vs. 8%,  $p < 0.05$ ). Der Schweregrad der renovaskulären Atherosklerose (<40%, 40%-60%, >60% Diameterstenose) ist altersunabhängig und ohne Geschlechtspräferenz gleich verteilt bezogen auf den Schweregrad der koronaren Herzerkrankung. Unabhängig von der Relevanz der renovaskulären Atherosklerose (Stenosegrad) ist der Anteil der Patienten mit schwerer koronarer Herzerkrankung (koronare Dreifäßerkrankung) signifikant häufiger ( $p < 0.05$ ). Der akzelerierte Verlauf der koronaren Atherosklerose bei RE ist dabei unabhängig von weiteren atherosklerotischen Risikofaktoren wie Blutdruck, Diabetes mellitus oder Hyperlipidämie (Abb. 6).

Des Weiteren haben Patienten mit schwerer renovaskulärer Atherosklerose häufiger eine begleitende PAVK, eine Abnahme der exkretorischen Nierenfunktion und bezogen auf die kardiale Komorbidität eine manifeste Herzinsuffizienz ( $p < 0.05$ ).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die RE ein zuverlässiger Prädiktor für das Vorhandensein einer koronaren Herzerkrankung ist, während das Nichtvorhandensein einer KHK die RE unwahrscheinlich macht. Höheres Alter, die Prävalenz einer weiteren Manifestationsform der nicht-koronaren Atherosklerose, die Einschränkung der exkretorischen Nierenfunktion und eine bestehende Herzinsuffizienz sind mit der RE assoziiert und signifikante Prädiktoren für die RE.

Die Analyse des Schweregrades der RE macht deutlich, dass bereits die angiographisch nicht relevante renovaskuläre Atherosklerose mit der schweren Form der koronaren Atherosklerose assoziiert ist.

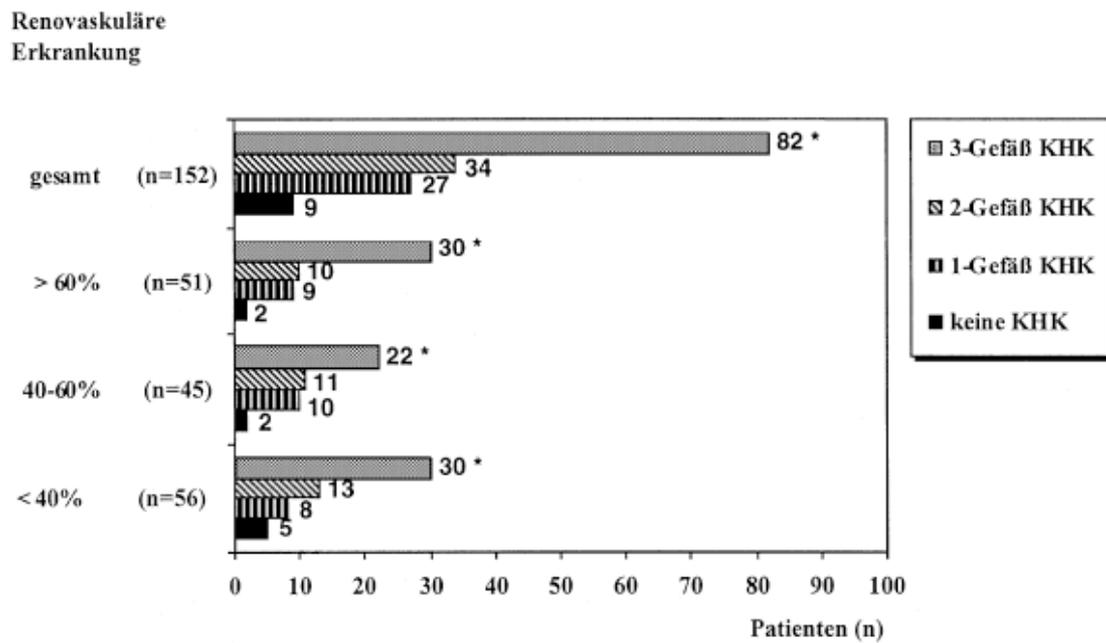


Abb. 6 Aufgetragen ist der Schweregrad der renovaskulären Erkrankung (RE) für nicht signifikante (<40%), borderline (40–60%) und bedeutsame (>60%) Stenosen in Abhängigkeit von der Häufigkeit und dem Schweregrad der koronaren Herzerkrankung. Der Anteil der koronaren Dreigefäßerkrankung ist unabhängig vom Schweregrad der RE deutlich erhöht (\* $p < 0.05$ ).

#### **4.1.4. Reprint P1 und P2**

- P1.** **Gross CM**, Krämer J, Waigand J, Luft FC, Dietz R. Relation between arteriosclerosis in the coronary and renal arteries. Am J Cardiol 1997;80:1478-1481
- P2.** **Gross CM**, Krämer J, Waigand J, Uhlich F, Dietz R. Koronare Herzkrankheit: Die renovaskuläre Erkrankung: Prävalenz und Therapie bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung. Z Kardiol 2000;89:747-753

## **4.2. Projekt 3, 4 und 5 (P3-P5): Auswirkung eines hoch aktivierten Renin-Angiotensin-Systems auf Blutdruck und Endorganschaden im Tierexperiment und Expressionsmuster des Angiotensin II Typ 1-Rezeptors in humanen koronaren Plaques**

### **4.2.1. Einleitung und Fragestellung**

Die Abnahme des Perfusionsdruckes der Nierenarterie führt zu einer Stimulation des Renin-Angiotensin-Systems (RAS). Dabei kommt es durch eine gesteigerte Reninsekretion zu einer Zunahme der Angiotensin II-Bildung, wobei Angiotensin II das wichtigste Effektormolekül des RAS darstellt. Renin katalysiert die Umwandlung von Angiotensinogen in das Dekapeptid Angiotensin I, wobei letzteres durch das Konversionsenzym (ACE) in Angiotensin II hydrolysiert wird. ACE ist weiterhin verantwortlich für den Katabolismus unterschiedlicher biologisch aktiver Peptide wie Substanz P und Bradykinin in inaktive Metaboliten.<sup>(94)</sup> Zusätzlich kann Angiotensin II über ACE-unabhängige Metabolisierungswege gebildet werden. Eine direkte Konversion von Angiotensinogen ist über tissue plasminogen-Aktivator (tPA) und das Cathepsin G, sowie über die Hydrolyse von Angiotensin I über das Enzym Chymase möglich.<sup>(94)</sup> Die physiologischen Wirkungen von Angiotensin II werden über die hochspezifischen Rezeptoren Angiotensin II Typ 1 und 2 (AT1 und AT2) vermittelt, welche unterschiedliche Signalkaskaden aktivieren und in ihrer biologischen Aktivität differenziert werden können.

Der AT1-Rezeptor ist ein 7-transmembranöses Glycoprotein, der gekoppelt an ein Guanosin-Triphosphat-Bindungsprotein (G-Protein) unterschiedliche Signalkaskaden aktiviert und vorwiegend in Organen oder Geweben exprimiert wird, die am Wasser- und Elektrolythaushalt und bei der Blutdruckregulation involviert sind (Herz, Niere, Gehirn, Nebenniere, vaskuläre glatte Gefäßmuskelzellen, Fettgewebe, Testes). Die durch den AT1-Rezeptor-vermittelte Wirkung von Angiotensin II zeigt sich neben einem direkten Einfluss auf die zentrale Sympathikusaktivität, der Vasopressin-Sekretion, der peripheren noradrenergen Aktivität, der kardialen Norepinephrin-Produktion und einer Reduktion der Barorezeptorsensitivität und Reninaktivität, auch in einer Zunahme der intrarenalen Prostaglandin- und Nitritoxid-(NO)-Produktion.<sup>(94,95)</sup> Der Tonus des Vas efferens und der Vasa recta der Medulla der Niere wird gesteigert. Durch diese Vasokonstriktion steigt der glomeruläre Filtrationsdruck, und die glomeruläre

Filtrationsrate bleibt konstant trotz reduzierten Blutflusses. Über die Freisetzung von Aldosteron kommt es zur Wasser- und Natriumretention.<sup>(94,96)</sup>

Eine lokale, extrarenale, eigenständige Angiotensin II-Produktion kann zu einer kardialen Hypertrophie und Kontraktilitätssteigerung, sowie innerhalb des Gefäßbettes zur extrazellulären Matrixbildung und Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen führen.<sup>(94)</sup> Dabei kann lokal generiertes Angiotensin II unabhängig vom zirkulierenden RAS effektiv sein und zur Konzentration zirkulierender systemischer Plasmaspiegel beitragen.<sup>(97,98)</sup> Die lokale Aktivität kann dabei um ein Vielfaches höher liegen und wird beeinflusst durch die Nierenperfusion und den Natriumhaushalt.<sup>(99)</sup> Neben Angiotensin II können noch weitere Angiotensinpeptide differenziert werden (Angiotensin III, Angiotensin 1-7), die ebenfalls vasokonstriktorische Qualitäten besitzen. Die über den AT1-Rezeptor-vermittelten Wirkungen von Angiotensin II können auch als ein kardiovaskuläres Kontinuum bezeichnet werden, mit zentraler Wirkung auf die Pathogenese der arteriellen Hypertonie.

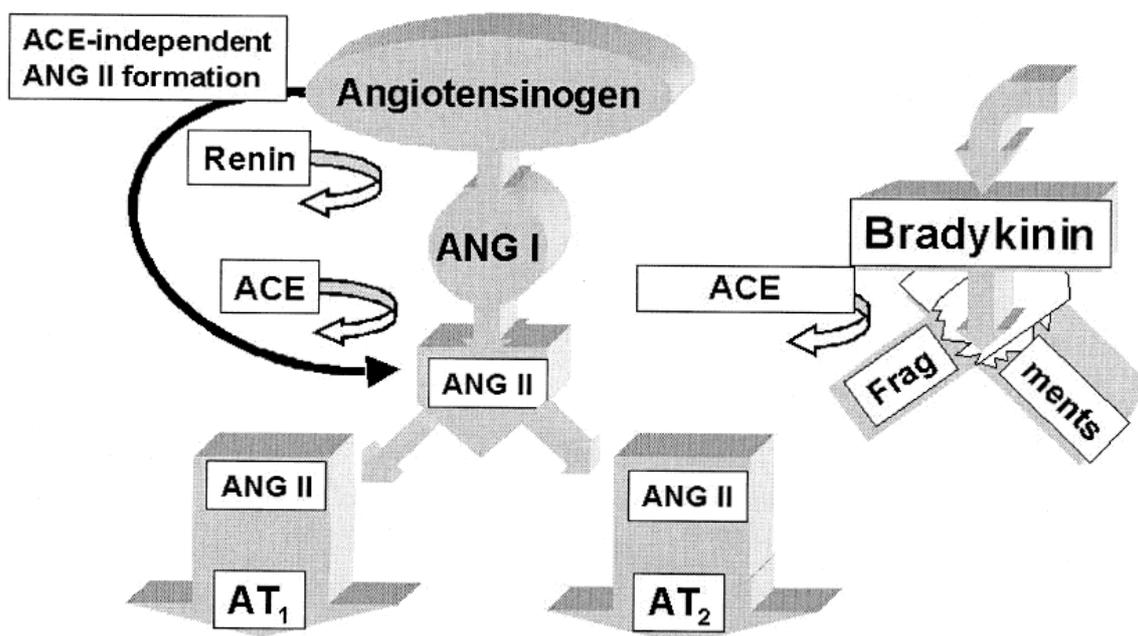


Abb 7 Renin-Angiotensin-System (RAS): ACE: Angiotensin-Converting-Enzym. AT1: Angiotensin II-Rezeptor Typ 1; AT2: Angiotensin II-Rezeptor Typ 2<sup>(94)</sup>

Der AT2-Rezeptor ist ebenfalls ein 7-transmembranöses Glycoprotein und reguliert neben der Zellproliferation und Zelldifferenzierung die Entwicklung der

Angiogenese und der Wundheilung bzw. ist auch an Apoptose-Prozessen beteiligt und wirkt somit einer biologischen AT1-Rezeptor-vermittelten Wirkung entgegen (Abb. 7).

Angiotensin II ist neben seinem Einfluss auf die Regulation der Nierenperfusion, außerdem ein bedeutsamer Wachstumsfaktor, der durch die Stimulation des AT1-Rezeptors eine ganze Kaskade an Wachstumsfaktoren freisetzt, die im atherosklerotischen Prozess und an kardialen Umbauvorgängen (kardiales Remodeling, linksventrikuläre Hypertrophie) eine entscheidende Rolle spielt (Abb. 8).<sup>(94)</sup> In der Gefäßwand konnte das Renin-Gen nachgewiesen werden, und darüber hinaus ließ sich zeigen, dass sowohl Angiotensin II-Infusionen als auch die Stimulation des ACE-Gens zu einer Zunahme der vaskulären Angiotensin II-Bildung führen.<sup>(100-102)</sup> Der mitogene Effekt von Angiotensin II auf vaskuläre glatte Gefäßmuskelzellen unterstützt vaskuläre Umbauvorgänge, die zu einer Abnahme des Gefäßdurchmessers und einer Zunahme der Intima-Media-Dicke führen, bei gleichzeitiger Beeinträchtigung der Endothelfunktion.<sup>(94)</sup> Die Aktivierung unterschiedlicher Zytokine (monocyte attractant protein, MCP-1, NF- $\kappa$ B), Wachstumsfaktoren, Selektine, Monozyten und Adhäsionsmoleküle, einhergehend mit einer gestörten Endothelfunktion, bilden einen Ausgangspunkt der Plaquebildung und Atherosklerose.<sup>(103-107)</sup> Eine Angiotensin II-vermittelte Hypertonie beeinträchtigt das Redox-Potential der Endothelzellen mit konsekutivem Anstieg der freien Sauerstoffradikale. Letztere hemmen die Nitritoxid-(NO)-Produktion des Endothels und besitzen pleiotrope Effekte. Beides unterhält den atherosklerotischen Prozess und ist gemeinsam mit einer beeinträchtigten Fibrinolyse und einer Modifikation von LDL-Cholesterin-Partikeln und steigender Aufnahme von oxidiertem LDL-Cholesterin über den LOX-1-Rezeptor für die Destabilisierung atherosklerotischer Plaques mit deren klinischen Auswirkungen, wie akutem Koronarsyndrom, verantwortlich.<sup>(94,108)</sup>

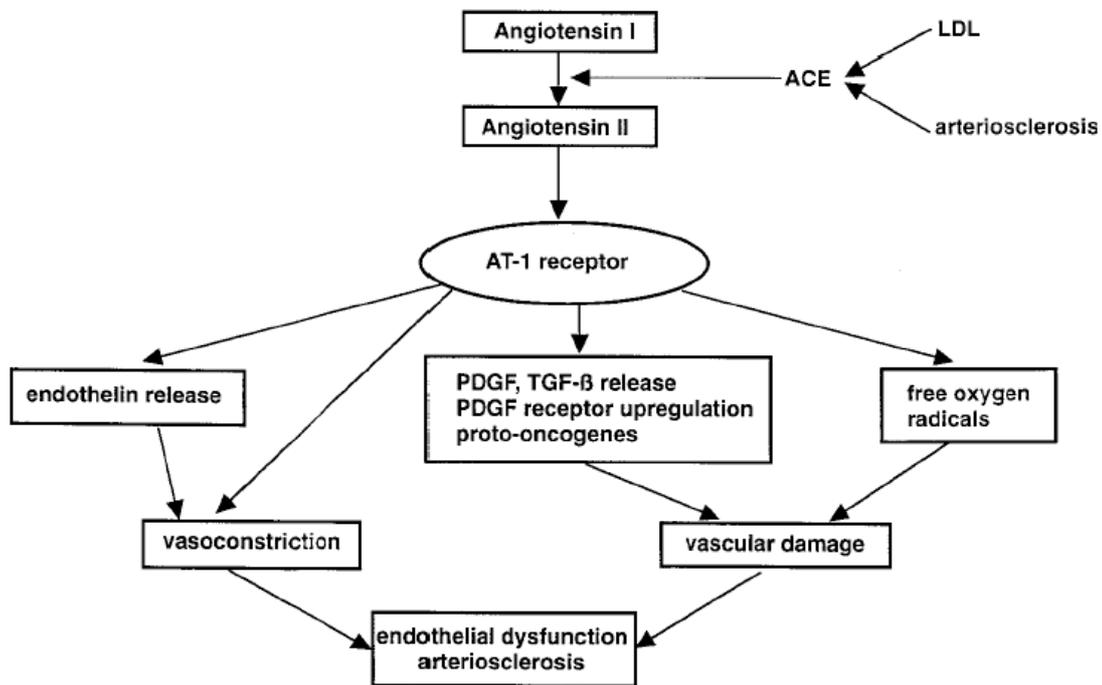


Abb 8 Zusammenhang zwischen Angiotensin II und koronarer Atherosklerose<sup>(93)</sup>

Aus den Voruntersuchungen (P1-P2) und bestätigt durch andere Studien wird deutlich, dass die atherosklerotische renovaskuläre Erkrankung an der Initiierung bzw. Progression der koronaren und nicht-koronaren Atherosklerose und deren klinischen Folgen beteiligt ist.<sup>(19,109)</sup> Eine gesteigerte Aktivität des RAS mit vermehrt synthetisiertem Angiotensin II in Verbindung mit renaler Minderperfusion könnte dabei einen wichtigen pathogenetischen Faktor darstellen. Die durch den AT1-Rezeptor-vermittelten Wirkungen des Angiotensin II bilden die Rationale für die Beteiligung des RAS an Blutdruck-unabhängigen, schweren kardialen und vaskulären Endorganschäden. Nicht zuletzt große klinische Präventionsstudien haben jüngst den protektiven Effekt auf die Atherosklerose durch RAS-Inhibition unterstützt.<sup>(115)</sup>

Um den Blutdruck-unabhängigen Einfluss einer Angiotensin II-vermittelten Wirkung auf den kardialen, vaskulären und renalen Endorganschaden zu überprüfen, wurden die tierexperimentellen Projekte 3 und 4 durchgeführt. Außerdem wurde der Einfluss des Endothelins untersucht. Endothelin gilt ebenfalls als pathogener Risikofaktor für den kardiovaskulären Endorganschaden. Die Synthese und die

Freisetzung des Endothelins sind Angiotensin II-vermittelt. Zuletzt wurde das Expressionsmuster des AT1-Rezeptors in Bezug auf den Schweregrad der koronaren Atherosklerose in humanen Koronararterien als Surrogat eines aktivierten RAS (Projekt 5) bestimmt.

#### **4.2.2. Methode**

In einem doppelt transgenen Rattenmodell (dTGR) für humanes Renin (hREN)-Gen und humanes Angiotensinogen (hAGT)-Gen wurde der Blutdruck-unabhängige Effekt einer AT1- und Endothelin A (ETA)-Rezeptorblockade im Vergleich mit nicht-transgenen Sprague-Dawley-Ratten untersucht. Die doppelt transgenen Ratten sind gekennzeichnet durch die Entwicklung einer malignen Hypertonie mit Ausbildung eines schweren Endorganschadens und kardialer Hypertrophie. Die Mortalität liegt bei 50% innerhalb von 12 Wochen. Die Behandlung der Ratten (n=12 pro Gruppe) erfolgte einerseits mit Losartan (10 mg/Kg Körpergewicht), einem spezifischen AT1-Rezeptorblocker (MSD), eine weitere Gruppe erhielt LU135252 (Knoll AG), einen selektiven ETA-Rezeptorblocker (30 mg/Kg Körpergewicht). Zwei weitere Gruppen erhielten entweder beide Substanzen in Kombination bzw. Placebo. Die Kontrollgruppe bestand aus Sprague-Dawley (SD)-Ratten.

Für die morphometrische Analyse wurden 1 µm dicke serielle Schnitte der Koronararterien der dTGR- und Sprague-Dawley-Ratten angefertigt. Bis zu 52 Gefäße wurden pro Gruppe in Abhängigkeit des Überlebens der Ratten ausgewertet. Die Gefäßschnitte wurden zusätzlich zur Bestimmung der Zellproliferation immunhistochemisch analysiert.

Zusätzlich wurde in 209 humanen Koronararterien die Bestimmung des Expressionsmusters des AT1-Rezeptors durchgeführt, die autoptisch entnommen wurden. Immunhistochemisch wurde in Abhängigkeit des Atherosklerosegrades nach Sary der Expressionsgrad des AT1-Rezeptors bestimmt.

#### **4.2.3. Ergebnisse**

Die Mortalität der dTGR-Ratten lag bei 42% innerhalb einer Beobachtungszeit von 4 Wochen, einhergehend mit einer malignen Hypertonie der Tiere mit systolischen Werten von 160-180 mmHg. Im Vergleich hierzu starben 8% in der Gruppe mit Losartan bzw. LU 135252, und kein Tier verstarb in der

Kombinationsbehandlung. Die Kombinationsbehandlung führte damit zu einer signifikanten Mortalitätsreduktion der Tiere ( $p < 0.01$ ). Die Herzgewichte der dTGR-Ratten lagen mit  $4.1 \pm 0.3 \times 10^{-3}$  g pro Körpergewicht (KG) signifikant über den Werten der nicht-transgenen Kontrolltiere ( $2.9 \pm 0.2 \times 10^{-3}$  g pro KG) ( $p < 0.01$ ). Die Kombinationsbehandlung führte im Vergleich mit den unbehandelten dTGR-Tieren zu einer signifikanten Reduktion des Herzgewichtes ( $3.1 \pm 0.4 \times 10^{-3}$  vs.  $4.1 \pm 0.3 \times 10^{-3}$  g). Bezogen auf den Blutdruck zeigte sich nur in der Kombinationsbehandlung eine signifikante Reduktion der Blutdruckwerte (Abb. 9).

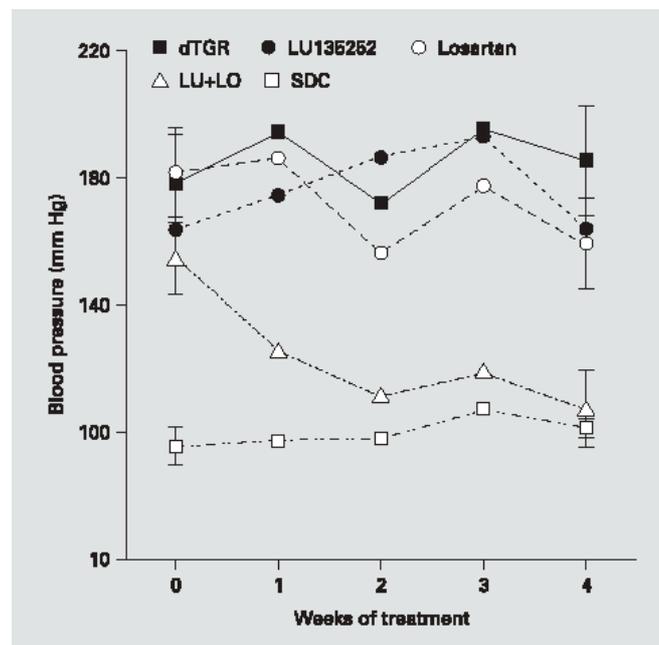


Abb. 9 Blutdruckwerte initial und während des Beobachtungszeitraumes (0 bis 4 Wochen) der nicht-behandelten dTGR (TC), der LU 135252- (LU), der Losartan- (los) behandelten, der Tiere mit Kombinationsbehandlung (comb) und der Sprague-Dawley-Kontrolltiere (SDC). Signifikanter Unterschied der Blutdruckwerte der TC-Gruppe ( $p < 0.05$ ). Im Unterschied zur Einzelbehandlung zeigt die Kombinationsbehandlung (comb) eine Normalisierung der Blutdruckwerte der TC-Tiere ( $p < 0.01$ ).

Die gemessenen Endothelin-Werte differierten in den unterschiedlichen Gruppen, wobei die mit LU 135252 behandelten Tiere die höchsten Werte aufwiesen (Abb.10). Die Ergebnisse der morphometrischen Analyse der Koronararterien der Tiere zeigte für die dTGR eine circumferentielle Gefäßfläche (CSA) von  $5307 \pm 627 \mu\text{m}^2$  im Vergleich zu den nicht-transgenen Kontrolltieren von  $3649 \pm 421 \mu\text{m}^2$ . Die Wanddicke ( $23 \pm 1.1 \mu\text{m}$  vs.  $16.8 \pm 1.1 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.001$ ) war ebenfalls wie das Media-Lumen-Verhältnis (W/L ratio) ( $73.4 \pm 4.6\%$  vs.  $40.9 \pm 3.4\%$ ,  $p < 0.001$ ) signifikant erhöht,

einhergehend mit einer Abnahme des Lumendiameters ( $40.2 \pm 3.5 \mu\text{m}$  vs.  $46.3 \pm 4.1 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.001$ ). Zwischen der CSA und dem systolischen Blutdruck bestand eine positive Korrelation (Abb.11).

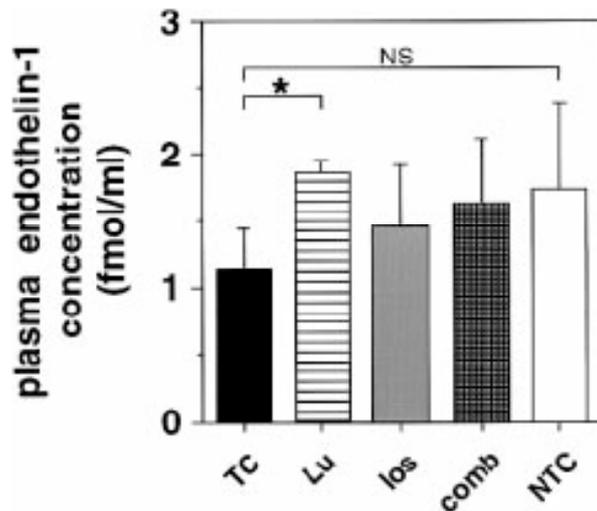


Abb. 10 ET-1-Plasmakonzentrationen der unterschiedlichen Gruppen nach 4 Wochen Behandlung. Signifikante Unterschiede nur zwischen den mit LU 135252 behandelten Tieren im Vergleich zu den doppelt transgenen Tieren (TC).

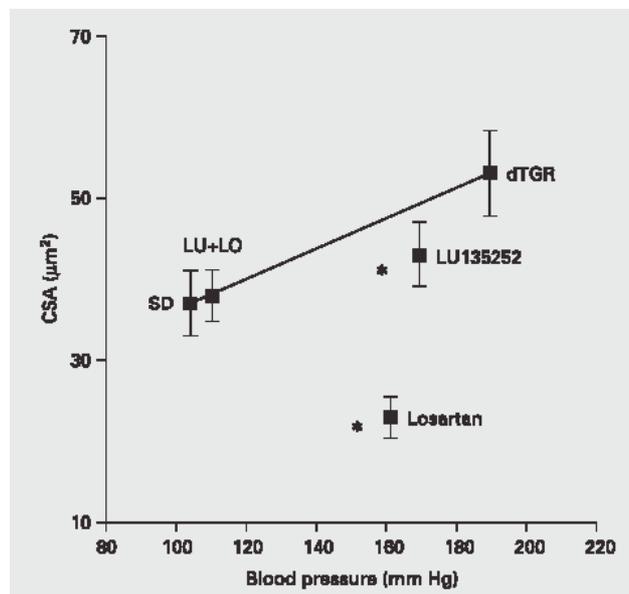


Abb. 11 Positive Korrelation zwischen Gefäßfläche (CSA) und Blutdruck der Kontrolltiere (SD) und der doppelt transgenen Ratten (dTGR) ( $r = 0.95$ ). Signifikante Reduktion der CSA bei gegebenem Blutdruck (160 mmHg systolisch) für die LU 135252- und Losartan-behandelten Tiere im Vergleich zu den unbehandelten dTGR-Tiere (\*  $p < 0.01$ ).

Losartan, LU 135252 und die Kombinationsbehandlung verbesserten die morphometrischen Werte. Die CSA wurde um 60% durch Losartan und um 20% durch LU 135252 signifikant reduziert ( $p < 0.01$ ). Die W/L ratio wurde ebenfalls sowohl durch den AT1-, als auch durch den ETA-Rezeptorblocker beeinflusst (32% und 25%,  $p < 0.01$ ). Die Kombinationsbehandlung führte zu einer Reduktion der CSA um 27%, einer Abnahme der W/L ratio um 24%, hatte aber bezogen auf das vaskuläre Remodeling gemessen anhand der CSA oder W/L im Vergleich zur Einzelbehandlung keinen synergistischen Effekt. Die Wanddicke der Gefäße lag bei den dTGR bei  $116 \pm 5 \mu\text{m}$  im Unterschied zu den Kontrolltieren ( $81 \pm 3 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.01$ ). LU 135252 reduzierte die Wanddicke auf  $99 \pm 3 \mu\text{m}$  signifikant ( $p < 0.01$ ). Sowohl die Kombinationsbehandlung als auch Losartan beeinflusste die Wanddicke nicht ( $96 \pm 2 \mu\text{m}$  bzw.  $110 \pm 2 \mu\text{m}$ ).

Die qualitative immunhistochemische Analyse zeigte, dass der Proliferations- und Infiltrationsgrad der Gefäßwand, gemessen als PCNA- und ED-1 positive Zellen, für Losartan als auch für LU 135252 signifikant im Vergleich zu den unbehandelten dTGR reduziert wurde (7 bzw. 8%,  $p < 0.01$ ). Die in die Gefäßwand infiltrierten Zellen wurden als Mastzellen identifiziert (Abb. 12).

Abb. 13 zeigt die Beeinflussung der perivaskulären Fibrose in den einzelnen Behandlungsgruppen im Vergleich mit den dTGR- und den Kontrolltieren.

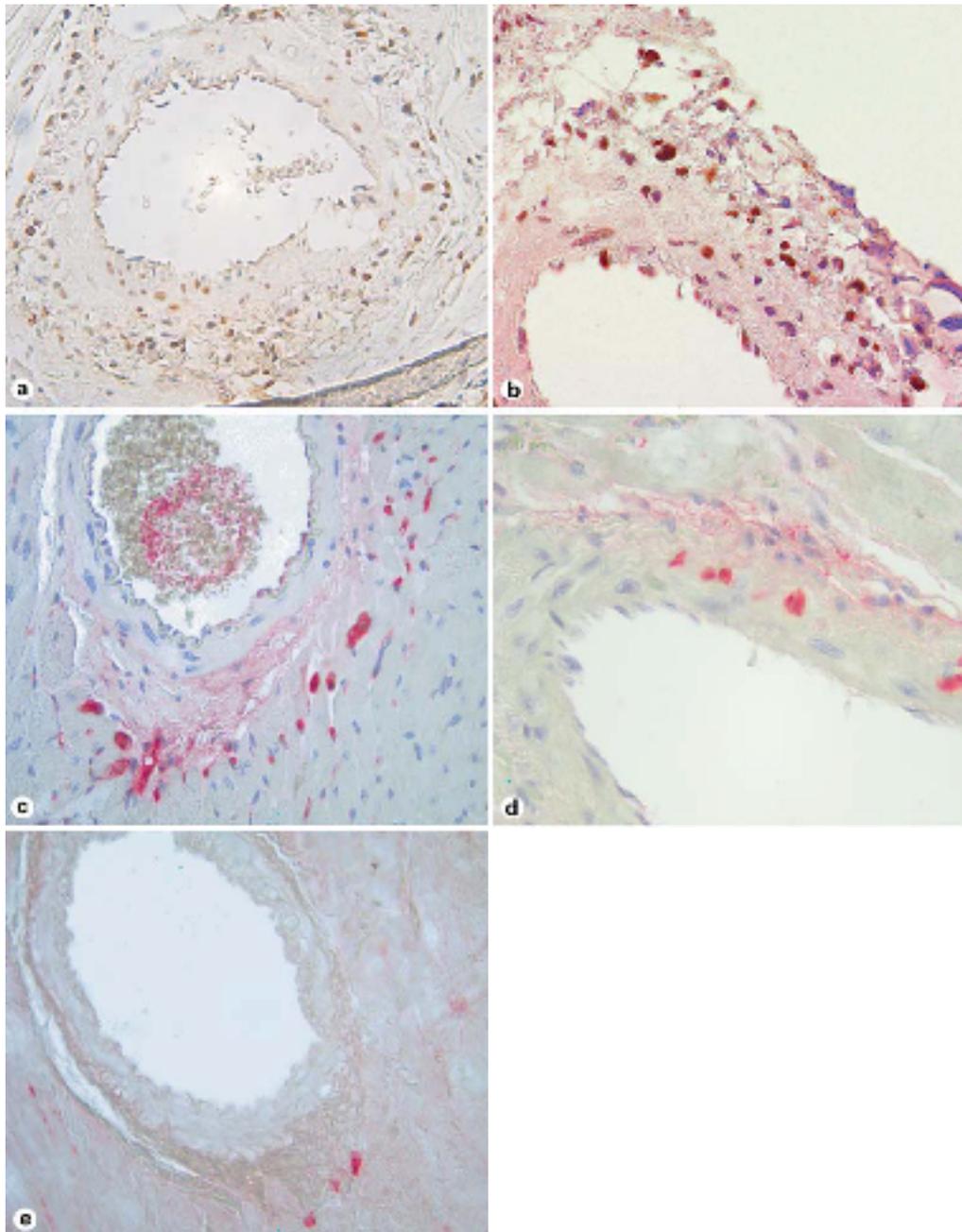


Abb. 12 Bild A und B zeigen PCNA-positive Zellen (Zellteilung) in den Koronararterien von dTGR-Tieren. Bild C zeigt ED-1-positive Zellen i. S. von Monozyten und Makrophagen der dTGR und die Reduktion des Zellanteils durch eine Losartan-Behandlung (Bild D). Bild E zeigt den Anteil an ED-1-positiven Zellen in den Kontrolltieren (Sprague-Dawley-Ratten). 200-fache Vergrößerung (A,C,E) und 400-fach (B,D). Gegenfärbung mit Hämatoxylin (B,C,D).

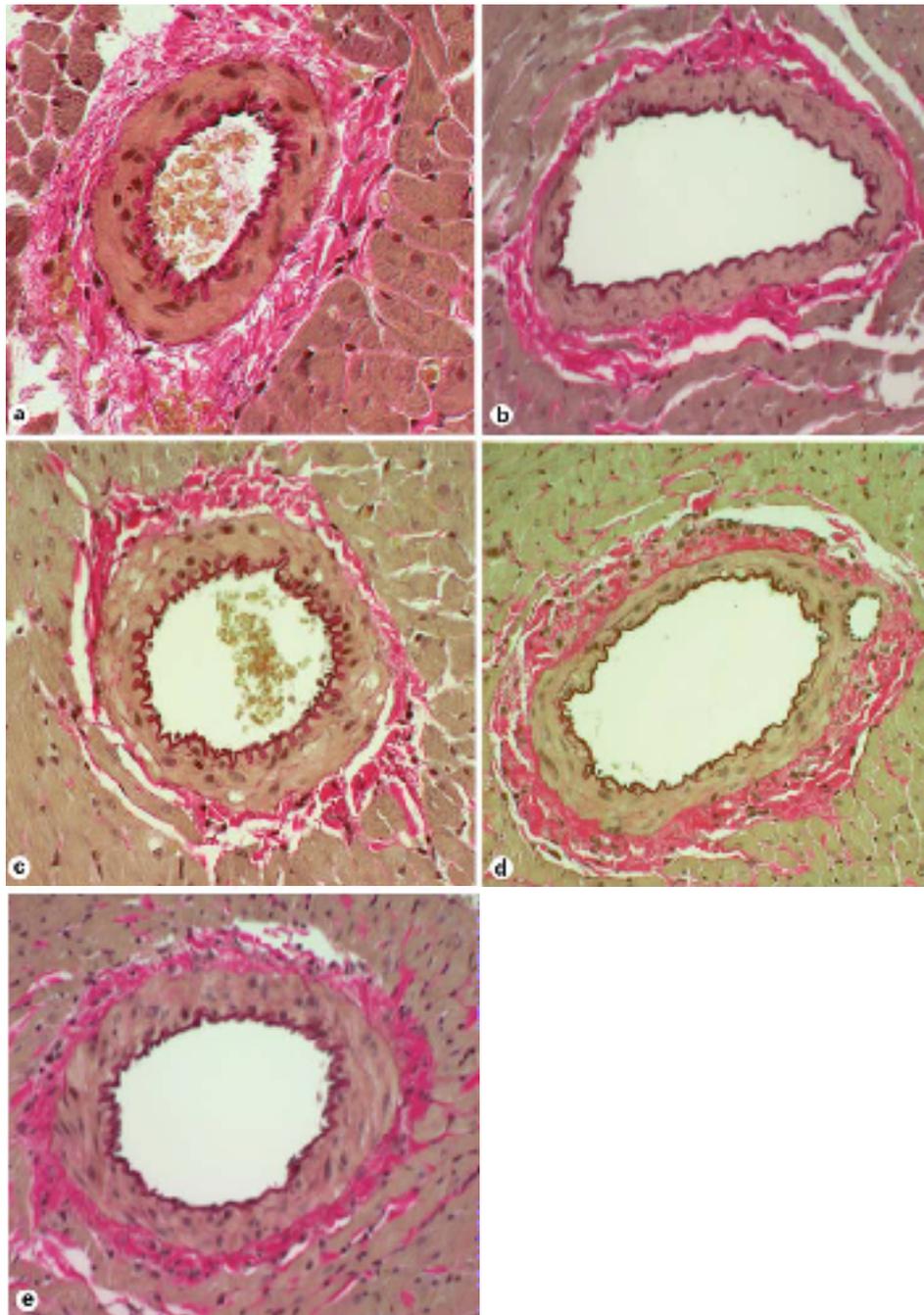


Abb. 13 Elastica-van-Gieson-Färbung der internen und externen Lamina elastica der Koronararterien. Deutliche perivaskuläre Fibrose bei den dTGR-Tieren (Bild A). Beeinflussung des Fibrosegrades durch Losartan (Bild B), LU 135252 (Bild C) , Kombinationsbehandlung (Bild D) im Unterschied zu den Sprague-Dawley-Ratten (Bild E).

Die tierexperimentellen Projekte 3 und 4 haben den Angiotensin II-induzierten Einfluss eines hochaktiven RAS auf den vaskulären und kardialen Endorganschaden gezeigt. Abb. 14 fasst die Ergebnisse des Teilprojektes P5 zusammen.

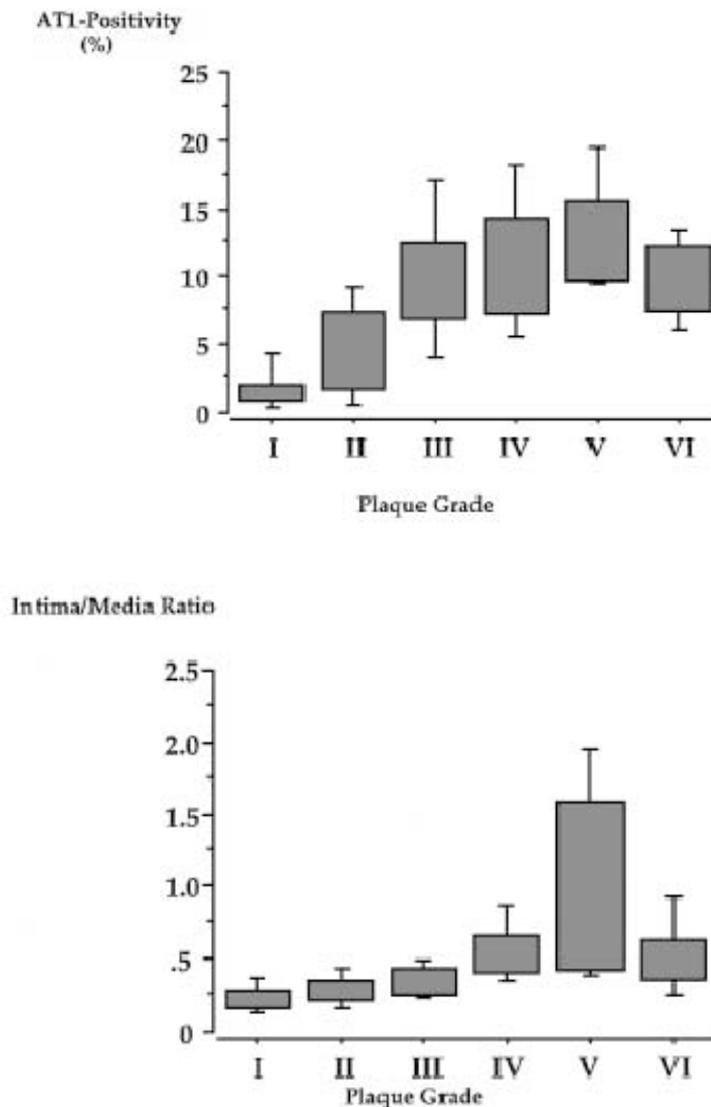


Abb. 14 Signifikante Korrelation zwischen AT1-Rezeptorexpression in Prozent der Gefäßfläche (Ordinate) bezogen auf den Atherosklerosegrad I-VI ( $r=0.65$ ,  $p<0.01$ , oben). Relation der Intima-Media-Dicke zum Grad der Atherosklerose ( $r=0.51$ ,  $p<0.01$ , unten).

Mit zunehmendem Atherosklerosegrad entsprechend der Stary-Klassifikation steigt der prozentuale Anteil der AT1-Rezeptorexpression bis auf ca. 15% der Gefäßwand mit einem Plateau für maximale Atherosklerosegrade (Stary VI). Die signifikante Korrelation des Expressionsmusters mit dem Grad der Atherosklerose ( $r=0.65$ ,

p<0.01) zeigte sich auch für die Intima-Media-Dicke der Koronararterien (r=0.51, p<0.01).

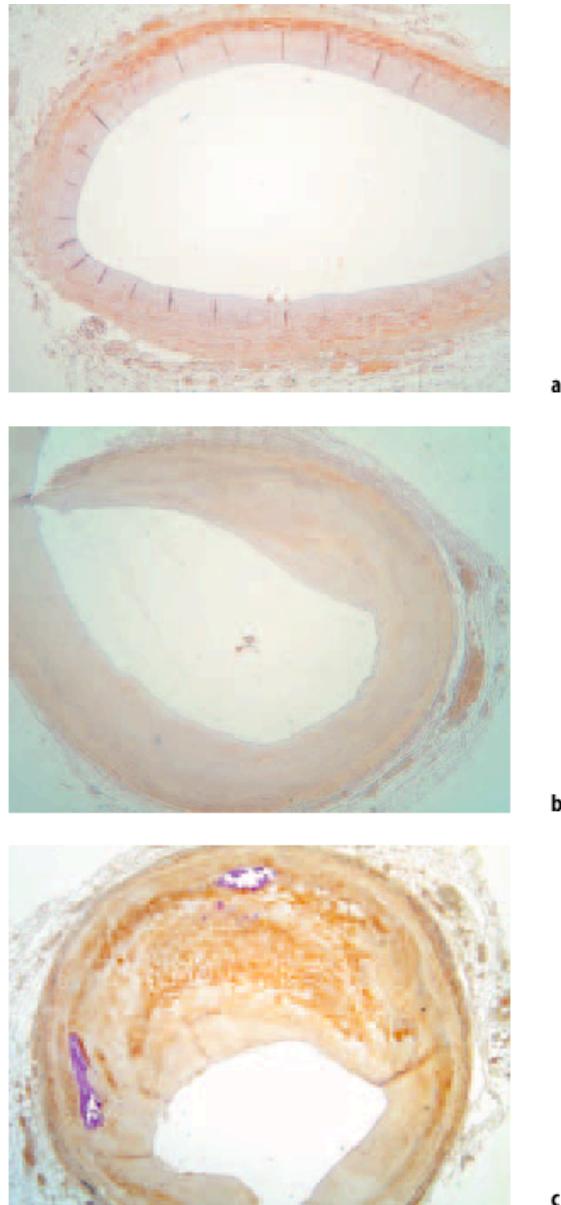


Abb. 15 Histologischer Schnitt einer normalen Koronararterie (Bild A) mit homogener Verteilung des AT1-Rezeptors in der Media (braun). Zunahme der Verteilung mit steigendem Atherosklerosegrad (Grad III, Bild B) über die Media hinaus mit Einbeziehung der fibrösen Kappe und des gesamten Plaquematerials (Grad VI, Bild C).

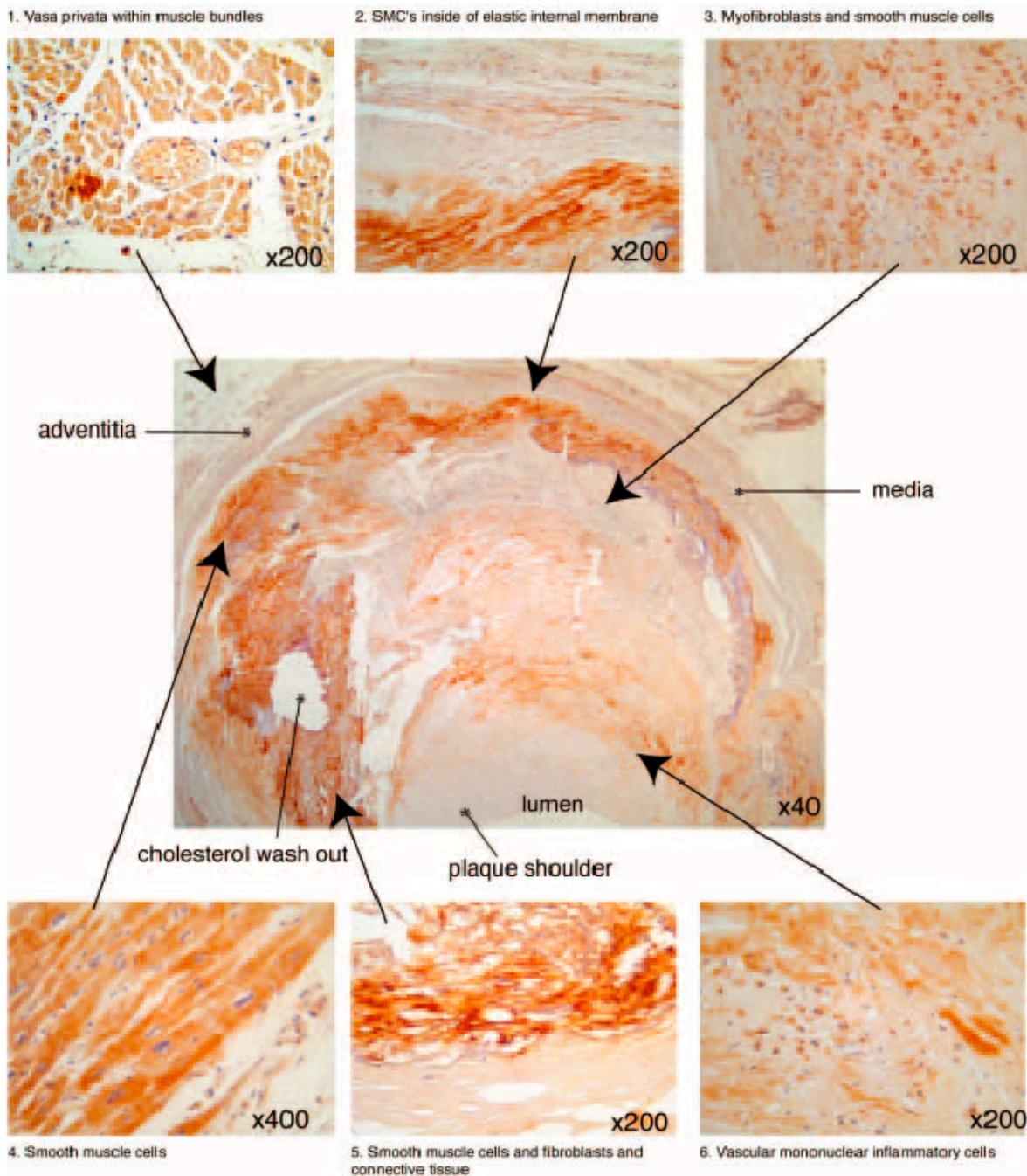


Abb. 16 AT1-Rezeptorexpression bei hohem Atherosklerosegrad (Grad VI, mittleres Bild). Glatte Gefäßmuskelzellen und Myofibroblasten exprimieren den Rezeptor (obere Reihe) und führen zu einer Verteilung außerhalb der Media (Lamina elastica, Blutgefäße) bis hin zur vulnerablen Plaqueschulter, in der sich auch AT1-positive Entzündungszellen finden (untere Reihe).

Abb. 15 dokumentiert die Verteilung des AT1-Rezeptors im histologischen Schnitt einer Koronararterie ohne Atherosklerose. Die Expression findet sich in der Media (vaskuläre glatte Gefäßmuskelzellen) und vereinzelt in der Intima. Die Adventitia zeigte keine Expression. Mit steigendem Atherosklerosegrad (III, bzw. VI) nimmt der prozentuale Anteil der AT1-Expression zu. Mit zunehmender Dicke der Intima als Ausdruck einer vorangeschrittenen Atherosklerose nimmt der AT1-Anteil mit dem Anteil an Entzündungszellen zu.

Durch die Einwanderung von aktivierten glatten Gefäßmuskelzellen (VSMC) kann die Expression des Rezeptors in der Lamina elastica interna, im Plaque, im Bindegewebe und in der Media gemessen werden. AT1-positive Zellen können bei hohem Atherosklerosegrad (Stadium VI) als Myofibroblasten, Monozyten/Makrophagen und Schaumzellen identifiziert werden (Abb. 16).

#### 4.2.4. Reprint P3, P4 und P5

- P3.** Gerbaulet S, Krämer J, Bohlender J, Dietz R, **Gross CM**. Blood pressure-independent ETA and AT1 receptor blocker effects on the coronaries of rats harboring human renin and angiotensinogen genes. *Kidney & Blood Pressure Research* 2005;28:134-143
- P4.** Bohlender J, Gerbaulet S, Krämer J, **Gross CM**, Kirchengast M, Dietz R. Synergistic effects of AT(1) and ET(A) receptor blockade in a transgenic, angiotensin II-dependent, rat model. *Hypertension* 2000;35:992-997
- P5.** **Gross CM**, Gerbaulet S, Quensel C, Krämer J, Mittelmeier HO, Luft FC, Dietz R. Angiotensin II Type 1 Receptor Expression In Human Coronary Arteries With Variable Degrees Of Atherosclerosis. *Basic Res Cardiol* 2002;97:327-333

### **4.3. Projekt 6, 7 und 2 (P6, P7, P2): Evaluierung der hämodynamischen Bedeutung der renalen Atherosklerose und deren Beeinflussbarkeit durch die perkutane interventionelle Therapie.**

#### **4.3.1. Einleitung und Fragestellung**

Unsere Voruntersuchungen haben den Zusammenhang zwischen renaler und koronarer Atherosklerose und deren klinische Bedeutung deutlich gemacht. Der Beginn und das Ausmaß des vaskulären, kardialen und renalen Endorganschadens bei gegebener renaler Minderperfusion ist weniger gut untersucht. Eine signifikante Reduktion des renalen Perfusionsdruckes mit kritischer Abnahme des Blutflusses kann im Rahmen eines chronischen Ischämieschadens zum irreversiblen Verlust der renalen Funktion und/oder zu renaler Hypertonie führen, einhergehend mit allen kardiovaskulären Begleitfolgen. Bei welchem Schweregrad der renalen Perfusionsstörung die renale Hypertonie und/oder die renale Dysfunktion als Surrogatmarker für einen beginnenden oder bereits eingetretenen Endorganschaden ursächlich ausgemacht werden können, ist nicht bekannt. Dies wird verständlich, wenn berücksichtigt wird, dass die Einschränkung der renalen Perfusion nicht zwangsläufig zu einer renalen Ischämie führt, da weniger als 10% des renalen Blutflusses für den eigenen Metabolismus der Niere benötigt wird.<sup>(116)</sup> Dies bedeutet, dass eine „moderate“ absolute Reduktion der Nierenperfusion nicht zwingend ein Risikofaktor für die renale Dysfunktion darstellen muss, zumal eine kompensatorische Steigerung der glomerulären Filtrationsrate des Einzelneurons dem entgegen wirken kann. Möglicherweise sind aber bereits in diesem Stadium der „nicht-ischämischen“ Nephropathie andere Prozesse aktiviert, die den Beginn eines Endorganschadens einleiten. Aus den Projekten 1 und 2 wurde deutlich, dass bereits unterkritische Nierenarterienstenosen (< 50%) zu einer akzelerierten Form der koronaren Atherosklerose führen, als Ausdruck eines relevanten koronar-vaskulären Endorganschadens.

Im Allgemeinen wird eine relevante Abnahme der Nierenperfusion mit einer Reduktion der Nierenstrombahn auf  $\geq 50\%$  Diameter- bzw. 70 – 80% Flächenstenose in Verbindung gebracht.<sup>(117,118,119)</sup> Dieser cutt-off-Wert dient deshalb in den meisten Interventionsstudien der renalen Hypertonie bzw. ischämischen Nephropathie als angiographischer Parameter für die Indikation zur Revaskularisation. Von einem hämodynamischen Standpunkt aus betrachtet, gilt eine Läsion dann als relevant, wenn eine signifikante Abnahme des Perfusionsdruckes vorliegt.<sup>(28,120)</sup> In diesem Fall

können intrarenal adaptative Mechanismen eingeleitet werden, die zu einer renalen Dysfunktion und/oder renalen Hypertonie führen.<sup>(28)</sup>

Methodisch betrachtet können besondere anatomische Läsionen, wie ostiale Stenosen oder die nicht-atherosklerotische, fibromuskuläre Dysplasie, angiographisch schwer quantifiziert werden. Dies macht für therapeutische Revaskularisationsmaßnahmen die Notwendigkeit alternativer Methoden der Schweregradbestimmung erforderlich.<sup>(118,121)</sup> Hinzu kommt, dass die therapeutische Beeinflussbarkeit vor allem ostialer Nierenarterienstenosen aus interventioneller Sicht problematisch ist. Die primäre Erfolgsrate und die Langzeitergebnisse sind bei alleiniger perkutaner transluminaler renaler Angioplastie (PTRA) deshalb weniger erfolgsversprechend.<sup>(24)</sup>

In dem Teilprojekt P6 wurde die hämodynamische Relevanz von Nierenarterienstenosen in Bezug auf den anatomischen Schweregrad, den arteriellen Blutdruck und auf die Nierenfunktion überprüft. Im Unterschied zu bisherigen Untersuchungen mit Angioplastiekathetern oder invasiver Blutflussbestimmung wurde zur Schweregradbestimmung ein miniaturisierter Druckdraht eingesetzt, wodurch eine Druck-Gradientenbestimmung proximal und distal der Läsion durchgeführt werden konnte. Weitergehend wurde der Einfluss einer primären Stentimplantation bei relevanter Nierenarterienstenose auf Blutdruck, exkretorische Nierenfunktion, medikamentöse Begleittherapien und auf die Restenoserate überprüft (Projekt P7 und P2).

#### **4.3.2. Methode**

Bei 38 Patienten mit Verdacht auf Nierenarterienstenose wurde nach angiographischer Untersuchung in 46 Nierenarterien die Druck-Gradientenregistrierung durchgeführt. Die Angiogramme wurden mit Hilfe der quantitativen Angiographie in Bezug auf den minimalen Lumendiameter (mm), den Referenzdiameter (mm) und den Diameterstenosegrad (%) ausgewertet. Die Druckwerte wurden mittels eines fiberoptischen Drucksensors unter Einsatz eines speziellen Druckdrahtes (0.014 inch) invasiv entlang der Läsion gemessen und mit den Druckwerten vor der Stenose (invasiver Aortendruck) in Relation gesetzt. Registriert wurde der arterielle Mitteldruck, der diastolische und der systolische Druck vor und nach Vasodilatation mit Nitroglycerin.

Im Mittel lag die antihypertensive Medikation der Patienten bei  $3 \pm 0.8$  Präparaten, die Serumkreatininkonzentration bei  $1.3 \pm 0.4$  mg/dl und die Blutdruckwerte bei  $141 \pm 23$  mmHg systolisch bzw.  $74 \pm 12$  mmHg diastolisch. Alle Patienten hatten eine KHK.

Bei 51 Patienten mit ostialer (n=46) und zentraler (n=15) Nierenarterienstenose wurde eine primäre Stentimplantation durchgeführt. Die ostiale Manifestation der renalen Atherosklerose wurde definiert als Stenose innerhalb der ersten 5 mm der Nierenarterie. Der mittlere Stenosegrad lag quantitativ bei  $68 \pm 12\%$ .

Technischer Erfolg war definiert als Reststenosegrad quantitativ  $< 20\%$ . Ein Diameterstenosegrad  $\geq 50\%$  definierte eine Rezidivstenose während der Nachbeobachtungsphase.

Definitionsgemäß wurden Patienten als Hypertoniker eingestuft, wenn die Blutdruckwerte systolisch  $> 140$  mmHg und diastolisch  $> 90$  mmHg entsprechend den Kriterien der World Health Organization (WHO) und der International Society of Hypertension Guidelines waren. Nach Intervention waren definitionsgemäß Patienten geheilt, wenn die mittleren arteriellen Blutdruckwerte bei  $\leq 90$  mmHg und/oder systolische Blutdruckwerte bei  $\leq 140$  mmHg ohne antihypertensive Medikation lagen. Bei Abnahme der diastolischen Blutdruckwerte um  $\geq 15\%$ , bzw Abnahme der systolischen Blutdruckwerte um  $\geq 10\%$  bei identischer Anzahl der antihypertensiven Medikation, lag eine verbesserte Blutdrucksituation vor. Ebenso wurden Patienten als gebessert eingestuft, wenn die diastolischen Blutdruckwerte unverändert blieben bzw. um weniger als 15% abnahmen oder die systolischen Blutdruckwerte unverändert blieben bzw. um weniger als 10% abnahmen, bei gleicher Anzahl der antihypertensiven Medikation.

Die exkretorische Nierenfunktion wurde prä- und postinterventionell erfasst. Serumkreatininwerte  $> 1.0$  mg/dl wurden als pathologisch eingestuft. Eine Abnahme um  $> 0.2$  mg/dl war definiert als Verbesserung, eine Zunahme um  $\geq 0.2$  mg/dl als Verschlechterung der Nierenfunktion.

Die Nachbeobachtungsphase umfasste eine Renovasographie sowie Blutdruck- und Serumkreatininverlauf unter Berücksichtigung der Anzahl der antihypertensiven Medikation. Blutdruck- und Serumkreatininwerte wurden vor und nach Intervention, sowie zweimonatlich ambulant bestimmt.

### 4.3.3. Ergebnisse

Der mittlere Läsionsgrad lag bei  $51 \pm 17\%$  (12%-85%) und repräsentiert damit ein weites Spektrum der renalen Atherosklerose. Die nachfolgenden Abbildungen erläutern die Ergebnisse.

Abb 17 zeigt das Angiogramm einer fibromuskulären Dysplasie. Die Läsionsmorphologie verhindert bei dieser Form der renovaskulären Erkrankung eine exakte quantitative Erfassung des Stenosegrades.

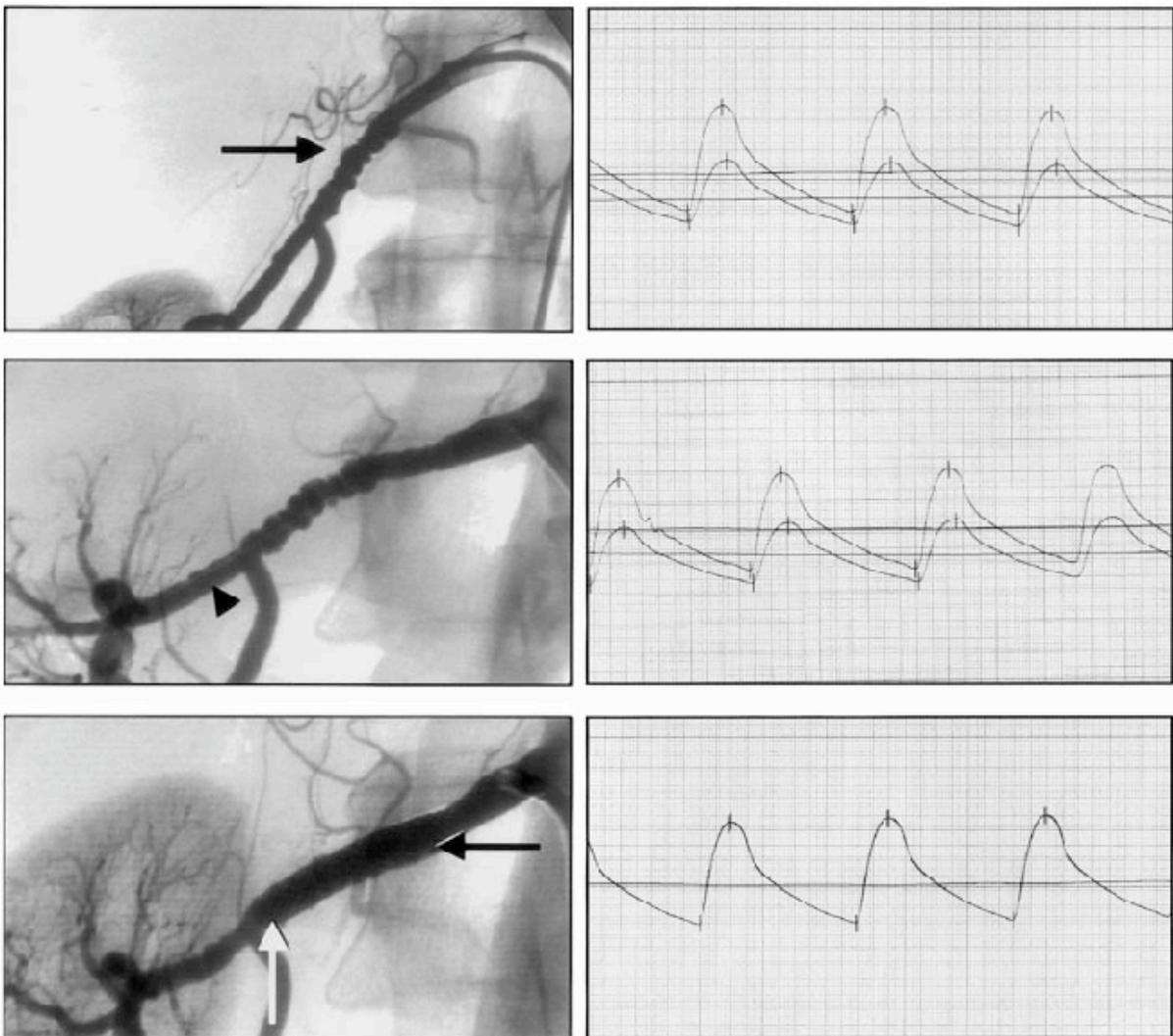


Abb. 17 Anterior-posteriores Angiogramm einer 31 jährigen Frau mit fibromuskulärer Dysplasie (links oben). Korrespondierende Durckkurve rechts oben. Der Druckgradient liegt bei 35 mmHg systolisch (Differenz aus systolischem Druck in der Aorta, vor der Läsion, bzw. distal der Läsion). Nach Ballonangioplastie nur geringe Veränderung des systolischen Druckgradienten (Bild rechts und links Mitte). Nach Stentimplantation (unten links) sind die Druckwerte vor und hinter der Stenose identisch (Druckkurven unten rechts).

Die korrespondierenden Druckkurven und Angiogramme vor und nach Stentimplantation sind in Abbildung 17 dargestellt. Der Druckgradient liegt bei 35 mmHg systolisch und verändert sich nur gering nach Ballonangioplastie (Bild rechts und links Mitte). Die Stentimplantation (unten links) normalisiert die Druckwerte vor und hinter der Stenose (Druckkurven unten rechts).

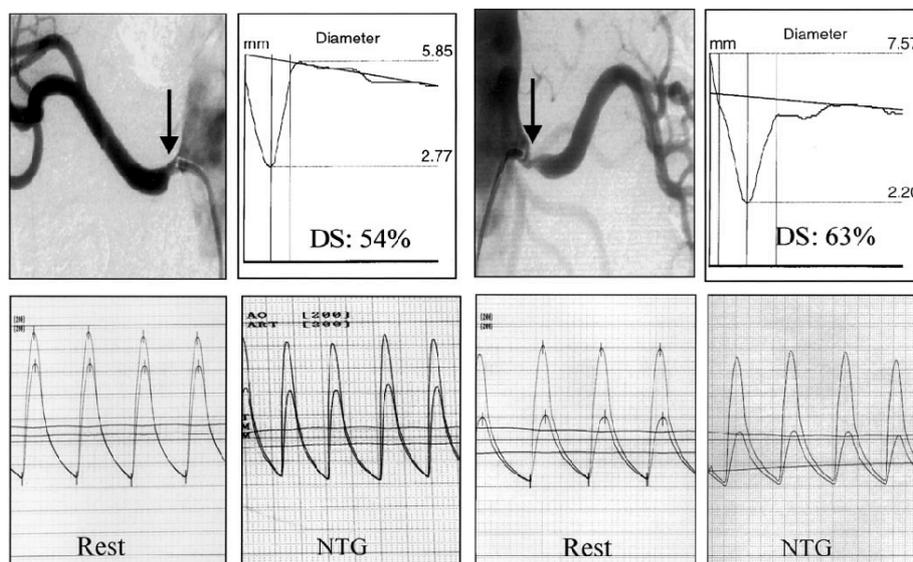


Abb.18 Selektive Darstellung einer 54% Diameterstenose (Pfeil) mit einem minimalen Lumendiameter von 2.77 mm und einem Referenzdiameter von 5.85 mm (Bild oben links innen). Druckkurven vor und hinter der Stenose unten links. Systolischer Druckgradient 28 mmHg (Rest: Unten links aussen) wächst auf 38 mmHg nach Nitroglycerin-Applikation (NTG: Unten links innen).  
 Beispiel einer 63%igen Stenose (rechts oben innen) mit einem Druckgradient von 60 mmHg (Rest: Unten links innen) und Anstieg auf 69 mmHg nach Nitroglycerin (NTG: Unten rechts aussen).

Das Beispiel für eine bilaterale Nierenarterienstenose eines 68 jährigen Mannes mit langjähriger arterieller Hypertonie dokumentiert die Abb. 18. Der angiographische Stenosegrad der Arteria renalis dexter wird mit 54% erfasst (Bild oben links). Der in Ruhe bereits deutlich erhöhte systolische Druckgradient von 28 mmHg wächst auf 38 mmHg nach Vasodilatation an (Nitroglycerin).

Ein anderes Beispiel für eine höhergradige Stenose ist in der Abb. 18 auf der rechten Seite zu sehen. Passend zum Angiogramm errechnet sich der Stenosegrad mit 63%, einhergehend mit einem systolischen Ruhedruckgradient von 60 mmHg. Die Vasodilatation führt auch hier zu einem weiteren Anstieg des Gradienten auf 69 mmHg.

Abb. 19 zeigt eine angiographische borderline-Läsion eines 46-jährigen Mannes mit arterieller Hypertonie und einem Durchmesserstenosegrad von 50%. Der Druckgradient liegt bei 8 mmHg systolisch und steigt trotz Vasodilatation lediglich auf 12 mmHg systolisch an.

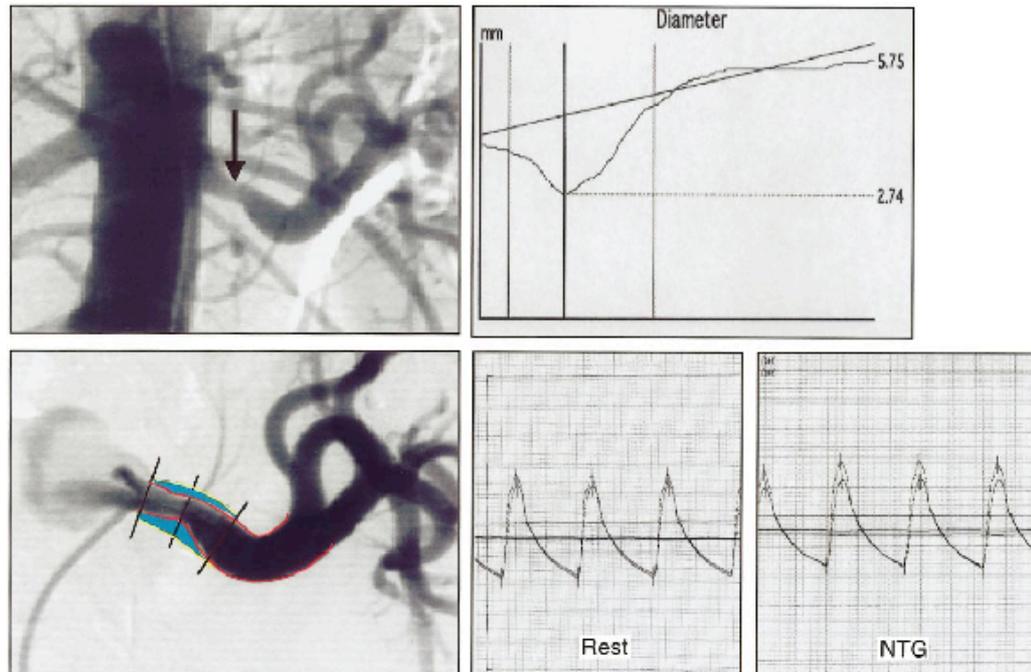


Abb. 19 Selektive Darstellung einer 50% Durchmesserstenose mit minimalem Lumendiameter von 2.74 mm bzw. einem Referenzdiameter von 5.75 mm. Systolischer Druckgradient von 8 mmHg in Ruhe bzw. nicht relevanter Anstieg auf 12 mmHg nach Vasodilatation (unten Mitte Ruhegradient, rechts nach Nitroglycerin).

Bei einer weiteren borderline-Läsion mit identischem Stenosegrad (Abb. 20), im Unterschied zur Abb. 19, erhöht sich durch die Vasodilatation der Druckgradient von 17 mmHg auf 31 mmHg deutlich. Die intrarenale Widerstandsreduktion hat im letzten Beispiel die Relevanz der Stenose verdeutlicht.

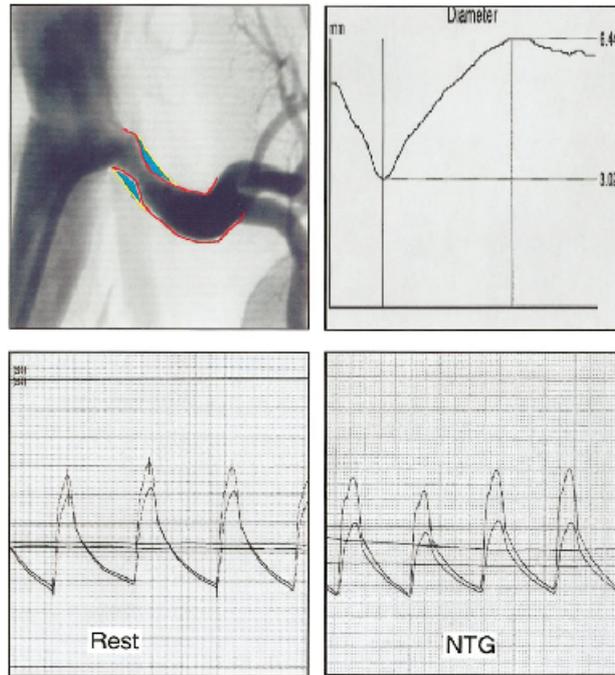


Abb. 20 Selektive Darstellung einer 50% Diameterstenose mit minimalem Lumen-diameter von 3.02 mm bzw. einem Referenzdiameter von 6.44 mm. Systolischer Druckgradient 17 mmHg in Ruhe, relevanter Anstieg auf 31 mmHg nach Vasodilatation (unten links Ruhegradient, rechts nach Nitroglycerin).

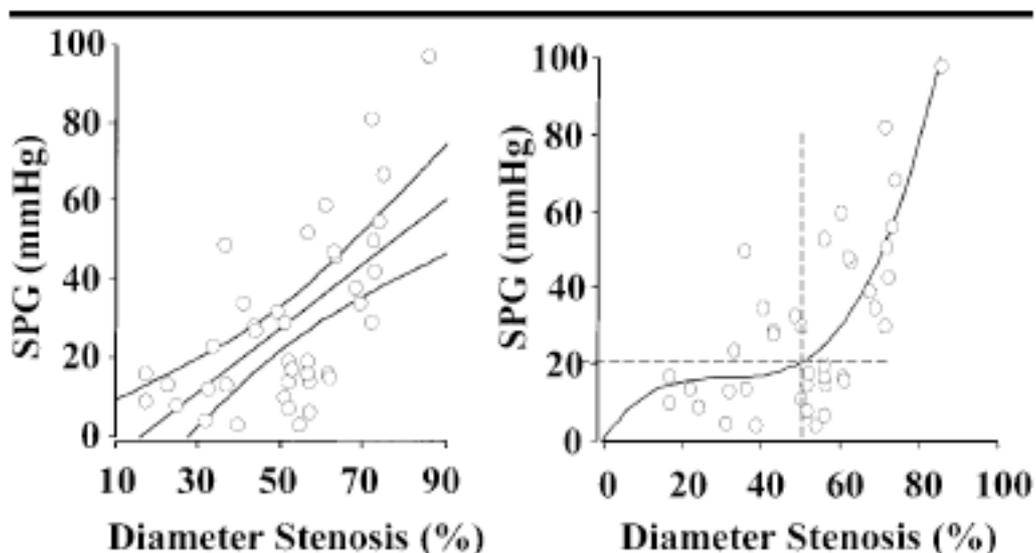


Abb. 21 Korrelation zwischen systolischem Ruhegradient und angiographischem Stenosegrad ( $r=0.6; p<0.05$ , Bild rechts). In der exponentialen Darstellung deutlicher Anstieg des Druckgradienten  $>20$  mmHg systolisch bei Diameterstenosen  $>50\%$ . Der cut-off-Wert für eine 50% Diameterstenose liegt bei 22 mmHg systolisch ( $r=0.9; p<0.01$ , Bild links).

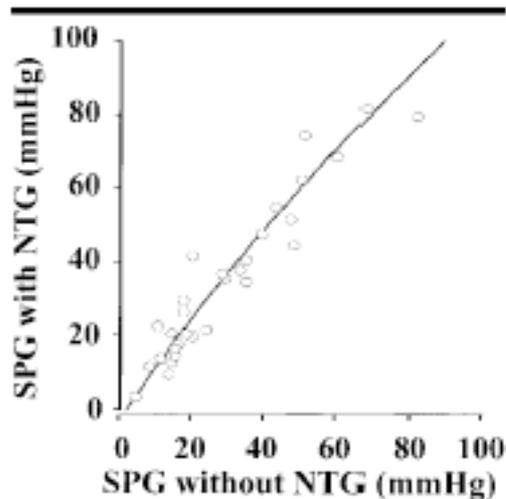


Abb. 22 Korrelation zwischen systolischem Ruhegradient und systolischem Gradient nach Vasodilatation (Nitroglycerin, NTG,  $y=0+1.3x-0.001x^2$ ,  $r=0.9$ ,  $p<0.01$ ). Die NTG-Applikation führt zu einer Abnahme des intrarenalen Widerstandes mit Anstieg des Gradienten.

Abb. 21 zeigt die Gegenüberstellung der systolischen Druckgradienten in Bezug auf den angiographisch bestimmten Diameterstenosegrad. Die Korrelation zwischen Stenosegrad und Druckgradient ist signifikant ( $p<0.05$ ). Für angiographisch relevante Stenosen ( $\geq 50\%$  Diameterstenosegrad) kann ein oberer cut-off-Wert von 22 mmHg systolischer Ruhedruckgradient bestimmt werden. Abb. 22 gibt die Korrelation zwischen systolischem Ruhedruckgradient und systolischem Druckgradienten nach Vasodilatation wieder. Durch Vasodilatation kommt es zu einem relevanten Anstieg des Ruhedruckgradienten auf Werte über 20 mmHg im Unterschied zu den registrierten Druckwerten vor Vasodilatation (intrarenale Druckabnahme). Hämodynamisch grenzwertige Stenosen können durch die induzierter Vasodilatation als relevant demaskiert werden.

Neben der Korrelation zwischen systolischem Gradienten und dem angiographischen Diameterstenosegrad wurde der Zusammenhang zwischen systolischem Blutdruck, Nierenfunktion (Serumkreatinin) und Ruhegradient untersucht. Der Ruhedruckgradient korreliert ebenfalls signifikant mit Blutdruck und Serumkreatinin ( $y=0-0.16x+0.003x^2$ ;  $r=0.7$ ,  $p=0.02$  für systolische Blutdruckwerte und Serumkreatinin).

Bei signifikanter renovaskulärer Atherosklerose wurde bei Patienten mit ostialen und zentralen Nierenarterienstenosen (ostiale Stenosen  $n=46$ , zentrale Stenosen  $n=15$ ) eine Stentimplantation durchgeführt. Der präinterventionelle Stenosegrad lag bei

68±12% mit einem mittleren minimalen Lumendiameter von 2.2±0.7mm. Die gemessenen systolischen und diastolischen Blutdruckwerte lagen tendenziell über den Werten der Patienten mit borderline, bzw. geringgradiger Nierenarterienstenose. Die Serumkreatininwerte waren signifikant erhöht.

Insgesamt wurden 70 Stentimplantationen erfolgreich ohne periprozedurale Komplikationen durchgeführt (Stenosegrad post interventionem 10±9%).

Der Verlauf der arteriellen Blutdruckwerte ist in Abbildung 23 dargestellt. Nach Stentimplantation kam es zu einer signifikanten Abnahme sowohl der diastolischen als auch der systolischen Druckwerte ( $p < 0.05$ ). Unter Berücksichtigung der oben genannten Definition für den klinischen Erfolg trat bei 69% der Patienten eine Verbesserung der Blutdruckwerte ein, während in 31% der Fälle keine Veränderung erreicht werden konnte.

Die Anzahl der antihypertensiven Medikation nahm von 3.2±0.9 auf 2.8±1.0 ab ( $p < 0.005$ ). Der Anteil der Patienten mit ACE-Blockade erhöhte sich auf 91%.

Die Serumkreatininwerte stabilisierten sich nach 6 Monaten (1.46±0.7 mg/dl gegenüber 1.39 ± 0.58 mg/dl). Dieses Ergebnis war unabhängig vom Ausgangswert der Einschränkung der exkretorischen Nierenfunktion (Serumkreatinin <1.4 mg/dl, bzw. >1.4 mg/dl). In 12% d. F. trat eine Restenose auf.

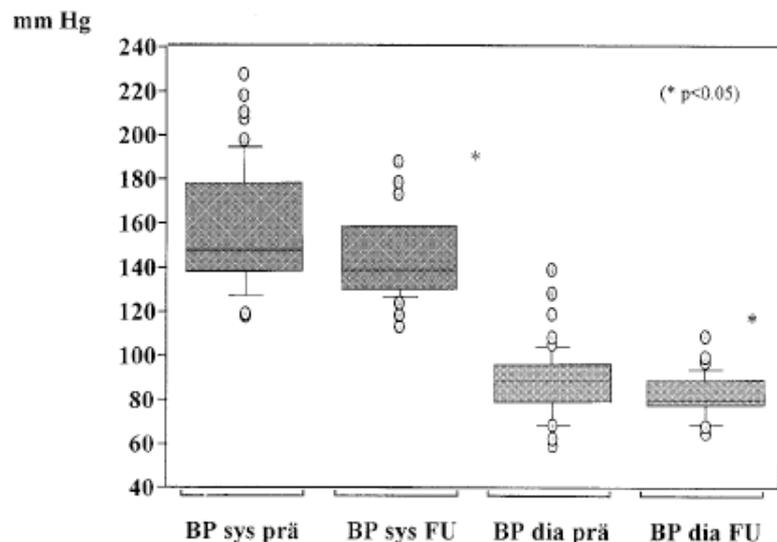


Abb. 23 Systolische (BP sys), diastolische (BP dia) Blutdruckwerte vor und nach 6 Monaten (FU). Signifikante Abnahme im Beobachtungszeitraum ( $p < 0.05$ ).

#### 4.3.4. Reprint P6 und P7

- P6.** Gross CM, Krämer J, Weingärtner O, Uhlich F, Luft FC, Waigand J, Dietz R. Determination of renal artery stenosis severity: Comparison of pressure gradient and vessel diameter. *Radiology* 2001;220:751-756
- P7.** Gross CM, Krämer J, Waigand J, Uhlich F, Olthoff H, Luft FC, Dietz R. Ostial renal artery stent placement for atherosclerotic renal artery stenosis in patients with coronary artery disease. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1998;45:1-8

#### **4.4. Projekt 8 und 9 (P8 und P9): Perkutane transluminale Ballonangioplastie (PTA) mit elektiver Stentimplantation bei symptomatischer und asymptomatischer Stenose der Arteria carotis bei Patienten mit begleitender, schwerer koronarer oder valvulärer Herzerkrankung**

##### **4.4.1 Einleitung und Fragestellung**

Die Inzidenzrate des Schlaganfalls in der Bundesrepublik Deutschland wird mit ca. 150.000 bis 200.000 pro Jahr angegeben. In 75 % der Fälle handelt es sich hierbei um ischämische Schlaganfälle des vorderen Hirnkreislaufes, wobei hiervon ca. 20% auf Stenosen der extrakraniellen Arteria carotis zurückzuführen sind. Damit kommt dem Schlaganfall neben der koronaren Herzerkrankung eine erhebliche epidemiologische Bedeutung, nicht nur hierzulande, sondern weltweit zu. Die Überlegenheit der operativen Revaskularisation gegenüber einer medikamentösen Therapie konnte zuerst für Patienten mit hochgradiger symptomatischer Karotisstenose belegt werden.<sup>(4,5,122)</sup> Für die hochgradige asymptomatische Stenose der Arteria carotis gelang einige Zeit später ebenfalls der Nachweis einer signifikanten Reduktion der Schlaganfallereignisse, im Vergleich mit einer reinen konservativen Therapie.<sup>(7,123)</sup>

Sowohl für die asymptomatische, als auch für die symptomatische Karotisstenose gilt, dass die Ergebnisse der chirurgischen Therapie abhängig sind vom Stenosegrad der Läsion. Werden Patienten mit symptomatischer Karotisstenose mit einem Stenosegrad von 50-69% betrachtet, so liegt die absolute Reduktion des ipsilateralen Schlaganfalls bei 4.6% (14% vs. 18.6% für die konservative Therapie) im Vergleich mit einer reinen medikamentösen Therapie.<sup>(124)</sup> Basierend auf dieser Risikoreduktion des ipsilateralen Schlaganfalls bei einer perioperativen Mortalität und Schlaganfallrate von 8.4%, errechnet sich eine Verhinderung eines Schlaganfalls innerhalb von 5 Jahren, wenn insgesamt 22 Operationen durchgeführt werden.<sup>(124)</sup> Für die hochgradige symptomatische Karotisstenose mit einem Diameterstenosegrad von 70-99% liegt die absolute Risikoreduktion des ipsilateralen Schlaganfalls bei 15.9% (10% vs. 26% konservative Therapie) mit einer deutlichen Abnahme der sog. „number needed to treat“ (NNT)-Rate von 6 Operationen, um einen Schlaganfall verhindern zu können, bezogen auf eine perioperative Komplikationsrate (Tod und oder Apoplex) von 6.2%.<sup>(124)</sup> Kürzlich wurden die Ergebnisse einer zweiten großen multizentrischen Studie mit asymptomatischen Karotisstenosen publiziert.<sup>(123)</sup> In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Asymptomatic Carotid Atherosclerotic

Study (ACAS) aus dem Jahre 1996 zeigte die ACST-Studie bei einer sehr niedrigen 30 Tage perioperativen Komplikationsrate von 3.1 % (Tod und/oder Schlaganfall) eine ipsilaterale Schlaganfallrate von 6.4% nach Endarteriektomie versus 11.8% für die medikamentöse Therapie. Dies entspricht einer absoluten Reduktion der Komplikationsrate von 5.4% innerhalb von 5 Jahren. Somit zeigte sich in dieser größeren Studie ein signifikanter Vorteil für die chirurgisch behandelten Patienten mit einer NNT-Rate von 19. Damit bewies die Chirurgie auch für die Behandlung der asymptomatischen Karotisstenose >60% einen prognostischen Vorteil und gilt somit als Referenzmethode bei diesem Krankheitsbild. Einschränkend muss berücksichtigt werden, dass die sehr günstigen Ergebnisse dieser Studien auf einer strengen Selektion der Patienten und der beteiligten chirurgischen Zentren basieren, da die sehr niedrige perioperative Komplikationsrate außerhalb dieser kontrollierten Studien bei ca. 20.000 bis 40.000 Karotisendariektomie-Operationen in Deutschland in der Regel nicht erzielt werden. Dies erklärt, warum Patienten mit relevanter kardialer Komorbidität oder komplexen Stenosen der Arteria carotis aus den Endarteriektomiestudien ausgeschlossen wurden, da von einer Zunahme des perioperativen Risikos ausgegangen werden musste.<sup>(5)</sup> Insbesondere bei schwerer kardialer Komorbidität werden die therapeutischen Grenzen der Karotisoperation erreicht. Umgekehrt weisen Patienten mit operationspflichtiger koronarer Herzerkrankung und relevanter Karotisstenose eine Zunahme der perioperativen Mortalität und neurologischen Morbidität auf. Dabei schwanken die in der Literatur angegebenen Zahlen in Abhängigkeit der Lokalisation, des Schweregrades der Stenosen und der vorliegenden Symptomatik zwischen 4 und 14%.<sup>(125,126,127)</sup> Auf dieser Grundlage basierend werden Patienten mit koronarer Herzerkrankung und bedeutsamer Stenose der Arteria carotis im Rahmen der elektiven aorto-koronaren-Venenbypass-Operation (ACVB) simultan revaskularisiert. Gestützt wird diese Auffassung durch die Tatsache, dass eine simultane ACVB- und Karotisendariektomie-Operation mit einer vergleichbaren Rate an perioperativen neurologischen Komplikationen einhergeht, wie eine isolierte Operation der Arteria carotis bzw. eine alleinige ACVB-Operation.<sup>(125-129)</sup>

Das perioperative Schlaganfall-Risiko steigt unzweifelhaft für ältere Patienten, für Patienten mit vorausgegangenem nicht reversiblen neurologischen Defizit und für Patienten mit bilateralen Stenosen der Arteria carotis mit begleitender koronarer Herzerkrankung.<sup>(130,131)</sup> Dazu kommt, dass Patienten im Spätverlauf nach alleiniger

ACVB-Operation mit asymptomatischer Stenose der Arteria carotis im Vergleich zu Patienten mit simultaner Operation (ACVB- und Karotisoperation) eine höhere Inzidenz für einen ipsilateralen Schlaganfall bzw. transitorisch-ischämische Attacken aufweisen (6% und 11% vs. 1.3% und 5.7%).<sup>(130,132,133)</sup> Dies verdeutlicht, warum die Behandlungsstrategie für Patienten mit operationspflichtiger koronarer Herzerkrankung und asymptomatischer Stenose der Arteria carotis bislang uneinheitlich ist. Unabhängig davon, welches Therapiekonzept in der Behandlung der Karotisstenose mit oder ohne begleitende koronare Herzerkrankung durchgeführt wird, muss entsprechend den Leitlinien der American Heart Association (AHA) die perioperative Komplikationsrate, bestehend aus Tod und/oder Schlaganfall innerhalb von 30 Tagen nach Operation, unter 6% für die symptomatische bzw. 3 % für die asymptomatische Karotisstenose liegen.<sup>(134)</sup> Häufig werden die geforderten Komplikationsraten in der Karotischirurgie überschritten.<sup>(135)</sup>

Über die Möglichkeit der interventionellen Revaskularisation von symptomatischen oder asymptomatischen Stenosen der Arteria carotis durch Stentimplantation liegen seit der Erstbeschreibung durch Mathias et al. mittlerweile eine Vielzahl von Erfahrungsberichten vor.<sup>(136,137,138)</sup> Die anfänglich publizierten monozentrischen Untersuchungen waren vielversprechend und wiesen im Literaturvergleich darauf hin, dass die Stentimplantation vergleichbare Resultate erzielen kann wie die singuläre Karotisoperation.<sup>(139-141)</sup>

Ziel der Projekte P8 und P9 war, den Einfluss der Stentimplantation an Patienten mit symptomatischer oder asymptomatischer Karotisstenose und revaskularisationspflichtiger koronarer Herzerkrankung auf die neurologische Komplikationsrate zu überprüfen.

#### **4.4.2. Methode**

Behandelt wurden 85 Patienten mit symptomatischer oder asymptomatischer Stenose der Arteria carotis. Alle Patienten hatten eine begleitende koronare Herzerkrankung, ein kleiner Teil hatte eine generalisierte Atherosklerose, eine valvuläre Herzerkrankung oder maligne Herzrhythmusstörungen. Bei 82 Patienten wurde eine koronare Revaskularisation durchgeführt, bei drei Patienten zusätzlich ein Aortenklappenersatz.

Bei allen Patienten erfolgte eine neurologische Untersuchung vor und nach der Behandlung. Der Stenosegrad wurde farbdopplersonographisch und angiographisch

bestimmt. Diameterstenosen >70%, entsprechend den NASCET-Kriterien, wurden behandelt. Durch eine Computertomographie konnten stumme kraniale Ischämien festgestellt werden. Bei allen Patienten erfolgte nach 48 Stunden, 4 Wochen und nach 6 Monaten eine klinische und farbdopplersonographische Nachuntersuchung. Dies schloss eine erneute Reangiographie nach 6 Monaten ein.

Bei Patienten mit dringlicher chirurgischer Koronarrevaskularisation wurde die Thrombozytenhemmung mit Acetylsalicylsäure und Ticlopidin unmittelbar vor Operation abgesetzt und eine überbrückende Heparintherapie eingeleitet. Der mittlere Zeitraum zwischen Intervention und ACVB-Operation lag bei  $22.7 \pm 6.2$  Tagen. Für die Patienten mit interventioneller Versorgung ihrer KHK betrug der mittlere Zeitraum  $2 \pm 1$  Tage.

Erfasst wurden neurologische (transitorisch-ischämische Attacke, Minor- oder Major-Apoplex) oder kardiale Komplikationen (Myokardinfarkt, Tod) während des Beobachtungszeitraumes (kombinierter primärer Endpunkt). Die Restenoserate nach 6 Monaten wurde zusätzlich angiographisch oder farbdopplersonographisch bestimmt.

#### **4.4.3. Ergebnisse**

Insgesamt wurden 85 Patienten (70 Männer, 15 Frauen) behandelt. Das Alter der Patienten lag zwischen 43 und 89 Jahren. 31 Patienten hatten bereits einen Myokardinfarkt erlitten, 13 hiervon wurden bereits einer ACVB-Operation unterzogen und hatten eine eingeschränkte linksventrikuläre Auswurf Funktion von <45%. Bei 49 Patienten lag eine schwere koronare Drei-Gefäßerkrankung vor. Hiervon hatten 8 Patienten eine relevante Hauptstammstenose. Insgesamt 57 Patienten waren für eine ACVB-Operation oder Klappenersatz vorgesehen. Bei 28 Patienten wurde eine perkutane koronare Intervention durchgeführt (PCI). Eine symptomatische Karotisstenose hatten 19 Patienten.

In 89 Fällen wurde eine Stentimplantation durchgeführt, bei 11 Patienten lag ein kontralateraler Verschluss der Arteria carotis vor, 12 Patienten hatten beidseitige Läsionen. Bei extremer Verkalkung der Karotisstenose in einem Fall konnte keine Vordilatation durchgeführt werden, sodass keine Implantation des Stents durchgeführt werden konnte. Der mittlere Stenosegrad lag vor Intervention bei  $77 \pm 11\%$ , nach Stentimplantation bei  $14 \pm 15\%$  (Tabelle 1).

Drei Patienten erlitten periinterventionell einen Minor-Apoplex innerhalb von 24 Stunden mit kompletter restitutio ad integrum im Verlauf. 2 Patienten mit schwerer koronarer Herzerkrankung und mehreren Myokardinfarkten erlitten einen großen Schlaganfall. Beide Patienten verstarben im Beobachtungszeitraum.

Während der klinischen Nachbeobachtung von im Mittel 13.3 Monaten wurden 51 Patienten erneut angiographiert. Bei drei Patienten zeigten sich Restenosen über 50% nach 3, 5 bzw. 6 Monaten. Klinisch waren 81 Patienten neurologisch unauffällig (TIA, Schlaganfall). Fünf Patienten verstarben an den Folgen eines Myokardinfarktes nach ACVB-Operation (Tabelle 2).

**Tabelle 1: Patientendaten**

---

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Alter (Mittel in Jahren)</b>            | 64.7± 7.5 |
|  | n         |
| <b>Männer/Frauen</b>                       | 70/15     |
| <b>Kardiovaskuläre Risikofaktoren</b>      |           |
| Hypertonus                                 | 51        |
| Diabetes                                   | 27        |
| Raucher                                    | 36        |
| Hypercholesterinämie                       | 38        |
| Periphere arterielle Verschlusskrankheit   | 26        |
| Abdominelles Aortenaneurysma               | 1         |
| <b>Kardiale Anamnese</b>                   |           |
| Z.n. Myokardinfarkt/ACVB-Operation         | 31/13     |
| Aortenstenose                              | 3         |
| <b>CCS-Klassifikation</b>                  |           |
| III/IV                                     | 39        |
| <b>NYHA-Klassifikation</b>                 |           |
| III/IV                                     | 30        |
| <b>Koronare Herzerkrankung (Grad)</b>      |           |
| I/II                                       | 28        |
| III  | 49        |
| Hauptstammstenose                          | 8         |
| Vorgesehen für ACVB-Op. oder Klappenersatz | 57        |
| Vorgesehen für PTCA                        | 28        |
| <b>Arteria carotis-Stenosen (n = 89)</b>   |           |
| Symptomatisch                              | 19        |
| Major stroke                               | 1         |
| Transitorisch-ischämische Attacke          | 18        |
| Kontralateraler Arteria carotis-Verschluss | 11        |
| Bilaterale Stenosen                        | 12        |

---

**Tabelle 2: Prozedurale Parameter und klinischer Verlauf**

---

|   |   |         |
|---|---|---------|
| <b>Stenosen (n)</b>   |   | 89      |
|   | Stenosegrad vor Stenting                | 77±11%  |
|   | Stenosegrad nach Stenting               | 14±15%  |
|   | Minimaler Lumendiameter vor Stent (mm)  | 1.7±0.6 |
|   | Minimaler Lumendiameter nach Stent (mm) | 4.3±0.6 |
| <b>Stents (n)</b>   |   | 97      |
|   | Wall-Stent                              | 82      |
|   | Palmaz-Schatz                           | 2       |
|   | AVE-Stent                               | 2       |
|   | Sito-Stent                              | 3       |
|   | BeStent                                 | 8       |
| <b>Komplikationen nach Stenting (n)</b>                       |   |         |
| <b>Prozedurale Ereignisse</b>                                 |   |         |
|   | Plazierungsversager                     | 1       |
|   | Minor stroke                            | 3       |
|   | Major stroke                            | 2       |
| <b>Postprozedurale Ereignisse nach Entlassung</b>             |   |         |
|   | Tod                                     | 2       |
| <b>Postprozedurale Ereignisse (nach Entlassung - 30 Tage)</b> |   |         |
|   | Tod, Major oder Minor stroke, TIA       | 0       |
| <b>Komplikationen nach ACVB-Operation (n)</b>                 |   |         |
|   | Tod                                     | 5       |
|   | TIA                                     | 0       |
|   | Major oder Minor stroke                 | 0       |
| <b>Komplikationen nach PTCA (n)</b>                           |   |         |
|   | Myocardinfarkt                          | 0       |
|   | TIA, Major oder Minor stroke            | 0       |
| <b>Follow-up (n)</b>  |   |         |
|   | Restenose                               | 3       |
|   | Minor stroke                            | 0       |
|   | Stentdeformierung                       | 2       |

---

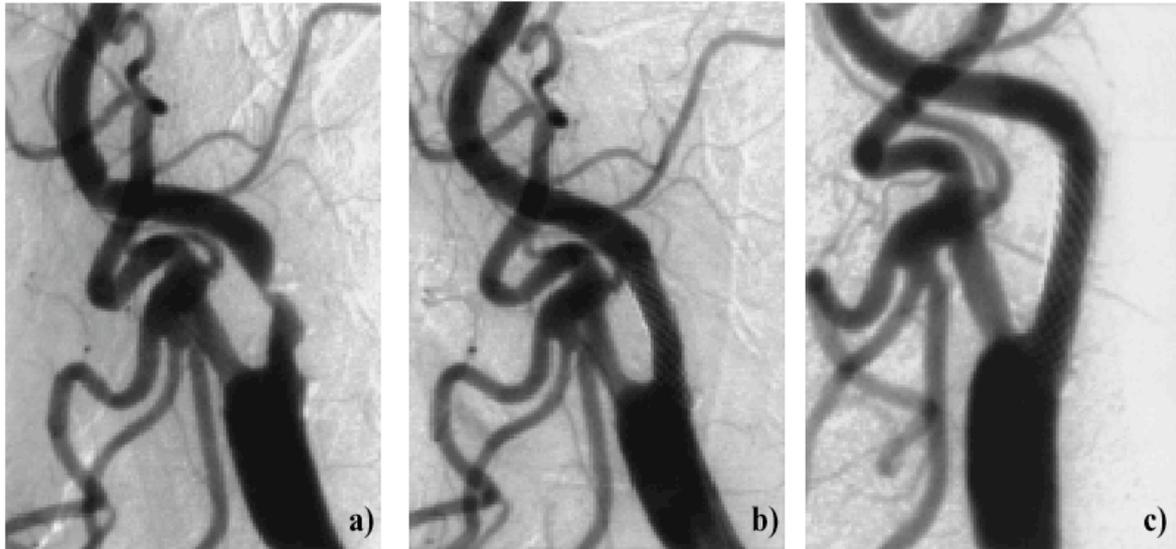


Abb. 19 Symptomatische proximale exzentrische Stenose der linken Arteria carotis interna (83%) eines 70 Jahre alten männlichen Patienten (Bild a) vor Intervention. Angiogramm nach Implantation eines 6 mm im Durchmesser, 20 mm langen Wall-Stents (Bild b). Reangiographie nach 6 Monaten ohne Anhalt für Restenose bei minimaler Intimahyperplasie im distalen Anteil des Stents (Bild c).

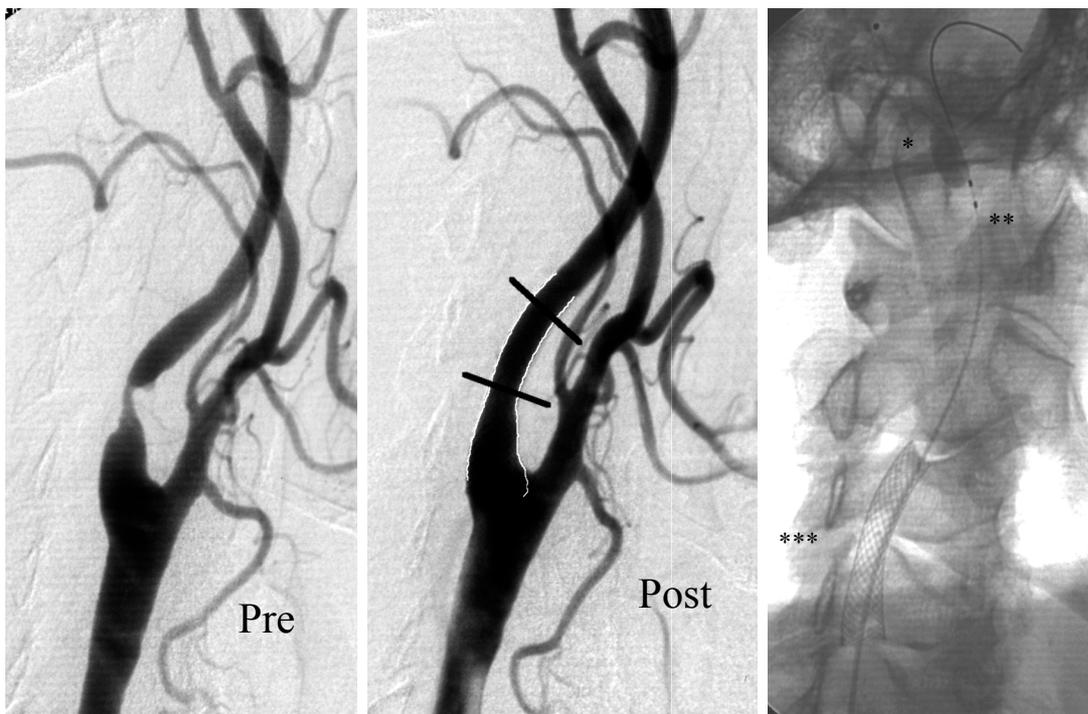


Abb. 20 Hochgradige exzentrische Stenose der Arteria carotis interna vor Intervention (links) und nach Intervention (Mitte). Rechts: Darstellung des selbstexpandierenden Stents<sup>(\*\*\*)</sup> mit dem distal liegenden Occlusionsballon (Embolieschutz)<sup>(\*)</sup> und dem Aspirationskatheter<sup>(\*\*)</sup>. Schwarze Balken markieren die Lage des intravasalen Ultraschallkatheters (Abb. 21).

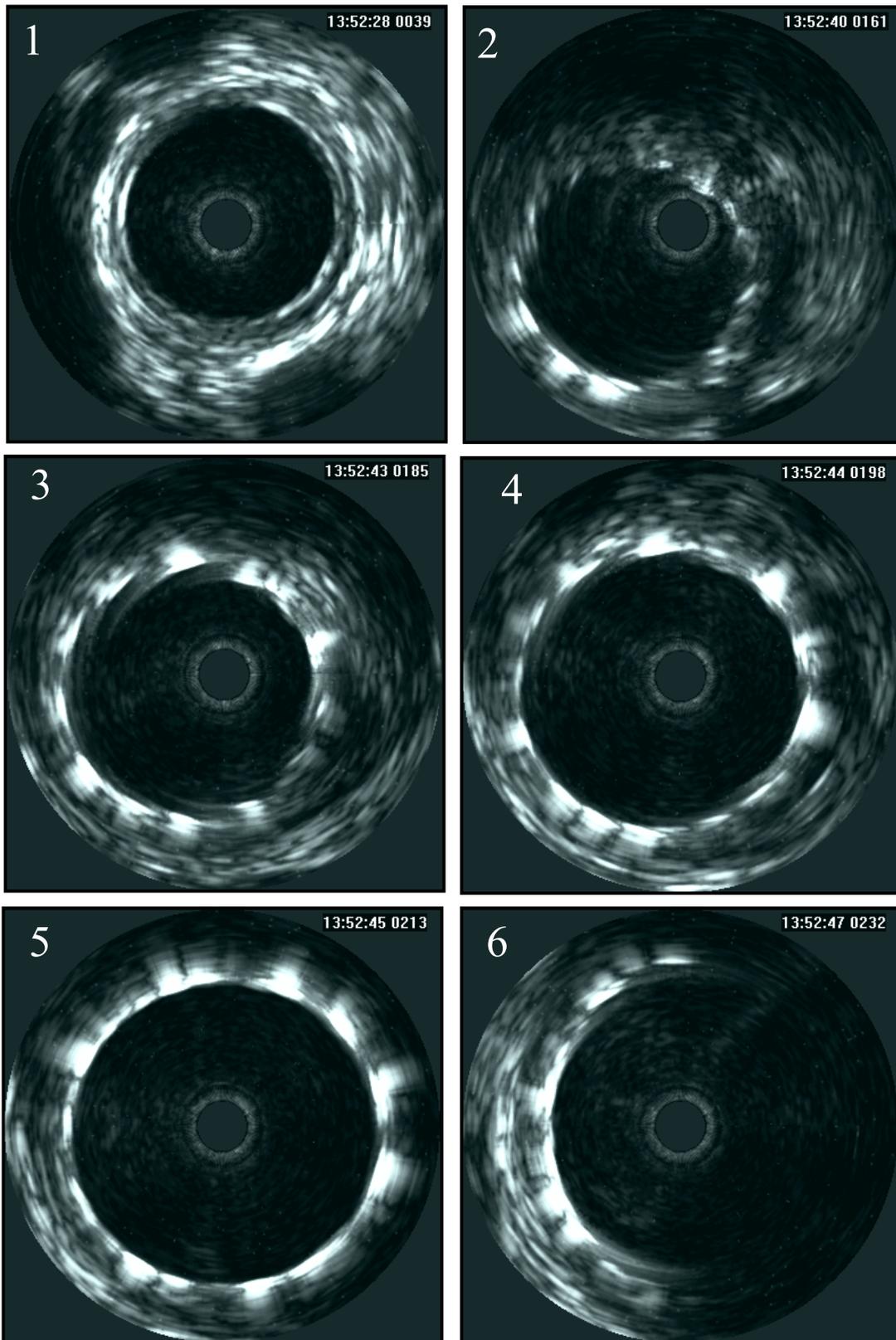


Abb. 21 Darstellung sechs unterschiedlicher Querschnittsbilder des intravasalen Ultraschalls nach Stentimplantation (Abb. 20). Lage 1-6 entspricht distaler bis proximaler Arteria carotis. Bild 3 und 4 distales Stentsegment, Bild 5 und 6 proximales Stentsegment. Gute Stentadaptation ohne Reststenose.

#### 4.4.4. Reprint Projekt P 8 und P9

- P8.** Waigand J, **Gross CM**, Uhlich F, Krämer J, Tamaschke C, Vogel P, Luft FC, Dietz R. Elective stenting of carotid artery stenosis in patients with severe coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998;19:1365-1370
- P9.** **Gross CM**, Krämer J, Uhlich F, Tamaschke C, Vogel P, Friedrich I, Dietz R, Waigand J. Treatment of carotid artery stenosis by elective stent placement instead of carotid endarterectomy in patients with severe coronary artery disease. *Thromb Haemost* 1999;1:176-80

#### **4.5. Projekt 10 bis 15 (P10, P11, P12, P13, P14, P15): Prävention und Therapie der Restenose und In-Stent-Restenose (ISR) in der interventionellen Therapie der koronaren Herzerkrankung**

##### **4.5.1. Einleitung**

Die Stentimplantation gehört seit Einführung durch Sigwart et al. mittlerweile zum anerkannten Armentarium in der interventionellen Kardiologie.<sup>(142)</sup> Nach anfänglicher Unsicherheit über den Stellenwert dieser Methode ist die verbesserte Akzeptanz, neben der Reduktion der subakuten Stentthrombose durch eine effektivere antithrombotische Begleittherapie, auf eine verbesserte Implantationstechnik und auf technische Verbesserungen des Stentmaterials zurückzuführen.<sup>(142-146)</sup> Die Stentimplantation war anfänglich auf wenige Indikationen beschränkt. Im Wesentlichen handelte es sich um drohende oder akute Gefäßverschlüsse nach Ballonangioplastie oder ausgedehnte Dissektionen mit Flusslimitierung, sog. „bail-out-Situationen“, die heute noch als anerkannte Indikationen gelten.<sup>(147-149)</sup> Darüber hinaus gelang in zwei großen, multizentrischen Studien der Nachweis sowohl einer Reduzierung der Restenoserate (32% vs. 42%, bzw. 22% vs. 32%, Stent vs. PTCA), als auch der Anzahl an klinischen Ereignissen in der mit Stent behandelten Gruppe im Vergleich zur konventionellen PTCA.<sup>(150-151)</sup> Diese Studien belegten, dass die Stentimplantation die prozentuale Häufigkeit der Restenose herabsetzen kann.

Ursächlich für diesen vorteilhaften Effekt durch die Stentimplantation scheint die effektive Unterdrückung zweier wesentlicher Mechanismen für die Restenoseentwicklung zu sein. Elastische Rückstellkräfte der Gefäßwand minimieren entscheidend den Erfolg einer Intervention nach konventioneller PTCA, werden aber wirkungsvoll durch die Stentimplantation aufgehoben.<sup>(152)</sup> Weiterhin werden Umbauvorgänge des Gefäßes, die alle Wandschichten betreffen und als arterielles Remodeling oder chronisches Recoil bezeichnet werden, ebenfalls durch die Stentimplantation verhindert.<sup>(153)</sup> Auf molekularer Ebene handelt es sich bei diesen Umbauvorgängen um Schrumpfungsvorgänge (shrinkage) sowie die Induktion des sog. programmierten Zelltodes (Apoptose).

Für die Behandlung des dritten und entscheidenden Entstehungsmechanismus der Restenose, der Intimahyperplasie, lagen bislang noch keine befriedigenden Konzepte vor. Trotz einiger vielversprechender therapeutischer Ansätze durch  $\beta$ - bzw.  $\gamma$ -emittierende Sonden (Brachytherapie), radioaktive Stents, Stentbeschichtung

mittels Polymer (Polymercoating) zur Verringerung des direkten Kontakts zwischen Metallstreben und Blut, die Substanzfreisetzung von beschichteten Stentoberflächen, z.B. mit Heparin, Hirudin, Thrombin-Inhibitoren, die systemische Vorbehandlung mit Probuocol vor PTCA, oder die gentechnische Veränderung von Endothel- oder glatten Gefäßmuskelzellen mittels Gentransfer brachten keine grundsätzliche Lösung des Problems.<sup>(146,154-157)</sup> Dies liegt nicht zuletzt daran, dass der Restenoseprozess in seiner gesamten Komplexität bislang immer noch zu wenig verstanden wird (Abb. 1).

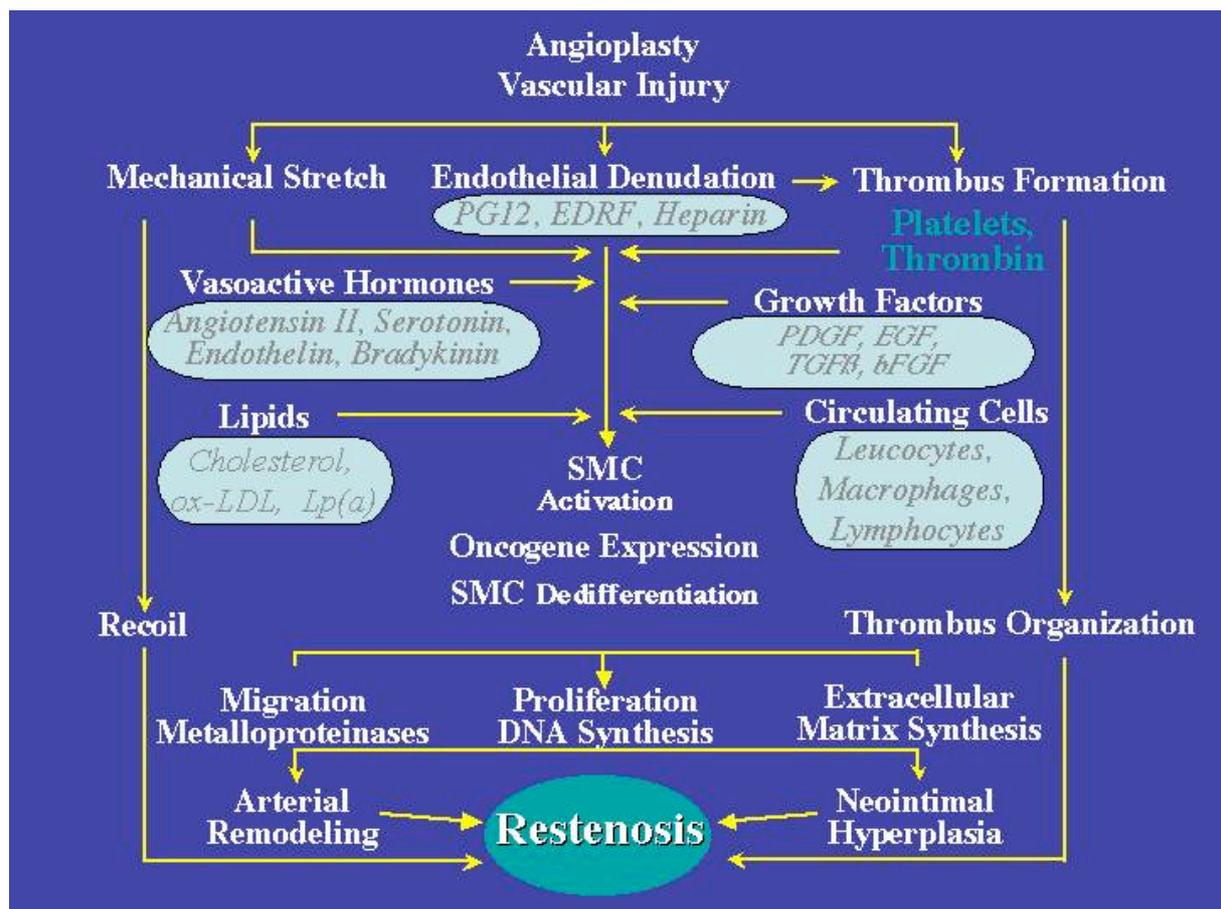


Abb. 22 Nach PTCA bzw. Stentimplantation und dem damit verbundenen „Gefäßschaden“ kommt es zur Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen und extrazellulärer Matrixbildung. Die neointimale Hyperplasia führt mit dem arteriellen Remodeling („elastische Rückstellkräfte“) zur Lumenobstruktion und damit zur Restenose.

Unter Berücksichtigung der zunehmenden Zahl der Stentimplantationen wird deshalb das Problem der Rezidivstenose eine bedeutsame Indikation in der interventionellen Kardiologie werden. Allein in der Bundesrepublik Deutschland wurden 2003 über 200.000 koronare Interventionen durchgeführt. In 80% d.F. wurde dabei eine

adjuvante Stentimplantation vorgenommen. Bei einer Rezidivstenoserate von ca. 30 bis 40% für nicht selektierte Patienten müssen Reinterventionskosten in einem Umfang von hunderten von Millionen Euro aufgebracht werden. Diese Zahlen verdeutlichen den gesundheitspolitischen Aspekt der Rezidivstenoserate in der Therapie der koronaren Herzerkrankung.

### ***Mechanismus der Restenose***

In-Stent-Restenosen resultieren im Wesentlichen aus neointimaler Proliferation, die uneinheitlich über das gesamte Stentsegment verteilt ist.<sup>(155)</sup> Ein chronisches Recoil, wie für die PTCA-Restenose (chronisches Recoil, pathologisches Remodeling) bekannt ist, wird bei der In-Stent-Restenose nicht beobachtet.<sup>(156)</sup> Ein wichtiger Unterschied zwischen der Restenose nach PTCA im Vergleich zu derjenigen nach Stent-Implantation besteht im sog. „compensatory enlargement“. Dieser von Glasgow beobachtete Prozess der Gefäßdilatation kann als Antwort der Gefäßwand auf eine wachsende Lumenreduktion durch Stenosematerial und damit als Mechanismus des Lumenerhaltes verstanden werden.<sup>(158)</sup> Diese Möglichkeit der kompensatorischen Antwort auf eine Lumenobstruktion bleibt den gestenteten Gefäßsegmenten verwehrt. Inwieweit dies eine Rolle für den Restenosemechanismus der In-Stent-Restenose spielt, ist bislang noch nicht geklärt. Untersuchungen mit der quantitativen Koronarangiographie (QCA) konnten zeigen, dass der zentrale Mechanismus der geringeren Restenoserate des Stents im Vergleich mit der PTCA ein größerer initialer Lumengewinn (acute gain) bei Vermeidung eines akuten Recoil ist. Der primäre Nettogewinn an Lumendiameter führt allerdings gleichzeitig zu einem im Vergleich viel größeren Langzeitverlust (late loss) als bei alleiniger Ballonangioplastie. Dieser überdimensionale initiale Diametergewinn determiniert letztendlich unter Berücksichtigung des späten Diameterverlustes den resultierenden Nettogewinn und damit die günstigere Restenoserate. In-Stent-Restenosen sind also durch einen deutlichen Materialzuwachs charakterisiert, und die intimale Hyperplasie ist dabei die hauptsächliche Determinante des späten Lumenverlustes. Da der initiale Diametergewinn an Lumen mit dem späten Lumenverlust korreliert, beeinflussen Stents direkt die Exaggeration der neointimalen Proliferation. Daraus folgt, dass der wesentliche limitierende Faktor des Stents die Initiierung der Gewebeproliferation im Stent und benachbart zum Stent darstellt.

Der Prozess der Restenose wird auf molekularer Ebene mechanistisch als eine in mehreren Phasen verlaufende spezielle Wundheilung verstanden. Dabei stellen glatte Gefäßmyozyten und eine azelluläre Matrix aus Kollagen und Proteoglykanen die Hauptkomponenten der Restenose dar.<sup>(159,160)</sup> Ohne initiales elastisches Recoil verlaufen die ersten Phasen der Restenoseentstehung im Stent vergleichbar zu denen der Ballonangioplastie. Auf die anfängliche Endothelverletzung folgt die Thrombusformation, die wiederum die Matrix für die Besiedelung mit inflammatorischen Zellen aus dem zirkulierenden Blut, aber auch aus den adventitiellen Vasa vasorum darstellt.<sup>(157,161)</sup> Im späteren Verlauf folgt die Migration und Proliferation von glatten Muskelzellen, sowie die Bildung von extrazellulärer Matrix.<sup>(162,163)</sup>

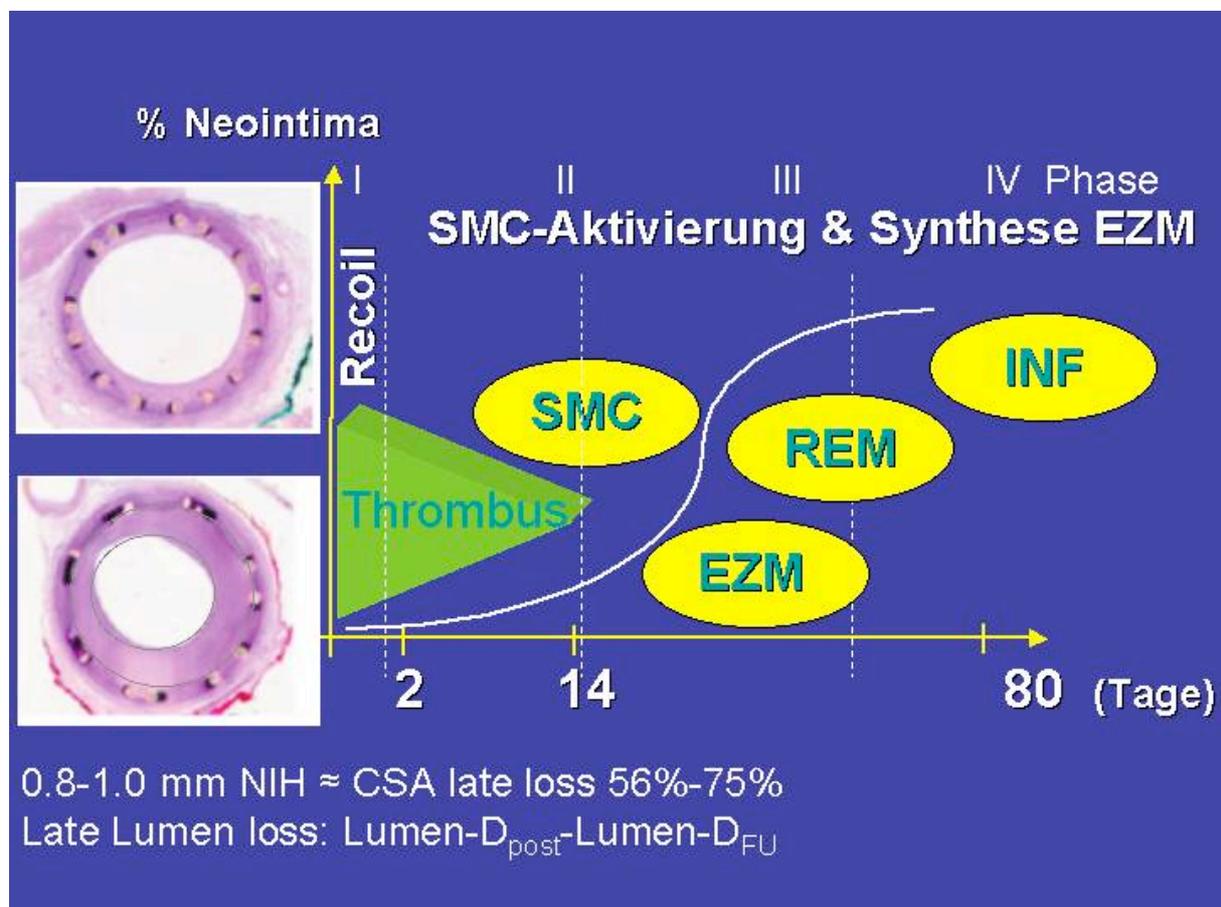


Abb. 23 Die Phasen der Restenose. Edelstahl-Stents führen zu einem Lumenverlust im Beobachtungszeitraum von 0.8-1.0 mm neointimaler Hyperplasie (NIH), resultierend in einem Lumenflächenverlust (CSA, Cross Sectional Area) von 56-75%.

## **Restenose im Stent**

Im Unterschied zur PTCA verursachen Stents eine fokale, kontrollierte, dabei tiefere Verletzung der Gefäßwand, ausgelöst durch die Stentmaschen (struts). Dieses skalpellartige Wandtrauma initiiert die drei bzw. vier Phasen der Gefäßreaktion: 1. Thrombusbildung, 2. Inflammation, 3. Proliferation und Migration von glatten Gefäßmuskelzellen. Anschließend kommt es zur Akkumulation von extrazellulärer Matrix sowie der Induktion von Apoptose und Bildung von oxidativem Stress.<sup>(164)</sup>

Die erste Phase beschreibt die Entstehung von Thromben durch Akkumulation von Thrombozyten, Fibrin und Erythrozyten.<sup>(165)</sup> Änderungen der periinterventionellen Medikation und Implantationstechnik konnten die Inzidenz der Stentthrombose auf unter 1 % senken.<sup>(166)</sup> Dennoch bleibt das grundsätzliche Problem der Thrombogenität bestehen. In den ersten Tagen nach Stentimplantation kommt es zur wandständigen Thrombenbildung mit der potentiellen Gefahr der kompletten Thrombose. Bei der Thrombozytenaggregation und -aktivierung spielt die Interaktion zwischen Fibrinogen und dem Thrombozytenrezeptor Glycoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) eine entscheidende Rolle. Nach Aktivierung der Thrombozyten kommt es zu einer verstärkten Bildung von Wachstumsfaktoren, Adhäsionsmolekülen (P-Selectin), Cytokinen und Chemokinen wie PDGF, TGF $\beta$ , Serotonin, Thromboxan A<sub>2</sub>, Histamin, Interleukin-6 und -8. Durch die gesteigerte Adhäsionsmolekül-Expression der Thrombozyten können Interaktionen mit zirkulierenden Leukozyten vermittelt werden. Auch die Freisetzung von Adhäsionsmolekülen via aktiviertem Endothel ist an der Rekrutierung von Leukozyten (Neutrophile, Monozyten) beteiligt. Dieser Prozess kann als initialer Schritt der Entzündungsreaktion (Phase II) verstanden werden.

Die Größe eines jeden Thrombus, der sich einer Stentstrebe anlagert, ist unter anderem abhängig von der Eindringtiefe der Strebe in die Gefäßwand. Dabei kann eine stärkere Verletzung eine ausgeprägtere Thromboseantwort generieren.<sup>(157,167,168)</sup> Anfänglich wurde die Thrombose als Hauptfaktor der vaskulären Folgereaktion (i.w. des Restenoseprozesses) auf die Stentimplantation verstanden. Es zeigte sich aber, dass die Prävention der Thrombose keinen relevanten Einfluss auf die Restenoserate hat.<sup>(169,170)</sup>

Im Anschluss an Phase I folgt die bereits oben erwähnte Entzündungsreaktion, die als Phase II bezeichnet werden kann. Monozyten der Lamina elastica interna zeigen eine floride Entzündungsreaktion. Dabei ist möglicherweise das Ausmass der

Entzündungsreaktion, repräsentiert durch die Anzahl der Leukozyten, entscheidender Faktor für das Ausmass der neointimalen Proliferation.<sup>(168)</sup> Hierbei spielen P-Selectin (ein Glycoprotein auf aktivierten Thrombozyten), das  $\beta$ 2-Integrin Mac-1 (CD11b/CD18), MCP-1 und IL-8 eine wichtige Rolle in der weiteren Rekrutierung von Leukozyten. Ab dem dritten Tag nach Stentimplantation sinkt die Zahl der an der Grenzfläche anhaftenden Leukozyten. Die Zahl der gewebeinfiltrierenden Monozyten erreicht nach einer Woche das Maximum.<sup>(168)</sup> Schließlich fusionieren ein Teil der Makrophagen in der Nachbarschaft der Stentstreben zu vielkernigen Riesenzellen, weitere Makrophagen sind später in der Neointima zu finden. Sie produzieren verschiedene Mediatoren, wie Interleukine,  $\text{TNF}\alpha$ , MCP-1 sowie PDGF und  $\beta$ FGF.<sup>(166)</sup> Neben dem Ausmaß der rekrutierten Leukozyten unterhalten Sauerstoffradikale die Entzündungsreaktion via Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-KB. Hierdurch können zellproliferative, apoptotische als auch antiapoptotische Gene aktiviert werden.

Die dritte Phase im Verlauf des Restenoseprozesses liegt zeitlich eng zusammen mit der Migration von Entzündungszellen von der Gefäßoberfläche in die Intima unter dem Einfluss von PDGF und  $\beta$ FGF.<sup>(166)</sup> Sieben Tage nach Stentimplantation beteiligen sich Makrophagen und glatte Gefäßmuskelzellen an der Zellproliferation und bilden die Grundlage der Intimahyperplasie.<sup>(166)</sup> Die Neointima entsteht hauptsächlich durch die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen und durch die Formation der extrazellulären Matrix, wiederum unter dem Einfluss von PDGF sowie  $\beta$ FGF.<sup>(171,172)</sup> Aber auch das körpereigene Angiotensin II ist im Restenoseprozess beteiligt. Aus Untersuchungen an Sprague-Dawley-Ratten (SD-Ratten) und spontan hypertensiven Ratten (SHR) ist bekannt, dass Kathetermanipulationen der abdominalen Aorta zu einer Hochregulierung des gewebebeständigen Angiotensin-Konversionsenzym (ACE) führen mit einer signifikanten Erhöhung der ACE-Konzentration in der Neointima, während die Serum-ACE-Konzentration unbeeinflusst bleibt.<sup>(173,174,175)</sup> Die Bildung des Angiotensin II und die Bindung an den AT1-Rezeptors führt zu einer Induktion von Migration und Proliferation der glatten Gefäßmuskelzellen nach Angioplastie in unterschiedlichen in vitro- und in vivo-Modellen und darüber hinaus zur Bildung von extrazellulärer Matrix, Kollagen I,III, IV und Fibronectin und bestätigt damit die Beteiligung des AT1-Rezeptors an der Pathogenese der InStent-Restenose.<sup>(176-178)</sup> Zudem kommt es zu Inflammationsprozessen und intrazellulärer Bildung von reaktiven

Sauerstoffmolekülen (ROS), wie dem Superoxidanion, das eine verstärkte Bildung von Adhäsionsmolekülen, Chemokinen, Interleukinen sowie der Aktivität der Stickstoffmonoxyd-Synthetase hervorruft.<sup>(179)</sup> Insgesamt trägt die Aktivierung des AT1-Rezeptors zur Entstehung der endothelialen Dysfunktion bei.<sup>(180)</sup> Auf der anderen Seite führt die Aktivierung des AT2-Rezeptors zur Proliferationshemmung und Apoptoseinduktion, Hemmung des vaskulären Remodelings in Mäusen, und ist darüber hinaus beteiligt an der Geweberegeneration.<sup>(181-185)</sup> Zudem konnten Kohno et al. einen migrations-inhibierenden Effekt durch den AT1-Rezeptorantagonisten Valsartan an glatten Koronarmuskelzellen zeigen.<sup>(186)</sup> Schlussfolgernd kann festgehalten werden, dass das Renin-Angiotensin-System an der Pathogenese der In-Stent-Restenose involviert ist.

Durch die Stentapplikation wird ein mechanischer, in Abhängigkeit vom Stentsystem z.T. permanenter Druck auf die Gefäßwand ausgeübt. Schwartz et al. konnten zeigen, dass das Ausmass der neointimalen Proliferation mit der Tiefe der Wandverletzung der Stentstruts und der Dicke der Struts korreliert.<sup>(157,187,188)</sup> Bekannt ist überdies hinaus, dass ein auf eine Gefäßwand ausgeübter Druck mit einer zellulären Reaktion derselben beantwortet wird.<sup>(189)</sup> Hinzu kommt, dass durch die Stentimplantation körperfremdes Material im Gefäßsystem verbleibt. Dies ist initial mit einer Adsorption von Plasmaproteinen verbunden. Das Ausmaß dieser Adsorption hängt von der Rauigkeit der Stentoberfläche und der Materialzusammensetzung des Stents ab. Insbesondere Albumin, Fibrinogen und Komplementfaktoren adsorbieren an die Oberfläche. Nach Aktivierung des Komplementsystems und Generation der C3-Konvertase erfolgt über inflammatorische Mediatoren eine Histaminfreisetzung aus Mastzellen und die Rekrutierung von neutrophilen Leukozyten (Neutrophile). Die Morphologie der behandelten Stenose (Plaquestruktur) moduliert dabei wie im oben beschriebenen Prozess.

Nach Endothelialisierung der entstandenen Thrombusformation kann im weiteren Verlauf neben der Entwicklung einer sog. späten Stentthrombose durch aktivierte inflammatorische Zellen, eine überschießende Gewebeantwort im Sinne einer hämodynamisch, klinisch relevanten Restenose entstehen. Hiermit ist der Restenoseprozess abgeschlossen. Alle genannten Faktoren werden bislang als unverzichtbare Einzelkomponenten im Restenoseprozess angesehen, die

Gewichtung jedes einzelnen Faktors für die Restenose ist aber nach wie vor nicht vollkommen geklärt.

### ***Aktivierung von Signalkaskaden und glatte Muskelzellen***

Zytokine und Wachstumsfaktoren aktivieren Proteinkinasen der glatten Gefäßmuskelzellen nach Dilatation. Durch die Abnahme der mitogen aktivierten Proteinkinase Phosphatase-1 (MAP-Kinase) kommt es zu einer gesteigerten Aktivität der MAP-Kinase-Aktivität mit Einfluss auf die Proliferation der glatten Gefäßmuskel. Darüber hinaus findet sich eine Zunahme der Expression der extrazellulären signal-regulierten Kinase-2 (ERK-2) und c-jun-N-terminale Kinase (JNK). Diese Kinasen sind für die vermehrte Expression von Protoonkogenen (c-phos, c-myb, c-jun) und des Aktivatorproteins (AP-1) mitverantwortlich und damit an der Initiierung und am Ausmaß der Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen beteiligt.

Nach Druckapplikation von 12 bis 16 bar im Rahmen einer Ballondehnung oder Stentimplantation von glatten Gefäßmuskelzellen können diese irreversibel geschädigt werden. Neben den oben beschriebenen zellulären Ereignissen kommt es zu einer Veränderung des Phänotyps der glatten Gefäßmuskelzellen vom kontraktilen zum synthetischen Typ. Verbunden hiermit ist eine Abnahme der intrazellulären Myofilamente, der Desmin- und Lemintinexpression und einer Zunahme der  $\beta$ -Aktinexpression. Gleichzeitig werden extrazelluläre Matrixbestandteile wie Kollagen, Camin und Elastin vermehrt freigesetzt. Die Steigerung der Matrixbildung führt zum Gefäßremodeling. Die Einwanderung von glatten Gefäßmuskelzellen von der Media in die Intima ist von sog. Matrixmetalloproteinasen (z.B. MMP-2, MMP-9) abhängig. Auch die vermehrte Matrixbildung trägt zur Lumenobstruktion gerade nach Stentimplantation bei.

### ***Prädiktive klinische Faktoren der Restenose***

In zahlreichen Untersuchungen wurde bislang nach prädiktiven klinischen Faktoren gesucht, um Risikopatienten für die Entwicklung einer Restenose nach Intervention zu identifizieren. Störungen im Fettstoffwechsel, einhergehend mit Hypertriglyceridämie, Hypercholesterinämie (Cholesterin, LDL-Cholesterin, erniedrigtem HDL-Cholesterin, Lipoprotein(a)) wurden in unterschiedlichen Untersuchungen mit z.T. kontroversen Ergebnissen mit einer erhöhten Restenose-Inzidenz in Verbindung gebracht.<sup>(190-194)</sup> Ein nachweisbarer Effekt durch eine

medikamentöse Beeinflussung innerhalb der durchgeführten Interventionsstudien blieb aber in den meisten Studien aus.<sup>(194-197,190)</sup> Die Einflüsse spezifischer Parameter des Gerinnungssystems werden und wurden ebenfalls mit unterschiedlicher Penetranz in Zusammenhang mit einer erhöhten Restenoseentwicklung gesehen.<sup>(198-200)</sup> Inkonstante Ergebnisse zeigten auch sog. klinische Basisfaktoren wie Geschlecht, Hypertonus, Alter oder persistierender Nikotinabusus.<sup>(201-205)</sup>

Ein eindeutiger Einfluss eines atherosklerotischen Risikofaktors auf die Restenoseentwicklung konnte bislang nur für den Diabetes mellitus nachgewiesen werden.<sup>(206)</sup>

### ***Angiographische und prozedurale Faktoren der Restenose***

In unterschiedlichen Untersuchungen konnte der Einfluss bestimmter anatomischer und interventioneller Parameter auf die Restenoseentwicklung aufgezeigt werden. Dabei ist neben der Stenosenlänge, der Stenosenlokalisierung (Bifurkationsstenosen, Stenose des proximalen Ramus interventrikularis anterior), und der Gefäßgröße (Referenz-Diameter <2.5 mm) auch die Stenosemorphologie (verkalkt, exzentrisch, etc.) von Bedeutung.<sup>(206-208)</sup> Auch die Progredienz einer Stenose zum kompletten Gefäßverschluss beeinflusst das Langzeitergebnis. Die Restenoserate liegt im Vergleich zur "einfachen" Stenose deutlich höher zwischen 40 und 75 % für die konventionelle PTCA, kann allerdings durch die Stentimplantation günstiger beeinflusst werden.<sup>(209-213)</sup> Schließlich können spezielle klinische Situationen (instabile Angina pectoris, akuter Myokardinfarkt), intra- und postprozedurale Faktoren wie beispielsweise Thrombusformation, Dissektionen nach PTCA, geringer postprozeduraler Lumengewinn, Komplikationen nach PTCA (sog. „bail-out-Situation“), Anzahl der implantierten Stents, aufgewandter Ballonimplantationsdruck oder die Indikationen der Intervention von Bypass-Stenosen, Behandlung von Rezidivstenosen, ebenfalls das Langzeitresultat determinieren.<sup>(214-224)</sup>

### ***Diagnose der In-Stent-Restenose***

Angiographisch wird in Übereinkunft mit unterschiedlichen internationalen Studien heutzutage die Rezidivstenose als eine Lumeneinengung von  $\geq 50$  % Diameterstenose nach 6 Monaten definiert. Da angiographische Restenosen sich

klinisch häufig asymptomatisch präsentieren, liegt die sog. klinische Restenoserate, die von der angiographischen differenziert werden sollte, häufig deutlich niedriger. Daraus folgt, dass die Frequenz der Reintervention abhängig ist von der zugrundeliegenden Restenosedefinition.<sup>(224)</sup>

Die quantitative angiographische Bestimmung der In-Stent-Restenose durch unterschiedliche Konturerkennungssysteme ( z.B. CAAS II, Pie Medical Inc.) kann in Abhängigkeit des implantierten Stentmaterials (Röntgendichte des Stents) bisweilen zu erheblichen Schwierigkeiten führen. Bei eingeschränkt sichtbaren Stahlstents kann eine Abgrenzung zwischen Gefäßlumen und Stenose und damit Bestimmung der neointimalen Proliferation mitunter nicht vorgenommen werden, sodass nur über eine intravasale Ultraschalluntersuchung der Grad der neointimalen Proliferation detektiert werden kann. Somit gelingt mit Hilfe des intravasalen Ultraschalls als, exaktester Methode zur Bestimmung der In-Stent-Restenoserate und die Quantifizierung der In-Stent-neointimalen Proliferation. Neben der Bestimmung des minimalen Lumendiameters und der Diameterstenose kann das Ausmass der neointimalen Proliferation erfasst werden.<sup>(226)</sup>

### ***Einfluss des Stentdesigns auf die Reduktion von Restenosen im Stent***

Ziel eines optimalen Stentdesigns ist eine möglichst homogene Verteilung der Stentstruts, möglichst ohne Gelenksegmente und mit einer geringen Rate an Kreuzungspunkten zwischen den einzelnen Stentstruts.<sup>(162)</sup> Durch ein homogenes Expansionsverhalten kann der Stent mit geringeren Implantationsdrücken appliziert werden. Wie bereits erwähnt, kann neben den oben angeführten Punkten auch durch eine Verringerung der Stentmasse, d.h. geringere Strutdicken, Einfluss auf den Restenoseprozess genommen werden.

Anfänglich bestanden die meisten Stents aus einer Kombination aus chirurgischem Stahl (Edelstahl 316 L nm) und anderen Materialien. Gezeigt werden konnte mittlerweile, dass die Stent-Oberflächenkonfiguration (Elektropolishing) und das Stent-Oberflächenmaterial Einfluss auf das vaskuläre Trauma und damit auf die zelluläre Reaktion bzw. Thrombogenität nehmen.<sup>(227)</sup> Untersuchungen an Stents haben gezeigt, dass Oberflächenmaterialien wie Platin oder Gold aufgrund ihrer höheren positiven Oberflächenladung im Tiermodell mit einer signifikant niedrigeren Restenoserate einhergehen, im Vergleich zu Stentbeschichtungen mit geringer positiver Ladung wie Kupfer.<sup>(227,228)</sup>

Eine weitere Beeinflussung zur Verringerung des Gefäßwandtraumas nach Stentimplantation besteht in der passiven Beschichtung von Stents. Damit lässt sich die Biokompatibilität der Stent-Oberflächen verbessern, und lokale zelluläre, plasmatische Reaktionen und allergen bedingte, inflammatorische Reaktionen (Nickel, Molybdän) können unterdrückt werden .

#### **4.6. Projekt 10 und 11 (P10 und P11): Der Einfluss der passiven Goldbeschichtung sowie eines unterschiedlichen Stentdesigns auf die neointimale Proliferation**

##### **4.6.1. Einleitung**

Wie bereits ausgeführt, handelt es sich bei der Restenose um einen auf molekularer Ebene sehr komplexen Prozess, der zeitlich in mehrere Phasen unterteilt werden kann. Eine Vielzahl von unterschiedlichen klinischen, angiographischen und prozeduralen Faktoren konnten als Prädiktoren der Restenose identifiziert werden. Im Unterschied hierzu wurde der Einfluss des Stentdesigns und des Stentmaterials auf den Restenoseprozess weniger untersucht.

In zwei klinischen, intravaskulären Ultraschallstudien wurde jeweils der Effekt des Stenttyps und des Stentmaterials auf die Reduktion der neointimalen Proliferation untersucht. Ziel der Studie war es, mit Hilfe des intrakoronaren Ultraschalls, als exaktester Methode zur Detektion der neointimalen Proliferation, die Restenosereaktion nach Implantation von koronaren Stents mit passiver Goldbeschichtung sowie Stents mit unterschiedlicher Bauart zu evaluieren.

##### **4.6.2. Methode**

Es handelte sich um eine multizentrische prospektive Studie an Patienten mit Indikation zur Intervention bei koronarer Herzerkrankung. Alle Patienten erhielten entweder einen Edelstahlstent (316 L nm) ohne, oder einen passiv beschichteten, mit einer 5 µm dicken Goldschicht beladenen Edelstahlstent (316 L nm). Beide Stenttypen waren hinsichtlich Geometrie, Strutdicke (0.07 mm Ø) oder Bauart (tubuläres Stentdesign [rautenförmige Maschen]) identisch.

Primärer Endpunkt der Studie war die quantitative Erfassung der In-Stent-neointimalen Proliferation nach 6 Monaten mittels intravaskulärem Ultraschall. Sekundäre Endpunkte waren der klinische Verlauf und die binäre Restenoserate.

Für die Evaluierung des Stentdesigns wurden in einer weiteren Studie sechs unterschiedliche Stenttypen untersucht. In einer konsekutiven Serie von insgesamt 311 Patienten wurde der Einfluss eines geschlossenen Ringdesigns (Multilink-Stent), mit einem multizellulären Stentdesign (NIR-Stent) bzw. einem rautenförmigen Maschendesign (tubulären Stentsystem, Inflow-Stent bzw. Palmaz-Schatz-Stent) verglichen. Zusätzlich wurde bei unterschiedlichem Stenttyp der Einfluss einer passiven Goldbeschichtung erfasst.

#### **4.6.3. Ergebnisse**

##### ***Der Einfluss der passiven Goldbeschichtung bei gleichem Stentdesign***

Jeweils 101 (unbeschichteter Stent) bzw. 103 (Goldstent) Patienten wurden in jede Gruppe eingeschlossen. In jeder Gruppe erlitt ein Patient einen Myokardinfarkt vor Entlassung, bei zwei Patienten mit einem unbeschichteten und drei Patienten mit einem Goldstent wurde ein Myokardinfarkt während des Beobachtungszeitraums diagnostiziert. Das ereignisfreie Überleben war statistisch somit in beiden Gruppen gleich. Bezogen auf den primären Endpunkt erwies sich der Goldstent dem unbeschichteten Stent unterlegen. Der Anteil der neointimalen Proliferation war mit  $47.3 \pm 24.8 \text{ mm}^3$  vs.  $40.9 \pm 22.6 \text{ mm}^3$  signifikant größer für den Goldstent. Auch der angiographische sekundäre Endpunkt der Restenoserate lag in der Goldstentgruppe mit 36% deutlich über dem Wert von 24% in der unbeschichteten Stentgruppe ( $p=0.13$ ), wenngleich das Signifikanzniveau nicht erreicht wurde. Einhergehend mit einer höheren Restenoserate wurden 28% der Patienten mit Goldstent erneut interveniert im Vergleich zu 18% der Patienten mit unbeschichtetem Stent.

Zusammenfassend zeigte sich, dass eine Goldbeschichtung eines koronaren Stents mit tubulärem Design mit einer Zunahme der Neointima im Stent assoziiert ist und somit keinen Vorteil für die Reduktion der neointimalen Proliferation nach Stentimplantation darstellt.

##### ***Der Einfluss des Stentdesigns und einer passiven Goldbeschichtung bei unterschiedlichem Stentdesign***

Die neointimale Proliferation, gemessen als mittlere Fläche im Stent, war mit  $1.8 \pm 1.1 \text{ mm}^2$  am geringsten für Stents mit geschlossenem Ringdesign im Vergleich zu tubulären oder multizellulären Stents ( $p < 0.001$ ). Dies galt auch für die mittlere neointimale Dicke im Stent mit  $0.20 \pm 0.13 \text{ mm}$  ( $p < 0.001$ ). Im Vergleich zwischen

einem multizellulären Design (NIR-Stent) und einem tubulären Design (Inflow- und Palmaz-Schatz-Stent) erwies sich das tubuläre Stentdesign des Palmaz-Schatz-Stents vorteilhafter als der bauartgleiche Inflow-Stent bzw. der multizelluläre NIR-Stent (neointimale Proliferation:  $2.6 \pm 1.5 \text{ mm}^2$  vs.  $3.1 \pm 1.2 \text{ mm}^2$  vs.  $2.9 \pm 0.7$  Palmaz-Schatz- vs. Inflow- vs. NIR-Stent; neointimale Dicke:  $0.26 \pm 0.19 \text{ mm}$  vs.  $0.36 \pm 0.13$  vs.  $0.31 \pm 0.07 \text{ mm}$  Palmaz-Schatz- vs. Inflow- vs. NIR-Stent).

Der Vergleich der Goldbeschichtung für unterschiedliche Stentdesigns zeigte für die Beschichtung keinen Vorteil. Die mittlere neointimale Fläche im Stent lag bei  $3.6 \pm 1.3 \text{ mm}^2$  für die Beschichtung bzw. bei  $3.1 \pm 1.1 \text{ mm}^2$  für Edelstahl ( $p < 0.006$ ). Die Goldbeschichtung war ebenfalls mit einer Zunahme der neointimalen Dicke um 20% für das tubuläre Stentdesign bzw. 13% für das zelluläre Stentdesign im Vergleich ohne passive Beschichtung vergesellschaftet ( $0.42 \pm 0.14 \text{ mm}$  vs.  $0.35 \pm 0.13 \text{ mm}$  Gold vs. Edelstahl für beide Stenttypen,  $p = 0.002$ ).

Die neointimale Proliferation korrelierte mit dem Diabetes mellitus und mit der Stentbeschichtung. In der multivariaten Analyse erwiesen sich das zelluläre und tubuläre Stentdesign, sowie die Goldbeschichtung als unabhängige Risikofaktoren für die neointimale Proliferation  $> 0.3 \text{ mm}$ .

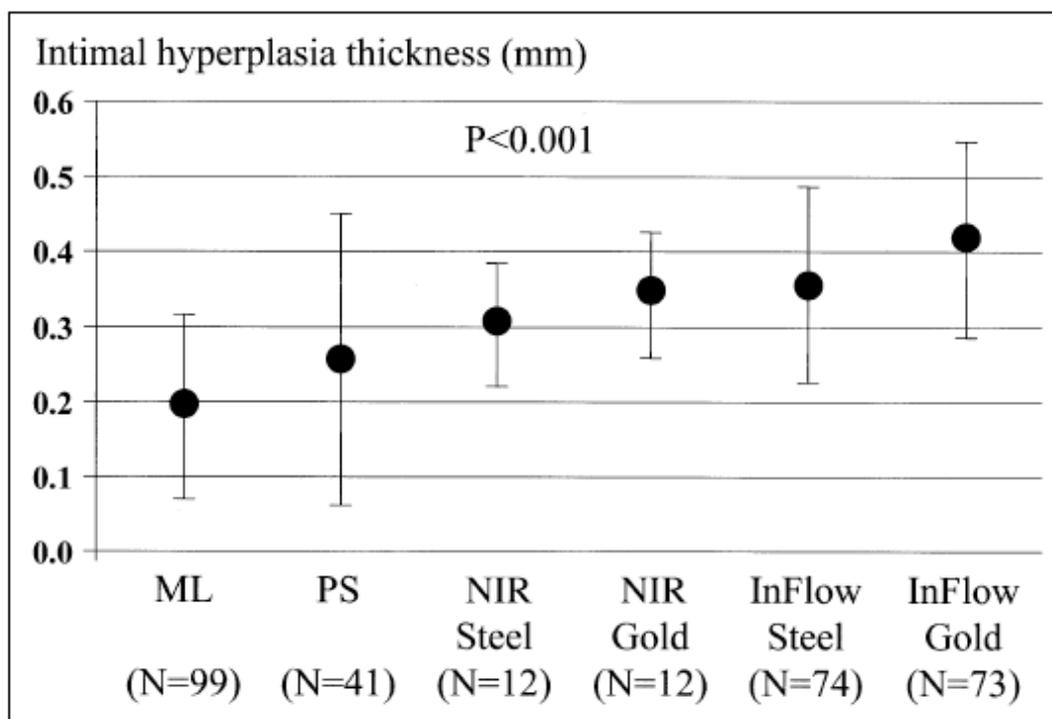


Abb. 24 Mittlere ( $\pm$ SD) neointimale Hyperplasie Dicke (mm) für unterschiedliche Stenttypen und Stentbeschichtungen.

#### **4.6.4. Reprint P10 und P11**

- P10.** Hoffmann R, Mintz GS, Haager PK, Bozoglu T, Grube E, **Gross CM**, Beythien C, Mudra H, vom Dahl J, Hanrath P. Relation of Stent Design and Stent Surface Material to Subsequent in-Stent Intimal Hyperplasia in Coronary Arteries Determined by Intravascular Ultrasound. *Am J Cardiol* 2002;89:1360-1364
- P11.** vom Dahl J, Haager PK, Grube E, **Gross CM**, Beythien C, Kromer EK, Cattelans N, Hamm CW., Hoffmann R, Reineke T, Klues HG. Effects of Gold Coating of Coronary Stents on Neointimal Proliferation Following Stent Implantation. *Am J Cardiol* 2002;89:801-805

## **4.7. Projekt 12 und 13 (P12 und P13): Der Einfluss der Entzündungsreaktion am Beispiel des Toll-like-Rezeptor (TLR)-9-Promotorpolymorphismus sowie des E-Selectin (Ser)-128-Arg-Genpolymorphismus auf den Restenoseprozess**

### **4.7.1. Einleitung**

In den letzten Jahren haben sich vermehrt Hinweise ergeben, dass die Entwicklung und der Verlauf der Atherosklerose durch eine generalisierte inflammatorische Immunantwort beeinflusst werden. Gestützt wurde diese These nicht zuletzt durch einen Anstieg inflammatorischer Markerproteine, die bei Patienten mit generalisierter Atherosklerose gefunden wurden, bzw. durch den Nachweis unterschiedlicher Entzündungszellen in der atherosklerotischen Plaque.<sup>(229)</sup> Darüber hinaus gelang unlängst der Nachweis einer bakteriellen Infektion als Ursache einer unterhaltenen Entzündungsreaktion bei Patienten mit zerebraler bzw. peripherer Atherosklerose.<sup>(230)</sup> Die Initiierung der Entzündungsreaktion nach einer bakteriellen Infektion wird über die Familie der sog. Toll-like-Rezeptoren (TLRs) vermittelt. Dabei werden die unterschiedlichen Subtypen dieses Rezeptors von einer Vielzahl von Bakterien aktiviert.<sup>(230)</sup>

Vermehrte Aufmerksamkeit wird der Detektion von Genpolymorphismen in letzter Zeit gewidmet, da eine Assoziation in der Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen vermutet wird. So konnte aus der Toll-like-Rezeptorfamilie für den TLR-2-Rezeptor ein Polymorphismus (Arg753Gln) gefunden werden, der mit einem erhöhten Restenoserisiko nach PTCA in Verbindung gebracht werden kann.<sup>(231)</sup> Bakterielle und virale DNA können Entzündungszellen über den TLR-9-Rezeptor aktivieren, der von dendritischen Zellen oder Makrophagen exprimiert wird.<sup>(232)</sup> Beide Zelltypen werden in der atherosklerotischen Plaque gefunden. Für den TLR-9-Rezeptor sind bislang 2 Polymorphismen bekannt (T-1486C und T-1237C), wobei letzterer mit einer Zunahme des Asthmarisikos assoziiert ist.<sup>(233)</sup> Die Analyse der beiden Polymorphismen hat gezeigt, dass zwei zusätzliche Bindungsstellen für die Transkriptionsfaktoren SP-1 und NF- $\kappa$ B generiert werden durch den Austausch der beiden T/C-Allele.

Adhäsionsmoleküle, wie z.B. das E-Selektin spielen eine bedeutende Rolle in der Interaktion zwischen Leukozyten, Endothelzellen und Thrombozyten und sind deshalb an der Vermittlung inflammatorischer Prozesse beteiligt. Eine vermehrte Expression von E-Selektin in aktivierten Endothelzellen ist gefolgt von einer

systemischen Freisetzung von löslichem E-Selektin (sES).<sup>(234)</sup> Erhöhte E-Selektin-Konzentrationen wurden sowohl bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt oder Patienten mit PAVK und Restenose nach peripherer Angioplastie gefunden.<sup>(235,236)</sup> Letzteres weist daraufhin, dass auch Adhäsionsmoleküle eine Rolle im Restenoseprozess spielen könnten.

Auch für das E-Selektin ist ein Polymorphismus im Kodon 128 der epidermal growth factor-like domain, hervorgerufen durch die Substitution von Adenin durch Cytosin der cDNA in Position 561, verbunden mit dem Austausch der Aminosäure Serin (Ser) mit Arginin (Arg), bekannt. Eine Assoziation der 128-Arg-Allele mit der Atherosklerose junger Patienten konnte zwischenzeitlich belegt werden.<sup>(237)</sup>

Um den Einfluss des TLR-9-Polymorphismus sowie des E-Selektin-128-Arg-Polymorphismus auf die Restenoserate zu überprüfen, wurden zwei Assoziationsstudien durchgeführt. Ziel der Untersuchung war, den Effekt der Entzündungsreaktion auf die Restenoserate nach perkutaner koronarer Intervention zu evaluieren.

#### **4.7.2. Methode**

Insgesamt wurden für die TLR-9-Polymorphismusstudie 202 Patienten mit symptomatischer koronarer Herzerkrankung und Indikation zur PTCA eingeschlossen. Gegenübergestellt wurde eine Gruppe von 182 Patienten ebenfalls mit relevanter KHK, wobei letztere Patienten eine Stentimplantation hatten (Validierungsgruppe). Als Kontrollgruppe wurden in Geschlecht und Alter vergleichbare gesunde Probanden gegenüber gestellt (188 Patienten).

Die E-Selektin-Polymorphismus-Population beinhaltete 101 Patienten (Ausgangsstudie) bzw. 92 Patienten (Validierungsstudie) mit relevanter KHK und Indikation zur PTCA. Restenose wurde in beiden Studien als eine angiographische  $\geq 50\%$  Durchmesserstenose definiert.

#### **4.7.3. Ergebnisse**

Die C-Allelfrequenz verteilte sich in allen Gruppen gleich, ohne signifikante Unterschiede (T-1237C: 13.8% vs. 16.5% vs. 12.2 %, Ausgangs- vs. Validierungs- vs. Kontrollgruppe, bzw. für T-1486C 41.6% vs. 39.3% vs. 44.4%;  $p=0.43$  bzw.  $p=0.17$ ). Für die Restenoserate ergab sich ebenfalls kein Unterschied in den Gruppen. Weder das T-1237C-Allel noch der T-1486C-Polymorphismus war mit der

Restenoserate im Stent bzw. nach PTCA assoziiert; dies ließ sich in der multivarianten Analyse bestätigen (Tabelle I). Das Risikoprofil und der Schweregrad der KHK hatten keinen Einfluss auf das Ergebnis.

| SNP                 | Genotype |    |    | Total | Allele frequency<br>C | p-value |
|---------------------|----------|----|----|-------|-----------------------|---------|
|                     | TT       | TC | CC |       |                       |         |
| A. Derivation group |          |    |    |       |                       |         |
| TLR-9 (T-1237C)     |          |    |    |       |                       |         |
| No restenosis       | 79       | 21 | 2  | 102   | 12.3%                 | 0.39    |
| Restenosis          | 72       | 25 | 3  | 100   | 15.5%                 |         |
| TLR-9 (T-1486C)     |          |    |    |       |                       |         |
| No restenosis       | 39       | 49 | 14 | 102   | 37.7%                 | 0.11    |
| Restenosis          | 35       | 39 | 26 | 100   | 45.5%                 |         |
| B. Validation group |          |    |    |       |                       |         |
| TLR-9 (T-1237C)     |          |    |    |       |                       |         |
| No restenosis       | 86       | 42 | 3  | 131   | 18.3%                 | 0.16    |
| Restenosis          | 40       | 10 | 1  | 51    | 11.8%                 |         |
| TLR-9 (T-1486C)     |          |    |    |       |                       |         |
| No restenosis       | 55       | 55 | 21 | 131   | 37.0%                 | 0.19    |
| Restenosis          | 17       | 22 | 12 | 51    | 45.1%                 |         |

Tabelle 3: Verteilung des TLR-9T-1237C und des T-1486C-Promotorpolymorphismus bei Patienten mit bzw. ohne Restenose.

Die Ergebnisse der E-Selektinstudie zeigten, bezogen auf die Verteilung der Allelfrequenz, keinen Unterschied zwischen der Ausgangsgruppe bzw. der Validierungsgruppe. In beiden Gruppen lag die 128-Arg-Allel-Häufigkeit bei 10.4% bzw. 11.9% und war damit statistisch nicht unterschiedlich ( $p=0.48$ ). Es zeigte sich ebenfalls in beiden Gruppen keine gehäufte Assoziation des 128-Arg-Allele für Patienten mit Myokardinfarkt oder Schweregrad der KHK.

Für Patienten mit Restenose fand sich eine signifikante Häufung für das E-Selektin-128-Arg-Allel sowohl in der Ausgangs-, als auch in der Validierungsstudie ( $p=0.027$  bzw.  $0.031$ ). Die Häufigkeit der Restenose war verbunden mit einer 2.8 bzw. 2.4 fachen Zunahme der 128-Arg-Allelfrequenz (Ausgangsgruppe bzw. Validierungsgruppe). Neben dieser absoluten Zunahme, waren Patienten mit Restenose signifikant häufiger Träger des 128-Arg-Allels ( $p=0.019$  bzw.  $0.048$ ). In der logistischen Regressionsanalyse und in der multivarianten Analyse konnte das Vorhandensein des 128-Arg-Allels als Restenoseprädiktor identifiziert werden (OR

3.5, 95% CI 1.18 bis 10.58, p=0.024, bzw. OR 2.9, 95% CI 1.04 bis 8.06, p=0.041 für die Validierungsgruppe).

| E-Selectin polymorphism        | Restenosis    | No restenosis | p-Value |
|--------------------------------|---------------|---------------|---------|
| <i>Derivation study</i>        | <i>n=54</i>   | <i>n=47</i>   |         |
| Alleles— <i>n</i> /total (%)   |               |               |         |
| Serine (Ser)                   | 92/108 (85.2) | 89/94 (94.7)  | 0.027   |
| Arginine (Arg)                 | 16/108 (14.8) | 5/94 (5.3)    |         |
| Genotypes— <i>n</i> /total (%) |               |               |         |
| Serine/serine (Ser/Ser)        | 38/54 (70.4)  | 42/47 (89.4)  |         |
| Serine/arginine (Ser/Arg)      | 16/54 (29.6)  | 5/47 (10.6)   | 0.019\$ |
| Arginine/arginine (Arg/Arg)    | 0/54          | 0/47          |         |
| <i>Validation study</i>        | <i>n=43</i>   | <i>n=49</i>   |         |
| Alleles— <i>n</i> /total (%)   |               |               |         |
| Serine (Ser)                   | 71/86 (82.6)  | 91/98 (92.9)0 | 0.040   |
| Arginine (Arg)                 | 15/86 (17.4)  | 7/98 (7.1)    |         |
| Genotypes— <i>n</i> /total (%) |               |               |         |
| Serine/serine (Ser/Ser)        | 29/43 (67.5)  | 42/49 (85.7)  | 0.048\$ |
| Serine/arginine (Ser/Arg)      | 13/43 (30.2)  | 7/49 (14.3)   |         |
| Arginine/arginine (Arg/Arg)    | 1/43 (2.3)    | 0/49          |         |

Tabelle 4: E-Selektin-Ser-128-Arg-Polymorphismus in Abhängigkeit der Restenose (Ser/Ser vs. Ser/Arg+Arg/Arg, dominant für Arginin).

#### 4.7.4. Reprint P12 und P13

- P12.** Rauchhaus M, **Gross CM**, Schulz S, Francis DP, Greiser P, Norwig A, Weidhase L, Coats AJ, Dietz R, Anker SD, Glaser C. The E-Selectin Ser128ARG-gene polymorphism and restenosis after successful coronary angioplasty. *Int J Cardiol* 2002;83:249-257
- P13.** Hamann L, Glaeser C, Hamprecht A, **Gross CM**, Abuzeid G, Schumann RR. Toll-like Rezeptor (TLR-9) promotor polymorphisms and atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta* (in press)

## **4.8. Projekt P14 (P14): Der Einfluss der Proliferation und Migration am Beispiel des Intron-6-G/T-c-myb-Polymorphismus auf die In-Stent-Restenose**

### **4.8.1 Einleitung**

Die Implantation eines koronaren Stents geht zwangsläufig mit einer fokalen, kontrollierten Verletzung der Gefäßwand einher. Die damit verbundene Endotheldenudation stellt einen starken Stimulus für die Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen dar.<sup>(238)</sup> Ein maßgebliches Gen, welches an der Regulation der vaskulären glatten Gefäßmuskelzellen (VSMC) entscheidend beteiligt ist, ist das c-myb-Gen. Entwicklungsgeschichtlich handelt es sich bei dem c-myb-Gen um einen Transkriptionsfaktor, der in der Hämatopoese eine entscheidende Rolle spielt, in dem er embryonale Zellen in einem undifferenzierten proliferativen Stadium halten kann. Damit kommt c-myb eine bedeutende Rolle in der Erythropoese zu. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass der Eintritt sog. ruhender VSMC in den Zellzyklus mit nachfolgender Zellproliferation von einer deutlichen Expression der c-myb-RNA begleitet ist, Ausdruck der Beteiligung dieses Transkriptionsfaktors an der Proliferation von VSMC. Dies bestätigte sich in weiteren Experimenten mit Antisense-Oligonucleotiden zur Reduktion der c-myb-Expression, wodurch gezeigt werden konnte, dass es zu einer Reduktion der neointimalen Proliferation im Tierexperiment kommt.<sup>(239)</sup> Diese Ergebnisse liessen sich reproduzieren durch den Einsatz von adenoviralem Gentransfer eines Ribozyms gegen c-myb mit deutlicher Hemmung der Zellproliferation und der neointimalen Formation.<sup>(240)</sup>

Unlängst gelang die Beschreibung eines Polymorphismus im c-myb-Gen, der assoziiert ist mit der Entwicklung der Atherosklerose und der zellulären Lipidakkumulation.<sup>(241,242,Praus et al. submitted)</sup> In einer Untersuchung wurde deshalb überprüft, inwieweit eine Beteiligung dieses genetischen Polymorphismus an der In-Stent-Restenoseentwicklung ausgemacht werden kann.

### **4.8.2. Methode**

502 Patienten mit symptomatischer koronarer Herzerkrankung und Indikation zur Stentimplantation wurden konsekutiv in die Studie eingeschlossen. Der Beobachtungszeitraum umfasste 6 Monate nach erfolgreicher Stentimplantation. Bei 485 Patienten wurde eine Rekoronarangiographie am Ende der Studie durchgeführt. Primärer Endpunkt der Studie war die angiographische binäre Restenoserate. Der

späte Lumenverlust (late loss) und der minimale Lumendiameter nach 6 Monaten waren sekundäre Studienparameter. Die Restenoserate war definiert als Diameterstenose  $\geq 50\%$  nach 6 Monaten.

#### **4.8.3. Ergebnisse**

Die Verteilung des Intron-6-G/T-Polymorphismus ergab bei 29.7% ein TT-Allel, 51.1% wiesen ein G/T-Polymorphismus auf, und 19.2% waren homozygot für GG und entsprachen damit dem Hardy-Weinberg-Gesetz. Die Patienten unterschieden sich nicht hinsichtlich Geschlecht bzw. klassischer atherosklerotischer Risikofaktoren. Auffällig war, dass der Anteil der Patienten mit einem stattgehabten Myokardinfarkt signifikant häufiger G-Allel-Träger waren im Vergleich zu den homozygoten T-Allel-Patienten. Bezogen auf die angiographischen primären und sekundären Endpunkte zeigte sich für den late loss (später Lumenverlust) und den minimalen Lumendiameter im Beobachtungszeitraum kein statistischer Unterschied für die Allelfrequenz. Dies galt auch für die binäre Restenoserate nach 6 Monaten. Sie lag bei 20.8% für die TT-Patienten, 27.8% für GT- und 26.9% für Patienten, die homozygot für das G-Allel waren, wodurch sich ebenfalls keine statistische Signifikanz ergab. Eine Beteiligung des c-myb-Polymorphismus im Intron-6-G/T auf die Entwicklung bzw. das Ausmaß der Restenose im Stent ließ sich damit nicht bestätigen.

#### **4.8.4. Reprint P14**

- P14. Gross CM, Krämer J, Pfeuffer A, Dietz R, Geßner R, Praus M. The Intron 6 G/T Polymorphism of C-Myb and the Risk for In-Stent Restenosis in Human Coronary Artery Disease. Basic Res Cardiol 2004;99:309-314**

## **4.9. Behandlung der In-Stent-Restenose in Koronararterien mit kleinem Gefäßdurchmesser: Klinischer Verlauf und angiographische Langzeitergebnisse**

### **4.9.1. Einleitung**

Die In-Stent-Restenose stellt den limitierenden Faktor der interventionellen Therapie dar. Mit einem Anteil von 20-30% in selektierten und weit über 30 % in unselektierten Patienten bildet die Restenose im Stent die Achillesferse der perkutanen transluminalen koronaren Angioplastie.<sup>(150,151)</sup> Neben morphologischen und patientenindividuellen Risikofaktoren für die Entwicklung einer Restenose muss die Gefäßgröße ebenfalls als ein entscheidender Faktor angesehen werden.<sup>(243)</sup> Durch die inverse Korrelation zwischen Gefäßdiameter und Restenoserate kamen Zweifel auf, ob für kleinere Koronargefäße die primäre Stentimplantation einer konventionellen Ballonangioplastie überlegen ist.

Die erneute Nachdilatation (Re-PTCA) ist bislang die interventionelle Therapie der Wahl der Restenose im Stent, obwohl sie mit einer hohen Rezidivrate von 22% bis 75% verbunden ist. Bislang wurden die meisten Erfahrungen der Re-PTCA in Koronararterien mit großem Gefäßdurchmesser gesammelt. In einer klinischen Untersuchung wurde deshalb die Effektivität der Redilatation der In-Stent-Restenose für Koronargefäße mit kleinem Gefäßdurchmesser angiographisch und klinisch überprüft.

### **4.9.2. Methode**

Eingeschlossen wurden von 1996 bis 1998 179 Patienten mit Stentimplantation in Koronargefäßen mit einem Gefäßdurchmesser  $\leq 2.85$  mm. Bei 73 Patienten lag eine relevante (typische Angina pectoris oder stumme Ischämie) In-Stent-Restenose vor (n=79). Bevorzugt wurde die In-Stent-Restenose mittels Re-PTCA behandelt. Bei einigen Patienten wurde die Excimer-Laserangioplastie als atheroablatives Verfahren eingesetzt. Bei einem suboptimalen Ergebnis der Re-PTCA wurde zusätzlich eine Stentimplantation durchgeführt. Der technische Erfolg der Reintervention war definiert als residuale Reststenose  $< 30\%$ . Klinisch wurde die Komplikationsrate des Reeingriffes dokumentiert. Definitionsgemäß handelte es sich um eine erneute Restenose, wenn angiographisch eine Diameterreduktion von  $\geq 50\%$  vorlag. Als diffuse Restenosemorphologie wurden In-Stent-Restenoseläsionen  $> 10$  mm Länge klassifiziert.

### 4.9.3. Ergebnisse

Im Mittel wurde 2.7 Monate nach initialer Stentimplantation eine Reintervention durchgeführt. In 39% d.F. lag eine diffuse In-Stent-Restenose vor, 48% der Patienten wiesen eine fokale Restenose auf, und 13% hatten einen Verschluss des behandelten Koronargefäßes. Die Reinterventionsstrategie beinhaltete in 47% d.F. eine konventionelle Nachdilatation (Re-PTCA). Bei einigen Patienten wurde die Excimer-Laserangioplastie (ELCA) als atheroablatives Verfahren bzw. eine erneute Stentimplantation (Stent in Stent) durchgeführt (25% bzw. 24%). 4% der Patienten erhielten ein Hybridverfahren (ELCA mit Stentimplantation).

Die Re-Interventionen konnten mit hohem technischen Erfolg und sicher durchgeführt werden. Klinisch kam es zu einer signifikanten Reduktion der schweren Angina pectoris-Symptomatik (CCS III-IV) von 33% auf 22% ( $p=0.02$ ), wobei 79% der Patienten nur bei extremer Belastung symptomatisch wurden.

Die Restenoserate nach Reintervention lag bei 57% ( $n=45$ ). Die Restenoserate differierte hinsichtlich der eingesetzten Reinterventionsstrategie. Dabei lag die erneute Restenoserate nach ELCA bei 78% im Vergleich zur konventionellen Nachbehandlung durch Re-PTCA bzw. erneute Stentimplantation (49% vs. 47%  $p<0.05$ ). Die erneute Stentimplantation erzielte im Unterschied zur Re-PTCA oder ELCA die größte Lumenzunahme (acute gain: 1.43 mm vs. 1.3 mm vs. 1.1 mm,  $p<0.05$ ). Dieser Vorteil wurde allerdings relativiert durch eine ausgeprägtere Lumenabnahme (late loss) im Beobachtungszeitraum, die für die Stentimplantation am größten ausfiel (0.93 mm im Vergleich zur ELCA mit 0.6 mm).

Weder angiographische, klinische noch prozedurale Faktoren beeinflussten die Häufigkeit der angiographischen Restenose. Auch das Stentdesign war ohne Auswirkung auf die binäre Restenoserate (Tabelle 5).

|   | <i>No<br/>restenosis</i> | <i>Restenosis</i> | <i>p Value</i> |
|---|--------------------------|-------------------|----------------|
| <i>Per patient</i>                      |                          |                   |                |
| Age                                     |                          |                   | NS             |
| ≤ 65 years                              | 18 (60)                  | 25 (58)           |                |
| > 65 years                              | 12 (40)                  | 18 (42)           |                |
| Men                                     | 25 (83)                  | 37 (86)           | NS             |
| Hypertension                            | 20 (67)                  | 29 (67)           | NS             |
| Peripheral arterial disease             | 3 (10)                   | 7 (16)            | NS             |
| Diabetes mellitus                       | 6 (20)                   | 15 (35)           | NS             |
| Hypercholesterolaemia                   | 14 (48)                  | 20 (46)           | NS             |
| Smoking                                 | 14 (48)                  | 25 (58)           | NS             |
| <i>Per lesion</i>                       |                          |                   |                |
| Strategy for in-stent restenosis        |                          |                   | 0.04           |
| ELCA                                    | 5                        | 18                |                |
| PTCA                                    | 19                       | 18                |                |
| Stent                                   | 10                       | 9                 |                |
| Previous PTCA                           | 19 (63)                  | 32 (74)           |                |
| Previous PTCA at treated lesion         | 11 (37)                  | 11 (26)           |                |
| Stents per lesion                       |                          |                   | NS             |
| One                                     | 25                       | 30                |                |
| More than one                           | 9                        | 15                |                |
| Hybrid stenting                         | 3                        | 7                 |                |
| Complex lesions (B/C)                   | 31 (91)                  | 45 (100)          | NS             |
| Type of restenosis                      |                          |                   | NS             |
| Diffuse, occlusion                      | 16 (47)                  | 25 (56)           |                |
| Focal                                   | 18 (53)                  | 38 (44)           |                |
| Infarct related artery                  | 19 (56)                  | 17 (38)           | NS             |
| Indication for initial stent            |                          |                   | NS             |
| Occlusion                               | 5 (15)                   | 8 (18)            |                |
| Elective                                | 27 (79)                  | 33 (73)           |                |
| Bail out                                | 2 (6)                    | 4 (9)             |                |
| Type of stent                           |                          |                   | NS             |
| Slotted tube                            | 17                       | 18                |                |
| Multicellular                           | 10                       | 19                |                |
| Severity of stenosis initial stent      |                          |                   | NS             |
| < 75%                                   | 20 (59)                  | 25 (56)           |                |
| ≥ 75%                                   | 7 (21)                   | 13 (29)           |                |
| 100%                                    | 7 (20)                   | 7 (15)            |                |
| Severity of stenosis post initial stent |                          |                   | NS             |
| < 25%                                   | 29 (85)                  | 36 (80)           |                |
| ≥ 25%                                   | 5 (15)                   | 9 (20)            |                |
| Severity of stenosis post TLR           |                          |                   | NS             |
| < 25%                                   | 23 (68)                  | 26 (58)           |                |
| ≥ 25%                                   | 11 (32)                  | 19 (42)           |                |
| Length of stenosis                      |                          |                   | NS             |
| < 13 mm                                 | 16 (59)                  | 23 (60)           |                |
| ≥ 13 mm                                 | 11 (41)                  | 15 (40)           |                |
| RLD initial stent                       |                          |                   | NS             |
| < 2.4 mm                                | 25 (73)                  | 27 (60)           |                |
| ≥ 2.4 mm                                | 9 (27)                   | 18 (40)           |                |
| Inflation pressure initial stent        |                          |                   | NS             |
| < 12 atm                                | 4 (12)                   | 7 (16)            |                |
| ≥ 12 atm                                | 30 (88)                  | 38 (84)           |                |

Tabelle 5: Bestimmung der Risikofaktoren für eine erneute Restenose im Stent bei Koronargefäßen mit kleinem Gefäßdurchmesser (univariate Analyse).

#### **4.9.4. Reprint P15**

- P15. Gross CM, Krämer J, Weingärtner O, Uhlich F, Dietz R, Waigand J.** Clinical and angiographic outcome in patients with in-stent restenosis and repeat target lesion revascularization in small coronary arteries. *Heart* 2000;84:307-313

#### **4.10. Projekt 16 (P16): Progressionsprävention der koronaren Herzerkrankung durch eine intensivierte LDL-Cholesterin-Therapie. Der Einfluss der LDL-Senkung auf Plaquemorphologie und das Plaquevolumen**

##### **4.10.1. Einleitung**

Die Ruptur oder Erosion einer koronaren atherosklerotischen Plaque ist assoziiert mit einer nachfolgenden Thrombusformation, einhergehend mit einer akuten Lumenreduktion bis hin zum möglichen Gefäßverschluss. Klinisch handelt es sich dabei um das Bild eines akuten Koronarsyndroms, welches sich entweder als plötzlicher Herztod, akuter Myokardinfarkt oder als instabile Angina pectoris manifestiert.<sup>(244,245)</sup> Aus großen primären und sekundären Präventionsstudien mit HMG-CoA-Reduktase-Hemmern ist bekannt, dass die Senkung des LDL-Cholesterins viel mehr mit der Senkung kardialer klinischer Ereignisse assoziiert ist, als mit der angiographisch dokumentierten Progression oder auch Regression der koronaren Atherosklerose.<sup>(246-249)</sup> Diese Tatsache lässt sich erklären durch die geringe Sensitivität der Koronarangiographie in der Detektion atherosklerotischer Gefäßwandveränderungen und der Annahme, dass weitere Mechanismen wie die Endotheldysfunktion oder die Plaquemorphologie für zukünftige kardiale Ereignisse verantwortlich gemacht werden können. Der intravasale Ultraschall ist im Unterschied zur Angiographie in der Lage, Aussagen zur Plaqueechogenität und damit zur Plaquemorphologie zu treffen, neben der Möglichkeit, die Plaquegröße (Plaquevolumen) exakt erfassen zu können.

In einer Untersuchung wurde die Effektivität einer intensivierten LDL-Cholesterinsenkung auf die Plaquemorphologie und die Veränderung des Plaquevolumens im Vergleich zu einer herkömmlichen Cholesterintherapie mit Hilfe des intravasalen Ultraschalls untersucht. Sekundäre Endpunkte der Studie umfassten die Veränderung der Lipidwerte bzw. die Prävalenz von klinischen Ereignissen im Vergleich der beiden Behandlungsgruppen.

##### **4.10.2. Methode**

Es handelte sich um eine offene, randomisierte, multizentrische Studie, in der die intensivierte LDL-Cholesterintherapie aus einer 20-40 mg Atorvastatin-Applikation bestand, die bis zu 80 mg/die gesteigert werden konnte, um einen Zielbereich der LDL-Senkung < 100 mg/dL zu erreichen. Die herkömmliche Lipidtherapie bestand

aus unterschiedlichen Lipidsenkern wie z.B. Fibraten (44%), HMG-CoA-Reduktase-Hemmern mit Ausnahme von Atorvastatin (48.5%) sowie Cholestyramin (36%). Die Beobachtungszeit umfasste einen Zeitraum von 12 Monaten, wobei initial als auch am Ende der Studie eine intravasale Ultraschalluntersuchung durchgeführt wurde. Das klinische follow-up umfasste klinische Visiten innerhalb der ersten 4 Monate und nach 6 , 9 und 12 Monaten. Die Patienten hatten eine symptomatische koronare Herzerkrankung mit Indikation zur PCI. Die untersuchte Zielplaque sollte eine Lumeneinengung von  $\leq 50\%$  Durchmesserstenose und eine Länge von  $>10$  mm haben und nicht interventionell vorbehandelt sein. Die Lipidwerte (LDL-C) vor Studieneinschluss lagen  $>160$  mg/dL ohne Therapie und  $>130$  mg/dL unter lipidsenkender Therapie.

#### **4.10.3. Ergebnisse**

Insgesamt wurden 131 Patienten randomisiert, 65 Patienten erhielten eine intensiviertere Lipidtherapie mit Atorvastatin. Hinsichtlich der klinischen Ausgangsvariablen zeigten die Gruppen keine Unterschiede. Bei 99 Patienten lagen repräsentative Ultraschalluntersuchungen vor, die zur Auswertung kamen. Die tägliche Atorvastatindosierung lag bei  $32.5 \pm 12.7$  mg 48.5 % der Patienten in der Vergleichsgruppe hatten ebenfalls einen HMG-CoA-Reduktasehemmer. Nach 12 Monaten Beobachtungszeit kam es zu einer signifikanten Reduktion der LDL-C-Werte um  $-42 \pm 26\%$ , des Gesamtcholesterins um  $-29 \pm 16\%$  sowie zu einer nicht signifikanten Zunahme des HDL-C um  $+9 \pm 24$  bzw. Abnahme der Triglyceridwerte  $-9.0 \pm 94\%$  in der Atorvastatingruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Im Beobachtungszeitraum zeigte sich in beiden Gruppen eine Zunahme des Plaquewachstums (Plaquivolumen) und der Läsionslänge, die unter Atorvastatin, wenn auch nicht statistisch signifikant, tendenziell geringer ausfiel (Tabelle 6).

| Parameter                   | Atorvastatin<br>(n=48) | Usual Care<br>(n=51) | <i>P</i> |
|-----------------------------|------------------------|----------------------|----------|
| Vessel volume               |                        |                      |          |
| Baseline, mm <sup>3</sup>   | 270.6±182.9            | 239.8±158.0          |          |
| Difference, mm <sup>3</sup> | 1.8±44.9               | 19.8±62.3            | 0.126    |
| Change, %                   | 3.4±22.6               | 7.9±24.0             | 0.372    |
| Lumen volume                |                        |                      |          |
| Baseline, mm <sup>3</sup>   | 149.3±101.0            | 135.1±86.1           |          |
| Difference, mm <sup>3</sup> | 0.6±27.9               | 10.2±40.7            | 0.186    |
| Change, %                   | 4.4±29.8               | 7.0±25.9             | 0.657    |
| Plaque volume               |                        |                      |          |
| Baseline, mm <sup>3</sup>   | 121.3±84.4             | 104.7±79.3           |          |
| Difference, mm <sup>3</sup> | 1.2±30.4               | 9.6±28.1             | 0.191    |
| Change, %                   | 2.5±24.9               | 11.8±31.0            | 0.138    |
| Lesion length               |                        |                      |          |
| Baseline, mm                | 12.7±7.4               | 11.7±6.5             |          |
| Difference, mm              | -0.1±1.2               | 0.2±1.0              | 0.143    |
| % change, %                 | 1.3±7.3                | 2.8±13.1             | 0.058    |

Tabelle 6: Bestimmung des Lumen- und Gefäßvolumens (vessel und lumen volume), des Plaquevolumens und der Läsionslänge mittels intravasalem Ultraschall (Ausgangswerte, absolute Differenz und Differenz in Prozent) für die Atorvastatin- und die Vergleichsgruppe (Mittelwerte ± SD).

Im Unterschied zur Kontrollgruppe konnte eine signifikante Zunahme des Hyperechogenitätsindex der Plaque in der Atorvastatingruppe festgestellt werden (Tabelle 7). Klinisch ließ sich zwischen den beiden Gruppen kein Unterschied hinsichtlich der kardialen Ereignisrate feststellen (Tabelle 8).

| Parameter Index      | Atorvastatin<br>(n=46) | Usual Case<br>(n=50) | <i>P</i> |
|----------------------|------------------------|----------------------|----------|
| Hyperechogenicity, % |                        |                      |          |
| Baseline             | 11.4±5.9               | 12.2±6.6             |          |
| Difference           | 1.9±8.3                | 0.3±7.5              | 0.178    |
| Change               | 42.2±97.8              | 10.1±68.5            | 0.021    |
| Hypoechoogenicity, % |                        |                      |          |
| Baseline             | 82.3±9.7               | 83.8±9.7             |          |
| Difference           | -2.3±9.6               | -0.6±9.0             | 0.235    |
| Change               | -2.1±12.7              | -0.3±12.1            | 0.308    |
| Calcification, %     |                        |                      |          |
| Baseline             | 1.9±2.4                | 1.4±2.0              |          |
| Difference           | 0.2±2.5                | 0±1.6                | 0.660    |
| Unknown, %           |                        |                      |          |
| Baseline             | 4.4±6.3                | 2.6±3.4              |          |
| Difference           | 0.2±3.8                | 0.3±2.5              | 0.865    |

Tabelle 7: Morphologie der Plaquezusammensetzung (Ausgangswerte, absolute Differenz und Differenz in Prozent). Signifikante Zunahme der Veränderung des Hyperechogenitätsindex für Atorvastatin. (Mittelwerte ± SD).

|  | Atorvastatin<br>(n=65) | Usual Care<br>(n=66) | <i>P</i> |
|--|------------------------|----------------------|----------|
| Any ischemic event, n (%)                      | 14 (21.5)              | 21 (31.8)            | 0.184    |
| Stable angina, n (%)                           | 7 (10.8)               | 11 (16.7)            | 0.327    |
| Unstable angina, n (%)                         | 0 (0)                  | 3 (4.5)              | 0.082    |
| Fatal or nonfatal myocardial infarction, n (%) | 0 (0)                  | 2 (3.0)              | 0.157    |
| Ischemic cerebral vascular accident, n (%)     | 2 (3.1)                | 0 (0)                | 0.151    |
| Reintervention, n (%)                          | 2 (3.1)                | 3 (4.5)              | 0.661    |
| New intervention, n (%)                        | 4 (6.2)                | 9 (13.6)             | 0.152    |
| CABG, n (%)                                    | 1 (1.5)                | 4 (6.1)              | 0.177    |
| Death, n (%)                                   | 0 (0)                  | 0 (0)                |          |

Tabelle 8: Prävalenz kardialer Ereignisse im Vergleich der Behandlungsgruppen.

#### 4.10.4. Reprint P 16

- P16.** Schartl M, Bocksch W, Koschyk D, Voelker W, Karsch K, Kreutzer J, Hausmann D, Beckmann S, **Gross CM**. The use of ultrasound to compare the effects of aggressive lipid lowering therapy compared with usual care on plaque volume and plaque composition in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;104:387-392