

## 1. Einleitung

Die steigende Tendenz und hohe Prävalenz vaskulärer Erkrankungen erfordert –neben etablierten Maßnahmen der Prävention und suffizienter Therapie- vor allem auch effektive diagnostische Methoden, um mögliche Ursachen frühzeitig und sicher erkennen zu können und die Mortalitätsrate zu senken. Bei Erkrankungen multifaktorieller Genese gestaltet sich eine effektive Diagnostik und Therapie erfahrungsgemäß schwierig, da das Zusammenspiel unterschiedlichster, teilweise auch unbekannter Faktoren eine präzise Erkennung möglicher Symptome und die adäquate Behandlung derselben erschwert.

Die essentielle Hypertonie zählt zu den Erkrankungen, deren Pathogenese nach wie vor weitgehend ungeklärt ist, was sie nicht zuletzt aus diesem Grund zum Gegenstand zahlreicher Forschungsprojekte in der Vergangenheit und der Gegenwart macht (Fumiyoshi et al., 1995, Manabe et al., 2005, Horio et al., 2005). In verschiedenen Studien konnten Assoziationen zwischen oxidativem Stress und primärer Hypertonie einerseits (Schultz & Harrison, 2000, Tepel, 2003) und verändertem Calciumgleichgewicht und essentieller Hypertonie andererseits (Kwan et al., 1994, Fu et al., 1997, Neusser et al., 1999, Ohno et al., 2000) gezeigt werden.

Anknüpfend daran wurde in der vorliegenden Arbeit die Bedeutung akuten „Zuckerstresses“ primär nicht diabetischer Patienten mittels oraler Zuckerbelastung (OGTT) auf die intrazelluläre Calciumhomöostase und die Freisetzung reaktiver Sauerstoffradikale untersucht und diskutiert. Durch die Gewinnung von Lymphozyten aus dem Blut von Patienten mit essentieller Hypertonie und von gesunden Studienteilnehmern konnte selektiv in vitro die Calcium- und Sauerstoffradikalfreisetzung stimuliert und mittels fluoreszenzphotometrischer Messung bestimmt werden. Die Methodik der Fluoreszenzphotometrie ist seit vielen Jahren etabliert und wurde schon in zahlreichen Studien angewandt (Gryniewicz, 1985, Tsien, 1985, Hayashi & Miyata, 1994, Chen et al., 1994, Orié et al., 1999, Dang et al., 2005).

Zusätzlich wurde die Veränderung der Gefäßreaktivität unter oraler Glucosebelastung durch Messung des Reflective Index bei hypertensiven und normotensiven Probanden untersucht und verglichen.

## 1.1 Oraler Glucose-Toleranztest

Es handelt sich hierbei um einen Probetrunke mit 75 Gramm Glucose, gefolgt von mehrfacher Bestimmung der Blutzuckerwerte (Roche Lexikon Medizin, 5. Auflage, Urban & Fischer Verlag, München 2003). In erster Linie wird der orale Glucose-Toleranztest als etablierte Methode in der Diagnostik des Diabetes mellitus und gestörter Glucosetoleranz eingesetzt (Procopio et al, 2002). Weitere Indikationen zur Durchführung eines oralen Glucose-Toleranztests bestehen bei Verdacht auf fetale Missbildung (z.B. intrauterine Wachstumsretardierung) im Rahmen eines Gestationsdiabetes (Valensise & Romanini, 1993, Pardo et al., 1999), bei Verdacht auf Akromegalie, unklaren Fällen von Neuropathie oder Retinopathie sowie bei manifesten kardiovaskulären Erkrankungen, arteriellen Gefäßkrankheiten und Hypertonie (Zentrale Einrichtung für Klinische Chemie, Universitätsklinikum Ulm, 2003). Wie in einer Studie von Stiefel et al., 2005 demonstriert werden konnte, ist insbesondere bei Patienten mit essentieller Hypertonie die Durchführung eines oralen Glucose-Toleranztests angezeigt. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass der überwiegende Teil primär hypertensiver Probanden eine auffallend hohe Inzidenz an Glucoseintoleranz, Insulinresistenz oder Glucosestoffwechselstörungen aufwies. Nach Auffassung der Autoren ergibt sich daraus die Notwendigkeit zur Durchführung eines OGTT als Screeningmethode zur Reduktion des kardiovaskulären Risikos bei Patienten mit essentieller Hypertonie. (Stiefel et al., 2005).

Andererseits zeigten epidemiologisch fundierte Erkenntnisse, dass die Anwendung des oralen Glucose-Toleranztests als Modell des postprandialen Zustands mit einem gesteigerten Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen, insbesondere bei Patienten mit Diabetes mellitus, assoziiert ist (Da Ros et al., 2005, Ceriello et al., 2005). Im Rahmen der Ursachenforschung in Bezug auf postprandiale Hyperglykämie verbunden mit erhöhtem Atherosklerose - Risiko gilt der Einfluss reaktiver Sauerstoffradikale im Sinne oxidativen Stresses als wegweisend (Da Ros et al., 2005, Ceriello et al., 2005).

Überdies wurde in verschiedenen Veröffentlichungen (Fu et al., 1997, Ohno et al., 2000) mittels OGTT bei Patienten mit essentieller Hypertonie ein Zusammenhang zwischen Krankheitsentstehung, Insulinresistenz und gestörter Calciumhomöostase postuliert.

Bezugnehmend darauf erachteten wir im Rahmen unserer Studie die Untersuchung der intrazellulären Calciumkonzentration unter oraler Zuckerbelastung einerseits sowie die Entstehung reaktiver Sauerstoffradikale unter Einfluss des oralen Glucose-Toleranztest andererseits bei primär hypertensiven Patienten als sinnvoll.

In der vorliegenden Arbeit wurde bei jedem der 48 Studienteilnehmer vor der ersten Puls- und Blutdruckmessung sowie nach der ersten Blutabnahme ein oraler Glucose-Belastungstest durchgeführt. Die an der Untersuchung beteiligten Personen mussten nüchtern sein, ein Diabetes mellitus durfte nicht vorliegen. Die Messung des Blutzuckerspiegels erfolgte pro Teilnehmer jeweils einmal nüchtern sowie 60 Minuten und 120 Minuten nach OGTT. Der Nüchternwert wurde als 0-Stundenwert (0h) bzw. Ausgangswert, die beiden darauf folgenden wurden als 1-Stunden- (1h) bzw. 2-Stundenwert (2h) bezeichnet. Der Vergleich der Calcium – und ROS - Werte zu den genannten Zeitpunkten innerhalb der jeweiligen Probandengruppe sowie zwischen beiden Gruppen erfolgte mithilfe geeigneter statistischer Tests .

Im Kontext der Ursachenforschung bezüglich der Entstehung essentieller Hypertonie erfolgte neben den erwähnten Untersuchungen zusätzlich die Messung der Gefäßelastizität unter oraler Glucosebelastung in beiden Teilnehmergruppen. Mittels OGTT einerseits und kurzer suprasystolischer arterieller Stauung andererseits wurde der Effekt akuten Zuckerstress und kurzfristiger Minderdurchblutung auf die Gefäßelastizität untersucht.

Der Effekt von Glucose auf die Gefäßfunktion konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden (Valensise & Romanini, 1993, Pardo et al., 1999, Christopher et al., 2001).

Ein Stress - vermittelter Einfluss auf die Gefäßreaktivität wurde von Lind et al., 2002 unter Zuhilfenahme des Cold Pressure Tests (COP) und einer Mental Arithmetic Task (MAT) gezeigt, so dass der orale Glucose-Toleranztest ähnlich wie der Cold Pressure Test als „vasogener Stress - Test“ zum Einsatz kam.

Zusammenfassend galt es im Rahmen unserer Untersuchungen herauszufinden, inwiefern sich kurzfristiger Zuckerstress in Form von oraler Glucoseverabreichung auf die Gefäßreaktivität, die Bildung reaktiver Sauerstoffradikale und den intrazellulären Calciumfluss bei Personen mit primärer Hypertonie im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen auswirkt.

## 1.2 Calciumstoffwechsel und Thapsigargin

Calcium ist das am häufigsten vertretene Kation im Organismus. Sein Anteil am Gesamtgewicht des Menschen beträgt etwa 1,5 – 2,2%, davon sind ca. 95% zusammen mit Phosphat als kristallines Material (Hydroxylapatit) in Knochen und Zähnen sowie ca. 5% in den Körperflüssigkeiten enthalten (Roche Lexikon Medizin, 5. Auflage, Urban & Fischer Verlag, München 2003). Die Calcium-Konzentration im Plasma beträgt 2,2 – 2,6 mmol/l, wovon ca. die Hälfte, 1,1 mmol/l, in freier, dissoziierter Form vorliegt. Die Konzentration des ionisierten Calciums unterliegt einer strengen Regulationskontrolle, die keine größeren Abweichungen als bis zu 1% toleriert (Krück, 1994). Ein Anstieg des Gesamt - Calciumspiegels auf über 2,6 mmol/l bzw. des ionisierten Calciums auf über 1,1 mmol/l wird als Hypercalcämie, ein Abfall unter 2,2 mmol/l bzw. unter 1,1 mmol/l als Hypocalcämie bezeichnet.

Im Zytosol der meisten Zellen finden sich Calcium-Konzentrationen von 0,01-0,1  $\mu\text{mol/l}$ , wobei der Großteil des intrazellulären Calciums als Calcium-Phosphat-Komplex oder an Proteine gebunden in Mitochondrien und im endoplasmatischen Retikulum auftritt und somit nicht frei ionisierbar ist. Unter Aktionsbedingungen kommt es zu einem Anstieg des  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  von 0,1  $\mu\text{mol/l}$  auf bis zu 10  $\mu\text{mol/l}$  (Evenas et al., 1998)

Die niedrige zytosolische Calciumkonzentration wird über Calcium-ATPasen in der ER - und in der Plasmamembran sowie durch ein  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$  - Antiportsystem aufrechterhalten. Spannungs- bzw. Liganden - abhängige Calcium-Kanäle sorgen für kurzfristige Calcium-Einströme und regulieren dadurch zahlreiche zelluläre Funktionen wie beispielsweise Hormonsekretion, Photorezeption, Glucosebereitstellung, Ausschüttung von Neurotransmittern, Zellproliferation, Genexpression, Apoptose oder Muskelkontraktion (Williams, 1985, Meyer, 1991, Berridge et al., 2003). Um diese komplexen Aufgaben erfüllen zu können, muss auch die intrazelluläre Calciumkonzentration einer genauen Kontrolle unterliegen (Berridge, 1997).

Calcium – Ionen gelangen entweder aus intrazellulären Speichern oder aus dem Extrazellulärraum in das Zytosol der Zelle. Der  $\text{Ca}^{2+}$  - Einstrom aus dem extrazellulären Medium wird von verschiedenen Plasmamembran – ständigen Kanälen kontrolliert, die zum Beispiel auf mechanische Einflüsse, Membran – Depolarisation, intrazelluläre Botenstoffe oder die Freisetzung von Calcium aus intrazellulären Speichern reagieren.

Eine wesentliche Rolle hinsichtlich der Speicherung und Freisetzung von Calcium spielt das sarcoplasmatische Retikulum (SR) (Golinski, 1999). In der Membran des SR ist ein für die Calcium - Homöostase wichtiges Protein integriert: die sarcoendoplasmatische Retikulum –

Calcium - ATPase (SERCA). Diese Pumpe transportiert unter Verbrauch eines Moleküls ATP zwei Calcium-Ionen vom Zytoplasma in das sarcoplasmatische Retikulum. Die SERCA stellt den Hauptmechanismus für die Entfernung des erhöhten intrazellulären Calciums dar (Schatzmann, 1989). Während der Ruhephase verhindert die Aktivität der SERCA und der Plasmamembran –  $\text{Ca}^{2+}$  - ATPasen (PMCA) eine signifikante Erhöhung der zytosolischen Calciumkonzentration durch spontane Calciumfreisetzung aus intrazellulären Speichern und den Einstrom von Calcium aus dem Extrazellularraum.

Die Freisetzung von Calcium aus intrazellulären Speichern, dem endoplasmatischen Retikulum (ER) oder bei Muskelzellen aus dem sarcoplasmatischen Retikulum (SR) wird durch Calcium selbst, oder durch Calcium – mobilisierende Botenstoffe (second messenger) wie  $\text{IP}_3$ , cyclische ADP – Ribose (cADPR) und Nicotinsäure – Adenin – Dinucleotid – Phosphat (NAADP) stimuliert, kontrolliert und modelliert (Tsien et al., 1990, Albrieux et al., 1998, da Silva & Guse, 2000, van Gorp et al., 2002).

Phospholamban ist das Hauptregulator-Protein der Calciumaufnahme in das sarcoplasmatische Retikulum, dessen inhibitorischer Effekt auf die SERCA durch Calcium - Calmodulin - abhängige Phosphorylierung via Proteinkinase aufgehoben wird (Karczewski et al, 1997). Außerdem ist die SERCA pH - sensitiv: Azidose verringert, Alkalose erhöht die Pumpleistung.

Zu den pharmakologischen Hemmstoffen der endoplasmatischen  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase bzw. der SERCA zählen neben Cyclopiazonsäure (CPA) und 2,5-Di-(tert-butyl)-1,4-benzohydroquinon (TBQ) auch das Pflanzenextrakt Thapsigargin. Da in der vorliegenden Arbeit die Veränderung der intrazellulären Calcium-Konzentration nach oralem Glucose-Toleranztest unter Blockade der endoplasmatischen  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase durch Thapsigargin untersucht wurde, soll kurz auf den Wirkmechanismus dieser Substanz eingegangen werden.

Thapsigargin ist ein Lacton, das aus dem Doldengewächs *Thapsia garganica* isoliert wird (**Abbildung 1**).

## Thapsigargin

Source: Thapsia Garganica (Plant extract)

Merck index 13, 9342

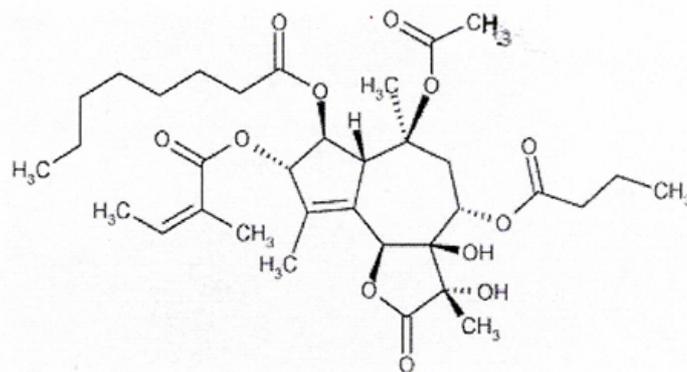
Fermentek code TH

Description: Thapsigargin is a cell-permeable, Tumor promoting sesquiterpene lactone. A tight-binding inhibitor of intracellular calcium (SERCA) pumps.

CAS number 67526-95-8

Molecular weight: 650.8

Structure:



**Abb. 1:** Strukturformel des  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase-Inhibitors Thapsigargin ([www.fermentek-biotechnology.co.il/thapsigargin.html](http://www.fermentek-biotechnology.co.il/thapsigargin.html))

Bei dieser Substanz handelt es sich um einen Tumorpromotor (Hakii et al. 1986), der durch die Aktivierung inflammatorischer Zellen des Immunsystems stark irritierende Eigenschaften besitzt (Ali et al. 1985).

Thapsigargin führt als potenter Inhibitor des katalytischen Zyklus zu einer irreversiblen Hemmung intrazellulärer Calcium - Pumpen (SERCA). Dadurch kommt es zu einer Entleerung des sarcoplasmatischen Retikulums und zu einem Anstieg der zytosolischen Calciumkonzentration („Theorie des Pumpen-Verlustes“, Lewartowski, 1993).

Dieser Effekt tritt schon in sehr niedrigen, subnanomolaren Konzentrationen auf (Sagara, 1991).

### 1.3 Hypertonie und Reaktive Sauerstoffspezies (ROS)

Herz – Kreislauf – Erkrankungen bestimmen in hohem Maße das Morbiditäts – und Mortalitätsgeschehen in der Bundesrepublik Deutschland. Von elementarer sozialmedizinischer Bedeutung ist in erster Linie die arterielle Hypertonie mit ihren Folgeerkrankungen wie

Schlaganfall, Herzinsuffizienz, koronare Herzerkrankung einschließlich des Myocardinfarktes und Niereninsuffizienz. (AWMF – Leitlinien – Register, Nr. 046/001).

Nur für wenige Formen der arteriellen Hypertonie ist die Pathogenese eindeutig geklärt. Besonders für die primäre Hypertonie (Synonym: essentielle Hypertonie) lassen sich bisher lediglich Risikofaktoren wie psychosozialer Stress, veränderte Hormonwirkung, hoher Kochsalzkonsum, Adipositas, oder genetische Disposition beschreiben. Es handelt sich somit um eine multifaktorielle Erkrankung unbekannter Genese (Oehler, 1996), deren Folgen allerdings hinreichend bekannt sind: alle Formen der arteriellen Hypertonie erhöhen das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen (Zacharieva, 1999), diese wiederum zählen zu den häufigsten Todesursachen in Europa. Prävention, Früherkennung von Risikofaktoren und optimale Therapie derselben sind daraus resultierende wichtige Maßnahmen zur Risikoreduktion und Gegenstand verschiedener Studien (Tepel & Zidek, 1998)

Die Prävalenz der essentiellen Hypertonie beträgt in den westlichen Industrieländern 20%, sie tritt in Nord-Japan am häufigsten und bei den Inuit (Nomadenstamm in Grönland) am seltensten auf (Herold, Innere Medizin, 2004).

Pathophysiologisch ist Bluthochdruck die Folge eines erhöhten Herz-Zeit-Volumens, eines erhöhten peripheren Widerstandes oder beider Faktoren.

Die Richtlinien des JNC (US Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure) und der WHO definieren arterielle Hypertonie als Bluthochdruck von systolisch  $>140$  mmHg und/oder diastolisch  $>90$  mmHg bei zwei aufeinander folgenden und kontrollierten Messungen in Ruhe (Karow & Lang, 2003).

Da der Blutdruck von verschiedenen Parametern wie zum Beispiel Tageszeit oder körperlicher Belastung abhängig ist, lässt sich eine manifeste Hypertonie somit nur durch wiederholte Messungen, möglichst zu unterschiedlichen Zeiten, diagnostizieren.

Bei den von uns gewählten Patienten handelte es sich um Personen mit gesicherter essentieller Hypertonie, das heißt mit Blutdruckwerten von systolisch  $> 140$  mmHg und diastolisch  $> 90$  mmHg. Das Vorliegen einer sekundären Hypertonie galt als Ausschlusskriterium. Im Unterschied zu der primären Form sind die Ursachen der sekundären Hypertonie weitestgehend bekannt: Aortenisthmusstenose ( $<1\%$ ), primärer Hyperaldosteronismus (Conn-Syndrom), AGS, Phäochromozytom, Glomerulonephritis oder Nierenarterienstenose ( $1\%$ ) sind Beispiele dafür.

Wie in verschiedenen Untersuchungen am Tiermodell gezeigt wurde, besteht offenbar auch ein Zusammenhang zwischen gestörter SERCA - Funktion, veränderter intrazellulärer Calciumkonzentration und essentieller Hypertonie (Kwan et al., 1994, Tepel et al., 1994, Wang et al., 1995, Neusser et al., 1999).

Neben den oben genannten Risikofaktoren, die die Entstehung einer essentiellen Hypertonie begünstigen, spielen auch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der Hypertonie (Griendling et al., 2000).

Die unter physiologischen Bedingungen im Stoffwechsel gebildeten reaktiven Metabolite werden in zwei Gruppen unterschieden: in die der reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und in die der freien Stickstoffradikale (Tepel, 2003). Zu den ROS werden unter anderem Sauerstoffradikale wie das Superoxidanion ( $O_2^{\cdot-}$ ) oder das Hydroxylradikal ( $OH^{\cdot}$ ) gezählt. In den Mitochondrien werden quantitativ am meisten Radikale gebildet, da hier ca. 95% des eingeatmeten Sauerstoffs umgesetzt werden (Siems et al. 1998). Zusammen mit der Superoxidbildung im ER liegt die insgesamt freigesetzte [ $O_2^{\cdot-}$ ] – Menge der mitochondrialen Atmungskette bei ca. 2% des aufgenommenen Sauerstoffs (Gutteridge et al. 1985).

In Lymphozyten ist die leukozytäre NAD(P)H - Oxidase für die Bildung freier Sauerstoffradikale verantwortlich, die in ihrer aktiven Form in der Plasmamembran der Zelle lokalisiert ist (Umeki, 1994).

Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) spielen in der Physiologie und Pathophysiologie des vaskulären Systems eine wesentliche Rolle (Schultz & Harrison, 2000).

Unter physiologischen Bedingungen werden ROS im Rahmen des oxidativen Metabolismus intra- und extrazellulär im menschlichen Körper freigesetzt (Orie et al., 1999). In niedrigen Konzentrationen spielen ROS eine physiologische Rolle bei der Aktivierung und Proliferation von Lymphozyten (Whitacre & Cathcart, 1992).

Kommt es zu einem Ungleichgewicht zwischen Radikalbildung und –abbau und damit zu einer vermehrten Freisetzung von ROS, treten durch die Radikale Schädigungen auf (oxidativer Stress), was als Ursache zahlreicher chronischer Krankheiten wie Hypertonie, Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie oder Ischämie postuliert wird (Lockette et al., 1986, Belch et al., 1995, Heinecke, 1998, Zalba et al., 2000, Da Ros et al., 2005). Wie in der Literatur beschrieben sind insbesondere Superoxidanionen maßgeblich an der Induktion der endothelialen Dysfunktion beteiligt. In ihrer Funktion als second messenger vermitteln freie Sauerstoffradikale die Aktivierung verschiedener intrazellulärer Proteine und Enzyme (Griendling et al., 2000), was zur Induktion von Genen führt, die wiederum essentiell für die Funktionalität vaskulärer Zellen sind, da sie Zellwachstum und – migration, endothelabhängige Gefäßrelaxation und vieles mehr steuern.

Außerdem ist eine direkte Interaktion zwischen endothelialer NO und freien Sauerstoffradikalen beschrieben; durch die Superoxidanionen- vermittelte NO - Inaktivierung ist dessen antiproliferative und vasodilatorische Funktion deutlich vermindert (Keller, 2002). Bei Patienten

mit essentieller Hypertonie ist die Acetylcholin - induzierte Fähigkeit zur Vasodilatation signifikant vermindert im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen, da die vermehrte Freisetzung reaktiver Sauerstoffradikale bei Patienten mit essentieller Hypertonie mit einer gesteigerten Vasokonstriktion einhergeht und vermutlich die Ursache endothelialer Dysfunktion ist (Taddei et al., 2001, Tepel, 2003). Mittels Regressions-Analyse konnten signifikante Korrelationen zwischen mittlerem Blutdruck und oxidativem Stress in humanen Blutzellen (Leukozyten) ermittelt werden (Yasunari et al., 2002, Tepel, 2003). In der vorliegenden Arbeit wurde die Entstehung freier Sauerstoffradikale ( $O_2^-$ ) unter Einfluss des oralen Glucose-Toleranztests bei Patienten mit essentieller Hypertonie im Vergleich zu normotensiven Probanden untersucht.

#### **1.4 Gefäßreaktivität und Reflective Index**

50-60% der Patienten mit arterieller Hypertonie entwickeln frühzeitig eine Arteriosklerose, die mit funktionellen und strukturellen Veränderungen der Gefäßwand einhergeht. In arteriosklerotisch veränderten Gefäßabschnitten ist die Gefäßelastizität maßgeblich vermindert (Weber, 2002) und die Fähigkeit zur Vasodilatation, erheblich herabgesetzt.

Nach wie vor zeigen Erkrankungen des Gefäßsystems eine steigende Tendenz, so dass die Weiterentwicklung der Gefäßdiagnostik von besonderer Wichtigkeit ist. Seit einigen Jahren bereits zeigt sich ein Wandel von primär invasiven Untersuchungsverfahren zu nicht – invasiver Diagnostik wie Ultraschall (farbkodierte Duplex – Sonographie), MR – Angiographie oder CT – Angiographie (Krause et al., 2000).

Nicht invasive Untersuchungsmethoden bergen ein weitaus geringeres Risiko für den Patienten als beispielsweise die invasive Digitale Subtraktionsangiographie (DAS) bei gleichzeitiger ungeminderter Aussagefähigkeit der Ergebnisse.

Zur objektiven Beurteilung der Gefäßelastizität macht man sich ein nicht invasives Verfahren zunutze, bei dem die zu untersuchenden Personen ebenso wenig beeinträchtigt werden wie bei der erwähnten bildgebenden Diagnostik. Bei diesem Verfahren handelt es sich um die Methode der digitalen Photoplethysmographie, die Aussagen über die vaskuläre Elastizität zulässt und in verschiedenen Studien zur Anwendung kam (Tepel et al., 2003, Weber, 2002). Bei diesem Verfahren wird mithilfe eines Pulsoxymeters der periphere Volumenpuls digital aufgezeichnet, der aus einem systolischen und einem diastolischen Anteil besteht (Millasseau et al., 2003). Der

diastolische Anteil der in der Peripherie reflektierten Pulswelle wird als Reflective Index (Synonyme: Vascular Index oder Resistive Index) bezeichnet.

In Abhängigkeit von peripherem Widerstand und Gefäßdurchmesser ändert sich die Amplitude der Pulswelle, die umso höher ist, je kleiner der Gefäßdurchmesser ist. Als sogenannter „Marker“ der Pulswellenreflexion und des peripheren Widerstandes (Manabe et al., 2005, Tsuchiya et al., 2005) ist der Reflective Index umso höher, je enger das Gefäßlumen – zum Beispiel durch atherosklerotische Veränderungen - ist. Studien von Ohta et al., 2005 und Manabe et al., 2005 zeigten den Zusammenhang zwischen der Schwere der Atherosklerose und gesteigertem Reflective Index bei Patienten mit Diabetes und essentieller Hypertonie.

Zusammenfassend ist ein erhöhter Reflective Index verbunden mit verstärkter Pulswellenreflexion in der Peripherie Ausdruck eines reduzierten Gefäßdurchmessers, eines gesteigerten Gefäßwiderstandes und verminderter Gefäßelastizität. Im Gegensatz dazu kommt es bei niedrigen Reflective Index – Werten zu einer weniger ausgeprägten Pulswellenreflexion in der Peripherie, was auf physiologische Gefäßverhältnisse schließen lässt.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Reflective Index unter oraler Glucosebelastung einerseits sowie nach arterieller Stauung andererseits bei Personen mit primärer Hypertonie und gesunden Kontrollen bestimmt und miteinander verglichen.

Dass orale Glucosezufuhr die Reaktivität der Gefäße beeinflusst, konnte durch Veränderungen des Reflective Index in verschiedenen Veröffentlichungen festgestellt werden (Valensinse & Romanini, 1993, Pardo et al., 1999).

Obwohl einige Autoren den Reflective Index als einen zu unspezifischen Parameter vaskulärer Obstruktion einschätzen, zeigen empirisch gesicherte Ergebnisse verschiedener Studien die Bedeutung der Bestimmung des Reflective Index zum Beispiel nach Transplantationen und in der Tumordiagnostik auf (Raitiri et al., 2005, De Nicola et al., 2005). So gelang durch kontinuierliche Messung des RI in der frühen postoperativen Phase nach Nierentransplantation die frühzeitige Identifikation von Komplikationen wie akute Abstoßungsreaktionen oder Rupturen, ausgedrückt durch einen signifikanten Anstieg des Reflective Index (Raitiri et al., 2005). In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass ein erhöhter Reflective Index ein Indikator für maligne Schilddrüsenerkrankungen ist (De Nicola et al., 2005) und durch die Messung des Reflective Index eine Unterscheidung zwischen malignem oder benignem Geschehen möglich wird.

## 1.5 Fragestellung

Im Hinblick auf die kurzfristige, direkte Wirkung von Zucker auf periphere Gefäße, die intrazelluläre Calcium-Konzentration und die Freisetzung reaktiver Sauerstoffradikale ergaben sich folgende Fragestellungen:

1. Welchen Einfluss hat der orale Glucose-Toleranztest auf den Reflective Index bei Bluthochdruckpatienten und gesunden Kontrollpersonen?
2. Welche Auswirkungen haben arterielle Stauung und reaktive Hyperämie auf den Reflective Index bei Bluthochdruckpatienten und gesunden Kontrollpersonen?
3. Wie wirkt der orale Glucose-Toleranztest auf die Konzentration freier Calcium - Ionen in Lymphozyten?
  - 3.1 Effekt des OGTT auf den basalen Calciumwert nach Zugabe von PMA, Insulin oder Glucose
  - 3.2 Effekt des OGTT auf den Thapsigargin – stimulierten Calciumwert nach Zugabe von PMA, Insulin oder Glucose
4. Welchen Effekt hat der orale Glucose-Toleranztest auf die Freisetzung reaktiver Sauerstoffradikale bei Bluthochdruckpatienten und gesunden Kontrollpersonen?