

Aus dem CharitéCentrum für Innere Medizin
mit Kardiologie, Gastroenterologie und Nephrologie
Klinik für Kardiologie, Direktor: Professor Dr. Rainer Dietz

Habilitationschrift

Endothelfunktion bei kardialen Erkrankungen unter Berücksichtigung immunologischer Prozesse

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Katja Bettina Vallbracht-Israng

geboren am 01.02.1970 in München

Eingereicht: Oktober 2008
Dekanin: Prof. Dr. med. A. Grüters-Kieslich
1. Gutachter: Prof. Dr. G. Ertl
2. Gutachter: Prof. Dr. H. Schunkert

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
2	Hintergrund	5
2.1	Pathophysiologie des Gefäßendothels	5
2.2	Methodik der Endothelfunktionsprüfung.....	6
2.3	Klinische Bedeutung der Endothelfunktion.....	7
2.4	Therapieoptionen bei Endotheldysfunktion	8
3	Fragestellung und Zielsetzung	10
4	Eigene Arbeiten	12
4.1	Die Endotheldysfunktion peripherer Arterien bei Patienten mit immunhistologisch nachgewiesener myokardialer Inflammation korreliert mit der endothelialen Expression humaner Leukozytenantigene und Adhäsionsmoleküle in Myokardbiopsien	12
4.2	Eingeschränkte endothelabhängige flußinduzierte Vasodilatation (FMD) systemischer Arterien bei Patienten mit myokardialer Virus Persistenz	17
4.3	Verschiedene Aspekte der Beeinflussung der Endothelfunktion in der koronaren Mikrozirkulation unter Berücksichtigung von myokardialer Viruspersistenz, endothelialer Aktivierung und myokardialer Leukozyteninfiltration.....	23
4.4	Korrelation zwischen epikardialer und systemischer flußabhängiger Vasodilatation (FMD) bei Patienten mit atypischer Angina pectoris ohne Arteriosklerosenachweis	32
4.5	Assoziation zwischen Zytokinen und endothelabhängiger, flußvermittelter Vasodilatation (FMD) systemischer Arterien bei Patienten mit nicht-ischämischer Kardiomyopathie	40
5	Diskussion	46
6	Zusammenfassung	50
7	Literaturverzeichnis	52
8	Danksagung	59
9	Erklärung	60

1 Einleitung

Patienten geben häufig kardiale Symptome wie Angina pectoris, Palpitationen oder Leistungsminderung an, ohne dass signifikante Stenosen der Koronararterien oder Klappenvitien nachweisbar sind. In einigen Fällen lassen sich mehr oder weniger ausgeprägte globale oder regionale Kontraktilitätsstörungen des Myokards echokardiographisch nachweisen, bei anderen besteht ein kardiovaskuläres Risikoprofil. Möglicherweise handelt es sich bei diesen Patienten um ein Risikokollektiv für die Entwicklung einer manifesten Herzinsuffizienz oder anderer kardiovaskulärer Erkrankungen mit Ereignissen, die mit einer erhöhten Mortalität assoziiert sind. Bei der immunhistologischen oder virologischen Untersuchung von Myokardbiopsien lassen sich bei einigen dieser symptomatischen Patienten inflammatorische Reaktionen (31, 35) oder myokardiale Viruspersistenz (32, 37, 38) nachweisen.

Eine Möglichkeit der Risikostratifizierung bei diesem Patientenkollektiv ist die Endothelfunktionsprüfung, d.h. die Messung der endothelabhängigen Vasodilatation. Eine Endotheldysfunktion ist mit einer erhöhten Rate an kardiovaskulären Ereignissen assoziiert, die mit einer erhöhten Mortalität einhergehen. Dieser Zusammenhang wurde bei Patienten mit Arteriosklerose bzw. koronarer Herzerkrankung (46, 49), bei Patienten mit Herzinsuffizienz (24) und bei Patienten nach Herztransplantation festgestellt (15, 26, 59), aber auch bei Patienten mit angiographisch normalen Koronararterien (23). Es ist bekannt, dass es nicht nur bei manifester Arteriosklerose (61, 62) oder Herzinsuffizienz (18, 24, 27, 30, 63), sondern auch bereits bei asymptomatischen Patienten mit einem kardiovaskulären Risikoprofil ohne manifeste Arteriosklerose (6, 7, 42) und sogar bei Kindern mit einem Risiko für Arteriosklerose (8) zu einer Endotheldysfunktion kommen kann, ebenso bei Patienten mit Angina pectoris und angiographisch normalen Koronararterien (39). Die Endotheldysfunktion ist mit zunehmendem Alter progredient (9). Eine Endotheldysfunktion kann auch bei Patienten mit systemischen inflammatorischen Reaktionen (56) wie bei Kawasaki-Erkrankung (17), systemischer Vaskulitis (41), nach Impfung mit *Salmonella typhi* (25) oder bei CRP- (20) oder

TNF- α (58) Erhöhung nachweisbar sein, ebenso wie nach Bestrahlung oder Anthracyclin-Chemotherapie (12).

Bei Patienten mit kardialen Symptomen wie Angina pectoris, Leistungsminderung oder Palpitationen ohne Nachweis einer signifikanten Arteriosklerose oder Klappenvitien könnte eine Endotheldysfunktion vorliegen. Durch inadäquate Vasodilatation kann es zu einer regionalen oder generalisierten Minderperfusion kommen, die nicht dem Bedarf entspricht und zu Ischämien mit myokardialen Kontraktionsstörungen führt. Dies könnte bei einigen Patienten die Symptome teilweise erklären und Hinweise für die Pathogenese liefern. Die Endothelfunktionsprüfung könnte bei diesen Patienten eine Risikostratifizierung ermöglichen und Therapieentscheidungen beeinflussen.

2 Hintergrund

2.1 Pathophysiologie des Gefäßendothels

Lange Zeit wurde das Gefäßendothel lediglich als Barriere zwischen Gewebe und Blut angesehen. Inzwischen ist bekannt, dass das Endothel ein hochaktives Organ ist, welches durch die Exkretion parakriner Substanzen bei der Modulation des Gefäßtonus, bei Hämostase, Proliferation und Inflammation eine entscheidende Rolle spielt. Ist die Funktion des Endothels gestört, kann es vermehrt zu kardiovaskulären Ereignissen wie thrombotischen Gefäßverschlüssen mit Ischämie des Gewebes bis hin zum Infarkt kommen.

Die wichtigste Funktion des Endothels ist die Produktion von Stickstoffmonoxid (NO), durch die Gefäßtonus, Hämostase, Proliferation und Inflammation maßgeblich beeinflusst werden. Blutflußabhängig wirken lumenseitig an der Gefäßwand unterschiedlich ausgeprägte Scherkräfte, die im Gefäßendothel über eine Aktivierung der NO-Synthase (NOS) eine NO-Freisetzung aus L-Arginin unter Bildung von L-Citrullin induzieren. Stickstoffmonoxid (NO) diffundiert tiefer in die Gefäßwand, und führt durch Aktivierung der Guanylatzyklase cGMP-vermittelt zu einer Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur und damit zu einer Vasodilatation. Bei Diffusion ins Gefäßlumen vermindert NO die Leukozytenadhäsion an das Endothel sowie die Endothelpermeabilität, außerdem wirkt NO antithrombogen durch Vermehrung der intrathrombozytären löslichen Guanylatzyklase. Die Kaskade zur Regulation der NO-Aktivität kann auch durch Aktivierung verschiedener Rezeptoren in Gang gesetzt werden, wie durch die Bindung von Acetylcholin an den Muskarinrezeptor Typ II, von Histamin an den Histaminrezeptor Typ II, von Arginin/Vasopressin an den vasopressinergen Rezeptor, von Adrenalin/Noradrenalin an den α -adrenergen Rezeptor, von Bradykinin an den Kininrezeptor, von Adenosindiphosphat an den purinergen Rezeptor, von Serotonin an den serotonergen Rezeptor Subtyp 1 δ (HT1), von Thrombin an den Thrombinrezeptor, von Endothelin 1/3 an den Endothelinrezeptor Subtyp B oder von Angiotensin II an den Angiotensinrezeptor Subtyp 1.

Die Endotheldysfunktion mit reduzierter Synthese und verminderter Freisetzung von NO kann durch oxidativen Stress verursacht werden. Oxidativer Stress, mit Überproduktion freier Sauerstoffradikale, kann durch natives oder oxidiertes LDL unterhalten werden, das zu einer verminderten endothelialen L-Arginin-Aufnahme und damit gestörter NO-Synthase-Aktivität führt. Asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) ist ein endogener NOS-Inhibitor, der ebenfalls zu einer verminderten endothelabhängigen Vasodilatationskapazität führt (3, 39). Oxidiertes LDL steigert ADMA in Endothelzellen und reduziert dessen Abbau durch Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase, wodurch die Endotheldysfunktion verstärkt wird. Eine Endotheldysfunktion mit reduzierter Bioverfügbarkeit von NO kann auch durch eine verminderte Verfügbarkeit von Tetrahydrobiopterin, einem essentiellen Cofaktor für die NO-Synthese verursacht sein (50). Prostaglandine hingegen führen unabhängig von der NO-Synthase zu einer Vasodilatation.

2.2 Methodik der Endothelfunktionsprüfung

Die Endothelfunktion, d.h. die Fähigkeit des Endothels auf verschiedene Stimuli NO-vermittelte Effekte zu induzieren, ist nicht nur experimentell, sondern auch bei Patienten in vivo invasiv und nicht-invasiv messbar.

Nicht-invasiv kann mittels hochauflösendem Ultraschall die flußabhängige Zunahme des Gefäßdurchmessers (z.B. der A. radialis) auf eine - durch vorausgegangene distale Ischämie induzierte - Hyperämie gemessen werden (8, 13, 48). Diese flußabhängige Vasodilatation (FMD) spiegelt die Fähigkeit des Endothels NO zu produzieren wieder. Durch die Gabe von L-NMMA, einem exogenen NOS-Inhibitor, kann diese endothelvermittelte flußabhängige Vasodilatation blockiert werden (28), was die Abhängigkeit dieser Messungen von endothelalem NO unterstreicht. Die Funktionsfähigkeit der glatten Gefäßmuskulatur kann durch die Gabe von exogenem NO z.B. in Form von Trinitroglycerin sublingual geprüft werden. Gemessen wird dabei die maximale Dilatationskapazität des Gefäßes, zu der die endothelabhängige Vasodilatation in Relation gesetzt werden kann (8, 13, 48).

Die Endothelfunktion der Koronararterien kann nur invasiv sicher bestimmt werden. Bei epikardialen Gefäßen kann die endothelabhängige Vasodilatation durch die intracoronare Gabe von Acetylcholin (Bindung an Muskarinrezeptoren) oder Scherkraftvermittelt, nach Induktion von epikardialer Hyperämie (Vasodilatation der koronaren Mikrozirkulation durch distale intrakoronare Applikation von Adenosin mittels Infusionskatheter) im Katheterlabor gemessen werden (23, 26, 29, 33, 42, 46, 57, 60, 61, 62). Zur Endothelfunktionsprüfung der koronaren Mikrozirkulation sind - neben Messungen der Durchmesseränderungen der epikardialen Gefäße durch quantitative Koronarangiographie - Messungen der intrakoronaren Blutflussgeschwindigkeit mittels Dopplerdraht nach Gabe von Acetylcholin erforderlich, um den koronaren Blutfluß als Parameter der endothelialen NO-Produktion der koronaren Mikrozirkulation zu berechnen. Die endothelunabhängige maximale Vasodilatationskapazität der Mikrozirkulation wird nach Gabe von Adenosin bestimmt.

Direktere Messungen der NO-Produktion in verschiedenen Gefäßabschnitten sind schwierig. Die Halbwertszeit von NO ist sehr kurz (<1 Sekunde), da es von freien Radikalen, wie dem Superoxidanion, gebunden bzw. inaktiviert wird, sowie mit Oxyhämoglobin reagiert. Indirekte NO-Effekte könnten durch die Bildung von S-Nitroso-Thiolen und Metal-Nitrosyl-Komplexen vermittelt werden, die als zirkulierende NO-Reservoir dienen können.

Die als endothelabhängige Vasodilatation gemessene Endothelfunktion stellt einen Index für die NO-Bioaktivität dar. Insgesamt ist die Endothelfunktion ein ausgezeichnetes Barometer für das kardiovaskuläre Risiko. In der Messung der Endothelfunktion wird die gesamte Bandbreite an Einflussfaktoren, die zur Entwicklung oder Vermeidung kardiovaskulärer Ereignisse beitragen, subsummiert und aufgewogen.

2.3 Klinische Bedeutung der Endothelfunktion

Die Endothelfunktion spielt eine zentrale Rolle bei der Entstehung vaskulärer Erkrankungen. Eine Endotheldysfunktion ist nicht erst bei manifester Arteriosklerose

(61) oder Herzinsuffizienz (18, 24, 30, 63) nachweisbar, sondern bereits bei Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren wie Rauchen, Übergewicht, Hyperlipoproteinämie, arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus (Hyperinsulinämie / Insulinresistenz) oder familiärer Belastung (6-9, 14, 29, 42, 49, 57). Die Endothelfunktion stellt einen Surrogatparameter zur Beurteilung des kardiovaskulären Risikos eines Patienten dar, der als endothelabhängige Vasodilatation peripherer oder koronarer Arterien gemessen werden kann.

Kardiovaskuläre Ereignisse treten vermehrt bei Patienten mit Endotheldysfunktion auf (23, 46, 49). Die prognostische Bedeutung der Endothelfunktion wurde sowohl bei Patienten mit geringer oder signifikanter Arteriosklerose (23, 46, 49), als auch bei Patienten ohne nachweisbare koronare Herzerkrankung (23) festgestellt. Nach Herztransplantation ist eine Endotheldysfunktion mit der Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie und einer erhöhten Mortalität durch Transplantatversagen oder plötzlichen Herztod assoziiert (15, 26, 59, 60).

Die Messung der Endothelfunktion am Patienten ermöglicht eine individuelle Risikostratifizierung hinsichtlich kardiovaskulärer Ereignisse und ist somit ein wertvolles diagnostisches Werkzeug von hoher klinischer Relevanz.

2.4 Therapieoptionen bei Endotheldysfunktion

Da die Endothelfunktion für die Prognose der Patienten hinsichtlich der Entwicklung kardiovaskulärer Ereignisse von Bedeutung ist, wurden verschiedene Substanzen und Maßnahmen hinsichtlich ihres Potentials der Verbesserung der Endothelfunktion untersucht. Unter Therapie mit Angiotensin II/1 Rezeptor Antagonisten (Sartane) (1, 10, 28, 40), gewebespezifischen ACE-Inhibitoren (1, 14, 27, 28, 34), HMG-CoA-Reduktase Inhibitoren (Statine) (36), Antioxidantien (Vitamin E, Vitamin C, Folsäure, Tetrahydrobiopterin (50), 5-Methyltetrahydrofolsäure, Flavonoide), Stimulatoren der endothelialen Östrogenrezeptoren (durch Östrogen, Tamoxifen oder Genistein), Endothelin-Rezeptor Blockern und durch Suppression inflammatorischer Prozesse (41) wie mit TNF- α Antagonisten (Etanercept) konnte eine Verbesserung der Endothelfunktion nachgewiesen werden. Auch mit einer Modifizierung des

Lebensstils „lifestyle modification“ (mediterrane Kost, fettarme Diät, regelmäßige aerobe sportliche Betätigung, Ausdauertraining, Abstellen des Nikotinkonsums, Gewichtsabnahme) kann eine Verbesserung der Endothelfunktion erreicht werden. Für andere Substanzen, wie L-Arginin bleiben die Ergebnisse widersprüchlich (39). In wie weit eine Rückbildung der Endotheldysfunktion durch verschiedene Interventionen tatsächlich mit einer Abnahme kardiovaskulärer Ereignisse und damit einer besseren Prognose für die Patienten assoziiert ist, bleibt zu klären.

3 Fragestellung und Zielsetzung

Bei Patienten mit kardialen Symptomen wie Angina pectoris, Leistungsminderung oder Palpitationen ohne Nachweis einer signifikanten Arteriosklerose oder Klappenvitien bleibt die Diagnose oft unsicher und die Prognose unklar. Unabhängig von der Ätiologie der Symptome könnte das Vorliegen einer Endotheldysfunktion, als gemeinsame Endstrecke unterschiedlicher Einflussfaktoren, bei einigen Patienten die Symptome zumindest teilweise erklären. Die Endothelfunktionsprüfung könnte bei einem derartig gemischten Kollektiv symptomatischer Patienten eine Risikostratifizierung ermöglichen und die Entscheidung zur Therapie beeinflussen.

Ein Teilkollektiv dieser Patienten sind Patienten mit immunhistologischem Nachweis einer kardialen Entzündungsreaktion in Myokardbiopsien. Die immunhistologische Untersuchung von Myokardbiopsien bei Patienten mit entzündlicher Kardiomyopathie zeigt eine inflammatorische Immunreaktion, die nicht nur das Myokard, sondern auch das Gefäßendothel betrifft (31, 35). Dies legt die Hypothese nahe, dass bei diesen Patienten auch eine Endotheldysfunktion besteht, zumal auch der Nachweis systemischer inflammatorischer Marker mit einer Endotheldysfunktion (17, 20, 25, 41, 56) und einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Ereignissen in Zusammenhang gebracht wurde (43, 44). In der ersten Studie wurde daher untersucht, ob der immunhistologische Nachweis einer kardialen Entzündungsreaktion bzw. endothelialen Aktivierung in Myokardbiopsien mit einer klinisch nicht-invasiv nachweisbaren Endothel-dysfunktion peripherer Arterien assoziiert ist.

Ein weiteres Teilkollektiv sind Patienten mit einer myokardialen Viruspersistenz (32, 37, 38), mit oder ohne zusätzlich bestehender myokardialer inflammatorischer Reaktion. Viren könnten über direkte endotheldestruktive Prozesse oder über induzierte Immunreaktionen eine Endotheldysfunktion verursachen. In einer zweiten Studie wurde daher untersucht, in wie weit bei Patienten eine myokardiale Viruspersistenz - direkt oder über die Induktion inflammatorischer Prozesse - mit einer Endotheldysfunktion peripherer Arterien assoziiert ist.

Um die Effekte von myokardialer Leukozyteninfiltration, myokardialer Viruspersistenz oder endothelialer Aktivierung exakter zu evaluieren, wurde in einer dritten Studie die koronare Mikrozirkulation untersucht - das Gefäßbett, aus dem auch die Myokardbiopsien stammen. Es wurde untersucht, ob der immunhistologische bzw. molekularbiologische Nachweis von myokardialen Leukozyteninfiltraten, endothelialer Aktivierung oder myokardialer Viruspersistenz in Myokardbiopsien mit einer bei Patienten in vivo nachweisbaren Endotheldysfunktion der koronaren Mikrozirkulation assoziiert ist.

Da die Endothelfunktionsprüfung an Koronararterien nur invasiv möglich ist, die der peripheren Arterien jedoch nicht-invasiv und da die Endothelfunktion für die Patienten prognostisch von Bedeutung ist, wurde in der folgenden Studie untersucht, ob für Patienten mit Angina pectoris ohne angiographisch nachweisbare Arteriosklerose ein Zusammenhang zwischen epikardialer und systemischer Endothelfunktion besteht. Dies könnte die Grundlage für eine zukünftige nicht-invasive Risikostratifizierung in diesem Patientenkollektiv schaffen.

Eine Erklärung für den Zusammenhang zwischen epikardialer und systemischer Endothelfunktion könnten zirkulierende Zytokine liefern. Veränderungen im Zytokinmuster bei Herzinsuffizienz (16, 51, 52), systemischer Inflammation oder nach Herztransplantation (60) sind bekannt. Diese könnten auch bei der Entwicklung einer Endotheldysfunktion eine Rolle spielen. Bei Patienten mit nicht-ischämischer Herzmuskelerkrankung wurden daher diese Zytokine im venösen Serum gemessen, um die Frage zu beantworten ob - und wenn ja, welche - in der Peripherie zirkulierenden Zytokine mit einer systemischen Endotheldysfunktion assoziiert sind.

Ziel der dargestellten Studien war der Gewinn von Erkenntnissen über ein gemischtes, kardial symptomatisches Patientenkollektiv, bei dem mit konventionellen Untersuchungsmethoden einschließlich EKG, Echokardiographie und Koronarangiographie keine eindeutige Diagnose zu stellen ist. Die Endothelfunktionsprüfung könnte, unabhängig von der Grunderkrankung, eine Risikostratifizierung ermöglichen und die Symptome erklären. Inflammatorische Prozesse, wie Leukozyteninfiltrate, endotheliale Aktivierung, myokardiale Viruspersistenz und zirkulierende Zytokine wurden als möglich Ursache der Endotheldysfunktion geprüft.

4 Eigene Arbeiten

4.1 Die Endotheldysfunktion peripherer Arterien bei Patienten mit immunhistologisch nachgewiesener myokardialer Inflammation korreliert mit der endothelialen Expression humaner Leukozytenantigene und Adhäsionsmoleküle in Myokardbiopsien

Bei der Untersuchung von Myokardbiopsien bei Patienten mit kardialen Symptomen wie Angina pectoris, Leistungsminderung oder Palpitationen, einhergehend mit EKG-Veränderungen oder echokardiographischen Auffälligkeiten im myokardialen Kontraktionsablauf ohne signifikante Koronarstenosen kann häufig ein myokardialer Entzündungsprozess nachgewiesen werden, der nicht nur das Myokard, sondern auch das Gefäßendothel betrifft. Myokardiale Leukozyteninfiltrate und endotheliale Aktivierung, d.h. vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen, wie HLA-1, HLA-DR und ICAM-1, sind immunhistologisch nachweisbar (31, 35), die reine histologische Beurteilung ist hierfür nicht ausreichend. Da die Gefäßwand in den inflammatorischen Prozess einbezogen ist, liegt die Vermutung nahe, dass damit eine Endotheldysfunktion assoziiert ist. Ziel der vorliegenden Studie war zu prüfen, in wie weit myokardiale Inflammation und endotheliale Aktivierung mit einer klinisch nachweisbaren Endotheldysfunktion assoziiert sind. Da die Expression von Adhäsionsmolekülen von proinflammatorischen Zytokinen reguliert wird, die ihre Wirkung nicht nur lokal, sondern zirkulierend auch systemisch in peripheren Gefäßen entfalten können, wurde als ersten Ansatz der Endothelfunktionsprüfung bei diesem Patientenkollektiv die nicht-invasive Methode mittels Ultraschall an peripheren Gefäßen gewählt.

Vallbracht KB, Schwimmbeck PL, Seeberg B, Kuhl U, Schultheiss HP: Endothelial Dysfunction of Peripheral Arteries in Patients with Immunohistologically Confirmed Myocardial Inflammation Correlates with Endothelial Expression of Human Leukocyte Antigens and Adhesion Molecules in Myocardial Biopsies. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:515-20.

4.2 Eingeschränkte endothelabhängige flußinduzierte Vasodilatation (FMD) systemischer Arterien bei Patienten mit myokardialer Virus Persistenz

Bei Patienten mit kardialen Symptomen ohne Nachweis signifikanter Koronarstenosen oder Klappenvitien kann neben, aber auch unabhängig von inflammatorischen Prozessen eine myokardiale Viruspersistenz nachweisbar sein. Viren könnten durch direkte destruktive Prozesse am Endothel, wie z.B. bei Parvoviren, oder über die Initialisierung einer Immunantwort zu einer Endotheldysfunktion führen. Myokardiale Viruspersistenz kann in Myokardbiopsien über die Detektion von Virusgenom mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) nachgewiesen werden (4, 5, 11, 19, 38, 39, 47). Ziel dieser Studie ist es, den Einfluss von myokardialer Viruspersistenz auf die Endothelfunktion dieser Patienten zu prüfen.

Vallbracht KB, Schwimmbeck PL, Kuehl U, Seeberg B, Schultheiss HP: Endothelium-Dependent Flow-Mediated Vasodilation of Systemic Arteries Is Impaired in Patients With Myocardial Virus Persistence. *Circulation* 2004;110:2938-45.

4.3 Verschiedene Aspekte der Beeinflussung der Endothelfunktion in der koronaren Mikrozirkulation unter Berücksichtigung von myokardialer Viruspersistenz, endothelialer Aktivierung und myokardialer Leukozyteninfiltration

Myokardiale Leukozyteninfiltrate, endotheliale Aktivierung und myokardiale Viruspersistenz sind mit einer Endotheldysfunktion assoziiert, die bei den bisherigen Untersuchungen in peripheren Arterien nachgewiesen wurde. Um die Beeinflussung der Endothelfunktion durch diese Parameter weiter zu differenzieren, wurde die endothelabhängige Vasodilatation in dem Gefäßbett gemessen, das auch in den Myokardbiopsien untersucht wird, der koronaren Mikrozirkulation. Die Endothelfunktionsprüfung dieser Gefäßabschnitte erfolgt invasiv im Herzkatheterlabor, nach lokaler intracoronarer Infusion von Acetylcholin (ACh) über einen Infusionskatheter. Aus den Messungen des Durchmessers mittels quantitativer Koronarangiographie (QCA) und der Blutflußgeschwindigkeit mittels intrakoronarem Dopplerdraht in der mittleren LAD wird der koronare Blutfluß (CBF) berechnet. Die Acetylcholin induzierte Änderung des koronaren Blutflusses (Δ CBF) bezogen auf den Ausgangswert spiegelt die Endothelfunktion der Mikrozirkulation wieder. Die endothelunabhängige Vasodilatation wird mit Adenosin geprüft.

Vallbracht KB, Schwimmbeck PL, Kühl U, Rauch U, Seeberg B, Schultheiss HP:
Differential Aspects of Endothelial Function of the Coronary Microcirculation
Considering Myocardial Virus Persistence, Endothelial Activation, and Myocardial
Leukocyte Infiltrates. *Circulation* 2005;111:1784-91.

4.4 Korrelation zwischen epikardialer und systemischer flussabhängiger Vasodilatation (FMD) bei Patienten mit atypischer Angina pectoris ohne Arteriosklerosenachweis

Bisher konnte zwischen koronarer und systemischer Endotheldysfunktion noch kein eindeutiger Zusammenhang nachgewiesen werden. Bei Patienten mit Koronarsklerose wurde ein „enger Zusammenhang“ beschrieben (2), für kardial symptomatische Patienten ohne signifikante Koronarstenosen oder manifeste Herzinsuffizienz wurde dies bisher nicht untersucht. Die Bestätigung eines Zusammenhangs zwischen koronarer und systemischer Endothelfunktion ist für zukünftige Studien, sowie für den möglichen Einsatz der Technik zum Risikoscreening von Bedeutung, da die Messung der Endothelfunktion in peripheren Arterien nicht-invasiv möglich ist, die Bestimmung der koronaren Endothelfunktion jedoch nur invasiv erfolgen kann.

Um die Vergleichsmöglichkeiten der Endothelfunktion peripher und kardial zu optimieren, wurde als Methode die flussabhängige Vasodilatation (FMD) in beiden Gefäßbereichen zur Prüfung der Endothelfunktion herangezogen. Die Endothelfunktion epikardialer Arterien wurde während der Herzkatheteruntersuchung bestimmt, gemessen wurde die Durchmesseränderung der proximalen LAD auf reaktive Hyperämie, induziert von im mittleren Drittel der LAD (distal) über einen Infusionskatheter administriertem Adenosin (FMDc). Die Endothelfunktion der A. radialis wurde als Hyperämie induzierte Vasodilatation (FMDp) nach distaler Ischämie durch Manschettenokklusion gemessen. Endothelunabhängige Vasodilatation wurde koronar und peripher mit Trinitroglycerin bestimmt.

Vallbracht-Israng KB, Morguet A, Schwimmbeck PL: Correlation of Epicardial and Systemic Flow Mediated Vasodilation (FMD) in Patients with Atypical Angina but No Evidence of Atherosclerotic Disease. Can J Cardiol. 2007;23(13):1054-60.

Assoziation zwischen Zytokinen und endothelabhängiger, flussvermittelter Vasodilatation (FMD) systemischer Arterien bei Patienten mit nicht-ischämischer Kardiomyopathie

Bei Patienten mit kardialen Symptomen ohne Nachweis signifikanter Koronarstenosen oder Klappenvitien wurde eine Korrelation zwischen der Endothelfunktion in Koronararterien und peripheren Arterien festgestellt. Als Erklärung für diesen Zusammenhang könnten zirkulierende Zytokine eine Rolle spielen. Die Prüfung eines möglichen Zusammenhanges zwischen zirkulierenden Zytokinen und Endothelfunktion war Ziel der vorliegenden Studie. Untersucht wurde der Einfluß einer Auswahl pro- und antiinflammatorischer Zytokine, die auch bei Herzinsuffizienz oder TH-1- bzw. TH-2-vermittelten Immunantworten eine Rolle spielen, auf die Endothelfunktion peripherer Arterien.

Vallbracht-Israng KB, Kazak I, Schwimbeck PL: Association of Cytokines with Endothelium Dependent Flow Mediated Vasodilation (FMD) of Systemic Arteries in Patients with Non-Ischemic Cardiomyopathy. *Cardiovascular Ultrasound* 2007;5:49.

5 Diskussion

In den vorliegenden Studien wurden Patienten mit kardialen Symptomen wie Angina pectoris, Leistungsminderung oder Palpitationen ohne Nachweis einer signifikanten Arteriosklerose oder Klappenvitien in Bezug auf ihre Endothelfunktion untersucht, um die Möglichkeit einer zukünftigen Risikostratifizierung hinsichtlich kardiovaskulärer Ereignisse zu prüfen. Bei definierten Untergruppen dieses Patientenkollektivs wurde die Endothelfunktion in verschiedenen Gefäßregionen mit unterschiedlichen Methoden geprüft. Verschiedene neue Parameter, die die Endothelfunktion beeinflussen könnten, wurden in mehreren Studien evaluiert, insbesondere endotheliale Aktivierung, myokardiale Inflammation, myokardiale Viruspersistenz und zirkulierende Zytokine. Es wurde eine Korrelation zwischen peripherer und kardialer Endothelfunktion festgestellt, was bedeutet, dass für künftige Studien oder zur Risikostratifizierung - bei dem untersuchten Patientenkollektiv - die nicht-invasive, periphere Endothelfunktionsprüfung ausreichend ist und Rückschlüsse auf die Endothelfunktion der Koronararterien erlaubt.

Um den Einfluß anderer Faktoren, die mit einer Endotheldysfunktion assoziiert sind zu minimieren, wurden in den vorliegenden Studien Patienten mit höhergradig eingeschränkter systolischer linksventrikulärer Funktion (EF < 35%), Diabetes mellitus, multiplen anderen kardiovaskulären Risikofaktoren wie Rauchen, arterielle Hypertonie oder Hyperlipoproteinämie oder mit manifester Arteriosklerose ausgeschlossen. In multivariaten Analysen wurde der Einfluß von myokardialer Inflammation, endothelialer Aktivierung, myokardialer Viruspersistenz und bestimmter zirkulierender Zytokine auf die Endothelfunktion bestätigt.

In der ersten Studie wird eine periphere Endotheldysfunktion bei Patienten mit myokardialer Inflammation festgestellt. Der Schweregrad der Endotheldysfunktion korreliert mit dem Ausmaß der endothelialen Expression von HLA-1, HLA-DR und ICAM-1 in Myokardbiopsien. Da andere Faktoren mit Einfluss auf die Endothelfunktion ausgeschlossen wurden, können die Ergebnisse als direkte

Interaktion zwischen der endothelialen Aktivierung bei inflammatorischen Prozessen und Endotheldysfunktion interpretiert werden. Die endothelunabhängige Vasodilatation wird nicht von Inflammation oder endothelialer Aktivierung beeinflusst. Die Endotheldysfunktion peripherer Arterien bei Patienten mit myokardialer Inflammation könnte entweder durch systemische endotheliale Adhäsionsmolekülexpression bei generalisierter vaskulärer Inflammation oder durch zirkulierende Zytokine, die durch den kardialen Inflamationsprozess induziert werden, erklärt werden.

In der zweiten Studie wurde eine Endotheldysfunktion bei Patienten mit myokardialer Viruspersistenz festgestellt, die unabhängig vom Vorliegen einer myokardialen Inflammation oder endothelialen Aktivierung auftreten kann. Sind myokardiale Inflammation und/oder endotheliale Aktivierung und Viruspersistenz koexistent, ist die Endotheldysfunktion besonders ausgeprägt. Bei diesen Patienten ist auch die sonst erhaltene endothelunabhängige Vasodilatation etwas eingeschränkt, was als Hinweis für strukturelle Gefäßveränderungen mit gestörter Funktion der glatten Gefäßmuskulatur, zusätzlich zum Endothelzellschaden, bei ausgeprägten myokardialen und endothelialen immunologisch/infektiologischen Prozessen zu werten ist. Der genaue Mechanismus, der bei Patienten mit myokardialer Viruspersistenz zu einer Endotheldysfunktion peripherer Arterien führt, kann mit der vorliegenden Studie nicht geklärt werden. Einerseits kann auch eine lokale myokardiale Viruspersistenz zirkulierende Zytokine induzieren, die zu einer systemischen Endotheldysfunktion führen. Andererseits kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Viruspersistenz nicht alleine auf das Herz beschränkt ist, sondern auch in anderen Gefäßen im Endothel bzw. perivaskulär besteht.

In einer dritten Studie wurde die Endothelfunktion der koronaren Mikrozirkulation im Hinblick auf myokardiale Inflammation, endotheliale Aktivierung und myokardiale Viruspersistenz untersucht. Endotheliale Funktionstestung und Evaluierung der Gewebeproben zielen hierbei auf die selbe Gefäßregion, die koronare Mikrozirkulation. Die untersuchten Einflussfaktoren myokardiale Inflammation, endotheliale Aktivierung und myokardiale Viruspersistenz können unabhängig von

einander zu einer Endotheldysfunktion der koronaren Mikrozirkulation führen, die jedoch im Zusammenspiel der Faktoren besonders ausgeprägt ist. Um die Frage zu beantworten welcher Virustyp über welchen Mechanismus zu einer Endotheldysfunktion führt, sind die Patientenzahlen zu gering und Koinfektionen mit verschiedenen Viren zu häufig.

In einer vierten Studie wurden Patienten mit atypischer Angina pectoris untersucht, bei denen angiographisch keine Arteriosklerose nachweisbar war. Da kein intravaskulärer Ultraschall durchgeführt wurde, kann eine subklinische Arteriosklerose nicht ausgeschlossen werden. Obwohl Patienten mit Diabetes mellitus oder mehr als einem der anderen kardiovaskulären Risikofaktoren aus der Studie ausgeschlossen wurden, besteht die Möglichkeit, dass einzelne Risikofaktoren die Endothelfunktion mit beeinflussen oder als verstärkender Faktor mitwirken. Dies hat jedoch keinen Einfluss auf die eigentliche Fragestellung, dem Nachweis einer Korrelation zwischen kardialer und systemischer Endothelfunktion. Die Bestätigung dieser Korrelation bei Messung der Endothelfunktion als flussabhängige Vasodilatation in epikardialen Gefäßen und systemischen Arterien ist klinisch relevant, da es in Zukunft bei Patienten mit atypischer Angina pectoris das diagnostische Vorgehen, die Risikostratifizierung und die Therapieentscheidungen vereinfachen könnte. Nicht-invasive Messungen der flussabhängigen Vasodilatation an peripheren Arterien sind bei diesen Patienten ausreichend und spiegeln die Endothelfunktion der Koronararterien wieder, die nur invasiv gemessen werden kann. Die Ergebnisse können nicht direkt auf Patienten mit koronarer Herzerkrankung oder anderer manifester Arteriosklerose übertragen werden, da strukturelle Gefäßveränderungen die Vasodilatationskapazität generell einschränken und diese Patienten nicht in die vorliegende Studie eingeschlossen wurden.

In der fünften Studie wurde bei Patienten mit nicht-ischämischer Kardiomyopathie ein Zusammenhang zwischen zirkulierenden Zytokinen und peripherer Endotheldysfunktion festgestellt. Patienten mit akuten inflammatorischen Prozessen wurden ausgeschlossen, um chronische Veränderungen zu beurteilen. Die Endotheldysfunktion ist mit erhöhten Spiegeln des proinflammatorisch wirkenden

Zytokins sIL-12p7 assoziiert, für die anderen untersuchten Zytokine fand sich kein eindeutiger Zusammenhang. Ob die Zytokinproduktion lokal im Herz in Arealen der Inflammation oder Viruspersistenz stattfindet oder einer generalisierten vaskulären Entzündungsreaktion zugrunde liegt bleibt zu differenzieren.

Die Ergebnisse sind von klinischer Relevanz, da die Endothelfunktion prognostisch von Bedeutung ist. Für Patienten mit Arteriosklerose und nach Herztransplantation wurde dies bereits gezeigt (24, 15, 24, 46, 49), für Patienten mit kardialen Symptomen ohne Nachweis einer signifikanten Arteriosklerose muss dies noch bestätigt werden. Eine nicht-invasive Risikostratifizierung als Grundlage für therapeutische Entscheidungen würde bei diesen Patienten das klinische Vorgehen deutlich vereinfachen. Die Endothelfunktionsprüfung bietet hierfür das Potential.

6 Zusammenfassung

Bei Patienten mit kardialen Symptomen, wie Angina pectoris, Palpitationen oder Leistungsminderung, sind nicht immer signifikante Stenosen der Koronararterien, Klappenvitien oder eine schwere Herzinsuffizienz nachweisbar. In diesen Fällen könnte den Beschwerden eine Endotheldysfunktion zugrunde liegen, was prognostisch von Bedeutung ist. Bei Patienten mit einer Endotheldysfunktion treten vermehrt kardiovaskuläre Ereignisse auf.

In den vorliegenden Studien wurde dieses Patientenkollektiv unter dem Aspekt der Endotheldysfunktion differenzierter untersucht. Die Ergebnisse können wie folgt zusammengefasst werden:

Eine myokardiale Entzündungsreaktion ist mit einer Endotheldysfunktion peripherer Arterien assoziiert. Der Schweregrad der Endotheldysfunktion korreliert mit dem Ausmaß der endothelialen Aktivierung, d.h. der Expression von Adhäsionsmolekülen.

Myokardiale Viruspersistenz ist mit einer Endotheldysfunktion peripherer Arterien assoziiert. Die Endotheldysfunktion bei Patienten mit Viruspersistenz kann unabhängig von myokardialer Inflammation oder endothelialer Aktivierung auftreten, wird jedoch von diesen Faktoren verstärkt.

Myokardiale Viruspersistenz und myokardiale Inflammation / endotheliale Aktivierung sind mit einer Endotheldysfunktion der koronaren Mikrozirkulation assoziiert. Jeder dieser Faktoren kann unabhängig von den anderen zu einer Endotheldysfunktion der koronaren Mikrozirkulation führen, im Zusammenspiel wird die Endotheldysfunktion jedoch verstärkt.

Bei Patienten mit Angina pectoris ohne signifikante Arteriosklerose besteht zwischen der Endothelfunktion epikardialer Arterien und systemischer peripherer Arterien eine signifikante Korrelation, wenn in beiden Gefäßabschnitten die flussabhängige Vasodilatation gemessen wird. Dieser Zusammenhang kann künftig die Diagnostik der Endotheldysfunktion, Risikostratifizierung und therapeutische Entscheidungen vereinfachen, da aus der nicht-invasiv an peripheren Arterien bestimmten Endothelfunktion auf die kardiale Endothelfunktion rückgeschlossen werden kann, deren Bestimmung nur invasiv reproduzierbar möglich ist.

Eine Endotheldysfunktion peripherer Arterien ist mit einer erhöhten Serumkonzentration von sIL-12p7 assoziiert. Für andere Zytokine konnte ein derartiger Zusammenhang nicht nachgewiesen werden. Zirkulierendes sIL-12p7 wäre eine Erklärung dafür, dass die Endotheldysfunktion bei kardialen inflammatorischen Prozessen nicht auf die Koronararterien beschränkt ist, sondern auch systemisch in peripheren Arterien nachweisbar ist.

Insgesamt ermöglichen die bisherigen Untersuchungen eine differenziertere Betrachtung von Patienten mit kardialen Symptomen ohne Koronarstenosen, im Hinblick auf die Endothelfunktion und inflammatorische Parameter. Eine Endotheldysfunktion ist, in Zusammenhang mit myokardialen inflammatorischen Prozessen, Viruspersistenz oder zirkulierenden Zytokinen, in systemischen Arterien, epikardialen Arterien sowie in der koronaren Mikrozirkulation nachweisbar. Ob der Nachweis einer Endotheldysfunktion in diesem Patientenkollektiv mit einer erhöhten Zahl an kardiovaskulären Ereignissen assoziiert ist und somit, wie bei Arteriosklerose oder Herzinsuffizienz, zur Risikostratifizierung geeignet ist, bleibt abzuwarten. Die Verbesserung der Endothelfunktion durch verschiedene therapeutische Ansätze soll in Zukunft die Rate an kardiovaskulären Ereignissen senken.

7 Literaturverzeichnis

1. Anderson TJ, Elstein E, Haber H, Charbonneau F. Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium Channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary artery disease (BANFF study) *J Am Coll Cardiol* 2000;35:60.
2. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, et al.: Close relationship of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Cardiol.* 1995;26:1235-41.
3. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A et al.: Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterinemia. *Circulation* 1998;98:1842
4. Bultmann BD, Klingel K, Sotlar K, Bock CT, Baba HA, Sauter M, Kandolf R: Fatal parvovirus B19-associated myocarditis clinically mimicking ischemic heart disease: An endothelial cell-mediated disease. *Human Pathol.* 2002;34:92-5.
5. Burgert HG, Maryanski JL, Kvist S: E3/19 k protein of adenovirus type 2 inhibits lysis of cytolytic T lymphocytes by blocking cell-surface expression of histocompatibility class I antigens. *ProcNatlAcadSci USA* 1987;84:1356-60.
6. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE: Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk-factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol.* 1994;24:1468-1474.
7. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, Deanfield JE: Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation.* 1993;88(part 1):2149-2155.
8. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992;340:1111-1115.
9. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ et al.: Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:471

10. Cheetham C, Collis J, O'Driscoll G, et al.: Losartan, an angiotensin type 1 receptor antagonist, improves endothelial dysfunction in non-insulin-dependent diabetes. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1461
11. Chomczynski P, Sacchi N: Single step method of RNA isolation by guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Annal Biochem.* 1987;162:156-9.
12. Chow AY, Chin C, Dahl G, Rosenthal DN: Anthracyclines cause endothelial injury in pediatric cancer patients: a pilot study. *J Clin Oncol* 2006;24:925
13. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R: Guidelines for the ultrasound assessment of flow mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:257-265.
14. Creager MA, Roddy M: Effect of captopril and enalapril on endothelial function in hypertensive patients. *Hypertension.* 1994;24:499-505.
15. Davis SF, Yeung AC, Meredith IT, Charbonneau F, Ganz P, Selwyn AP, Anderson TJ: Early endothelial dysfunction predicts the development of transplant coronary artery disease at 1 year posttransplant. *Circulation.* 1996;93:457-462.
16. Deswal A, Peterson NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL: Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone Trial (VEST). *Circulation* 2001;103:2055-2059.
17. Dhillon R, Clarkson P, Donald AE, Powe AJ, Nash M, Novelli V, Dillon MJ, Deanfield JE: Endothelial dysfunction late after Kawasaki disease. *Circulation.* 1996;94:2103-2106.
18. Drexler H, Hayoz D, Münzel T, Horning B, Just H, Brunner HR, Zelis R: Endothelial function in chronic congestive heart failure. *Am J Cardiol.* 1992;69:1596-1601.
19. Erdman DD, Durigon EL, Wang QY, Anderson LJ: Genetic diversity of human parvovirus B19: sequence analysis of the VP1/VP2 gene from multiple isolates. *J Gen Virol.* 1996; 77:2767-74

20. Fichtlscherer S, Rosenberger G, Walter DH, Breuer S, Dimmeler S, Zeiher AM: Elevated C-Reactive Protein Levels and Impaired Endothelial Vasoreactivity in Patients with Coronary Artery Disease. *Circulation* 2000;102:1000-1006.
21. Gokce N, Holbrook M, Hunter LM, Palmisano J, Vigalok E, Keaney JF Jr, Vita JA: Acute Effects of Vasoactive Drug Treatment on Brachial Artery Reactivity. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:761-765.
22. Gooding LR, Elmore LW, Tollefson AE, Brady HA, Wold WS: A 14700 MW protein from the E3 region of adenovirus inhibits cytolysis by tumor necrosis factor. *Cell* 1988;53:341-6.
23. Halcox JP, Schenke WH, Zalos G, Mincemoyer R, Prasad A, Waclawiw MA, Nour KR, Quyyumi AA: Prognostic value of coronary vascular endothelial function. *Circulation* 2002;106:653-658.
24. Hayoz D, Drexler H, Münzel T, et al.: Flow mediated arteriolar dilation is abnormal in congestive heart failure. *Circulation.* 1993;87 (suppl VII):VII-92-VII-96.
25. Hingorani AD, Cross J, Kharbanda RK, Mullen MJ, Bhagat K, Taylor M, Donald AE, Palacios M, Griffin GE, Deanfield JE, MacAllister RJ, Vallance P: Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation* 2000;102:994-999.
26. Hollenberg SM, Klein LW, Parrillo JE et al.: Coronary endothelial dysfunction after heart transplantation predicts allograft vasculopathy and cardiac death. *Circulation* 2001;104:3091
27. Hornig B, Arakawa N, Haussmann D, Drexler H: Differential effects of quinaprilat on endothelial function of conduit arteries in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 1998;98:2842-2848.
28. Hornig B, Landmesser U, Kohler C, et al.: Comparative effect of ACE inhibition and angiotensin-1 receptor antagonism on bioavailability of nitric oxide in patients with coronary artery disease: role of superoxide dismutase. *Circulation* 2001;103:799)
29. Kern MJ, Bach RG, Mechem CJ, Caracciolo EA, Aguirre FV, Miller LW, Donohue TJ: Variations in normal coronary vasodilatory reserve stratified by

30. Kubo SH, Rector TS, Bank AJ, Williams RE, Heifetz SM: Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure. *Circulation* 1991;84:1589-96.
31. Kuehl U, Noutsias M, Seeberg B, Schultheiss HP: Immunohistological evidence for a chronic intramyocardial inflammatory process in dilated cardiomyopathy. *Heart*. 1996;75(3):295-300.
32. Kuehl U, Pauschinger M, Bock T, Klingel K, Schwimmbeck CP, Seeberg B, Krautwurm L, Poller W, Schultheiss HP, Kandolf R: Parvovirus B19 Infection Mimicking Acute Myocardial Infarction. *Circulation* 2003;108:945-50.
33. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P: Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1986;315:1046-51.
34. Mancini GBJ, Henry GC, Macaya C, et al.: Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND (Trial on Reversing Endothelial Dysfunction) Study. *Circulation* 1996;94:258.
35. Noutsias M, Seeberg B, Schultheiss HP, Kuhl U: Expression of Cell Adhesion Molecules in Dilated Cardiomyopathy. *Circulation* 1999;99:2124-2131.
36. O-Driscoll G, Green D, Taylor RR: Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 1997;95:1126.
37. Pauschinger M, Bowles NE, Fuentes-Garcia FJ, Pham V, Kuhl U, Schwimmbeck PL, Schultheiss HP, Towbin JA: Detection of adenoviral genome in adult patients with idiopathic left ventricular dysfunction. *Circulation* 1999; 99:1348-54
38. Pauschinger M, Doerner A, Kuehl U, Schwimmbeck PL, Poller W, Kandolf R, Schultheiss HP: Enteroviral RNA Replication in the Myocardium of Patients With Left Ventricular Dysfunction and Clinically Suspected Myocarditis. *Circulation* 1999; 99:889-95.
39. Piatti P, Fragasso G, Monti LD, et al.: Acute intravenous L-arginine infusion decreases endothelin-1 levels and improves endothelial function in patients with

40. Prasad A, Tupas-Habib T, Schenke WH, et al.: Acute and chronic angiotensin-1 receptor antagonism reverses endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2000;101:2349,
41. Raza K, Thambyrajah J, Townend JN, Exley AR, Hortas C, Filer A, Carruthers DM, Bacon PA: Suppression of Inflammation in Primary Systemic Vasculitis Resores Vascular Endothelial Function: Lessons for Atherosclerotic Disease? *Circulation* 2000;102:1470-1472.
42. Reddy KG, Nair RN, Sheehan HM, Hodgson JM: Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk-factors for atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 1994;23:833-43.
43. Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH: Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation.* 1998;98(8):731-733.
44. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH: Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*; 1997; 336(14):973-979.
45. Rotbart HA: PCR amplification of enteroviruses. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications.* New York, NY: Academic Press, Inc; 1990:372-7.
46. Schaechinger V, Britten MB, Zeiher AM: Prognostic Impact of Coronary Vasodilator Dysfunction on Adverse Long-Term Outcome of Coronary Heart Disease. *Circulation* 2000;101:1899-1906.
47. Smith LM, Sanders JZ, Kaiser RJ, Hughes P, Dodd C, Connell CR, Heiner C, Kent SB, Hood LE: Fluorescence Detection in automated DNA sequence analysis. *Nature.* 1986;321:674-9.
48. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, Deanfield J: Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J.* 1995;74:247-253.

49. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr, Lerman A: Long-Term Follow-Up of Patients With Mild Coronary Artery Disease and Endothelial Dysfunction. *Circulation* 2000;101:948-954.
50. Tiefenbacher CP, Bleeke T, Vahl C, et al.: Endothelial dysfunction of coronary resistance arteries is improved by tetrahydrobiopterin in atherosclerosis. *Circulation* 2000;102:2172.
51. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL: Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of left ventricular dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol*. 1996;27:1201-1206.
52. Tsutamoto T, Hisanaga T, Wada A, Maeda K, Ohnishi M, Fukai D, Mabuchi N, Sawaki M, Kinoshita M: Interleukin-6 spillover in the peripheral circulation increases with the severity of heart failure, and the high plasma level of interleukin-6 is an important prognostic predictor in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:391-398.
53. Vallbracht KB, Schwimmbeck PL, Kühl U, Rauch U, Seeberg B, Schultheiss HP: Differential aspects of endothelial function of the coronary microcirculation considering myocardial virus persistence, endothelial activation, and myocardial leukocyte infiltrates. *Circulation* 2005;111:1784-1791.
54. Vallbracht KB, Schwimmbeck PL, Kühl U, Seeberg B, Schultheiss HP: Endothelium dependent flow-mediated vasodilation of systemic arteries is impaired in patients with myocardial virus persistence. *Circulation* 2004;110:2938-2945.
55. Vallbracht KB, Schwimmbeck PL, Seeberg B, Kühl U, Schultheiss HP.: Endothelial dysfunction of peripheral arteries in patients with immunohistologically confirmed myocardial inflammation correlates with endothelial expression of human leukocyte antigens and adhesion molecules in myocardial biopsies. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:515-20.
56. Vita JA, Keaney JF Jr, Larson MG, Keyes MJ, Massaro JM, Lipinska I, Lehmann BT, Fan S, Osypiuk E, Wilson PWF, Vasan RS, Mitchell GF, Benjamin EJ: Brachial artery vasodilator function and systemic inflammation in the Framingham Offspring Study. *Circulation* 2004;110:3604-3609.

57. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish RD, Yeung AC, Vekshtein VI, Selwyn AP, Ganz P: Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation*. 1990;81:491-7.
58. Wang P, Ba ZF, Chaudry IH: Administration of tumor necrosis factor alpha in vivo depresses endothelium dependent vasorelaxation. *Am J Physiol*. 1994;266:H2535-H2541.
59. Weis M, Hartmann A, Olbrich HG, Hor G, Zeiher AM: Prognostic significance of coronary flow reserve on left ventricular ejection fraction in cardiac transplant recipients. *Transplantation* 1998;65(1):103-8.
60. Wildhirt SM, Weis M, Schulze C, Conrad N, Rieder G, Enders G, Hoeppe C, von Scheidt W, Reichart B: An association between microvascular endothelial dysfunction, transcardiac nitric oxide production and pro-inflammatory cytokines after heart transplantation in humans. *Transpl Int* 2000;13(S1): S228-34.
61. Zeiher AM, Drexler H, Wollschläger H: Modulation of coronary vasomotor tone in humans: progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991;83: 391-401
62. Zeiher AM, Krause T, Schächinger V, et al.: Impaired endothelium-dependent Vasodilation of coronary resistance vessels is associated with exercise-induced myocardial ischemia. *Circulation*. 1995;91:2345-52.
63. Zelis R, Hayoz D, Drexler H, Münzel T, Horning B, Zeiher AM, Just H, Brunner HR: Arterial dilatory reserve in congestive heart failure. *J Hypertens Suppl*. 1992; 10(6):S65-67.

8 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dietz für seine Förderung meiner wissenschaftlichen und klinischen Arbeit, Herrn Professor Greenhalgh (London), der mich zu eigenen wissenschaftlichen Projekten und meinen ersten Publikationen ermutigte sowie Herrn Professor Creager (Boston) und Herrn Professor Deanfield (London), bei denen ich die verschiedenen Methoden der Endothelfunktionsprüfung lernen konnte und die im Verlauf meiner wissenschaftlichen Tätigkeit stets zu einer kritischen Diskussion ansprechbar waren.

Mein Dank gilt außerdem meiner Familie, insbesondere meinen Eltern Gisela und Gerd Vallbracht, die mit ihrer Unterstützung, auch bei der Betreuung meiner Kinder Yven und Phil, meine wissenschaftliche und klinisch ärztliche Tätigkeit überhaupt ermöglicht haben.

9 Erklärung

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

Hiermit erkläre ich, dass

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

Datum

Unterschrift