

4 Diskussion

4.1 Die diabetische Vaskulopathie

4.1.1 Gefäßfunktion unter Typ-1-diabetischen Bedingungen

Die vorliegende Arbeit konnte eine Störung der Gefäßfunktion im Sinne einer verringerten Vasodilatation unter STZ-diabetischen Bedingungen zeigen. Sowohl die endothelvermittelte, als auch die endothelunabhängige Dilatation war signifikant erniedrigt. Zusammenfassend weisen die Ergebnisse der Gefäßfunktion auf eine kombinierte Erkrankung der Gefäße hin, in der das Endothel und andere Segmente der Widerstandsgefäße, wie die glatte Muskulatur involviert sind.

Die Frage, ob unter Typ 1-diabetischen Bedingungen eine isolierte endotheliale Dysfunktion abgrenzbar ist oder nur in Kombination mit diffusen Schädigungen der glatten Muskulatur oder der extrazellulären Matrix auftritt, wird kontrovers diskutiert. Bereits 1991 und 1998 ergaben zwei methodisch eng verwandte *in vivo* Studien unter STZ-diabetischen Bedingungen in dieser Frage vergleichbare Ergebnisse wie in der vorliegenden Arbeit und postulierten eine diabetische vaskuläre Schädigung in verschiedenen Segmenten des Gefäßes, die durch eine verminderte dilatierende Gefäßantwort auf Acetylcholin und direkten NO-Donatoren ausgezeichnet sind [95, 103]. Auch *in vitro* Studien konnten diese Hypothese bestätigen [104, 105]. Im Gegensatz dazu zeigte eine andere experimentelle Tierstudie an diabetischen Gefäßen eine isolierte Dysfunktion des Endothels bei unbeeinträchtigter endothelunabhängiger Vasodilatation unter diabetischen Bedingungen [106]. Diese Diskrepanz lässt sich zum einen dadurch erklären, dass der experimentelle Diabetes Mellitus in dieser Studie nicht durch Streptozotocin, sondern durch Alloxan induziert wurde. Ein zweiter Erklärungsansatz ist, dass die Pathogenese der diabetischen Vaskulopathie möglicherweise ihren Ursprung in einer endothelialen Dysfunktion hat, auf deren Boden sich dann diffuse Veränderung der Gefäßwand entwickeln. So konnte in einem STZ-diabetischen *in vitro* Rattenmodell schon nach 2 Wochen eine verminderte Dilatationsantwort auf Acetylcholin gefunden werden [107]. Im Einklang mit der vorliegenden Arbeit bestätigen alle Studien eine verminderte Bioverfügbarkeit von NO durch Endothelzellen im Sinne einer endothelialen Dysfunktion bei Diabetes Mellitus. Diesbezüglich sind die Beobachtungen an Patienten jedoch uneinheitlich. Sowohl über

eine normale Relaxation, als auch eine verminderte Relaxation auf Acetylcholin an peripheren Widerstandsgefäßen wurde in der Vergangenheit berichtet. Bei Typ-1 Diabetikern führte die Hemmung der NO-Bildung im Vergleich zu Kontrollpersonen zu einer geringeren Vasodilatation, woraus geschlossen werden kann, dass die basale NO-Freisetzung vermindert ist [108]. Die Reaktion auf einen Nitrodilatator war bei diesen Diabetikern geringer als bei den Kontrollpersonen, während die Reaktion auf Acetylcholin bei beiden Gruppen gleich war. Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass die endotheliale Bildung von NO bei Diabetikern nicht beeinflusst wird, während die vaskuläre glatte Muskulatur weniger empfindlich auf NO reagiert. Interessanterweise wurde die verringerte vaskuläre Reaktion auf L-NMMA, ein NO-Synthase-Inhibitor, nur bei Patienten mit Mikroalbuminurie beobachtet [109]. Die Ergebnisse dieser Studie deuten auch auf eine beeinträchtigte NO-Synthese bei Diabetes Mellitus Typ 1 hin.

4.1.2 Rolle der endothelialen Dysfunktion bei kardiovaskulären Ereignissen

In den letzten zwei Dekaden ist das Vorhandensein einer gestörten Endothelfunktion bei etlichen pathophysiologischen Prozessen im Rahmen von chronischen Krankheiten wie dem Diabetes Mellitus nachgewiesen worden. Seit der ersten Beschreibung einer endothelialen Dysfunktion an epikardialen Koronararterien 1986 [110] konnte darüber hinaus auch die übergeordnete Rolle der endothelialen Dysfunktion als Frühmanifestation der Atherosklerose gezeigt werden. Ihr kommt eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung der Atherosklerose und der damit verbundenen Plaquebildung zu [33, 111]. Die Frage, ob diese endotheliale Dysfunktion auch eine klinische Relevanz im Sinne eines Prädiktors für kardiovaskuläre Ereignisse hat, konnte erst in letzter Zeit belegt werden. Im Jahr 2003 wurde in zwei Arbeiten die Evidenz einer Assoziation zwischen einer endothelialen Dysfunktion und kardialen Ereignissen dargestellt [112, 113]. Ganz aktuell wurde im Januar 2005 im Rahmen einer multivarianten Analyse von kontrollierten Studien die Assoziation von einer koronaren oder peripheren endothelialen Dysfunktion und kardiovaskulären Ereignissen gezeigt. In diese Studie wurden fast 2500 Patienten in einem Beobachtungszeitraum von 1-92 Monaten eingeschlossen. Sie zeigte eine strenge und von anderen Risikofaktoren unabhängige Korrelation zwischen einer endothelialen Dysfunktion und kardiovaskulären Ereignissen. Ein weiteres, besonders für die Früherkennung wichtiges Ergebnis dieser großen Studie, ist die Lokalisation der endothelialen Dysfunktion bezüglich der Aussagekraft.

Interessanterweise war die Korrelation bezüglich kardiovaskulärer Ereignisse von einer endothelialen Dysfunktion am Arm und an Koronarien annähernd gleich [114]. Dieses Erkenntnis hat eine fundamentale Bedeutung für die Früherkennung von kardiovaskulären Ereignissen. So können Patienten mittels einer nicht-invasiven Gefäßdiagnostik am Arm bezüglich ihres kardiovaskulären Risikos valide stratifiziert werden. Zusammenfassend kommt der endothelialen Dysfunktion nicht nur aus pathophysiologischer Sicht eine herausragende Stellung zu, sondern auch aus Sicht der Primärprävention von kardiovaskulären Komplikationen.

4.1.3 Regulation der Adhäsionsmoleküle bei der diabetischen Vaskulopathie

Die Entzündung in diabetischen, arteriosklerotischen, peripheren Widerstandgefäßen ist gekennzeichnet durch die Migration zirkulierender immunkompetenter Zellen aus dem Blutstrom in die Gefäßwand. Das diabetische Gewebe zeigte eine signifikant erhöhte Expression von ICAM-1. Die Sicherung der Adhäsion von aktivierten Leukozyten über ICAM-1 stellt den ersten entscheidenden Schritt bei der Passage der Leukozyten aus dem Blutstrom in das entzündete Herzgewebe dar. Für die vermehrte endotheliale Adhäsion von Leukozyten über Adhäsionsmoleküle unter diabetischen Bedingungen sprechen auch folgende Befunde: *In vitro* konnte gezeigt werden, dass humane, aortale Endothelzellen, nachdem sie einem Medium mit hoher Glukosekonzentration ausgesetzt waren, einen Anstieg der ICAM-1 mRNA aufwiesen, der von einem Anstieg der ICAM-1 Proteine begleitet war [115]. Eine andere Gruppe konnte zeigen, dass Endothelzellen und Monozyten, die in Medium mit einer hohen Glukosekonzentration inkubiert wurden, eine erhöhte Adhäsionsfähigkeit aufwiesen, die wiederum durch Antikörper gegen β_2 -Integrine gehemmt werden konnte [116].

In den unbehandelten STZ-diabetischen Herzen konnte weiterhin eine stark erhöhte endotheliale Expression von VCAM-1 nachgewiesen werden. Das ist für den Hinweis einer inflammatorischen Komponente bei der endothelialen Dysfunktion bei der diabetischen Vaskulopathie von großer Bedeutung, da von VCAM-1 bekannt ist, dass es endothelial nach Aktivierung der Endothelzellen durch Zytokine exprimiert wird. Beispielsweise von TNF- α und IL-1 β ist bekannt, dass sie die Expression von VCAM-1 und ICAM-1 induzieren können [117]. Im Gegensatz dazu konnte in einer *in vitro Studie* an humanen Endothelzellen gezeigt werden, dass eine Zytokin-Lösung aus TNF- α , IFN γ und IL-1 β die Expression von VCAM-1 erhöhte, dagegen die Expression von

ICAM-1 reduzierte [118]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bezüglich der Adhäsionsmolekülexpression von gesundem Gewebe (SD) im Vergleich zu diabetischem (STZ) wurden auch am Menschen bestätigt. So wurde gezeigt, dass Patienten mit Typ 1 und Typ 2 Diabetes Mellitus höhere Plasmaspiegel an löslichem VCAM-1 und ICAM-1 aufwiesen als die gesunden Kontrollpersonen [119-121].

4.1.4 Die Rolle von inflammatorischen Markern bei Atherosklerose

Daten aus der Framminham-Studie und vielen anderen Untersuchungen führten zur Identifikation der so genannten klassischen Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen, wie Hypercholesterinämie, Hypertonie, Diabetes Mellitus oder Rauchen. Allerdings reicht die Heranziehung dieser Risikofaktoren nicht immer aus, um die Prävalenz der kardiovaskulären Erkrankungen zu erklären. So tritt zum Beispiel die koronare Herzerkrankung bei 35% der Patienten mit einem Gesamtcholesterin < 200 mg/dl auf, und es besteht eine erhebliche Überlappung der Cholesterinwerte zwischen den Populationen mit und ohne koronarer Herzerkrankung [122]. Dies kann so interpretiert werden, dass andere, bislang nicht identifizierte Risikofaktoren eine wichtige Rolle spielen. Ridker et al. [123] konnten 1997 in der Physicians` Health Study erstmalig beschreiben, dass die einmalige Messung des Serumspiegels von C-reaktivem Protein (CRP) das Risiko bis dato herzgesunder Männer, künftig einen Herzinfarkt zu erleiden, vorhersagen kann. Obwohl CRP ein unspezifischer Parameter einer Entzündungsreaktion ist, konnten in dieser Studie 543 Männer entsprechend ihrer CRP-Werte in vier Quartilen eingeteilt werden, und diejenigen in der höchsten CRP-Quartile (>2,11 mg/l) wiesen ein um den Faktor 3 erhöhtes Risiko gegenüber denjenigen in der niedrigsten CRP-Quartile (<0,55 mg/l) auf. Der Beobachtungszeitraum in dieser Arbeit betrug mehr als 8 Jahre, und es war außerordentlich erstaunlich, dass ein einmalig gemessener CRP-Wert über eine so lange Zeit seine prädiktive Aussagekraft behielt. In darauffolgenden Studien wurde diese Beobachtung bestätigt und CRP nicht nur als Risikofaktor für KHK, sondern auch für die periphere arterielle Verschlusskrankung oder für Apoplex identifiziert [124, 125]. Die Frage, ob erhöhte CRP-Werte ein Epiphänomen einer entzündlichen Gefäßerkrankung sind oder CRP selbst möglicherweise eine kausale Rolle für Atherosklerose und kardiovaskuläre Erkrankungen spielt, ist allerdings bis heute nicht geklärt.

Ein anderer Marker für ein atherosklerotisches Geschehen stellt die Gruppe der Zytokine dar. Sie sind Proteine, die Chemotaxis und Proliferation sowie die Freisetzung weiterer Transmitter induzieren oder supprimieren können. Zu den proinflammatorischen Zytokinen zählen Interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8 und TNF- α , die von Immunzellen oder Endothelzellen gebildet werden. Vom zeitlichen Ablauf sind IL-6 und TNF- α sehr frühe Inflammationsmarker im Unterschied zu CRP, welches erst nach 24-36 Stunden nachweisbar ist [126]. Eine Assoziation von erhöhten Zytokinspiegeln und dem Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden. So fand sich beispielsweise beim akuten Koronarsyndrom mit progredientem Schweregrad ein zunehmender Anstieg inflammatorischer Zytokine [127]. Aber auch bei Gesunden konnte eine prädiktive Bedeutung für einen späteren Myokardinfarkt eines Zytokines, des IL-6, nachgewiesen werden [128].

Die Quantifizierung von Adhäsionsmolekülen ist technisch aufwendiger als die von CRP, welche heute in Laboren routinemäßig durchgeführt werden kann. Da Adhäsionsmoleküle, wie die in dieser Arbeit gemessen, im Gegensatz zu CRP und Zytokinen spezifisch für Endothel- und Gefäßschädigungen sind, sind sie in Bezug auf atherosklerotische Prozesse von großer Bedeutung [129]. Ihre prädiktive Aussagekraft konnte in großen, humanen Studien nachgewiesen werden. Beispielsweise konnte bereits 1998 in einer Subanalyse der „Physicians` Health Study“ mit insgesamt 14916 Männern und einem Beobachtungszeitraum von 9 Jahren eine enge Korrelation zwischen dem Auftreten eines Myokardinfarktes und der Höhe der Plasmakonzentration von ICAM-1 gezeigt werden [130].

4.1.5 Regulation von eNOS und iNOS bei der diabetischen Vasculopathie

In niedrigen Konzentrationen stimuliert NO die Guanylatcyklase und fungiert als Mediator für eine Reihe physiologischer Gefäßprozesse [131, 132]. Durch eine inflammatorische Aktivierung der iNOS kommt es zu einer 1000fachen Steigerung der NOS-Aktivität und induziert pathologische Prozesse [133].

Im Rahmen dieser Arbeit konnte eine erhöhte Expression von eNOS und iNOS im Muskelgewebe von diabetischen Ratten (STZ) im Vergleich zu normoglykämischen Ratten (SD) nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit anderen Studien [134-136]. So konnten auch Hink et al. im STZ-Modell eine erhöhte eNOS Expression zeigen, die mit einer Hochregulation der NAD(P)H Oxidase einherging [137].

In Blutgefäßen von diabetischen Patienten konnte ebenfalls eine erhöhte eNOS Expression nachgewiesen werden, die auch mit einer verminderten NO Bioverfügbarkeit assoziiert war [138]. Besonders interessant ist, dass sich die eNOS Regulation beispielsweise in der Leber im STZ Modell zeitabhängig verändert [139].

Die endotheliale Dysfunktion bei Diabetes Mellitus wird assoziiert mit einer erniedrigten NO-Bioverfügbarkeit und einer verminderten endothelabhängigen Vasodilatation. Die pathophysiologischen Mechanismen hierfür werden jedoch kontrovers diskutiert. So führt beispielsweise eine durch Gentransfer induzierte Überexpression von eNOS in der Gefäßwand zu einer erhöhten Bioverfügbarkeit, während die konstitutive Expression von eNOS in einem apoE knockout Mausmodell zu einer Beschleunigung der Entwicklung einer Artherosklerose führt [135]. Dies zeigt, dass eine reduzierte NO-Bioverfügbarkeit nicht einfach mit einer reduzierten eNOS Expression erklärt werden kann. So ist eine normale oder erhöhte eNOS Expression kein Garant für eine physiologische NO-Bioverfügbarkeit. Diese Erkenntnisse führten zu den Konzepten der „eNOS Dysfunktion“ und der „eNOS Entkopplung“, die beide durch eine Disbalance zwischen NO-Bioverfügbarkeit und eNOS Proteinlevel charakterisiert sind [140]. In einer tierexperimentellen Studie an BB Ratten (genetisch für die Entwicklung eines Diabetes Mellitus disponiert) konnte sogar eine erniedrigte NO-Bioverfügbarkeit bei unveränderten eNOS Proteinleveln gezeigt werden [141]. Eine gesteigerte eNOS Aktivität bei Diabetes Mellitus konnte sowohl in tierexperimentellen als auch in humanen Studien nachgewiesen werden. Durch eine in vitro Inhibition eines Ubiquitin-Proteasom-Pathway konnte die eNOS Aktivität um bis zu 200 % erhöht werden [142]. Auch die Entdeckung von Nitrotyrosin, ein Marker für die Peroxynitritproduktion [143] in Plasma von diabetischen Patienten [144] zusammen mit einer erhöhten Expression von NOS und O₂-Produktion in humanen aortalen Endothelzellen nach einer Exposition von Glucose [145] und weitere Studien [146-149] unterstützen die Hypothese dieser Arbeit, dass der Diabetes Mellitus mit einer entkoppelten Produktion von NO einhergeht. So konnte für die akute Phase des Diabetes Mellitus gezeigt werden, dass die induzierbare Subform der NO-Synthase (iNOS) unter STZ-diabetischen Bedingungen aktiviert ist. iNOS konnte in Mesenterialarterien von STZ-diabetischen Ratten nach 12-14 Wochen [150], in kardialen Myozyten von STZ-diabetischen Ratten ab der 8. Woche [151] und in Thrombozyten bei Patienten mit Typ 1 und Typ 2 Diabetes nachgewiesen werden [152].

Aber auch das in dieser Arbeit verwendete STZ-Diabetes Modell führte in einer aktuellen Studie an zwei verschiedenen Mausstämmen zu einer erhöhten eNOS Proteinexpression [153]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass auch eNOS in diabetischem Gewebe massiv überexprimiert wird, untermauern dies.

4.2 Medikamentöser Einfluss auf die diabetische Vaskulopathie

4.2.1 Einfluss der AT1-Rezeptorblockade auf die endotheliale Dysfunktion

Durch eine pharmakologische AT1-Rezeptorblockade mit Candesartan, die den arteriellen Blutdruck nicht veränderte, ließ sich die endothelvermittelte Relaxation von Widerstandsgefäßen signifikant verbessern. Während der Einfluss von Candesartan auf die kardiovaskuläre Prognose bei strikter Blutdruckeinstellung zum Beispiel in der UKPDS Studie gut dokumentiert ist [81], sind die Ergebnisse kontrollierter Studien bezüglich des Einflusses auf eine endotheliale Dysfunktion beim Menschen uneinheitlich. In Kurzzeitstudien konnte unter einer 4-12 wöchigen, antihypertensiven Behandlung von Patienten mit Sartanen eine Minderung einer bestehenden endothelialen Dysfunktion nachgewiesen werden [154-156]. Speziell für das diabetische Patientenkollektiv konnte dies bisher nur für den Diabetes Mellitus Typ II und ebenfalls nur unter einer antihypertensiven Therapie in einer ganz aktuellen Studie gezeigt werden [157]. Dass Candesartan blutdruckunabhängig eine endotheliale Dysfunktion unter diabetischen Bedingungen mindert, konnte bisher in klinischen oder in *in vivo* experimentellen Studien noch nicht gezeigt werden. Somit ist dieses Ergebnis der vorliegenden Arbeit als ein erster Hinweis auf eine Prävention der diabetischen Vaskulopathie durch einen AT1-Rezeptorantagonisten zu werten, dessen Mechanismus nicht auf einer Blutdrucksenkung basiert. Ein möglicher Grund für diesen Benefit könnte das Ergebnis einer ganz aktuellen Studie aufzeigen. Hier konnte für den AT1-Rezeptorantagonisten Losartan eine Erhöhung des Bradykininspiegels bei Menschen nachgewiesen werden [158]. Auch wenn dies nur für hypertensive Patienten gezeigt werden konnte, so gibt diese Erkenntnis doch eine mögliche Erklärung für eine blutdruckunabhängige Endothelprotektion durch Candesartan an.

4.2.2 Einfluss der AT1-Rezeptorblockade auf die vaskuläre Entzündungsreaktion

Die pharmakologische AT1-Rezeptorblockade mit Candesartan führte zu einer signifikanten Reduktion der vaskulären Expression von eNOS und iNOS bei STZ-diabetischen Ratten in einer blutdruckunabhängigen Dosis. Wie oben beschrieben wurde, ist von NOS-Enzymen bekannt, dass sie bei einer exzessiven, vaskulären Expression über verschiedene Mechanismen eine Schädigung der Gefäßwand, insbesondere der Endothelzellen, und eine Verminderung der Relaxationsfähigkeit hervorrufen können. Außerdem konnte die Expression der endothelständigen Adhäsionsmoleküle durch die Behandlung von diabetischen Tieren mit Candesartan auf das Basalniveau der Kontrolltiere reduziert werden. Candesartan unterbindet damit die Entwicklung einer vaskulären Entzündungsreaktion, wie sie für die unbehandelte chronisch diabetische Tiergruppe gezeigt werden konnte und ist mit einer Verbesserung der Endothelfunktion assoziiert. Zusätzlich zu der verminderten Expression der NOS Enzyme konnte durch die pharmakologische AT1-Rezeptorblockade eine Suppression der endothelständigen Adhäsionsmoleküle VCAM-1 und ICAM-1 gezeigt werden. In verschiedenen Studien wird beschrieben, dass die gesteigerte ICAM-1-abhängige [115] Leukozytenadhäsion an Endothelzellen in Gegenwart hoher Glukosekonzentrationen über einen NFκB-abhängigen Signaltransduktionsweg vermittelt wird [159]. Der Transkriptionsfaktor NFκB ist an der Induktion proinflammatorischer Zytokine wie IL-1β, TNF-α und MCP-1 beteiligt. Auch Angiotensin II entfaltet über NFκB proinflammatorische Wirkung [160-163]. So könnten die pathologischen Mechanismen des Diabetes Mellitus und die protektive Wirkung von Candesartan über den gleichen Pathway, in inverser Richtung laufen. Eine aktuelle Studie an Diabetespatienten mit einem milden Hypertonus konnte zeigen, dass Candesartan unter diesen Umständen VCAM-1 und ICAM-1 signifikant reduzieren kann. Dies wurde jedoch nur im Zusammenhang mit einer Blutdrucksenkung gezeigt [164]. Auch ein Einfluss von Candesartan auf die Expression von iNOS ist bekannt. So konnte in Nieren von Diabetes Mellitus Typ 2 KK/Ta Mäusen eine signifikante Reduktion von iNOS unter einer Candesartanbehandlung gezeigt werden [165].

4.2.3 Effekte der Beta-1- Blockade auf die diabetische Vaskulopathie

Eine pharmakologische Behandlung von diabetischen Ratten mit dem Beta-1-selektiven Blocker Metoprolol konnte keine signifikante Verbesserung der Gefäßfunktion,

endothelvermittelt oder unabhängig, zeigen. Dies galt sowohl für die blutdruckunabhängige Dosis, als auch für die blutdruckreduzierende Dosis. Über die Rolle der Betablocker bei der Progression der diabetischen Vaskulopathie ist im Vergleich zu den das RAAS beeinflussenden Medikamenten wenig bekannt. In einem hypertensiven Rattenmodell konnte für die Betablocker Metoprolol und Propranolol keine Verbesserung der vaskulären Struktur nachgewiesen werden [166, 167]. Besonders interessant ist, dass in zwei Studien mit hypertensiven Patienten gezeigt werden konnte, dass der Betablocker Atenolol im Vergleich zu ACEI trotz gleicher Blutdrucksenkung keinen Effekt auf die geschädigte Gefäßwand hatte [168, 169]. Andererseits gilt es als erwiesen, dass Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit von Betablockern profitieren. Die Ursache dieses Benefit wird derzeit kontrovers diskutiert. Eine aktuelle koronarangiographische Studie an Patienten mit stabiler Angina Pectoris zeigte, dass der Regulation des Vasotonus durch β_2 -Rezeptoren an gesunden Koronarien eine große Bedeutung zukommt, der Benefit des KHK Patienten einer β -Blockade im wesentlichen jedoch auf die Reduktion des myokardialen Sauerstoffbedarfes zurückzuführen ist. Die Wirksamkeit von Betablockern bei belastungsinduzierter Myokardischämie wurde experimentell gut dokumentiert [170]. Sie verbessern durch die Senkung der Herzfrequenz den koronararteriellen Einstrom [171, 172] und speziell die Durchblutung der subendokardialen Schichten [173]. Eine Meta-Analyse von über 82 Studien mit insgesamt 52.234 Patienten wies eine Reduktion der Mortalität nach einem stattgehabten Myokardinfarkt unter Langzeit β -Blocker Therapie um 23 % gegenüber unbehandelten Patienten nach [174]. Der Hauptgrund für diesen Benefit wurde im Wesentlichen der Herzfrequenzreduktion zugeschrieben. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die wesentliche Wirkung einer β -Adrenozeptorblockade bei arteriosklerotischen Gefäßveränderungen auf die Senkung des myokardialen Sauerstoffes zurückzuführen ist. Im Gegensatz zu β -Blockern wie Metoprolol gibt es so genannte „ β -Blocker der dritten Generation“. Zu dieser Klasse gehören Nebivolol und Carvedilol. Für diese beiden Substanzen konnte sowohl eine Senkung des peripheren Widerstandes, als auch eine vasorelaxierende Wirkung gezeigt werden [175]. Für Nebivolol konnte die vasorelaxierende Wirkung in Tieren [176] und an Patienten [177, 178] gezeigt werden. Im Jahr 2000 konnte dann von Broeders et al. bewiesen werden, dass Nebivolol direkt die NO-Bioverfügbarkeit erhöht [179]. Auch

Carvedilol erhöht die NO-Bioverfügbarkeit in Endothelzellen [175]. Diese Substanz blockiert nicht nur β 1-Rezeptoren, sondern auch α -Rezeptoren. Da α -Rezeptoren in der Peripherie vasokonstriktorisch wirken, werden durch die Blockade dieser diabetestypische Komplikationen wie beispielsweise die periphere arterielle Verschlusskrankheit durch Carvedilol nicht verschlechtert [180]. Für diesen β -Blocker konnten auch antioxidative Eigenschaften in humanen Endothelzellen gezeigt werden [181].

Die vorliegende Arbeit untersuchte zum ersten Mal *in vivo* den Betablocker Metoprolol auf seine Vaskuloprotektivität bei STZ-diabetischen Ratten und untersuchte, ob inflammatorische Marker durch diese pharmakologische Behandlung zu beeinflussen waren. Sowohl in einer blutdruckunabhängigen, als auch in einer blutdrucksenkenden Dosierung war Metoprolol nicht in der Lage, einen funktionellen Benefit herbeizuführen. Die Ergebnisse aus der Messung der Gefäßfunktion korrelierte mit den im Vergleich zu unbehandelten, diabetischen Ratten unveränderten Inflammationsmarkern VCAM-1, ICAM-1, eNOS und iNOS. Ob eine β -Adrenozeptorblockade unter diabetischen Bedingungen die inflammatorische Antwort suprimieren kann, konnte bisher nicht gezeigt werden. Bei Patienten mit Herzinsuffizienz dagegen korrelierte die Verbesserung der Herzfunktion mit einer reduzierte Zytokinexpression [182], wobei sich der Pathomechanismus der inflammatorischen Antwort auf einen Diabetes Mellitus beziehungsweise auf eine Herzinsuffizienz grundlegend unterscheidet.

4.3 Methodenkritik

Das eingesetzte Tiermodell war gut dazu geeignet, die Fragen in dieser Studie zu beantworten. Zur direkten Übertragung der Ergebnisse auf den Menschen sind aber noch kontrollierte, klinische Studien notwendig. Es gibt eine große Anzahl an diabetischen Tiermodellen von denen aber keines, auch das hier verwendete Modell, den optimalen Anforderungen eines direkt und in voller Gänze auf den Menschen übertragbaren Tiermodells entspricht. Das ist bei diabetischen und auch vielen anderen Modellen unmöglich. Das optimale Tiermodell wäre ein Modell dessen entwickelte Krankheit die gleiche Ursache hat wie die Krankheit beim Menschen. Die entscheidenden Ursachen auf atomarer und molekularer Ebene für einen Diabetes Mellitus Typ 1 sind aber nicht bekannt. In der Konsequenz dieser Tatsache kann auch kein dem Menschen gleiches Tiermodell generiert werden. Dennoch ist der Einsatz des

hier verwendeten STZ-Modells sinnvoll, weil es das klinische Erscheinungsbild des Typ 1 Diabetikers in vielen Punkten sehr gut wiedergibt. Ein Vorteil dieses Modells ist, dass es innerhalb eines gut überschaubaren Zeitrahmens zu einem diabetischen Krankheitsbild kommt. Beim Menschen dagegen erstreckt sich die Progression des Diabetes mit dem Auftreten von kardiovaskulären Komplikationen erst nach vielen Jahren auf. Das STZ-Modell zeigt eine gute Möglichkeit auf, den Verlauf der diabetischen Krankheit innerhalb eines gut überschaubaren Zeitraumes wiederzuspiegeln. Bei allen Einschränkungen, die diabetische Tiermodelle haben, ist das STZ-Modell eines der am Besten dokumentierten und am weitesten verbreiteten Modelle, insbesondere im Hinblick auf die Progression der diabetischen Vaskulopathie. Die Messung der Gefäßfunktion sowie die immunhistochemische Untersuchung des Herzgewebes erfolgten nur zu einem Zeitpunkt nach sechswöchiger Behandlungsdauer. Eine Aussage zur zeitlichen Entwicklung dieser Parameter ist daher nicht möglich. Wie die bisherigen Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe aus dem STZ-Modell allerdings zeigen, ist die Wahl des Sechs-Wochen-Zeitpunktes gut geeignet, die Langzeitfolgen eines chronischen Diabetes Mellitus zu untersuchen. Das Modell des autoperfundierten Hinterbeines ist mit einem operativen Eingriff verbunden. Der Einfluss dieses zusätzlichen Stressfaktors kann nicht separiert betrachtet werden, da die Messung der vasodynamischen Parameter in diesem Modell zwingend diese Eingriffe erfordert. Der extrakorporale Katheterkreislauf ist zu Beginn der Messung mit KHS gefüllt. Wird die Rollerpumpe in Betrieb genommen, so werden die Femoralgefäße zunächst mit reiner KHS perfundiert. Auch der Einfluss der temporären Perfusion mit KHS kann in diesem Modell nicht isoliert betrachtet werden. KHS wird seit Jahrzehnten zur Organperfusion verwendet. Darüber hinaus ist das Volumen an KHS im extrakorporalen Kreislauf sehr gering. In diesem Modell ist zudem eine Heparinisierung notwendig, die selbst einen Einfluss auf die Gefäßwand hat. Da Operation, Perfusion und Heparinisierung bei allen zu vergleichenden Gruppen gleich war, sind valide Ergebnisse möglich. Im Modell des autoperfundierten Hinterbeines werden Gefäße unterschiedlicher Größe zusammenfassend charakterisiert. So haben sowohl die A. femoralis, die nachgeschalteten kleinen Arterien, die Arteriolen und Kapillaren einen Einfluss auf die gemessene Vasodilatation. Trotz dieser Einschränkungen ist das Modell des autoperfundierten Hinterbeines, nach sorgfältiger Literaturrecherche, derzeit das einzige

in vivo Kleintiermodell, an dem die diabetische Vaskulopathie funktionell gemessen wurde. Es konnte daher gut zur Beantwortung der Fragestellungen in dieser Arbeit benutzt werden. Die immunhistochemische Färbung wurde mit Gefrierschnitten durchgeführt, die zuvor bei -80°C gekühlt wurden. Dennoch lässt sich die Möglichkeit einer Antigen-Veränderung nicht ausschließen. Weitere molekularbiologische Untersuchungen der immunhistologisch quantifizierten Parameter würden die Aussagekraft dieser Arbeit unterstützen. So könnte z. B. die Regulation von eNOS und iNOS auf mRNA Ebene untersucht werden, um so Erkenntnisse über den Einfluss von Candesartan und Metoprolol auf die Translation der entsprechenden Gene zu erlangen. Die Messung des tatsächlichen NO Gehaltes mittels Verfahren wie Chemilumineszenz, Methämoglobin-Bildung oder paramagnetische Elektronen-Resonanz-Spektroskopie (EPR) könnten Aufschluss darüber geben, ob die unter diabetischen Bedingungen massiv erhöhte endotheliale NO-Expression tatsächlich mit einem erhöhten NO-Gehalt einhergeht oder ob dies eine Reaktion auf eine gesteigerte NO-Inaktivierung im Rahmen des inflammatorischen Prozesses der diabetischen Vaskulopathie ist. Da die Produktion von Radikalen, die zu oxidativem Stress in der Endothelzelle führen, einen möglichen kausalen Zusammenhang zwischen Diabetes und endothelialer Dysfunktion darstellt, ist die Aktivitätsmessung der NAD(P)H Oxidase als Surrogat für die Radikalproduktion ein wichtiger Parameter. Sie wurde im Rahmen dieser Studie von anderen Mitgliedern der Arbeitsgruppe bestimmt und half, die Effekte der pharmakologischen Interventionen besser zu verstehen. Letztlich sollte diese Arbeit die Frage beantworten, ob eine blutdruckunabhängige medikamentöse Therapie mit Candesartan oder Metoprolol einen Effekt auf die Progression einer endothelialen Dysfunktion unter typ-1-diabetischen Bedingungen hat und ob ein möglicher Effekt mit einer supprimierten Inflammation einhergeht, wie sie für die diabetische Vaskulopathie typisch ist. Diese Frage konnte mit der hier vorliegenden tierexperimentellen Arbeit gut beantwortet werden.