

Aus der Klinik III für Innere Medizin
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Professor Dr. med. Michael Böhm

**Einfluss des AT₁-Rezeptorantagonismus auf
die endotheliale Dysfunktion bei
postmenopausalen Frauen**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2012

vorgelegt von

Ardeshir Ghiassi

geboren am 21.03.1973

in Teheran (Iran)

Universitätsdekan:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	v
Tabellenverzeichnis	v
Abkürzungen	vi
1 Zusammenfassung	1
1.1 Einfluss des AT ₁ -Rezeptorantagonismus auf die endotheliale Dysfunktion bei postmenopausalen Frauen	1
1.2 AT ₁ receptor antagonism improves endothelial dysfunction in postmenopausal women.....	2
2 Einleitung und Grundlagen	4
2.1 Epidemiologie ischämischer Herzkrankheiten	4
2.2 Endotheliale Dysfunktion	6
2.3 Östrogen und postmenopausale Östrogendefizienz.....	7
2.4 Einfluss von Östrogen auf die Endothelfunktion	8
2.5 Einfluss des Angiotensin II Subtyp 1 (AT ₁) Rezeptors auf die Endothelfunktion	12
2.6 Oxidativer Stress und Atherogenese	15
2.7 Östrogendefizienz-assoziierte AT ₁ -Rezeptor Überexpression.....	16
2.8 Fragestellung der vorliegenden Arbeit.....	19
3 Material und Methodik	20
3.1 Material.....	20
3.1.1 Medikamente	20
3.1.1.1 Felodipin.....	20
3.1.1.2 Candesartan	220
3.1.2 Geräte zur Plethysmographie.....	22
3.2 Methoden.....	22
3.2.1 Studiendesign.....	22
3.2.2 Venenverschluss-Plethysmographie (Unterarmblutflussmessung).....	24
3.2.3 Klinische Untersuchung und Durchführung der Blutflussmessungen	26
3.2.4 Statistische Auswertung	27
4 Ergebnisse	28
4.1 Patientencharakteristika	28
4.2 Blutdruck, Östrogenspiegel und Lipidstatus im Studienverlauf.....	29

4.3	Blutflussmessungen	31
4.3.1	Basaler Fluss.....	31
4.3.2	Endothel-unabhängige Vasodilatation	33
4.3.3	Endothel-abhängige Vasodilatation (reaktive Hyperämie).....	35
4.3.3.1	Spitzenfluss	35
4.3.3.2	Integrales Blutvolumen (AUC)	38
4.3.3.3	Unterarm-Blutflusskurven in der Phase der reaktiven Hyperämie	43
5	Diskussion	46
5.1	AT ₁ -Rezeptor-Antagonismus und endotheliale Dysfunktion	48
5.2	Limitationen der Studie	53
5.3	Fazit.....	555
6	Literaturverzeichnis	56
7	Publikationsliste des Autors	66
8	Danksagung.....	67
9	Lebenslauf.....	68

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Häufigkeit von Sterbefällen an "ischämischer Herzkrankheit" für das männliche und weibliche Geschlecht; basierend auf den Angaben des Jahres 2010 für die Bundesrepublik Deutschland [Gesundheitsberichtserstattung des Bundes 2012]	5
Abb. 2:	Wirkung von Östrogen auf Endothelzellen des Gefäßes sowie auf Zellen der glatten Gefäßmuskulatur [nach Mendelson und Karas 1999]	10
Abb. 3:	Ablauf der Synthese und des Abbaues von Angiotensin II. Das biologisch überwiegend inaktive Angiotensin I wird primär durch das an Endothel gebundene Angiotensin Converting Enzyme (ACE) in Angiotensin II umgewandelt [Löffler und Petrides 1997]	13
Abb. 4:	Bedeutung der Wechselwirkung zwischen den kardiovaskulären Risikofaktoren (Hypercholesterinämie, Östrogendefizienz, Diabetes mellitus) und dem AT ₁ -Rezeptor. Der oxidative Stress steigt, es beschleunigt sich das Wachstum der glatten Muskelzellen mit gesteigerter Vasokonstriktion. Die AT ₁ -Überexpression wird vermutlich durch Hinaufregulation des vaskulären ACE und via lokaler Komponenten des Renin-Angiotensinsystems erzeugt. Es kommt zu Bluthochdruck and Atherosklerose [Nickenig und Harrison 2002b] ...	18
Abb. 5:	Strukturformel von Felodipin: Ethyl-methyl-4-(2,3-dichlorophenyl)-1,4-dihydro-2,6-dimethyl-3,5-pyridindicarboxylat; C ₁₈ H ₁₉ Cl ₂ NO ₄	20
Abb. 6:	Strukturformel von Candesartan: 2-Ethoxy-1-{4-[2-(1H-tetrazol-5-yl)phenylbenzyl]benzimidazol-7-carbonsäure; C ₂₄ H ₂₀ N ₆ O ₃	22
Abb. 7:	Zeitliche Strukturierung der Studie. HET = Hormonersatztherapie mit 2 mg/Tag Estradiol und 1 mg/Tag Norethisteron	24
Abb. 8:	Basaler Unterarmblutfluss der Behandlungsgruppen vor und nach Therapie. Signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen an den einzelnen Messzeitpunkten 1-4 und innerhalb der Behandlungsgruppen (vor Therapie vs. nach Therapie) waren nicht feststellbar (t-Test mit jeweils p > 0,05); HET = Hormonsatztherapie (Studienphase II)	31
Abb. 9:	Spitzenunterarmblutfluss der Behandlungsgruppen nach Nitro-applikation vor und nach Therapie. Signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen an den vier Messzeitpunkten und innerhalb der Behandlungsgruppen (vor Therapie vs. nach Therapie) waren nicht feststellbar (t-Test mit jeweils p > 0,05); HET = Hormonersatztherapie (Studienphase II)	33

Abb. 10:	Unterarm-Spitzenblutfluss der Behandlungsgruppen in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie vor und nach Therapie. In der Studienphase I (ohne HET) war ausschließlich bei der Candesartan-Gruppe ein signifikanter Anstieg des mittleren Spitzenflusses zu verzeichnen; * = signifikanter Unterschied zwischen vor und nach Therapie	36
Abb. 11:	Relative, prozentuale Änderung des mittleren Spitzenblutflusses: a) Studienphase I ohne HET; b) Studienphase II mit HET; * = signifikanter Unterschied zwischen a) und b) (t-Test)	37
Abb. 12:	Zeitlicher Verlauf des Unterarmblutflusses in der Studienphase I bei der Candesartan-Gruppe. Nach ca. 60 s ist der Blutfluss auf das Niveau des Basalfusses gesunken. Dies ist typisch für alle in der Studie gemessenen Blutflusskurven	38
Abb. 13:	Blutvolumen (AUC) in den ersten 60 s der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie vor und nach Therapie In der Studienphase I (ohne HET) war ausschließlich bei der Candesartan-Gruppe ein signifikanter Anstieg des mittleren Blutvolumens (AUC) zu verzeichnen	40
Abb. 14:	Relative, prozentuale Änderung des integralen Blutvolumens (AUC): a) Studienphase I ohne HET; b) Studienphase II mit HET; Ausgewertet wurden die ersten 60 Sekunden der postischämischen reaktiven Hyperämie	41
Abb. 15:	Unterarmblutfluss in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie. Placebo-Gruppe vor und nach Therapie Oben: Studienphase I; Unten: Studienphase II mit Hormonersatztherapie (HET)	43
Abb. 16:	Unterarmblutfluss in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie. Felodipin-Gruppe vor und nach Therapie; Oben: Studienphase I; Unten: Studienphase II mit Hormonersatztherapie (HET)	44
Abb.17:	Unterarmblutfluss in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie. Candesartan-Gruppe vor und nach Therapie; Oben: Studienphase I; Unten: Studienphase II mit Hormonersatztherapie (HET)	45

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Patientencharakteristika zu Beginn der Studie	28
Tab. 2:	Blutdruck, Östrogenspiegel und Lipidstatus im Studienverlauf	30
Tab. 3:	Basaler Unterarmblutfluss der Behandlungsgruppen vor und nach der Therapie	32
Tab. 4:	Unterarmblutfluss der Behandlungsgruppen nach Nitroapplikation vor und nach Therapie	34
Tab. 5:	Unterarm-Spitzenblutfluss bei postischämischer reaktiver Hyperämie vor und nach Therapie	36
Tab. 6:	Blutvolumen (AUC) bei postischämischer reaktiver Hyperämie vor und nach Therapie	42

Abkürzungen

ACE	Angiotensin-Konversions Enzym (Angiotensin-Converting Enzyme)
ANOVA	Varianzanalyse (Analysis of Variance)
AT ₁	Angiotensin II Rezeptor Typ 1
CEE	Konjugierte equine Östrogene (conjugated equine Estrogens)
HDL	high-density Lipoprotein
HERS	Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study
HET	Hormonersatztherapie
hs-CRP	hochsensitives C-reaktives Protein (high sensitivity C-reactive protein)
KHK	koronare Herzkrankheit
LDL	low-density Lipoprotein
MPA	Medroxyprogesteronacetat
MW	Mittelwert
NO	Stickstoffmonoxid
RAS	Renin-Angiotensin-System
ROS	reaktive Sauerstoffverbindungen (reactive oxygen species)
SEM	Standardfehler des Mittelwerts (Standard error of the mean)
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHI	Women's Health Initiative

1 Zusammenfassung

1.1 Einfluss des AT₁-Rezeptorantagonismus auf die endotheliale Dysfunktion bei postmenopausalen Frauen

Die Menopause ist durch eine erhöhte Inzidenz atherosklerotischer Erkrankungen gekennzeichnet. Die Östrogendefizienz führt zu einer vermehrten Expression des AT₁-Rezeptors, der bei der Pathogenese der vaskulären Dysfunktion eine zentrale Rolle spielt.

Der Effekt einer sechswöchigen Behandlung (Studienphase I) mit dem AT₁-Rezeptor Antagonisten Candesartan (16 mg/Tag) auf die Endothel-abhängige Vasodilatation im Vergleich zur Behandlung mit dem Calciumantagonisten Felodipin (5 mg/Tag) sowie mit Placebo wurde bei 29 postmenopausalen Frauen im Rahmen einer prospektiven, randomisierten, doppelblinden und placebokontrollierten Studie untersucht. Nach vierwöchiger Pause ohne Studienmedikation schloss sich eine weitere sechswöchige Behandlung an (Studienphase II), in der die drei Behandlungsgruppen zusätzlich zu besagter Medikation eine Hormonersatztherapie (HET) erhielten (2 mg/Tag Estradiol + 1 mg/Tag Norethisteron).

Mittels Venenverschluss-Plethysmographie wurde der Unterarmblutfluss bei reaktiver Hyperämie als Maß für die Endothel-abhängige Vasodilatation zu Beginn und Ende jeder Studienphase gemessen.

Nach Studienphase I (ohne HET) wiesen Patientinnen der Candesartan-Gruppe einen signifikant höheren Unterarmblutfluss auf (Spitzenfluss und integrales Blutvolumen (AUC)). In der Felodipin- und Placebogruppe war kein derartiger Effekt feststellbar.

Nach Studienphase II (mit HET) war bei keiner der Behandlungsgruppen eine signifikante Verbesserung der Endothelfunktion zu verzeichnen.

Die Endothel-unabhängige Vasodilatation („Nitrolingual-Zerbeißkapsel“) und der basale Unterarmblutfluss war nach keiner Studienphase und bei keiner Behandlungsgruppe signifikant verändert. Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht nachweisbar.

Die Blockade des AT₁-Rezeptors bei postmenopausalen Frauen ohne HET führte zu einer Verbesserung der Endothelfunktion. Daraus könnte sich ein effizienter therapeutischer Ansatz für die Prävention der vaskulären Dysfunktion bei östrogendefizienten Frauen ergeben.

1.2 AT₁ receptor antagonism improves endothelial dysfunction in postmenopausal women

The menopause is associated with an increased incidence of atherosclerotic disease. Estrogen deficiency causes AT₁ receptor overexpression which is involved in the development of vascular dysfunction.

The effect of a 6 week-treatment (study phase I) with the AT₁ receptor antagonist candesartan (16 mg/d) on endothelium-dependent vasorelaxation was compared to the treatment with placebo or the calcium channel antagonist felodipine (5 mg/d) and placebo in 29 postmenopausal women in the absence or presence of hormone replacement therapy (HRT) in a prospective, double-blind, randomized study. After a 4-weeks period without medication a further six week time period (study phase II) was added, in which all three treatment groups took hormone replacement therapy (HRT; 2 mg/d estradiol + 1 mg/d norethisteron) additionally to the medication mentioned above.

Endothelial function was assessed by measurement of forearm blood flow (FBF) by venous occlusion plethysmography at the beginning and the end of the study period. After study phase I (without HRT) the patients of the candesartan group showed significantly increased FBF representing an improved endothel-dependent vasodilatation.

After study phase II (including HRT) no significant improvement of FBF could be demonstrated.

Nitroglycerin-induced vasorelaxation and basal FBF were not significantly altered in all groups during the study phases I and II.

AT₁ receptor antagonism improves vascular function in postmenopausal women without HRT. Thus, AT₁ receptor blockade may resemble an efficient approach for the prevention of vascular dysfunction in estrogen-deficient women.

2 Einleitung und Grundlagen

2.1 Epidemiologie ischämischer Herzkrankheiten

Auch im 21. Jahrhundert lässt sich die überwiegende Mehrheit aller Todesfälle in Deutschland auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen zurückführen. Immerhin sank die Anzahl von Sterbefällen an Krankheiten des Herz-Kreislauf-Systems (ICD-10: I00-I99) von 480 / 100.000 Einwohner in 2000 auf 431,4 / 100.000 Einwohner in 2010. Ischämische Herzkrankheiten (ICD-10: I20-I25) machen unter diesen Sterbefällen mit 204 / 100.000 Einwohnern (2000) bzw. 162,8 / 100.000 mit Abstand den größten Anteil aus [Gesundheitsberichterstattung des Bundes 2012].

Die häufigste ischämische Herzkrankheit ist die koronare Herzkrankheit (KHK). Sie ist die Manifestation der Atherosklerose an den Herzkranzarterien und führt häufig zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und -angebot im Herzmuskel. Eine KHK ist mit einem erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko verbunden. Bei häufigem Auftreten von Angina-pectoris-Beschwerden ist die Lebensqualität vermindert [Bundesärztekammer 2006].

Von den im Jahre 2010 an Krankheiten des Herzkreislaufsystems verstorbenen 149.471 Männern verstarben 67.403 Männer an ischämischer Herzkrankheit (45,1%). Bei den im gleichen Jahr an Krankheiten des Herzkreislaufsystems verstorbenen Frauen (n = 203.218) lag der Anteil von Frauen mit der Todesursache ischämische Herzkrankheit (n = 65.723) mit 32,3% deutlich niedriger [Bundesärztekammer 2006].

Die geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Todesursachenstatistik treten noch deutlicher zu Tage, wenn der Anteil der Sterbezahlen an „ischämischer Herzkrankheit“ zwischen den Geschlechtern in Beziehung gesetzt und nach Lebensalter differenziert wird (Abbildung 1).

Offensichtlich ist der Anteil von 25 - 55jährigen Frauen an den Sterbefällen im Vergleich zu den entsprechend alten Männern niedrig, auch wenn für das Gesamtkollektiv aller betrachteten Fälle über die gesamte Lebenszeitspanne hinweg gleich häufig Frauen wie Männer an ischämischen Herzkrankheiten versterben. Nach dem 55. Lebensjahr steigt der Anteil von Frauen mit Todesursache „ischämischer Herz-

krankheit" deutlich an und dominiert, u.a. wegen der etwas längeren allgemeinen Lebenserwartung von Frauen, vor allem in den hohen Altersklassen.

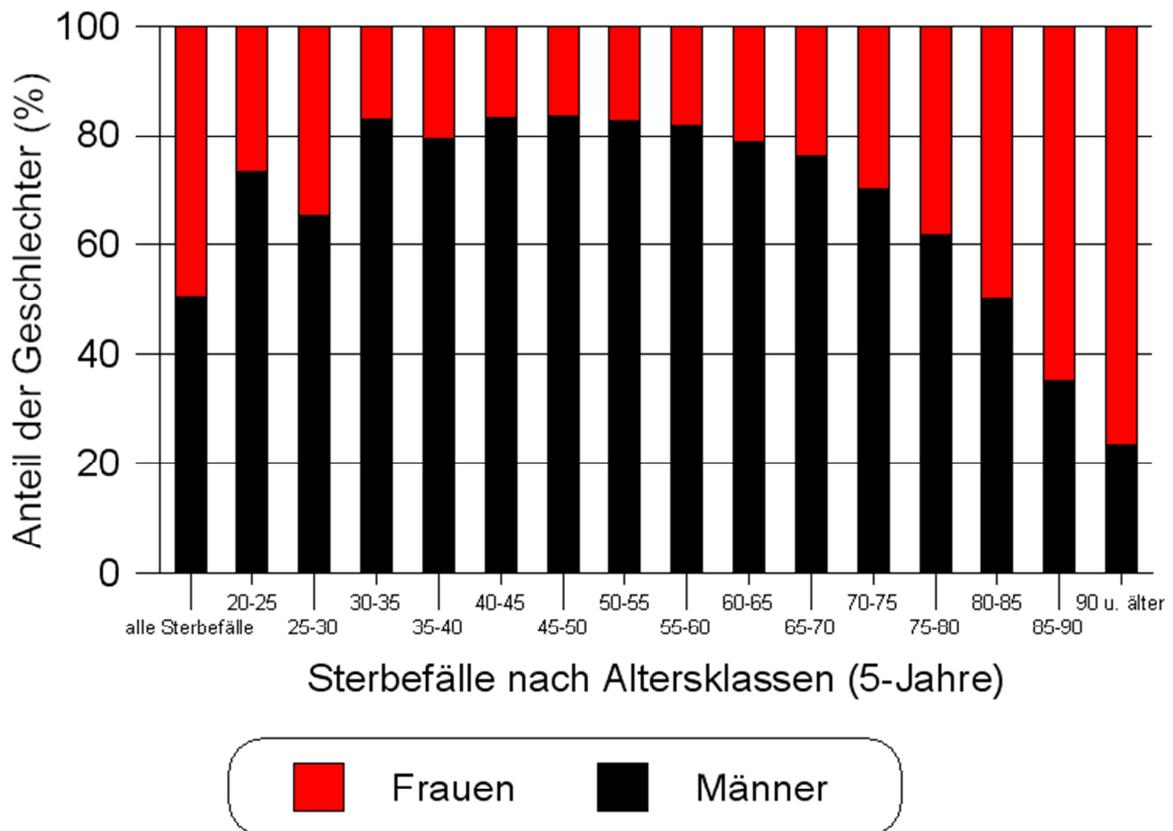


Abb. 1: Häufigkeit von Sterbefällen an „ischämischer Herzkrankheit" für das männliche und weibliche Geschlecht; basierend auf den Angaben des Jahres 2010 für die Bundesrepublik Deutschland [Gesundheitsberichterstattung des Bundes 2012].

Dieses Phänomen der verminderten kardiovaskulären Sterblichkeit bei Frauen bis etwa zum 55. Lebensjahr und der darauf folgende steile Anstieg der Sterblichkeit wird seit Dekaden in allen Industrienationen beobachtet und dessen Ursachen werden seit langem diskutiert [Barrett-Connor 1997, Claassen et al. 2012]. Den endogenen Östrogenspiegel bzw. Hormonstatus vor und nach der Menopause mit der Änderung der kardiovaskulären Sterblichkeit in Verbindung zu bringen, ist in diesem Zusammenhang durchaus naheliegend.

2.2 Endotheliale Dysfunktion

Die Blutgefäße des Herz-Kreislauf-System sind mit einer einzelligen Lage von Endothelzellen ausgekleidet. Diese, dem Blutstrom zugewandte Gefäßseite stellt eine multifunktionelle Grenzschicht dar, die nicht nur die Funktion als Blutcontainer und semipermeable Barriere ausübt, sondern auch als Sensor, Integrator und Signalgeber aktiv zur Aufrechterhaltung des Blutflusses, der Regulation der Fibrinolyse und der koagulativen und adhäsiven Eigenschaften der Gefäßwand beiträgt [Rösen 2002].

Ohne die Funktion des Endothels wären Blutfluss und ein funktionierender Kreislauf nicht möglich. Als endotheliale Dysfunktion wird eine Funktionsstörung des Endothels bezeichnet, die mit einer gestörten Vasoregulation, einer erhöhten Permeabilität und einer inflammatorischen Reaktion einhergeht. Die endotheliale Dysfunktion gilt als initialer und ausschlaggebender Faktor bei der Entstehung vaskulärer Erkrankungen, wie atherosklerotischen Läsionen. Sie stellt einen diagnostischen und prognostischen Parameter zur Erfassung des kardiovaskulären Risikos dar [Rösen 2002].

Verschiedene pathophysiologische Faktoren bzw. Stimuli werden als Auslöser einer endothelialen Dysfunktion diskutiert. Zu diesen gehören oxidiertes LDL, Homocystein, „Advanced Glycation Endproducts“, aber auch die postprandiale Hyperglykämie, Zytokine, bakterielle Stoffwechselprodukte und hämodynamische Stressfaktoren.

Pathophysiologisch liegt der endothelialen Dysfunktion eine Reduktion der Endothelzell-abhängigen Vasodilatation zu Grunde, deren pathobiochemischer Mechanismus die verminderte Synthese von Stickstoffmonoxid (NO) bzw. eine verminderte Bioaktivität von NO ist. Aufgrund seiner vasodilatativen, antithrombotischen und anti-proliferativen Eigenschaften wirkt NO gefäßprotektiv. Als Mechanismen der reduzierten NO-Aktivität werden die Inaktivierung von NO durch Sauerstoffradikale (Reactive Oxygen Species, ROS) im Rahmen des oxidativen Stress, die Reduktion der für die NO-Synthese benötigten Co-Faktoren (Tetrahydrobiopterin, NADPH) sowie die Hemmung der endothelialen NO-Synthase (ecNOS) selbst durch Phosphorylierung (Proteinkinase C) und O-Glykosylierung diskutiert (Hexosaminstoffwechsel) [Du et al. 1999, Rösen und Du 2000, Rösen et al. 2001, Sen und Packer 1996].

2.3 Östrogen und postmenopausale Östrogendefizienz

Östrogene gehören zur Klasse der Steroidhormone, welche ihren Ursprung im Cholesterin haben. Steroidbildende Organe wie die Nebennierenrinde, Gonaden, Plazenta können ebenso biologisch aktive Steroide und/oder deren Vorstufen produzieren wie periphere Gewebe (Haut, Fett-/Muskelgewebe, Leber). Neben den Glukokortikoiden, Mineralkortikoiden, natürlichen Gestagenen und Androgenen sind unter den Östrogenen die Substanzen Estron/Östron, Estradiol/Östradiol und Estriol/Östriol von Relevanz [Owese und Iwewv 2007]. Estradiol, welches im Organismus nahezu vollständig als 17β -Estradiol vorliegt, ist das biologisch aktive Östrogen. Es entsteht entweder am endoplasmatischen Retikulum durch Aromatisierung von Testosteron durch die P450-Aromatase oder aus Östron via 17β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase. Im Serum liegt 17β -Estradiol in 1% ungebunden vor, 30% sind an Albumin und 69% an sexualhormonbindendes Globulin (SHBG) gebunden [Gudermann und Leidenberger 2007].

Östrogene sind in die neuroendokrine Zykluskontrolle involviert und bestimmen bei der Frau die Ausprägung der sekundären Geschlechtsmerkmale, die geschlechtsspezifischen Proportionen, das Verteilungsmuster und die Ausprägung der Fettverteilung. Zielorgane der Östrogene sind neben den weiblichen Geschlechtsorganen (Tuben, Corpus und Cervix uteri, Vagina, äußeres Genitale) auch nicht zum Reproduktionstrakt gehörende Haut- und Hautanhangsgebilde, das Knochensystem sowie die ableitenden Harnwege. Östrogene wirken ebenfalls auf das Herz-Kreislauf-System, das ZNS, die Hypophyse, den Magen-Darm-Trakt, das Immun- und das Blutbildungssystem sowie die Leber ein [Gudermann und Leidenberger 2007].

Während der frühen Follikelphase des Zyklus ist die 17β -Estradiolkonzentration im Plasma niedrig (0,06 ng/ml) und steigt während der späten Follikelphase um ein Mehrfaches an (0,33-0,7 ng/ml). In der mittlutealen Phase beträgt die Konzentration von 17β -Estradiol um 0,2 ng/ml. Der periphere Hauptmetabolit von Estron und 17β -Estradiol ist Estriol, wobei Estriol noch etwa 20% der Wirkung von 17β -Estradiol am Östrogenrezeptor aufweist. Die Ausscheidung der aktiven, hydrophoben Substanzen erfolgt nach Glukuronierung oder Ankoppelung an Schwefelsäuren mit nachfolgender

Exkretion der dann hydrophilen Substrate primär über den Urin und teilweise auch über die Galle [Gudermann und Leidenberger 2007].

Ein erhöhter Spiegel von 17β -Estradiol bei prämenopausalen Frauen ist mit einer erhöhten Gefahr der Entwicklung von Mammakarzinomen verbunden. Bei einer Überschreitung von 100% bzw. 400% erhöht sich die Krebswahrscheinlichkeit um das 1,1- bzw. 1,25fache [Walker et al. 2011]. Mit dem Alter nimmt bei der Frau die 17β -Estradiolkonzentration im Serum üblicherweise aber deutlich ab. Frauen in Eumenorrhoe (314 pmol/l) weisen signifikant höhere Plasmaspiegel auf als Frauen in der Perimenopause (201 pmol/l) oder der Postmenopause (117 pmol/l) [Navarro et al. 2012].

Östrogen übt bei der prämenopausalen Frau einen direkten und indirekten vasoprotektiven Effekt aus, der aufgrund der Östrogendefizienz nach der Menopause nicht mehr in ausreichender Weise vorhanden ist. Dass die Östrogensubstitution bei postmenopausalen Frauen zu einer Verminderung der Inzidenz atherosklerotischer Erkrankungen teilweise auf die Größenordnung des prämenopausalen Niveaus führt, zeigten eine Reihe von Studien, von denen die meisten allerdings Beobachtungsstudien waren [Alexander et al. 2006, Anderson et al. 2004, Budoff et al. 2001, Grady et al. 1992, Grodstein et al. 2000, Stampfer et al. 1991]. Eine Therapie mit konjugierten Estrogenen erzeugt aber nur bei jüngeren Frauen (50-59 Jahr) in der Postmenopause eine Reduktion des KHK-Risikos bei gleichzeitiger Reduktion der arteriosklerotischen Plaque [Xing et al. 2009]. 17β -Estradiol wirkt über verschiedene Mechanismen auf die Gefäßwand bzw. die Plaquestabilität ein, die nachfolgend beschrieben werden.

2.4 Einfluss von Östrogen auf die Endothelfunktion

Eine Reihe von Studien, u.a. die Studie der Writing Group for the PEPI Trial [1995], haben gezeigt, dass die Östrogensubstitution bei postmenopausalen Frauen zu einer Senkung der Serumspiegel von Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin und Lipoprotein a (Lp(a)) sowie zu einer Erhöhung der Serumspiegel von HDL-Cholesterin und der Triglyzeride führt.

Der vasoprotektive Effekt des Östrogens lässt sich allerdings nicht allein auf indirekte bzw. systemische Faktoren, z.B. dessen positive Wirkung auf den kardiovaskulären Risikofaktor Hypercholesterinämie, erklären.

Atherosklerotische Plaque im Bereich der A. carotis interna von Frauen, die Hormonverwenderinnen waren, beinhalten niedrigere Konzentrationen von inflammatorischen Leukozyten, $\text{TNF}\alpha$, aktiviertem Nuclear Factor- κB ($\text{NF}\kappa\text{B}$) und Matrix-Metalloproteinasen (MMP-9), sowie höhere Konzentrationen an Kollagen sowie Inhibitoren von $\text{NF}\kappa\text{B}$ (namentlich $\text{I}\kappa\text{B}-\beta$) als Plaqueproben von Frauen, die keine Hormone einnehmen [Xing et al. 2009]. Östrogen reduziert die lokale Sekretion von proinflammatorischen Entzündungsmediatoren (z.B. C-reaktives Protein/CRP) oder von Adhäsionsmolekülen (Monocyte chemoattractant protein/MCP-1; Cytokine-induced neutrophil chemoattractant/CINC-2 β). Östrogen senkt die Leukozytenaktivierung, -infiltration und -akkumulation, die lokale Ausschüttung von Cytokinen und Wachstumsfaktoren (Epidermal Growth Factor FGF-2) und senkt das Remodelling des Gewebes durch Hemmung der Aktivität von Matrixproteinen [Xing et al. 2009].

Östrogen übt auch direkte Effekte auf das Gefäßendothel und die glatte Gefäßmuskulatur aus. Sowohl Zellen des Gefäßendothels als auch glatte Gefäßmuskelzellen exprimieren die Östrogenrezeptoren α und β ($\text{ER}\alpha$ und $\text{ER}\beta$), deren Aktivierung verschiedene genomische und nichtgenomische Effekte auslöst (siehe Abb. 2).

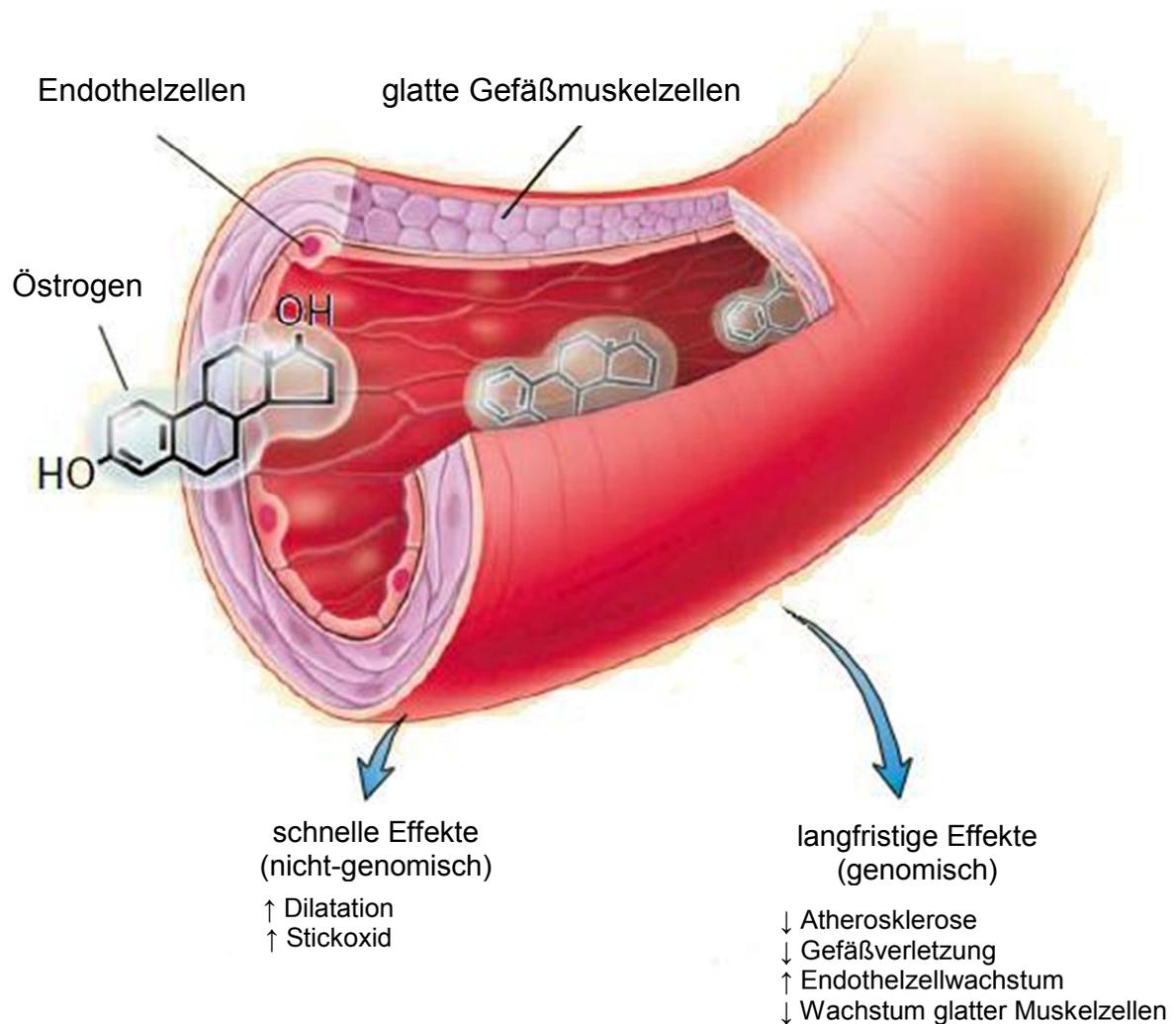


Abb. 2: Wirkung von Östrogen auf Endothelzellen des Gefäßes sowie auf Zellen der glatten Gefäßmuskulatur [nach Mendelson und Karas 1999]

Zu den schnellen, nichtgenomischen Effekten von Östrogen auf das Gefäßendothel gehört die Vasodilatation in Folge der gesteigerten Synthese von NO [Guetta et al. 1997], welches u.a. für die Regulation des Gefäßtonus wichtig ist. Bei pathologisch erhöhter Konzentration reaktiver Sauerstoffradikale (oxidativer Stress) führt deren Reaktion mit NO zur Verminderung der Bioverfügbarkeit von NO und so zu einer Störung der Regulation des Gefäßtonus.

Östrogen führt zu einer schnellen koronaren Vasodilatation ex vivo [Farhat et al. 1996, Mendelsohn und Karas 2011] sowie in vivo bei mit Cholesterin gefütterten ovariektomierten Primaten [Williams et al. 1992] und bei anderen Tieren [Sudhier et

al. 1997]. Bei postmenopausalen Frauen dilatiert Östrogen die Koronar- und Brachialarterien [Collins et al. 1995, Gilligan et al. 1994a, Gilligan et al. 1994b, Guetta et al. 1997, Lieberman et al. 1994], in einigen Studien auch bei Männern [Blumenthal et al. 1997, Collins et al. 1995, Reis et al. 1994].

Daneben sind einige langsame bzw. länger andauernde Effekte des Östrogens auf das Gefäßsystem bekannt. Östrogen erhöht die Genexpression wichtiger vasodilatatorischer Enzyme wie Prostacyclin-Synthase und NO-Synthase. Einige der schnellen Effekte des Östrogens sind möglicherweise auch auf die erhöhte Genexpression dieser Enzyme zurückzuführen [Binko und Majewski 1998, Weiner et al. 1994].

In vitro und auch in vivo konnte eine Wachstumsbeschleunigung von Endothelzellen durch Östrogen gezeigt werden [Krasinski et al. 1997, Morales et al. 1995]. Die durch Östrogen induzierbare schnelle Endothelregeneration in Folge einer Gefäßverletzung wurde mit einer erhöhten lokalen Expression von Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Zusammenhang gebracht [Morales et al. 1995]. In frühen Stadien der Endothelregeneration hemmt Östrogen mittels Erhöhung der NO-Konzentration die Proliferation von Zellen der glatten Gefäßmuskulatur [Cornwell et al. 1994]. Außerdem hemmt Östrogen via Vermittlung über den Östrogenrezeptor die Apoptose kultivierter Humanendothelzellen [Spyridopoulos et al. 1997].

Tierexperimentelle Daten zeigen, dass sich die Endothelfunktion unter Östrogen verbessert, die Reendothelialisierung nach Gefäßschaden beschleunigt und die Bildung von Neo-Intima reduziert ist [Brouchet et al. 2001, Strehlow et al. 2003b, Wassmann et al. 2001].

Zusammenfassend kann man sagen, dass Östrogen verschiedene direkte, kurz- und langfristig wirksame vasoprotektive Effekte ausübt, die zur Aufrechterhaltung einer gesunden Endothelfunktion beitragen. Ein Zusammenhang zwischen endothelialer Dysfunktion und verminderter endogener Östrogenproduktion nach natürlicher oder chirurgischer Menopause sowie nach vorzeitiger Ovarialinsuffizienz konnte in einigen Studien nachgewiesen werden [Kalantaridou et al. 2004, Mercurio et al. 1999, Sanada et al. 2002, Taddei et al. 1996].

Die endotheliale Dysfunktion ist der Ausgangspunkt atherosklerotischer Gefäßveränderungen. Eine wichtige, wenn nicht sogar die wichtigste Rolle bei der Patho-

genese der Atherosklerose, spielt Angiotensin II, der Haupteffektor des Renin-Angiotensin Systems, und der Angiotensin II Subtyp 1 Rezeptor (AT_1).

2.5 Einfluss des Angiotensin II Subtyp 1 (AT_1) Rezeptors auf die Endothelfunktion

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) ist neben anderen Systemen für die Feinmodulation des Blutdrucks sowie des Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushalt verantwortlich. Das System startet über die Synthese und Sekretion des Enzyms Renin in den juxtaglomerulären Zellen des Nierengewebes. Ausgelöst wird Synthese und Sekretion entweder durch eine Stimulation von Barorezeptoren während eines Abfalls des Blutdrucks, einer durch die Reduktion der Konzentration von Natrium- und Chlorid-Ionen im distalen Tubulus erzeugten Aktivierung der juxtaglomerulären Zellen oder einer direkten sympathisch-neuronalen Aktivierung der β_1 -Rezeptoren der juxtaglomerulären Zellen. Das in der Leber synthetisierte Prohormon Angiotensinogen zirkuliert im Serum und wird durch Renin enzymatisch in Angiotensin I überführt. Dieses verbleibt ebenfalls in der Zirkulation und wird durch das Angiotensin Converting Enzyme (ACE) im Lungengewebe in Angiotensin II überführt. Angiotensin II steigert die Aldosteronsynthese in der Nebenniere (siehe auch Abbildung 3).

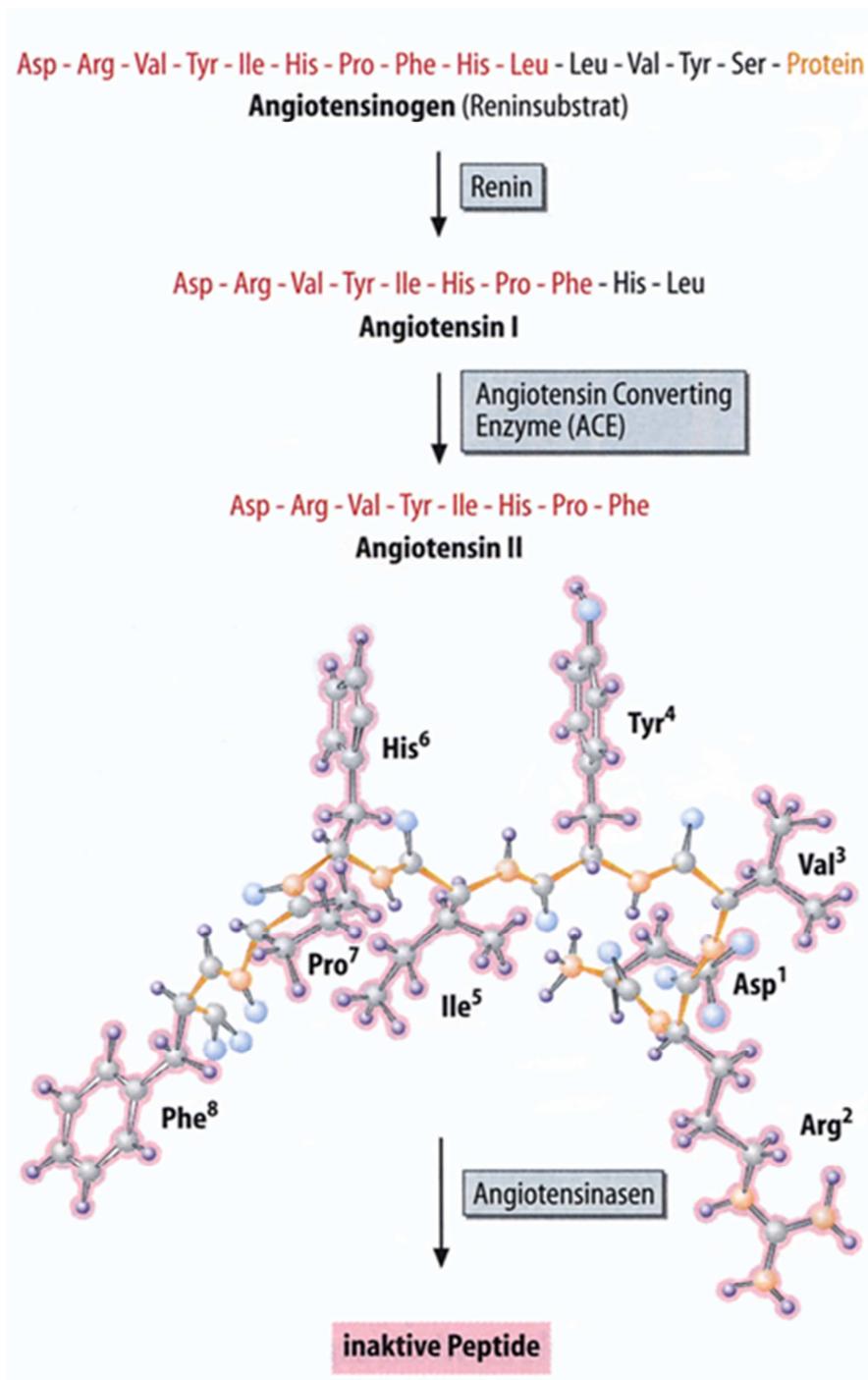


Abb. 3: Ablauf der Synthese und des Abbaues von Angiotensin II. Das biologisch überwiegend inaktive Angiotensin I wird primär durch das an Endothel gebundenes Angiotensin Converting Enzyme (ACE) in Angiotensin II umgewandelt [Löffler und Petrides 1997]

Bisher konnten zwei AT-Rezeptorsubtypen identifiziert werden, von denen der Subtyp 1-Rezeptor (AT_1) die meisten bekannten biologischen Effekte von Angiotensin II vermittelt. AT_1 -Rezeptoren sind G-Proteinegekoppelte Transmembranomänen-Rezeptoren. AT_1 -Rezeptoren sind verstärkt in glatten Muskelzellen des kardiovaskulären Systems, aber auch in anderen Geweben anzutreffen. Eine AT_1 -Stimulation durch Angiotensin II führt zu einer Kontraktion der Arteriolen und damit zu einer Vasokonstriktion. In postkapillären Venolen ist dieser Effekt nur schwach ausgeprägt. Zusätzlich reduziert Angiotensin II den Noradrenalin-Reuptake (Verstärkung des peripheren Sympathikotonus), stimuliert direkt das Vasomotorzentrum, führt zu einer Expansion des Blutvolumens (erhöhte Na^+ -, Cl^- - und Bikarbonat-Rückresorption im proximalen Tubulus), erzeugt über eine Konstriktion der renalen Blutgefäße eine verringerte Harnausscheidung und stimuliert direkt die Aldosteronsekretion der Nebennierenrinde [Löffler und Petrides 1997, Piper 2007].

Auf die vaskulären Endothelzellen wirkt Angiotensin II modulierend im Sinne der Stimulation der Synthese und der Freisetzung von Hyperoxid ($O_2^{\cdot-}$), Hydroxyl (HO^{\cdot}), hypochloriger Säure ($HOCl$) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2) ein. Diese als reaktive Sauerstoffverbindungen (ROS) bezeichneten Moleküle entstehen nach Aktivierung des AT_1 -Rezeptors von Endothelzellen der Gefäßmuskulatur, der glatten Gefäßmuskelzellen sowie der adventitialen Fibroblasten [Griendling et al. 1994, Romero und Reckelhoff 1999]. Hyperoxid führt zur Inaktivierung des vasodilatativ wirkenden NO, welches ansonsten zur Artherosklerose beitragen würde. AT_1 -Rezeptor-Antagonisten können deshalb der ROS-induzierten Reduktion der Gefäßendothelfunktion entgegenwirken [Harrison 1997, Schiffrin et al. 2000].

Die medizinisch-pharmakologische Forschung konzentrierte sich zunächst auf die Rolle von Angiotensin II bei der Pathogenese der arteriellen Hypertonie. Erst in den letzten 10-15 Jahren wurde immer deutlicher, dass die Synthese und Freisetzung reaktiver Sauerstoffverbindungen (ROS) einer der bedeutendsten Effekte der AT_1 -Rezeptoraktivierung ist, insbesondere im kardiovaskulären System [Dzau 1998, Romero und Reckelhoff 1999].

Die in den beiden folgenden Abschnitten vorgestellten Konzepte zur Pathogenese atherosklerotischer Veränderungen bei Östrogendefizienz basieren teilweise auf den Übersichtsarbeiten von Nickenig [2002] sowie Nickenig und Harrison [2002a/b].

2.6 Oxidativer Stress und Atherogenese

Im Rahmen des normalen Zellmetabolismus wird molekularer Sauerstoff durch verschiedene Enzymsysteme reduziert, wobei reaktive Sauerstoffverbindungen (ROS) entstehen: O_2^- (Hyperoxid), $HO\cdot$ (Hydroxyl), HOCL (hypochlorige Säure), H_2O_2 (Wasserstoffperoxid) sowie Lipidradikale [Babior 2000, Hensley 2000]. Reaktive Sauerstoffspezies sind für die Aufrechterhaltung der normalen Zellfunktion unabdingbar, z.B. für das Wachstum von Zellen der glatten Gefäßmuskulatur [Griendling et al. 1994]. Übersteigt die Produktion von ROS das physiologische Maß, dann führt dies bei Versagen der antioxidativen Schutzsysteme der Zelle zu einem pathophysiologischen Zustand, der als „Oxidativer Stress“ bezeichnet wird. Die bekannten Risikofaktoren kardiovaskulärer Erkrankungen (Bluthochdruck, Hypercholesterinämie, Diabetes, Rauchen etc.) können oxidativen Stress erzeugen oder daran beteiligt sein [Harris 1997].

Oxidativer Stress übt verschiedene negative Einflüsse aus, u.a. oxidative Veränderungen der DNA, die Oxidation von Lipiden und Proteinen sowie die Aktivierung Redox-sensitiver Gene [Patel et al. 2000]. Deren Genprodukte, wie VCAM-1, ICAM-1 und MCP-1 spielen bei kardiovaskulären Erkrankungen aufgrund ihrer proinflammatorischen Wirkung eine bedeutende Rolle für die Initiierung und Progression der Atherosklerose [Luft et al. 1999, Pueyo et al. 2000, Usui et al. 2000].

Die Aktivierung des AT_1 -Rezeptors führt zur Produktion von ROS in der Gefäßwand, zum Teil auch aufgrund der AT_1 -Rezeptorgekoppelten Aktivierung einer NADH/NADPH-Oxidase in Gefäßzellen. Dieses Enzymsystem ist die Hauptquelle von ROS in Endothelzellen, Zellen der glatten Gefäßmuskulatur und adventitialen Fibroblasten [Griendling et al. 1994].

Die durch Angiotensin II gesteigerte ROS-Produktion, insbesondere die von O_2^- (Hyperoxid) führt zur Inaktivierung von NO [Harrison 1997], da sich beide Radikale mit hoher Reaktionsgeschwindigkeit zum hochreaktiven und aggressiven Peroxynitrit ($ONNO_2^-$) verbinden [Babior 2000, Harrison 1997, Hensley et al. 2000]. Im allgemeinen wird diese Reaktion durch endogene Hyperoxid-Dismutasen und andere Hyperoxid-Radikalfänger weitgehend unterdrückt. Wenn die Konzentration von Hyperoxid jedoch auf zellulärer Ebene physiologische Werte überschreitet, z.B. nach

Stimulation durch Angiotensin II, wird Peroxynitrit vermehrt gebildet [Tomasian et al. 2000]. Der damit verbundene Verlust von NO führt zur endothelialen Dysfunktion, eines der frühesten Stadien der Atherosklerose. Zahlreiche Studien an Zellkulturen sowie tierexperimentelle und klinische Studien untermauern das Konzept, dass die Aktivierung des AT₁-Rezeptors zu einer vaskulären Erhöhung der Konzentration von Hyperoxid und dadurch zu einer Verschlechterung der endothelabhängigen Vasodilatation führt [Griendling et al. 1994, Laursen et al. 1997]. Aus diesem Grund führt die Hemmung der AT₁-Rezeptor-Aktivierung durch AT₁-Rezeptor Antagonisten oder ACE-Hemmer zu einer Verbesserung der endothelialen Dysfunktion [Mancini et al. 1996, Prasad, Schiffrin et al. 2000].

Der NO-Verlust und die Bildung von Peroxynitrit fördern den Fortschritt der Atherosklerose in allen Stadien der Erkrankung [Harrison 1997]. Die frühesten Stadien der Atherosklerose sind durch die Attraktion und Adhäsion von Monozyten an das Endothel gekennzeichnet [Ross 1999]. Inflammatorische Proteine wie MCP-1 und VCAM-1, deren Expression redox-sensitiv ist und durch NO gehemmt wird, sind bei diesen Vorgängen von entscheidender Bedeutung [Kranzhöfer et al. 1999, Luft et al. 1999, Pueyo et al. 2000, Usui et al. 2000]. Angiotensin II scheint die Synthese und Sezernierung dieser inflammatorischen Proteine durch die Bildung von ROS und die Suppression von NO herbeizuführen.

Festzuhalten bleibt, dass das physiologische Gleichgewicht zwischen der Produktion und dem Abbau von reaktiven Sauerstoffverbindungen durch Aktivierung des AT₁-Rezeptors gestört werden kann. Bei Überexpression des AT₁-Rezeptors übersteigt die Produktion von ROS schließlich die Leistungsfähigkeit der antioxidativen Schutzsysteme der Zelle, so dass auch die Konzentration bzw. die Bioverfügbarkeit von NO verringert wird. Der resultierende oxidativer Stress kann u.a. aufgrund der Verschlechterung der Vasodilatation zur endothelialen Dysfunktion als Frühstadium der Atherosklerose führen.

2.7 Östrogendefizienz-assoziierte AT₁-Rezeptor Überexpression

Wie bereits in Abschnitt 2.1 dargelegt, ist das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen bei Frauen vor der Menopause relativ gering. Danach ist mit zunehmendem Alter ein

rapider Anstieg zu verzeichnen. Zahlreiche Beobachtungsstudien haben gezeigt, dass postmenopausale Frauen von einer Hormonersatztherapie profitierten. Die Behandlung senkte die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität. Östrogen spielt demnach eine wichtige Rolle bei der Pathogenese von Gefäßerkrankungen [Hong et al. 1992].

Östrogen wirkt auf das Angiotensin II / AT₁-Rezeptor-System ein, was sich im Tierversuch illustrieren lässt. Die Vasokonstriktion in Aorten von ovariectomierten Ratten ist signifikant erhöht. Bei diesen Tieren ist parallel sowohl die AT₁-Rezeptor-Dichte als auch die mRNA-Konzentration um etwa das Dreifache erhöht. Nach Hormonersatztherapie normalisiert sich die AT₁-Rezeptorexpression wieder [Nicking et al. 1998]. Eine weitere tierexperimentelle Studie demonstrierte, dass eine durch Östrogenmangel induzierte Überexpression des AT₁-Rezeptors mit endothelialer Dysfunktion und einer erhöhten vaskulären Produktion von Hyperoxid verbunden ist. Sowohl Östrogensubstitution als auch AT₁-Rezeptorblockade können in dieser Situation zu einer Normalisierung der Verhältnisse führen [Wassmann et al. 2001].

Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die bei Östrogenmangel beobachtete abnormale Gefäßfunktion zumindest teilweise auf Angiotensin II und AT₁-Rezeptoraktivierung zurückzuführen sind. Studien an Zellkulturen glatter Gefäßmuskulzellen unterstützen diese Hypothese. Hier bewirkt Estradiol eine zeitabhängige Abnahme der Genexpression des AT₁-Rezeptors [Nicking et al. 2000]. Dieser Effekt wird durch die Freisetzung von NO vermittelt und ist abhängig von der posttranskriptionalen Modulation der AT₁-Rezeptor-mRNA.

Die durch Östrogen induzierte Herunterregulierung der AT₁-Rezeptor Expression erklärt den in vielen klinischen Studien zu beobachtenden Zusammenhang zwischen Östrogenmangel, Hypertonie und Atherosklerose. Die geschlechtsspezifische Suszeptibilität gegenüber kardiovaskulären Risikofaktoren könnte vor diesem Hintergrund durch Hochregulierung der AT₁-Rezeptor Expression und Aktivierung des RAAS aufgrund der erhöhten Androgenkonzentration erklärt werden [Leung et al. 2000, Reckelhoff et al. 2000]. Somit scheinen AT₁-Rezeptor Antagonisten geeignete Pharmazeutika zu sein, den negativen Effekten einer gesteigerten AT₁-Rezeptor Expression nach der Menopause entgegenzuwirken. Neben anderen Faktoren stellt die Regulierung des AT₁-Rezeptors wahrscheinlich einen molekularen (Patho-)

mechanismus dar, der die etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren (Hypercholesterinämie, Östrogendefizienz und Diabetes mellitus) mit der Hypertonie und der Atherosklerose verbindet (Abb. 4).

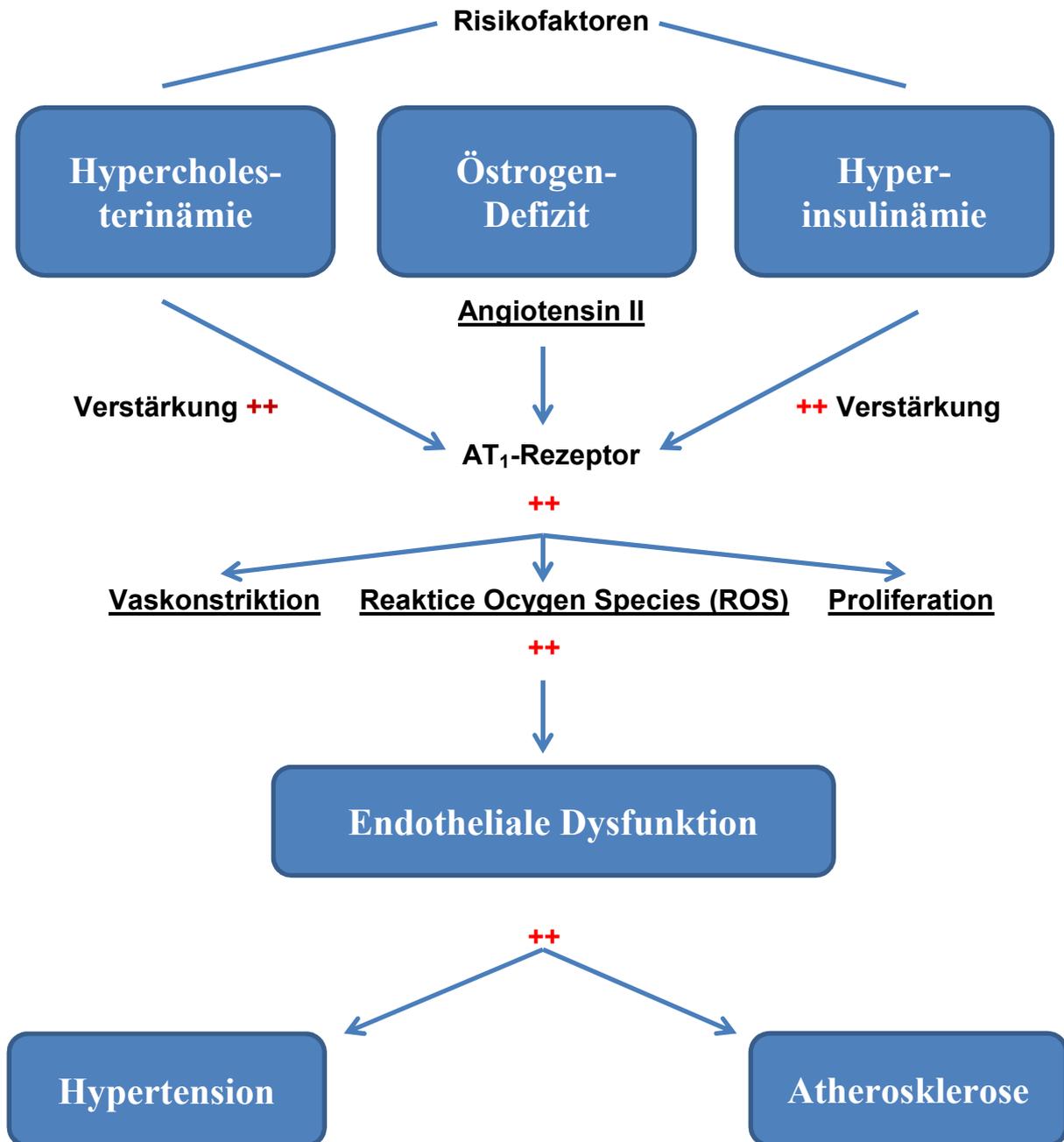


Abb. 4: Bedeutung der Wechselwirkung zwischen den kardiovaskulären Risikofaktoren (Hypercholesterinämie, Östrogendefizienz, Diabetes mellitus) und dem AT₁-Rezeptor. Der oxidative Stress steigt, es beschleunigt sich das Wachstum der glatten Muskelzellen mit gesteigerter Vasokonstriktion. Die AT₁-Überexpression wird vermutlich durch Hinaufregulation des vaskulären ACE und via lokaler Komponenten des Renin-Angiotensinsystems erzeugt. Es kommt zu Bluthochdruck und Atherosklerose [Nickenig und Harrison 2002b].

2.8 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Die Menopause ist durch eine erhöhte Inzidenz atherosklerotischer Erkrankungen gekennzeichnet. Die Östrogendefizienz führt zu einer vermehrten Expression des AT₁-Rezeptors, der bei der Pathogenese der vaskulären Dysfunktion eine zentrale Rolle spielt.

Die vorliegende Arbeit ist eine Darstellung der vom Autor zwischen dem 10.05.2001 und dem 27.06.2003 erhobenen Messwerten, die in Teilen bereits veröffentlicht wurden [Wassmann et al. 2006]. Die Studie bietet einen umfangreicheren Einblick in die erhobene Datenlage als es in der früheren Publikation möglich war und untersucht die Fragestellung, ob die pharmakologische Blockade des AT₁-Rezeptors bei postmenopausalen Frauen zu einer Verbesserung der Endothelfunktion führt.

Hierzu wurde in einer randomisierten doppelblinden Crossover-Studie der Effekt von Candesartan im Vergleich zu Placebo und Felodipin auf die Endothel-unabhängige und Endothel-abhängige Vasodilatation mittels Venenverschluss-Plethysmographie gemessen.

In einer 2. Studienphase erhielten die Patientinnen zusätzlich zur genannten Studienmedikation eine Östrogensubstitution (Hormonersatztherapie). Dabei sollte die Frage beantwortet werden, welche Rolle die Östrogensubstitution in diesem Zusammenhang spielt.

3 Material und Methodik

3.1 Material

3.1.1 Medikamente

Es wurden folgende Medikamente eingesetzt: Candesartan (Atacand[®]), Astra-Zeneca, Deutschland; Felodipin (Modip[®]), Astra-Zeneca, Deutschland; Placebo, Astra-Zeneca, Deutschland; Estradiol / Norethisteron (Kombinationspräparat Kliogest[®] N), Novo Nordisk Pharma GmbH, Deutschland und Nitroglycerin (Nitrolingual[®]) Zerbeißkapseln, Pohl-Boskamp, Deutschland.

Die Firma Astra-Zeneca hat freundlicherweise die in der Studie verwendeten Medikamente Candesartan und Felodipin sowie die Placebo-Präparate zur Verfügung gestellt. Zur Verblindung der Behandlung wurden die Präparate von der Firma Astra-Zeneca in Kapseln mit gleichem Aussehen umgefüllt und in gleiche Behältnisse verpackt. Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und aus einem Forschungsetat von AstraZeneca Deutschland unterstützt.

3.1.1.1 Felodipin

Felodipin wurde als Positivkontrollsubstanz verwendet, da es sich um ein Antihypertensivum (Ca-Antagonist) handelt (Abb. 5).

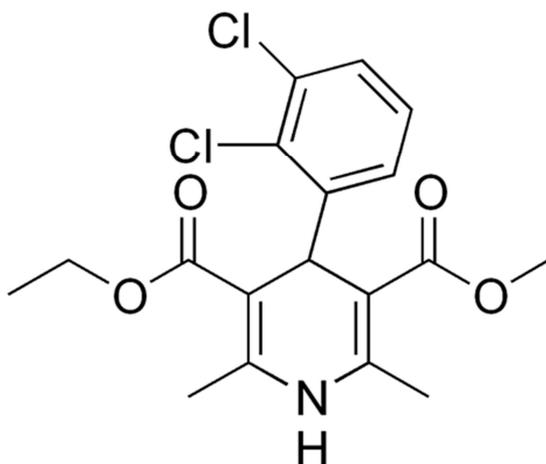


Abb. 5: Strukturformel von Felodipin: Ethyl-methyl-4-(2,3-dichlorophenyl)-1,4-dihydro-2,6-dimethyl-3,5-pyridindicarboxylat; $C_{18}H_{19}Cl_2NO_4$

Calciumantagonisten erzeugen eine Hemmung des Calcium-Einstrom in Herz- und glatte Gefäßmuskelzellen während der Zeitdauer des Aktionspotentials. Daraus resultiert eine Vasodilatation, die zumeist die arteriellen Gefäße betrifft. Ebenso kommt es zu einer Abnahme der Kontraktionskraft der Muskulatur sowie der Herzfrequenz. Die Verminderung des Gefäßmuskeltonus erzeugt letztlich eine Dilatation des epikardialen Gefäßbettes.

Felodipin (ein 1,4-Dihydropyridin) ist ein Calciumantagonist vom Nifedipintyp, bei dem nicht die kardiale Wirkung, sondern die Dilatation arterieller Gefäße im Vordergrund steht. Im Gegensatz zu Substanzen aus der Nifedipingruppe, die einen schnellen Wirkeintritt zeigen, kommt es bei Felodipin zu einer langsam zunehmenden Wirkung. Dies hat den Vorteil, dass Felodipin im Gegensatz zu anderen Nifedipinen neben einer längeren Wirkdauer auch den Vorteil des Fehlens unerwünschter Reflextachykardien aufweist.

Die Substanz ist in Europa für die Behandlung der arteriellen Hypertonie zugelassen.

Die gastrointestinale Resorption der Substanz nach oraler Applikation liegt bei 100%, systemisch sind 15% der aufgenommenen Dosis verfügbar und im üblichen Dosisbereich (2,5 - 10 mg /Tag) ist die Plasmakonzentration unabhängig von der oralen Zufuhr. Die Metabolisierung von Felodipin erfolgt primär hepatisch und die im Rahmen des Abbauprozesses entstehenden Metabolite sind pharmakologisch nicht aktiv in Bezug auf die Hämodynamik. In der vorliegenden Studie betrug die Tagesdosis von Felodipin 5 mg in beiden Studienphasen.

3.1.1.2 Candesartan

Candesartan, ein hochselektiver AT₁-Rezeptorantagonist, ist in Europa für die Therapie der arteriellen Hypertonie und der Herzinsuffizienz zugelassen.

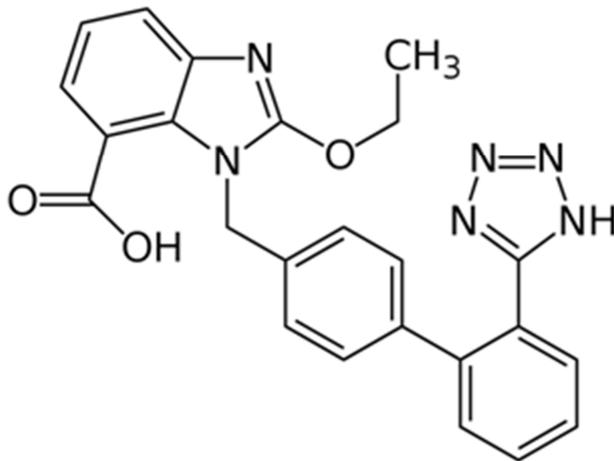


Abb. 6: Strukturformel von Candesartan: 2-Ethoxy-1-{4-[2-(1H-tetrazol-5-yl)phenyl]benzyl}benzimidazol-7-carbonsäure; C₂₄H₂₀N₆O₃

Bei dem oral verabreichten Präparat handelt es sich um die Prodrug Candesartancilexetil, die erst im Körper beim Durchtritt durch die Dünndarmschleimhaut in den aktiven Wirkstoff Candesartan überführt wird.

Die mittlere Bioverfügbarkeit der Substanz erreicht ca. 40 %, die höchste durchschnittliche Serumkonzentration erfolgt 3 - 4 Stunden nach oraler Applikation. Im Bereich der therapeutischen Dosis, der zwischen 4 - 32 mg liegt, steigt die Serumkonzentration von Candesartan proportional mit der Arzneimittelzufuhr an. Es finden sich keine Differenzen der Pharmakokinetik zwischen beiden Geschlechtern. Die AUC (zeitabhängige Fläche unter der Serumkonzentrationskurve) der Substanz ist nahrungsunabhängig. Die Elimination von Candesartan erfolgt primär über Urin und Galle, während eine Verstoffwechslung in der Leber nur eine untergeordnete Rolle spielt. Die Substanz weist eine Halbwertszeit von 9 Stunden auf und es besteht keine Kumulationseffekt bei mehrfacher Applikation. In der vorliegenden Arbeit erhielten die Versuchsteilnehmer in beiden Studienphasen eine Candesartandosis von 16 mg / Tag.

3.1.2 Geräte zur Plethysmographie

Für die Blutflussmessungen wurden folgende Geräte der Fa. D.E. Hokanson, Bellevue WA, USA verwendet.

- Plethysmograph EC6
- Rapid cuff inflator
- Air Source AG101
- Straight cuff SC10D
- Straight cuff TMC7
- Mercury strain gauge forearm set
- Aneroid Sphygmomanometer S300

3.2 Methoden

3.2.1 Studiendesign

Das Design entspricht einer monozentrischen, prospektiven, randomisierten, doppelblinden, Placebo-kontrollierten Therapiestudie bei postmenopausalen Frauen.

Folgende Ausschlusskriterien waren angesetzt:

- stattgehabte Behandlung mit in der Studie angewendeten Medikamenten oder mit ACE-Hemmern
- linksventrikuläre Funktionsstörungen (Ejektionsfraktion <60%)
- erhöhte Blutdruckwerte (> 150/95 mmHg)
- akutes Koronarsyndrom
- Aortenstenose
- stattgehabte Brustkrebserkrankung
- stattgehabte venöse Thromboembolie
- stattgehabte oder aktuelle andere schwere Erkrankung
- bekannter Drogen- oder Alkoholmissbrauch
- Unverträglichkeit gegen Nitratpräparate
- Kontraindikationen einer Therapie mit Candesartan oder Felodipin

Die Patientinnen wurden durch den Autor der vorliegenden Arbeit in seiner Rolle als Prüfarzt unter Kontrolle durch Dr. K. Wassmann aufgeklärt und dann ggf. in die Studie aufgenommen. Die Patientinnen konnten erst nach schriftlicher Zustimmung

an der Studie teilnehmen. Die Studie war im Vorfeld durch die Ethikkommission der Universität des Saarlandes aufgrund des Antrags der damaligen Betreuerin der vorliegenden Arbeit, Dr. K. Wassmann, schriftlich genehmigt worden.

Anhand einer Zufallszahlen-Code-Liste wurden die Patientinnen in eine von drei Behandlungsgruppen (16 mg/d Candesartan, 5 mg/d Felodipin oder Placebo) randomisiert.

Die Studie bestand aus zwei Studienphasen, bei dem die Daten durch den Autor der vorliegenden Arbeit zwischen dem 10.5.2001 und dem 27.06.2003 erhoben wurden. In Phase I erhielten die Patientinnen eine 6-wöchige Behandlung mit Candesartan, Felodipin oder Placebo. Danach wurde die Studienmedikation 4 Wochen ausgesetzt. Unmittelbar daran schloss sich Phase II der Studie an, die wiederum 6 Wochen dauerte und in der die Patientinnen neben besagter Medikation zusätzlich eine Hormonersatztherapie (HET) mit 2 mg/Tag Estradiol und 1 mg/Tag Norethisteron erhielten. Zu Beginn und Ende jeder Studienphase, also zu insgesamt vier Messzeitpunkten (MZP1 bis MZP4), wurden die klinischen Untersuchungen sowie die Blutflussmessungen durchgeführt (Abb. 7).

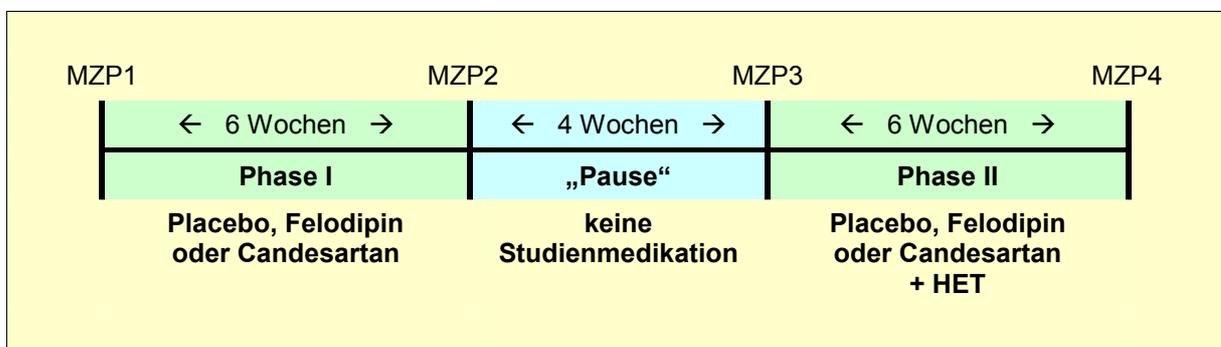


Abb. 7: Zeitliche Strukturierung der Studie. HET= Hormonersatztherapie, 2 mg/Tag Estradiol und 1 mg/Tag Norethisteron

3.2.2 Venenverschluss-Plethysmographie (Unterarmblutflussmessung)

Mit dieser Methode ist es möglich, auf nicht-invasive Weise den Blutfluss im Bereich des Unterarmes zu messen. Alle Untersuchungen wurden vom Autor dieser Arbeit vorgenommen. Die Untersuchungsperson wird in liegender Position mit einer automatisch aufblasbaren Blutdruckmanschette am rechten Oberarm versorgt.

Am Handgelenk des gleichen Armes wird eine manuell zu bedienende Blutdruckmanschette angelegt. Schließlich wird 5 cm distal des Epicondylus medialis eine dehnbare, quecksilberhaltiger Dehnmessstreifen (= Messkette) befestigt.

Ziel des Verfahrens ist es, durch Druckerhöhung in der oberen, maschinell betriebenen Staumanschette den venösen Rückstrom aus der Extremität zu verhindern, ohne gleichzeitig den arteriellen Zustrom zu blockieren. Dadurch kommt es zu einer geringgradigen Volumenzunahme des vermessenen Armabschnittes, die wiederum durch Dehnung der Messkette validiert werden kann.

Es besteht die Möglichkeit, dass die Messung durch arteriovenöse Shunts im Hohlhandbogen verfälscht wird. Diesem Effekt kann dadurch vorgebeugt werden, dass die Handgelenkmanschette auf 200 mmHg aufgeblasen wird, um einen Einstrom von Blut unterhalb der unteren Grenze der Messstrecke in den Bereich des Hohlhandbogens zu unterbinden.

Im Rahmen des 15-Sekunden-Messzyklus wird die obere maschinelle Manschette durch den Rapid Cuff Inflator automatisch auf 50 mmHg aufgeblasen, um die venöse Stauung zu erzeugen. Die durch den Blutvolumenanstieg im Messabschnitt ausgelöste Zunahme des Armumfangs dehnt die Messkette, was durch den Pletysmograph EC6 registriert und mittels seines Messprogramms (NIVP 4.25; Hokanson, Bellevue WA, USA) über drei Messzyklen graphisch validiert wird. Es wird eine Messgerade über die Daten aus mindestens drei Pulswellen gelegt und daraus leitet sich softwaregestützt der Unterarmblutfluss in der Einheit ml / 100 ml Unterarm / min ab.

Die Messzyklen wurden mehrfach wiederholt. Zur Bestimmung des basalen Blutflusses erfolgte eine Messwiederholung über einen vierminütigen Zeitraum. Bei der Ermittlung der reaktiven Hyperämie lag die Messperiode bei drei Minuten, bei der Messung der Nitrat-induzierten Vasodilatation wurde fünf Minuten lang gemessen. Die Temperatur im Untersuchungsraum betrug stets 23°C und es wurde darauf geachtet, eine ruhige Umgebung während der Prüfphase zu gewährleisten, um eine unerwartete Sympathikusaktivierung durch plötzliche Geräusentwicklung oder größere Temperaturschwankungen zu unterbinden.

3.2.3 Klinische Untersuchung und Durchführung der Blutflussmessungen

Zur Bestimmung des Östrogenspiegels sowie der Lipidwerte wurde den Studienteilnehmerinnen zu Beginn der Untersuchung vom Prüfarzt venöses Blut entnommen. Die Messung erfolgte im Zentrallaboratorium der Klinischen Chemie der Universitätsklinik des Saarlandes mittels üblicher klinisch-chemischer Routinemethoden.

Nach einer 30-minütigen Ruhephase wurde zur Bestimmung der basalen Vitalparameter dreimal der Blutdruck und die Herzfrequenz in liegender Position gemessen.

Die Blutflussmessungen mittels Unterarmvenenverschluss-Plethysmographie begannen mit der Messung des basalen Blutflusses (Baseline). Dabei wurden in vier Minuten mit einem 15-sekündigen Messzyklus 16 Messungen durchgeführt.

Danach wurde durch Aufpumpen der Oberarmblutdruckmanschette auf einen Druck von 50 mmHg über dem systolischen Blutdruck eine fünfminütige arterielle Ischämie induziert. Unmittelbar nach dem abruptem Entleeren der Manschette durch den Rapid Cuff Inflator begann eine dreiminütige Messung der Phase der reaktiven Hyperämie (12 Messungen bei 15-sekündigem Messzyklus).

Der Unterarmblutfluss während der reaktiven Hyperämie und hierbei vor allem der Spitzenfluss gilt als ein Maß der Endothel abhängigen Vasodilatation.

Nach einer Pause von 15 Minuten begann der zweite Teil der Untersuchung erneut mit einer vierminütigen Bestimmung des basalen Blutflusses. Nach Applikation einer Nitrolingual-Zerbeißkapsel (0,8 mg Glyceroltrinitrat) wurde in einem fünfminütigen Messintervall die Endothel unabhängige Vasodilatation bestimmt (20 Messungen bei 15-sekündigem Messzyklus).

Dieses Procedere wurde insgesamt viermal durchgeführt, jeweils zu Beginn und am Ende der 6-wöchigen Studienphase I bzw. II.

Die initialen Untersuchungen und Messungen von Phase II erfolgten vor dem Beginn der Hormonersatztherapie.

3.2.4 Statistische Auswertung

Bei der Analyse der Messwerte der Unterarmvenenverschluss-Plethysmographie wurden folgende Parameter herangezogen:

- basaler Fluss (Baseline): Mittelwert der Baseline-Messungen (4 Minuten Messdauer)
- Endothel-unabhängige Vasodilatation („Nitroglyzerin“): Spitzenfluss (Maximalwert) des 5-Minuten-Messintervalls
- Endothel-abhängige Vasodilatation (reaktive Hyperämie):
 - a) Spitzenfluss bei $t = 0$ s und
 - b) Integrales Blutvolumen zwischen $t = 0$ s und $t = 60$ s (AUC).

Der AUC-Wert wurde mittels numerischer Integration (Trapezregel) bestimmt.

Die Ergebnisse wurden als Absolutwerte und als relative prozentuale Differenz der Werte vor und nach der jeweiligen Studienphase angegeben.

Sämtliche Angaben erfolgten als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts (SEM). Die statistische Analyse der Flusswerte und der anderen metrisch skalierten Daten wurden nach erfolgreicher Prüfung auf Normalverteilung durch den Kolmogorov-Smirnov-Test nachfolgend mit t -Test (beim Vergleich von zwei Gruppen oder zwei Zeitpunkten) bzw. der univariaten ANOVA (bei drei Gruppen bzw. Zeitpunkten) vorgenommen (SPSS, Version 15.0). Als post-hoc-Test wurde der Newman-Keuls Multiple Comparison Test herangezogen. Kategoriale Daten wurden mittels χ^2 -Test auf Signifikanz überprüft.

Generell wurden Testergebnisse mit einem p-Wert $\leq 0,05$ als signifikant angesehen.

4 Ergebnisse

4.1 Patientencharakteristika

Insgesamt wurden 29 Patientinnen in die Studie eingeschlossen. Diese wurden in drei Gruppen - 12 (Placebo), 11 (Felodipin) und 6 Patientinnen (Candesartan) - aufgeteilt. Eine gleiche Ausgangsposition der Gruppen konnte nicht erzielt werden, da das Candesartan-Kollektiv eine erhöhte Abbruchrate aufwies. In Tab. 1 sind die zu Beginn der Studie erhobenen Patientencharakteristika zusammengestellt.

Tab. 1: Patientencharakteristika zu Beginn der Studie

Parameter	Placebo (n = 12)	Felodipin (n = 11)	Candesartan (n = 6)	p
Alter [Jahre]	65,6 ± 7,1	63,7 ± 5,9	59,5 ± 3,9	0,266 ¹⁾
Risikofaktoren [n]				
Diabetes	0	4	4	n.d.
Rauchen	1	2	4	
Hypertonie	11	10	6	
Hypercholesterinämie	7	7	4	
KHK [n]	5	9	5	n.d.
Ejektionsfraktion [%]	80,4 ± 8,0	74,5 ± 9,3	72,5 ± 11,3	0,169 ¹⁾
Medikation [n]				
Betablocker	12	11	6	n.d.
Diuretika	4	4	3	
Moxonidin	1	6	4	
CSE-Hemmer	7	6	2	
Fibrat	0	2	0	
Blutdruck [mmHg]				
systolisch	133 ± 12	131 ± 16	140 ± 14	0,465 ¹⁾
diastolisch	85 ± 5	85 ± 9	88 ± 12	0,859 ¹⁾
Östrogen [pg/ml]	23,6 ± 8,4	23,5 ± 8,6	22,4 ± 7,8	0,996 ¹⁾
Lipide [mg/dl]				
Cholesterin	195,3 ± 29,5	192,6 ± 13,2	210,2 ± 12,9	0,601 ¹⁾
LDL-Cholesterin	118,6 ± 22,5	109,7 ± 10,5	138,3 ± 11,8	0,160 ¹⁾
HDL-Cholesterin	60,8 ± 4,6	62,0 ± 3,8	48,2 ± 2,1	0,101 ¹⁾
Triglyceride	102,2 ± 8,2	135,2 ± 27,6	156,7 ± 17,0	0,166 ¹⁾

¹⁾ Signifikanz der Gruppenunterschiede nach ANOVA (Alter, EF, Blutdruck, Östrogen und Lipide); n.d. = χ^2 -Test aufgrund zu geringer Fallzahlen ($n < 5$) in den Testfeldern nicht durchführbar; Numerische Darstellung: Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM) bzw. Fallzahlen; KHK = Koronare Herzkrankheit

Hinsichtlich Alter, Blutdruck, Östrogenspiegel und Lipidstatus war zwischen den Behandlungsgruppen kein signifikanter Unterschied festzustellen. Bei den kardiovaskulären Risikofaktoren fiel auf, dass die Candesartangruppe einen erhöhten Anteil von Patienten mit Diabetes mellitus und Nikotinabusus aufwies, jeweils 66,7%. Gegenüber der Placebogruppe wiesen die beiden Verumgruppen einen etwas höheren Anteil von Patientinnen mit koronarer Herzkrankheit auf (Felodipin: 81,8%; Candesartan: 83,3%).

Schließlich sei noch auf einen Unterschied der Begleitmedikation hingewiesen: Moxonidin wurde von 8,3% der Patientinnen der Placebo- und von 66,7% der Patientinnen der Candesartangruppe angewendet.

4.2 Blutdruck, Östrogenspiegel und Lipidstatus im Studienverlauf

Im Verlauf der Studie wurde zu den vier 4 Messzeitpunkten der Blutdruck, der Östrogenspiegel sowie der Lipidstatus der Patientinnen gemessen (Tab. 2).

Blutdruck und Lipidstatus wiesen zu keinem Messzeitpunkt signifikante Gruppenunterschiede auf. Zu Beginn der 2. Studienphase, also noch vor der dann beginnenden Hormonersatztherapie, war ein signifikanter Gruppenunterschied der Östrogenspiegel feststellbar. Der mittlere Östrogenspiegel der Felodipingruppe ($46,4 \pm 36,1$ pg/ml) war gegenüber dem der Placebogruppe ($12,7 \pm 1,8$ pg/ml) und der Candesartangruppe ($21,8 \pm 9,9$ pg/ml) signifikant erhöht ($p = 0,022$). Post-Hoc-Tests ergaben nur für den Gruppenvergleich Placebo vs. Felodipin mit $p = 0,021$ einen signifikanten Unterschied. Alle anderen Vergleiche zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede (Placebo vs. Candesartan: $p = 1,000$; Felodipin vs. Candesartan: $p = 0,260$).

Tab. 2: Blutdruck, Östrogenspiegel und Lipidstatus im Studienverlauf

Parameter		Placebo (n = 12)		Felodipin (n = 11)		Candesartan (n = 6)		p
		MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM	
Blutdruck [mmHg]								
systol.	Phase I, prä	132,5	4,2	135,0	4,2	135,0	6,2	0,465
diastol.		85,4	1,7	85	9	88	12	0,859
systol.	Phase I, post	131,0	4,8	130,9	3,4	133,3	4,9	0,976
diastol.		84,0	2,9	83,6	2,5	84,0	2,6	0,284
systol.	Phase II, prä	134,0	3,5	131,8	3,5	140,0	4,5	0,430
diastol.		83,0	2,4	87,3	2,1	85,0	4,5	0,640
systol.	Phase II, post	132,5	3,4	127,7	3,4	134,0	3,5	0,242
diastol.		83,5	1,7	84,6	2,7	85,0	2,2	0,819
Östrogen [pg/ml]								
	Phase I, prä	23,6	8,4	23,5	8,6	22,4	7,8	0,996
	Phase I, post	11,4	1,0	15,3	2,2	13,6	4,3	0,278
	Phase II, prä	12,7	1,8	46,4	36,1	21,8	9,9	0,022
	Phase II, post	81,7	14,0	87,6	20,0	81,9	15,1	0,850
Cholesterin [mg/dl]								
	Phase I, prä	195,3	8,5	192,6	13,2	210,2	12,9	0,601
	Phase I, post	203,6	6,4	193,2	15,1	214,2	12,4	0,529
	Phase II, prä	201,4	10,1	191,0	17,5	213,2	19,0	0,670
	Phase II, post	185,0	8,4	182,0	7,6	190,4	10,0	0,829
LDL-Cholesterin [mg/dl]								
	Phase I, prä	118,6	6,5	109,7	10,5	138,3	11,8	0,160
	Phase I, post	123,0	6,1	113,8	13,6	138,8	11,1	0,353
	Phase II, prä	123,9	9,6	113,2	14,6	142,0	14,4	0,412
	Phase II, post	114,0	9,1	104,1	7,2	127,8	8,9	0,236
HDL-Cholesterin [mg/dl]								
	Phase I, prä	60,8	4,6	62,0	3,8	48,2	2,1	0,101
	Phase I, post	61,4	3,8	60,5	4,0	49,5	2,4	0,140
	Phase II, prä	60,3	4,9	58,7	3,8	45,4	2,4	0,111
	Phase II, post	57,1	5,5	60,7	4,3	44,0	2,7	0,120
Triglyceride [mg/dl]								
	Phase I, prä	102,2	8,2	135,2	27,6	156,7	17,0	0,166
	Phase I, post	118,9	15,2	121,5	20,7	170,0	35,2	0,277
	Phase II, prä	111,6	11,5	112,0	18,6	168,2	43,2	0,207
	Phase II, post	104,4	15,4	111,1	15,2	119,4	13,1	0,840

p = Signifikanzprüfung der Gruppenunterschiede nach ANOVA; MW = Mittelwert; SEM = Standardabweichung des Mittelwertes; Phase I = ohne Hormonersatztherapie, Phase II = mit Hormonersatztherapie

4.3 Blutflussmessungen

4.3.1 Basaler Fluss

Vor der Messung der Endothel-unabhängigen („Nitroglyzerin“) und der Endothel-abhängigen Vasodilatation (reaktive Hyperämie) wurde jeweils der basale Fluss (Baseline) gemessen. In beiden Fällen wurden innerhalb von 4 Minuten 16 Baseline-Messungen durchgeführt und daraus der Mittelwert gebildet. Da zwischen diesen beiden Messreihen bei keiner der Behandlungsgruppen ein signifikanter Unterschied feststellbar war, werden im folgenden nur die Ergebnisse der Baseline-Messungen vorgestellt, die vor der reaktiven Hyperämie durchgeführt wurden (Abb. 8 u. Tab. 3).

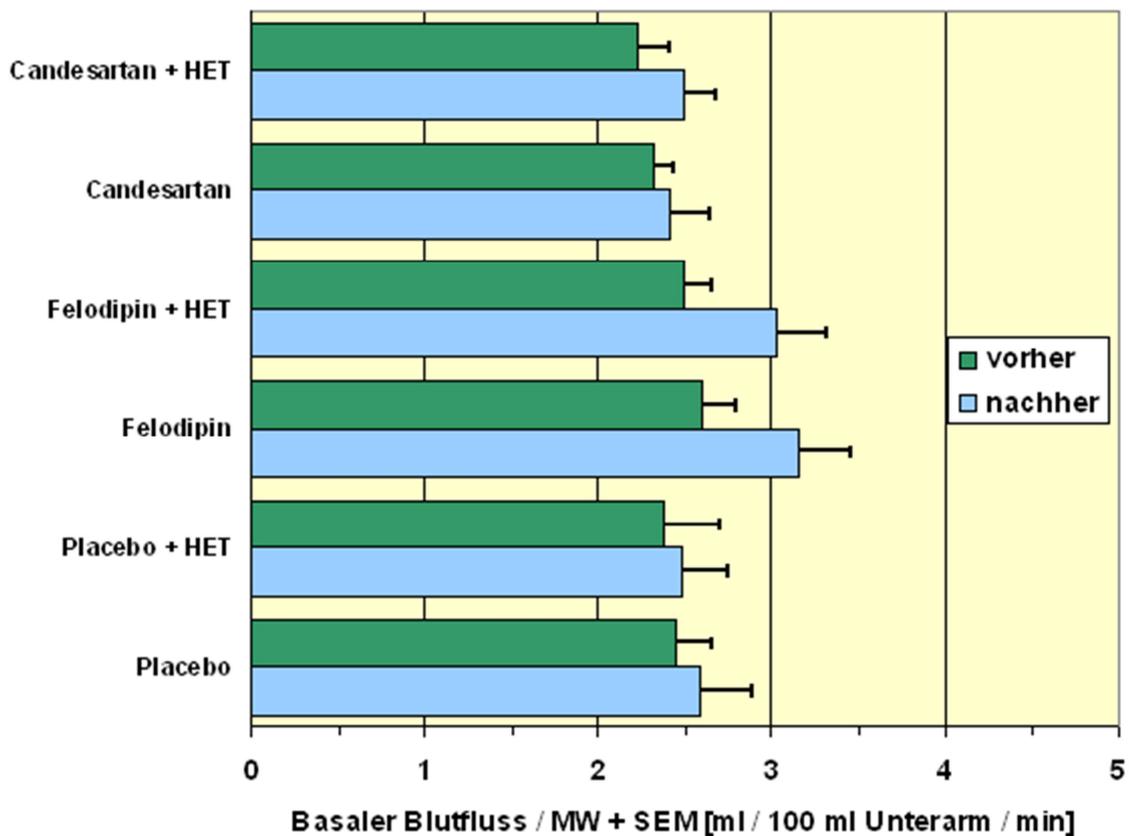


Abb. 8: Basaler Unterarmblutfluss der Behandlungsgruppen vor und nach Therapie. Signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen an den einzelnen Messzeitpunkten 1-4 und innerhalb der Behandlungsgruppen (vor Therapie vs. nach Therapie) waren nicht feststellbar (t-Test mit jeweils $p > 0,05$); HET = Hormonsatztherapie (Studienphase II)

Die Mittelwerte des basalen Flusses lagen über den gesamten Studienverlauf betrachtet zwischen 2,23 und 3,16 ml / 100 ml Unterarm / min. Generell war bei allen Behandlungsgruppen eine geringfügige Steigerung des mittleren basalen Flusses am Ende beider Studienphasen zu verzeichnen. Signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen an den vier Messzeitpunkten und innerhalb der Prüfgruppen beim Vergleich der Daten vor Therapie vs. nach Therapie waren nicht feststellbar (Tab. 3).

Bemerkenswert war, dass die Felodipin-Gruppe am Ende von Studienphase I und II die größte Zunahme des basalen Flusses mit 22,7% bzw. 23,11% aufwies. Diese Zunahmen waren jedoch nicht signifikant ($p = 0,142$ bzw. $p = 0,121$).

Auch der Vergleich der kleinsten („Placebo“: 6,83%) mit der größten Zunahme des Basalfusses („Felodipin + HET“: 23,11%) ergab keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,252$).

Tab. 3: Basaler Unterarmblutfluss der Behandlungsgruppen vor und nach der Therapie

Therapie	Basaler Blutfluss					Änderung des basalen Blutflusses				
	ml / 100 ml UA / min				p	ml / 100 ml UA / min		%		p
	vorher		nachher			MW	SEM	MW	SEM	
MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM					MW
Placebo	2,46	0,21	2,59	0,30	0,725	0,13	0,220	6,83	9,36	0,796
Placebo + HET	2,38	0,33	2,48	0,26	0,799	0,10	0,146	10,30	9,17	
Felodipin	2,60	0,21	3,16	0,30	0,142	0,56	0,203	22,70	7,78	0,975
Felodipin + HET	2,50	0,16	3,03	0,28	0,121	0,53	0,245	23,11	10,20	
Candesartan	2,31	0,13	2,41	0,22	0,711	0,10	0,312	7,31	13,16	0,716
Candesartan + HET	2,23	0,19	2,49	0,18	0,303	0,27	0,096	13,03	4,92	

UA = Unterarm; HET = Hormonersatztherapie; p = Signifikanzprüfung zwischen den Gruppen mittels t-Test

4.3.2 Endothel-unabhängige Vasodilatation

Nach der Nitroapplikation (Nitrolingual-Zerbeißkapsel) wurde in einem 5-minütigen Messintervall mit 20 Messungen die Endothel-unabhängige Vasodilatation bestimmt. Als Spitzenfluss der Endothel-unabhängigen Vasodilatation wurde der Maximalwert dieser 20 Messungen ausgewertet.

Über die Gesamtstudie betrachtet lagen die Mittelwerte des Spitzenflusses zwischen 2,53 und 3,76 ml / 100 ml Unterarm / min. (Abb. 9). Im Vergleich zu den mittleren Basalflüssen entspricht dies einer Steigerung um den Faktor 1,13–1,18. Dieser Anstieg war aber in keinem Fall statistisch signifikant.

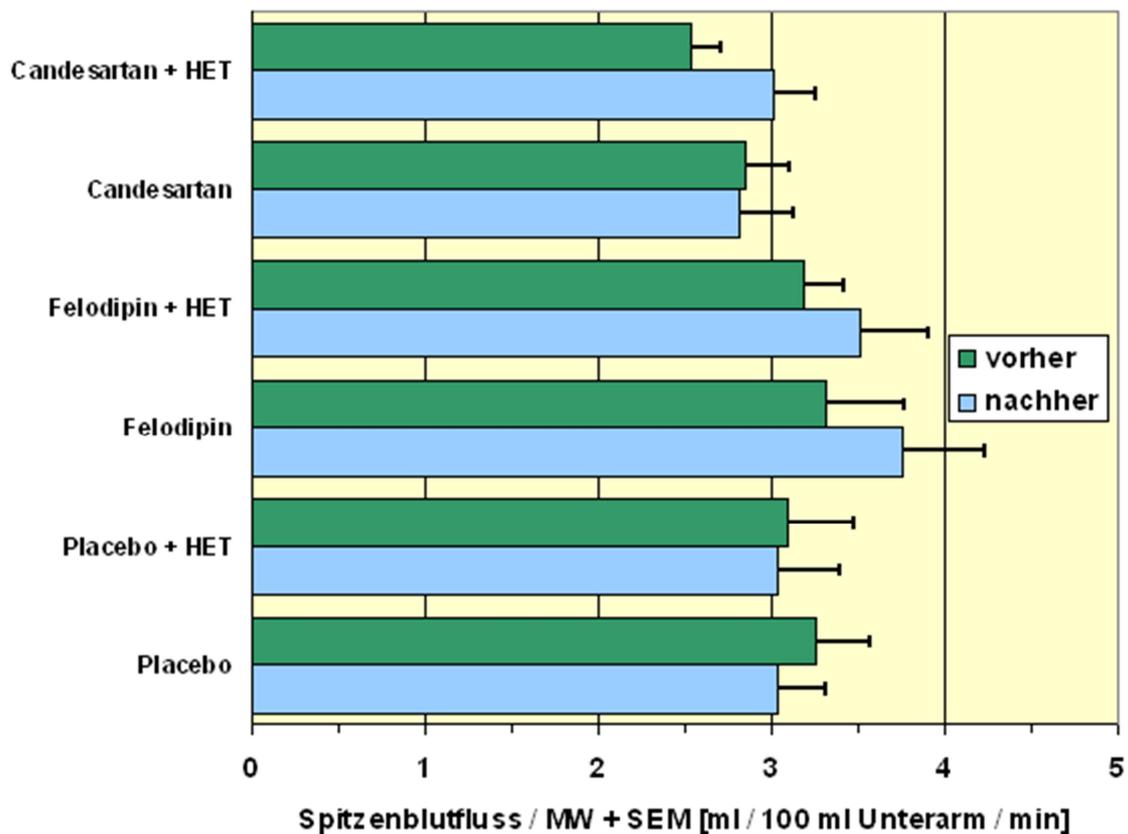


Abb. 9: Spitzenunterarmblutfluss der Behandlungsgruppen nach Nitroapplikation vor und nach Therapie. Signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen an den vier Messzeitpunkten und innerhalb der Behandlungsgruppen (vor Therapie vs. nach Therapie) waren nicht feststellbar (t-Test mit jeweils $p > 0,05$); HET = Hormonersatztherapie (Studienphase II)

Betrachtet man die prä- und posttherapeutischen mittleren Spitzenflusswerte, dann ergibt sich für keine der beiden Studienphasen und keine der Behandlungsgruppen eine signifikante Blutflusssteigerung nach Nitroapplikation (Tab. 4). Eine zumindest tendenzielle Steigerung war ausschließlich bei der Candesartan-Gruppe in der Studienphase II zu verzeichnen ($p = 0,158$).

Auch der Vergleich der relativen, prozentualen Änderung von Studienphase I (ohne HET) mit der von Studienphase II (mit HET) ergab bei keiner der drei Gruppen einen signifikanten Unterschied. Auch die bei der Candesartan-Gruppe vermeintlich deutliche Änderung des Blutflusses nach der 2. Studienphase von 22% unterschied sich nicht signifikant von jener nach der 1. Studienphase, die nur 1% betrug ($p = 0,317$).

Tab. 4: Unterarmblutfluss der Behandlungsgruppen nach Nitroapplikation vor und nach Therapie

Therapie	Spitzenblutfluss				p	Änderung des Spitzenblutflusses				
	ml / 100 ml UA / min vorher		ml / 100 ml UA / min nachher			ml / 100 ml UA / min		%		p
	MW	SEM	MW	SEM		MW	SEM	MW	SEM	
Placebo	3,27	0,30	3,05	0,28	0,596	-0,22	0,30	-1,81	9,79	0,771
Placebo + HET	3,09	0,38	3,04	0,36	0,924	-0,05	0,32	2,10	8,53	
Felodipin	3,32	0,45	3,76	0,47	0,509	0,44	0,48	19,84	13,38	0,524
Felodipin + HET	3,19	0,23	3,51	0,39	0,485	0,32	0,26	9,61	8,35	
Candesartan	2,86	0,25	2,81	0,32	0,903	-0,04	0,39	1,03	11,96	0,317
Candesartan + HET	2,53	0,18	3,01	0,25	0,158	0,47	0,35	21,99	16,30	

UA = Unterarm; HET = Hormonersatztherapie; p = Signifikanzprüfung zwischen den Gruppen mittels t-Test

4.3.3 Endothel-abhängige Vasodilatation (reaktive Hyperämie)

4.3.3.1 Spitzenfluss

Der Spitzenfluss zu Beginn der postischämischen reaktiven Hyperämie ist ein Maß für die Endothel-abhängige Vasodilatation. In Abb. 15 bis Abb. 17 (Abschnitt 4.3.3.3) sind die Blutflusskurven der Behandlungsgruppen dargestellt, jeweils ohne und mit HET.

Studienphase I (ohne HET). Ausschließlich bei der Candesartan-Gruppe war ein signifikanter Anstieg des mittleren Spitzenflusses von $16,43 \pm 3,30$ auf $28,34 \pm 4,12$ ml / 100 ml Unterarm / min zu verzeichnen ($p = 0,048$). Weitere signifikante Spitzenflussänderungen innerhalb der Behandlungsgruppen traten nicht auf (Abb. 10 und Tab. 5).

Der relative, prozentuale Anstieg des mittleren Spitzenflusswertes der Candesartan-Gruppe betrug $72,49 \pm 12,11\%$ und er war signifikant größer als derjenige in der Placebo- und in der Felodipin-Gruppe ($8,24 \pm 11,44\%$ bzw. $14,01 \pm 12,19\%$).

Studienphase II (mit HET). Bei allen Behandlungsgruppen waren keine signifikanten Änderungen des Spitzenflusses am Ende der Behandlung zu verzeichnen ($p > 0,315$).

Der Vergleich der relativen, prozentualen Änderung der Spitzenflusswerte von Studienphase I (ohne HET) mit der von Studienphase II (mit HET) ergab nur bei der Candesartan-Gruppe einen signifikanten Unterschied ($72,49 \pm 12,11\%$ vs. $18,65 \pm 12,11\%$; $p = 0,044$).

Eine Gegenüberstellung der relativen, prozentualen Änderung der mittleren Spitzenflusswerte in Phase I und II findet sich in Abb. 11.

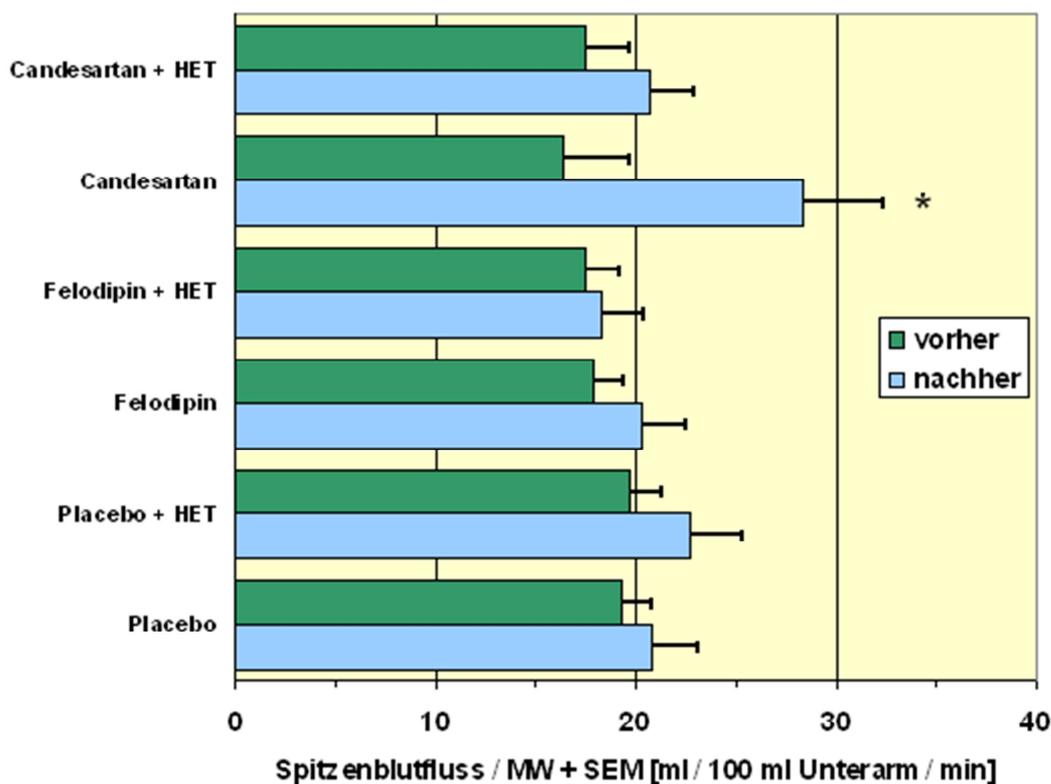


Abb. 10: Unterarm-Spitzenblutfluss der Behandlungsgruppen in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie vor und nach Therapie. In der Studienphase I (ohne HET) war ausschließlich bei der Candesartan-Gruppe ein signifikanter Anstieg des mittleren Spitzenflusses zu verzeichnen; * = signifikanter Unterschied zwischen vor und nach Therapie

Tab. 5: Unterarm-Spitzenblutfluss bei postischämischer reaktiver Hyperämie vor und nach Therapie

Therapie	Spitzenblutfluss					Änderung des Spitzenblutflusses				
	ml / 100 ml UA / min				p	ml / 100 ml UA / min		%		p
	vorher		nachher			MW	SEM	MW	SEM	
MW	SEM	MW	SEM		MW	SEM	MW	SEM		
Placebo	19,29	1,54	20,88	2,30	0,572	1,59	1,70	8,24	11,44	0,698
Placebo + HET	19,75	1,60	22,76	2,61	0,336	3,01	1,75	15,24	13,39	
Felodipin	17,84	1,54	20,34	2,20	0,363	2,50	2,34	14,01	12,19	0,574
Felodipin + HET	17,55	1,66	18,28	2,18	0,793	0,73	1,92	4,16	11,58	
Candesartan	16,43	3,30	28,34	4,12	0,048	11,91	4,22	72,49	20,01	0,044
Candesartan + HET	17,48	2,24	20,74	2,12	0,315	3,26	1,65	18,65	12,11	

UA = Unterarm; HET = Hormonersatztherapie; p = Signifikanzprüfung zwischen den Gruppen mittels t-Test

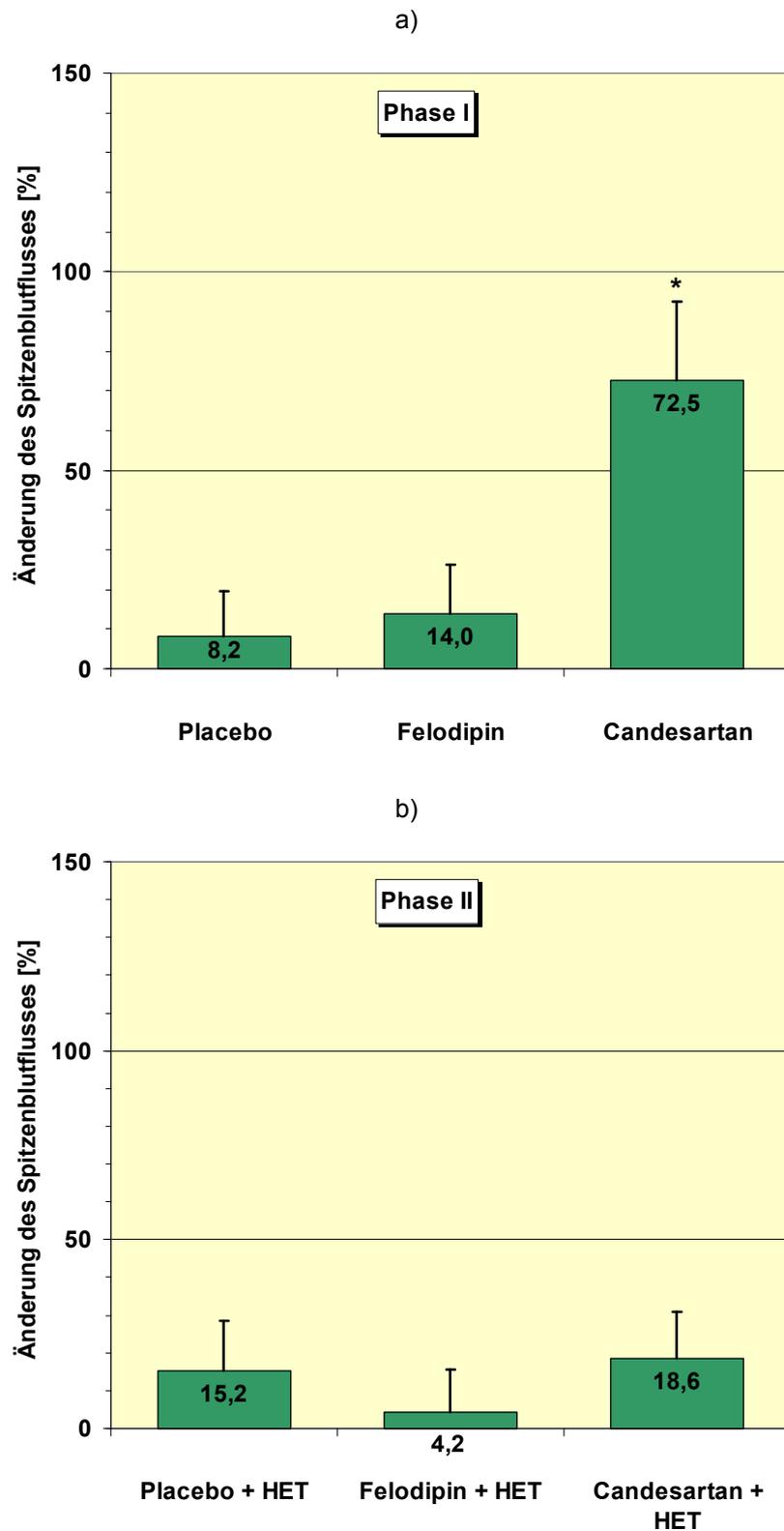


Abb. 11: Relative, prozentuale Änderung des mittleren Spitzenblutflusses: a) Studienphase I ohne HET; b) Studienphase II mit HET

* = signifikanter Unterschied zwischen a) und b) (t-Test)

4.3.3.2 Integrales Blutvolumen (AUC)

Neben dem Spitzenfluss ist das integrale Blutvolumen, d.h. die Fläche unter der Blutflusskurve in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie, ein Maß für die Endothel-abhängige Vasodilatation. Da die Blutflusskurve nach ca. 60 Sekunden auf das Niveau des Basalflusses gesunken war oder sich nicht mehr signifikant von diesem unterschied (Abb. 12), wurde das Flächenintegral (AUC) zwischen 0 s und 60 s mittels numerischer Integration bestimmt (Trapezregel). Der AUC-Wert hat die Dimension eines Volumens mit der Einheit ml / 100 ml Unterarm (= Blutminutenvolumen bzw. Minutenvolumen).

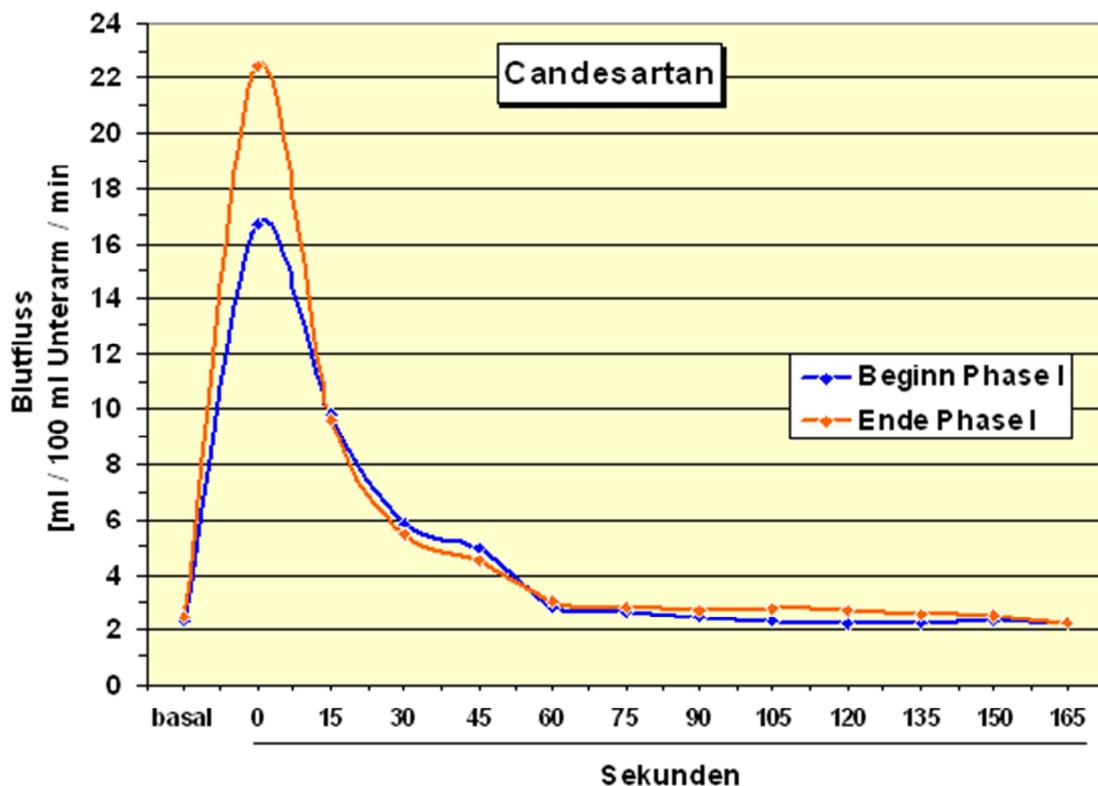


Abb. 12: Zeitlicher Verlauf des Unterarmblutflusses in der Studienphase I bei der Candesartan-Gruppe. Nach ca. 60 s ist der Blutfluss auf das Niveau des Basalflusses gesunken. Dies ist typisch für alle in der Studie gemessenen Blutflusskurven

Erwartungsgemäß und in Anbetracht der Blutflusskurven (Abschnitt 4.3.3.3) führte die Auswertung der Minutenvolumina zu qualitativ gleichen Ergebnissen wie jene der Spitzenflusswerte.

Studienphase I (ohne HET): Ausschließlich bei der Candesartan-Gruppe war der Anstieg des mittleren AUC von $32,8 \pm 5,9$ auf $51,2 \pm 5,3$ ml / 100 ml Unterarm statistisch signifikant ($p = 0,042$). Weitere signifikante Änderungen des AUC in den Behandlungsgruppen traten nicht auf (Abb. 13 und Tab. 6).

Der relative, prozentuale Anstieg des mittleren AUC der Candesartan-Gruppe betrug $56,37 \pm 20,55\%$ und war signifikant größer als derjenige in der Placebo- und in der Felodipin-Gruppe ($1,72 \pm 8,14\%$ bzw. $6,04 \pm 9,22\%$).

Studienphase II (mit HET): Am Ende der Behandlung waren bei allen Behandlungsgruppen keine signifikanten Änderungen des AUC zu verzeichnen ($p > 0,251$).

Wiederum nur bei der Candesartan-Gruppe ergab der Vergleich der relativen, prozentualen Änderung der AUC von Studienphase I (ohne HET) mit der von Studienphase II (mit HET) einen signifikanten Unterschied ($56,37 \pm 20,55\%$ vs. $1,19 \pm 9,77\%$; $p = 0,036$).

In Abb. 14 sind die relativen, prozentualen Änderung der mittleren AUC bzw. der Minutenvolumina von Phase I und II gegenübergestellt.

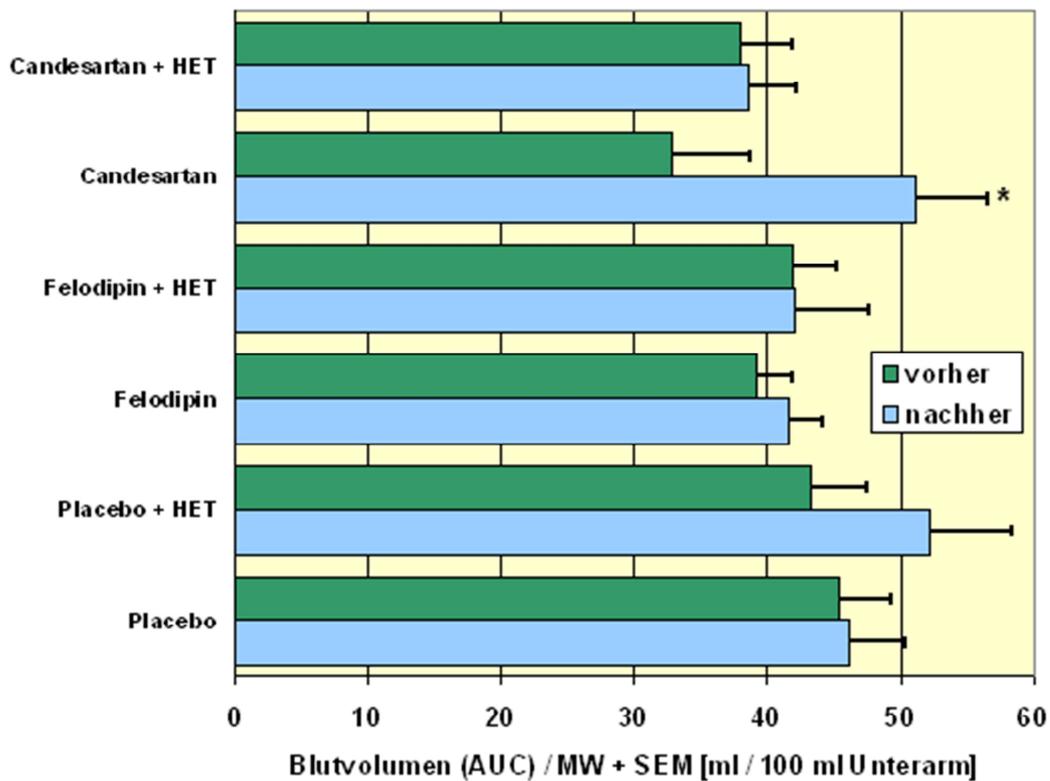


Abb. 13: Blutvolumen (AUC) in den ersten 60 s der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie vor und nach Therapie In der Studienphase I (ohne HET) war ausschließlich bei der Candesartan-Gruppe ein signifikanter Anstieg des mittleren Blutvolumens (AUC) zu verzeichnen

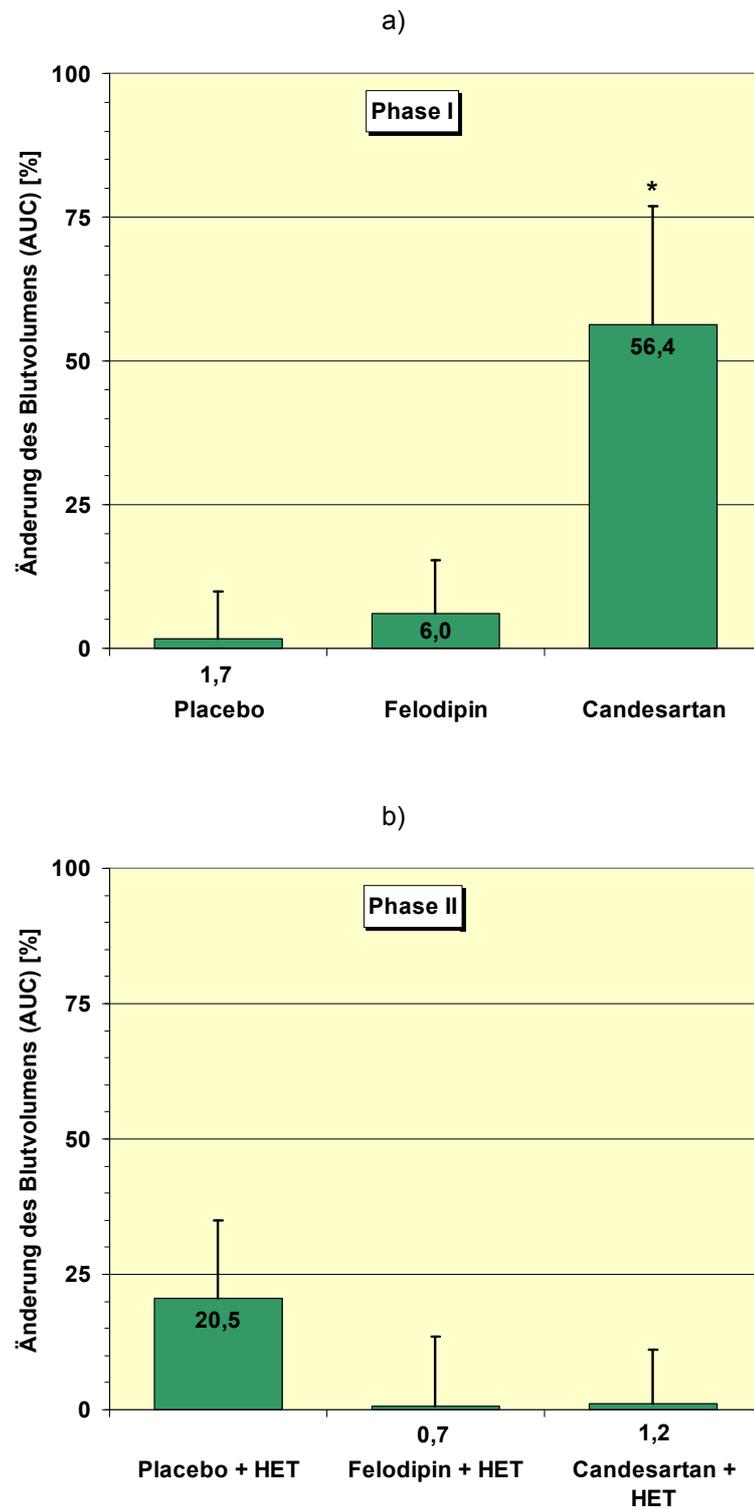


Abb. 14: Relative, prozentuale Änderung des integralen Blutvolumens (AUC):
a) Studienphase I ohne HET; b) Studienphase II mit HET; Ausgewertet wurden die ersten 60 Sekunden der postischämischen reaktiven Hyperämie

Tab. 6: Blutvolumen (AUC) bei postischämischer reaktiver Hyperämie vor und nach Therapie

Therapie	Blutvolumen (AUC)					Änderung des Blutvolumens (AUC)				
	ml / 100 ml UA				p	ml / 100 ml UA		%		p
	vorher		nachher			MW	SEM	MW	SEM	
MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM					MW
Placebo	45,40	3,88	46,18	4,27	0,894	0,78	3,15	1,72	8,14	0,268
Placebo + HET	43,34	4,21	52,23	6,26	0,251	8,89	3,85	20,51	14,40	
Felodipin	39,24	2,64	41,61	2,53	0,524	2,37	2,32	6,04	9,22	0,741
Felodipin + HET	41,86	3,36	42,17	5,39	0,962	0,31	4,96	0,74	12,83	
Candesartan	32,75	5,87	51,21	5,32	0,042	18,46	6,24	56,37	20,55	0,036
Candesartan + HET	38,08	3,80	38,53	3,72	0,934	0,45	2,24	1,18	9,77	

UA = Unterarm; HET = Hormonersatztherapie; p = Signifikanzprüfung zwischen den Gruppen mittels t-Test

4.3.3.3 Unterarm-Blutflusskurven in der Phase der reaktiven Hyperämie

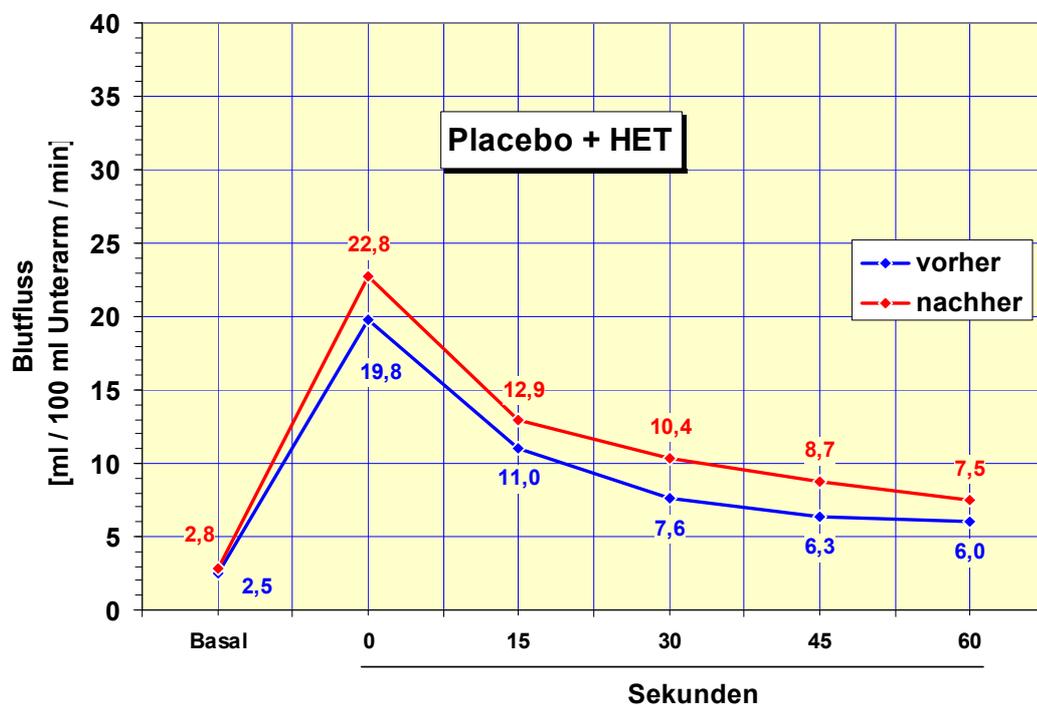
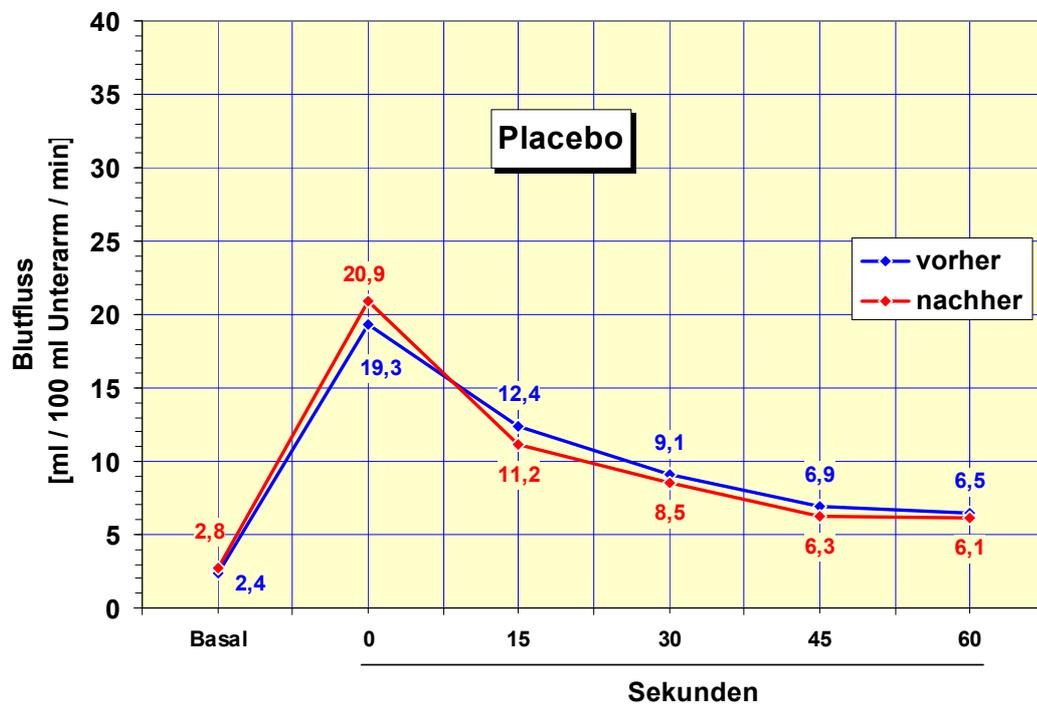


Abb. 15: Unterarmblutfluss in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie. Placebo-Gruppe vor und nach Therapie; Oben: Studienphase I; Unten: Studienphase II mit Hormonersatztherapie (HET)

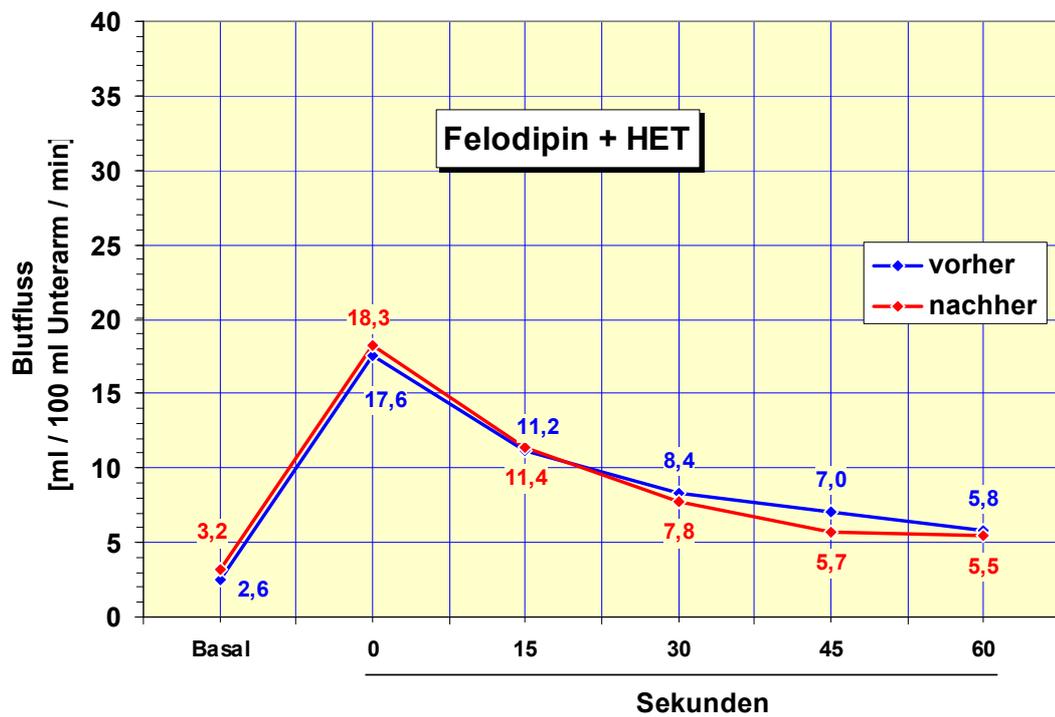
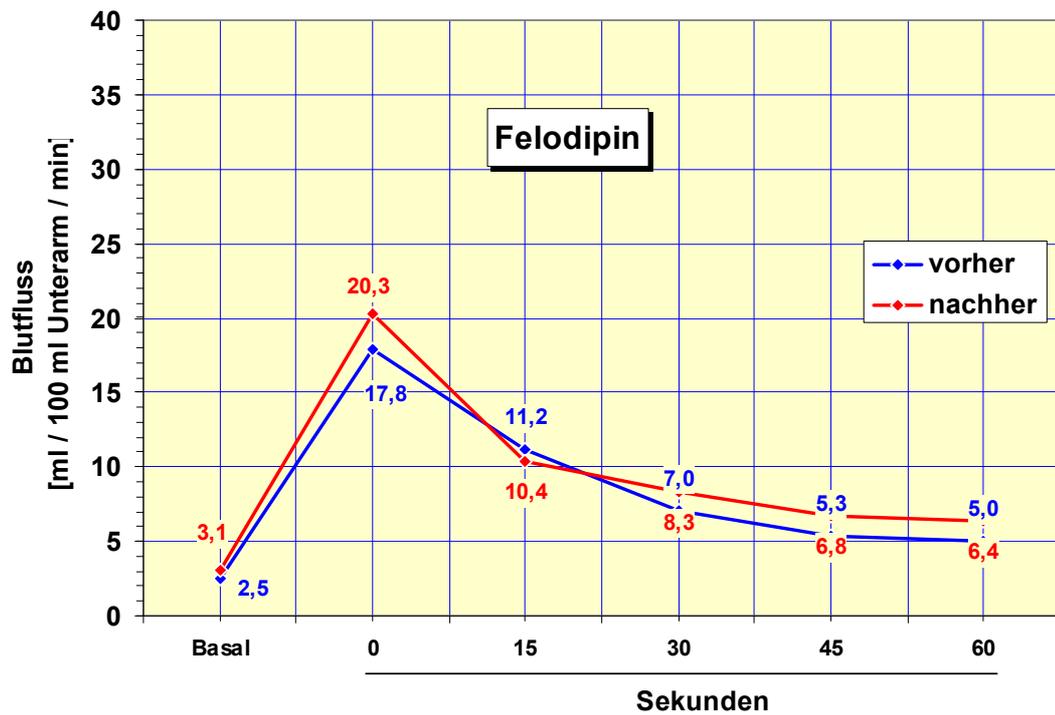


Abb. 16: Unterarmblutfluss in der Phase der postschämischen reaktiven Hyperämie. Felodipin-Gruppe vor und nach Therapie; Oben: Studienphase I; Unten: Studienphase II mit Hormonersatztherapie (HET)

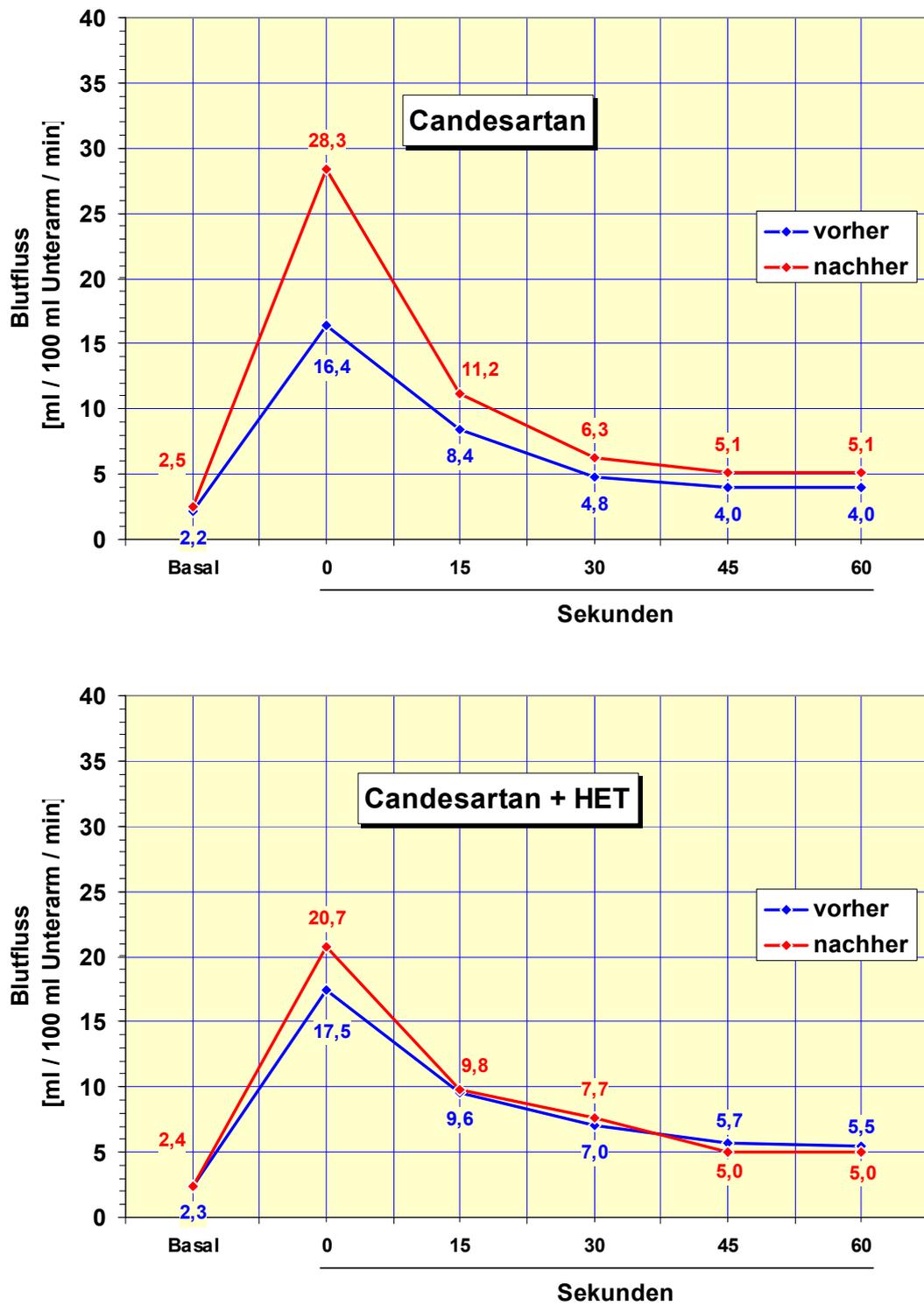


Abb. 17: Unterarmblutfluss in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie. Candesartan-Gruppe vor und nach Therapie; Oben: Studienphase I; Unten: Studienphase II mit Hormonersatztherapie (HET)

5 Diskussion

Kardiovaskuläre Erkrankungen treten bei prämenopausalen Frauen selten auf [Colditz et al. 1987, Wenger et al. 1993], was unter anderem auf verschiedene vasoprotektive Effekte des Östrogens zurückzuführen ist [Mendelsohn und Karas 1994, Farhat et al. 1996]. Die zunehmende Östrogendefizienz während der Menopause geht mit einem steilem Anstieg des Risikos für das Auftreten kardiovaskulärer Morbidität und Mortalität einher [Colditz et al. 1998, Mendelsohn und Karas 1999, Wenger et al. 1993]. Mit zunehmendem Lebensalter ist ein kontinuierlicher Zuwachs der kardiovaskulären Mortalität bei Frauen zu verzeichnen, die im hohen Alter fast an jene von Männern heranreicht (vgl. Abb. 1).

Im Gegensatz zu vielen retrospektiven Studien zeigen prospektive, randomisierte Untersuchungen keinen positiven Effekt einer Hormonersatztherapie (HET) hinsichtlich kardiovaskulärer Komplikationen bei postmenopausalen Frauen [Hulley et al. 2002, Koh und Yoon 2006, Rossouw et al. 2002, Simon et al. 2001]. Die in 2002 veröffentlichten Ergebnisse von zwei umfangreichen, randomisierten, placebokontrollierten Studien - HERS I/II (Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study) [Grady et al. 2002, Hulley et al. 2002] und WHI (Women's Health Initiative)-Studie von Rossouw et al. [2002] - konnten keinen positiven Effekt der Östrogensubstitution nachweisen. Dies führte zu einer massiven Verunsicherung sowohl von Ärzten als auch Patientinnen bezüglich dieser Therapie. In der Folge kam es zu einer verbreiteten Ablehnung dieser Präventionsform.

Ziel von HERS I/II und WHI war die Untersuchung der Effektivität einer postmenopausalen Hormontherapie mit Östrogen und Progestin im Vergleich zu Placebo bei ca. 16.000 gesunden Frauen (WHI; „Primärprävention“) bzw. bei etwa 2.800 Frauen mit koronarer Herzerkrankung (HERS; „Sekundärprävention“). WHI konnte keine verringerte Inzidenz kardiovaskulärer Erkrankungen im Rahmen der Primärprävention demonstrieren und HERS I/II konnten keine Verringerung von kardiovaskulären Ereignissen bzw. Komplikationen während der Sekundärprävention nachweisen. Ursächlich hierfür könnte aber nicht allein die Hormontherapie gewesen sein, sondern auch der Aufbau beider Studienpopulationen, die sich von denen vieler

Beobachtungsstudien unterschieden [Grodstein et al. 2003, Mendelsohn und Karas 2001, Pilz 2005].

Aufgrund der nicht eindeutigen Datenlage wird die HET gegenwärtig nicht zur Primär- oder Sekundärprävention kardiovaskulärer Erkrankungen bei postmenopausalen Frauen empfohlen. Da das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse wie Herzinfarkt und Schlaganfall in der Postmenopause beträchtlich zunimmt, besteht die Notwendigkeit wirksamer medikamentöse Präventionsstrategien, die über die Effekte auf der Basis einer Lipid- und Blutdrucksenkertherapie hinausgehen.

Verschiedene Experimente an Zellkulturen [Caulin-Glaser et al. 1997, Laufs et al. 2003, Nickenig et al. 1998, Nickenig et al. 2000, Strehlow et al. 2003a, Wassmann et al. 2001] sowie tierexperimentelle [Brouchet et al. 2001, Jiang et al. 1991, Nickenig et al. 1998, Strehlow et al. 2003b, Wassmann et al. 2001] und klinische Untersuchungen [Farhat et al. 1996, Mendelsohn und Karas 1999] haben gezeigt, dass Östrogen eine Reihe von physiologischen Effekten ausübt:

- Senkung des Lipidspiegels,
- Erhöhung der Bioverfügbarkeit von NO,
- Verminderung des oxidativen Stress,
- Interaktion mit dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System,
- Blockade der Calcium-Kanäle.

Für die Pathogenese und Progression der Atherosklerose sind die verminderte Bioverfügbarkeit von NO sowie ein erhöhter oxidativer Stress von besonderer Bedeutung. Östrogen hat mittels verschiedener biochemischer Mechanismen einen Einfluss auf das Ausmaß des oxidativen Stresses [Caulin-Glaser et al. 1997, Lantin-Hermoso et al. 1997, Nickenig et al. 2000, Laufs et al. 2003, Strehlow et al. 2003a], u.a. durch vermehrte Expression des Angiotensin II Typ 1 (AT₁) Rezeptors bei Östrogenmangel. Dieser Mechanismus könnte zu dem erhöhten Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen nach der Menopause führen.

Die Blockade des AT₁-Rezeptors mittels eines AT₁-Rezeptorantagonisten müsste sich also positiv auf die Endothelfunktion bei postmenopausalen Frauen auswirken und zwar unabhängig von der blutdrucksenkenden Wirkung der Substanz. Dies war der Ausgangspunkt der vorliegenden Studie, die den Effekt einer sechswöchigen

Behandlung mit dem AT₁-Rezeptor Antagonisten Candesartan auf die Endothel-unabhängige und -abhängige Vasodilatation im Vergleich zur Behandlung mit dem Calciumantagonisten Felodipin sowie mit Placebo untersuchte. Nach vierwöchiger Pause ohne Studienmedikation schloss sich eine weitere sechswöchige Behandlung an, in der die drei Behandlungsgruppen zusätzlich zu besagter Medikation eine HET erhielten.

Mittels Venenverschluss-Plethysmographie wurde der Unterarmblutfluss bei reaktiver Hyperämie als Maß für die Endothel-abhängige Vasodilatation zu Beginn und Ende jeder Studienphase gemessen. Nach Studienphase I, also Medikation ohne HET, wiesen die Patientinnen der Candesartan-Gruppe einen signifikant höheren Unterarmblutfluss auf (Spitzenfluss und integrales Blutvolumen im Zeitraum 0 - 60 s). In der Felodipin- und Placebogruppe war kein derartiger Effekt feststellbar. Nach Studienphase II (mit HET) war bei keiner der Behandlungsgruppen eine signifikante Verbesserung der Endothel-abhängigen Vasodilatation zu verzeichnen.

Die Endothel-unabhängige Vasodilatation („Nitrolingual-Zerbeißkapsel“) sowie der basale Unterarmblutfluss war nach keiner Studienphase und bei keiner Behandlungsgruppe signifikant verändert. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht feststellbar.

Die Blockade des AT₁-Rezeptors bei postmenopausalen Frauen ohne HET führt demnach zu einer signifikanten Verbesserung der Endothelfunktion. Daraus könnte sich ein effizienter therapeutischer Ansatz für die Prävention der vaskulären Dysfunktion bei östrogendefizienten Frauen ableiten lassen.

5.1 AT₁-Rezeptor-Antagonismus und endotheliale Dysfunktion

Die endotheliale Dysfunktion stellt ein frühes Stadium der Atherosklerose dar und ist außerdem durch eine hohe Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit Hypertonie und koronarer Herzkrankheit gekennzeichnet [Heitzer et al. 2001, Schächinger et al. 2000, Suwaidi et al. 2000]. Deshalb ist die Verbesserung der Endothelfunktion ein wichtiges Behandlungsziel bei Menschen mit erhöhtem Komplikationsrisiko auf Grund atherosklerotischer Veränderungen.

Postmenopausale Frauen sind besonders anfällig für kardiovaskuläre Komplikationen, wie die erhöhten Raten von Myokardinfarkt, Schlaganfall und Herzversagen belegen. Ursache dieses Phänomens könnte die erhöhte Inzidenz von Hypertension und Hyperlipidämie in Verbindung mit pathologischen Veränderungen auf zellulärer bzw. molekularer Ebene sein [Colditz et al. 1987, Mendelsohn und Karas 1999, Wenger et al. 1993].

Mittels Blutdruck- und lipidsenkender Medikamente, z.B. Statinen, konnte die Häufigkeit kardiovaskulärer Ereignisse bei postmenopausalen Frauen gesenkt werden [Chobanian et al. 2003, Heart Protection Study Collaborative Group 2002, Severs et al. 1989]. Dies ist unter anderem darauf zurückzuführen, dass im Rahmen einer Dyslipidämie der erhöhte LDL-Serumspiegel eine Überexpression vaskulärer AT₁-Rezeptoren bewirkt. Diese Überexpression kann durch die Behandlung mit HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren reduziert werden [Strehlow et al. 2000]. Darüber hinaus wäre jedoch ein zusätzliches therapeutisches Konzept wünschenswert, welches in der Lage ist, eine spezifische vasoprotektive Wirkung zu erzeugen, um eine Verbesserung der Endothelfunktion zu bewirken. Um dieses Ziel zu erreichen, sind detaillierte Kenntnisse über die molekularen Prozesse unentbehrlich, die einen maßgeblichen Einfluss auf die Progression der Atherosklerose bei postmenopausalen Frauen ausüben.

Die Östrogendefizienz ist offensichtlich von fundamentaler Bedeutung für die Entwicklung der endothelialen Dysfunktion nach der Menopause. Erhöhter oxidativer Stress als Resultat einer reduzierten vaskulären NO-Bioverfügbarkeit und der Überproduktion reaktiver Sauerstoffverbindungen (ROS), ist eine der Ursachen der endothelialen Dysfunktion [Caulin-Glaser et al. 1997, Lantin-Hermoso et al. 1997, Laufs et al. 2003, Nickenig et al. 1998, Nickenig et al. 2000, Strehlow et al. 2000a/b, Wassmann et al. 2001]. Eine gesteigerte ROS-Produktion ist zumindest teilweise auf die Hochregulierung des AT₁-Rezeptors bei Östrogendefizienz zurückzuführen, da die AT₁-Rezeptor-Aktivierung einen Schlüsselmodulator des oxidativen Stress in der Gefäßwand darstellt [Nickenig et al. 2000a/b].

Es ist naheliegend, dass die AT₁-Rezeptor-Blockade eine effektive therapeutische Strategie zur Senkung des Blutdrucks bei gleichzeitiger Verbesserung der Endothelfunktion darstellen kann. Dass dies umsetzbar ist, konnte in einer Studie bei

postmenopausalen, hypertensiven Frauen gezeigt werden. Die Behandlung mit Candesartan senkte den Blutdruck wesentlich effektiver als andere antihypertensive Behandlungen [Malmqvist et al. 2000]. Diese Blutdruckreduktion kann selbst dann erfolgreich mit dem AT₁-Blocker Candesartan durchgeführt werden, wenn bei den Patienten AT₁-Rezeptor-Autoantikörper vorhanden sind. Dies gelingt sogar immer noch in stärkerem Umfange als bei Anwendung nicht in der Wirkung durch AT₁-Rezeptor-Autoantikörper eingeschränkter Wirksubstanzen wie dem ACE-Hemmer Imidapril [Wei et al. 2011].

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit erweitern entsprechende Beobachtungen insofern, als dass der Blick auf die Verbesserung der Vasoprotektion bzw. Verbesserung der Endothelfunktion gerichtet wird. Der AT₁-Rezeptor-Antagonismus verbesserte die Gefäßfunktion postmenopausaler Frauen in der eigenen Studie signifikant, die Behandlung mit Placebo oder dem Calciumkanalblocker Felodipin zeigte keine signifikanten Effekte. Da im gesamten Studienverlauf hinsichtlich des Blutdrucks keine signifikanten Intra- oder Intergruppeneffekte zu verzeichnen waren, kann von einer spezifischen Wirkung des Candesartans auf die Endothelfunktion durch die Hemmung der AT₁-Rezeptor-Aktivierung ausgegangen werden.

Die Ergebnisse unserer Studiengruppe zeigten, dass Candesartan nur ohne HET (Studienphase I) einen signifikanten positiven Einfluss auf die Gefäßfunktion ausübt. Dies könnte daran liegen, dass Östrogene die AT₁-Rezeptor-Expression herunterregulieren [Nickenig et al. 2000, Wassmann et al. 2001]. Aufgrund der dann verminderten Rezeptordichte kann Candesartan weniger AT₁-Rezeptoren deaktivieren und deshalb weniger effektiv zur Verbesserung der Gefäßfunktion beitragen.

Die Östrogensubstitution allein (Studienphase II, Placebogruppe) zeigte nur einen geringfügigen positiven, jedoch nicht signifikanten Effekt auf die Endothelfunktion (vgl. Abb. 11 und Abb. 14). Dies widerspricht den Ergebnissen tierexperimenteller und kleinerer klinischer Untersuchungen. Gründe dafür könnten die relativ kurze Behandlungsdauer sowie die geringe Patientenzahl in der eigenen Arbeit gewesen sein.

Trotz prinzipieller Unterschiede im Studiendesign der vorliegenden Arbeit im Vergleich zum Aufbau großer randomisierter, placebokontrollierter Studien wie HERS I/II [Grady et al. 2002, Hulley et al. 2002] und WHI [Roussow et al. 2002], stehen die

eigenen Ergebnisse im Einklang mit diesen Studien. Dort war ein Nutzen der alleinigen Östrogensubstitution ebenso wenig nachweisbar und zwar weder in der Primär- noch in der Sekundärprävention. Gründe für diese enttäuschenden Ergebnisse von HERS I/II bzw. WHI könnte das Alter der Frauen sein, das durchschnittlich 67 Jahre in HERS I/II betrug bzw. zwischen 50-79 Jahre in WHI schwankte. Die Resultate in den Studien könnten deshalb so ernüchternd ausgefallen sein, weil überproportional viele ältere postmenopausale Frauen mit einer mehr als 10-jährigen Östrogendefizienz eingeschlossen wurden. Eine derartige Östrogendefizienz führt zu fortgeschrittenen atherosklerotische Gefäßveränderungen, die wiederum thromboembolische Komplikationen fördern. Diese treten aber auch als Nebenwirkungen einer langjährigen Östrogentherapie auf.

Hinzu kommt, dass in den großen Studien sowie in der eigenen Untersuchung die Hormonersatztherapie als eine Kombinationstherapie aus Östrogenen und Progestinen verabfolgt wurde. Bei HERS und WHI wurden z.B. konjugierte equine Östrogene (CEE, conjugated equine estrogens) in Kombination mit Medroxyprogesteronacetat (MPA) eingesetzt. Die Kombination beider Hormone soll das Risiko maligner endometrialer Neoplasien minimieren, möglicherweise werden dadurch aber eher die positiven Effekte der Östrogene abgeschwächt [Miyagawa et al. 1997, Mueck et al. 2002, Thomas et al. 2003].

Progestine und Progesteron vermitteln ihre vaskulären Effekte durch Aktivierung von Progesteron-Rezeptoren, die in Endothel- und glatten Gefäßmuskelzellen exprimiert werden, oder durch Herunterregulierung des Östrogenrezeptors [Khalil 2005]. Es gibt Hinweise darauf, dass das natürliche menschliche Progestogen die Hemmung der Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen durch Östrogen unterstützt [Orshal und Khalil 2004] und auf diesem Weg die Endothel-abhängige Vasodilatation induzieren kann [Khalil 2005, Mather et al. 2000]. Darüber hinaus scheint das „natürliche“ Progesteron im Rahmen einer kombinierten HET die positiven Effekte von Östrogen nicht zu vermindern [Spritzer et al. 2003, The Writing Group for the PEPI Trial 1995, Vilodre et al. 2003].

Die Progestine sind jedoch synthetische Progestogene, die aufgrund verschiedener Faktoren (Molekülstruktur, Dosierung, Komorbidität) unterschiedliche pharmakologische Profile aufweisen. So wie die Östrogene, können sich auch die verschiedenen

Progestine, die bei der HET angewendet werden, hinsichtlich ihrer Wirkung mehr oder weniger deutlich von ihren natürlichen Analoga unterscheiden. So können z.B. Progestine mit androgenen Eigenschaften die positive Wirkung der Östrogene auf den Lipidstatus antagonisieren [Rosano et al. 2003].

Einige Studien haben den Nutzen der Kombinationstherapie (CEE + MPA) mit dem der Monotherapie (CEE) verglichen. Die Ergebnisse waren nicht eindeutig.

Die Analyse der Entzündungsmarker hs-CRP, IL-6, ICAM und MMP-9 im Verlauf der PEPI-Studie [The Writing Group for the PEPI Trial 1995] ergab nach 12 Monaten eine Erhöhung des CRP-Spiegels von 121% in der CEE-Gruppe bzw. von 150% in der CEE + MPA-Gruppe. Die Spiegel der anderen Marker waren unverändert (IL-6) oder waren reduziert [Hu et al. 2006].

Ein andere Studie konnte keinen Unterschied zwischen Mono- und Kombinationstherapie bei postmenopausalen Frauen mit leichter Hypercholesterinämie feststellen. Beide Therapieformen erzielten eine vergleichbare Verbesserung der Endothelfunktion, gemessen an der posttherapeutischen Steigerung des Unterarmblutflusses bei reaktiver Hyperämie [Sanada et al. 2002].

Von einer relativen Verschlechterung der Endothel-abhängigen Vasodilatation bei einer CEE-Dosis von 0,625 mg/d und sukzessiver Erhöhung der MPA-Dosis (drei Patientengruppen mit 0 mg/d, 2,5 mg/d oder 5,0 mg/d MPA) wurde allerdings auch berichtet. Die Gruppe mit Monotherapie wies die größte relative Verbesserung der Endothelfunktion auf, bei der Gruppe mit der höchsten MPA-Dosis war posttherapeutisch sogar eine Verschlechterung der Endothelfunktion zu verzeichnen, die allerdings nicht signifikant war [Wakatsuki et al. 2001].

Im Zusammenhang mit den Ergebnissen der Placebogruppe in der vorliegenden Arbeit ist der Vergleich zu den Aussagen von HERS I/II und WHI unter Berücksichtigung der Studien von Sanada et al. [2002] und Wakatsuki et al. [2001] bedeutsam. In beiden Studien konnte eine signifikante Verbesserung der Endothelfunktion erzielt werden, in beiden Fällen betrug das Alter der Studienpopulation im Mittel nur 53 Jahre. Da die eigenen Placebo-Patientinnen im Mittel 65,4 Jahre alt waren und bei ihnen keine Verbesserung der Endothelfunktion nachweisbar war, während bei den nur etwas jüngeren Candesartan-Patientinnen (60,1 Jahre) in der 1. Studienphase ohne HET-Kombinationstherapie aus Estradiol und dem synthetischen Progestin

Norethisteron durchaus eine spezifische Verbesserung der Endothelfunktion zu erzielen war, besteht Grund zu der Annahme, dass bei hinreichend früher Intervention, also sogar noch innerhalb des 10-Jahreszeitfensters nach Eintritt der Menopause, durch AT₁-Gabe eine Verbesserung der Endothelfunktion zu erreichen ist.

Generell lässt sich auf der Basis der aktuellen Literatur gemäß einer Meta-Analyse von Sare et al. [2008] folgende Aussage in Bezug auf die HRT mittels Östrogen-Monotherapie bzw. Kombinationstherapie treffen. Sowohl eine Mono- als auch eine Kombinationstherapie erhöhen die Rate zerebrovaskulärer Ereignisse. Die Inzidenz der koronaren Herzerkrankung wird von der Östrogen-Monotherapie nicht beeinflusst, von der Kombinationstherapie jedoch gesenkt. Venöse thromboembolische Ereignisse hingegen werden unter Östrogen-Monotherapie etwas häufiger beobachtet, unter Kombinationstherapie jedoch erheblich häufiger. Dies deutet auf einen negativen Einfluss der Progestine wie auch eine relativ geringe positive Wirkung in Bezug auf die kardialen Ereignisse durch eine Östrogen-Monotherapie hin.

Neuere Analysen der WHI-Studiendaten zeigen, dass, sofern man die Ergebnisse in Relation zum Lebensalter der Patientinnen bzw. dem Menopausenzeitpunkt bei Beginn der HET setzt, sich bei frühem Beginn der Östrogensubstitution eine deutliche Verminderung des kardiovaskulären Risikos zeigen lässt. Hier ergibt sich also ein „window of opportunity“. Eine pathophysiologische Erklärung für dieses Phänomen ist in der progredienten Bildung von atherosklerotischen Plaques mit zunehmendem Lebensalter zu suchen. Nur in frühen Stadien kann eine Verbesserung der endothelialen Dysfunktion, die der Atherosklerose zu Grunde liegt, durch Östrogensubstitution überhaupt gelingen [Pilz 2005].

5.2 Limitationen der Studie

Hier sind im wesentlichen zwei Punkte zu nennen, nämlich die relativ kleine Fallzahl von Patientinnen insbesondere in der Candesartangruppe sowie methodenbedingte Einschränkungen der Aussagekraft der venenpletysmographischen Messung der Endothel-abhängigen Vasodilatation.

Das Studiendesign der vorliegenden Arbeit sah eine Randomisierung in drei gleich große Behandlungsgruppen vor. Zu Beginn der Studie war dies auch der Fall. Im weiteren Verlauf brach jedoch eine Reihe von Patientinnen die Studie ab. Dies geschah vor dem Hintergrund der in 2002 veröffentlichten Ergebnisse zweier großer Studien, HERS I/II [Grady et al. 2002, Hulley et al. 2002] und WHI [Rossouw et al. 2002], die keinen positiven Effekt der Östrogensubstitution auf die Primär- und Sekundärprävention koronarer Ereignisse zeigten. In den folgenden Jahren kam es zu einer massiven Verunsicherung sowohl von Ärzten als auch Patientinnen, was verbreitet zu einer Ablehnung der HET führte.

Dass die Fallzahl in der Candesartangruppe darunter am meisten leiden würde, war nicht vorhersehbar, sondern ein zufälliges Ereignis. Da die durchgeführten Blutflussmessungen sehr aufwändig waren, entschloss man sich nach vorzeitiger Beendigung der Studie die bereits erhobenen Daten trotz relativ kleiner Fallzahlen auszuwerten. Bei der Bewertung der Aussagekraft der Ergebnisse ist dies zu berücksichtigen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der zeitabhängige postischämische Blutfluss der reaktiven Hyperämie als Surrogatparameter der Endothel-abhängigen Vasodilatation gemessen. Diese Methode weist im Vergleich zur intraarteriellen Acetylcholin-Infusion Limitationen auf. Der Hyperämie-induzierte Blutfluss ist nicht allein vom Endothel abhängig. Zusätzlich zu den Endothel-abhängigen vasoaktiven Substanzen können noch andere lokale metabolische Faktoren, die im ischämischen Gewebe entstanden sind, zur Vasodilatation beitragen. Da jedoch relative Änderungen der Endothel-abhängigen Vasodilatation zur Beurteilung der Effektivität der Studienmedikationen herangezogen wurden, sind mögliche Fehler der Absolutwerte vernachlässigbar. Hinzu kommt, dass die individuellen prä- und posttherapeutischen Blutflussmesswerte im Sinne einer verbundenen Stichprobe ausgewertet wurden unter der gerechtfertigten Annahme, dass sich die Endothel-unabhängige Vasodilatation im Verlauf der Studie nicht geändert hat (vgl. Abschnitt 4.3.1 und 4.3.2). Deren Anteil am Blutfluss repräsentiert also eine konstante Abweichung. Die Ergebnisse dieser Messmethode können deshalb als verlässlicher Parameter der Endothelfunktion angesehen werden.

5.3 Fazit

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen im Rahmen der methodischen Limitationen folgende Schlussfolgerungen zu.

- AT₁-Rezeptorantagonisten, hier Candesartan, können bei postmenopausalen Frauen ohne Hormonersatztherapie effektiv die Endothelfunktion verbessern,
- Hormonersatztherapien mit Östrogenen plus Progestinen haben keinen signifikanten Nutzen und hemmen günstige Effekte von AT₁-Rezeptorantagonisten,
- Diese Befunde könnten die Grundlage neuer therapeutischer Konzepte zur Behandlung der endothelialen Dysfunktion bei postmenopausalen Frauen sein. Die Inzidenz atherosklerotischer Veränderungen und somit die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität könnten deutlich reduziert werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Alexandersen P, Tankó LB, Bagger YZ, Qin G, Christiansen C (2006) The long-term impact of 2-3 years of hormone replacement therapy on cardiovascular mortality and atherosclerosis in healthy women. *Climacteric* 9: 108-118
2. Anderson GL, Limacher M, Assaf AR, Bassford T, Beresford SA, Black H, Bonds D, Brunner R, Brzyski R, Caan B, Chlebowski R, Curb D, Gass M, Hays J, Heiss G, Hendrix S, Howard BV, Hsia J, Hubbell A, Jackson R, Johnson KC, Judd H, Kotchen JM, Kuller L, LaCroix AZ, Lane D, Langer RD, Lasser N, Lewis CE, Manson J, Margolis K, Ockene J, O'Sullivan MJ, Phillips L, Prentice RL, Ritenbaugh C, Robbins J, Rossouw JE, Sarto G, Stefanick ML, Van Horn L, Wactawski-Wende J, Wallace R, Wassertheil-Smoller S; Women's Health Initiative Steering Committee (2004) Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 291: 1701-1712
3. Babior BM (2000) Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med* 109: 33-44
4. Brouchet L, Krust A, Dupont S, Chambon P, Bayard F, Arnal JF (2001) Estradiol accelerates reendothelialization in mouse carotid artery through estrogen receptor-alpha but not estrogen receptor-beta. *Circulation* 103: 423-428
5. Binko J, Majewski H (1998) 17 beta-Estradiol reduces vasoconstriction in endothelium-denuded rat aortas through inducible NOS. *Am J Physiol* 274: H853-859
6. Blumenthal RS, Heldman AW, Brinker JA, Resar JR, Coombs VJ, Gloth ST, Gerstenblith G, Reis SE (1997) Acute effects of conjugated estrogens on coronary blood flow response to acetylcholine in men. *Am J Cardiol* 80: 1021-1024
7. Brouchet L, Krust A, Dupont S, Chambon P, Bayard F, Arnal JF (2001) Estradiol accelerates reendothelialization in mouse carotid artery through estrogen receptor-alpha but not estrogen receptor-beta. *Circulation* 103: 423-428
8. Budoff MJ, Chen GP, Hunter CJ, Takasu J, Agrawal N, Sorochinsky B, Mao S (2005) Effects of hormone replacement on progression of coronary calcium as measured by electron beam tomography. *J Womens Health (Larchmt)* 14: 410-417
9. Bundesärztekammer, Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften, Kassenärztliche Bundesvereinigung (2006) Nationale Versorgungsleitlinie Chronische KHK. Version 1.4. November 2006
10. Claassen M, Sybrandy KC, Appelman YE, Asselbergs FW (2012) Gender gap in acute coronary heart disease: myth of reality? *World J Cardiol* 26: 36-47

11. Caulin-Glaser T, García-Cardena G, Sarrel P, Sessa WC, Bender JR (1997) 17 beta-estradiol regulation of human endothelial cell basal nitric oxide release, independent of cytosolic Ca²⁺ mobilization. *Circ Res* 81: 885-892
12. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ; National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee (2003) The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *J Am Med Assoc* 289: 2560-2572
13. Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH (1987) Menopause and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 316: 1105-1110
14. Collins P, Rosano GM, Sarrel PM, Ulrich L, Adamopoulos S, Beale CM, McNeill JG, Poole-Wilson PA (1995) 17 beta-Estradiol attenuates acetylcholine-induced coronary arterial constriction in women but not men with coronary heart disease. *Circulation* 92: 24-30
15. Cornwell TL, Arnold E, Boerth NJ, Lincoln TM (1994) Inhibition of smooth muscle cell growth by nitric oxide and activation of cAMP-dependent protein kinase by cGMP. *Am J Physiol* 67: C1405-1413
16. Du X, Stocklauser-Färber K, Rösen P (1999) Generation of reactive oxygen intermediates, activation of NF-kappaB, and induction of apoptosis in human endothelial cells by glucose: role of nitric oxide synthase? *Free Radic Biol Med* 27: 752-63
17. Dzau VJ (1998) Mechanism of protective effects of ACE inhibition on coronary artery disease. *Eur Heart J* 19 Suppl J: J2-6
18. Farhat MY, Lavigne MC, Ramwell PW (1996). The vascular protective effects of estrogen. *FASEB J* 10: 615-624
19. Gesundheitsberichterstattung des Bundes (2012) Ad-hoc Tabelle: Sterbefälle, Sterbeziffern (je 100.000 Einwohner, altersstandardisiert) (ab 1998). Gliederungsmerkmale: Jahre, Region, Alter, Geschlecht, Nationalität, ICD-10, Art der Standardisierung. Erstellt und abgerufen am 20.04.2012, <https://www.gbe-bund.de>
20. Gilligan DM, Badar DM, Panza JA, Quyyumi AA, Cannon RO 3rd (1994a) Acute vascular effects of estrogen in postmenopausal women. *Circulation* 90: 786-791
21. Gilligan DM, Quyyumi AA, Cannon RO 3rd (1994b) Effects of physiological levels of estrogen on coronary vasomotor function in postmenopausal women. *Circulation* 89: 2545-2551

22. Grady D, Rubin SM, Petitti DB, Fox CS, Black D, Ettinger B, Ernster VL, Cummings SR (1992) Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 117: 1016-1037
23. Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumenthal R, Davidson M, Hlatky M, Hsia J, Hulley S, Herd A, Khan S, Newby LK, Waters D, Vittinghoff E, Wenger N; HERS Research Group (2002) Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *J Am Med Assoc* 288: 49-57
24. Griending KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW (1994) Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 74: 1141-1148
25. Griending KK, Harrison DG (1999) Dual role of reactive oxygen species in vascular growth. *Circ Res* 85: 562-563
26. Grodstein F, Manson JE, Colditz GA, Willett WC, Speizer FE, Stampfer MJ (2000) A prospective, observational study of postmenopausal hormone therapy and primary prevention of cardiovascular disease. *Ann Intern Med* 133: 933-941
27. Grodstein F, Clarkson TB, Manson JE (2003) Understanding the divergent data on postmenopausal hormone therapy. *N Engl J Med* 348: 645-650
28. Gudermann T, Leidenberger F (2007). Wirkungen und Stoffwechsel der wichtigsten natürlichen Sexualsteroid der Frau. 2.6.1. Hauptwirkungen der natürlichen Sexualsteroid. In: Leidenberger F, Strowitzki T, Ortmann O (Hrsg.): *Klinische Endokrinologie für Frauenärzte*. Springer Verlag, Stuttgart, 3. Aufl., 28-32
29. Guetta V, Quyyumi AA, Prasad A, Panza JA, Waclawiw M, Cannon RO 3rd. (1997) The role of nitric oxide in coronary vascular effects of estrogen in postmenopausal women. *Circulation* 96: 2795-2801
30. Harrison DG (1997) Endothelial function and oxidant stress. *Clin Cardiol* 20 (Suppl 2): II-11-7
31. Heart Protection Study Collaborative Group (2002) MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 360: 7-22
32. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T (2001) Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 104: 2673-2678
33. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA (2000) Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radic Biol Med* 28: 1456-1462

34. Hong MK, Romm PA, Reagan K, Green CE, Rackley CE (1992) Effects of estrogen replacement therapy on serum lipid values and angiographically defined coronary artery disease in postmenopausal women. *Am J Cardiol* 69:176-178
35. Hu P, Greendale GA, Palla SL, Reboussin BA, Herrington DM, Barrett-Connor E, Reuben DB (2006) The effects of hormone therapy on the markers of inflammation and endothelial function and plasma matrix metalloproteinase-9 level in postmenopausal women: the postmenopausal estrogen progestin intervention (PEPI) trial. *Atherosclerosis* 185: 347-352
36. Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, Cauley J, Grady D, Haskell W, Knopp R, Lowery M, Satterfield S, Schrott H, Vittinghoff E, Hunninghake D; HERS Research Group (2002) Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *J Am Med Assoc* 88: 58-66
37. Jiang CW, Sarrel PM, Lindsay DC, Poole-Wilson PA, Collins P (1991) Endothelium-independent relaxation of rabbit coronary artery by 17 beta-oestradiol in vitro. *Br J Pharmacol* 104: 1033-1037
38. Kalantaridou SN, Naka KK, Papanikolaou E, Kazakos N, Kravariti M, Calis KA, Paraskevaides EA, Sideris DA, Tsatsoulis A, Chrousos GP, Michalis LK (2004) Impaired endothelial function in young women with premature ovarian failure: normalization with hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 3907-3913
39. Khalil RA (2005) Sex hormones as potential modulators of vascular function in hypertension. *Hypertension* 46: 249-254
40. Koh KK, Yoon BK (2006) Controversies regarding hormone therapy: Insights from inflammation and hemostasis. *Cardiovasc Res* 70: 22-30
41. Kranzhöfer R, Browatzki M, Schmidt J, Kübler W (1999) Angiotensin II activates the proinflammatory transcription factor nuclear factor-kappaB in human monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 257: 826-828
42. Krasinski K, Spyridopoulos I, Asahara T, van der Zee R, Isner JM, Losordo DW (1997) Estradiol accelerates functional endothelial recovery after arterial injury. *Circulation* 95: 1768-1772
43. Lantin-Hermoso RL, Rosenfeld CR, Yuhanna IS, German Z, Chen Z, Shaul PW (1997) Estrogen acutely stimulates nitric oxide synthase activity in fetal pulmonary artery endothelium. *Am J Physiol* 273: L119-L126
44. Laufs U, Adam O, Strehlow K, Wassmann S, Konkol C, Laufs K, Schmidt W, Böhm M, Nickenig G (2003) Down-regulation of Rac-1 GTPase by Estrogen. *J Biol Chem* 278: 5956-5962

45. Laursen JB, Rajagopalan S, Galis Z, Tarpey M, Freeman BA, Harrison DG (1997) Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension. *Circulation* 95: 588-593
46. Leung PS, Wong TP, Lam SY, Chan HC, Wong PY (2000) Testicular hormonal regulation of the renin-angiotensin system in the rat epididymis. *Life Sci* 66: 1317-1324
47. Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, Walsh BW, Selwyn AP, Ganz P, Yeung AC, Creager MA (1994) Estrogen improves endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 121: 936-941
48. Löffler G, Petrides PE (1997) *Biochemie und Pathobiochemie*. 6. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York
49. Luft FC, Mervaala E, Müller DN, Gross V, Schmidt F, Park JK, Schmitz C, Lippoldt A, Breu V, Dechend R, Dragun D, Schneider W, Ganten D, Haller H (1999) Hypertension-induced end-organ damage : A new transgenic approach to an old problem. *Hypertension* 33: 212-218
50. Malmqvist K, Kahan T, Dahl M (2000) Angiotensin II type 1 (AT1) receptor blockade in hypertensive women: benefits of candesartan cilexetil versus enalapril or hydrochlorothiazide. *Am J Hypertens* 13: 504-511
51. Mancini GB, Henry GC, Macaya C, O'Neill BJ, Pucillo AL, Carere RG, Wargovich TJ, Mudra H, Lüscher TF, Klibaner MI, Haber HE, Uprichard AC, Pepine CJ, Pitt B (1996) 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* 94: 258-265
52. Mather KJ, Norman EG, Prior JC, Elliott TG (2000) Preserved forearm endothelial responses with acute exposure to progesterone: A randomized cross-over trial of 17-beta estradiol, progesterone, and 17-beta estradiol with progesterone in healthy menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 4644-4649
53. Mendelsohn ME, Karas RH (1994) Estrogen and the blood vessel wall. *Curr Opin Cardiol* 9: 619-626
54. Mendelsohn ME, Karas RH (1999) The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med* 340: 1801-1811
55. Mendelsohn ME, Karas RH (2001) The time has come to stop letting the HERS tale wag the dogma. *Circulation* 104: 2256-2259
56. Mercurio G, Longu G, Zoncu S, Cherchi A (1999) Impaired forearm blood flow and vasodilator reserve in healthy postmenopausal women. *Am Heart J* 137: 692-697

57. Miyagawa K, Rösch J, Stanczyk F, Hermsmeyer K (1997) Medroxyprogesterone interferes with ovarian steroid protection against coronary vasospasm. *Nat Med* 3: 324-327
58. Morales DE, McGowan KA, Grant DS, Maheshwari S, Bhartiya D, Cid MC, Kleinman HK, Schnaper HW (1995) Estrogen promotes angiogenic activity in human umbilical vein endothelial cells in vitro and in a murine model. *Circulation* 91: 755-763
59. Mueck AO, Seeger H, Wallwiener D (2002) Medroxyprogesterone acetate versus norethisterone: effect on estradiol-induced changes of markers for endothelial function and atherosclerotic plaque characteristics in human female coronary endothelial cell cultures. *Menopause* 9: 273-281
60. Navarro, D, Acosta A, Robles E, Diaz C (2012) Hormone profile of menopausal women in Havana. *MEDICC Rev* 14: 13-15
61. Nickenig G, Bäumer AT, Grohè C, Kahlert S, Strehlow K, Rosenkranz S, Stäblein A, Beckers F, Smits JF, Daemen MJ, Vetter H, Böhm M (1998) Estrogen modulates AT1 receptor gene expression in vitro and in vivo. *Circulation* 97: 2197-2201
62. Nickenig G, Strehlow K, Wassmann S, Bäumer AT, Albory K, Sauer H, Böhm M (2000) Differential effects of estrogen and progesterone on AT(1) receptor gene expression in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 102: 1828-1833
63. Nickenig G (2002) Central role of the AT(1)-receptor in atherosclerosis. *J Hum Hypertens.* 16 (Suppl 3): S26-33
64. Nickenig G, Harrison DG (2002a) The AT(1)-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis: Part I: Oxidative stress and atherogenesis. *Circulation* 105: 393-396
65. Nickenig G, Harrison DG (2002b) The AT(1)-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis: Part II: AT(1) receptor regulation. *Circulation* 105: 530-536
66. Orshal JM, Khalil RA (2004) Gender, sex hormones, and vascular tone. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R233-249
67. Owese J, Iwevw R (2007) Einführung in die Endokrinologie. Kapitel 1.4.3. Proteo-, Peptid- und Glykoprotein hormone, Steroidhormone. In: Leidenberger F, Strowitzki T, Ortman O (Hrsg.): *Klinische Endokrinologie für Frauenärzte*. Springer Verlag, Stuttgart, 3. Aufl., 14-15
68. Patel RP, Moellering D, Murphy-Ullrich J, Jo H, Beckman JS, Darley-Usmar VM (2000) Cell signaling by reactive nitrogen and oxygen species in atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 28: 1780-1794

69. Piper W (2007) Innere Medizin. Mechanismen der Kreislaufregulation. Springer Verlag, Heidelberg, 5-11
70. Pilz H (2005) Primär- und Sekundärprävention kardiovaskulärer Ereignisse durch Hormonreplacement-Therapie. *Wien Med Wochenschr* 155: 397-403
71. Prasad A, Tupas-Habib T, Schenke WH, Mincemoyer R, Panza JA, Waclawin MA, Ellahham S, Quyyumi AA (2000) Acute and chronic angiotensin-1 receptor antagonism reverses endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 101: 2349-2354
72. Pueyo ME, Gonzalez W, Nicoletti A, Savoie F, Arnal JF, Michel JB (2000) Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor-kappaB activation induced by intracellular oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 645-651
73. Reckelhoff JF, Zhang H, Srivastava K (2000) Gender differences in development of hypertension in spontaneously hypertensive rats: role of the renin-angiotensin system. *Hypertension* 35: 480-483
74. Reis SE, Bhoopalam V, Zell KA, Counihan PJ, Smith AJ, Pham S, Murali S (1998) Conjugated estrogens acutely abolish abnormal cold-induced coronary vasoconstriction in male cardiac allografts. *Circulation* 97: 23-25
75. Rösen P (2002) Endotheliale Dysfunktion: ein Synonym für funktionelle Atherosklerose. *J Kardiologie* 9: 556-562
76. Rösen P, Du XL (2000) Oxidative stress in diabetes: why does hyperglycaemia induce the formation of reactive oxygen species? In: Packer L, Rösen P, Tritschler HJ, King GL, Azzi A (Eds). *Antioxidants in diabetes management*. New York, Marcel Dekker, 2000; 17-32
77. Rösen P, Nawroth P, King GL, Tritschler HJ, Packer L (2001) The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications. *Diabet Metab Res Rev* 17: 189-212
78. Romero JC, Reckelhoff JF (1999) Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. *Hypertension* 34: 943-949
79. Rosano GM, Vitale C, Silvestri A, Fini M (2003) Metabolic and vascular effect of progestins in post-menopausal women. Implications for cardioprotection. *Maturitas* 46 Suppl 1: S17-29
80. Ross R (1999) Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 138 (Suppl): S419-420

81. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J; Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators (2002) Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 288: 321-333
82. Sanada M, Higashi Y, Nakagawa K, Tsuda M, Kodama I, Nagai N, Chayama K, Ohama K (2002) Combination therapy of low-dose medroxyprogesterone acetate and oral estrogen does not affect endothelial function in the forearms of postmenopausal women. *Menopause* 9: 360-366
83. Sanada M, Higashi Y, Nakagawa K, Tsuda M, Kodama I, Kimura M, Chayama K, Ohama K (2003) A comparison of low-dose and standard-dose oral estrogen on forearm endothelial function in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 1303-1309
84. Sare GM, Gray LJ, Bath PMW (2008) Association between hormone replacement therapy and subsequent arterial and venous vascular events: a meta-analysis. *Eur Heart J* 29: 2031-2041
85. Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM (2000) Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 101: 1899-1906
86. Schiffrin EL, Park JB, Intengan HD, Touyz RM (2000) Correction of arterial structure and endothelial dysfunction in human essential hypertension by the angiotensin receptor antagonist losartan. *Circulation* 101: 1653-1659
87. Sen CK, Packer L (1996) Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB J* 10: 709-20
88. Sever PS, Dahlöf B, Poulter NR, Wedel H, Beevers G, Caulfield M, Collins R, Kjeldsen SE, Kristinsson A, McInnes GT, Mehlsen J, Nieminen M, O'Brien E, Ostergren J; ASCOT investigators (2003) Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 361: 1149-1158
89. Simon JA, Hunninghake DB, Agarwal SK, Lin F, Cauley JA, Ireland CC, Pickar JH (2001) Effect of estrogen plus progestin on risk for biliary tract surgery in postmenopausal women with coronary artery disease. The Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study. *Ann Intern Med* 135:493-501

90. Spritzer PM, Vitola D, Vilodre LC, Wender MC, Reis FM, Ruschel S, Castro I (2003) One year follow-up of hormone replacement therapy with percutaneous estradiol and low-dose vaginal natural progesterone in women with mild to moderate hypertension. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 111: 267-273
91. Spyridopoulos I, Sullivan AB, Kearney M, Isner JM, Losordo DW (1997) Estrogen-receptor-mediated inhibition of human endothelial cell apoptosis. Estradiol as a survival factor. *Circulation* 95: 1505-1514
92. Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Manson JE, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH (1991) Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease. Ten-year follow-up from the nurses' health study. *N Engl J Med* 325: 756-762
93. Strehlow K, Wassmann S, Böhm M, Nickenig G (2000) Angiotensin AT1-Rezeptor over-expression in hypercholesterolaemia. *Ann Med* 32: 386-389
94. Strehlow K, Rotter S, Wassmann S, Adam O, Grohé C, Laufs K, Böhm M, Nickenig G (2003a) Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen. *Circ Res* 93: 170-177
95. Strehlow K, Werner N, Berweiler J, Link A, Dirnagl U, Priller J, Laufs K, Ghaeni L, Milosevic M, Böhm M, Nickenig G (2003b) Estrogen increases bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation. *Circulation* 107: 3059-3065
96. Sudhir K, Ko E, Zellner C, Wong HE, Hutchison SJ, Chou TM, Chatterjee K (1997) Physiological concentrations of estradiol attenuate endothelin 1-induced coronary vasoconstriction in vivo. *Circulation* 96: 3626-3632
97. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr, Lerman A (2000) Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 101: 948-954
98. Taddei S, Viridis A, Ghiadoni L, Mattei P, Sudano I, Bernini G, Pinto S, Salvetti A (1996) Menopause is associated with endothelial dysfunction in women. *Hypertension* 28: 576-582
99. The Writing Group for the PEPI Trial (1995) Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. *J Am Med Assoc* 273: 199-208
100. Thomas T, Rhodin J, Clark L, Garces A (2003) Progestins initiate adverse events of menopausal estrogen therapy. *Climacteric* 6: 293-301
101. Tomasian D, Keaney JF, Vita JA (2000) Antioxidants and the bioactivity of endothelium-derived nitric oxide. *Cardiovasc Res* 47: 426-435

102. Usui M, Egashira K, Tomita H, Koyanagi M, Katoh M, Shimokawa H, Takeya M, Yoshimura T, Matsushima K, Takeshita A (2000) Important role of local angiotensin II activity mediated via type 1 receptor in the pathogenesis of cardiovascular inflammatory changes induced by chronic blockade of nitric oxide synthesis in rats. *Circulation* 101: 305-310
103. Vilodre LC, Osório Wender MC, Sisson de Castro JA, dos Reis FM, Ruschel S, Magalhães JA, Spritzer PM (2003) Endometrial response to a cyclic regimen of percutaneous 17beta-estradiol and low-dose vaginal micronized progesterone in women with mild-to-moderate hypertension. *Gynecol Endocrinol* 17: 323-328
104. Wakatsuki A, Okatani Y, Ikenoue N, Fukaya T (2001) Effect of medroxyprogesterone acetate on endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women receiving estrogen. *Circulation* 104: 1773-1778
105. Wassmann S, Bäumer AT, Strehlow K, van Eickels M, Grohé C, Ahlbory K, Rösen R, Böhm M, Nickenig G (2001) Endothelial dysfunction and oxidative stress during estrogen deficiency in spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 103: 435-441
106. Wassmann S, Ghiassi A, Wassmann S, Böhm M, Nickenig G (2006) AT1 receptor antagonism improves endothelial dysfunction in postmenopausal women. *Maturitas* 53: 176-183
107. Wei F, Jia XL, Yu SO, Gu Y, Wang L, Guo XM, Wang M, Zhu F, Cheng X, Wei YM, Zhou ZH, Fu M, Liao YH, SOAT-AT1 Study Group (2011) Candesartan versus imidapril in hypertension. a randomised study to assess effects of anti-AT1 receptor autoantibodies. *Heart* 97: 479-484
108. Wenger NK, Speroff L, Packard B (1993) Cardiovascular health and disease in women. *N Engl J Med* 329: 247-256
109. Weiner CP, Lizasoain I, Baylis SA, Knowles RG, Charles IG, Moncada S (1994) Induction of calcium-dependent nitric oxide synthases by sex hormones. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 5212-5216
110. Williams JK, Adams MR, Herrington DM, Clarkson TB (1992) Short-term administration of estrogen and vascular responses of atherosclerotic coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 20: 452-457
111. Xing D, Nozell S, Chen YF, Hage F, Oparil S (2009) Estrogen and mechanism of vascular protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 29: 289-295
112. Yen SSC, Jaffe RB (eds) (1991) *Reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology and clinical management*. 3rd Edition W.B. Saunders, Philadelphia

7 Publikationsliste des Autors

Der Autor der vorliegenden Arbeit war bei folgendem Artikel Ko-Autor

Wassmann S, Ghiassi A, Wassmann S, Böhm M, Nickenig G (2006) AT1 receptor antagonism improves endothelial dysfunction in postmenopausal women. *Maturitas* 53: 176-183

8 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Michael Böhm gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas.

Meiner Betreuerin Frau Dr. Kerstin Wassmann gilt ebenfalls mein besonderer Dank für die Einführung in das Arbeitsgebiet sowie für die unermüdliche und geduldige Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit, die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen und der Auswertung der Ergebnisse. Ebenfalls danke ich Ihrer Familie, die so oft auf die wohlverdiente Familienzeit verzichten mussten.

Weiterhin gilt mein Dank allen Doktoranden, Ärzten und technischen Assistenten des Labors und der Klinik III für Innere Medizin der Universität des Saarlandes für die Möglichkeit, mit ihnen in einem hervorragenden Team arbeiten zu dürfen. Ich bedanke mich recht herzlich bei allen Patienten, die ich in dieser Studie untersuchen durfte und ohne deren Mithilfe diese wissenschaftliche Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ich widme diese Arbeit meiner Frau Daniela die immer an mich geglaubt und mich unterstützt hat. Ich danke Ihr für ihre fortlaufende Unterstützung, ihre Anteilnahme und dafür, dass sie so oft Geduld mit mir hatte. Durch die Geburt meines Sohnes Noah Leander erreichte mich alles Glück dieser Welt und ich bekam die notwendige Kraft zu Beendigung meiner Doktorarbeit. Auch ihm ist diese Arbeit gewidmet.

9 Lebenslauf

Name:

Ghiassi Ardeshir, geb. am 21.03.1973 in Teheran/Iran

Familienstand:

verheiratet, ein Sohn, Nationalität: deutsch

Schulbildung:

bis zur 8. Klasse 1988 im Iran anschließend an der Gesamtschule in Kamen/BRD, Abitur 1993

Studium Universitätsklinik Homburg/Saar:

September 1999	ärztliche Vorprüfung
August 2001	1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
April 2003	2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
April 2004	3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Berufsausbildung:

Praktisches Jahr (2003-2004) in der Universitätsklinik Homburg/Saar

Arzt im Praktikum (01.05.2004-31.07.2004) Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie Prof. Dr. Pohlemann. Homburg/Saar

Arzt im Praktikum (01.08.2004-30.09.2004) Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie, Dr. Kurschat, Evangelisches Krankenhaus in Unna

Assistenzarzt (01.10.2004-31.12.2010) Evangelisches Krankenhaus in Unna

- Klinik für Anästhesiologie Dr. Armbruster
- Klinik für Gefäßchirurgie Dr. Wilde
- Klinik für Allgemein- und Visceralchirurgie PD Dr. Blumhardt
- Klinik für Orthopädie Dr. Pothmann
- Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie Dr. Kurschat
- Facharztprüfung Orthopädie und Unfallchirurgie, 18.12.2010
- Januar 2011 Zusatzbezeichnung Chirotherapie
- Gesundheitszentrum Pentling in Kreis Soest, 01.01.2011-31.03.2011
- Februar 2012 Zusatzbezeichnung Akupunktur

Seit 01.04.2011 Ärztlicher Leiter des Medizinischen Versorgungszentrums für Allgemeinmedizin, Chirurgie, Viszeral-, Unfall- und Handchirurgie, Orthopädie und D-
Arzt-Verfahren am Evangelischen Krankenhaus in Unna