Aus der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. Malte Kelm

Früh- und Spätreaktion auf Gefäßverletzung nach transradialer Herzkatheteruntersuchung: Arterielle Remodelierungsprozesse bei Rauchern

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von
Göksen Özaslan
2019

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:
Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker
Erstgutachter: Prof. Dr. med. Christian Heiß
Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Klaus Grabitz

Für meine Familie

Diese Arbeit wurde veröffentlicht in:

Sansone R*, Stegemann E*, Özaslan G, Schuler D, Lukosz M, Rodriguez-Mateos A, Lauer T, Westenfeld R, Kelm M, Heiss C (2014) Early and late response-to-injury in patients undergoing transradial coronary angiography: arterial remodeling in smokers. *Am J Cardiovasc Dis. 2014; 4:47-57*

Zusammenfassung

Seit der ersten erfolgreichen transradialen Herzkatheteruntersuchung (tHKU) von Campeau 1989 entwickelte sich der radiale Zugangsweg zu einem etablierten Standardverfahren, u.a. gekennzeichnet durch verkürzte Krankenhausaufenthalte, verbesserten Patientenkomfort und durch geringere Blutungskomplikationen. Die Literatur zeigt neben akuten Komplikationen auch längerfristige Gefäßveränderungen. Es ist unumstritten, dass Rauchen ein modifizierbarer kardiovaskulärer Risikofaktor ist. Ziel dieser Arbeit war es akute und chronische Einflüsse des periinterventionellen Rauchens auf Endothelfunktion und strukturelles Remodeling durch Gefäßschädigung im Rahmen einer tHKU zu zeigen.

Wir rekrutierten 17 aktive und 23 ehemalige Raucher im Alter von 59±10 Jahren, die sich während eines Zeitraum von 6-14 Monaten vor Studienbeginn einer tHKU unterzogen hatten. Wir untersuchten hierbei die flussvermittelte Vasodilatation (RA-FMD), die relative Diameteränderung (FDC), die Intima-Media-Dicke (IMT) sowie den externen und internen Lumendiameter mittels hochauflösendem Ultraschall sowohl am Interventions- als auch am kontralateralen Arm. Um die vaskuläre regenerative Kapazität zu erfassen, untersuchten wir den Einfluss von Rauchen auf die Zellmigration *in vitro* und *ex vivo* (n=10) und den akuten Einfluss auf die Endothelfunktion innerhalb von 72 h nach erfolgter tHKU beider Gruppen (n=10).

Wir untersuchten die Radialarterie an der Punktionsstelle 10±3 Monate nach erfolgreicher tHKU. Die Endothelfunktion, gemessen als RA-FMD, war bei den Rauchern signifikant eingeschränkt. Beide Gruppen hatten an der Punktionsstelle eine signifikant eingeschränkte lokale Steifigkeit. Die Rauchergruppe zeigte eine signifikant reduzierte Diameteränderungen und somit eine gesteigerte Steifigkeit. Zudem konnten wir zeigen, dass die IMT postinterventionell bei beiden Gruppen, insbesondere bei den Rauchern, nach der tHKU signifikant verdickt war. Am kontralateralen Kontrollarm konnte kein signifikanter Unterschied gesehen werden.

Eine zweite Serie zeigte, dass die RA-FMD zwar in beiden Gruppen 6 h nach tHKU signifikant vermindert war, sich aber bei Ex-Rauchern bereits nach 24 h auf den Ausgangswert erholt hat, während bei Rauchern dieser erst nach 48 h erreicht wurde. Nach Inkubation von Endothelzellen mit Plasma von Rauchern *ex* vivo zeigte sich ein NO-abhängiger verlangsamter Wundverschluss sowie eine verminderte Chemotaxis von zirkulierenden angiogenetischen Zellen (CAC) der Raucher.

Aktives Rauchen ist im Kontext einer tHKU mit einer verlangsamten Wiederherstellung der Endothelfunktion, einer verringerten vaskulären Regeneration sowie mit einem späten arteriellen Remodeling assoziiert. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass in speziellen Patientengruppen ein potentiell schädigender Effekt der tHKU auf die Gefäßfunktion berücksichtigt werden sollte.

Conclusion

Ever since the first successful diagnostic transradial coronary catheterization by Campeau in 1989, the radial artery approach has gained increasing acceptance and has become a standard approach in most centers particularly with regard to shorter hospital stay, lower rates of site complications and improved patient comfort. The references show next to the acute complications also the long-term vascular modifications. Cigarette smoking is one of the most important modifiable cardiovascular risk factor associated to endothelial dysfunction. The aim of this study is to show the acute and chronical effects of current smoking during catheterization in relation to the endothelial function and the vascular remodeling.

We recruited 40 patients at age of 59±10 that had undergone elective transradial catheterization during a 9 to 14 months' period before study beginning. We measured radial artery flow-mediated vasodilation (RA-FMD), local stiffness (fractional diameter change, FDC), intima-media thickness (IMT), luminal and external arterial diameter with high resolution ultrasound of the cannulated and non-cannulated arm of former and current smokers. To show the vascular recovery capacity we also examined the effect of smoking *in-vitro* and *ex-vivo* (n=10) and the acute effect in relation to the endothel function during the first 72 h after transradial catheterization in both groups (n=10).

We examined the radial artery at the area of the catheter sheath insertion 10±3 months` after catheterization. Radial artery flow-mediated vasodilation of former smokers was almost significant reduced. Both groups had a significant increased local stiffness due to transradial catheterization. However current smokers indicated a lower FDC compared to former smokers.

Furthermore, we have shown the significant increasing of IMT in both groups whereas the IMT on the control arm was not significantly different between both groups. Altogether the IMT in the cannulated arm of current smokers was significantly bigger compared to former smokers.

In a second series, we have shown the significant reduction of the RA-FMD in both groups. However the RA-FMD of former smokers had returned to baseline at 24 h and the RA-FMD of current smokers recovered the baseline only at 48 h. We also incubated endothelial cells with plasma *ex-vivo* of both groups. NOS-dependent wound closure time and the chemotaxis of circulating angiogenic cells were almost reduced and retarded.

Taken together our data suggests that current smoking status strongly impacts on the early recovery of endothelial function and structural maintenance of arteries following arterial injury during transradial coronary angiography interfering with NOS-dependent vascular repair mechanisms.

I Abkürzungsverzeichnis

ACEI	Angiotensin-konvertierendes Enzym
Ac-LDL	acetyliertes Lipoprotein niederer Dichte
ARB	Angiotensionrezeptorblocker
BA	Brachialarterie
BMI	Body Mass Index (Körpermasseindex)
bpm	beats per minute (Schläge pro Minute)
BSA	Bovine Serum Albumin
CAC	zirkulierende angiogenetische Zellen
CD 34+/KDR	CD 34+/ Kinase-insert domain-containing receptor
CRP	C-reaktives Protein
EBM	Endothelial Basal Medium
EEM	Externe elastische Membran
eNOS	Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS 3)
F	French (Außendurchmesser von Kanülen und Kathetern)
FDC	Relative Diameteränderung (fractional diameter change)
FMD	Flussvermittelte Dilatation (flow-mediated dilation)
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GTN	Glyzeroltrinitrat
HR/Hf	Herzfrequenz (Heart rate)
HUVEC	menschliche Endothelzellen aus der Nabelschnur (Human umbilical vein endothelial cells)
HPf	High Power Field
IMT	Intima-Media-Dicke (Intima-Media-thickness)
KHK	Koronare Herzerkrankung
KO-Mäuse	Knockout Mäuse
L-NMMA	L-N^G-monomethyl Arginin
NO	Stickstoffmonoxid
OCT	Optische Kohärenztomographie
PAD/pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit (peripheral artery disease)
PCI	Perkutane Koronarintervention
PBMNC	mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (peripheral blood mononuclear cell)
RA	Radialarterie
tHKU	transradiale Herzkatheteruntersuchung

UA	Ulnararterie
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

II Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung i

Conclusion ii

I Abkürzungsverzeichnis iii

II Inhaltsverzeichnis v

III Abbildungsverzeichnis vii

IV Tabellenverzeichnis viii

1 Einleitung 1

1.1 Bedeutung des transradialen Zugangsweges für die Koronarangiographie 1

1.2 Bedeutung der endothelialen Dysfunktion im Hinblick auf den Nikotinkonsum 3

1.3 Arterielle Remodelierungsprozesse und Einfluss auf die Intimahyperplasie 6

1.4 Hypothese und Ziele der Arbeit 8

2. Material und Methoden 9

2.1 Studiendesign 9

2.2 Studienprotokoll 11

2.2.1 Serie 1 11

2.2.2 Serie 2 11

2.3 Ultraschall-Messungen der FMD in der Radialarterie (RA-FMD) 14

2.4 Ultraschall-Messungen zur IMT-Bestimmung 16

2.5 Ultraschall-Messungen zur Bestimmung der Innen- und Außendiameter 18

2.6 Bestimmung der FDC-Kapazität 18

2.7 Mathematisch-statistische Methoden 19

2.8. Ethikvotum 19

3 Ergebnisse 20

3.1 Basale Charakteristika 20

3.2 Frühschäden - Einfluss der transradialen Katheterisierung auf Endothelfunktion der Radialarterie 26
3.3 Spätschäden der arteriellen Gefäßverletzung 27
3.3.1 Einfluss auf die RA-FMD 27
3.3.2 Zunahme der lokalen Gefäßsteifigkeit 28
3.4 Zunahme der Intima-Media Dicke 29
3.5 Remodelierungsprozesse 31
3.6 Assoziation zwischen den Packungsjahren und basaler IMT 33
3.7 IMT bei Rauchern 34
3.8 Verminderte Anzahl und Migration von CACs bei Rauchern 35
3.9 Plasma von Rauchern inhibiert den endothelialen Wundverschluss und Chemotaxis 35
4 Diskussion 38
4.1 Rauchen verursacht endotheliale Dysfunktion und remoduliert strukturelle Veränderungen 38
4.2 Langzeitkonsequenzen durch die Gefäßverletzung 41
4.3 Rauchen beeinflusst die vaskuläre Regeneration 44
5 Schlussfolgerungen und Ausblick 49
V Literaturverzeichnis 50
Danksagung 62

III Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Ursachen und Folgen der endothelialen Dysfunktion (modifiziert an [14]) 4
Abbildung 2.1: Serie 1: Spätreaktion - Remodeling 9
Abbildung 2.2: Serie 2: Regenerationskapazität und frühe funktionelle Endothelregeneration 10
Abbildung 2.3: FMD-Messung jeweils am Interventions- und Kontrollarm [vgl. [1]] 15
Abbildung 2.4: Diameterzunahme durch reaktive Hyperämie (i.A.a. [34]) 16
Abbildung 2.5: RA im Längsschnitt - Darstellung der Schnittstellen (Originalaufnahme)..... 17
Abbildung 2.6: IMT-Messungen jeweils am Interventions- und Kontrollarm [vgl. [1]] 17
Abbildung 3.1: Zeitlicher Verlauf der FMD-Kapazität - frühe Erholung der endothelialen Funktion [vgl. [1]]..... 26
Abbildung 3.2: FMD-Kapazität der RA [vgl. [1]]..... 28
Abbildung 3.3: FDC-Kapazität [vgl. [1]] 29
Abbildung 3.4: Intima-Media-Verdickung [vgl. [1]]..... 30
Abbildung 3.5: IMT- Zunahme von distal nach proximal [vgl. [1]]..... 31
Abbildung 3.6: Außendiameter der RA [vgl. [1]] 32
Abbildung 3.7: Lumen der RA [vgl. [1]]..... 33
Abbildung 3.8: IMT-Korrelation mit den Packungsjahren [vgl. [1]] 34
Abbildung 3.9: Basale IMT-Korrelation mit der Anzahl an Zigaretten pro Tag [vgl. [1]]..... 34
Abbildung 3.10: Eingeschränkte *in vitro* und *ex vivo* Regenerationskapazität bei Rauchern [vgl. [1]] 36
Abbildung 3.11: Verschlechterte NOS-abhängige Chemotaxis bei CACs aktiver Raucher [vgl. [1]] 37

IV Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klinische Charakteristika der Studienpopulation (Serie1) [vgl. [1]] 21
Tabelle 2: Prozedurale Charakteristika der Studienpopulation (Serie1) [vgl. [1]] 22
Tabelle 3: Charakteristika der Patienten (Serie 2a) [vgl. [1]] 23
Tabelle 4: Charakteristika der Patienten (Serie 2b) [vgl. [1]] 24
Tabelle 5: Prozedurale Faktoren (Serie 2b) [vgl. [1]] 25

1 Einleitung

1.1 Bedeutung des transradialen Zugangsweges für die Koronarangiographie

Herz-/Kreislauferkrankungen sind laut den Ergebnissen des statistischen Bundesamtes mit 39% wiederholt die häufigste Todesursache in den letzten Jahren, gefolgt von den Krebserkrankungen (Statistisches Bundesamt Destas, 2018). Den Hauptteil dieser Erkrankungen bildet vor allem der akute Herzinfarkt, was den hohen Stellenwert der Koronarangiographie in der medizinischen Akutversorgung nochmals verdeutlicht. Ebenso spielt die Koronarangiographie in der elektiven Diagnostik und Versorgung der Patienten mit Herzkranzgefäßerkrankungen in stationären und ambulanten Zentren eine bedeutende Rolle.

Erstmalig beschrieben wurde die diagnostische Koronarangiografie über die Radialarterie (RA) bereits im Jahre 1989 durch den kanadischen Kardiologen Lucien Campeau [1]. Nach diesem wichtigen Einschnitt durch Campeau etablierte sich das transradiale Verfahren neben dem transfemoralem Verfahren immer mehr in der koronaren Diagnostik [1]. Hierbei weist jedoch der transradiale Zugangsweg gewisse Unterschiede zum transfemoralen Zugangsweg auf. Als primäre Vorteile des transradialen Zugangs werden meist niedrigere lebensbedrohliche Blutungskomplikationen, kürzere Krankenhausaufenthalte und der Patientenkomfort aufgeführt [1,2]. Jedoch stellen ebenso lokale Komplikationen, insbesondere Gefäßverschlüsse und eine höhere Strahlenbelastung des Untersuchers, bedeutende Probleme dar [1,3].

In der randomisiert kontrollierten Studie von Kiemeneij et al. von 1997 zeigte sich eine verminderte Rate von Blutungskomplikationen für den transradialen Zugangsweg als beim transfemoralem Zugangsweg [4]. Besonders vorteilhaft ist dieser Aspekt für Patienten mit erhöhter Blutungsneigung, die beim klassichen Herz-Kreislauf-Patienten meist durch eine duale

thrombozytenaggregationshemmende Therapie nach koronarer Stentversorgung bedingt ist [5].

Aufgrund der guten Komprimierbarkeit ist der transradiale Zugangsweg geeignet für ambulante Untersuchungen. Er erlaubt aber ebenso komplexe Eingriffe. Dadurch kann auf der einen Seite der Untersucher bei gleichzeitig niedrigen lebensbedrohlichen Komplikationsraten interventionell gute Ergebnisse erzielen und auf der anderen Seite kann bei guter Komprimierbarkeit sowie bei erhaltener Mobilität ein kürzerer Krankenhausaufenthalt ermöglicht werden [1,6].

Trotz der Vorteile von transradialen Katheteruntersuchungen umfassen die häufigsten Komplikationen die Gefäßverschlüsse, wobei die tatsächliche Anzahl der Gefäßverschlüsse nach transradialer Koronarangiographie deutlich unterschätzt wird, da diese klinisch oft inapparent verlaufen und poststationär auftreten können [1,6]. Dies liegt vor allem an der kollateralen arteriellen tiefen und oberflächlichen Blutversorgung der Hand durch das anatomisch angelegte Gefäßbogenprinzip.

Die Wandverletzung durch die Katheter gilt auch beim transradialem Verfahren als „Trigger“ für die darauffolgende Intimahyperplasie und Remodelierungspozesse [1,8]. Ein solcher Eingriff am Gefäß stellt ebenfalls eine mögliche Einschränkung der Qualität für den Gebrauch der Arterie als Bypass- bzw. Shuntgefäß dar [1,9].

Für den Untersucher ergibt sich der Nachteil, dass während eines transradialen Untersuchungsverfahrens die Strahlenbelastung höher liegt als beim transfemoralen Verfahren, welche wiederum durch spezielle Schutzeinrichtungen minimiert werden können [3]. Hinsichtlich der Untersuchungs- und Durchleuchtungszeit zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zum transfemoralen Zugangsweg, so dass das transradiale Verfahren sowohl für den Patienten als auch für den Untersucher bzw. für das gesamte Personal im Herzkatheterlabor sicher durchführbar ist [10].

Damit ist zu betonen, dass vom Untersucher eine spezifische Erfahrungskurve zu erwarten ist bzw. diese konsequent aufgebaut werden muss. Eine höhere

Misserfolgsrate bezüglich frustraner Punktionsversuche mit eventuell anschließenden Komplikationen ist jedoch nicht mit dem transradialen Zugangsweg alleine in Verbindung zu setzen [11,12]. Mittels Verbesserung der technischen Möglichkeiten und der operativen Fähigkeiten des Untersuchers kann die Erfolgsrate des transradialen Zugangsweges zusätzlich verbessert werden [11,12].

Zusammenfassend ist der transradiale Zugangsweg ein sicherer diagnostischer Untersuchungsweg und stellt eine bedeutende Alternative zum transfemoralen Zugangsweg dar [11].

1.2 Bedeutung der endothelialen Dysfunktion im Hinblick auf den Nikotinkonsum

Die wesentliche Aufgabe des Endothels ist die „Aufrechterhaltung der Gefäßfunktion und Struktur“ [13]. Dabei werden unterschiedliche Faktoren durch das Endothel beeinflusst und reguliert. Das Endothel sorgt dafür, dass ein „bedarfsgerechter Gefäßtonus“ aufgebaut wird. Die Regulation der „antithrombozytären und antiadhäsiven Eigenschaften der Gefäßwand“ [13] ist ein weiterer funktioneller Aspekt des Endothels. Das Endothel regelt die Gefäßpermeabilität, kontrolliert Thrombose- und Thrombolysevorgänge, Thrombozyten- und Leukozyteninteraktionen, den vaskulären Tonus sowie Wachstumsprozesse und determiniert hierdurch langfristig die „Architektur der Gefäßwand“ [13,14]. Eine Störung dieser Faktoren wird als endotheliale Dysfunktion bezeichnet.

Die endotheliale Dysfunktion wird auch als „Synonym für die funktionelle Atherosklerose“ [15] gesehen und stellt somit ein wichtiges Kriterium für die Erfassung des kardiovaskulären Risikoprofils dar, da sie in enger Relation mit der Entstehung vaskulärer Erkrankungen steht. Sie steht im Zentrum als einleitende Ursache der Gefäßschädigung, die folglich zur Erhöhung des atherothrombotischen Risikos führt. Das sogenannte metabolische Syndrom ist definiert als ein Komplex aus Adipositas, Dyslipidämie, Diabetes mellitus und Hypertonie [15]. Neben der genetischen Prädisposition spielen bei der

Entstehung einer endothelialen Dysfunktion ebenfalls Umweltfaktoren und Lebensstil, wie z.B. der Nikotinkonsum, eine entscheidende Rolle [15].

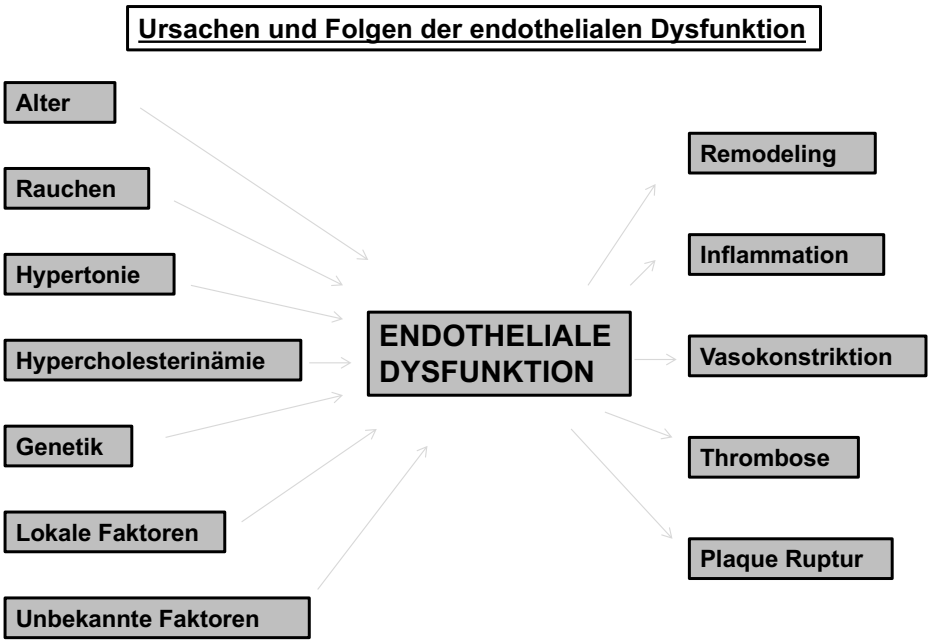


Abbildung 1.1: Ursachen und Folgen der endothelialen Dysfunktion (modifiziert an [14])

In Abbildung 1.1 sind die wichtigsten Faktoren, die zur endothelialen Dysfunktion und deren Folgen führen, dargestellt.

Auf pathophysiologischer Ebene kommt es durch die genannten Trigger-Faktoren zu chronischen Entzündungsprozessen. Diese führen einerseits zu einem „Verlust von antithrombotischen Faktoren“ und andererseits zu einem „Anstieg von vasokonstriktorischen und prothrombotischen“ Faktoren, welche letztendlich zu einer endothelialen Funktionseinschränkung führen [16].

Die Bedeutung der Atherosklerose und deren auslösender Faktoren zeigen die Tatsache, dass sie trotz weitreichender medizinischer bzw. pharmakologischer Interventionen ihre Position als eine der bedeutendsten Todesursachen in der Welt bewahren [17]. Die Atherosklerose gilt als Hauptauslöser für einen Infarkt im Herzen, für einen zerebralen Insult, für Gangrän sowie für weitere Funktionsverluste in der Peripherie [18]. Insgesamt führt die Atherosklerose einerseits zu einer Abnahme der endothelabhängigen Vasodilatation und andererseits zu einer Verstärkung der endothelabhängigen Vasokonstriktion

[19]. Sie steht in einer Kausalkette mit der endothelialen Dysfunktion [20]. Insofern könnte bei Patientenkollektiven, bei denen eine Endotheldysfunktion vorliegt, z.B. bei Rauchern, der Heilungsprozess bei iatrogenen Verletzungen bzw. die Interventionsergebnisse beeinflusst werden. Hierbei ist das Rauchen der wichtigste vermeidbare Risikofaktor für die Entstehung der Atherosklerose [1,21]. Sowohl die aktive als auch passive Exposition gegenüber Zigarettenrauch führt langfristig zu einer funktionellen Einschränkung der Gefäßfunktion, welche zu strukturellen pathologischen Veränderungen des gesamten kardiovaskulären Systems führen kann [1].

Über die Reduktion der Bioverfügbarkeit von Stickstoffmonoxid (NO) und die Expression von Adhäsionsmolekülen und der daraus resultierenden endothelialen Dysfunktion führt das Rauchen zu einer vaskulären Funktionseinschränkung [1,22]. Durch die alleinige transradiale Koronarangiographie kommt es bereits sowohl an der RA als auch an der Brachialarterie (BA) zu einer akuten Verminderung der endothelabhängigen Vasodilatation. Diese Einschränkung ist bei Rauchern stärker und langanhaltender zu beobachten als bei Ex-Rauchern [1,23].

Des Weiteren ist die Regeneration der vasodilatativen Funktion bei Rauchern im Vergleich zu Nicht-Rauchern signifikant verzögert [1]. Die Nikotinexposition führt zur Beeinträchtigung der zellulären Regeneration [1]. *In vitro* wurde festgestellt, dass durch das Rauchen reaktiv Sauerstoffradikale freigesetzt werden, welche die NO-Produktion vermindern sowie den Abbau beschleunigen und die Apoptose sowie die Endothelzellaktivierung auslösen [1,24].

Interessant ist hierbei, dass bereits eine sehr kurze Nikotinexposition bei Nicht-Rauchern zu einer akuten Beeinträchtigung der Endothelfunktion führt [1]. Hierbei wurden im Plasma der Nicht-Raucher nach kurzer Nikotinexposition die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase-abhängigen (eNOS) chemotaktisch zirkulierende angiogenetischen Zellen (CACs) und Endothelzellen nachgewiesen [1,25]. Langfristig resultiert aus einer Endotheldysfunktion eine Intimahyperplasie und Remodelierung [1].

1.3 Arterielle Remodelierungsprozesse und Einfluss auf die Intimahyperplasie

1987 beschrieb Glagov erstmals detaillierte Remodelierungsprozesse in Gefäßen. Glagov dokumentierte, dass die Lumeneinengung der Arterien im Rahmen einer Atherosklerose nicht nur durch die Zunahme der atherosklerotischen Plaques bedingt sein kann [1]. Zudem spielen hier auch Vorgänge, die mit Gefäßwandänderungen und der Zunahme des Außendurchmessers einhergehen, welche zur Aufrechterhaltung des arteriellen Blutflusses dienen, eine bedeutende Rolle [1,26].

Arterielle Remodelierungsprozesse basieren auf aktiven Änderungen des Gefäßdurchmessers bzw. der externen elastischen Membran (EEM) [1,27]. Dabei wird zwischen dem positiven Remodeling und dem negativen Remodeling unterschieden. Das positive Remodeling bezeichnet eine Zunahme der Gefäßwanddicke bei Erhaltung des Gefäßlumens. Das negative Remodeling hingegen geht mit einer Abnahme des Gefäßlumens im Sinne einer Stenosierung einher [1,28,29].

Für eine genaue Abgrenzung zwischen der positiven und der negativen Remodelierung kann der sogenannte Remodelierungsindex herangezogen werden. Dieser vergleicht den arteriellen Bezugsbereich bzw. bezieht sich auf den arteriellen Bereich mit der Läsion [30].

Im Rahmen der Plaqueenstehung stellen Remodelierungsprozesse Kompensationsprozesse in der Gefäßwand dar, die den Blutfluss lange Zeit aufrechterhalten [1,31].

So führt entsprechend die „*Response to Injury*“ Theorie von Ross zu einer Verletzung, welche durch multiple Faktoren wie „Hyperlipidämie, Entzündungen und mechanischen Schaden“ ausgelöst werden kann, und dann stadienhaft zunächst zum positiven Remodeling und je nach Umfang des Schadens bei überproportionaler Intimahyperplasie letztendlich zum negativen Remodeling führt [32].

Der Intimahyperplasie liegt die Migration und Proliferation von glatten Muskelzellen aus der Media in den subintimalen Bereich der Gefäßwand zugrunde [1,33, 34]. Neben der intimalen Zunahme der Zellen findet auch eine Zunahme der extrazellulären Matrix statt [35]. Sie stellt einen Antwortprozess auf ein Traumaereignis an der Gefäßwand dar [1,34].

Im Rahmen der Entstehung der Atherosklerose gilt die Intimahyperplasie auf mikroskopischer Ebene als die früheste Änderung an der arteriellen Gefäßwand [36,37]. Aus klinischer Perspektive spielt die Intimahyperplasie „bei der Entwicklung der Re-Stenosen nach Stentangioplasie“ eine besondere Rolle [1,34]. Auf die Re-Stenose-Mechanismen haben sowohl arterielle Remodelierungsprozesse als auch die intimale Hyperplasie einen großen Einfluss [38].

1.4 Hypothese und Ziele der Arbeit

Es ist die übergeordnete Hypothese dieser Arbeit, dass die transradiale Herzkatheteruntersuchung zu einem akuten funktionellen Endothelschaden mit konsekutiven pathologischen Gefäßumbauprozessen führt und, dass diese durch aktives Rauchen negativ beeinflusst werden.

Daher wurden folgende spezifische Ziele untersucht:

Ziel 1: Bestimmung der Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit zur Bestimmung der Endothelfunktion und Remodelierung der RA via hochauflösendem Ultraschall.

Ziel 2: Bestimmung des akuten Zeitverlaufes der radialen Endothelfunktion und von langfristigen strukturellen Umbauprozessen nach tHKU bei Rauchern im Vergleich zu ehemaligen Rauchern.

Ziel 3: Erfassung der Bedeutung von aktivem Rauchen auf grundlegende zelluläre Funktionen mit Fokus auf die endotheliale NO Synthase *ex vivo* und *in vitro*.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um doppelarmige prospektive Querschnittsstudien. Dabei werden chronische und akute Remodelierungprozesse bei Rauchern und ehemaligen (Ex) Rauchern nach tHKU untersucht.

Die Untersuchungen wurden in zwei Serien durchgeführt. In der ersten Serie (vgl. 2.2.1) wurde an 40 Patienten das chronische Endothel-Remodeling untersucht. Dieses Kollektiv wurde erstmalig vor 6-14 Monaten über einen transradialen Zugang koronarangiographiert. Das Patientenkollektiv besteht hierbei aus zwei Gruppen: den aktiven Rauchern (n=17) und den ehemaligen, also den Ex-Rauchern (n=23) (Abbildung 2.1) [1].

Hierbei haben die ehemaligen Raucher eine Nikotinabstinenz von >1 Jahr vor der durchgeführten Herzkatheteruntersuchung.

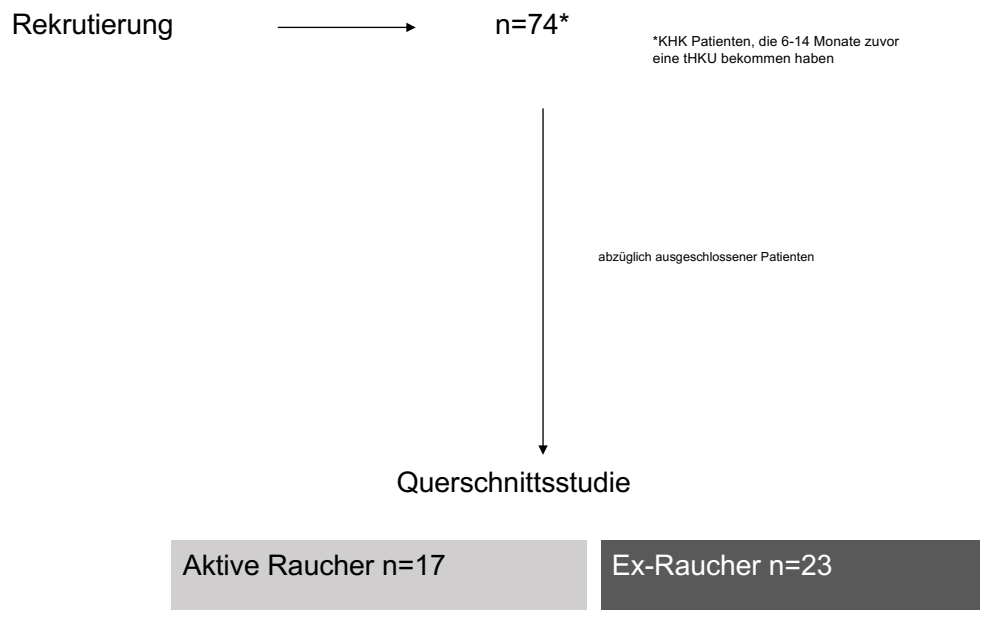


Abbildung 2.1: Serie 1: Spätreaktion - Remodeling

In der zweiten Serie (vgl.2.2.2) wurde in zwei Teilserien (Abbildung 2.2) das akute Endothel-Remodeling von Rauchern und Ex-Rauchern nach erstmaliger tHKU untersucht.

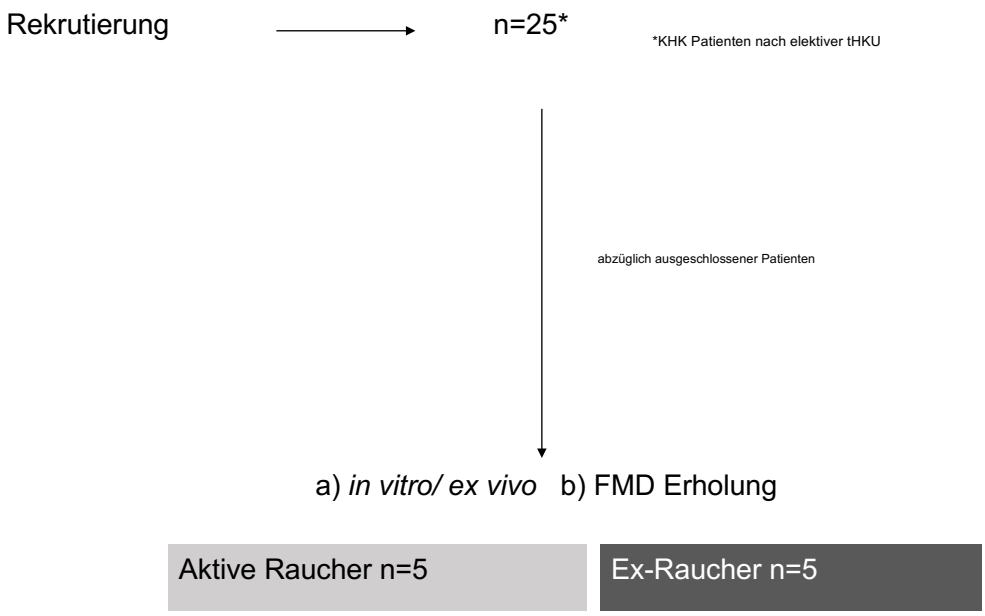


Abbildung 2.2: Serie 2: Regenerationskapazität und frühe funktionelle Endothel-regeneration

Zu den Einschlusskriterien gehörten die elektive tHKU und eine positive Raucheranamnese bei Patienten im mittleren bis hohem Alter. Hierbei wurden beide Geschlechtsgruppen hinzugezogen, wobei den größten Teil des Kollektives männliche Patienten gebildet haben [1].

Die Indikationsstellung und die Durchführung der tHKU erfolgten durch einen Kardiologen. Zu den Ausschlusskritierien gehörten ein pathologischer Allentest sowie eine insuffiziente Kollateraldurchblutung über die Ulnararterie (UA), maligne Erkrankungen, Vorhofflimmern, akute Entzündungsreaktionen (CRP<0,5), pAVK, terminale Niereninsuffizienz, Belastungsdyspnoe der Klasse 3 sowie 4 nach der New York Heart Association (NYHA) und schwere Herzrhythmusstörungen. Das Studienkollektiv war insgesamt mit einer Standardtherapie medikamentös mit Statinen, Betablockern, ACE-Hemmern, Aspirin oder Clopidogrel eingestellt [1].

2.2 Studienprotokoll

2.2.1 Serie 1

Die erste Serie untersucht chronische Endothel-Remodelierungsprozesse bei aktiven Rauchern und Ex-Rauchern (Gesamt: n=40, aktive Raucher n=17, Ex-Raucher n=23), die erstmalig vor 6-14 Monaten über einen transradialen Zugang koronarangiographiert wurden. Dazu wurden jeweils die FDC-Kapazität (Fractional diameter change), die IMT (Intima-Media-Thickness), die luminalen/internalen und externalen Diameter der RA und die Endothelfunktion als Fluss-vermittelte-Dilatation (FMD) in der RA bestimmt [1].

Alle Untersuchungen wurden sowohl an der RA des Interventionsarms (IA) als auch an dem nicht-interveniertem kontralateralen Kontrollarm (KA) in beiden Kollektiven durchgeführt [1].

2.2.2 Serie 2

Die zweite Serie besteht aus 2 Gruppen:

Hierbei besteht die Untergruppe 2a aus fünf aktiven Rauchern und fünf Ex-Rauchern bei denen venöses Blut untersucht worden ist. Bei der Gruppe 2b, die ebenfalls aus fünf aktiven Rauchern und fünf Ex-Rauchern bestand, wurde dabei die endotheliale Funktion mittels der FMD-Auswertungen ermittelt [1].

Die einzelnen Charakteristika der Probanden sind in Tabelle 3 aufgeführt.

<u>Serie 2a:</u>

Die Blutproben wurden während des Krankenhausaufenthaltes vor der Herzkatheteruntersuchung via Radialis entnommen und analysiert.

Dabei wurde die Anzahl der CACs im zirkulierenden Blut bestimmt. Das gewonnene Plasma wurde anschließend speziell darauf untersucht, inwiefern es einen Einfluss auf den endothelialen Wundverschluss sowie auf die endotheliale Zellmigration *ex vivo* hat [1]. Die mononukleären Zellen zur CAC Quantifizierung wurden über die *Ficoll* Methode *(Vacutainer CPT, Becton Dickinson, Franklin Makes, NJ)* gewonnen. Die so gewonnenen mononukleären

Zellen wurden dann auf die mit Fibronektin, ein Glykoprotein der extrazellulären Matrix, beschichteten Zellkulturplatten für einen Zeitraum von sieben Tagen kultiviert [1]. Dieses Glykoprotein spielt eine Rolle in der Regeneration des Gewebes. Anschließend wurden die adhärenten Zellen (CACs) charakterisiert. Dabei wurden die Lektin-, ebenfalls ein Glykoprotein, bindenden sowie die Acetylated-low density Lipoproteine (Ac-LDL) positiven Zellen ermittelt [1]. Mit Hilfe von *Boyden* Kammern wurde die auf den Endothelwachstumsfaktor (*Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF)) gerichtete Chemotaxis (Sigma, 50 ng/ml in *Endothelial Cell Growth Basal-2* (EBM-2), 0,5% *Bovine Serum Albumin* (BSA)) in der unteren Kammer jeweils untersucht [1]. Hierzu wurden die Zellen auf die Oberseite der Membranen platziert. Nach sechs Stunden Inkubationszeit erfolgte dann eine Auszählung der Zellen, die in die Unterseite der Membranen gewandert sind [1].

Um den Einfluss des Nikotinkonsums auf die Regenerationskapazität und endotheliale Funktion der Zellen zu bestimmen, wurde Plasma von den aktiven Rauchern und Ex-Rauchern aus venösem Blut gewonnen, um dann in Ko-Kulturexperimenten mit humanen Endothelzellen aus der Umbilikalvene (HUVECs) eingesetzt zu werden [1]. So wurden Wundverschluss/*Scratch Assays* und Migrations- *Assays* mit HUVECs mittels drei verschiedenen Medien durchgeführt: (A) mit einem Basalzellmedium, (B) mit Plasma der aktiven Raucher und (C) mit Plasma der Ex-Raucher [1]. Mittels der *Boyden* Kammern wurde anschließend die Chemotaxis in den verschiedenen Medien der Subgruppen ermittelt [1].

Chemotaxis Assay:

Die Migrationsfähigkeit der CACs und der HUVECs wurde wie folgt mittels *Boyden* Kammern bestimmt: Die Zellen wurden durch Spülen mit kaltem Dissoziationspuffer (Gibco) von den Kulturplatten gelöst und anschließend in ein EBM-2 Medium ohne weitere Zusätze resustendiert [1]. Anschließend wurden dann die drei verschiedenen Zusätze hinzugefügt: (A) Kontrolle 0,5% BSA, B) 10% Plasma der aktiven Raucher oder (C) 10% Plasma der Ex-Raucher [1]. Diese wurden jeweils in die oberen Kammern hinzugegeben. Eine acht µm porige Membran dient hierbei eine als eine Trennwand zur unteren

Kammer. Als chemotaktischer Faktor wurde in den unteren Kammern jeweils der Endothelwachstumsfaktor VEGF (50 ng/ml) dem EBM-2 Basalmedium zugesetzt [1]. Zur Untersuchung, inwieweit NOS eine Rolle bei der Chemotaxis spielt, wurde in parallelen Experimenten der Inhibitor NG-nitro-L-arginine (100 µmol/l) in beide Kammern zugesetzt [1].

Nach einer sechs stündigen Inkubationszeit wurden dann die Membranen fixiert. Die Zellen, die sich auf der Oberseite der Membranen befanden wurden entfernt und die Zellen, die sich auf der Unterseite der Membran befanden wurden mittels Zellkernfärbungen fluoreszenzmikroskopisch bestimmt [1]. Hierzu wurden die Zellen in einer 10-fachen Vergrößerung sowie in fünf zufälligen Feldern (*high power fields*, HPF) ausgezählt [1]. Aus den fünf ausgezählten Ergebnissen wurde der Mittelwert bestimmt [1].

Scratch Assay:

Zur Ermittlung des Wundverschlusses wurden HUVECs (Lonza) mit weniger als drei Passagen unter Standardbedingungen kultiviert und auf den Objektträgern bis zur Konfluenz jeweils kultiviert [1]. Mittels der Pipettenspitze wurden dann standardisierte Kratzer in die konfluenten Endothelzellkulturen gesetzt und die Zeit bis zum Verschluss unter Zugabe der unterschiedlichen Zusätze mikroskopisch bestimmt [1].

<u>Serie 2b:</u>

Im zweiten Teil der zweiten Serie (2b) wurde die endotheliale Regeneration der RA-FMD genauer betrachtet. Hierzu fand erneut mit ingesamt 10 Probanden beider Gruppen (aktive Raucher n=5 und Ex-Raucher n=5) weitere Untersuchungen statt [1]. Dabei sind neben den Charakteristiken der Probanden auch die interventionellen Merkmale in den folgenden Tabellen 4 sowie 5 aufgeführt. Die FMD wurde hierbei in beiden Gruppen eine Stunde nach der tHKU als Basiswert und 72 Stunden nach der tHKU bestimmt [1].

2.3 Ultraschall-Messungen der FMD in der Radialarterie (RA-FMD)

Zur Quantifizierung der Endothelfunktion, der sogenannten FMD-Kapazität, führten wir eine etablierte nicht-invasive duplex-sonographische Untersuchung an der peripheren Arterie, hier der Radialarterie, durch.

Unter der FMD-Messung wird die Änderung des Gefäßdiameters durch Dilatation unter Stimulation der NO Synthase des Endothels anhand der Scherkraft, ausgelöst durch die Steigerung des Blutflusses, ermittelt.

Unsere Untersuchungen erfolgten hierbei in den Räumlichkeiten der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie, Pneumologie und Angiologie der Universitätsklinik Düsseldorf. Vor Untersuchungsbeginn begabten sich die Probanden, zur Minimierung von jeglichen externen Einflüssen, in eine 10-minutige Ruhephase im Liegen [39,40]. Die Untersuchungen wurden möglichst in einem ruhigen und temperaturkontrollierten Raum durchgeführt. Die Standard-Vitalparameter der Probanden wie Blutdruck und Herzfrequenz wurden erst nach der sogenannten Ruhephase erfasst. Die Probanden wurden während der gesamten Untersuchung, gekoppelt an einer Elektrokardiogramm-Messung, am Ultraschallgerät gemonitort. Der Untersuchungsaufbau und Ablauf bezieht sich hierbei sowohl auf die Untersuchungen am Interventions- als auch auf die Untersuchungen am Kontrollarm mit Einhaltung der Ruhephase. Im Rahmen der Auswertungen bezogen wir uns hierbei auf die enddiastolischen Werte, die im Anschluss an die R-Zacke des Elektrokardiogramms ermittelt wurden [1].

Bei den Untersuchungen ist es für die Präzision der Messungen relevant, die RA in der duplex-sonographischen Darstellung im B-Mode-Bild in einer gut abgrenzbaren Position einzustellen und diese Einstellung während der gesamten Untersuchung beizubehalten, da es sich hierbei um eine Genauigkeit im „Submilimeterbereich“ handelt [41].

Im Rahmen der Darstellung im sonographischen Bild stellten wir das Gefäß möglichst gerade im Längsschnitt über das gesamte Aufnahmebild ein. Mit Hilfe des hochauflösenden Ultraschallkopfes (Vivid I, GE) konnte eine genaue Abgrenzung der Gefäßwände und Abschnitte, insbesondere der Intima-Media-

Schicht, gewährleistet werden. In der eingestellten Sequenz wurde jeweils ein Ausgangsdurchmesser bestimmt. Die darauffolgenden Aufnahmen im Rahmen der FMD-Messungen erfolgten jeweils in der Ursprungssequenz an gleicher Stelle. Die genaue Darstellung einer Ultraschallsequenz der Radialarterie kann dem oberen Abschnitt der folgenden Abbildung entnommen werden (Abbildung 2.3) [1].

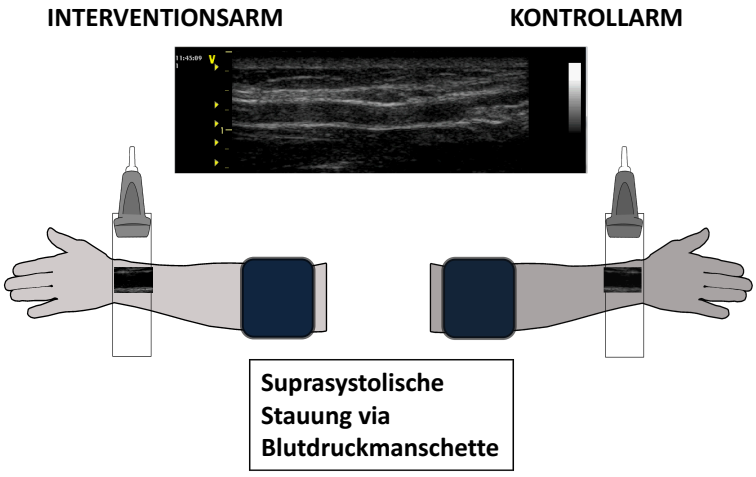


Abbildung 2.3: FMD-Messung jeweils am Interventions- und Kontrollarm [vgl. [1]]

Zur FMD-Bestimmung ist wie oben genannt ein Stimulus für die vasoakive Dilatation des Gefäßes notwendig. Dieser Stimulus wurde iatrogen durch eine suprasystolische Stauung mit 200 mmHg mittels einer Blutdruckmanschette, die am Unterarm proximal der Messstelle platziert war, über fünf Minuten erzeugt (Abbildung 2.3). Die Folge war eine reaktive Hyperämie, die durch die Scherkräfte an der Gefäßwand ausgelöst war. Durch diese Steigerung der Fließgeschwindigkeit in diesem Bereich wird die endotheliale NO-Synthase stimuliert und somit die endothelabhängige Vasodilatation ausgelöst (Abbildung 2.4) [1,39].

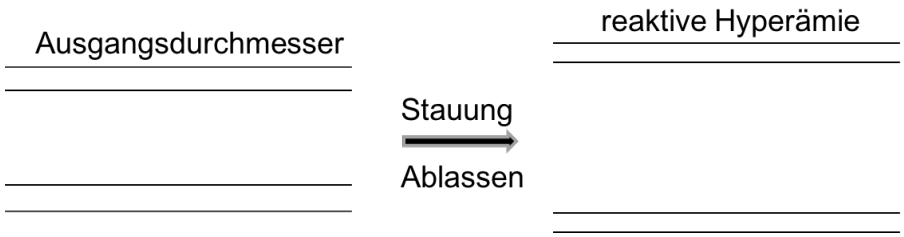


Abbildung 2.4: Diameterzunahme durch reaktive Hyperämie (i.A.a. [34])

Die FMD-Kapazität setzt sich definitionsgemäß wie folgt zusammen:

$$\text{FMD (\%)} = \frac{\text{Durchmesser}_{\text{Hyperämie}} - \text{Durchmesser}_{\text{Basal}}}{\text{Durchmesser}_{\text{Basal}}} \text{ X } 100$$

Anschließend wurden unmittelbar nach Ablassen des Druckes (0 Sekunden) sowie nach jeweils 20, 40, 60 und 80 Sekunden eine Sequenzaufnahme durchgeführt. Im weiteren Verlauf wurden die Durchmesser mit der Software „*Brachial-Analyser" (Medical Imaging Application, Iowa City, Iowa*) ausgewertet. Hierbei wurde die auszuwertende Sequenz durch manuelle Einzeichnung ausgewählt. Die Software konnte dann durch eingestellte Kalibrierungen die vorgegebenen Abschnitte auswerten und somit die Durchmesser und die IMT-Werte berechnen [1].

Anhand der oben genannten Formel zur Bestimmung der FMD-Kapazität wurde somit der maximale relative Durchmesser bezogen auf den Basiswert als Zunahme ermittelt.

2.4 Ultraschall-Messungen zur IMT-Bestimmung

Die Ermittlung der IMT wurde nach bereits etablierten Untersuchungsmethoden, wie auch in einer parallelen Arbeit unserer Klinik hinsichtlich der Untersucherunabhängigkeit und der Wiederholbarkeit der Messungen gezeigt, untersucht [42].

Die erste schallkopfferne echoreiche Linie stellt hierbei die Schnittstelle zwischen Lumen und Intima dar, wohingegen die zweite Linie die Schnittstelle zwischen der Media und Adventitia wiederspiegelt [43]. In Abbildung 2.5 wird

diese Aufstellung anhand einer Ultraschallaufnahme im B-Mode-Bild verdeutlicht.

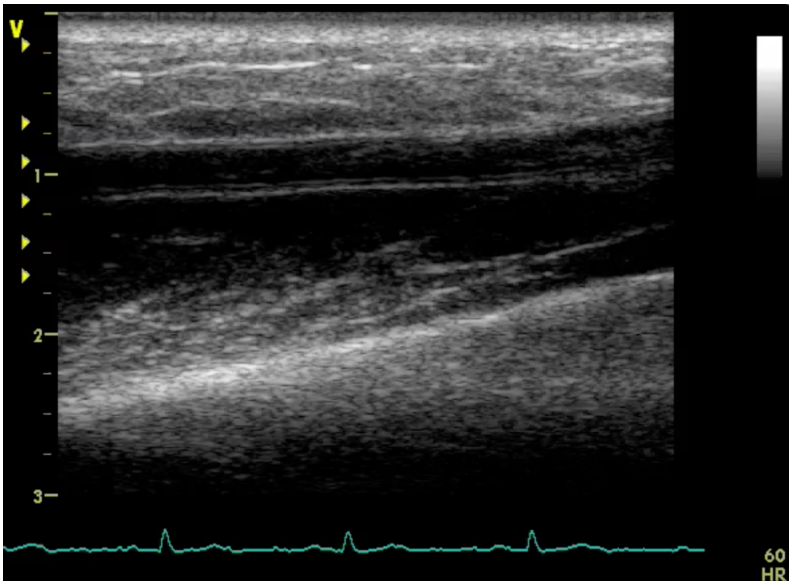


Abbildung 2.5: RA im Längsschnitt - Darstellung der Schnittstellen (Originalaufnahme)

Die IMT-Messungen wurden, wie in Abbildung 2.6 visualisiert, am Interventions- und am Kontrollarm jeweils an drei verschiedenen Abschnitten der RA durchgeführt. Dabei erfolgten die Messungen von distal bis zu 15 cm nach proximal des jeweiligen Arms. Sowohl am Interventions- als auch am Kontrollarm wurden die Abstände zwischen den jeweiligen Abschnitten gleichermaßen eingehalten [1].

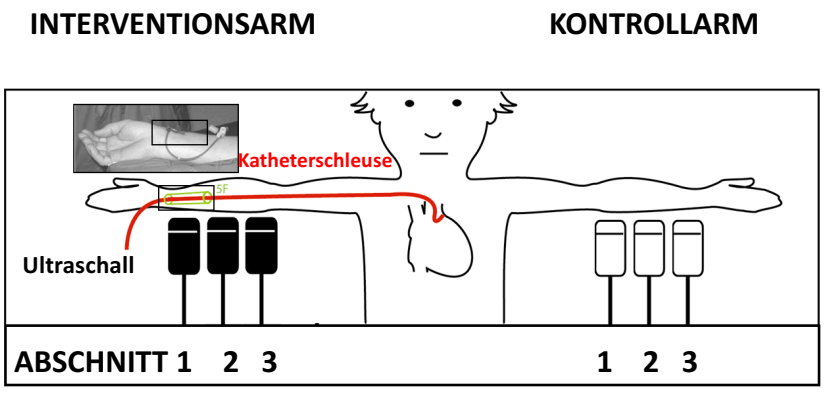


Abbildung 2.6: IMT-Messungen jeweils am Interventions- und Kontrollarm [vgl. [1]]

Die verwendetete Software (siehe oben), ermöglicht eine reproduzierbare Messung der IMT in den Sequenzen der manuellen Einzeichnung in dem Programm. Aus dem Mittelwert (je drei pro Bildsequenz, R-Zacken getriggert im EKG) wurde die IMT des Gefäßes berechnet am Interventions- und am Kontrollarm bestimmt.

2.5 Ultraschall-Messungen zur Bestimmung der Innen- und Außendiameter

Mittels der bisher aufgezeichneten Ultraschallaufnahmen konnten wir ebenfalls die Innen- und Außendiameter des Gefäßes bestimmen. Besonders wichtig sind die hierbei ermittelten Auswertungen, um Aussagen bezüglich der Remodelierungsprozesse in den Gefäßen mittels Vergleiche in beiden Hauptgruppen treffen zu können.

Hierbei wurde der Außendiameter als der Abstand zwischen den äußersten Schichten bestimmt (Abbildung 2.5). Auch hier verwendeten wir die Diameterabschnitte gemessen in der Diastole [1].

Die Innendiameter wurden anschließend rechnerisch anhand folgender Formel ermittelt:

$$\text{Innendiameter} = \text{Diastolischer Außendiameter} - (2 \times \text{IMT})$$

2.6 Bestimmung der FDC-Kapazität

Die FDC-Kapazität ist ein Parameter, der die vaskuläre *Compliance* eines Gefäßes beschreibt. Die *Compliance* entspricht dabei der elastischen Dehnbarkeit eines Gefäßes und wird klinisch zur Charakterisierung des Dehnungsverhaltens einzelner Gefäßabschnitte herangezogen [1,44].

Ähnlich wie die FMD-Kapazität ist auch die FDC-Kapazität eine durch nicht-invasive Duplexsonographie zu ermittelnde wichtige Größe und Marker, welches zur Beschreibung und Identifikation der endothelialen Funktion eine wesentliche Rolle spielt. Durch die FDC-Kapazität ist es möglich Aussagen im Hinblick auf die Gefäßsteifigkeit zu treffen.

Die relative Diameteränderung beschreibt dabei die Änderung des Gefäßdiameters während eines Herzzyklus.

Dazu wird die Differenz zwischen den diastolischen und systolischen Diametern bestimmt und zum diastolischen Wert in Relation gesetzt.

Als rechnerische Formel setzt sich die FDC-Kapazität definitionsgemäß wie folgt zusammen:

$$FDC = \frac{Diameter_{systolisch} - Diameter_{diastolisch}}{Diameter_{diastolisch}}$$

Anhand dieser Formel erfolgte rechnerisch die Ermittlung der FDC-Kapazität für die jeweiligen Messungen am Interventions- und Kontrollarm beider Gruppen [1].

2.7 Mathematisch-statistische Methoden

Unsere Ergebnisse wurden als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt. Die Vergleiche zwischen den Hauptgruppen wurden mittels ANOVA (*gateway test*) und im Falle der Signifikanz mittels konsekutivem *post-hoc* Test (*Bonferroni*) durchgeführt.

Intra-individuelle Vergleiche wurden wiederholt mit ANOVA-Messungen aufgestellt. Lineare Zusammenhänge zwischen konstanten Variablen wurden als Pearson´s r aufgeführt. Der statistische Signifikanzwert wurde bei $p \leq 0,05$ angenommen.

Alle statistischen Analysen wurden mit PASW Statistics 18 ermittelt [1].

2.8. Ethikvotum

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf begutachtet (Nr.3574).

3 Ergebnisse

3.1 Basale Charakteristika

In den nachfolgenden Tabellen sind sämtliche Ergebnisse der klinischen Charakteristika bezüglich der Studienpopulationen zusammengefasst. Zwischen den Gruppen der aktiven Raucher und der Ex-Raucher zeigten sich hierbei keine signifikanten Unterschiede bezüglich der basalen Charakteristika, wie z.B. Alter und *Body-Mass-Index*. Das Ausmaß an Vorerkrankungen, wie u.a. die Koronare Herzkrankheit, pAVK und Karotiserkrankungen, spiegelte sich in beiden Gruppen ähnlich. Auch konnten keine signifikanten laborchemischen Unterschiede wie der Nierenparameter, des CRP, der Glucose- und Cholesterinwerte aufgezeichnet werden. Die aufgezeichneten Vitalparameter zeigten keine wesentlichen Abschweifungen hinsichtlich der systolischen bzw. diastolischen Blutdrücke und der Herzfrequenzen. In beiden Gruppen konnte ein vergleichbares Medikamenten-Portfolio anamnestiziert werden [1].

Tabelle 1: Klinische Charakteristika der Studienpopulation (Serie 1) [vgl. [1]]

	Raucher	Ex-Raucher	p- Wert
	MW ± SD	*MW ± SD*	t-Test
n (männlich/weiblich)	17/0	21/2	
Alter (Jahre)	58 ± 11	60 ± 10	0,545
KHK (1,2,3)	11/2/6	14/3/7	
pAVK	0	0	
Karotiserkrankung	0	0	
BMI (kg/m²)	27 ± 2	27 ± 3	0,493
GFR (ml/min)	79 ± 18	79 ± 15	0,946
CRP (mg/dl)	0,3 ± 0,6	0,3 ± 0,4	0,765
HF (bpm)	66 ± 7	68 ± 6	0,271
Systolischer Blutdruck (mmHg)	132 ± 8	129 ± 12	0,332
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	83 ± 9	82 ± 7	0,675
Packungsjahre	44 ± 20	32 ± 20	0,057
HbA1c (%)	5,9 ± 0,6	5,7 ± 1,3	0,592
Cholesterin (mg/dl)	202 ± 37	197 ± 25	0,649
LDL (Low Density Lipoprotein) (mg/dl)	136 ± 38	136 ± 15	0,990
HDL (High Density Lipoprotein) (mg/dl)	48 ± 5	49 ± 4	0,839
Triglyceride (mg/dl)	201 ± 71	165 ± 80	0,149
Beta-Blocker (%)	100	82	
Statine (%)	90	82	
ACEI/ARB (%)	90	94	
Clopidogrel (%)	90	53	
Aspirin (%)	100	92	

Auch zeigten sich mit Bezug auf die prozeduralen Charakteristika keine signifikanten Unterschiede zwischen den aktiven Rauchern und den Ex-Rauchern. (Tabelle 2)

Tabelle 2: Prozedurale Charakteristika der Studienpopulation (Serie 1) [vgl. [1]]

	Raucher	Ex-Raucher	p- Wert
	MW ± SD	*MW ± SD*	t-Test
Zeit nach HKU (in Monaten)	10±6	10±6	0,868
Elektive HKU (%)	100	100	
Stabile KHK (%)	100	100	
NSTEMI/STEMI (%)	0	0	
5 F Katheter (%)	76	74	
6 F Katheter (%)	24	26	
Kontaktzeit (in Minuten)	11±14	10±10	0,750
Kontrastvolumen (in ml)	53±40	54±34	0,940
Dosis-Flächen-Produkt (mGy*cm²)	3,601±3,569	3,485±2,489	0,916
Anzahl der Katheter (n)	3,7±0,8	3,3±0,6	0,442
Heparin (U/l)	3,700±1,100	3,480±940	0,880
PCI (%)	33	22	
GPIIaIIIb-Inhibitor (%)	6	4	

Tabelle 3: Charakteristika der Patienten (Serie 2a) [vgl. [1]]

	Raucher	Ex-Raucher	p
	MW ± SD	*MW ± SD*	*t-Test*
n (männlich/weiblich)	5/0	5/0	
Alter (Jahre)	57 ± 4	59 ± 6	0,595
KHK (1,2,3 Gefäß)	3/2/0	3/2/0	
pAVK	0	0	
BMI (kg/m²)	26 ± 4	27 ± 3	0,614
GFR (ml/min)	68 ± 10	68 ± 11	0,954
CRP (mg/dl)	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,765
HF (bpm)	61 ± 7	67 ± 16	0,502
Systolischer Blutdruck (mmHg)	125 ± 16	130 ± 11	0,596
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	76 ± 11	78 ± 5	0,637
Packungsjahre	36 ± 8	39 ± 6	0,615
Nüchternglucose (mg/dl)	92 ± 11	102 ± 18	0,352
Cholesterin (mg/dl)	169 ± 22	164 ± 26	0,742
LDL (Low Density Lipoprotein) (mg/dl)	103 ± 32	102 ± 22	0,956
HDL (High Density Lipoprotein) (mg/dl)	51 ± 17	46 ± 12	0,645
Beta-Blocker (%)	100	80	
Statine (%)	100	100	
ACEI/ARB (%)	80	100	
Clopidogrel (%)	100	100	
Aspirin (%)	100	100	

Tabelle 4: Charakteristika der Patienten (Serie 2b) [vgl. [1]]

	Raucher	Ex-Raucher	p
	MW ± SD	*MW ± SD*	*t-Test*
n (männlich/weiblich)	5/0	5/0	
Alter (Jahre)	64 ± 11	62 ± 7	0,819
KHK (1,2,3)	2/2/1	3/2/0	
pAVK	0	0	
BMI (kg/m²)	27 ± 2	28 ± 1	0,493
GFR (ml/min)	79 ± 18	79 ± 15	0,946
CRP (mg/dl)	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	1,000
HF (bpm)	64 ± 7	66 ± 7	0,797
Systolischer Blutdruck (mmHg)	134 ± 6	128 ± 6	0,180
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	84 ± 6	83 ± 5	0,778
Packungsjahre	35 ± 9	48 ± 12	0,090
Nüchternglucose (mg/dl)	86 ± 10	81 ± 10	0,504
Cholesterin (mg/dl)	179 ± 11	176 ± 22	0,807
LDL (Low Density Lipoprotein) (mg/dl)	129 ± 13	121 ± 24	0,534
HDL (High Density Lipoprotein) (mg/dl)	46 ± 5	50 ± 8	0,365
Beta-Blocker (%)	80	80	
Statine (%)	100	100	
ACEI/ARB (%)	80	100	
Clopidogrel (%)	100	100	
Aspirin (%)	100	100	

Tabelle 5: Prozedurale Faktoren (Serie 2b) [vgl. [1]]

	Raucher	**Ex-Raucher**	**p**
	MW ± SD	*MW ± SD*	*t-Test*
Elektive HKU (%)	100	100	
Stabile KHK (%)	100	100	
NSTEMI/STEMI (%)	0	0	
5 French Katheter (%)	100	100	
Durchleuchtungszeit (min)	10 ± 12	9 ± 12	n.s.
Kontrastvolumen (ml)	58 ± 36	60 ± 41	n.s.
Anzahl der Katheter (n)	3,0 ± 0,7	3,2 ± 0,8	0,694
Heparin (U/l)	1600 ± 1140	1400 ± 1140	0,789
Therapeutischer Katheter (%)	0	0	

3.2 Frühschäden - Einfluss der transradialen Katheterisierung auf Endothelfunktion der Radialarterie

In beiden Serien der Untersuchungen konnte primär gezeigt werden, dass aktive Raucher bereits vor einer transradialen Herzkatheteruntersuchung, und somit vor einem direkten Endothelschaden, über eine signifikant eingeschränkte basale RA-FMD-Kapazität verfügen (7,3±1,0% vs. 9,5±0,7%, p=0,004) [1]. Sechs Stunden nach der Herzkatheteruntersuchung konnte eine signifikante Abnahme der RA-FMD-Kapazität sowohl in der Gruppe der Ex-Raucher als auch in der Gruppe der aktiven Raucher dokumentiert werden (4,1±0,7% vs. 4,7±1,2%, p=0,912) [1]. Im weiteren Verlauf erholte sich die FMD-Kapazität bei den Ex-Rauchern nach 24 Stunden auf die basalen Werte (9,1±1,3%, p=0,465 vs. Basalwert) [1]. Bei den aktiven Rauchern dagegen blieb nach 24 Stunden weiterhin eine deutliche Beeinträchtigung bestehen (5,3±0,7%, p=0,043 vs. Basalwert) [1]. Die Wiederherstellung der basalen FMD bei den aktiven Rauchern zeigte sich erst nach ca. 48 Stunden (7,0±0,7%, p= 0,712 vs. Basalwert) (Abbildung 3.2) [1].

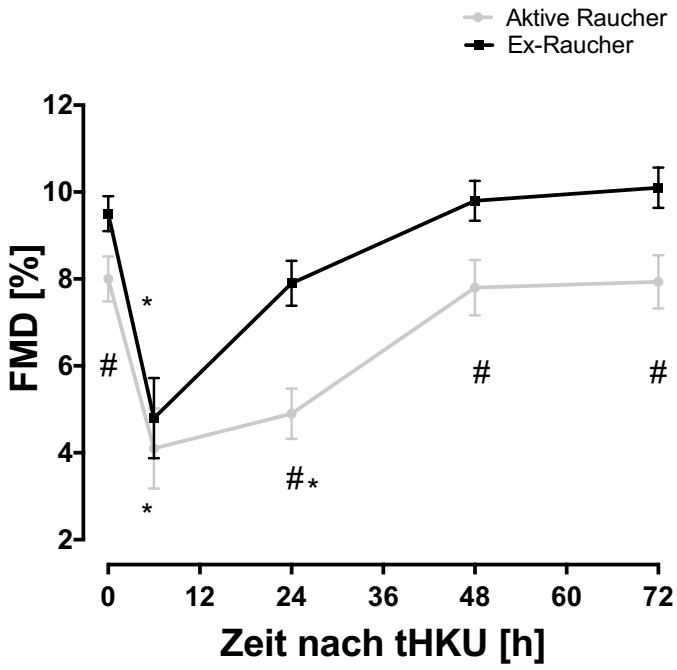


Abbildung 3.1: Zeitlicher Verlauf der FMD-Kapazität - frühe Erholung der endothelialen Funktion [vgl. [1]]

FMD gemessen bei -1, 0, 6, 24, 48, 72 h bei aktiven Rauchern und Ex-Rauchern nach tHKU. *p<0.05 vs. Basaler Wert, #p<0,05 vs. Ex-Raucher

Um den Anteil der endothelabhängigen vaskulären Dysfunktion an der verschlechterten FMD nach transradialem Eingriff genauer zu differenzieren, wurde nach oraler Gabe von Glyzerolnitrat (GTN) die endothel-unabhängige Dilatation ermittelt. Hierbei zeigte sich, dass sowohl die Basalwerte als auch alle folgenden Werte zwischen aktiven Rauchern und Ex-Rauchern keine signifikanten Unterschiede aufwiesen (13,4± 0,5% vs. 14,1± 0,7%, p=0,116) [1]. Dies suggeriert, dass aktives Rauchen primär einen negativen Einfluss auf das Endothel und nicht die glatten Muskelzellen hat [1]. Nach sechs Stunden wurde in beiden Gruppen ein signifikanter Abfall der GTN Antwort festgestellt (7,4 ± 2,0% vs. 7,1 ± 0,6%, p=0,787) [1]. Nach 24 Stunden waren noch immer erniedrigte Werte im Vergleich zum Basalwert festzustellen (10,1 ± 0,8% vs. 10,7 ± 1,7%, p=0,541, zwischen beiden Gruppen) [1]. Eine Erholung auf die Basalwerte wurde in beiden Gruppen erst nach 48 Stunden erreicht (13,2 ± 1,1% vs. 14,4 ± 1,4%, p=0,154). Die Messungen am Kontrollarm blieben zu allen Zeitpunkten unverändert [1].

Zusammenfassend kann anhand der aufgeführten Ergebnisse festgehalten werden, dass bei den aktiven Rauchern eine signifikante Verzögerung der Erholung der endothel-abhängigen Dilatation des Gefäßes als bei den Ex-Rauchern aufzuzeichnen ist.

3.3 Spätschäden der arteriellen Gefäßverletzung

3.3.1 Einfluss auf die RA-FMD

In den durchgeführten Messungen konnte durchschnittlich 10 ± 3 Monate nach einer transradialen Herzkatheteruntersuchung bereits in der Basismessung eine signifikant niedrigere RA-FMD-Kapazität bei den aktiven Rauchern im Vergleich zu den Ex-Rauchern aufgezeichnet werden (Abbildung 3.3) [1]. Dieser Unterschied spiegelt sich hierbei sowohl im Interventions- als auch im Kontrollarm wieder. Es zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede bezüglich der FMD-Werte zwischen dem Interventions- und dem Kontrollarm in beiden Gruppen [1].

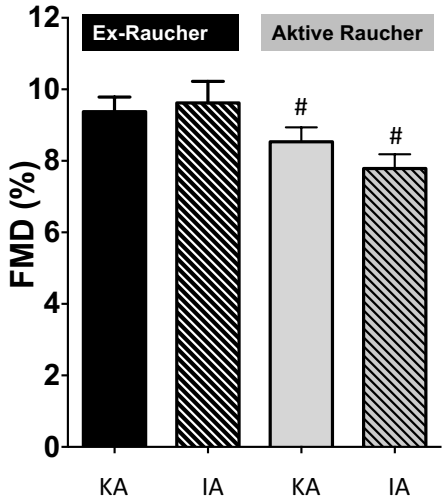


Abbildung 3.2: FMD-Kapazität der RA [vgl. [1]]

FMD gemessen 10 Monate nach tHKU am Interventionsarm (IA) und Kontrollarm (KA) bei aktiven Rauchern und Ex-Rauchern $p<0,05$ vs. Kontrollarm # $p<0,05$ vs. Ex-Raucher (n=40)

3.3.2 Zunahme der lokalen Gefäßsteifigkeit

Die FDC-Kapazität, welche als Maß für die lokale Gefäßsteifigkeit dient, war im Interventionsarm sowohl bei den aktiven Rauchern als auch bei den Ex-Rauchern im Vergleich zum jeweiligen Kontrollarm signifikant eingeschränkter [1]. Bei den aktiven Rauchern war die FDC-Kapazität im Vergleich zu den Ex-Rauchern am Interventionsarm signifikant niedriger (3,2±0,8% vs. 2,3±1,2%, $p=0,003$) (Abbildung 3.4) [1]. Zusammenfassend legt dies nahe, dass durch einen lokalen Gefäßschaden langfristig die lokale Gefäßsteifigkeit zunimmt und dieser Prozess bei den aktiven Rauchern ausgeprägter ist als bei den Ex-Rauchern [1].

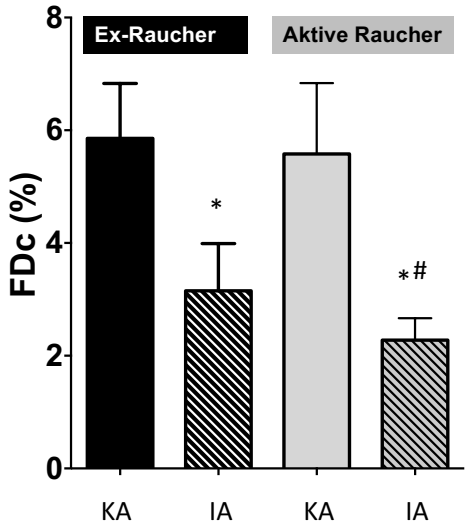


Abbildung 3.3: FDC-Kapazität [vgl. [1]]

Gemessen bei Rauchern und Ex-Rauchern im Interventionsarm (IA) und im Kontrollarm (KA) * p<0,05 vs. Basaler Wert # p<0,05 vs. Kontrollgruppe (n= 40)

3.4 Zunahme der Intima-Media Dicke

Neben den funktionellen und physikomechanischen Veränderungen durch die transradiale Herzkatheteruntersuchung konnten wir auch strukturelle Änderungen in den Gefäßen feststellen. Hierzu wurde besonders lokal an der Punktionsstelle der RA eine Zunahme der Intima-Media Dicke gemessen. In beiden Patientenkollektiven war im Interventionsarm im Vergleich zum Kontrollarm eine signifikant dickere IMT zu beobachten [1]. Nach durchschnittlich 10 ± 3 Monaten war die IMT bei den aktiven Rauchern signifikant größer als bei den Ex-Rauchern (0,44 ± 0,07 mm vs. 0,37 ± 0,05 mm, p=0,001 vs. Ex-Raucher) [1]. Die IMT im Kontrollarm blieb dabei in beiden Gruppen unverändert (0,32 ± 0,06 mm vs. 0,31 ± 0,05 mm, p=0,726 vs. Ex-Raucher) [1]. Die individuelle Zunahme der ΔIMT (Interventionsarm und Kontrollarm) betrug bei aktiven Rauchern ungefähr das Doppelte im Vergleich zu den Ex-Rauchern (ΔIMT aktive Raucher: 0,096 ± 0,088 mm, Ex-Raucher: 0,053 ± 0,058 mm, p=0,04) (Abbildung 3.5) [1].

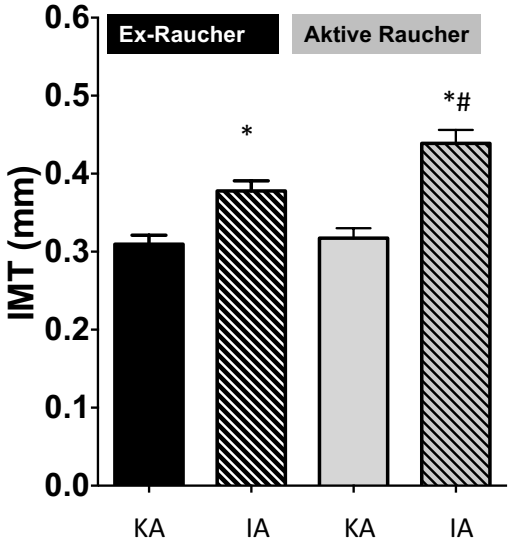


Abbildung 3.4: Intima-Media-Verdickung [vgl. [1]]

Bei aktiven Rauchern und Ex-Rauchern im Interventionsarm (IA) und im Kontrollarm (KA) * $p<0,05$ vs. Kontrollarm # $p<0,05$ vs. Ex-Raucher

Die Zunahme der IMT konnte jeweils am Interventionsarm bis zu 15 cm proximal der Punktionsstelle noch gemessen werden. Dabei war die Zunahme jedoch an der Punktionsstelle lokal am höchsten und nahm nach proximal hin weiter ab [1]. Dies legt nahe, dass der Schaden letztlich im Bereich der intraarteriellen Schleuse wahrscheinlich durch die hinzugefügten Schwerkräfte stärker ausgeprägt war als im Bereich proximal der Schleuse, in dem der Schaden eher durch die schmaleren Katheter und Drähte, welche die Arterie passieren, gesetzt wird. Auch hier war die Hyperplasie bei den aktiven Rauchern auf allen Ebenen signifikant stärker ausgeprägt als bei den Ex-Rauchern (Abbildung 3.6) [1].

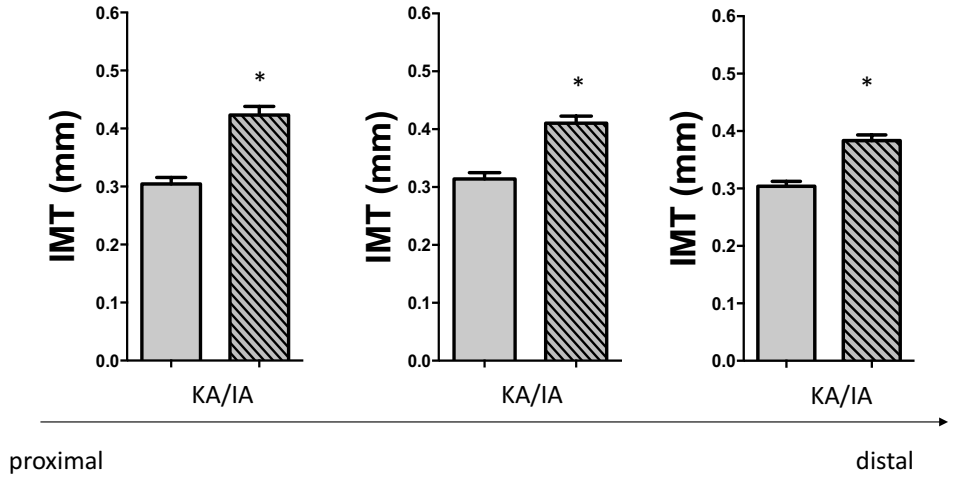


Abbildung 3.5: IMT- Zunahme von distal nach proximal [vgl. [1]]

Zunahme der IMT am Interventionsarm (IA) im Vergleich zum Kontrollarm von proximal nach distal 0,42±0,01 vs. 0,41±02 vs. 0,38±0,01; proximal vs. distal p= 0,001

3.5 Remodelierungsprozesse

Neben der signifikanten stärker ausgeprägten IMT Zunahme und lokal verstärkten Gefäßsteifigkeit bei aktiven Rauchern, konnten wir weitere Remodelierungsprozesse nachweisen. Der Außendiameter der RA am Interventionsarm hatte signifikant am Interventionsarm bei aktiven Rauchern zugenommen (2,97 ± 0,30 mm vs. 2,71 ± 0,39 mm, p=0,027 vs. Ex-Raucher) (Abbildung 3.7) [1].

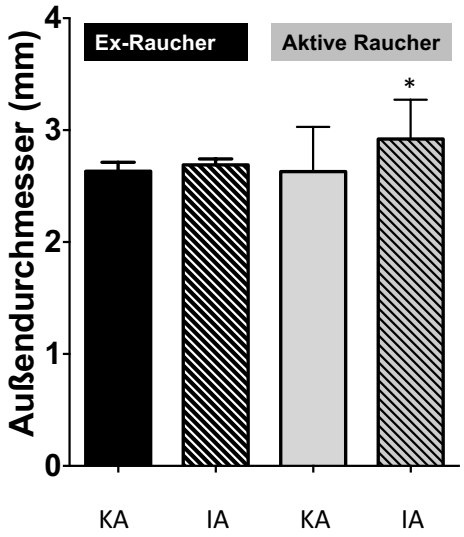


Abbildung 3.6: Außendiameter der RA [vgl. [1]]

Bei aktiven Rauchern und Ex-Rauchern im Interventionsarm (IA) und im Kontrollarm (KA) * p<0,05 vs. Kontrollarm # p<0,05 vs. Ex-Raucher

Der luminale Durchmesser der RA an der Punktionsstelle blieb hingegen unverändert (2,03 ± 0,37 mm vs. 2,01 ± 0,33 mm, p=0,81 vs. Ex-Raucher) (Abbildung 3.8) [1].

Im Kontrollarm konnten hierbei weder im Außendurchmesser (2,73 ± 0,33 mm vs. 2,72 ± 0,35 mm, p=0,96 vs. Ex-Raucher) noch im Lumendurchmesser (2,10 ± 0,37 mm vs. 2,12 ± 0,35 mm, p=0,82 vs. Ex–Raucher) eine signifikante Änderung beobachtet werden (Abbildung 3.7 und 3.8) [1].

Zusammenfassend legen die Befunde nahe, dass es bei den aktiven Rauchern zu einer ausgeprägteren positiven Remodelierung der Radialarterie gekommen ist [1].

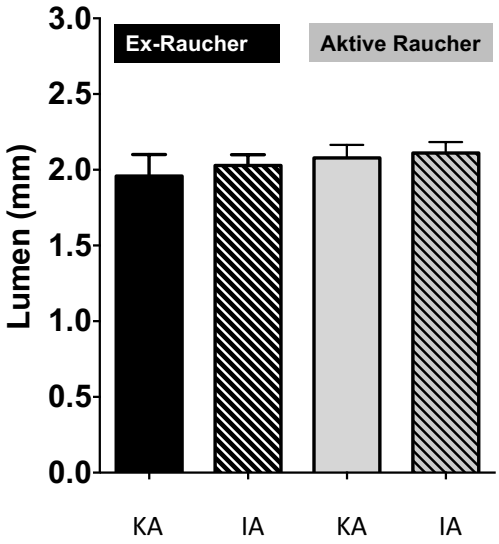


Abbildung 3.7: Lumen der RA [vgl. [1]]

Bei aktiven Rauchern und Ex-Rauchern im Interventionsarm (IA) und im Kontrollarm (KA) * p<0,05 vs. Kontrollarm # p<0,05 vs. Ex-Raucher

3.6 Assoziation zwischen den Packungsjahren und basaler IMT

Es zeigte sich sowohl bei den aktiven Rauchern (*r=0,57, p=0,002*) als auch bei Ex-Rauchern (*r=0,63, p<0,001, n=23*) eine positive lineare Korrelation zwischen der Anzahl an gerauchten Packungsjahren und der basalen IMT (Abbildung 3.9) [1]. Dies suggeriert, dass eine Dosis-abhängige Beziehung zwischen chronischem Nikotinkonsum und strukturellen Gefäßwandveränderungen im Sinne von frühen atherosklerotischen Veränderungen besteht [1].

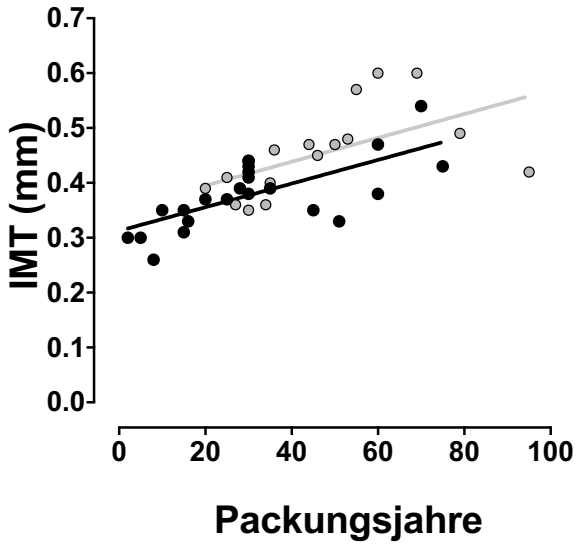


Abbildung 3.8: IMT-Korrelation mit den Packungsjahren [vgl. [1]]

Bei aktiven Rauchern (*r=0,57, p<0,002*, n=17) und Ex-Raucher (*r=0,63, p<0,001*, n=23)

3.7 IMT bei Rauchern

Bei den aktiven Rauchern zeigte sich, dass die IMT am Interventionsarm in Abhängigkeit von der Anzahl innerhalb der letzten 24 h gerauchten Zigaretten stärker ausgeprägt war (*r=0,7, p=0,001*) (Abbildung 3.10) [1].

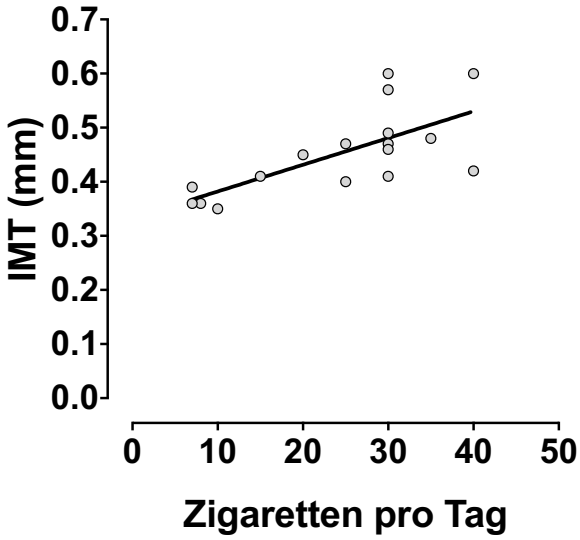


Abbildung 3.9: Basale IMT-Korrelation mit der Anzahl an Zigaretten pro Tag [vgl. [1]] bei aktiven Rauchern (*r=0,7, p<0,001, n=17*)

3.8 Verminderte Anzahl und Migration von CACs bei Rauchern

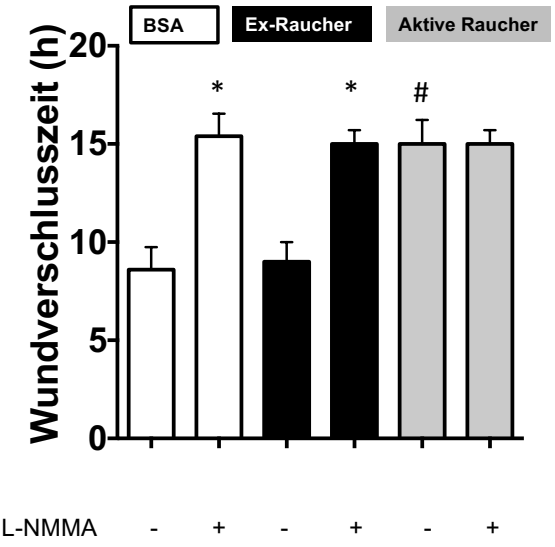
Bei den aktiven Rauchern ermittelten wir eine geringere Anzahl an dem Glykoprotein $CD34^+/KDR^+$-CAC im Vergleich zu den Ex-Rauchern (Ex-Raucher: 0,42 ± 0,19% PBMNC, aktive Raucher: 0,07 ± 0,06% PBMNC, *p=0,04*) [1]. Anschließend erfolgte ein Vergleich der migratorischen Kapazität der CACs bei den aktiven Rauchern und den Ex-Rauchern [1]. Hierbei unterschied sich die unstimmulierte (kein VEGF Zusatz in der unteren Kammer) und die ungerichtete Migration nicht zwischen den beiden Gruppen. Wohingegen CACs bei den Ex-Rauchern auf einen VEGF Gradienten hin signifikant migrierten, war diese Antwort bei den aktiven Rauchern signifikant eingeschränkt [1]. Die Chemotaxis der Zellen der Ex-Raucher wurden mit der NOS Hemmung über die L-NMMA gehemmt. Die hemmende Wirkung von L-NMMA zeigte bei den aktiven Rauchern keinen wesentlichen Effekt [1].

3.9 Plasma von Rauchern inhibiert den endothelialen Wundverschluss und Chemotaxis

Unter Zugabe von BSA und Ex-Raucherplasma zeigte sich im Verlauf ein kompletter endothelialer Wundverschluss von HUVECs im Skratch Assay. Durch die Zugabe von Raucherplasma verlängerte sich der Wundverschluss auf nahezu das Doppelte. Wohingegen der NOS Inhibitor L-NMMA den Wundverschluss bei BSA Kontrollen und Ex-Raucherplasma ebenfalls signifikant verzögerte, hatte es keinen Einfluss auf die bereits verlängerte Wundverschlusszeit bei Raucherplasma. (Abbildung 3.12) [1].

Ähnliche Ergebnisse zeigten sich bei der migratorischen Kapazität von HUVECs in der Gegenwart von BSA oder Plasma von aktiven Rauchern und Ex-Rauchern [1]. Wohingegen Ex-Raucherplasma keinen Einfluss auf die Chemotaxis hatte im Vergleich zur BSA Kontrolle, inhibierte das Raucherplasma nahezu vollständig die Chemotaktische Migration der Endothelzellen, wobei das L-NMMA keinen Effekt zeigte [1].

A) Wundverschlusszeit [vgl. [1]]



B) HUVEC Reihe zur Chemotaxis; Kontrolle: BSA [vgl. [1]]

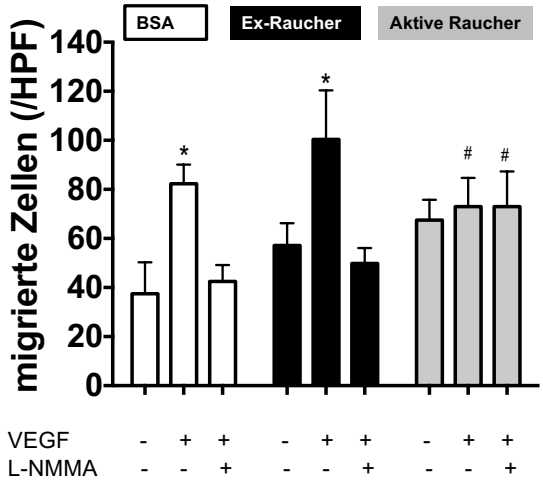


Abbildung 3.10: Eingeschränkte *in vitro* und *ex vivo* Regenerationskapazität bei Rauchern [vgl. [1]]

A) Wundverschlusszeit und B) Chemotaxis in HUVEC mit Inkubation in BSA, isoliertem Plasma von aktiven Rauchern (n=6) und Ex-Rauchern (n=5). L-NMMA (NOS-Hemmer)

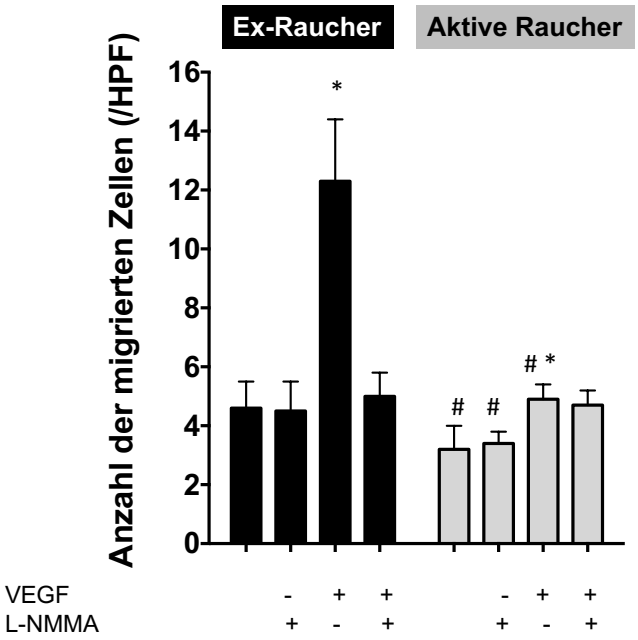


Abbildung 3.11: Verschlechterte NOS-abhängige Chemotaxis bei CACs aktiver Raucher [vgl. [1]]

*p<0,05 vs. Ex-Raucher. * p<0,05 vs. Zellbewegung ohne Zusatz

4 Diskussion

Die wesentlichen Befunde der vorliegenden Arbeit lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Eine transradiale Herzkatheteruntersuchung führt zur einem akuten Schaden am Endothel. Im Weiteren konnten wir zeigen, dass es nach einer Herzkatheteruntersuchung im Langzeitverlauf zu einer Intimahyperplasie kommt. Sowohl die Endothelfunktion als auch ein Langzeitschaden in Form einer Intimahyperplasie konnten durch aktives Rauchen in dieser Arbeit negativ beeinflusst werden. *In vitro* konnten wir darüber hinaus darstellen, dass das Blut von aktiven Rauchern sowohl die NO-abhängige Regenerationszeit als auch die Migrationsfähigkeit von Endothelzellen negativ beeinflusst [1].

4.1 Rauchen verursacht endotheliale Dysfunktion und remoduliert strukturelle Veränderungen

In mehreren Studien und Vorarbeiten [23, 45] wurde bereits gezeigt, dass der Nikotinkonsum sowohl in aktiver und passiver Form [25, 46] zu einer deutlichen Beeinträchtigung der Endothelfunktion führt. Dies ist einhergehend mit einer Einschränkung der vaskulären Reparaturmechanismen am ehesten durch die Abnahme der Migrationsfähigkeit der Endothelzellen [1].

Inwieweit das Rauchen einen Einfluss auf die vaskuläre Funktion hat, zeigt auch die Studie von Johnson et al. Hierbei wurde der Einfluss von Rauchen und Nikotinkarenz auf die Endothelfunktion untersucht [1,45]. Genauer wurde dabei in einer doppelblinden randomisierten Studie der Effekt der Nikotinkarenz auf die brachiale FMD vor und ein Jahr nach Karenz gemessen [45]. Hierbei zeigte sich, dass die Endothelfunktion, gemessen als FMD, nach nahezu ein Jahr Nikotinkarenz signifikant stärker ansteigt im Vergleich zu einem rauchenden Kontrollkollektiv [45]. Der Nikotinkonsum scheint über die Induktion einer endothelialen Dysfunktion zu frühzeitigen präklinischen vaskulären Schäden zu führen und letztlich zur Entstehung der Atherosklerose beizutragen [1, 46, 47, 48]. Nach Johnson et al. hingegen kann sich die Endotheldysfunktion trotz anderer kardiovaskulären Risikofaktoren, wie z.B. die Gewichtszunahme, durch

eine Nikotinkarenz zumindest in Teilen wieder erholen [45]. Ergänzend zur aktuellen Literatur konnten wir in der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die Erholungsphase der Endothelfunktion bei aktiven Rauchern deutlich langsamer abläuft als bei den Ex-Rauchern [1]. Vor allem der Aspekt aus der Arbeit von Johnson et al., dass allein eine 1-jährige Nikotinkarenz trotz Gewichtszunahme einen positiven Einfluss auf die Erholung der Endothelfunktion ausübt, hebt die bedeutende Relevanz für die langfristigen Konsequenzen hervor.

Allgemein ist es bekannt, dass die sogenannten kardiovaskulären Risikofaktoren einen negativen Einfluss auf das Herz- und Gefäßsystem ausüben. Hierbei wurden wiederholt Verknüpfungen zwischen einer endothelialen Dysfunktion und kardiovaskulären Risikofaktoren gesehen [1]. Faktoren, die hierzu beitragen sind u.a. das Alter, der systolische Blutdruck [50], Hypercholesterinämie [51], Hyperglykämie [52] und eben auch der Nikotinkonsum [45] [1]. Neben der endothelialen Dysfunktion spielt auch der Einfluss dieser kardiovaskulären Risikofaktoren eine große Rolle im Hinblick auf die strukturellen Gefäßprozesse. Unsere Ergebnisse zeigen die verstärkte lokale Gefäßsteifigkeit bei Rauchern. Dies gilt als Parameter für die Entstehung der arteriellen Hypertonie und somit Förderung des kardiovaskulären Risikoprofils. Zugleich konnten wir dies in dieser Arbeit durch die Hyperplasie der IMT, welche vor allem bei den aktiven Rauchern ausgeprägt war, signifikant ermitteln [1].

Auch in Tiermodellen mit *knockout* (KO) Mäusen konnte gezeigt werden, dass eine arterielle Gefäßwandverletzung zu strukturellen Veränderungen, wie der Intimahyperplasie führt [1,49]. Dieser Prozess konnte anhand von komplexen zellulären Prozessen zwischen Apoptose assoziierten Enzymen und den glatten Muskelzellen ermittelt werden, wobei in Mäusen mit ausgeprägterer Atherosklerose eine deutliche Progredienz der intimalen Hyperplasie aufzuzeichnen war [1,49].

In anderen wissenschaftlichen Arbeiten, die die IMT der Arteria carotis interna untersucht haben, konnten Assoziationen zu den kardiovaskulären Risikofaktoren aufgestellt werden, und zudem gezeigt werden, dass die IMT an der Arteria carotis interna neben der Ausprägung der Atherosklerose ein

unabhängiger Parameter für Mortaliät und Morbidität als kardiovaskulärer Risikofaktor ist [1,53-56].

Glagov et al. zeigte 1987, dass eine Lumenreduktion in atherosklerotischen Gefäßen nicht einfach das Ergebnis einer Vergrößerung der atherosklerotischen Läsion ist [1,31]. Vielmehr konnte Glagov zeigen, dass Arterien über eine weite Spanne mit Zunahme der Wandmasse und einem vergrößerten Außendiameter reagieren [1,26,31]. Diese adaptierte Antwort dient einzig dem Erhalt der bereits vorhanden Innenlumengröße, um weiter einen normalen Blutfluss aufrecht zu erhalten [1,26,31]. Dieser Blutfluss unterliegt physikalischen Gesetzen und kann durch die Hagen-Poiseuillische- sowie La-Place-Gesetze abgebildet werden. Bevor nun ein Plaque das Lumen beeinträchtigt, bewies Glagov, dass bei Koronargefäßen bis zu einem Stenosegrad von 40% der Lumendurchmesser konstant bleibt [26,31]. Diese kompensatorische Gefäßerweiterung wird als positives Remodeling beschrieben. Ist dieser Mechanismus bei einem höheren Kompensationsgrad ausgeschöpft, so kommt es erst dann zu einer Lumenreduktion und konsekutivem reduzierten Blutfluss [1,26,32]. Letztlich kommt es zu einer Abnahme des Lumendurchmessers, was zu einer veränderten Fließeigenschaft führt. Dieser Vorgang wird als negatives Remodeling bezeichnet [1,26,32].

Das sogenannte Glagov-Phänomen bezieht sich initial auf die Koronararterien, die im Vergleich zur Radialarterie eher zu atherosklerotischen Veränderungen neigen [1]. Dennoch kann davon ausgegangen werden, dass diese Vorgänge auch in anderen Gefäßen ablaufen könnten, die nicht in typischer Korrelation zur Atherosklerose stehen, wie z.B. in der Radialarterie. Bezüglich der Endothelfunktion herrscht zwischen beiden Gefäßgruppen eine signifikante Korrelation [1,57]. Ebenso umgekehrt sind die Prozesse der Radialarterie auch auf die Koronararterien zu beziehen, was die Bedeutung der Ergebnisse dieser Arbeit nochmals unterstreicht.

Dieses Phänomen zeigt sich darüber hinaus insbesondere bei einer internen Gefäßverletzung. Kann ein Gefäß nicht nach einer mechanischen Erweiterung den Innenlumendiameter aufrechterhalten, so sprechen wir von einer Re-Stenose [1,28,29]. Hier ist von großer Bedeutung, dass eine fehlende

Vergrößerung des Gefäßes ein unabhängiger Prädiktor für das Auftreten von Re-Stenosen ist [31]. Hierbei scheint der NO Signalweg eine entscheidende Rolle zu spielen. Morishita et al. konnten zeigen, dass die Additive Gabe von NO in einem Tiermodell zu einer Zunahme des Außendiameters und auch zu einem größeren Innendiameter in einem Gefäß führt [58].

Die vorliegenden Ergebnisse haben gezeigt, dass bei aktiven Rauchern eine verstärkte Intimaverdickung sowie eine kompensatorische Gefäßerweiterung bei Aufrechterhaltung des luminalen Durchmessers im Sinne eines positiven Remodelings vorliegen [1]. Dies könnte durch den Verlust der NO Bioverfügbarkeit als wesentlicher endothelialer Faktor bedingt sein, welcher antiproliferativ auf Gefäßwandzellen wirkt [1,49,58].

Ein potentiell wichtiger Faktor ist die Stimulation der Proliferation der glatten Muskelzellen, induziert durch die mitogenetische Aktivität des Nikotins auf diese Zellen, als mögliche Ursache für die Intimahyperplasie zu sehen [1,49,59]. Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass die Proliferation der vaskulären glatten Muskelzellen durch das Nikotin bedingt ist [1,60]. Auch in Tierversuchen wurden dokumentiert, dass Nikotin neben den atherosklerotischen Faktoren die intimale Verdickung aggraviert und somit zur Entstehung der Re-Stenose beiträgt [1,61].

4.2 Langzeitkonsequenzen durch die Gefäßverletzung

Anhand der vorliegenden Daten können wir sagen, dass die durch den Katheter gesetzte iatrogene Verletzung der Gefäßwand, hier lokal an der Radialarterie, und Fortführung der durch die Schleusen und Drähte entlang der Gefäßwand resultierenden Scherkräfte weitere physikomechanischen und strukturellen Gefäßprozesse in Gang setzt [1].

Der Einfluss der Gefäßverletzung ist allerdings nicht nur durch die Größe der Kanüle in Bezug auf den Gefäßdurchmesser determiniert. Hier spielen auch die Anzahl der verschiedenen Katheter aber auch das Geschlecht der Patienten eine Rolle [1,7]. Dies konnte Uhlemann et al. in einer großen retrospektiven Arbeit mittels einer multivariaten Regressionsanalyse zeigen. Auch spielt die transradiale Rekatheterisierung eine bedeutende Rolle. Wakayema et al.

konnte in seiner Arbeit zeigen, dass der Ausgangsdurchmesser vor allem in der distalen Radialarterie im Hinblick auf die Intimahyperplasie bereits nach wiederholter Katheterisierung geringer war [1,61,62]. Dies ist, wie wir auch in unseren Ergebnissen sehen konnten, am ehesten auf die stärkeren Scherkräfte der lokalen Punktion und den Schleusenkontakt im distalen Abschnitt des Gefäßes nah zur Punktionsstelle zurückzuführen [1]. Die Intimahyperplasie ist aber durch die fortgeführten Drähte entlang der RA nach proximal weiterzuverfolgen. Diese Abnahme des Gefäßdurchmessers post-Katheter zeigte auch Abe et al. in einer Follow-Up Studie über drei Monate gemäß einem transradialen Verfahren mit einer 6-French großen Schleuse [1,63].

Die Korrelation der Kanülengröße zur Stenosierung wurde in einer Studie von Uhlemann et al. durch die Benutzung von kleineren 5-French großen Kanülen verdeutlicht [1,7]. Es zeigte sich, dass sowohl die Komplikationsrate als auch die Rate der Reduktion des Diameters bzw. des Verschlusses der RA im Vergleich zur Nutzung einer 6-French Schleuse signifikant reduziert werden konnte [1,7].

In neueren Studien konnte gezeigt werden, dass neben der nicht-invasiven Ultraschalldiagnostik auch weitere bildgebende Verfahren diese Abnahme des Gefäßdurchmessers durch Intimahyperplasie der Radialarterie an der lokalen Punktionsstelle nach transradialer Herzkatheteruntersuchung darstellt. Hierbei konnte Kala et al. 2017 in einer 9-monatigen Follow-Up Studie zeigen, dass unter der Messung einer optischen Kohärenztomographie (OCT) eine signifikante Zunahme der Intimahyperplasie der Radialarterie nach transradialer Herzkatheteruntersuchung mit gleichzeitig einhergehender Abnahme des Lumendurchmesser aufgezeichnet werden konnte [64]. Die optische Kohärenztomographie ist hierbei ein bildgebendes Verfahren, was bezüglich der diagnostischen Kriterien ein gewisses Parallel zum nicht-invasiven doppler-sonographischem Ultraschall aufweist. Anstelle der Schallwellen werden bei der OCT die Lichtwellen zum Bildaufbau genutzt [65].

Anhand der Angiographie konnte wohlmöglich eine lokale Veränderung des Gefäßes beobachtet werden. Jedoch ist dies mit der Zeit durch die Entwicklung verschiedener Techniken, kleineren Schleusengrößen in Zukunft allein durch

die Angiographie nicht möglich [1]. Durch die Benutzung des Ultraschalls eröffnet sich ein breiteres diagnostisches Spektrum, da zusätzlich zum Lumendurchmesser auch die Außendurchmesser der RA gemessen werden können [1]. Hierdurch können die strukturellen Veränderungen effizienter ermittelt und verstanden werden.

In unserer Arbeit konnten wir zeigen, dass Im Rahmen der tHKU lediglich bei allen Patienten eine Intimahyperplasie ausgelöst wurde [1]. Der lokale Gefäßschaden ist hiermit also essentiell. Zusammengefasst kann man aber dennoch dies als einen multifaktoriellen und kausal aneinandergereihten Prozess deklarieren. Die Intimahyperplasie korreliert mit der endothelialen Dysfunktion, die wiederum unter dem Einfluss der kardialen Risikofaktoren, insbesondere dem Nikotinkonsum, steht [1].

Aktive Raucher, also Patienten die eine stärkere endotheliale Dysfunktion aufweisen, zeigen in den Folgen einer transradialen Herzkatheteruntersuchung eine ausgeprägtere Form der strukturellen Gefäßprozesse [1]. Vor allem in Hinblick auf die noch unklaren Prozesse, welche Faktoren neben den bisher genannten strukturellen Gefäßprozessen in welcher Form beeinflussen und auch hinsichtlich der endothelialen Erholung und der Ausweite der Remodelierungsprozesse im weiteren Verlauf, brauchen wir zur weiteren Abklärung longitudinale Studien mit hoher Anzahl an Patienten, über einen längeren Zeitraum, um diese Ergebnisse zu bestätigen und weiter zu differenzieren [1].

Vor allem ist es im Hinblick auf die weiteren bildgebenden Verfahren wie zum Beispiel der optischen Kohärenztomographie wichtig zu wissen, inwieweit zusätzliche Informationen zu erhalten sind, um damit die strukturellen Prozesse besser zu erfassen. Hierdurch wäre es auch denkbar Einflussfaktoren besser zu detektieren und damit den Effekt des Rauchens bezogen auf die NO-Verfügbarkeit und damit auf die endothelialen Prozesse genauer zu untersuchen.

Neben der bildgebenden Verfahren ist zur genaueren Differenzierung der strukturellen Prozesse ebenso von Bedeutung welche histopathologischen

Merkmale im Bereich der iatrogen gesetzten Gefäßverletzung und damit assoziierten Umbauprozessen einhergehen und welchen Einfluss das Toxin Nikotin als solche hat.

4.3 Rauchen beeinflusst die vaskuläre Regeneration

Dass die Atherosklerose u.a. neben vielen weiteren Faktoren ein Triggerfaktor für die endotheliale Dysfunktion ist, konnte bereits mehrfach gezeigt werden [1,14]. Es werden mehrere „zelluläre Interaktionen“ ausgelöst, die folglich in atherosklerotischen Läsionen enden [1,66]. Anhand unserer Arbeit konnte ein Langzeiteffekt der iatrogenen Gefäßverletzung im Sinne einer transradialen Herzkatheteruntersuchung beobachtet werden [1].

NO ist im Wesentlichen verantwortlich für die vasodilatative Eigenschaft des Endothels [1]. Mehrere *in vitro* Studien haben gezeigt, dass der Nikotinkonsum die NO-Bioverfügbarkeit beeinflusst, indem es einen negativen Effekt auf die eNOS-Funktion ausübt [1,50,67]. Mit Anstieg des Nikotinkonsums kommt es zu einem linearen Abfall der eNOS- Expression [1,68].

Das Protein eNOS ist ein wesentlicher Bestandteil der Gefäßwand und interagiert sowohl für die Regenerationsfähigkeit dieser als auch mit der Funktion der CACs [1].

Nach einer Gefäßwandverletzung kommt es zu einer Aktivierung der Endothelzellen mit Zellmigration in den verletzten Bereichen, wobei die CACs als Zielsetzung auf diese Bereiche sowie zur Hemmung der Intimahyperplasie dienen [1]. Eine Homöostase zwischen der Endothelverletzung und dessen Regenerationsphase wird somit aufgebaut [1,69].

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass die funktionelle Komponente der CACs von Rauchern bezüglich der Chemokinese ähnliche Ergebnisse aufwiesen, wie die der Zellen der Ex-Raucher [1]. *In vitro* Untersuchungen haben gezeigt, dass die Chemotaxis der CACs der Ex-Raucher durch L-NMMA gehemmt wurde [1]. Dies verdeutlicht die Notwendigkeit der NOS Aktivität für die Chemokinese [1]. Die Chemokinese stellt dabei einen wichtigen Faktor für

die „funktionelle Erholung“ [25, 70] dar, was durch die Zugabe von Plasma von aktiven Rauchern eingeschränkt wird [1].

Die Inhibition mit L-NMMA bei aktiven Rauchern zeigte keinen Einfluss auf die Chemokinese, was darauf hinweist, dass die CACs der aktiven Raucher über eine eingeschränkte bzw. fehlende NOS Aktivität verfügen [1]. Menschliche Endothelzellen der Nabelvene, die mit Plasmazellen der aktiven Raucher inkubiert wurden, zeigten eine Hemmung der eNOS Aktivität und eine Verschlimmerung der VEGF-geleiteten Migrationsfähigkeit [1]. Dies verdeutlicht die Abhängigkeit der NO-Bioverfügbarkeit und dessen Aktivität vom Nikotin [1]. Durch viele Studien ist es bekannt, dass es einen Zusammenhang zwischen der eingeschränkten NO-Bioverfügbarkeit und der dadurch resultierenden verstärkten Intimahyperplasie gibt [1]. Auch hier ist ein multifaktorieller Prozess entsprechend einer Kausalkette zu erkennen.

Nach der Studie von Yogo et al. herrscht nach einer Ballon-Katheter-Intervention induzierten Gefäßwandverletzung bei eNOS-KO-Mäusen eine gesteigerte Intimahyperplasie [1,71]. In dieser Studie wird aber zwischen den NOS-Isoformen unterschieden und auf die unterschiedlichen vaskulären Umbauprozesse aufmerksam gemacht [71]. Dabei spielen die einzelnen Formen entweder bei der Hyperplasie der IMT oder der Remodelierung eine Rolle. In einer weiteren Studie wurde festgestellt, dass im Rahmen einer transluminalen mechanischen Schädigung der Femoraliswand bei Hasen Apoptose- und Hyperplasievorgänge glatter Muskelzellen in Gang gesetzt werden [1,72]. Parallel dazu konnten auch bei zahlreichen weiteren Studien mit menschlichem Gewebe ähnliche Mechanismen der Remodelierungsvorgänge im Rahmen der Entstehung von atherosklerotischen Plaques beobachtet werden [1,62, 73, 74].

Neben vielen Risikofaktoren trägt der Nikotinkonsum zur Entstehung der Atherosklerose bei [1]. Vor allem der akute Nikotinkonsum verschlechtert die Regenerationsfähigkeit und die NO-Bioverfügbarkeit [1,75]. Für eine effektive Chemotaxis der CACs über die VEGF ist die Aktivität der eNOS essentiell [1,70, 76]. Das Protein eNOS stellt einen Hauptbestandteil der VEGF induzierten Angiogenese und Endothelfunktion dar [1,77]. Sowohl mechanisch als auch

sensitiv werden hierbei die Reaktionen der Gefäßwand auf jegliche Läsionen reguliert [1,78].

Klinische und experimentelle Studien verdeutlichen das Zusammenspiel der „Vasodilatation, der NO-Produktion und der Angiogenese“ [1,76]. Dieses Phänomen ist auch aus den gewonnen Daten abzuleiten. Den eNOS-vermittelten funktionellen Regenerations- und Reperaturmechanismen des Endothels stehen die Nikotin-induzierten Zellmigrationsvorgänge und auf langfristiger Ebene die hiermit assoziierte deutlich stärker resultierende Intimahyperplasie entgegen [1]. Die Korrelation der IMT-Werte mit den Parametern des aktiven Nikotinkonsums gibt diesen Zusammenhang wieder [1]. Auch die Tatsache, dass alleine die Anzahl der Packungsjahre auf die IMT-Hyperplasie einen größeren Einfluss ausübt legt diesen Zusammenhang nochmals hervor. Mehrere Studien, die den pathophysiologischen Zusammenhang zwischen Rauchen und der Wundheilung untersuchten, zeigen die langfristigen negativen Folgen: Die reduzierte Reparationsfähigkeit der Zellen, gemessen als eine reduzierte Mobilisation, die verringerte Chemotaxis und die gesteigerte Inflammation [1,67].

In einem systematischen Review konnte Sorensen et al. den generellen Einfluss von aktiven perioperativem Nikotinkonsum auf Wundheilungsstörungen darstellen [1,79]. Auch im Rahmen dieser Arbeit konnten wir in Bezug auf die Gefäßheilung diese Ergebnisse bestätigen. Zellen, die mit dem Plasma von Rauchen inkubiert wurden, benötigten die doppelte Zeit zum Wundverschluss. Parallel dazu zeigte die eNOS-Hemmung über L-NMMA einen verschlechterten Wunschverschluss bei Rauchern [1]. Dies verdeutlicht wiederholt den Einfluss der eNOS. Eine Nikotinkarenz führt entsprechend zu einer Verbesserung der funktionellen Werte [1]. Die endothelabhängige Relaxation erholt sich durch ein gleichzeitig erhöhtes Angebot von NO der Endothelzellen. Folglich kommt es auch zu einer Verbesserung der Wundheilungsprozesse [1].

Zusätzlich sollte man bezüglich der direkten lokalen Schäden diskutieren, inwieweit der Nikotinkonsum die Wahrscheinlichkeit eines Vasospasmus im Rahmen der Katheterisierung verstärkt. Denn hierdurch würde man davon ausgehen, dass die durch den Vasospasmus entstandenen Scherkräfte am

Kathetermaterial eine verstärkte endotheliale Dysfunktion, eine verstärkte Intimahyperplasie und damit einhergehende Remodelierungsprozesse auslöst. Bis zu 38 % der transradialen Katheteruntersuchungen enden aufgrund der vasospastischen Reaktion frustran, auch u.a. ausgelöst bei Patienten, die eine verstärkte Intimahyperplasie aufweisen [80]. Zur Vorbeugung beziehungsweise zur unmittelbaren Therapie eines Vasospasmus während einer transradialen Herzkatheteruntersuchung konnte man zeigen, dass lang-wirksame Nitrate und Calcium-Kanal-Blocker einen positiven Effekt aufweisen [81]. Dies zeigt, dass auch hier die NO-Bioverfügbarkeit, welche durch den Nikotinkonsum eingeschränkt ist, eine bedeutende Rolle spielt.

Unabhängig von den Assoziationen der Veränderungen an der Radialarterie mit dem gesamten Gefäßsystem vor allem im Hinblick auf die Koronargefäße, sind alleine diese lokalen Veränderungen langfristig von Bedeutung. Wie bereits erwähnt ist die Radialarterie vor allem im chirurgischem Bereich ein wichtiges Werkzeug. Die Radialarterie findet beispielsweise in der Gefäßchirurgie bei der Erstellung eines Dialyse-Shunts Verwendung. Dabei sind bereits zahlreiche Kriterien bezüglich der Gefäßbeschaffenheit und der arteriellen Grundversorgung der Hand für die Eignung der Radialarterie zur Shuntanlage festgelegt [82]. Sie stellt hierbei insgesamt eine wichtige Alternative dar.

Ebenso in der Herz-Thoraxchirurgie tritt die Radialarterie als ein bedeutendes Präparat für die Myokardrevaskularisation in den Vorschein. In einer Arbeit von Gaudino et al. konnte bereits gezeigt werden, dass zwar die atherosklerotischen Veränderungen in der Radialarterie ausgeprägter als in der Arteria thoracica interna vorliegen, welche gehäuft in der Myokard-Bypassversorgung verwendet wird, jedoch aber verminderter in der Arteria carotis communis aufgeführt sind [83]. Somit ist die Verwendung der Radialarterie in diesem Bereich nicht minderwertig und durchaus vertretbar.

In der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie agiert die Radialarterie bei Patienten mit Tumorerkrankungen in diesem Bereich bei der operativen Versorgung. Hierbei erfolgt seit 1981 die operative Rekonstruktion nach Tumorresektion im Halsbereich durch einen Radialislappen mit all seinen Bestandteilen inklusive

der Radialarterie [84]. Zur optimalen Versorgung ist selbstverständlich eine intakte Radialarterie essentiell.

Um den Erhalt der Radialarterie zu gewährleisten, sollte der transradiale Zugangsweg erst nach präziser und sorgfältiger Evaluation des individuellen Patienten gewählt werden. Hierbei gibt es multiple Vorgaben, die nach entsprechenden Kriterien die Radialarterie für den transradialen Zugang als geeignet etablieren.

Es ist zu evaluieren, ob es Vor- und Nebenerkrankung im vaskulären Bereich gibt. Hierzu zählen vor allem die rheumatoiden bzw. vaskuläre Erkrankungen wie beispielsweise das Raynaud-Syndrom [85]. Wenn der Patient bereits dialysepflichtig ist oder eine höhergradige Niereninsuffizienz mit erhöhtem Risiko zur Dialysepflichtigkeit hat, sollte der transradiale Zugangsweg gut durchdacht werden.

Zur genaueren Quantifizierung der Radialarterie im Hinblick auf die Gefäßbeschaffenheit ist die duplex-sonographische Ultraschalldiagnostik der Arterie essentiell. Hierbei spielt neben dem Durchmesser das Flussprofil eine besondere Rolle. Ebenso ist zu evaluieren, wie das Flussprofil der Ulnararterie ist, um die Versorgung über das Gefäßbogenprinzip zu gewährleisten. Neben der Ultraschalldiagnostik kann auch die Eignung der RA klinisch anhand des sogenannten *Allen´s-Test* und einer einfachen Quantifizierung durch die Sauerstoffsättigung mittels eines Pulsoxymeters evaluiert werden [86].

Insgesamt sollte die Rolle der periinterventionellen Nikotinkarenz im Hinblick auf die Langzeitkomplikationen eine Verminderung erzielen, sodass die Radialarterie im Verlauf als Bypass, Radialislappen oder Dialyse-Shunt problemlos genutzt werden kann [1].

5 Schlussfolgerungen und Ausblick

Abschließend zeigt diese Arbeit die besondere Rolle des Nikotinkonsums in jeglicher Form in Bezug auf die komplexen Gefäßprozesse. Der menschliche Körper ist in jeder kleinsten Zelle mit ständigen Umbauprozessen konfrontiert. Im Rahmen einer iatrogenen Gefäßverletzung im klinischen Alltag durch eine Herzkatheteruntersuchung konnte gezeigt werden, welche Verknüpfungen zu den physikomechanischen und strukturellen Umbau-, Reparatur- und Regenerationsprozessen eines Gefäßes bestehen. Welchen negativen Effekt dabei der Nikotinkonsum, vor allem durch seine Effekte auf die eNOS-Aktivität, auf diese Prozesse aufweist, ist eindeutig.

Es stellt sich nun die Frage, inwieweit der aktive Raucherstatus des Patienten eine Koronarangiographie über den transradialen Zugangsweg überhaupt zulässt. Um dies zu vergegenwärtigen ist die Durchführung weiterer Follow-Up-Studien und Arbeiten mit einer großen Anzahl von aktiven Rauchern notwendig. Neben den zahlreichen Vorteilen des radialen Zugangsweges für den Patienten und den Untersucher ist jedoch vor allem wichtig, ob der optimale Erhalt der Radialarterie zukünftig zu ermöglichen ist. Die mögliche Quelle für ein Bypass-Transplantat sollte nicht gefährdet werden [1]. Hierbei ist besonders die genaue Erfassung der Faktoren, die Einflüsse auf die physiomechanischen als auch strukturellen Gefäßprozesse haben, über einen langen Zeitraum mittels diverser Verfahren im Hinblick auf die Erweiterung der bildgebenden nicht-invasiven Verfahren als auch der histopathologischen Untersuchungen von bedeutender Relevanz.

Diese Arbeit soll somit als Anreiz dienen, die Wichtigkeit der Nikotinkarenz in Hinblick auf die vaskulären Prozesse, die den Grundstein des Herz-Kreislauf-Systems bilden und damit mit der gesamten Organfunktion des menschlichen Körpers einhergehen, zu betonen und vor allem den Aspekt der periinterventionellen Nikotinkarenz untermauern. Ebenso ist es ein weiteres Ziel die bedeutende Rolle der Radialarterie einerseits in der Diagnostik und anderseits in zahlreichen medizinischen Verwendungen darzustellen.

V Literaturverzeichnis

[1] Sansone R*, Stegemann E*, Özaslan G, Schuler D, Lukosz M, Rodriguez-Mateos A, Lauer T, Westenfeld R, Kelm M, Heiss C (2014) Early and late response-to-injury in patients undergoing transradial coronary angiography: arterial remodeling in smokers. *Am J Cardiovasc Dis. 2014; 4:47-57*

[2] Rao, Sunil V.; Cohen, Mauricio G.; Kandzari, David E.; Bertrand, Olivier F.; Gilchrist, Ian C. (2010): The transradial approach to percutaneous coronary intervention: historical perspective, current concepts, and future directions. In: *Journal of the American College of Cardiology* 55 (20), S. 2187–2195.

[3] Lange HW[1], von Boetticher H.: Randomized comparison of operator radiation exposure during coronary angiography and intervention by radial or femoral approach. Catheter Cardiovasc Interv. 2006 Jan; 67(1):12-6.

[4] Kiemeneij F[1], Laarman GJ, Odekerken D, Slagboom T, van der Wieken R.: A randomized comparison of percutaneous transluminal coronary angioplasty by the radial, brachial and femoral approaches: the access study. J Am Coll Cardiol. 1997 May;29(6):1269-75.

[5] Philippe F1, Larrazet F, Meziane T, Dibie A.: Comparison of transradial vs. transfemoral approach in the treatment of acute myocardial infarction with primary angioplasty and abciximab. Catheter Cardiovasc Interv. 2004 Jan;61(1): 67-73.

[6] Cooper CJ1, El-Shiekh RA, Cohen DJ, Blaesing L, Burket MW, Basu A, Moore JA.: Effect of transradial access on quality of life and cost of cardiac catheterization: A randomized comparison. Am Heart J. 1999 Sep; 138(3 Pt 1): 430-6.

[7] Uhlemann, Madlen; Möbius-Winkler, Sven; Mende, Meinhard; Eitel, Ingo; Fuernau, Georg; Sandri, Marcus et al. (2012): The Leipzig prospective

vascular ultrasound registry in radial artery catheterization: impact of sheath size on vascular complications. In: JACC. Cardiovascular interventions 5 (1), S. 36–43.

[8] Wakeyama, Takatoshi; Ogawa, Hiroshi; Iida, Hiroshi; Takaki, Akira; Iwami, Takahiro; Mochizuki, Mamoru; Tanaka, Takeo (2003): Intima-media thickening of the radial artery after transradial intervention. An intravascular ultrasound study. In: Journal of the American College of Cardiology 41 (7), S. 1109–1114.

[9] Lim, L. M.; Galvin, S. D.; Javid, M.; Matalanis, G. (2014): Should the radial artery be used as a bypass graft following radial access coronary angiography. In: Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery 18 (2), S. 219–224.

[10] Tayeh, Osama; Ettori, Federica (2014): Coronary angiography safety between radial and femoral access. In: The Egyptian Heart Journal 66 (2), S. 149–154.

[11] Agostoni, Pierfrancesco; Biondi-Zoccai, Giuseppe G.L.; Benedictis, M. Luisa de; Rigattieri, Stefano; Turri, Marco; Anselmi, Maurizio et al. (2004): Radial

[12] Labrunie, André; Tebet, Marden Andre; Andrade, Pedro Beraldo de; Andrade, Mônica Vieira Athanazio de; Conterno, Lucieni de Oliveira; Mattos, Luiz Alberto et al. (2009): Coronariografia via transradial: curva de aprendizagem, avaliada por estudo multicêntrico. In: Rev. Bras. Cardiol. Invasiva 17 (1), S. 82–87 versus femoral approach for percutaneous coronary diagnostic and interventional procedures. In: *Journal of the American College of Cardiology* 44 (2), S. 349–356.

[13] Kelm, M.; Strauer, B. E. (1999): Endotheliale Dysfunktion. In: *Der Internist* 40 (12), S. 1300–1307.

[14] Celermajer, David S. (1997): Endothelial Dysfunction: Does It Matter? Is It Reversible? In: Journal of the American College of Cardiology 30 (2), S. 325– 333.

[15] Rösen, P. (2002): Endotheliale Dysfunktion: ein Synonym für funktionelle Atherosklerose. In: J Kardiol 9, S. 556-562.

[16] Hadi, H. A., Carr, C. S., & Al Suwaidi, J. (2005). Endothelial Dysfunction: Cardiovascular Risk Factors, Therapy, and Outcome. Vascular Health and Risk Management, 1(3), 183–198.

[17] Epstein, Franklin H.; Ross, Russell (1999): Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. In: *N Engl J Med* 340 (2), S. 115–126.

[18] Ross, R. (1995): Cell biology of atherosclerosis. In: Annual review of physiology 57, S. 791–804.

[19] Lüscher TF, Richard V, Tschudi M, Yang Z, Boulanger C. Endothelial control of vascular tone in large and small coronary arteries. J Am Coll Cardiol 1990; 15:519-27.

[20] Salisbury, Dereck; Bronas, Ulf (2015): Reactive oxygen and nitrogen species: impact on endothelial dysfunction. In: Nursing research 64 (1), S. 53–66

[21] Grassi, Davide; Desideri, Giovambattista; Ferri, Livia; Aggio, Annalisa; Tiberti, Sergio; Ferri, Claudio (2010): Oxidative stress and endothelial dysfunction: say NO to cigarette smoking! In: Current pharmaceutical design 16 (23), S. 2539– 2550.

[22] Messner, B.; Bernhard, D. (2014): Smoking and Cardiovascular Disease: Mechanisms of Endothelial Dysfunction and Early Atherogenesis. In: Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 34 (3), S. 509–515.

[23] Heiss C, Balzer J, Hauffe T, Hamada S, Stegemann E, Koeppel T, Merx MW, Rassaf T, Kelm M, Lauer T. Vascular dysfunction of brachial artery following transradial access for coronary catheterization: Impact of smoking and catheter changes. JACC Cardiovasc Interv. 2009; 2:1067–1073

[24] Barua RS, Ambrose JA, Srivastava S, DeVoe MC, Eales-Reynolds LJ. Reactive oxygen species are involved in smoking-induced dysfunction of nitric oxide biosynthesis and upregulation of endothelial nitric oxide synthase: an in vitro demonstration in human coronary artery endothelial cells. Circulation.2003;107:2342–2347

[25] Heiss C, Amabile N, Lee AC, Real WM, Schick SF, Lao D, Wong ML, Jahn S, Angeli FS, Minasi P, Springer ML, Hammond SK, Glantz SA, Grossman W, Balmes JR, Yeghiazarians Y. Brief secondhand smoke exposure depresses endothelial progenitor cells activity and endothelial function: sustained vascular injury and blunted nitric oxide production. J Am Coll Cardiol. 2008; 51:1760–1771.

[26] Korshunov, V. A.; Schwartz, S. M.; Berk, B. C. (2007): Vascular Remodeling: Hemodynamic and Biochemical Mechanisms Underlying Glagov's Phenomenon. In: Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 27 (8), S. 1722–1728.

[27] Schoenhagen, Paul; Ziada, Khaled M.; Vince, D. Geoffrey; Nissen, Steven E.; Tuzcu, E. Murat (2001): Arterial remodeling and coronary artery disease: the concept of “dilated” versus “obstructive” coronary atherosclerosis. In: Journal of the American College of Cardiology 38 (2), S. 297–306.

[28] Schoenhagen, Paul; Nissen, Steven E.; Tuzcu, E. Murat (2003): Coronary arterial remodeling: From bench to bedside. In: Curr Atheroscler Rep 5 (2), S. 150–154.

[29] Bult, Hidde (2000): Restenosis: a challenge for pharmacology. In: Trends in Pharmacological Sciences 21 (7), S. 274–279.

[30] Weissman, Neil J. (2003): Vascular remodeling. In: Journal of the American College of Cardiology 42 (5), S. 811–813.

[31] Glagov, Seymour; Weisenberg, Elliot; Zarins, Christopher K.; Stankunavicius, Regina; Kolettis, George J. (1987): Compensatory

Enlargement of Human Atherosclerotic Coronary Arteries. In: N Engl J Med 316 (22), S. 1371–1375.

[32] Ross, R.; Glomset, J.; Harker, L. (1977): Response to injury and atherogenesis. In: *The American Journal of Pathology* 86 (3), S. 675–684.

[33] Heckenkamp, J.; Lamuraglia, G. M. (1999): Intimal Hyperplasia, Arterial Remodeling, and Restenosis: An Overview. In: Perspectives in Vascular Surgery and Endovascular Therapy 11 (2), S. 71–94.

[34] Larena-Avellaneda, A.; Franke, S. (2004): Die Intimahyperplasie-Bedeutung für den Gefäßchirurgen und therapeutische Möglichkeiten. In: Gefäßsschirurgie 9 (2), S. 89–95.

[35] Newby AC, Zaltsman AB (2000) Molecular mechanisms in intimal hyperplasia. J Pathol 190:300–309.

[36] Sakakura, Kenichi; Nakano, Masataka; Otsuka, Fumiyuki; Ladich, Elena; Kolodgie, Frank D.; Virmani, Renu (2013): Pathophysiology of Atherosclerosis Plaque Progression. In: Heart, Lung and Circulation 22 (6), S. 399–411.

[37] Subbotin, Vladimir M. (2007): Analysis of arterial intimal hyperplasia: review and hypothesis. In: Theor Biol Med Model 4 (1), S. 41.

[38] Bauters, C.; Meurice, T.; Hamon, M.; McFadden, E.; Lablanche, J.-M.; Bertrand, M. E. (1996): Mechanisms and prevention of restenosis: from experimental models to clinical practice. In: Cardiovascular Research 31 (6), S. 835–846.

[39] Frick M, Neunteufl T, Schwarzacher SP, Wascher TC, Weidinger F (2002) Flußvermittelte Vasodilatation (FMD) der Arteria brachialis: Methodik und klinischer Stellenwert. Journal für Kardiologie - Austrian Journal of Cardiology 9(10), 439-444

[40] Celermajer, D. S.; Sorensen, K. E.; Gooch, V. M.; Spiegelhalter, D. J.; Miller, O. I.; Sullivan, I. D. et al. (1992): Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. In: Lancet 340 (8828), S. 1111–1115.

[41] Hiltawsky, K. M.; Wiegrate, A.; Enderle, M.; Ermert, H. (2002): Measurement of flow mediated vasodilation (FMD) using Kalman-Filtering In Biomedizinische Technik/ Biomedical Engineering 47 (s1b), S. 557–558. DOI: 10.1515/bmte.2002.47.s1b.557.

[42] Stegemann E, Sansone R, Stegemann B, Kelm M, Heiss C. Validation of high-resolution ultrasound measurements of intima-media thickness of the radial artery for the assessment of structural remodeling. Angiology. 2015;66(6):574-577.

[43] Touboul, P-J; Hennerici, M. G.; Meairs, S.; Adams, H.; Amarenco, P.; Bornstein, N. et al. (2007): Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. In: Cerebrovascular diseases (Basel, Switzerland) 23 (1), S. 75–80.

[44] Schmidt, Robert F.; Lang, Florian (2007): Physiologie des Menschen. Mit Pathophysiologie. 30., neu bearbeitete und aktualisierte Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg (Springer-Lehrbuch). S.624

[45] Johnson HM, Gossett LK, Piper ME, Aeschlimann SE, Korcarz CE, Baker TB, Fiore MC, Stein JH. Effects of smoking and smoking cessation on endothelial function: 1-year outcomes from a randomized clinical trial. J Am Coll Cardiol. 2010; 55:1988–95.

[46] Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P, Robinson J, McCredie R, Donald A, Deanfield JE. Passive smoking and impaired endothelium-

dependent arterial dilatation in healthy young adults. N Engl J Med.1996; 334:150–4.

[47] Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. J Am Coll Cardiol. 2004; 43:1731–1737.

[48] Shimokawa, H. (1999): Primary endothelial dysfunction: atherosclerosis. In: Journal of molecular and cellular cardiology 31 (1), S. 23–37.

[49] Tasaki T, Yamada S, Guo X, Tanimoto A, Wang KY, Nabeshima A, Kitada S, Noguchi H, Kimura S, Shimajiri S, Kohno K, Ichijo H, Sasaguri Y. Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1 Deficiency Attenuates Vascular Injury-Induced Neointimal Hyperplasia by Suppressing Apoptosis in Smooth Muscle Cells. Am J Pathol. 2013; 182:597–609

[50] Taddei S, Virdis A, Mattei P, Ghiadoni L, Fasolo CB, Sudano I, Salvetti A. Hypertension causes premature aging of endothelial function in humans. Hypertension. 1997; 29:736–43.

[51] Tyldum GA, Schjerve IE, Tjønna AE, Kirkeby-Garstad I, Stølen TO, Richardson RS, Wisløff U. Endothelial dysfunction induced by post-prandial lipemia: complete protection afforded by highintensity aerobic interval exercise. J Am Coll Cardiol. 2009; 53:200–6.

[52] Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. JAMA. 2002; 287:2570–81.

[53] Polak JF, Pencina MJ, Meisner A, Pencina KM, Brown LS, Wolf PA, D'Agostino RB Sr. Associations of carotid artery intima-media thickness (IMT) with risk factors and prevalent cardiovascular disease: comparison of mean common carotid artery IMT with maximum internal carotid artery IMT. J Ultrasound Med. 2010; 29:1759–1768.

[54] Lorenz MW, Bickel H, Bots ML, Breteler MM, Catapano AL, Desvarieux M, Hedblad B, Iglseder B, Johnsen SH, Juraska M, Kiechl S, Mathiesen

EB, Norata GD, Grigore L, Polak J, Poppert H, Rosvall M, Rundek T, Sacco RL, Sander D, Sitzer M, Steinmetz H, Stensland E, Willeit J, Witteman J, Yanez D, Thompson SG. PROG-IMT Study Group. Individual progression of carotid intima media thickness as a surrogate for vascular risk (PROG-IMT): Rationale and design of a meta-analysis project. Am Heart J. 2010; 159:730–736.

[55] Juonala M, Viikari JS, Laitinen T, Marniemi J, Helenius H, Rönnemaa T, Raitakari OT. Interrelations between brachial endothelial function and carotid intima-media thickness in young adults: the cardiovascular risk in young Finns study. Circulation. 2004; 110:2918–23.

[56] Plichart M., Celermajer D. S., Zureik M., Helmer C., Jouven X., Ritchie K., et al. (2011). Carotid intima-media thickness in plaque-free site, carotid plaques and coronary heart disease risk prediction in older adults. The Three-City Study. Atherosclerosis 219 917–924. 10.1016/j.atherosclerosis.2011.09.024

[57] Münzel, Thomas; Gori, Tommaso (2009): Endotheliale Dysfunktion: Ursachen und prognostische Bedeutung. In: Kardio up 5 (04), S. 361–372.

[58] Morishita T[1], Tsutsui M, Shimokawa H, Horiuchi M, Tanimoto A, Suda O, Tasaki H, Huang PL, Sasaguri Y, Yanagihara N, Nakashima Y. Vasculoprotective roles of neuronal nitric oxide synthase. FASEB J. 2002 Dec;16(14):1994-6. Epub 2002 Oct 18.

[59] Cucina A, Sapienza P, Corvino V, Borrelli V, Mariani V, Randone B, Santoro D'Angelo L, Cavallaro A. Nicotine-induced smooth muscle cell proliferation is mediated through bFGF and TGF-beta 1. Surgery. 2000; 127:316–22.

[60] Heeschen C, Jang JJ, Weis M, Pathak A, Kaji S, Hu RS, Tsao PS, Johnson FL, Cooke JP. Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis. Nat Med. 2001; 7:833–9.

[61] Ruixing Y, Qi B, Tangwei L, Jiaquan L. Effects of nicotine on angiogenesis and restenosis in a rabbit model. Cardiology. 2007; 107:122–31.

[62] Wakeyama T, Ogawa H, Iida H, Takaki A, Iwami T, Mochizuki M, Tanaka T. Intima-media thickening of the radial artery after transradial intervention. An intravascular ultrasound study. J Am Coll Cardiol. 2003; 41:1109–14.

[63] Abe S, Meguro T, Naganuma T, Kikuchi Y. Change in the diameter of the radial artery transradial intervention using a 6 French system in Japanese patients. J Invasive Cardiol. 2001; 13:573–5.

[64] Kala P, Kanovsky J, Novakova T, Miklik R, Bocek O, Poloczek M, et al. (2017) Radial artery neointimal hyperplasia after transradial PCI—Serial optical coherence tomography volumetric study. PLoS ONE 12(10): e0185404.

[65] Fujimoto JG, Pitris C, Boppart SA, Brezinski ME. Optical Coherence Tomography: An Emerging Technology for Biomedical Imaging and Optical Biopsy. Neoplasia (New York, NY). 2000;2(1-2):9-25.

[66] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature. 1993; 362:801–809.

[67] Heitzer T, Brockhoff C, Mayer B, Warnholtz A, Mollnau H, Henne S, Meinertz T, Münzel T. Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation in chronic smokers: evidence for a dysfunctional nitric oxide synthase. Circ Res. 2000;86: E36–E41.

[68] Le, VuQuynhAnh; Kim, Yang-Hoon; Min, Jiho (2014): The dependence of nitric oxide synthase inhibition caused by cigarette smoking extract on the cellular aging of bovine aortic endothelial cells. In: Environmental health and toxicology 29, S. e2014010.

[69] Heiss, Christian; Rodriguez-Mateos, Ana; Kelm, Malte (2014): Central Role of eNOS in the Maintenance of Endothelial Homeostasis. In: Antioxidants & redox signaling.

[70] Heiss C, Schanz A, Amabile N, Jahn S, Chen Q, Wong ML, Rassaf T, Heinen Y, Cortese-Krott M, Grossman W, Yeghiazarians Y, Springer ML. Nitric oxide synthase expression and functional response to nitric oxide are both important modulators of circulating angiogenic cell response to angiogenic stimuli. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2010; 30:2212–2218.

[71] Yogo K, Shimokawa H, Funakoshi H, Kandabashi T, Miyata K, Okamoto S, Egashira K, Huang P, Akaike T, Takeshita A. Different vasculoprotective roles of NO synthase isoforms in vascular lesion formation in mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2000;20: E96–E100.

[72] Sata M, Maejima Y, Adachi F, Fukino K, Saiura A, Sugiura S, Aoyagi T, Imai Y, Kurihara H, Kimura K, Omata M, Makuuchi M, Hirata Y, Nagai R. A mouse model of vascular injury that induces rapid onset of medial cell apoptosis followed by reproducible neointimal hyperplasia. J Mol Cell Cardiol. 2000; 32:2097–104.

[73] Varnava AM, Mills PG, Davies MJ. Relationship between coronary artery remodeling and plaque vulnerability. Circulation. 2002; 105:939–43.

[74] Tauth J, Pinnow E, Sullebarger JT, Basta L, Gursoy S, Lindsay J Jr, Matar F. Predictors of coronary arterial remodeling patterns in patients with myocardial ischemia. Am J Cardiol. 1997; 80:1352–5.

[75] Heiss C, Lauer T, Dejam A, Kleinbongard P, Hamada S, Rassaf T, Matern S, Feelisch M, Kelm M. Plasma nitroso compounds are decreased in patients with endothelial dysfunction. J Am Coll Cardiol. 2006; 47:573–579.

[76] Morbidelli L, Donnini S, Ziche M. Role of nitric oxide in the modulation of angiogenesis. Curr Pharm Des. 2003; 9:521–530.

[77] Kroll, J.; Waltenberger, J. (1998): VEGF-A induces expression of eNOS and iNOS in endothelial cells via VEGF receptor-2 (KDR). In: Biochemical and biophysical research communications 252 (3), S. 743–746.

[78] Balligand, J.-L.; Feron, O.; Dessy, C. (2009): eNOS Activation by Physical Forces: From Short-Term Regulation of Contraction to Chronic Remodeling of Cardiovascular Tissues. In: Physiological Reviews 89 (2), S. 481–534.

[79] Sorensen LT. Wound healing and infection in surgery: the pathophysiological impact of smoking, smoking cessation, and nicotine replacement therapy: a systematic review. Ann Surg. 2012; 255:1069–79.

[80] Chugh SK, Chugh Y, Chugh S. How to tackle complications in radial procedures: Tip and tricks. Indian Heart Journal. 2015;67(3):275-281. doi: 10.1016/j.ihj. 2015.05.016.

[81] Varenne, O., Jégou, A., Cohen, R., Empana, J. P., Salengro, E., Ohanessian, A., Gaultier, C., Allouch, P., Walspurger, S., Margot, O., El Hallack, A., Jouven, X., Weber, S. and Spaulding, C. (2006), Prevention of arterial spasm during percutaneous coronary interventions through radial artery: The SPASM study. Cathet. Cardiovasc. Intervent., 68: 231-235.

[82] Goldstein LJ, Gupta S. Use of the Radial Artery for Hemodialysis Access. Arch Surg. 2003;138(10):1130–1134. doi:10.1001/archsurg.138.10.1130

[83] Gaudino M, Tondi P, Serricchio M. et al. Atherosclerotic involvement of the radial artery in patients with coronary artery disease and its relation with midterm radial artery graft patency and endothelial function. J Thorac Cardiovasc Surg. 2003; 126:1968–1971. doi: 10.1016/S0022-5223(03)01226-1.

[84] Fang Q-G, Li Z-N, Zhang X, Liu F-Y, Xu Z-F, Sun C-F. Clinical reliability of radial forearm free flap in repair of buccal defects. World Journal of Surgical Oncology. 2013; 11:26. doi:10.1186/1477-7819-11-26.

[85] Bergersen TK1, Hoffmann-Vold AM, Midtvedt Ø, Gran JT, Mørk C, Toska K, Elstad M. Dysfunctional arteriovenous anastomoses in hands of systemic sclerosis patients with digital ulcers. Clin Exp Rheumatol. 2014 Nov-Dec;32 (6 Suppl 86): S-53-9. Epub 2014 May 21.

[86] Michael J. Greenwood, Anthony J. Della-Siega, Eric B. Fretz, David Kinloch, Peter Klinke, Richard Mildenberger, Malcolm B. Williams, David Hilton Vascular Communications of the Hand in Patients Being Considered for Transradial Coronary Angiography Journal of the American College of Cardiology Dec 2005, 46 (11) 2013-2017; DOI: 10.1016/j.jacc.2005.07.05

Danksagung

Mein besonderer Dank geht an meinen Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Christian Heiss, der mir diese Arbeit anvertraut hat. Seine Begeisterung für die Wissenschaft hat mein Interesse und meinen Ehrgeiz im positiven Sinne stark beeinflusst.

Auch geht mein Dank an Dr. med. Roberto Sansone, der mich von Beginn an intensiv betreut hat und jederzeit stets zur Hilfe beistand. Er unterstützte mich immer mit seinem Wissen und seiner Erfahrung und opferte viele Stunden seiner privaten Zeit.

Besonders möchte ich mich bei Frau PD Dr. med. Emilia Stegemann bedanken, die mir jederzeit Unterstützung bat und mir sehr viel Wissen und praktische angiologische Fähigkeiten beibrachte.

Ich bedanke mich bei jedem einzelnen der AG-Gruppe von Herrn Professor Dr. med. Heiss, die mit konstruktiver Kritik und Vorschlägen meiner Arbeit spezielle Form und Gestalt gegeben haben.

Auch möchte ich mich beim gesamten Institut für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie unter der Leitung von Herrn Professor Dr. med. Kelm für die für mich zur Verfügung gestellten Ressourcen und Möglichkeiten vielmals bedanken.

Der letzte, aber für mich wertvollste Dank, geht an meine Familie. Meine Geschwister und ganz besonders meine Eltern haben mich stets über die Jahre unterstützt und mich immer wieder motiviert.