

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

**Einfluss einer diätetischen Flavanoleinnahe auf die
altersbedingten Veränderungen des arteriellen Gefäßsystems und
das damit einhergehende kardiovaskuläre Risiko**

-

**Eine placebokontrollierte, randomisierte und doppelt
verblindete diätetische Interventionsstudie**

Dissertation

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

vorgelegt von
Moritz Krabbe
(2020)

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. Christian Heiss

Zweitgutachterin: Prof. Dr. Judith Haendeler

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Heiss, C., Sansone, R., Karimi, H. et al.; *AGE* (2015); Impact of cocoa flavanol intake on age-dependent vascular stiffness in healthy men: a randomized, controlled, double-masked trial; 37: 56. <https://doi.org/10.1007/s11357-015-9794-9>

Zusammenfassung

Alterungsprozesse des arteriellen Gefäßsystems sind mit einer abnehmenden endothelialen Funktion und einer zunehmenden Gefäßsteifigkeit verbunden, was konsekutiv zu erhöhten systolischen Blutdruckwerten führt. Studien konnten belegen, dass die diätetische Einnahme von Flavanolen diese altersbedingten Veränderungen positiv beeinflussen kann.

Das Ziel dieser Studie war es, die Effekte einer diätetischen Flavanoleinnahme auf die altersbedingt eingeschränkte endotheliale Funktion, die gesteigerte Gefäßsteifigkeit und den erhöhten systolischen Blutdruck bei gesunden älteren Probanden im Vergleich zu gesunden jungen Probanden und den damit verbundenen Einfluss auf die kardiovaskuläre Gesundheit zu untersuchen.

In dieser randomisierten, placebokontrollierten, doppelt verblindeten diätetischen Interventionsstudie wurden 22 junge (18-30 Jahre) und 20 ältere (50-80 Jahre) gesunde, männliche, nicht rauchende Probanden rekrutiert, die keine Vorgeschichte, Anzeichen oder Symptome einer kardiovaskulären Erkrankung aufwiesen. Die Probanden beider Gruppen wurden randomisiert der Interventionsgruppe mit einem flavanolhaltigen Testgetränk (900 mg/Tag) oder der Placebogruppe mit einem flavanolfreien Testgetränk, welches bezüglich der Mikro- und Makronährstoffe adaptiert worden war, zugeordnet. Das Testgetränk wurde über 14 Tage morgens und abends eingenommen. Die Messungen wurden jeweils vor bzw. eine Stunde nach Einnahme des Testgetränkes an Tag 1 und an Tag 14 durchgeführt. Zu den Untersuchungen zählten die Messung der endothelialen Funktion (FMD), der Pulswellengeschwindigkeit (PWV), des Augmentationsindex (AIx), die Bestimmung des Blutdruckes mittels Einzel-, 24h-Langzeit- Messungen und kontinuierlicher Messung an der Fingerspitze sowie weitere Untersuchungen der Hämodynamik.

Die 14-tägige Flavanoleinnahme bewirkte sowohl in der ALT- als auch in der JUNG-Gruppe eine verbesserte endotheliale Funktion, was über eine gesteigerte FMD gemessen werden konnte (ALT: +1,4% und JUNG: +1,7%; jeweils $p < 0,05$). Als Maß für eine verminderte arterielle Gefäßsteifigkeit konnte die PWV in beiden Altersgruppen (ALT: -0,8 m/s und JUNG: -0,4 m/s; jeweils $p < 0,05$) und der AIx in der ALT-Gruppe (ALT: -9%; $p < 0,05$) gesenkt werden. Bedingt durch die reduzierte Gefäßsteifigkeit und die gesenkte Augmentation konnte in der ALT-Gruppe ein signifikant gesenkter systolischer Blutdruck gemessen werden (ALT: -7 mmHg; $p < 0,05$).

Zusammenfassend kann eine diätetische Flavanoleinnahme die altersbedingten Veränderungen des Gefäßsystems teilweise rückgängig machen und auf diese Weise die kardiovaskuläre Gesundheit verbessern, beziehungsweise prophylaktisch länger erhalten.

Abstract

Aging processes of the arterial vascular system are associated with a decreasing endothelial function and an increasing vascular stiffness which consecutively leads to higher blood pressure values. Studies have proved that a dietetic intake of flavanols can positively influence these age dependent transformations.

The goal of this study was to investigate the effects of a dietetic flavanol intake on the age dependent restricted endothelial function, the increased vascular stiffness and the increased systolic blood pressure in healthy elderly participants in comparison to healthy younger participants and the thereby linked influence on the cardiovascular health.

In this randomized, placebo controlled, double masked dietary intervention trial 22 young (18-30 years) and 20 elderly (50-80 years) healthy, male, non-smoking participants were recruited, who had no history, signs or symptoms of a cardiovascular disease. The participants of both groups were randomly assigned to the intervention group with a flavanol containing drink (900 mg/day) or the placebo group with a flavanol free drink which was matched related to the micro- and macronutrients. The drink was taken over 14 days in the morning and evening. The measurements were realized on day 1 and on day 14 one hour before respectively one hour after the intake of the drink. Included measurements were the determination of the flow mediated dilation (FMD), the pulswavevelocity (PWV), the augmentationindex (AIx), the determination of the blood pressure by single-, 24h-longtermmeasurements and continuous measurement at the fingertip as well as other hemodynamic analyses.

The 14 day long flavanol intake caused both in the OLD- and in the YOUNG-group an improved endothelial function which could be measured by an increased FMD (OLD: +1,4% and YOUNG: +1,7%; each $p < 0,05$). As measure for a reduced arterial vascular stiffness the PWV decreased in both age groups (OLD: -0,8 m/s and YOUNG: -0,4 m/s; each $p < 0,05$) and the AIx decreased in the OLD group (OLD: -9%; $p < 0,05$). Due to the reduced vascular stiffness and the reduced augmentation there could be measured a significantly reduced systolic blood pressure in the OLD group (OLD: -7 mmHg; $p < 0,05$).

In summary a dietetic flavanol intake can partially reverse the age dependent transformations in the vascular system and can thus improve respectively preserve the cardiovascular health in a prophylactic way.

Abkürzungsverzeichnis

ACC	Arteria carotis communis	mm	Millimeter
ACE	<i>Angiotensin converting enzyme</i>	mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
AFC	Arteria femoralis communis	n	Probandenanzahl
AIx	Augmentationsindex	ND	Nicht detektierbar
BMI	Bodymaßindex	NMD	Nitroglyzerin vermittelte Vasodilatation
CRP	C-reaktives Protein	NO	Stickstoffmonoxid
DBP	Diastolischer Blutdruck	NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
dl	Deziliter	n.s.	Nicht signifikant
ESC	<i>European society of cardiology</i>	NYHA	<i>New York Heart Association</i>
ESH	<i>European society of hypertension</i>	Ohm	Elektrischer Widerstand
FMD	Flussvermittelte Vasodilatation	p	Signifikanzniveau
g	Gramm	PORH	Postokklusive reaktive Hyperämie
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	PP	Pulsdruck
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase	PW-Doppler:	Pulswellen Doppler
h	Stunde	PWV	Pulswellengeschwindigkeit
H	Körpergröße	r	Korrelationsindex
HbA_{1c}	Glykolisiertes Hämoglobin	RR	Blutdruck
HDL	Lipoprotein hoher Dichte	RRI	RR-Intervall
HFQ	Herzfrequenz	s	Sekunde
HZV	Herzzeitvolumen	SBP	Systolischer Blutdruck
HZVI	Herzzeitvolumenindex	SD	Standardabweichung
IKG	Impedanzkardiographie	SI	Schlagindex
Kg	Kilogramm	SV	Schlagvolumen
kH	Kilohertz	tgl.	täglich
L	Liter	TSH	Thyreoidea stimulierendes Hormon
LDL	Lipoprotein niedriger Dichte	Vth	Thoraxvolumen
LED	Licht emittierende Diode	WHO	<i>World Health Organization</i>
LVET	Links ventrikuläre Ejektionszeit	ZO	Basis-Impedanz
MBP	Mittlerer Blutdruck	μA	Mikroampere
m²	Quadratmeter	μg	Mikrogramm
min	Minute	μl	Mikroliter
mg	Milligramm	%	Prozent
ml	Milliliter		

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Bedeutung der Herz-Kreislaferkrankungen und deren Anstieg im Alter.....	1
1.2	Altersbedingte Veränderungen des arteriellen Gefäßsystems und deren Einfluss auf die Hämodynamik.....	2
1.3	Diätetische Ansätze für eine Beeinflussung der altersbedingten Veränderungen des arteriellen Gefäßsystems.....	5
1.4	Flavanole und deren Effekte auf die altersbedingten Veränderungen des Gefäßsystems.....	6
1.5	Fragestellung und Ziele dieser Arbeit.....	10
2	Material und Methoden.....	11
2.1	Eigenanteil.....	11
2.2	Studiendesign.....	11
2.3	Studienkollektiv.....	12
2.4	Zusammensetzung der Testgetränke.....	14
2.5	Studienprotokoll.....	15
2.6	Messung der flussvermittelten Vasodilatation der Arteria Brachialis.....	17
2.6.1	<i>Messung der endothelunabhängigen Nitroglyzerin-vermittelten Vasodilatation der Arteria Brachialis.....</i>	20
2.7	Messung der zentralen Pulswellengeschwindigkeit.....	20
2.8	Errechnung der aortalen Druckpulskurve.....	21
2.8.1	<i>Messung des aortalen Augmentationsdruckes und des aortalen Augmentationsindexes.....</i>	23
2.8.2	<i>Messung des zentralen aortalen Blutdruckes.....</i>	24
2.9	Messungen mit dem <i>Task-Force®</i>-Monitor.....	25
2.9.1	<i>Oszillometrische Blutdruckmessung am Oberarm.....</i>	26
2.9.2	<i>Kontinuierliche Blutdruckmessung an der Fingerspitze.....</i>	26
2.9.3	<i>Elektrokardiographie.....</i>	28
2.9.4	<i>Impedanzkardiographie.....</i>	28
2.10	Angewandte Verfahren der Blutdruckmessung.....	29
2.11	Statistische Analysen.....	30
3	Ergebnisse.....	31
3.1	Allgemeine Charakteristika der Studienpopulation.....	31
3.1.1	<i>Hämodynamische Charakteristika der Studienpopulation.....</i>	33

3.2	Flavanole steigern die endotheliale Funktion.....	35
3.3	Flavanole senken die zentrale Pulswellengeschwindigkeit	38
3.4	Flavanole senken den Augmentationsindex der ALT-Gruppe	39
3.5	Einfluss der Flavanole auf den peripheren und auf den zentralen systolischen Blutdruck.....	40
3.5.1	<i>Flavanole senken den peripheren systolischen Blutdruck der ALT-Gruppe</i>	<i>40</i>
3.5.2	<i>Flavanole senken den zentralen systolischen Blutdruck der ALT-Gruppe</i>	<i>43</i>
3.6	Flavanole beeinflussen nicht die kardiale Ruhefunktion.....	45
4	Diskussion.....	47
4.1	Flavanole steigern die endotheliale Funktion in der ALT- und JUNG- Gruppe	47
4.2	Die gesteigerte endotheliale Funktion senkt die Pulswellengeschwindigkeit in der ALT- und JUNG- Gruppe	49
4.3	Die verlangsamte Pulswellengeschwindigkeit führt zu einem verminderten Augmentationsindex in der ALT-Gruppe	51
4.4	Der verminderte Augmentationsindex geht mit einem gesunkenen systolischen Blutdruck in der ALT-Gruppe einher	53
4.5	Die Veränderungen im Bereich der Hämodynamik sind nicht durch Veränderungen der kardialen Ruhefunktion bedingt.....	55
4.6	Klinische Bedeutung	56
4.7	Schlussfolgerung.....	57
5	Kritik und Limitierung.....	59
5.1	Studienkollektiv.....	59
5.2	Methodenkritische Aspekte der FMD-Messung.....	60
5.3	Methodenkritische Aspekte der PWV-Messung.....	62
5.4	Methodenkritische Aspekte der Berechnung der aortalen Druckpulskurve	63
5.5	Methodenkritische Aspekte der Blutdruck-Messung.....	63
5.6	Methodenkritische Aspekte der Impedanzkardiographie	64
6	Literaturverzeichnis	66

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung einer radialen und einer errechneten aortalen Druckkurve bei einem jungen (links) und bei einem älteren Probanden (rechts).....	3
Abb. 2: Chemische Grundstruktur der Flavonoide.....	7
Abb. 3: Übersicht der Subgruppen der Flavonoide und der Flavanole	7
Abb. 4: Studiendesign.....	12
Abb. 5: Zeitverlauf	17
Abb. 6: Schematische Darstellung der FMD	19
Abb. 7: Schematische Darstellung des aortalen Augmentationsdruckes und Augmentationsindexes	24
Abb. 8: Flavanolabhängig gesteigerte Endothelfunktion.....	35
Abb. 9: Ruhediameter der Arteria brachialis	37
Abb. 10: Nitroglyzerin vermittelte Vasodilatation	37
Abb. 11: Flavanolabhängig gesenkte PWV	38
Abb. 12: Augmentationsindex im Zeitverlauf.....	39
Abb. 13: Flavanolabhängig gesenkter peripherer systolischer Blutdruck (Einzelmessung)	41
Abb. 14: Peripherer systolischer Blutdruck (Fingerspitzen und 24-Stunden-Langzeit-Messung) im Zeitverlauf.....	43
Abb. 15: Zentraler systolischer Blutdruck im Zeitverlauf	44
Abb. 16: Herzfrequenz im Zeitverlauf	45
Abb. 17: Herzschlagvolumen und Herzzeitvolumen	46
Abb. 18: Korrelation zwischen der FMD und der PWV (Tag 1 basal vs. Tag 14 prä)	50
Abb. 19: Korrelation zwischen dem Alx und dem SBP (Tag 1 basal vs. Tag 14 prä)	54

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gesamtflavanolgehalt handelsüblicher Lebensmittel	8
Tabelle 2: Ein- und Ausschlusskriterien der Probanden	13
Tabelle 3: Mikro- und Makronährstoffkomposition der Testgetränke	15
Tabelle 4: Parameter des <i>Task-Force</i>®-Monitors.....	26
Tabelle 5: Charakteristika der Studienpopulation	32
Tabelle 6: Hämodynamische Charakteristika der Studienpopulation.....	34

1 Einleitung

1.1 Bedeutung der Herz-Kreislaufkrankungen und deren Anstieg im Alter

Herz-Kreislaufkrankungen stellen nach wie vor die häufigste Todesursache in Deutschland dar. Im Jahre 2008 starben insgesamt 356.729 Menschen an Herz-Kreislaufkrankungen, was 42% der gesamten Todesfälle ausmachte (1). Auch bei den Gesundheitskosten nimmt dieser Komplex die Spitzenposition ein: Im Jahre 2006 entstanden der deutschen Volkswirtschaft durch Herz-Kreislaufkrankungen direkte Kosten für stationäre und ambulante Behandlungen in Höhe von ca. 35 Milliarden Euro, was ca. 15% der gesamten Gesundheitskosten ausmacht. Zu diesen direkten Kosten sind noch die sogenannten indirekten Kosten zu addieren, welche durch Arbeitslosengeld, Invalidität und vorzeitigen Tod von Erwerbstätigen entstehen. Betrachtet man die entstandenen Kosten bezogen auf die einzelnen Altersgruppen wird deutlich, dass diese bei Herz-Kreislaufkrankungen im Alter zwischen 65 und 84 Jahren am höchsten ausfallen. Sie machten bei den 65-84-jährigen Frauen 20,6% und bei den 65-84-jährigen Männern sogar 25,6% der Gesamtkosten für Herz-Kreislaufkrankungen aus (2).

Diese Daten zeigen, welche große gesundheitliche und sozioökonomische Bedeutung der Behandlung und Prophylaxe von Herz-Kreislaufkrankungen zukommt, besonders vor dem Hintergrund des demographischen Wandels. Es stellt sich also die Frage, was ursächlich für die hohe Zahl der Herz-Kreislaufkrankungen und deren Anstieg im Alter ist.

Kardiovaskuläre Erkrankungen entstehen zum größten Teil auf dem Boden arteriosklerotisch veränderter Gefäße. Als klassische und anerkannte eigenständige Risikofaktoren für die Arteriosklerose sind Nikotinkonsum, Diabetes Mellitus, Arterielle Hypertonie und Dyslipidämie bekannt. Daneben sind weitere Risikofaktoren wie Adipositas, Hyperhomocysteinämie und Passivrauchen zu nennen. Ein weiterer wichtiger Grund, der zu einem Anstieg der kardiovaskulären Erkrankungen mit zunehmendem Alter führt, sind altersbedingte Veränderungen der Gefäße, welche im folgenden Abschnitt genauer betrachtet werden.

1.2 Altersbedingte Veränderungen des arteriellen Gefäßsystems und deren Einfluss auf die Hämodynamik

Welche Mechanismen genau dem Altern der Gefäße zugrundeliegen ist bislang nicht hinreichend geklärt. Es ist allerdings bekannt, dass das chronische Vorhandensein von Risikofaktoren, wie zum Beispiel einer Hypertonie, arteriosklerotische und strukturelle Umbauprozesse der arteriellen Gefäßwände verursacht. Des Weiteren führen die durch die Herzaktion ausgelösten repetitiven Pulsationen (ca. 30 Millionen pro Jahr) mit zunehmendem Alter zu einer Ermüdung und zu Frakturen des Elastins der Gefäßwand, welches anschließend durch das kaum elastische Kollagen ersetzt wird (3). Kollagen ist ungefähr 500-mal weniger elastisch als Elastin und sein Vorkommen in der Gefäßwand verdoppelt sich im Zeitraum zwischen dem 20. und dem 70. Lebensjahr (4). Diese strukturellen Umbauprozesse, die sich vor allem in den großen elastischen Gefäßabschnitten wie der Aorta abspielen, bringen eine Abnahme der elastischen Funktion der Arterien mit sich und resultieren in einer erhöhten Steifigkeit des arteriellen Gefäßsystems (5-8). Um zu verstehen, welche Bedeutung diese strukturellen Veränderungen für die kardiovaskuläre Gesundheit haben, muss man ihre Folgen auf die Hämodynamik genauer betrachten.

Die im Alter zunehmende Gefäßsteifigkeit des arteriellen Systems beeinflusst unter anderem die arterielle Pulswellengeschwindigkeit und die Reflektion der Pulswelle in der Peripherie. Bei jedem Herzschlag entsteht eine Pulswelle, die sich von der zentralen Aorta her in die Peripherie ausbreitet, dort reflektiert wird und schließlich erneut die zentrale Aorta erreicht. Bei einem jungen, gesunden Gefäßsystem breitet sich diese Pulswelle mit einer geringen Geschwindigkeit aus, sodass die reflektierte Pulswelle erst zum Zeitpunkt der Diastole erneut die zentrale Aorta erreicht. Dadurch steigert die reflektierte Pulswelle den diastolischen Blutdruck und steuert so einen Beitrag zum „Windkessel-Effekt“ der Aorta bei. Bei einem gealterten, steiferen Gefäßsystem jedoch breitet sich die Pulswelle mit einer höheren Geschwindigkeit aus und erreicht die zentrale Aorta noch während der Phase der Systole. Dadurch augmentiert (lat. Augmentum: „Das Vergrößerte“) die Pulswelle nicht den diastolischen, sondern den systolischen Blutdruck (s. Abb. 1). So kann bei älteren Patienten oft ein isolierter systolischer Bluthochdruck und ein damit einhergehender erhöhter arterieller Pulsdruck diagnostiziert werden (5-6, 9).

Gleichzeitig bewirken der erhöhte systolische Blutdruck sowie der erhöhte Pulsdruck eine gesteigerte mechanische Belastung der Gefäßwand, was zu einem weiteren Anstieg der Gefäßsteifigkeit führt. Es entsteht ein sogenannter „Circulus vitiosus“.

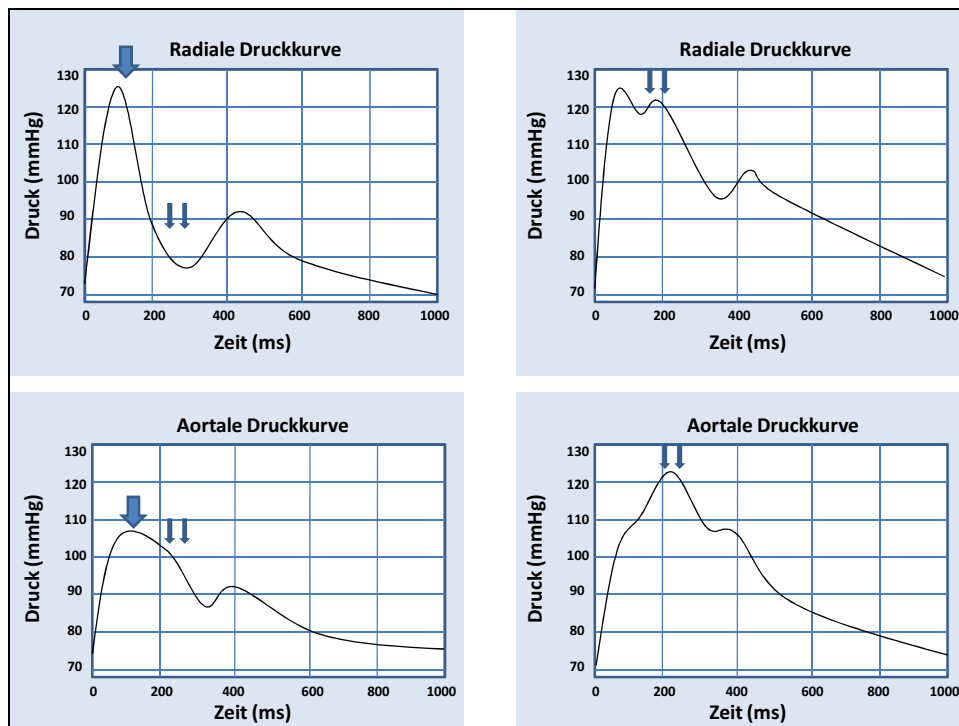


Abb. 1: Schematische Darstellung einer radialen und einer errechneten aortalen Druckkurve bei einem jungen (links) und bei einem älteren Probanden (rechts)

Beim jungen Probanden (links) treffen die schwach ausgeprägten Pulswellenreflexionen (dünne Pfeile) in der späten Systole ein und führen zu keiner Augmentation des systolischen Blutdruckes (dicker Pfeil). Beim älteren Probanden (rechts) treffen die Pulswellenreflexionen (dünne Pfeile) bereits in der frühen bis mittleren Phase der Systole ein und führen so zu einer Augmentation des systolischen Blutdruckes. (ms = Millisekunde, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule)

Dieser Pathomechanismus ist einer der Ursachen für eine isolierte systolische Hypertonie, welche mit über 90-prozentiger Häufigkeit die vorherrschende arterielle Hypertonieform des Alters darstellt (10). Diese Form des Bluthochdruckes hat weitreichende Folgen für das kardiovaskuläre System und damit für die kardiovaskuläre Gesundheit. So erhöht der gesteigerte systolische Blutdruck die Nachlast für das Herz, was konsekutiv zu einer Linksherzhypertrophie führen kann und, in Verbindung mit der erhöhten Nachlast, in einem gesteigerten myokardialen Sauerstoffverbrauch mündet (3). Zusätzlich wird die myokardiale Durchblutung durch einen normalen oder sogar erniedrigten diastolischen Blutdruck limitiert, was die Sauerstoffversorgung des Myokards weiter verschlechtert und eine Linksherzinsuffizienz verursachen kann (11). Diese Zusammenhänge erklären die Assoziation einer erhöhten arteriellen Gefäßsteifigkeit mit einer verschlechterten kardiovaskulären Prognose.

Die vorangehenden Überlegungen bestätigend wurde in einer großen Metaanalyse von 17 Studien belegt, dass eine erhöhte arterielle Steifigkeit als starker Prädiktor für kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität angesehen werden kann (12). Als Folge einer erhöhten arteriellen

Steifigkeit sind kardiovaskuläre Komplikationen wie Myokardinfarkt, Apoplex, Linksherzversagen und arterielle Hypertonie zu nennen (10, 13).

Die arterielle Steifigkeit kann mit unterschiedlichen Methoden bestimmt werden (14-16). Ihre Erfassung über die Messung der arteriellen Pulswellenparameter, wie zentrale Pulswellengeschwindigkeit (PWV), zentraler Pulsdruck, Pulswellen-Augmentation und Augmentationsindex ist dabei am meisten anerkannt und im klinischen Alltag verbreitet (17). Der prädiktive Wert einer arteriellen Steifigkeit ist nach der „*Framingham-Heart-Study*“ (18) am größten bei der Messung der zentralen PWV, also erfasst zwischen der Arteria Carotis communis und der Arteria femoralis communis. Diese Methode ist demnach der Bestimmung von Augmentationsindex und zentralem Pulsdruck überlegen. Analoge Ergebnisse erbrachten Studien an Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz (19).

Begründet dadurch, dass die zentrale PWV direkt die Steifigkeit der arteriellen Gefäße widerspiegelt, den größten prädiktiven Wert für kardiovaskuläre Ereignisse besitzt und im klinischen Alltag einfach anwendbar ist, wird ihre Bestimmung als Goldstandard für die Bewertung der arteriellen Gefäßsteifigkeit angesehen (20). Mittlerweile wird die Messung der PWV auch von verschiedenen Fachgesellschaften (*ESH* und *ESC*) empfohlen. Außerdem wurde die Messung der PWV in die erste diagnostische Reihe einer kardiovaskulären Risikostratifizierung bei Patienten mit arterieller Hypertonie aufgenommen (21).

Zusätzlich zu den negativen Folgen auf den Blutdruck und dem erhöhten kardiovaskulären Risiko sind steifere Gefäße durch eine verminderte Absorption der Pulswelle charakterisiert, was eine größere mechanische Belastung der Arteriolen mit sich bringt. Es wird angenommen, dass dies langfristig zu einer Schädigung der Gefäße auf der Ebene der Mikrozirkulation führt. Konsekutiv kommt es zu einem strukturellen Umbau und zu einer Rarefizierung dieser Gefäße, was wiederum einen Endorganschaden zur Folge haben kann (22).

Abgesehen von den beschriebenen strukturellen Umbauprozessen, kommt es altersbedingt zusätzlich zu funktionellen Veränderungen des arteriellen Gefäßsystems. So kann mit zunehmendem Alter eine eingeschränkte Endothelfunktion beobachtet werden, die sowohl in den elastischen als auch in den muskulären Gefäßabschnitten auftritt (23-24). Methodisch kann die endotheliale Funktion über die Vasodilatationsantwort auf einen endothelspezifischen Stimulus erfasst werden. Einen solchen Stimulus stellt zum Beispiel ein gesteigerter Blutvolumenfluss dar. Diesen Mechanismus macht man sich bei der Methode der „Flussvermittelten Vasodilatation“ (FMD) zu Nutze, bei der sonographisch die Vasodilatation, hervorgerufen durch einen postokklusiv gesteigerten Blutvolumenfluss, gemessen wird.

Die altersbedingt eingeschränkte endotheliale Funktion oder auch endotheliale Dysfunktion,

denen in letzter Zeit gesteigerte Bedeutung und Interesse zukommen, nehmen eine zentrale Rolle in der Entstehung und im Fortschreiten einer Arteriosklerose ein. Dieser Mechanismus kann eine Zunahme der arteriellen Gefäßsteifigkeit bedingen und somit wiederum Einfluss auf die strukturellen Veränderungen im arteriellen Gefäßsystem nehmen.

Die genauen Mechanismen, die zu einer eingeschränkten endothelialen Funktion im Alter führen sind bislang nicht hinreichend geklärt. Allerdings könnten die folgenden, in Studien gemachten, Beobachtungen einen Erklärungsansatz für diesen Sachverhalt liefern. Im Alter kommt es zu einer eingeschränkten Bioaktivität von Stickstoffmonoxid (NO) (25-26) und zu einem gesteigerten oxidativen Stress (27). Da die FMD überwiegend durch die Aktivität der endothelialen NO-Synthase und damit durch die Bioverfügbarkeit des Stickstoffmonoxids bestimmt wird (28), könnte man auf diese Weise erklären, weshalb sich mit zunehmendem Alter eine Verschlechterung der endothelialen Funktion entwickelt.

Klinisch prospektive Studien haben ergeben, dass die endotheliale Dysfunktion ein Prädiktor für das Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen ist (29). Auf Grund dessen wird die endotheliale Dysfunktion als Surrogatparameter für eine negative kardiovaskuläre Prognose angesehen (30-31). Viele der therapeutischen Interventionen, die die kardiovaskuläre Prognose verbessern sollen, wirken gleichzeitig positiv auf die endotheliale Dysfunktion ein. Zu erwähnen sind in diesem Zusammenhang medikamentöse Therapien mit beispielsweise Statinen und ACE-Hemmern, allerdings auch Empfehlungen zur Veränderung der Lebensgewohnheiten verbunden mit einer Ernährungsumstellung, Nikotinabstinenz und regelmäßiger körperlicher Aktivität (32).

1.3 Diätetische Ansätze für eine Beeinflussung der altersbedingten Veränderungen des arteriellen Gefäßsystems

Betrachtet man die oben erwähnten strukturellen und funktionellen Veränderungen des arteriellen Gefäßsystems im Alter und deren Auswirkungen auf die kardiovaskuläre Prognose, so lautet die entscheidende Frage, wie man den altersassoziierten Anstieg des systolischen Blutdruckes, den Anstieg der arteriellen Gefäßsteifigkeit und die Abnahme der endothelialen Funktion reduzieren und - im besten Falle - deren Auftreten bei alternden Menschen prophylaktisch verhindern kann.

In der Vergangenheit wurde in mehreren Studien gezeigt, dass Ernährungsgewohnheiten eine wichtige Rolle für ein gesundes Altern spielen und bestimmte Pflanzeninhaltsstoffe ursächlich für eine Verlängerung der gesunden Lebenszeit sein können (33-35). In diesem Zusammenhang wird immer wieder die „Mediterrane Diät“ erwähnt. Diese Ernährungsform

zeichnet sich durch einen hohen Anteil an pflanzlichen Bestandteilen und an ungesättigten Fettsäuren aus. In einer prospektiven epidemiologischen Studie konnte der „Mediterranen Diät“ ein gewisser kardioprotektiver Effekt zugeschrieben werden (33).

Untersucht man regionale Ernährungsgewohnheiten im Hinblick auf diesen kardiovaskulären Schutzfaktor genauer, so stößt man auf das „Französische Paradoxon“. Dieses Phänomen wurde erstmals im Jahre 1992 in einer Studie in Frankreich beschrieben (36). Danach wiesen Franzosen, ausgehend von Daten epidemiologischer Untersuchungen, ein geringeres kardiovaskuläres Risiko im Vergleich zu anderen westlichen Zivilisationen auf. Und das, obwohl die in der Studie untersuchten Franzosen eine vergleichsweise hohe Aufnahme an gesättigten Fettsäuren aufwiesen, wodurch im Allgemeinen die kardiovaskuläre Gesundheit eher negativ beeinflusst wird.

Vergleicht man die Ernährungsgewohnheiten der Franzosen im Allgemeinen mit denen anderer westlicher Zivilisationen, so fällt ein vergleichsweise sehr hoher täglicher Pro-Kopf-Konsum an Wein auf. Im Jahre 2010 betrug dieser in Frankreich ca. 57 Liter pro Kopf und war damit beispielsweise fast doppelt so hoch wie in Deutschland mit ca. 29 Liter pro Kopf (37). Bei weiteren Untersuchungen zu diesem Sachverhalt wurde gezeigt, dass ein moderater Rotweinkonsum die kardiovaskuläre Mortalität und Morbidität signifikant senken kann (38). Vor allem die im Rotwein enthaltenen Polyphenole, und hier insbesondere die Flavonoide, beeinflussen demnach Schlüsselprozesse der Arteriosklerose (39) und können so vor kardiovaskulären Erkrankungen schützen. Analog dazu wurde in mehreren Studien neben einem blutdrucksenkenden Effekt eine inverse Korrelation zwischen einer obst- und gemüsereichen Ernährung und dem Auftreten schwerwiegender kardiovaskulärer Erkrankungen wie der koronaren Herzkrankheit nachgewiesen (40).

Diese Ergebnisse lassen auf einen möglichen Effekt einer diätetischen Intervention auf die kardiovaskuläre Gesundheit schließen, wobei den Flavonoiden, die hauptsächlich in pflanzlichen Nahrungsmitteln enthalten sind, eine zunehmende Bedeutung zukommt.

1.4 Flavanoide und deren Effekte auf die altersbedingten Veränderungen des Gefäßsystems

Pflanzen bilden eine große Zahl an verschiedenen Stoffen, auch als sekundäre Pflanzenstoffe bezeichnet, die primär keine Funktion im Stoffwechsel der Pflanze besitzen, jedoch weitreichende biologische Wirkungen besitzen. Zu diesen Stoffen zählt unter anderem die Gruppe der Polyphenole, die sich in mehrere Untergruppen einteilen lässt, wobei die Flavonoide als größte Gruppe der pflanzlichen Polyphenole auszumachen sind.

Die Flavonoide weisen eine gemeinsame chemische Grundstruktur auf, welche durch aromatische Ringe gekennzeichnet wird, die über zwei Carbongruppen miteinander verbunden sind (s. Abb. 2).

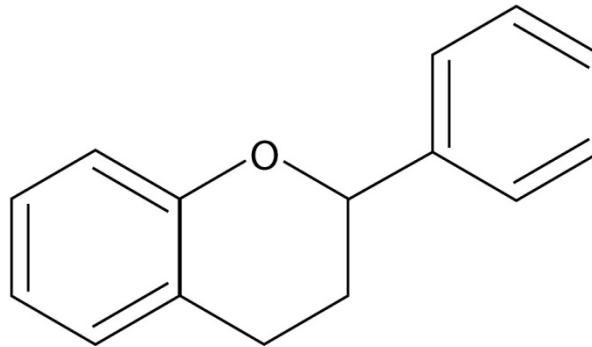


Abb. 2: Chemische Grundstruktur der Flavonoide

Die Gruppe der Flavonoide wiederum lässt sich in mehr als 5.000 verschiedene Subklassen aufteilen, deren sechs wichtigste Subklassen die Anthocyanidine, die Flavone, die Isoflavone, die Flavonone, die Flavonole und die Flavanole bilden (41). Zu der zuletzt genannten Gruppe der Flavanole gehören die Epicatechine und Catechine als monomere Formen und die Procyanidine und Prodelphinidine als oligomere Formen (s. Abb. 3).

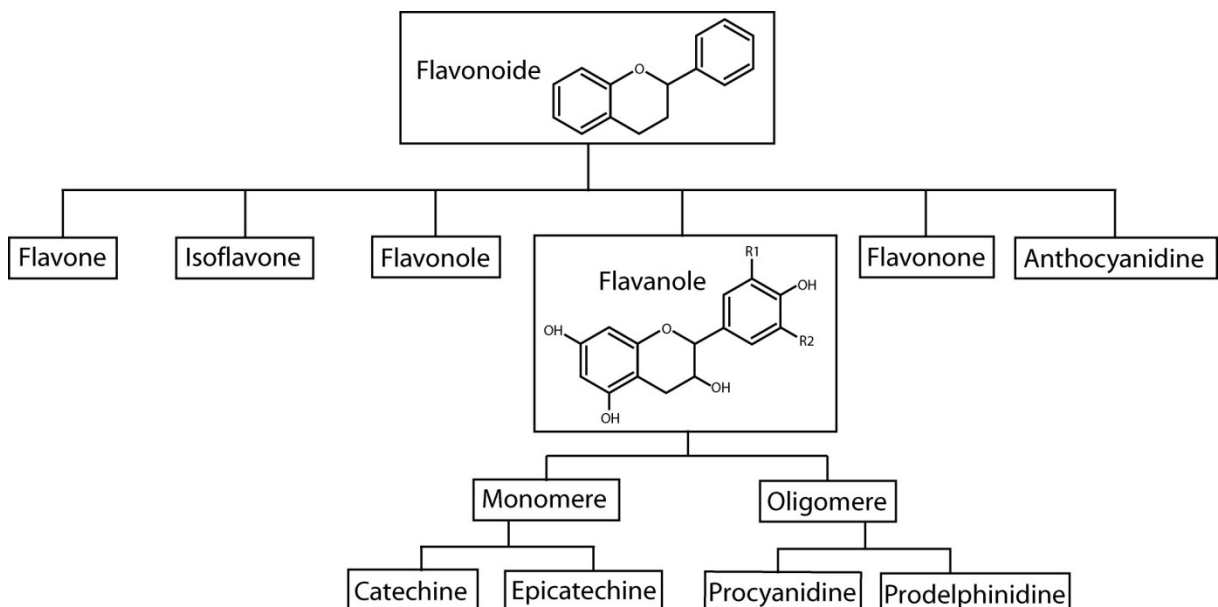


Abb. 3: Übersicht der Subgruppen der Flavonoide und der Flavanole

Flavanole kommen in nahezu jedem pflanzlichen Lebensmittel vor und werden deshalb täglich über die Nahrung aufgenommen. Allerdings gibt es erhebliche Unterschiede in den einzelnen Lebensmitteln, bezogen auf die Konzentration der Flavanole. So finden sich

besonders hohe Konzentrationen in Lebensmitteln wie Äpfeln, Kakaobohnen, Zwiebeln und Rotwein (42). In Tabelle 1 werden ausgewählte Lebensmittel mit einem hohen Gesamtflavanolgehalt dargestellt (43-44).

Lebensmittel	Gesamtflavanolgehalt
Dunkle Schokolade	4,45 mg/g
Rotwein	0,21 g/l
Äpfel	0,49 – 1,01 mg/g
Schwarzer Tee	1,06 g/l

Tabelle 1: Gesamtflavanolgehalt handelsüblicher Lebensmittel

(g = Gramm, mg = Milligramm, l = Liter)

Diese Konzentrationsunterschiede erklären, weshalb die durchschnittliche Flavanolaufnahme stark schwankt. Sie hängt stark von der landestypischen Esskultur und von den in den unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen verzehrten Lebensmitteln ab. Die tägliche Aufnahme der Deutschen an Flavanolon beträgt im Durchschnitt ca. 18 – 50 mg an Catechinen und Epicatechinen und ca. 100 – 150 mg an Procyanidinen (45-46).

Nach dem Verzehr von flavanolreichem Kakao konnten im menschlichen Blutplasma sowohl die Monomere Epicatechin und Catechin als auch Procyanidin als Oligomer nachgewiesen werden (47-49). Diese Flavanole können bereits nach ca. 30 Minuten im Blutplasma nachgewiesen werden (49) und erreichen ihren maximalen Blutplasmaspiegel ca. ein bis zwei Stunden nach Ingestion.

Die exakten Mechanismen, denen die biologischen Effekte der Flavanole unterliegen, sind zwar noch nicht vollständig verstanden, doch sie gehören zu den wenigen Nahrungsstoffen bei denen eine Kausalität zwischen dem Verzehr und einer verbesserten arteriellen Funktion belegt werden konnte (50). Diese Ergebnisse unterstützend zeigte eine Metaanalyse von 42 placebokontrollierten, randomisierten, diätetischen Studien eine flavanolabhängige signifikante Verbesserung der kardiovaskulären Gesundheit, nach akuter und chronischer (Studiendauer bis zu 18 Wochen) Flavanolinnahme (51). Analog dazu konnte eine weitere systematische Metaanalyse von insgesamt 136 Studien herausarbeiten, dass eine Flavanolinnahme auch die kardiovaskuläre Mortalität senken kann (52).

Betrachtet man neben diesen allgemeinen Wirkungen auf die kardiovaskuläre Gesundheit außerdem noch einzelne Aspekte wie etwa den arteriellen Blutdruck, die Steifigkeit der

arteriellen Gefäße und die endotheliale Funktion, so findet man auch dort flavanolabhängige Effekte. Eine Metaanalyse von 20 randomisierten und placebokontrollierten Studien konnte bedingt durch eine Flavanoleinnahme einen blutdrucksenkenden Effekt von durchschnittlich - 2,77 mmHg im Vergleich zur Kontrollgruppe herausarbeiten (53). In einer weiteren Studie zum arteriellen Blutdruck, der „Zutphen-Elderly-Study“, wurden insgesamt 876 Männer im Alter von 65 bis 84 Jahren über einen Zeitraum von insgesamt 15 Jahren verfolgt. Dabei zeigte sich eine inverse Korrelation zwischen einer hohen Aufnahme an Flavanolon und dem Blutdruck sowie der 15 - Jahres kardiovaskulären Mortalitätsrate (54).

Neben dieser allgemeinen Wirkung auf den arteriellen Blutdruck nehmen Flavanole insbesondere Einfluss auf die im Alter vorherrschende Hypertonieform, die isolierte systolische Hypertonie. So konnte in einer Studie an Probanden im Alter zwischen 55 und 64 Jahren mit einer milden Form der isolierten systolischen Hypertonie durch einen zehntägigen Verzehr von flavanolreicher Schokolade der systolische Blutdruck um -5,1 mmHg im Vergleich zur Kontrollgruppe gesenkt werden (55).

Mit dem Thema der arteriellen Steifigkeit beschäftigte sich eine andere randomisierte placebokontrollierte Studie und kam zu dem Ergebnis, dass eine Flavanoleinnahme den Augmentationsindex vermindert, der ein indirektes Maß für die arterielle Gefäßsteifigkeit darstellt (56). Dieses Ergebnis konnte eine Metaanalyse von insgesamt 38 Studien bestätigen, die ebenfalls aufzeigen konnte, dass eine diätetische Intervention mit Flavanolon die arterielle Gefäßsteifigkeit reduzieren kann (57-58).

Des Weiteren wurde in zahlreichen Studien nachgewiesen, dass Flavanole auch die endotheliale Funktion beeinflussen. So führte sowohl eine akute als auch eine chronische Flavanoleinnahme zu einer gesteigerten FMD bei gesunden Menschen (59), bei Probanden mit Nikotinabusus (60), bei Probanden mit einer arteriellen Hypertonie (61) und bei Probanden mit einer koronaren Herzkrankheit (43). Dabei wurde ein Maximum der FMD-Antwort zwischen zwei und drei Stunden nach Flavanolaufnahme gemessen (62).

Neben diesen vielfältigen Effekten auf der Ebene der Makrozirkulation wirken sich Flavanole ebenfalls auf die Mikrozirkulation aus. So zeigte eine placebokontrollierte Studie an Männern mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko eine verbesserte mikrovaskuläre Reaktivität nach dem Verzehr von flavanolhaltigem Obst und Gemüse (63).

Diese Ergebnisse machen deutlich, welches große Potential Flavanole besitzen, um langfristig die altersbedingten Veränderungen des arteriellen Gefäßsystems positiv zu beeinflussen und so die kardiovaskuläre Gesundheit unserer Gesellschaft zu verbessern.

1.5 Fragestellung und Ziele dieser Arbeit

Auf Grund der großen Morbidität und Mortalität durch kardiovaskuläre Ereignisse und deren hohen Kosten für das Gesundheitssystem, nehmen Prävention und Behandlung dieser Erkrankungen und die Minimierung der entsprechenden Risikofaktoren eine enorm wichtige Rolle ein. Die meisten Studien über flavanolabhängige Effekte auf die Gefäßfunktion und auf die kardiovaskuläre Gesundheit sind an Patienten mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko durchgeführt worden. So wurden Patienten mit arterieller Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes Mellitus sowie Raucher oder Patienten mit einer bereits bestehenden Erkrankung der Herzkranzgefäße untersucht.

Allerdings wurde bislang nicht erforscht, ob Flavanole das Potential besitzen, den altersassoziierten Anstieg des systolischen Blutdruckes, die zunehmende Steifigkeit der arteriellen Gefäße und die abnehmende endotheliale Funktion bei gesunden Männern zu beeinflussen.

Daraus ergab sich das Ziel dieser randomisierten, placebokontrollierten und doppelt verblindeten Studie: Die durch eine diätetische Flavanoleinnahme bei älteren gesunden Probanden im Vergleich zu jungen gesunden Probanden entstehenden Effekte auf die endotheliale Funktion, die Steifigkeit der arteriellen Gefäße und den systolischen Blutdruck sollten untersucht werden. Dies geschah mit der Intention, die möglichen Ergebnisse künftig im Rahmen einer primären Präventionsstrategie gegen kardiovaskuläre Erkrankungen zu nutzen.

2 Material und Methoden

Ethikvotum der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität

Studennummer: 3554R

Registrierungs-ID: 2013111546

Antragsdatum: 22.11.2013

Antragssteller: Prof. Dr. med. Christian Heiß

2.1 Eigenanteil

Die vorliegende Dissertationsschrift stellt die Ergebnisse einer Studie dar, die in gemeinschaftlicher Arbeit mit einer weiteren Doktorandin durchgeführt wurde.

Mein Eigenanteil besteht in der vollständigen Durchführung und Auswertung der in dieser Dissertationsschrift vorkommenden Untersuchungen.

2.2 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine vierarmige, placebokontrollierte und doppelt verblindete diätetische Studie. Die Probanden ($n = 42$) wurden in jeweils eine Gruppe mit jungen Probanden im Alter von 18 bis 30 Jahren (JUNG, $n = 22$) und eine Gruppe mit älteren Probanden im Alter von 50 bis 80 Jahren (ALT, $n = 20$) aufgeteilt. Jeweils die Hälfte der Probanden der ALT- und der JUNG-Gruppe wurde randomisiert der FLAVANOL-Gruppe ($n = 21$), oder der KONTROLLE-Gruppe ($n = 21$) zugeteilt. Die FLAVANOL-Gruppe erhielt über zwei Wochen zweimal täglich ein flavanolhaltiges Testgetränk (900 mg Flavanole / Tag), während die KONTROLLE-Gruppe ein flavanolfreies Testgetränk erhielt (s. Abb. 4).

Die Probanden wurden jeweils vor (Basalwerte) und eine Stunde nach Einnahme des Testgetränkes an Tag 1 und 14 untersucht. Zu den Untersuchungen zählten die Messung der folgenden Parameter: Arterieller Blutdruck, flussvermittelte Vasodilatation der Arteria brachialis, arterielle Pulswellengeschwindigkeit, arterielle Pulswellenanalyse sowie weitere hämodynamische Messungen.

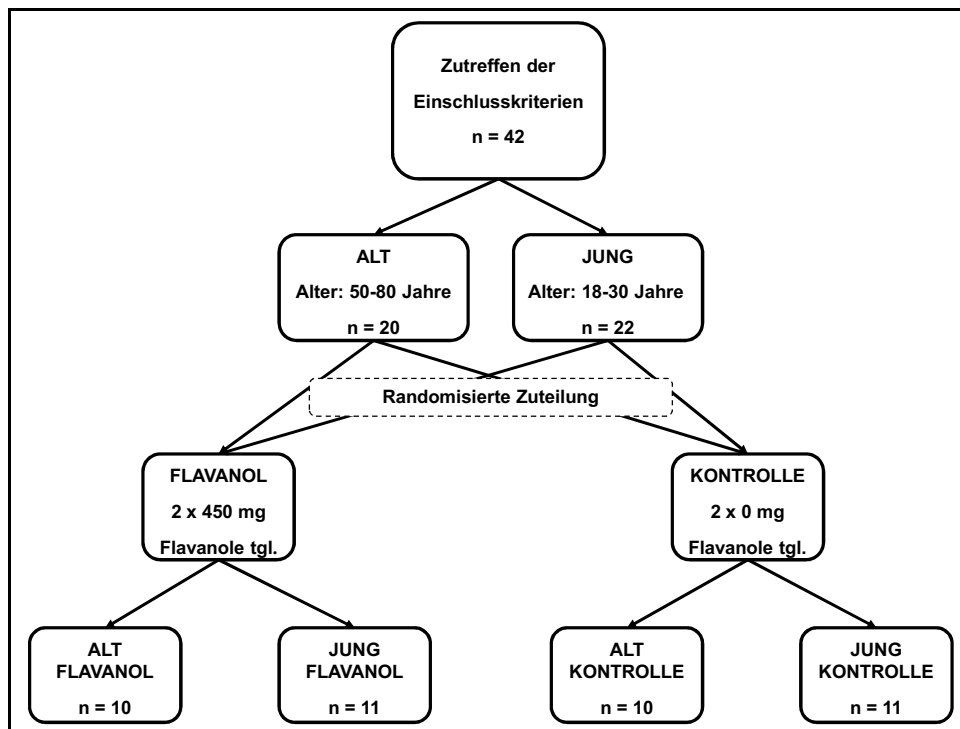


Abb. 4: Studiendesign

Jeweils die Hälfte der Probanden der ALT- und der JUNG-Gruppe wurden randomisiert der FLAVANOL- oder der KONTROLLE-Gruppe zugeteilt.
(n = Probandenanzahl, mg = Milligramm, tgl. = täglich)

2.3 Studienkollektiv

Bei der vorliegenden Studie wurden 22 junge (JUNG: Alter 18-30 Jahre, Mittelwert 26 ± 1) und 20 ältere (ALT: Alter 50 – 80 Jahre, Mittelwert 60 ± 2) männliche Probanden rekrutiert. Es handelte sich ausschließlich um gesunde und nicht rauchende Probanden, die keine Vorgeschichte, Anzeichen oder Symptome einer kardiovaskulären Erkrankung aufwiesen. Als gesund wurden die Probanden durch das Nicht-Zutreffen der Ausschlusskriterien klassifiziert. Als Ausschlusskriterien galten arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes Mellitus, terminale Niereninsuffizienz, höhergradige Herzrhythmusstörungen, höhergradige Herzinsuffizienz (NYHA III-IV), eine koronare Herzkrankheit, eine periphere arterielle Verschlusskrankheit, eine akute Entzündung (CRP > 0,5 mg/dl) oder eine chronisch konsumierende Erkrankung (s. Tabelle 2).

Eine arterielle Hypertonie wurde in Anlehnung an die *Joint National Committee*-Kriterien aus dem Jahre 2014 (64), beziehungsweise an die Richtlinien der *Weltgesundheitsorganisation (WHO)* (65) definiert. Danach liegt eine arterielle Hypertonie vor bei einem systolischen Blutdruck größer als 140 mmHg, beziehungsweise bei einem diastolischen Blutdruck größer als 90 mmHg, gemessen bei drei Messungen an drei unterschiedlichen Tagen. Außerdem fällt eine bereits eingeleitete antihypertensive Therapie unter diese Kriterien.

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Alter 18-30 / >50 Jahre	Arterielle Hypertonie
Gesund	Hyperlipidämie
Geschlecht: Männlich	Diabetes Mellitus
Nichtraucher	Terminale Niereninsuffizienz
Keine Vorgeschichte, Anzeichen, Symptome einer kardiovaskulären Erkrankung	Höhergradige kardiale Arrhythmien
	Malignome
	Akute Entzündung (CRP > 0,5 mg/dl)

Tabelle 2: Ein- und Ausschlusskriterien der Probanden

(CRP = C-reaktives Protein, mg = Milligramm, dl = Deziliter)

Ein Diabetes Mellitus wurde anhand der *WHO*-Richtlinie (66) und der *American Diabetes Association*-Richtlinie (67) definiert. Dabei liegt ein Diabetes Mellitus vor, wenn bei Messungen an mindestens zwei separaten Tagen Plasmaglukosespiegel nüchtern von größer als 126 mg/dl, bzw. bei einem Glukosetoleranztest Zwei-Stunden-Werte von größer als 200 mg/dl gemessen werden, oder zu einem beliebigen Zeitpunkt eine Diabetessymptomatik mit gleichzeitigen Plasmaglukosespiegeln von größer als 200 mg/dl auftritt. Des Weiteren wurden Probanden ausgeschlossen, bei denen bereits eine antidiabetische Therapie mit oralen Antidiabetika oder Insulin eingeleitet wurde.

Eine Hyperlipidämie wurde anhand der Richtlinien des *National Heart, Lung and Blood Institute* (68) und der *American Heart Association* (69) definiert. Danach müssen ein Gesamtcholesterin von größer als 240 mg/dl, ein LDL-Cholesterin von größer als 160 mg/dl, ein HDL-Cholesterin größer als 35 mg/dl oder eine bereits eingeleitete cholesterinsenkende Therapie vorliegen.

Das kardiovaskuläre Risikoprofil der Probanden wurde durch eine ausführliche Anamnese und eine körperliche Untersuchung vor Beginn der Untersuchungen erfasst. Am ersten und zweiten Untersuchungstag mussten die Probanden einen Fragebogen zu den Nahrungsmitteln ausfüllen, welche sie in den letzten 24 Stunden verzehrt hatten. Zusätzlich musste ein Fragebogen zu den allgemeinen Ernährungsgewohnheiten beantwortet werden.

Um ein Routinelabor bestimmen zu können, wurde bei jedem Probanden am ersten und am zweiten Untersuchungstag, jeweils vor Beginn der Untersuchungen, nüchtern Blut abgenommen. Dabei wurden folgende Parameter durch das Institut für klinische Chemie der

Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf bestimmt: Kleines Blutbild, Natrium, Kalium, Harnsäure, Kreatinin, Harnstoff, Glucose, HbA1c, Bilirubin, GOT, GPT, TSH, freies T4, Triglyzeride und Gesamtcholesterin (HDL und LDL wurden ab einem Gesamtcholesterinwert größer als 180 mg/dl bestimmt).

2.4 Zusammensetzung der Testgetränke

Es wurden randomisiert und doppelt verblindet zwei verschiedene Getränkepulver (flavanolhaltig und flavanolfrei), aufgelöst in 500 ml Wasser, verabreicht. Ein Kakao-Extrakt (*Cocoapro® Kakao Extrakt; Mars Inc., Virginia, USA*) stellte die Quelle der Flavanole im flavanolhaltigen Testgetränk dar, wobei die Testgetränke einen Fruchtgeschmack besaßen.

Über zwei Wochen nahmen die Probanden zweimal täglich, jeweils morgens und abends, entweder das flavanolhaltige Testgetränk (FLAVANOL; 450 mg Flavanole / Getränk, Tagesdosis von 900 mg), oder das flavanolfreie Testgetränk (KONTROLLE) ein. Weder äußerlich noch geschmacklich waren diese Getränke voneinander zu unterscheiden. Des Weiteren waren die Testgetränke bezüglich ihrer Mikro- und Makronährstoffe aneinander adaptiert und kalorienreduziert worden (50 kcal Tagesdosis), um eventuelle Ergebnisverfälschungen zu minimieren (s. Tabelle 3).

	FLAVANOL	KONTROLLE
Gesamtflavanolgehalt (mg)	450	ND
Monomere (mg)	73	ND
(-) - Epicatechine (mg)	64	ND
(-) - Catechine (mg)	7	ND
(+) - Catechine (mg)	2	ND
(+) - Epicatechine (mg)	ND	ND
Dimere-Decamere (mg)	377	ND
Theobromine (mg)	44	46
Koffeine (g)	10	6
Fett (g)	0	0
Kohlenhydrate (g)	6	6
Proteine (mg)	0,1	0,1
Energie (kcal)	25	25
Natrium (mg)	3	3
Kalium (mg)	95	85

Tabelle 3: Mikro- und Makronährstoffkomposition der Testgetränke

Zusammensetzung des flavanolhaltigen Testgetränkes (FLAVANOL) und des flavanolfreien Testgetränkes (KONTROLLE).

(ND= Nicht detektierbar, mg = Milligramm, g = Gramm, kcal = Kilokalorien)

2.5 Studienprotokoll

Die Probanden wurden an zwei Tagen jeweils zweimal untersucht. Am ersten Untersuchungstag wurden sie zunächst nüchtern untersucht um basale Messwerte erheben zu können (Tag 1 basal). Anschließend folgte die primäre Einnahme des Testgetränkes. Nach einer einstündigen Pause schloss sich eine erneute Untersuchungsreihe an, um akute Effekte des Testgetränkes feststellen zu können (Tag 1 post). Die Untersuchungen für die Messung der akuten Effekte wurden eine Stunde nach Einnahme des Testgetränkes durchgeführt, da in einer vorangegangenen Studie gezeigt werden konnte, dass die maximalen Flavanol-

Plasmaspiegel eine Stunde nach Ingestion auftreten (70). Im Anschluss daran tranken die Probanden täglich jeweils morgens und abends das Testgetränk und wurden nach 14 Tagen kontinuierlicher Einnahme zunächst erneut nüchtern untersucht, um die chronischen Effekte erheben zu können (Tag 14 prä). Eine Stunde nach erneuter Einnahme des Testgetränkes erfolgte eine weitere Untersuchungsreihe um akute auf chronische Effekte messen zu können (Tag 14 post).

Die Probanden hielten über einen Zeitraum von 12 Stunden vor Beginn bis zum Schluss aller Untersuchungen eine Nahrungskarenz ein. Getrunken wurde lediglich kohlenstofffreies Mineralwasser und nach dem ersten Untersuchungszyklus das Testgetränk. Jede der Untersuchungen fand in einem auf 21°C klimatisiertem Raum zwischen acht Uhr morgens und 15 Uhr nachmittags statt. Zu allen vier Untersuchungszeitpunkten wurde der im Folgenden beschriebene Untersuchungsablauf eingehalten:

Die Probanden wurden in einem Gespräch über die Studie aufgeklärt und gaben anschließend ihre Einwilligung zur Teilnahme. Es folgten ein Anamnesegespräch sowie eine körperliche Untersuchung und die Ernährungsfragebögen wurden ausgefüllt. Daraufhin wurde jedem Probanden Blut abgenommen, um das Routinelabor bestimmen zu können. Nach einer fünfzehnminütigen Ruhepause in liegender Position wurde der arterielle Blutdruck mit einem automatischen oszillometrischen Blutdruckmessgerät (*Dynamap, Tampa, USA*) bestimmt. Diese fünfzehnminütige Ruhepause in liegender Position wurde auch vor jeder angiologischen und hämodynamischen Messung eingehalten, um möglichst identische Ausgangsbedingungen zu erzeugen. Zusätzlich wurden die Probanden angewiesen, sich während den Messungen ruhig zu verhalten und nicht zu reden.

Es schlossen sich die einzelnen Messungen in folgender Reihenfolge an: Messung der flussvermittelten Vasodilatation der Arteria brachialis mittels Ultraschall, arterielle Pulswellenanalyse sowie Messung der zentralen Pulswellengeschwindigkeit mittels des *SphygmoCor*®-Gerätes und hämodynamische Messungen mit dem *Task Force*®-Monitor. Weiterhin wurde den Probanden jeweils vor dem ersten und zweiten Untersuchungstag ein 24-Stunden-Langzeit-Blutdruckmessgerät (*Dynamap, Tampa, USA*) angelegt (s. Abb. 5).

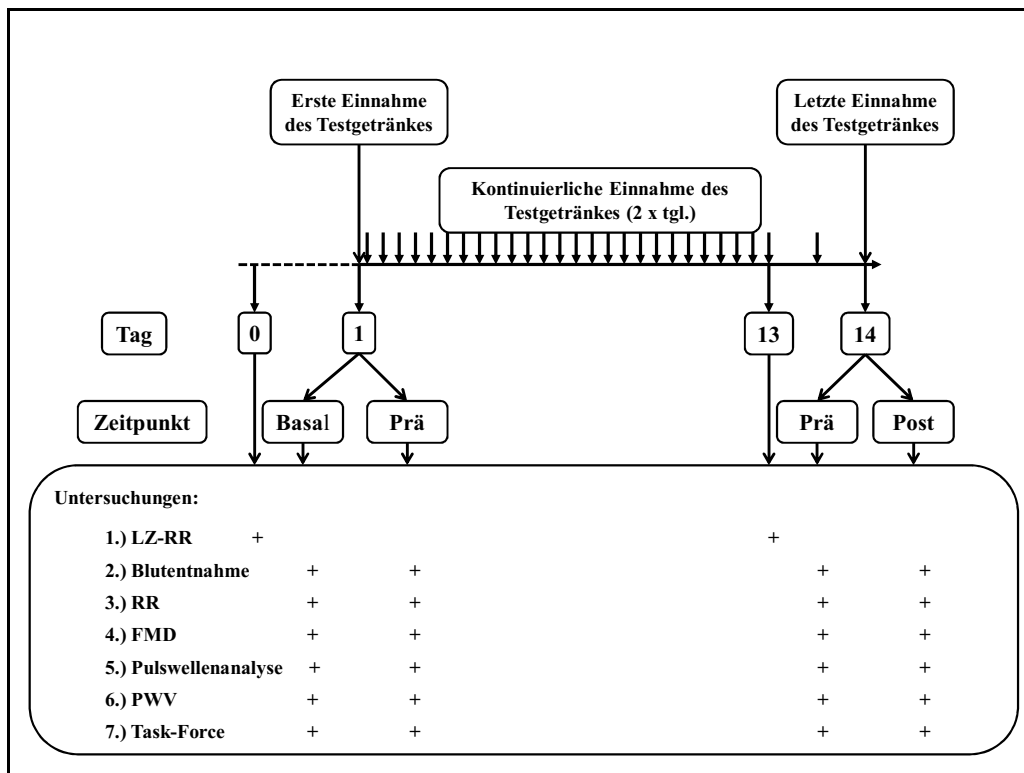


Abb. 5: Zeitverlauf

Veranschaulichung des Zeitverlaufes der Studie mit den Untersuchungen, die zu den jeweiligen Messzeitpunkten durchgeführt wurden.

(Tag 1 Basal = Basalwerte vor der ersten Testgetränkeinnahme, Tag 1 Post = Akute Werte, eine Stunde nach der ersten Testgetränkeinnahme, Tag 14 Prä = Chronische Werte, vor der letzten Testgetränkeinnahme, Tag 14 Post = Akut auf chronische Werte, eine Stunde nach der letzten Testgetränkeinnahme, LZ-RR = 24-Stunden-Langzeit-Blutdruckmessung, RR = Blutdruckmessung, FMD = Messung der flussvermittelten Vasodilatation der Arteria Brachialis, PWV = Messung der Pulswellengeschwindigkeit, tgl. = täglich)

2.6 Messung der flussvermittelten Vasodilatation der Arteria Brachialis

Das Prinzip der endothelabhängigen flussvermittelten Vasodilatation (FMD = engl.: *flow mediated dilation*) der Arteria brachialis besteht in der Bestimmung der prozentualen Zunahme des Durchmessers der Arteria brachialis. Diese Zunahme des Durchmessers wird durch eine physiologische Stimulation der endothelialen NO-Produktion hervorgerufen. Diese wiederum ist bedingt durch einen postokklusiv gesteigerten Blutvolumenfluss. Für die Messung der FMD wird der Durchmesser der Arteria brachialis zunächst unter Ruhebedingungen und anschließend nach einer reaktiven Hyperämie gemessen um die prozentuale Zunahme des Durchmessers bestimmen zu können.

Die Messungen des Durchmessers erfolgten nichtinvasiv mit Hilfe eines hochauflösenden Ultraschallgerätes (*GE Healthcare VIVID i, München*, linearer Schallkopf, 10 MHz). Um eine reaktive Hyperämie zu erzeugen, wurde die Methode der postokklusiven reaktiven Hyperämie

(PORH) angewendet. Bei dieser Methode wird eine Blutdruckmanschette am Unterarm angebracht und über eine Dauer von fünf Minuten auf suprasystolische Werte von 250 mmHg aufgepumpt, was zu einem Sistieren des Blutflusses in der Arteria brachialis führt. Die Okklusion bewirkt eine ischämische Dilatation der Widerstandsgefäße im Endstromgebiet. Nach anschließendem schlagartigem Ablassen des Druckes aus der Blutdruckmanschette resultiert diese Vasodilatation im Endstromgebiet in einem sprunghaften Anstieg der Blutflussgeschwindigkeit in der Arteria brachialis. Dies wiederum führt zu einer gesteigerten Schubspannung auf das Gefäßendothel, was einem physiologischen Stimulus für eine Stickstoffmonoxid-Produktion im Gefäßendothel entspricht. Dabei erreicht die flussvermittelte Vasodilatation ihr Maximum ungefähr 60-80 Sekunden nach Ablassen des Druckes aus der Blutdruckmanschette. Diese Vasodilatation wird mit dem Ultraschallgerät gemessen und mit dem Durchmesser der Arteria brachialis unter Ruhebedingungen verglichen. Aus der prozentualen Zunahme des Durchmessers kann anschließend die FMD berechnet werden.

Die Messung der FMD wurde in liegender Position durchgeführt. Die vorherige Bestimmung des arteriellen Blutdruckes sowie die Blutentnahmen erfolgten am kontralateralen Arm, um mögliche Ergebnisverfälschungen zu minimieren. Den Probanden wurde eine herkömmliche Blutdruckmanschette am rechten Unterarm unmittelbar distal der Ellenbeuge angelegt und zusätzlich vier handelsübliche Spotelektroden am Oberkörper angebracht, um ein EKG ableiten zu können. Anschließend wurde die Arteria brachialis des rechten Armes sonographisch aufgesucht und im B-Modus möglichst langstreckig dargestellt. Die Eindringtiefe des Ultraschalls wurde auf drei cm eingestellt und der Bereich unmittelbar um das Gefäß wurde mittels der Zoomfunktion vergrößert. Durch Veränderungen an den Verstärkungs- und Kompressionseinstellungen wurde der Kontrast zwischen Arterienlumen und Arterienwand optimiert. Der Diameter der Arteria brachialis wurde durch eine klare Abgrenzung der proximalen und der distalen Arterienwand zum Gefäßlumen identifiziert. Nachdem das Bild optimal eingestellt war, wurde die Schallkopfposition am Unterarm markiert und weitere Änderungen an den Geräteeinstellungen oder an der Schallkopfposition unterlassen.

Im Folgenden wurde die am proximalen Unterarm positionierte Blutdruckmanschette auf suprasystolische Werte von 250 mmHg aufgepumpt. Dieser Druck wurde über einen Zeitraum von fünf Minuten aufrechterhalten und anschließend schlagartig abgelassen. Unmittelbar nach Beenden der Okklusion wurden zum Zeitpunkt 00 sowie jeweils 20, 40, 60 und 80 Sekunden nach Ende der Okklusion der Diameter der Arteria brachialis und die Blutflussgeschwindigkeit mittels PW-Doppler gemessen. Die Blutflussgeschwindigkeit

erreicht dabei unmittelbar nach Okklusionsende ihren maximalen Wert, während der Diameter der Arteria brachialis 60 Sekunden nach Okklusionsende sein Maximum aufweist (s. Abb. 6).

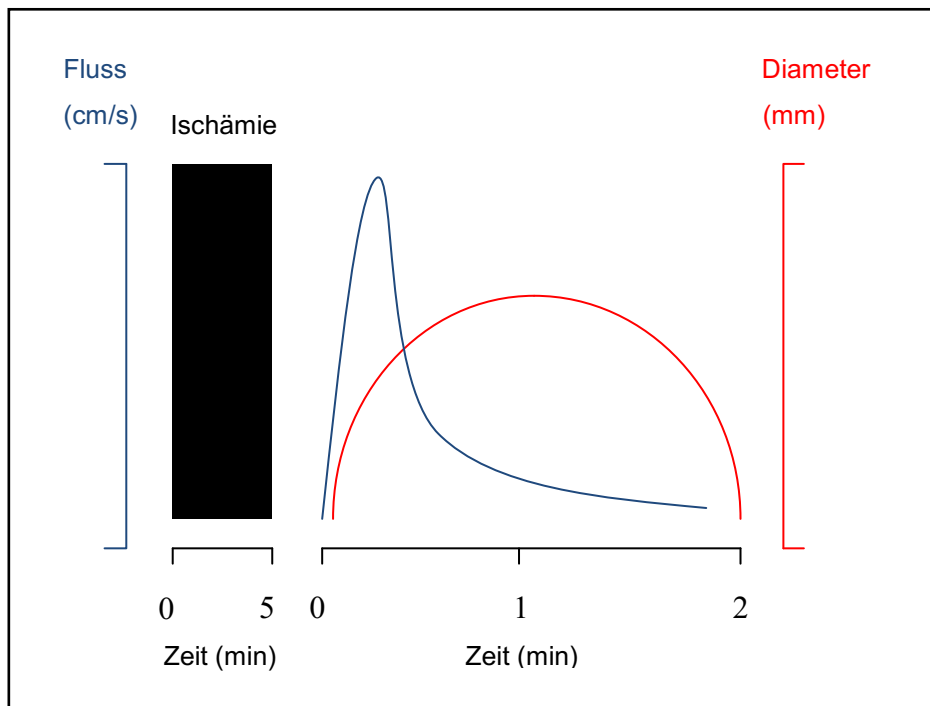


Abb. 6: Schematische Darstellung der FMD

Nach Beendigung der fünfminütigen Ischämie (schwarzer Balken) kommt es zu einem sprunghaften Anstieg des Blutvolumenflusses (blaue Kurve), der über eine Zunahme der Schubspannung zu einer flussvermittelten Vasodilatation führt (rote Kurve). (FMD = Fluss vermittelte Vasodilatation, cm = Zentimeter, mm = Millimeter, s = Sekunde, min = Minute)

Das erhobene Bildmaterial wurde über einen Wechseldatenträger auf den Auswertungscomputer übertragen und anschließend mittels einer Software (*Brachial Analyzer, Medical Image Application, Iowa City, Iowa, USA*) halbautomatisch ausgewertet. Dazu wurde das Bildmaterial, bestehend aus jeweils ca. 60 Einzelbildern pro Messung, aufgenommen über einen Zeitraum von je drei bis vier Herzzyklen, in die Auswertungssoftware importiert. Anschließend wurde der zu vermessende Gefäßabschnitt manuell markiert. Die Software detektiert anschließend automatisch im manuell markierten Bereich das Gefäßlumen, wobei sie sich an der M-Linie orientiert. Diese echoarme Linie stellt den Übergang zwischen Adventitia und Media dar. Die automatisch farbige markierten Gefäßbegrenzungen wurden manuell auf ihre Übereinstimmung mit den Ultraschallbildern hin überprüft. Anschließend konnte die Messung des Gefäßdiameter gestartet werden. Diese erfolgte EKG gesteuert am Ende der Diastole (R-Zacke). Die Software misst automatisch im zuvor manuell definierten Messbereich an 150-300 Messpunkten die Distanz zwischen der schallkopfnahen und der schallkopffernen M-Linie im rechten Winkel zur Gefäßachse. Nach

Mittelung der Werte dieser Einzelmessungen wird der Gefäßdurchmesser in mm angegeben. Diese Messung des Gefäßdurchmessers wurde zu jedem Zeitpunkt (00, 20, 40, 60 und 80 Sekunden nach Okklusionsende) auf die gleiche Weise durchgeführt. Am Ende kann die FMD als prozentuale Zunahme des Gefäßdurchmessers in Relation zum Gefäßdurchmesser unter Ruhebedingungen (= 100%) angegeben werden.

2.6.1 Messung der endothelunabhängigen Nitroglycerin-vermittelten Vasodilatation der Arteria Brachialis

Es bestehen zahlreiche Faktoren, die eine verminderte FMD bedingen können. Beispielsweise führt ein eingeschränktes Ansprechen der glatten Gefäßmuskulatur auf Nitroglycerin (NO) oder ein gesteigerter NO-Abbau zu einer verminderten FMD. Um diese endothelunabhängigen Faktoren ausschließen zu können, wurde als Positivkontrolle zusätzlich die endothelunabhängige „Nitroglycerin-vermittelte Vasodilatation“ (NMD) bestimmt. Dazu erhielten die Probanden eine Nitrozerbeißkapsel mit 400 µg Glyzerolnitrat (*Nitrolingual mite Pohl Boskamp KG, Hohenlockstedt, Deutschland*). Das Glyzerolnitrat bewirkt eine Vasodilatation, dessen maximale Ausprägung, ebenfalls sonographisch, nach vier Minuten gemessen wurde. Da Glyzerolnitrat zu keiner signifikanten Steigerung des Blutvolumenflusses führt, ist die dadurch erzeugte Vasodilatation nicht flussvermittelt und endothelunabhängig. Die NMD wurde ebenfalls als prozentuale Zunahme des Durchmessers in Relation zum Ruhedurchmesser angegeben. Um den Einfluss von Glyzerolnitrat auf die weiteren hämodynamischen Messungen auszuschließen, wurde die NMD jeweils nach Beendigung der weiteren Untersuchungen an Tag 1 und Tag 14 durchgeführt.

2.7 Messung der zentralen Pulswellengeschwindigkeit

Um Informationen über die Steifigkeit des zentralen Gefäßsystems zu erhalten wurde die zentrale Pulswellengeschwindigkeit mit Hilfe des *SphygmoCor®*-Systems (*SphygmoCor®, AtCor Medical, Itasca; USA*) bestimmt. Die Pulswellengeschwindigkeit (PWV) gibt an, wie schnell sich die Druckwelle, die bei jeder Herzaktion entsteht, im Gefäßsystem ausbreitet. Dabei liegt die Geschwindigkeit der Pulswelle deutlich über der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes und variiert in den unterschiedlichen Bereichen des Gefäßsystems. So liegt die Pulswellengeschwindigkeit im Bereich der Aorta auf Grund der hohen Elastizität der Gefäßwand bei 4-6 m/s, während in peripheren Gefäßabschnitten auf Grund kleinerer Gefäßlumina und einer größeren Steifigkeit der Gefäßwände Werte um 8-12 m/s erreicht werden (10).

Die Bestimmung der Pulswellengeschwindigkeit basiert auf folgendem physikalischen Prinzip: Weg durch Zeit gleich Geschwindigkeit. Als Weg gilt hierbei die Distanz zwischen den Messpunkten an der Arteria carotis communis (ACC) und an der Arteria femoralis communis (AFC). Entscheidend ist es diese Distanz exakt zu erfassen, da bereits kleine Abweichungen großen Einfluss auf den absoluten Wert der gemessenen PWV nehmen (20, 71). Als Zeit gilt die zeitliche Differenz zwischen der R-Zacke der elektrischen Herzaktion und dem Eintreffen der Pulswelle in der ACC und in der AFC. Die R-Zacke wird durch ein, an das *SphygmoCor*[®]-Gerät angeschlossenes, Drei-Kanal-EKG bestimmt. Die Ankunft der Pulswelle wird über eine Messung der Pulsdruckkurve mithilfe des Applanationstonometers des *SphygmoCor*[®]-Gerätes erfasst. Die Software des *SphygmoCor*[®]-Gerätes berechnet anschließend automatisch anhand dieser erhobenen Werte die Pulswellengeschwindigkeit, die in m/s angegeben wird. Es wurde die *SphygmoCor*[®] 2000-Software Version 8.2 verwendet. Diese Messung wurde am liegenden Patienten nach fünfzehnminütiger Ruhepause durchgeführt.

Zunächst wurde der Punkt mit der maximalen Ausprägung des Pulsdruckes in der Arteria carotis communis palpiert und mit einem Stift markiert. Dieses Vorgehen wurde ebenfalls mit der Arteria femoralis communis durchgeführt. Anschließend wurden die Abstände der jeweiligen Markierungen zur Fossa jugularis am Sternum mit einem Maßband in cm erfasst und in die Matrix der *SphygmoCor*[®]-Software eingegeben. Die Software errechnet anhand dieser Werte automatisch die Wegstrecke, indem sie die Distanz zwischen dem Messpunkt an der ACC und an der Fossa jugularis von der Distanz zwischen dem Messpunkt an der AFC und der Fossa jugularis subtrahiert. Parallel dazu wurden die Probanden an ein Drei-Kanal-EKG angeschlossen. Anschließend wurde mit dem Applanationstonometer über einen Zeitraum von mindestens zehn Sekunden eine Pulsdruckkurve der ACC und der AFC aufgezeichnet. Anhand der erhobenen Werte errechnet die Software die Pulswellengeschwindigkeit mit der dazugehörigen Standardabweichung. Diese Messung wurde mindestens zweimal durchgeführt und aus den jeweiligen Ergebnissen ein Mittelwert gebildet.

2.8 Errechnung der aortalen Druckpulscurve

Um Informationen über die Druckpulscurve im zentralen Gefäßsystem zu erhalten, wurde zunächst die periphere Druckpulscurve an der Arteria radialis gemessen, die anschließend in die aortale Druckpulscurve umgerechnet werden kann. Verwendet wurde das *SphygmoCor*[®]-System (*SphygmoCor*[®], *AtCor Medical, Itasca; USA*), welches eine nichtinvasive und

schmerzfreie Erhebung der aortalen Druckpulscurve ermöglicht.

Hierbei kann über das Applanationstonometer, welches einen hochsensiblen Druckstreifen am Kopf des Tonometers besitzt, eine arterielle Druckpulscurve aufgezeichnet werden. Dieser Applanationstonometer wird auf die Arteria radialis gehalten um die arterielle Druckpulscurve der Arteria radialis zu messen. Nach einer circa zehn Sekunden dauernden konstanten Messung kann die Software anhand eines Algorithmus die periphere, an der Arteria radialis gemessene, Druckpulscurve in die zentrale aortale Druckpulscurve umrechnen. Dieser Umrechnungsalgorithmus wurde in zahlreichen Studien validiert (72-74). Mit Hilfe der errechneten zentralen aortalen Druckpulscurve können der zentrale aortale Blutdruck, der aortale Augmentationsdruck sowie der Augmentationsindex bestimmt werden. Die Berechnung und Erläuterung dieser Parameter werden in den Abschnitten 2.8.1 und 2.8.2 genauer behandelt.

Für die Untersuchung wurde der Proband in eine liegende Position gebracht und der arterielle Blutdruck mittels eines automatischen oszillometrischen Blutdruckmessgerätes (*Dynamap, Tampa, USA*) an beiden Armen erfasst. Zusätzlich zu diesen am Oberarm gemessenen Blutdruckwerten wurden Größe, Gewicht, Alter und das Geschlecht des Probanden in eine Matrix der *SphygmoCor*®-Software eingetragen.

Nach dem Aufsuchen der Position mit der maximalen Pulsation der Arteria radialis wurde an dieser Stelle der Applanationstonometer mit leichtem Druck aufgesetzt. Das Gerät startet automatisch mit der Aufzeichnung der Druckpulscurve, sobald ein ausreichend starkes Signal vorhanden ist. Nach einer optimalen Einstellung des Signales wurde der Applanationstonometer ruhig gehalten und die Messung über eine Dauer von 30 Sekunden durchgeführt. Deren Beendigung wird durch das Drücken der Leertaste bestätigt, woraufhin die Software direkt die ermittelten Messdaten anzeigt. Zur Überprüfung der Messgenauigkeit ermittelt die *SphygmoCor*®-Software einen Qualitätsindex, der sich aus der durchschnittlichen Pulshöhe, der Variation der Pulshöhe und der Variation des diastolischen Pulsdruckes zusammensetzt. Bei dieser Studie wurden nur Messungen mit einem ausreichend hohen Qualitätsindex (>90%) berücksichtigt. Außerdem wurden mindestens zwei Messungen durchgeführt, sodass anschließend ein Mittelwert berechnet werden konnte.

2.8.1 Messung des aortalen Augmentationsdruckes und des aortalen Augmentationsindexes

Die bei jeder Herzaktion entstehende Pulswelle wird in der Peripherie, vor allem an den Widerstandsgefäßen, reflektiert. Diese reflektierte Pulswelle erreicht nach einer bestimmten Latenzzeit ihren Ausgangspunkt in der zentralen Aorta. Diese Latenzzeit ist abhängig von der Pulswellengeschwindigkeit. Beim jungen, gesunden Menschen fällt das Eintreffen der reflektierten Pulswelle in den Bereich der Diastole und erhöht so den diastolischen Blutdruck. Dies führt unter anderem zu einem erhöhten Perfusionsdruck der Koronargefäße während der Diastole, was die Sauerstoffversorgung des Myokards verbessert.

Im Laufe des Alterns kommt es zu Umbauprozessen in der Adventitia, vor allem in elastischen Gefäßen wie der Aorta, wodurch eine größere Gefäßsteifigkeit entsteht. Dies bringt eine Erhöhung der Pulswellengeschwindigkeit mit sich und resultiert schließlich darin, dass die reflektierte Pulswelle früher die zentrale Aorta erreicht und dort noch während der Systole eintrifft. Dieses Eintreffen der Pulswelle in der Systole macht sich in der Pulsdruckkurve als sogenannter später Anteil des systolischen Blutdruckes bemerkbar. Der systolische Blutdruck steigt zunächst steil an, bis er den primären Scheitelpunkt (Inflektionspunkt = P1) erreicht, um anschließend durch das Eintreffen der Pulswelle erneut anzusteigen und schließlich den sekundären Scheitelpunkt erreicht (Systolischer Spitzendruck = P2). Diesen Anteil des systolischen Blutdruckes, der durch die reflektierte Pulswelle entsteht, bezeichnet man als Augmentationsdruck. Er wird in mmHg angegeben (s. Abb. 7).

Eine weitere wichtige Größe bei der Analyse der aortalen Druckpulscurve ist der Augmentationsindex (Aix). Er lässt sich folgendermaßen berechnen:

$$Aix = \frac{\text{Augmentationsdruck}}{\text{systolischer Blutdruck} - \text{diastolischer Blutdruck}}$$

Der Aix spiegelt dementsprechend den prozentualen Anteil des Augmentationsdruckes am Pulsdruck wider. Der Aix ist umso größer, je höher der sekundäre Scheitelpunkt im Vergleich zum primären Scheitelpunkt ist (s. Abb. 7).

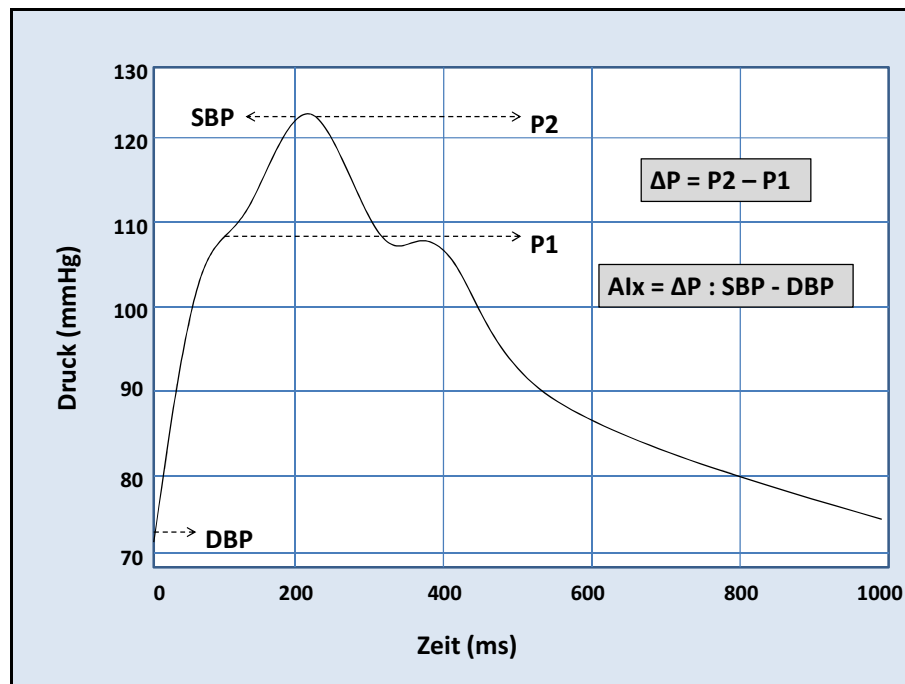


Abb. 7: Schematische Darstellung des aortalen Augmentationsdruckes und Augmentationsindexes

Der Augmentationsdruck berechnet sich durch die Differenz zwischen dem Druck am ersten und zweiten Inflektionspunkt. Setzt man den Augmentationsdruck in Relation zur Differenz des diastolischen zum systolischen Blutdruck, ergibt sich der Augmentationsindex. (ΔP = Augmentationsdruck, $P1$ = primärer Scheitelpunkt, $P2$ = sekundärer Scheitelpunkt, SBP = Systolischer Blutdruck, DBP = Diastolischer Blutdruck, AI = Augmentationsindex)

2.8.2 Messung des zentralen aortalen Blutdruckes

Der zentrale aortale Blutdruck wird von der transkutanen Aufzeichnung der peripheren Druckpulskurve abgeleitet, welche über das *SphygmoCor*[®]-System gemessen wurde. Um diese periphere in die zentrale Druckpulskurve umzurechnen wird der bereits erwähnte Umrechnungsalgorithmus angewendet. Aus der zentralen Druckpulskurve können dann die systolischen und diastolischen Blutdruckwerte abgelesen werden. Diese Werte werden mit Hilfe der oszillometrisch am Oberarm gemessenen absoluten Blutdruckwerte kalibriert und in mmHg angegeben.

Zusätzlich zu den diastolischen und systolischen Blutdruckwerten errechnet die *SphygmoCor*[®]-Software die Höhe des mittleren aortalen Blutdruckes (MP = engl.: *Mean Pressure*). Dabei wird folgende Formel angewendet:

$$MP = \frac{\sum_{i=T_0}^{TF} P_i}{n}$$

[n = Anzahl der Druckpunkte, P_i = Druckpunkte, TF = Ende der Wellenform in Millisekunden, ($i = T_0$) = Start der Wellenform in Millisekunden]

Diese Art der Bestimmung des mittleren aortalen Blutdruckes ermöglicht eine exaktere Berechnung als mit Hilfe der üblichen Methode, bei der ein Drittel der Höhe des Pulsdruckes zum diastolischen Blutdruck addiert wird.

2.9 Messungen mit dem *Task-Force*®-Monitor

Mit Hilfe des *Task-Force*®-Monitors (*CNSystems, Graz, Österreich*) wurden mehrere Messungen im Bereich der Hämodynamik durchgeführt. Alle dabei angewendeten Verfahren sind nichtinvasiv und für den Probanden nicht schmerzhaft.

Folgende Verfahren kamen zur Anwendung:

- Oszillometrische Blutdruckmessung am Oberarm
- Kontinuierliche „*Beat-to-beat*“ Blutdruckmessung an der Fingerspitze
- Elektrokardiographie (6-Kanal-EKG)
- Impedanzkardiographie [Bestimmung des Herzschlagvolumens (SV) und des Herzzeitvolumens (HZV)]

Die Methoden der einzelnen Messverfahren werden in den Abschnitten 2.9.1 bis 2.9.4 genauer erläutert.

Mittels Analyse der Ergebnisse dieser Messverfahren berechnet der *Task-Force*®-Monitor zahlreiche hämodynamische Parameter. Tabelle 4 gibt eine Übersicht über jene, welche für diese Studie relevant sind.

Vor Beginn der Untersuchungen wurden den Probanden die nötigen Elektroden und Blutdruckmanschetten, wie in den Abschnitten 2.9.1 bis 2.9.4 genauer beschrieben, angelegt. Die Probanden wurden anschließend in eine liegende Position gebracht. Alle Messungen liefen nach Start des Programmes vollautomatisch ab und wurden über einen Zeitraum von 15 Minuten durchgeführt.

Parameter	Beschreibung	Einheit
RRI	RR-Intervall	[ms]
HFQ	Herzfrequenz	[1/s]
SBP	Systolischer Blutdruck (Oszillometrisch gemessen)	[mmHg]
DBP	Diastolischer Blutdruck (Oszillometrisch gemessen)	[mmHg]
sBP	Kalibrierter kontinuierlich gemessener systolischer Blutdruck	[mmHg]
dBP	Kalibrierter kontinuierlich gemessener diastolischer Blutdruck	[mmHg]
mBP	Kalibrierter kontinuierlich gemessener mittlerer Blutdruck	[mmHg]
PP	Pulsdruck (Differenz zwischen sBP und dBP)	[mmHg]
ZO	Basis-Impedanz	[Ohm]
SV	Schlagvolumen	[ml]
SI	Schlagindex (SV normiert auf die Körperoberfläche)	[ml ²]
HZV	Herzzeitvolumen	[l/min]
HZVI	Herzzeitvolumen Index (HZV normiert auf die Körperoberfläche)	[l/(min+m ²)]

Tabelle 4: Parameter des *Task-Force*®-Monitors

(m = Meter, ms = Millisekunde, s = Sekunde, min = Minute, ml = Milliliter, l = Liter, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, Ohm = elektrischer Widerstand)

2.9.1 Oszillometrische Blutdruckmessung am Oberarm

Für die oszillometrische Blutdruckmessung wurde am Oberarm eine Blutdruckmanschette platziert. Die Manschettenbreite betrug jeweils ca. 75% der jeweiligen Oberarmlänge (Schulter – Olecranon). Der Blutdruck wurde zu Beginn des Untersuchungsablaufes am *Task-Force*®-Monitor gemessen und anschließend jeweils in einem automatisch festgelegten Intervall von 5 Minuten.

2.9.2 Kontinuierliche Blutdruckmessung an der Fingerspitze

Der *Task-Force*®-Monitor ermöglicht eine kontinuierliche (*beat-to-beat*), nichtinvasive Blutdruckmessung an der Fingerspitze. Dazu wird eine plethysmographische Methode angewendet, bei der ein kontinuierliches Pulssignal aufgezeichnet wird.

Zeige- und Mittelfinger einer Hand werden hierbei in einer größenadaptierten, pneumatischen Fingerdruckmanschette platziert (*Finapres-Medical-Systems, Amsterdam, Niederlande*), innerhalb der ein LED-Emitter Infrarotlicht durch den Finger emittiert. Ein Teil des emittierten Lichts wird durch den arteriellen Blutfluss absorbiert, welcher sich analog zur Herzaktivität (Puls) verhält. Das nicht absorbierte Licht wird auf der gegenüberliegenden Fingerseite durch einen Sensor detektiert, der daraus den Blutvolumenfluss und ein kontinuierliches Pulssignal berechnet. So kann das Gerät zunächst die pulsatile Veränderung des Blutvolumenflusses erfassen, allerdings noch keine Blutdruckwerte bestimmen. Dies liegt begründet in den elastischen Eigenschaften der Gefäßwand, die einen Teil des pulsatile erhöhten Blutflusses durch eine Dehnung der Gefäßwand auffangen und so keine direkte Übertragung des Blutvolumenflusses auf die Druckverhältnisse im Gefäßinnern ermöglichen. Um aus diesen plethysmographischen Messungen trotzdem den Blutdruck errechnen zu können, wird die sogenannte „*vascular unloading*“-Technik angewendet. Diese Technik hat als Ziel die Gefäßwand komplett zu relaxieren, um den Einfluss der nichtlinearen elastischen Eigenschaften der Gefäßwand auf den Blutdruck auszuschließen.

Dazu übt eine pneumatische Druckkammer in der Fingermanschette einen bestimmten Druck von außen auf die arterielle Gefäßwand aus, der dem Druck im Inneren der Arterie entspricht. Dieser Druck wird über eine Kontrollschleife so angepasst, dass ein konstantes Blutvolumen im Finger entsteht. So wird während der Phase der Systole, welche zu einem erhöhten Blutvolumen im Finger führt, der Druck in der pneumatischen Kammer erhöht, um das überschüssige Blut aus der Arterie zu verdrängen. Konträr dazu wird während der Diastole der Druck gesenkt, damit das Blutvolumen konstant bleibt. Auf Grund des über den gesamten Zeitraum konstanten Blutvolumens muss die Differenz zwischen dem Druck in der pneumatischen Kammer und dem intraarteriellen Druck gleich Null sein, denn ansonsten würde das Blutvolumen nicht konstant bleiben. Somit entspricht der intraarterielle Druck dem anliegenden Druck in der pneumatischen Kammer, der mittels eines integrierten Drucksensors in der pneumatischen Kammer registriert werden kann.

Durch diese Methode können Änderungen des Blutdruckes gemessen werden, allerdings keine Absolutwerte. Dies ist unter anderem auf Grund der hydrostatischen Differenz in den Arterien der Finger im Vergleich zum Herzniveau nicht möglich. Deshalb wird eine Kalibrierung der gemessenen Werte mit Hilfe einer oszillometrischen Blutdruckmessung am ipsi- oder kontralateralen Oberarm durchgeführt. Eine Transferfunktion der Software rechnet die am Oberarm gemessenen absoluten Blutdruckwerte auf die Werte am Finger um, sodass auch diese als absolute Blutdruckwerte gelten können.

In mehreren Studien wurde diese „*vascular unloading*“-Technik im Vergleich mit einer

blutigen intraarteriellen Blutdruckmessung auf ihre Validität hin untersucht. Dabei wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Methoden festgestellt (75-76).

2.9.3 Elektrocardiographie

Über vier handelsübliche Spotelektroden, in der herkömmlichen klinischen Anordnung am Körper angebracht, wurde ein 6-Kanal-EKG abgeleitet. Die Abtastfrequenz des EKG-Signals lag dabei bei 1000 Hertz, was eine sehr genaue Messung des RR-Intervalls ermöglicht.

2.9.4 Impedanzkardiographie

Mit Hilfe der Impedanzkardiographie (IKG) können weitere hämodynamische Parameter wie das Herzschlagvolumen (SV) und das Herzminutenvolumen (HZV) kontinuierlich und nichtinvasiv bestimmt werden. Dazu werden dem Probanden drei spezielle längliche Elektroden, an denen Spannungsänderungen abgelesen werden können, angelegt. Eine Elektrode wird im Nacken angebracht, die anderen zwei Elektroden jeweils am unteren Rand des linken und rechten Rippenbogens auf Höhe des Xyphoids. Über diese Elektroden wird kontinuierlich ein geringer elektrischer Strom (40 μ A bei 40 kHz) in den Körper eingespeist, um daraus die Spannungsänderungen während des Herzzyklus abzuleiten. Nach dem Ohmschen Gesetz lässt sich anschließend der Thoraxwiderstand errechnen und damit das Schlagvolumen des Herzens, was im Folgenden genauer beschrieben wird.

Das Schlagvolumen kann mit Hilfe von drei wesentlichen Komponenten berechnet werden:

- 1.) Das Thoraxvolumen (V_{th}), welches sich aus der Körpergröße (H), dem Bodymaßindex (BMI), der Basis-Impedanz (Z_0) und einigen fixen Komponenten der Funktion des Schlagvolumens ergibt (C_1 , n und m). Daraus ergibt sich folgende Formel für das Thoraxvolumen: $V_{th} = C_1 \times H^3 \times \frac{BMI^n}{Z_0^m}$
- 2.) Die linksventrikuläre Ejektionszeit (LVET), welche aus dem EKG abgelesen wird
- 3.) Die zeitliche Ableitung der Änderung des Thoraxwiderstandes (dZ/dt)

Diese drei Komponenten ergeben folgende Formel zur Errechnung des Schlagvolumens:

$$SV = V_{th} \times LVET \times \frac{dZ/dt}{Z_0}$$

Aus dem so errechneten Schlagvolumen (SV) lässt sich unter Berücksichtigung der Herzfrequenz (HFQ) auch das Herzzeitvolumen (HZV) berechnen. Die Formel lautet:

$$HZV = SV \times HFQ$$

In einer Studie zeigte die Messung des Schlagvolumens mittels der Impedanzkardiographie, verglichen mit der invasiven Goldstandardmethode der Thermodilution, valide und reproduzierbare Ergebnisse (77).

2.10 Angewandte Verfahren der Blutdruckmessung

Der arterielle Blutdruck wurde mittels folgender Verfahren gemessen:

- **Oszillometrische Einzelmessungen:**

Jeweils vor den einzelnen vier Untersuchungszeitpunkten wurde, nach einer fünfzehnminütigen Ruhepause, der Blutdruck in liegender Position mit einem automatischen oszillometrischen Blutdruckmessgerät (*Dynamap, Tampa, USA*) erfasst. Die Messung erfolgte am Oberarm und die Manschettenbreite betrug jeweils ca. 75% der Oberarmlänge des einzelnen Probanden (Schulter - Olecranon).

Aus jeweils drei Messungen an beiden Armen wurde ein Mittelwert gebildet.

- **24-Stunden-Langzeitmessungen:**

Den Probanden wurde jeweils vor dem ersten und zweiten Untersuchungstag ein ambulantes 24h-Langzeit-Blutdruckmessgerät am Oberarm angelegt (*Dynamap, Tampa, USA*). Die Manschettenbreite betrug ca. 75% der Oberarmlänge (Schulter - Olecranon). Das Gerät führt automatisch tagsüber (06 Uhr bis 22 Uhr) alle 15 Minuten und nachts (22 Uhr bis 06 Uhr) alle 30 Minuten Blutdruckmessungen durch. Aus den Ergebnissen wurden Tages-, Nacht-, und 24-Stunden-Durchschnittswerte berechnet.

- **Kontinuierliche Blutdruckmessung an der Fingerspitze:**

An jedem der vier Untersuchungszeitpunkte wurde eine kontinuierliche Blutdruckmessung an der Fingerspitze mit dem *Task-Force*®-Monitor durchgeführt. Genaue Erläuterungen zur Methode dieser Blutdruckmessung finden sich in Abschnitt 2.9.2.

2.11 Statistische Analysen

Die deskriptiven statistischen Daten sind, wenn nicht anders angegeben, als Mittelwert (MW) \pm Standardfehler (SE) angegeben. Die Grundlinienwerte werden repräsentiert durch die erhobenen Werte zum Zeitpunkt Tag 1 basal.

Die Gruppenmittelwerte wurden mit Hilfe der Varianzanalyse (ANOVA) für Messwiederholungen auf signifikante Unterschiede hin überprüft. Das Signifikanzniveau wurde bei 0,05 festgelegt. Lineare Korrelationen wurden zweiseitig nach Pearson's r berechnet. Die statistische Datenverarbeitung wurde mit Hilfe des SPSS-Paketes 20 (*Statistical package for analysis in social sciences, release 20, SPSS Inc., Chicago, USA*) durchgeführt.

Die Abbildungen sind mit Hilfe der Programme Paint für Windows 7, Microsoft Office Word 2007, Microsoft Office Power Point 2007 und Microsoft Office Excel 2007 erstellt worden.

3 Ergebnisse

3.1 Allgemeine Charakteristika der Studienpopulation

Zwischen den Probanden der JUNG- und der ALT-Gruppe bestanden bei den Basalwerten (Tag 1 basal) hinsichtlich allgemeiner Charakteristika sowie laborchemischer Parameter mehrere signifikante Unterschiede (s. Tabelle 5). Die Probanden der ALT-Gruppe wiesen höhere Werte beim BMI, Gesamt- und LDL-Cholesterin sowie Nüchtern-Blutzucker auf. Allerdings lagen alle Werte im Bereich der Norm; bei keinem der Probanden ergab sich nach den aktuellen Therapierichtlinien die Indikation für eine medikamentöse Therapie.

Die JUNG-Gruppe wies ein niedriges (<1%), die ALT-Gruppe ein mittleres ($3,7 \pm 0,4\%$) Zehn-Jahres kardiovaskuläres Mortalitätsrisiko auf. Das kardiovaskuläre Zehn-Jahres Mortalitätsrisiko wurde mithilfe des „HeartScore“ berechnet (78).

Die übrigen Parameter zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Bei keinem der Probanden wurde jemals die Diagnose einer kardiovaskulären Erkrankung gestellt und es fanden sich auch keine Symptome oder Anzeichen einer kardiovaskulären Erkrankung. Bei der körperlichen Untersuchung ergaben sich keine pathologischen Befunde. Die Testgetränke wurden von allen Probanden gut toleriert und keiner der Probanden berichtete von unerwünschten Nebenwirkungen.

	JUNG-Gruppe	ALT-Gruppe
Probandenanzahl	22	20
Alter (Jahre)	26 ± 1	60 ± 2*
BMI (kg/m ²)	24,9 ± 0,5	26,5 ± 0,7*
Größe (m)	1,83 ± 0,01	1,81 ± 0,01
Gewicht (kg)	81 ± 2	88 ± 3
Kreatinin (mg/dl)	1,0 ± 0,03	1,0 ± 0,03
Gesamtcholesterin (mg/dl)	172 ± 7	207 ± 7*
LDL Cholesterin (mg/dl)	129 ± 7	157 ± 6*
HDL Cholesterin (mg/dl)	53 ± 4	54 ± 2
Triglyzeride (mg/dl)	97 ± 44	118 ± 39
Nüchternplasmaglukose (mg/dl)	89 ± 2	95 ± 2*
HbA1c (%)	4,8 ± 0,3	4,6 ± 0,4
CRP (mg/dl)	0,1 ± 0,03	0,1 ± 0,03
Hämoglobin (mg/dl)	15,3 ± 1,0	15,4 ± 1,1
Leukozyten (1000/µl)	5,5 ± 0,3	5,8 ± 0,3

Tabelle 5: Charakteristika der Studienpopulation

Darstellung allgemeiner Charakteristika der Probanden im Vergleich zwischen der JUNG- und der ALT-Gruppe. (* = p<0,05 gegenüber der JUNG-Gruppe, % = Prozent, BMI = Bodymaßindex, CRP = C-reaktives Protein, LDL = Lipoprotein niedriger Dichte, HDL = Lipoprotein hoher Dichte, m = Meter, m² = Quadratmeter, s = Sekunde, dl = Deziliter, µl = Mikroliter, kg = Kilogramm, mg = Milligramm)

3.1.1 Hämodynamische Charakteristika der Studienpopulation

Einige der hämodynamischen Basalwerte (Tag 1 Basal) der ALT-Gruppe unterschieden sich signifikant von denen der JUNG-Gruppe (s. Tabelle 6).

Das Herzzeitvolumen der JUNG-Gruppe zeigte signifikant größere Werte im Vergleich zur ALT-Gruppe ($6,4 \pm 0,2$ vs. $5,2 \pm 0,3$ l/min; $p < 0,05$). Da die Herzfrequenz in beiden Gruppen identische Werte aufwies (56 ± 2 vs. 56 ± 2 1/s; $p = \text{n.s.}$), ist das größere Herzzeitvolumen offensichtlich auf ein größeres Herzschlagvolumen zurückzuführen. Es war den vorliegenden Untersuchungen zufolge in der JUNG-Gruppe signifikant größer als in der ALT-Gruppe (107 ± 4 vs. 84 ± 2 ml; $p < 0,05$).

Auch bei den gemessenen Blutdruckwerten konnten signifikante Unterschiede bei den Basalwerten beobachtet werden. In der JUNG-Gruppe lag der bei den Einzelmessungen gemessene systolische Blutdruck (120 ± 2 vs. 131 ± 3 mmHg; $p < 0,05$) ebenso wie der diastolische Blutdruck (77 ± 2 vs. 82 ± 2 mmHg; $p < 0,05$) signifikant unter den Werten, die in der ALT-Gruppe gemessen wurden. Analog dazu wurden bei der JUNG-Gruppe signifikant niedrigere Werte des zentralen Blutdruckes, des an der Fingerspitze gemessenen Blutdruckes und des 24-Stunden-Langzeitblutdruckes festgestellt.

Als Zeichen einer größeren arteriellen Gefäßsteifigkeit wiesen die Probanden der ALT-Gruppe signifikant höhere Werte bei der Pulswellengeschwindigkeit ($9,4 \pm 0,4$ vs. $5,9 \pm 0,2$ m/s; $p < 0,05$) und beim Augmentationsindex auf (20 ± 2 vs. -11 ± 2 %; $p < 0,05$).

Sowohl die Ergebnisse der endothelabhängigen flussvermittelten Vasodilatation ($5,2 \pm 0,2$ vs. $6,3 \pm 0,2$ %; $p < 0,05$) als auch der endothelunabhängigen nitroglyzerinvermittelten Vasodilatation ($12,6 \pm 0,5$ vs. $15,0 \pm 0,3$ %; $p < 0,05$) waren in der ALT-Gruppe signifikant niedriger. Der Diameter der Arteria brachialis zeigte in der ALT-Gruppe signifikant größere Werte als in der JUNG-Gruppe ($4,8 \pm 0,2$ vs. $4,4 \pm 0,1$ mm; $p < 0,05$).

	JUNG-Gruppe	ALT-Gruppe
Herzfrequenz (1/min)	56 ± 2	56 ± 2
Schlagvolumen (ml)	107 ± 4	84 ± 2 *
Herzzeitvolumen (l/min)	6,4 ± 0,2	5,2 ± 0,3 *
SBP Einzelmessung (mmHg)	120 ± 2	131 ± 3 *
DBP Einzelmessung (mmHg)	77 ± 2	82 ± 2 *
SBP Fingerspitze (mmHg)	114 ± 3	126 ± 4*
DBP Fingerspitze (mmHg)	72 ± 2	83 ± 3*
SBP 24h-Langzeit (mmHg)	127 ± 2	135 ± 3 *
DBP 24h-Langzeit (mmHg)	76 ± 2	89 ± 3 *
SBP Zentral (mmHg)	104 ± 3	125 ± 4 *
DBP Zentral (mmHg)	77 ± 2	84 ± 3 *
Diameter Arteria brachialis (mm)	4,4 ± 0,1	4,8 ± 0,2 *
FMD (%)	6,3 ± 0,2	5,2 ± 0,2 *
NMD (%)	15,0 ± 0,3	12,6 ± 0,5 *
Pulswellengeschwindigkeit (m/s)	5,9 ± 0,2	9,4 ± 0,4 *
Augmentationsindex (%)	-11,2 ± 2	20 ± 2 *

Tabelle 6: Hämodynamische Charakteristika der Studienpopulation

Vergleich der Basalwerte (Tag 1 Basal) der hämodynamischen Charakteristika zwischen der JUNG- und der ALT-Gruppe.

(* = $p < 0,05$ gegenüber der JUNG-Gruppe, SBP = Systolischer Blutdruck, DBP = Diastolischer Blutdruck, FMD = Flussvermittelte Vasodilatation, NMD = Nitroglyzerin vermittelte Vasodilatation, % = Prozent, m = Meter, mm = Millimeter, min = Minute, s = Sekunde, l = Liter, ml = Milliliter, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule)

3.2 Flavonole steigern die endotheliale Funktion

Um der Frage nachzugehen, ob Flavonole einen positiven Effekt auf die endotheliale Funktion besitzen, wurden sonographische Messungen der flussvermittelten Vasodilatation (FMD) durchgeführt (s. Abb. 8).

In der JUNG-Gruppe stieg die FMD bei der akuten Messung eine Stunde nach der Einnahme des ersten flavanolreichen Testgetränkes signifikant von $6,1 \pm 0,2\%$ (Tag 1 basal) auf $7,4 \pm 0,2\%$ (Tag 1 post; $p < 0,05$). Auch nach der 14-tägigen chronischen Flavonoleinnahme konnten signifikant höhere FMD-Werte im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 gemessen werden. Die FMD stieg von $6,1 \pm 0,2\%$ (Tag 1 basal) auf $7,8 \pm 0,2\%$ (Tag 14 prä; $p < 0,05$).

In der ALT-Gruppe erhöhte sich die FMD bei der akuten Messung eine Stunde nach Einnahme des ersten flavanolreichen Testgetränkes signifikant von $4,9 \pm 0,2\%$ (Tag 1 basal) auf $5,9 \pm 0,2\%$ (Tag 1 post; $p < 0,05$). Nach der chronischen Flavonoleinnahme hielt dieser Effekt im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 an und die FMD stieg signifikant von $4,9 \pm 0,2\%$ (Tag 1 basal) auf $6,3 \pm 0,3\%$ (Tag 14 prä; $p < 0,05$).

Die letztmalige Flavonoleinnahme an Tag 14 zur Messung der akut auf chronischen Effekte (Tag 14 prä vs. Tag 14 post) konnte weder in der ALT- noch in der JUNG-Gruppe zu einer weiteren Steigerung der FMD führen.

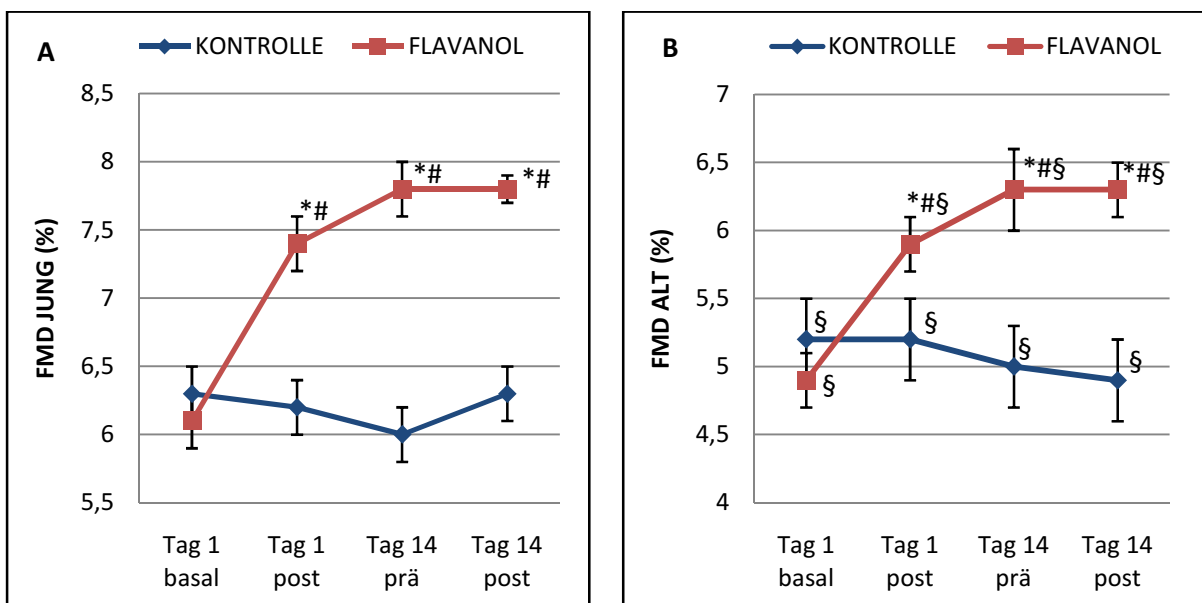


Abb. 8: Flavanolabhängig gesteigerte Endothelfunktion

Darstellung der Veränderungen der FMD im Vergleich zwischen der JUNG-(A) und ALT-Gruppe (B). (* = $p < 0,05$ vs. individuelle Basalwerte (Tag 1 basal), # = $p < 0,05$ vs. KONTROLLE in gleicher Altersgruppe zum gleichen Zeitpunkt, § = $p < 0,05$ vs. JUNG zum gleichen Zeitpunkt und gleicher Interventionsgruppe, FMD = Flussvermittelte Vasodilatation, % = Prozent)

In den KONTROLLE-Gruppen der ALT- und der JUNG-Gruppe konnte zu keinem der Untersuchungszeitpunkte eine signifikante Veränderung der FMD beobachtet werden.

Auffällig ist, dass die gemessenen Werte der FMD der ALT-Gruppe, sowohl in der KONTROLLE- als auch in der FLAVANOL-Gruppe, zu allen Zeitpunkten signifikant niedriger waren, als die zu den gleichen Zeitpunkten gemessenen Werte der FMD der JUNG-Gruppe.

Trotz unterschiedlicher Basalwerte der FMD (zwischen der JUNG- und der ALT-Gruppe) lag der Grad von akuter und chronischer Verbesserung der FMD (Effektgröße) bei ungefähr 21 bzw. 28% und war damit unabhängig von Alterseffekten ($p=n.s.$)

Wichtig zu erwähnen ist, dass die Flavanoleinnahme bei jedem Einzelnen der 42 Probanden zu einer Verbesserung der FMD führte.

Die jeweiligen Ausgangswerte des Ruhediameters der Arteria brachialis, die zu Beginn der FMD-Messungen an allen vier Untersuchungszeitpunkten gemessen worden waren, und die NMD zeigten weder in der FLAVANOL- noch in der KONTROLLE-Gruppe eine signifikante Veränderung im Vergleich zu den Basalwerten. Sie blieben somit unbeeinflusst von der Flavanoleinnahme.

Allerdings waren die Werte des Ruhediameters der Arteria brachialis (s. Abb. 9) der ALT-Gruppe, sowohl in der KONTROLLE- als auch in der FLAVANOL-Gruppe, zu allen Zeitpunkten signifikant höher verglichen mit den an den gleichen Zeitpunkten gemessenen Werten der JUNG-Gruppe.

Ein spiegelverkehrtes Bild zeigte sich bei den Ergebnissen der NMD-Messung (s. Abb. 10). Hier waren die Werte der NMD der ALT-Gruppe, sowohl in der KONTROLLE- als auch in der FLAVANOL-Gruppe, zu allen Zeitpunkten signifikant niedriger verglichen mit den an den gleichen Zeitpunkten gemessenen Werten der JUNG-Gruppe.

Zusammenfassend ist festzuhalten: Die akute und chronische Flavanoleinnahme führten sowohl in der ALT- als auch in der JUNG-Gruppe zu einer signifikant verbesserten Endothelfunktion, was über eine signifikante Steigerung der FMD gemessen werden konnte. Diese höheren FMD-Werte waren zu allen Untersuchungszeitpunkten im Vergleich zu den Basalwerten (Tag 1 basal) und im Vergleich zur KONTROLLE-Gruppe zu beobachten.

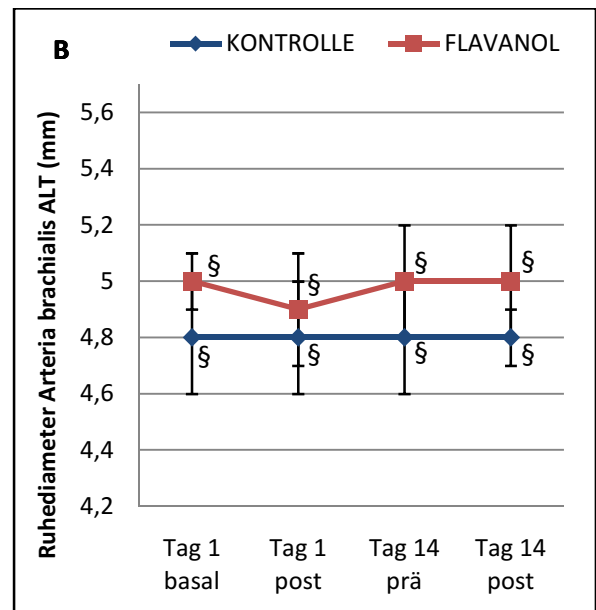
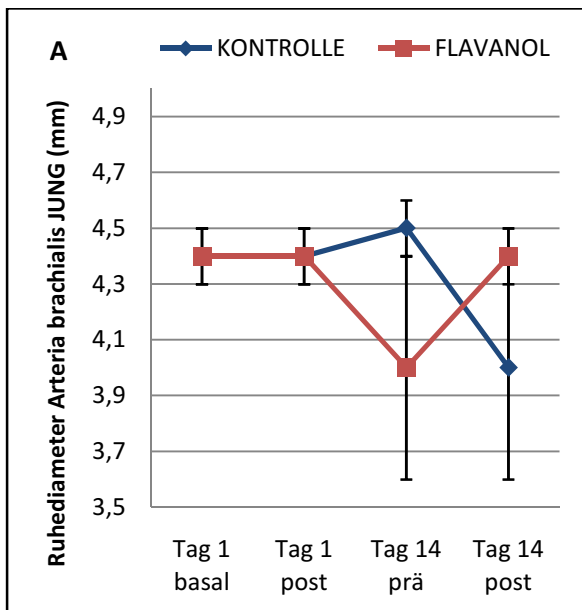


Abb. 9: Ruhediameter der Arteria brachialis

Darstellung des sonographisch gemessenen Ruhediameters der Arteria brachialis im Vergleich zwischen der JUNG- (A) und der ALT-Gruppe (B).

(§ = $p < 0,05$ vs. JUNG zum gleichen Zeitpunkt und gleicher Interventionsgruppe, mm = Millimeter)

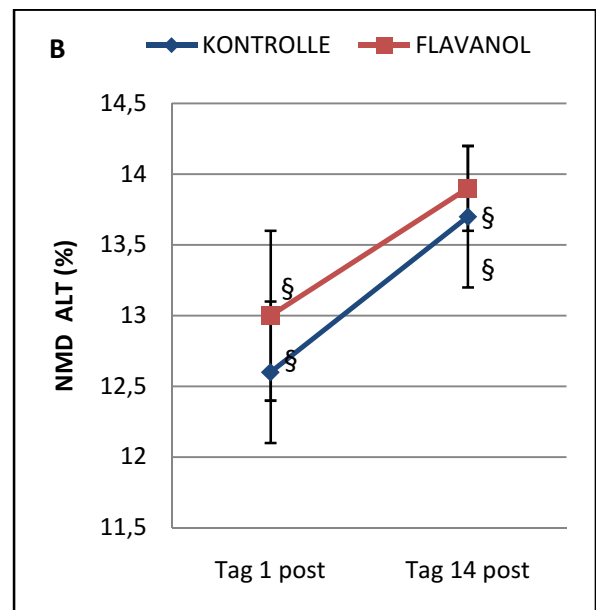
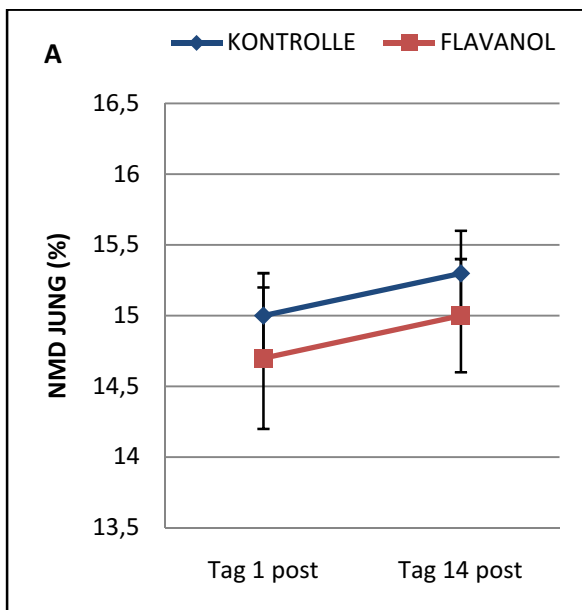


Abb. 10: Nitroglycerin vermittelte Vasodilatation

Illustration der sonographisch gemessenen NMD im Vergleich zwischen der JUNG- (A) und der ALT-Gruppe (B).

(§ = $p < 0,05$ vs. JUNG zum gleichen Zeitpunkt in der gleichen Interventionsgruppe, NMD = Nitroglycerin-vermittelte Vasodilatation, % = Prozent)

3.3 Flavonole senken die zentrale Pulswellengeschwindigkeit

Um zu untersuchen, ob Flavonole außer der endothelialen Funktion auch die arterielle Gefäßsteifigkeit beeinflussen, wurden Messungen der Pulswellengeschwindigkeit durchgeführt (s. Abb. 11).

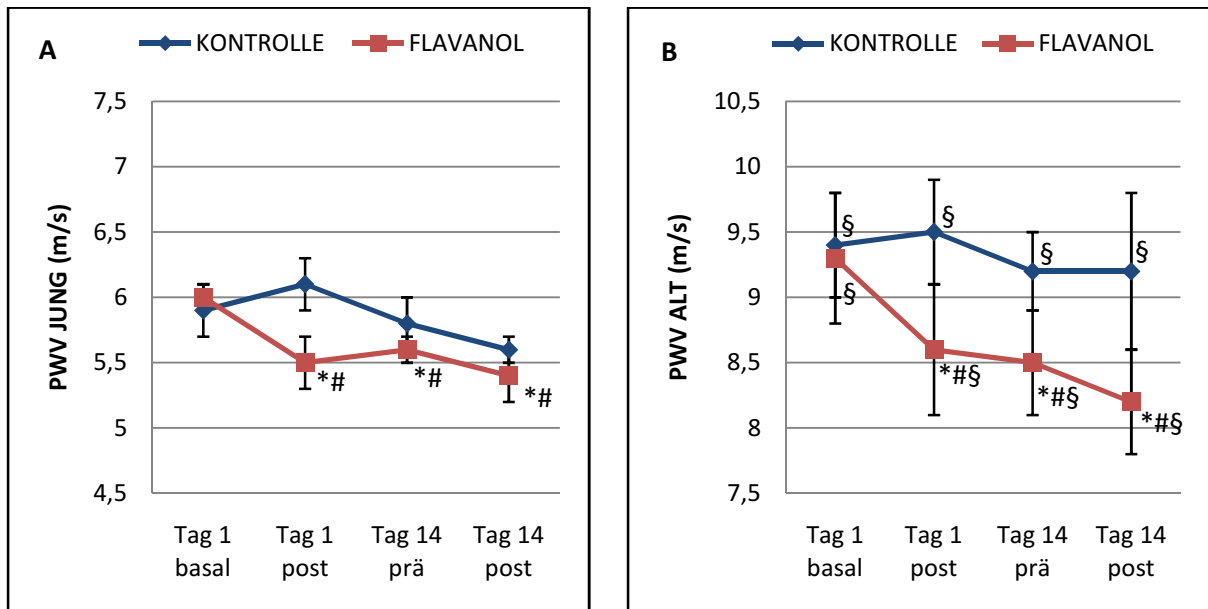


Abb. 11: Flavanolabhängig gesenkte PWV

Darstellung der flavanolabhängig gesenkten PWV im Vergleich zwischen der JUNG- (A) und ALT-Gruppe (B).

(* = $p < 0,05$ vs. individuelle Basalwerte (Tag 1 basal), # = $p < 0,05$ vs. KONTROLLE in gleicher Altersgruppe zum gleichen Zeitpunkt, § = $p < 0,05$ vs. JUNG zum gleichen Zeitpunkt und in der gleichen Interventionsgruppe, PWV = Pulswellengeschwindigkeit, m = Meter, s = Sekunde)

In der JUNG-Gruppe sank die PWV bei der akuten Messung eine Stunde nach der Einnahme des ersten flavanolreichen Testgetränkes signifikant von $6,0 \pm 0,1$ m/s (Tag 1 basal) auf $5,5 \pm 0,2$ m/s (Tag 1 post; $p < 0,05$). Auch nach der 14-tägigen chronischen Flavaneinnahme hielt dieser Effekt an und die PWV wies im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 einen signifikant geringeren Wert auf. Die PWV sank von $6,0 \pm 0,1$ m/s (Tag 1 basal) auf $5,6 \pm 0,1$ m/s (Tag 14 prä, $p < 0,05$).

In der ALT-Gruppe sank die PWV akut signifikant von $9,3 \pm 0,5$ m/s (Tag 1 basal) auf $8,6 \pm 0,5$ m/s (Tag 1 post; $p < 0,05$). Nach der chronischen Flavaneinnahme hielt dieser Effekt an und die PWV verringerte sich signifikant von $9,3 \pm 0,5$ m/s (Tag 1 basal) auf $8,5 \pm 0,4$ m/s (Tag 14 prä; $p < 0,05$).

Die letztmalige Flavaneinnahme an Tag 14 zur Messung der akut auf chronischen Effekte (Tag 14 prä vs. Tag 14 post) konnte weder bei der JUNG- noch bei der ALT-Gruppe eine weitere signifikante Senkung der PWV bewirken.

In den KONTROLLE-Gruppen der ALT- und der JUNG-Gruppe trat zu keinem der Untersuchungszeitpunkte eine signifikante Veränderung der PWV auf.

Zu erwähnen ist weiterhin, dass die gemessenen Werte der PWV der ALT-Gruppe, sowohl in der KONTROLLE- als auch in der FLAVANOL-Gruppe, zu allen Zeitpunkten signifikant höher waren als die zu den gleichen Zeitpunkten gemessenen Werte der PWV der JUNG-Gruppe.

Zusammenfassend lässt sich sagen: Die akute und chronische Flavanoleinnahme führten zu einer signifikant gesenkten zentralen PWV in der ALT- und in der JUNG-Gruppe. Diese Veränderung der PWV war zu allen Untersuchungszeitpunkten im Vergleich zu den Basalwerten (Tag 1 basal) und im Vergleich zur KONTROLLE-Gruppe zu beobachten.

3.4 Flavanole senken den Augmentationsindex der ALT-Gruppe

Um mögliche Effekte der Flavanoleinnahme auf die arterielle Gefäßsteifigkeit genauer zu untersuchen, wurde zusätzlich der Augmentationsindex bestimmt (s. Abb. 12).

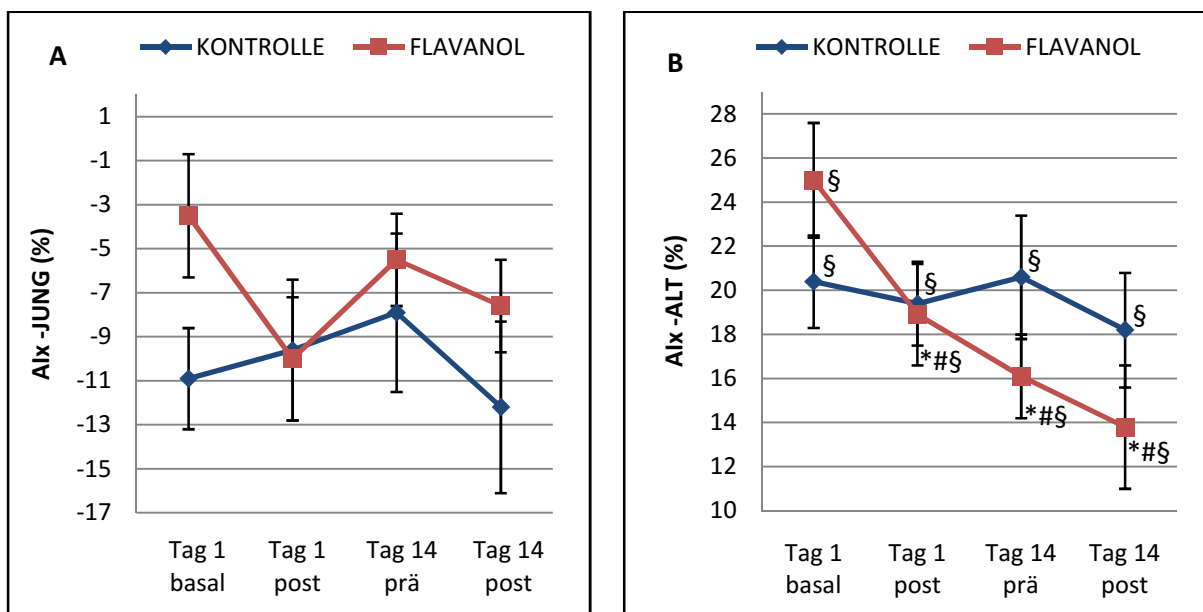


Abb. 12: Augmentationsindex im Zeitverlauf

Veranschaulichung der Veränderung des Aix im Zeitverlauf im Vergleich zwischen der JUNG- (A) und der ALT-Gruppe (B) und zwischen der FLAVANOL- und der KONTROLLE-Gruppe.

(* = $p < 0,05$ vs. individuelle Basalwerte (Tag 1 basal), # = $p < 0,05$ vs. KONTROLLE in gleicher Altersgruppe zum gleichen Zeitpunkt, § = $p < 0,05$ vs. JUNG zum gleichen Zeitpunkt und in der gleichen Interventionsgruppe, Aix = Augmentationsindex, % = Prozent)

In der JUNG-Gruppe konnten zu keinem Untersuchungszeitpunkt signifikante Veränderungen des Aix, weder im Vergleich zum Zeitpunkt Tag 1 basal, noch im Vergleich zur KONTROLLE-Gruppe, beobachtet werden.

In der ALT-Gruppe sank bei der akuten Messung eine Stunde nach der Einnahme des ersten flavanolreichen Testgetränkes der AIX signifikant von $25,0 \pm 2,6\%$ (Tag 1 basal) auf $18,9 \pm 2,3\%$ (Tag 1 post; $p < 0,05$). Auch nach der chronischen Flavanoleinnahme hielt dieser Effekt im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 an. Der AIX sank signifikant von $25,0 \pm 2,6\%$ (Tag 1 basal) auf $16,1 \pm 1,9\%$ (Tag 14 prä; $p < 0,05$). Die letztmalige Flavanoleinnahme an Tag 14 zur Messung der akut auf chronischen Effekte (Tag 14 prä vs. Tag 14 post) führte hingegen zu keiner weiteren signifikanten Senkung des AIX.

In den KONTROLLE-Gruppen der JUNG- und der ALT-Gruppe konnte zu keinem der Zeitpunkte eine signifikante Veränderung des AIX beobachtet werden.

Anzumerken ist, dass die gemessenen Werte des AIX der ALT-Gruppe, sowohl in der KONTROLLE- als auch in der FLAVANOL-Gruppe, zu allen Zeitpunkten signifikant höher waren als die zu den gleichen Zeitpunkten gemessenen Werte des AIX der JUNG-Gruppe.

Zusammenfassend ist festzuhalten: Die akute und chronische Flavanoleinnahme führten zu einer altersspezifischen signifikanten Senkung des Augmentationsindex bei den Probanden der ALT-Gruppe, die zu allen Untersuchungszeitpunkten im Vergleich zum Zeitpunkt Tag 1 basal sowie im Vergleich zur KONTROLLE-Gruppe zu beobachten war. In der JUNG-Gruppe hingegen zeigten sich keine signifikanten Veränderungen des AIX.

3.5 Einfluss der Flavanole auf den peripheren und auf den zentralen systolischen Blutdruck

In den folgenden Abschnitten (3.5.1 und 3.5.2) werden die Resultate der peripheren und der zentralen Blutdruckmessungen dargestellt. Dabei konzentriert sich diese Arbeit lediglich auf den systolischen Blutdruck.

Um zu erkennen, ob die Flavanoleinnahme altersabhängig auf den Blutdruck einwirkt, wurden die Ergebnisse der ALT-Gruppe denen der JUNG-Gruppe gegenübergestellt.

3.5.1 Flavanole senken den peripheren systolischen Blutdruck der ALT-Gruppe

Zur Beantwortung der Frage, ob Flavanole den peripheren systolischen Blutdruck verändern, wurde dieser zu jedem der vier Untersuchungszeitpunkte mit einem automatischen oszillometrischen Blutdruckmessgerät am Oberarm und einer kontinuierlichen, fünf Minuten andauernden Blutdruckmessung an der Fingerspitze bestimmt. Diese Messungen wurden durch 24-Stunden-Langzeit-Blutdruckmessungen jeweils vor dem ersten und vor dem zweiten Untersuchungstag ergänzt. Im folgenden Abschnitt werden jeweils die peripheren systolischen

Blutdruckwerte aus den Einzelblutdruckmessungen am Oberarm dargestellt (s. Abb. 13).

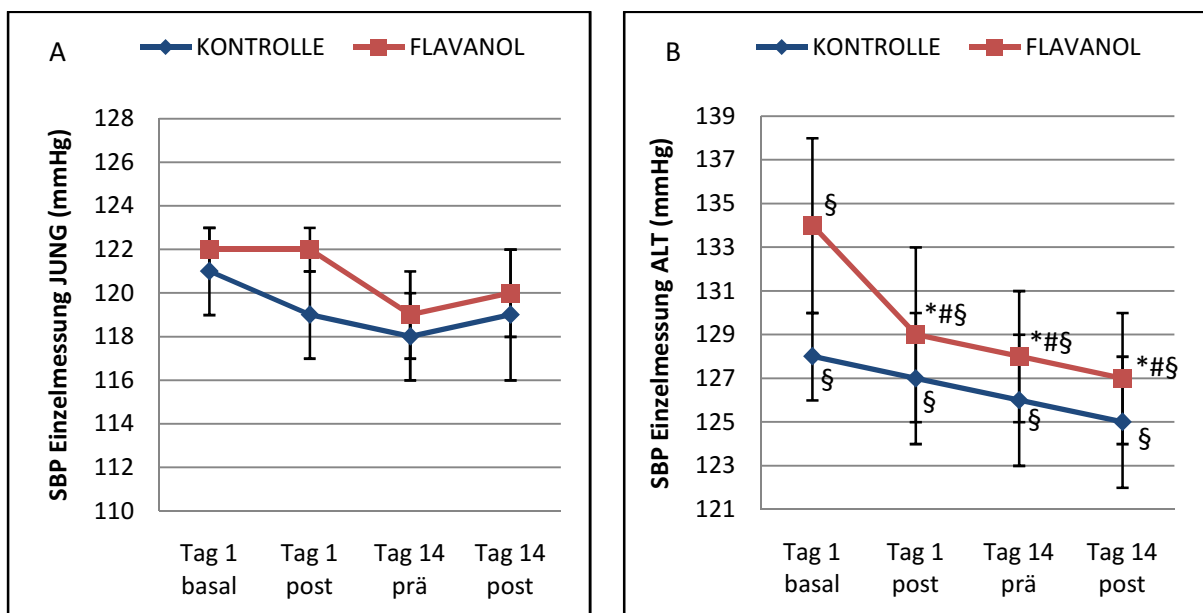


Abb. 13: Flavanolabhängig gesenkter peripherer systolischer Blutdruck (Einzelmessung)

Darstellung des peripheren SBP gemessen durch Einzelmessungen am Oberarm im Vergleich von JUNG (A) zu ALT (B) und FLAVANOL zu KONTROLLE.

(* = $p < 0,05$ vs. individuelle Basalwerte (Tag 1 basal), # = $p < 0,05$ vs. KONTROLLE in gleicher Altersgruppe zum gleichen Zeitpunkt, § = $p < 0,05$ vs. JUNG zum gleichen Zeitpunkt und in gleicher Interventionsgruppe, SBP = Systolischer Blutdruck, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule)

Bei den Probanden der JUNG-Gruppe konnten zu keinem Untersuchungszeitpunkt signifikante Veränderungen des peripheren systolischen Blutdruckes, weder im Vergleich zum Zeitpunkt Tag 1 basal noch im Vergleich zur KONTROLLE-Gruppe, beobachtet werden.

In der ALT-Gruppe hingegen sank bei der akuten Messung eine Stunde nach der Einnahme des ersten flavanolreichen Testgetränkes der periphere systolische Blutdruck signifikant von 134 ± 4 mmHg (Tag 1 basal) auf 129 ± 3 mmHg (Tag 1 post; $p < 0,05$). Nach der 14-tägigen chronischen Einnahme der Flavanole traten ebenfalls signifikant niedrigere periphere systolische Blutdruckwerte im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 auf. Der periphere systolische Blutdruck fiel von 134 ± 4 mmHg (Tag 1 basal) auf 128 ± 3 mmHg (Tag 14 prä; $p < 0,05$).

Nach der letztmaligen Flavanoleinnahme an Tag 14 zur Messung der akut auf chronischen Effekte (Tag 14 prä vs. Tag 14 post) konnte hingegen keine weitere signifikante Senkung des peripheren systolischen Blutdruckes beobachtet werden.

In den KONTROLLE-Gruppen der JUNG- und der ALT-Gruppe war zu keinem der Zeitpunkte eine signifikante Senkung oder Erhöhung des peripheren systolischen Blutdruckes festzustellen.

Zu erwähnen ist, dass die peripheren systolischen Blutdruckwerte der ALT-Gruppe, sowohl in

der KONTROLLE- als auch FLAVANOL-Gruppe, zu allen Zeitpunkten signifikant höhere Werte aufwiesen, als die zu den gleichen Zeitpunkten gemessenen Blutdrücke der JUNG-Gruppe.

Um eine größere Validität der Ergebnisse aus den Blutdruckmessungen am Oberarm zu erhalten wurden diese Ergebnisse mit den Blutdruckwerten aus den weiteren angewendeten Methoden der Blutdruckmessung verglichen. Dabei fiel auf, dass die Ergebnisse der Einzelmessungen des peripheren systolischen Blutdruckes am Oberarm in ihrer Tendenz und Signifikanz analog zu den Ergebnissen der kontinuierlichen Blutdruckmessung an der Fingerspitze und der 24-Stunden-Langzeit-Blutdruckmessung sind (s. Abb. 14). Somit unterstützen diese weiteren Messmethoden die Ergebnisse aus den Einzelmessungen am Oberarm.

Zusammenfassend bewirkten die akute und chronische Flavanoleinnahme eine altersspezifische Senkung des peripheren systolischen Blutdruckes. So konnte bei den Probanden der

ALT-Gruppe eine signifikante Senkung des peripheren systolischen Blutdruckes zu allen Untersuchungszeitpunkten im Vergleich zum Zeitpunkt Tag 1 basal, sowie im Vergleich zur KONTROLLE-Gruppe beobachtet werden. Bei den Probanden der JUNG-Gruppe jedoch konnten zu keinem Untersuchungszeitpunkt signifikante Veränderungen des peripheren systolischen Blutdruckes beobachtet werden.

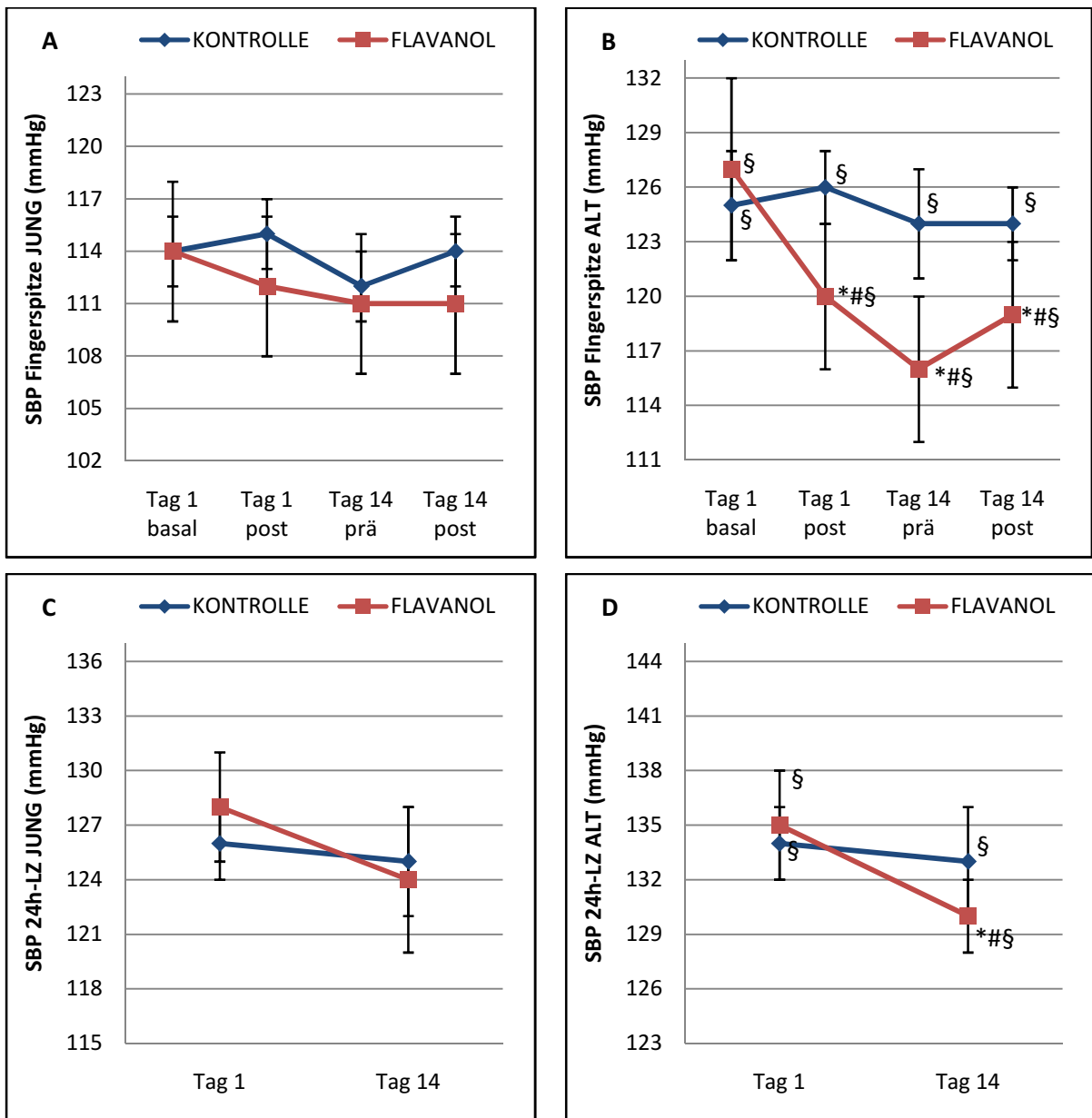


Abb. 14: Peripherer systolischer Blutdruck (Fingerspitzen und 24-Stunden-Langzeit-Messung) im Zeitverlauf

Darstellung des peripheren SBP gemessen durch eine Messung an der Fingerspitze (A+B) und eine ambulante 24h-LZ-Messung am Oberarm (C+D).

(* = $p < 0,05$ vs. individuelle Basalwerte (Tag 1 basal), # = $p < 0,05$ vs. KONTROLLE in gleicher Altersgruppe zum gleichen Zeitpunkt, § = $p < 0,05$ vs. JUNG zum gleichen Zeitpunkt und gleicher Interventionsgruppe, SBP = Systolischer Blutdruck, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, h = Stunde, LZ = Langzeit)

3.5.2 Flavanole senken den zentralen systolischen Blutdruck der ALT-Gruppe

Um zu untersuchen, ob Flavanole neben dem peripheren systolischen Blutdruck auch den zentralen systolischen Blutdruck senken können, wurden zusätzliche Messungen des zentralen systolischen Blutdruckes mit Hilfe des *SphygmoCor*®-Systems durchgeführt (s. Abb. 15).

Dabei fanden sich in Tendenz und Signifikanz analoge Werte im Vergleich zu den Ergebnissen

aus den peripheren systolischen Blutdruckmessungen.

In der JUNG-Gruppe konnte zu keinem Untersuchungszeitpunkt eine signifikante Veränderung des zentralen systolischen Blutdruckes beobachtet werden, weder im Vergleich zum Zeitpunkt Tag 1 basal noch im Vergleich zur KONTROLLE-Gruppe.

Jedoch sank der zentrale systolische Blutdruck in der ALT-Gruppe bei der Messung eine Stunde nach der akuten Einnahme des ersten flavanolreichen Testgetränkes signifikant von 127 ± 6 mmHg (Tag 1 basal) auf 123 ± 6 mmHg (Tag 1 post; $p < 0,05$). Auch unter der chronischen Einnahme der Flavanole hielt dieser Effekt im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 an. Der zentrale systolische Blutdruck fiel signifikant von 127 ± 6 mmHg (Tag 1 basal) auf 120 ± 5 mmHg (Tag 14 prä; $p < 0,05$). Bei der letztmaligen Flavanoleinnahme an Tag 14 zur Messung der akut auf chronischen Effekte (Tag 14 prä vs. Tag 14 post) war hingegen keine weitere signifikante Senkung des zentralen systolischen Blutdruckes festzustellen.

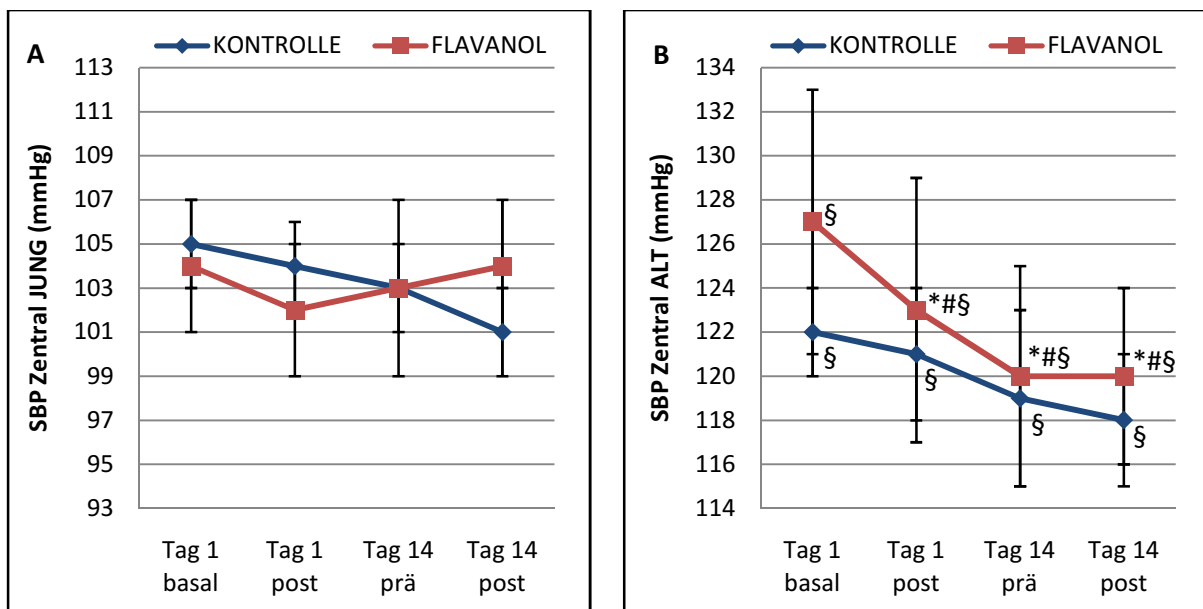


Abb. 15: Zentraler systolischer Blutdruck im Zeitverlauf

Veränderungen des zentralen SBP im Vergleich zwischen der JUNG- (A) und der ALT-Gruppe (B) nach Flavanoleinnahme.

(* = $p < 0,05$ vs. individuelle Basalwerte (Tag 1 basal), # = $p < 0,05$ vs. KONTROLLE in gleicher Altersgruppe zum gleichen Zeitpunkt, § = $p < 0,05$ vs. JUNG zum gleichen Zeitpunkt und in gleicher Interventionsgruppe, SBP = Systolischer Blutdruck, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule)

In den KONTROLLE-Gruppen der JUNG- und der ALT-Gruppe wurde zu keinem der Untersuchungszeitpunkte weder eine signifikante Senkung noch Erhöhung des zentralen systolischen Blutdruckes im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 registriert.

Anzumerken ist, dass die Werte des zentralen systolischen Blutdruckes der ALT-Gruppe sowohl in der KONTROLLE- als auch in der FLAVANOL-Gruppe zu allen Zeitpunkten signifikant höher waren als die zu den gleichen Zeitpunkten gemessenen zentralen

Blutdruckwerten der JUNG-Gruppe.

Zusammenfassend ist festzuhalten: Analog zu den Ergebnissen der peripheren systolischen Blutdruckmessung konnte eine signifikante, flavanolbedingte und altersspezifische Senkung des zentralen systolischen Blutdruckes bei den Probanden der ALT-Gruppe beobachtet werden. Dieser Effekt trat sowohl nach der akuten als auch nach der chronischen Einnahme im Vergleich zu den Basalwerten auf. Bei den Probanden der JUNG-Gruppe war dieser Effekt nicht nachzuweisen.

3.6 Flavonole beeinflussen nicht die kardiale Ruhefunktion

Um der Frage nachzugehen, ob die beobachteten Effekte der Flavonole auf die PWV und den AIx sowie den systolischen Blutdruck durch Veränderungen der kardialen Ruhefunktion beeinflusst werden, wurden die Ergebnisse aus den Messungen des *Task-Force*[®]-Monitors analysiert. Dabei konnte gezeigt werden, dass weder in der JUNG- noch in der ALT-Gruppe die Flavonoleinnahme einen signifikanten Einfluss auf die kardiale Ruhefunktion hatte. Zu keinem der Untersuchungszeitpunkte traten signifikante Veränderungen der Herzfrequenz, des Herzschlagvolumens und des Herzzeitvolumens im Vergleich zu den jeweiligen Basalwerten der ALT- und der JUNG-FLAVANOL-Gruppe und auch nicht im Vergleich zu den jeweiligen KONTROLLE-Gruppen auf (s. Abb. 16 und Abb. 17).

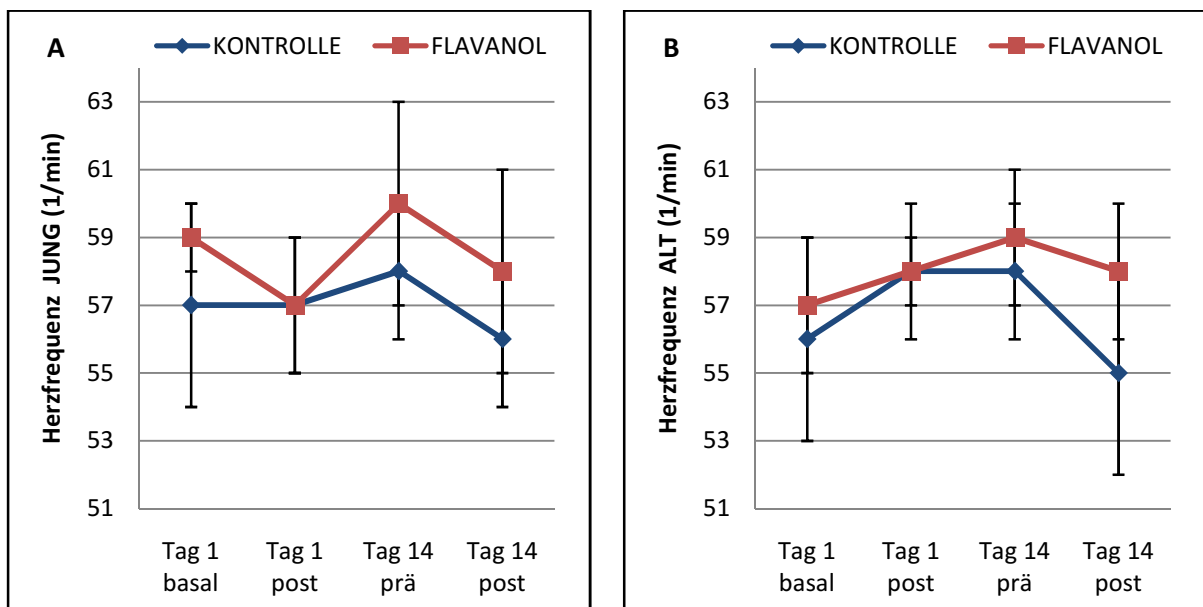


Abb. 16: Herzfrequenz im Zeitverlauf

Veranschaulichung der Herzfrequenz im Vergleich zwischen der JUNG- (A) und der ALT-Gruppe (B). (min = Minute)

Zwischen der ALT- und der JUNG-Gruppe konnten bezogen auf die Herzfrequenz ebenso keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden (s. Abb. 16).

Allerdings waren die erhobenen Werte des Schlagvolumens und des Herzzeitvolumens zu allen Untersuchungszeitpunkten bei den Probanden der ALT-Gruppe im Vergleich zur JUNG-Gruppe signifikant niedriger (s. Abb. 17).

Zusammenfassend wird deutlich: Die Flavanoleinnahme beeinflusste weder in der ALT- noch in der JUNG-Gruppe signifikant die kardiale Ruhefunktion.

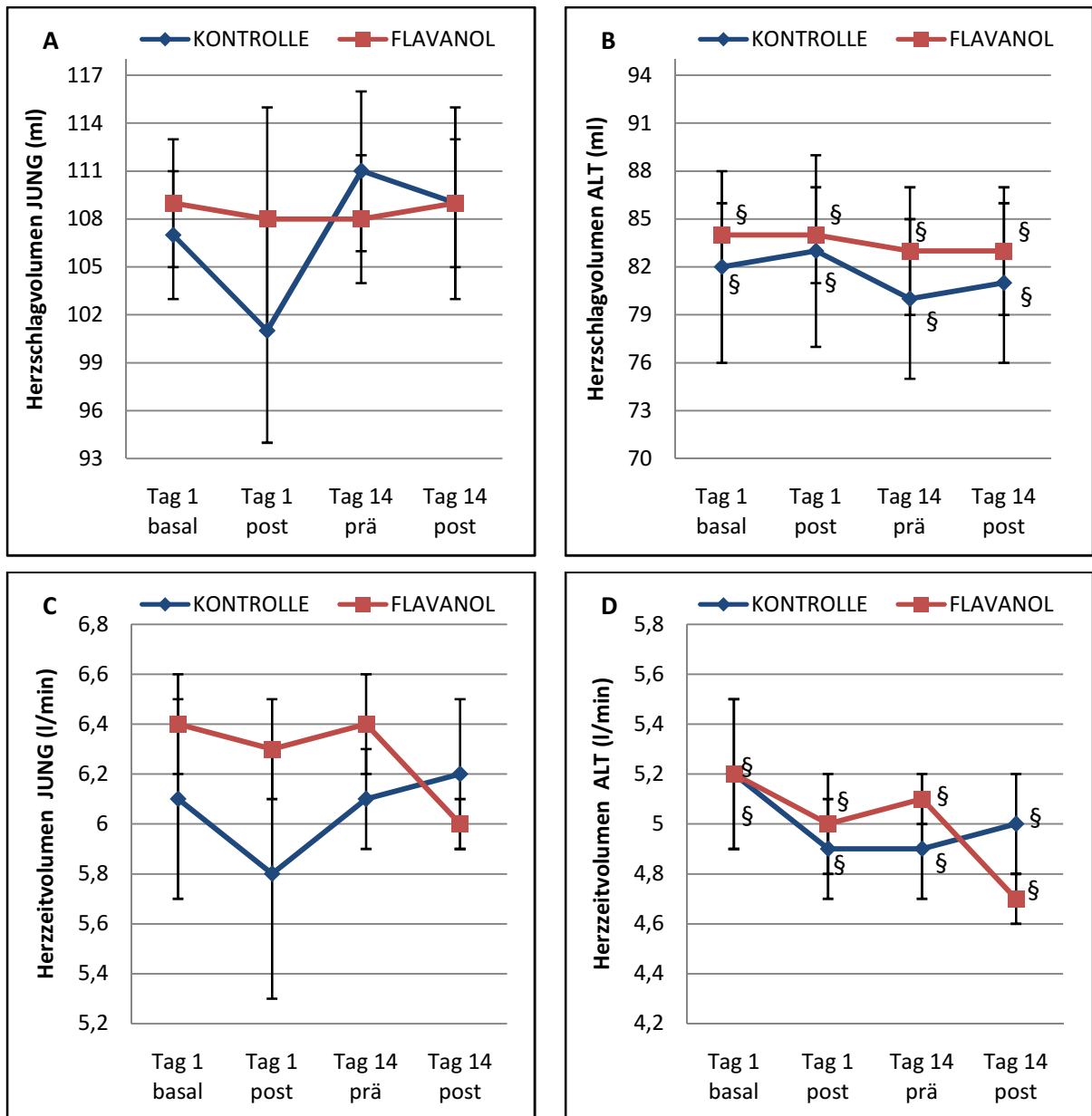


Abb. 17: Herzschlagvolumen und Herzzeitvolumen

Darstellung des Herzschlagvolumens (A+B) und des Herzzeitvolumens (C+D) im Vergleich zwischen den Probanden der JUNG- (A+C) und der ALT-GRUPPE (B+D).

(§ = $p < 0,05$ vs. JUNG zum gleichen Zeitpunkt und in gleicher Interventionsgruppe, ml = Milliliter, l = Liter, min = Minute)

4 Diskussion

In dieser Studie wurde zum ersten Mal nachgewiesen, dass eine diätetische Intervention mit Flavanolen die mit dem Alter assoziierten Veränderungen des Gefäßsystems bei gesunden älteren Probanden beeinflussen kann.

Folgende Effekte wurden durch die akute und chronische Flavanoleinnahme erzielt:

1. Die endotheliale Funktion der großen Leitungsarterien, gemessen über die FMD, konnte signifikant gesteigert werden.
2. Die arterielle Gefäßsteifigkeit, gemessen über die PWV und den AIx, konnte signifikant gesenkt werden.
3. Der zentrale und der periphere systolische Blutdruck konnten signifikant gesenkt werden.

Diese durch die Flavanoleinnahme vermittelten Effekte auf das Gefäßsystem waren unabhängig von Veränderungen im Bereich der kardialen Ruhefunktion, da die gemessenen kardialen Parameter (Herzzeitvolumen, Herzschlagvolumen, Herzfrequenz) keine signifikanten Veränderungen zeigten.

Im Folgenden werden die einzelnen Ergebnisse diskutiert und mit der aktuellen Literatur verglichen.

4.1 Flavanole steigern die endotheliale Funktion in der ALT- und JUNG-Gruppe

In dieser Studie wurde gezeigt, dass durch Flavanole die endotheliale Funktion der großen Leitungsarterien sowohl bei den Probanden der JUNG- als auch bei denen der ALT-Gruppe signifikant verbessert werden kann. Die endotheliale Funktion der großen Leitungsarterien wurde über eine sonographische Messung der FMD an der Arteria brachialis bestimmt. Den Ergebnissen vorheriger Studien zufolge korreliert die FMD der Arteria brachialis sehr gut mit der endothelialen Funktion anderer Leitungsarterien inklusive der Koronararterien (79). Somit erlaubt die Messung der FMD an der Arteria brachialis auch eine Aussage über die endotheliale Funktion des zentralen Gefäßsystems. Die Bestimmung der FMD stellt seit Jahren ein anerkanntes Verfahren zur Diagnostik einer endothelialen Dysfunktion dar. Dabei bestehen enge Assoziationen zwischen einer systemischen endothelialen Dysfunktion und den anerkannten kardiovaskulären Risikofaktoren (80-82). Dies wiederum verdeutlicht die besondere klinische Bedeutung der Messung der endothelialen Funktion mittels FMD.

Analog zu den Ergebnissen vorheriger Studien (83), wiesen die Probanden der ALT-Gruppe im Vergleich zu denen der JUNG-Gruppe eine signifikant niedrigere endotheliale Funktion auf, was am ehesten durch altersbedingte Veränderungen der Gefäßfunktion zu erklären ist. So kommt es altersbedingt zu einer eingeschränkten Bioaktivität von Stickstoffmonoxid (25-26) und zu einem gesteigerten oxidativen Stress (27). Beides reduziert die Bioverfügbarkeit von Stickstoffmonoxid bei älteren Menschen. Da die FMD vorwiegend durch die Aktivität der endothelialen NO-Synthase und damit durch die Bioverfügbarkeit des Stickstoffmonoxids bestimmt wird (28), erklären sich auf diese Weise die verminderten Werte der FMD in der ALT-Gruppe.

Diese eingeschränkte endotheliale Funktion konnte in Studien sowohl bei älteren Probanden mit einer arteriellen Hypertonie als auch bei gesunden älteren Probanden nachgewiesen werden (26). Diese Beobachtung bei gesunden Probanden verdeutlicht, dass es sich bei der eingeschränkten endothelialen Funktion mit zunehmendem Alter nicht um ein Derivat zunehmender pathologischer Einflüsse auf das Gefäßsystem handelt, sondern vielmehr um ein Merkmal eines physiologischen Alterungsprozesses des arteriellen Gefäßsystems.

Bezogen auf den Einfluss von Flavanolen auf die endotheliale Funktion konnte in anderen Studien bislang nachgewiesen werden, dass Flavanole die endotheliale Funktion bei jungen und mittelalten Probanden mit und ohne Diabetes Mellitus (84), mit Adipositas und Hypercholesterinämie (85), mit arterieller Hypertonie (61), mit kardiovaskulären Erkrankungen (86) und mit Nikotinabusus (87) verbessern können. Allerdings wurde bisher in keiner Studie spezifisch untersucht, ob Flavanole auch einen Einfluss auf die altersabhängige physiologisch verminderte endotheliale Funktion bei älteren, gesunden Probanden nehmen.

Mit der vorliegenden Studie ist es nun gelungen nachzuweisen, dass die endotheliale Funktion nicht nur bei gesunden, jungen Probanden, sondern auch bei gesunden, älteren Probanden durch die Einnahme von Flavanolen signifikant gesteigert werden kann. Diese Veränderung konnte direkt nach der akuten Flavanoleinnahme an Tag 1 gemessen werden und hielt auch noch nach der 14-tägigen chronischen Flavanoleinnahme an.

Auch in der Literatur finden sich mehrere Studien in denen Flavanole sowohl nach akuter als auch nach chronischer Einnahme die FMD bei Patienten erhöhen konnten (85, 87-88). Bestätigt wurde dieser Sachverhalt durch eine Metaanalyse von 42 randomisiert kontrollierten Studien, die ebenfalls zu dem Ergebnis kam, dass Flavanole eine akute und chronisch anhaltende Verbesserung der endothelialen Funktion bewirken (51). Daraus kann man ableiten, dass Flavanole in der Lage sind, nicht nur akut und kurzfristig die endotheliale Funktion positiv zu beeinflussen, sondern diesen Effekt auch über einen längeren Zeitraum aufrechtzuerhalten, denn die chronische Messung an Tag 14 wurde nüchtern durchgeführt,

also unbeeinflusst von einer weiteren Flavanoleinnahme.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die akute und chronische Flavanoleinnahme bei den Probanden der JUNG- und der ALT-Gruppe zu einer signifikant gesteigerten endothelialen Funktion führte, was wiederum weitere hämodynamische Parameter, wie die Pulswellengeschwindigkeit beeinflusst.

4.2 Die gesteigerte endotheliale Funktion senkt die Pulswellengeschwindigkeit in der ALT- und JUNG- Gruppe

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass Flavanole eine signifikante Senkung der PWV sowohl nach akuter Einnahme an Tag 1 als auch nach chronischer Einnahme an Tag 14 im Vergleich zu den Ausgangswerten erzielen können. Diese Veränderungen traten in der JUNG- und in der ALT-Gruppe auf, wohingegen in den jeweiligen KONTROLLE-Gruppen keine signifikante Veränderung der PWV zu beobachten war.

Die Bestimmung der PWV nimmt bei der kardiovaskulären Risikoeinschätzung eine immer wichtigere Rolle ein, da mehrere Studien belegt haben, dass die PWV einen starken unabhängigen Prädiktor der Mortalität darstellt (89-91). Dadurch gewinnen die Messung und die Analyse der PWV eine große klinische Bedeutung.

Die Messung der PWV wird seit geraumer Zeit als Goldstandard bei der Bestimmung der arteriellen Gefäßsteifigkeit angesehen (20). Sie gilt mittlerweile sogar als direktes Maß für die Bestimmung der arteriellen Gefäßsteifigkeit (10). Mit zunehmendem Alter kommt es, bedingt durch die altersbedingten Umbauprozesse in der Arterienwand, zu einer größeren Gefäßsteifigkeit. Dies resultiert in einem nichtlinearen Anstieg der PWV im Alter, vor allem ab dem 50. Lebensjahr, auf mitunter mehr als das Doppelte (10). Wie Querschnittstudien gezeigt haben ist der Anstieg der PWV zwischen dem 70. und 80. Lebensjahr am stärksten ausgeprägt. In diesem Zeitraum erhöht sich die PWV durchschnittlich um 1,8 m/s (92). Diese Steigerung mit zunehmendem Alter konnte auch in unserer Studie nachgewiesen werden. So wurden bei den Probanden der ALT-Gruppe zu allen Untersuchungszeitpunkten signifikant höhere Pulswellengeschwindigkeiten im Vergleich zur JUNG-Gruppe festgestellt.

Um zu verstehen, durch welchen Mechanismus sich diese altersbedingte Zunahme der PWV erklärt, muss man ihre Modulatoren betrachten. Die PWV wird vom Durchmesser der Arterien, von deren Dehnbarkeit und von der endothelialen Funktion beeinflusst. Dabei konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass eine inverse Korrelation zwischen der FMD als Maß für die endotheliale Funktion und der PWV besteht. Dieser Zusammenhang wurde in Studien an Patienten mit Diabetes Mellitus (93), mit einer koronaren Herzkrankheit (94), mit

Nikotinabusus (95) und mit chronischer Herzinsuffizienz (96) nachgewiesen. Eine weitere Studie konnte dieselbe Korrelation auch bei jungen, gesunden Probanden belegen (97). Da die FMD bei den Probanden unserer Studie altersbedingt in der ALT-Gruppe im Vergleich zur JUNG-Gruppe signifikant niedrigere Werte aufwies, erklärt sich so die signifikant höhere PWV in der ALT-Gruppe.

Über diesen Mechanismus lässt sich gleichermaßen die in unserer Studie beobachtete signifikante PWV-Senkung nach Flavanoleinnahme begründen. Die Flavanole bewirkten sowohl in der JUNG- als auch in der ALT-Gruppe eine signifikant gesteigerte endotheliale Funktion und führten so zu signifikant geringeren Werten der PWV. Konsistent zu dieser Erklärung der gesunkenen PWV wurde in unserer Studie in der ALT-Gruppe eine signifikante inverse Korrelation ($r = -0,56$; $p = 0,01$) zwischen den Veränderungen der PWV und der FMD zum Zeitpunkt Tag 14 prä im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 beobachtet (s. Abb. 18). Diese inverse Korrelation legt nahe, dass die verbesserte endotheliale Funktion, gemessen durch die FMD, ursächlich für die verringerte PWV ist.

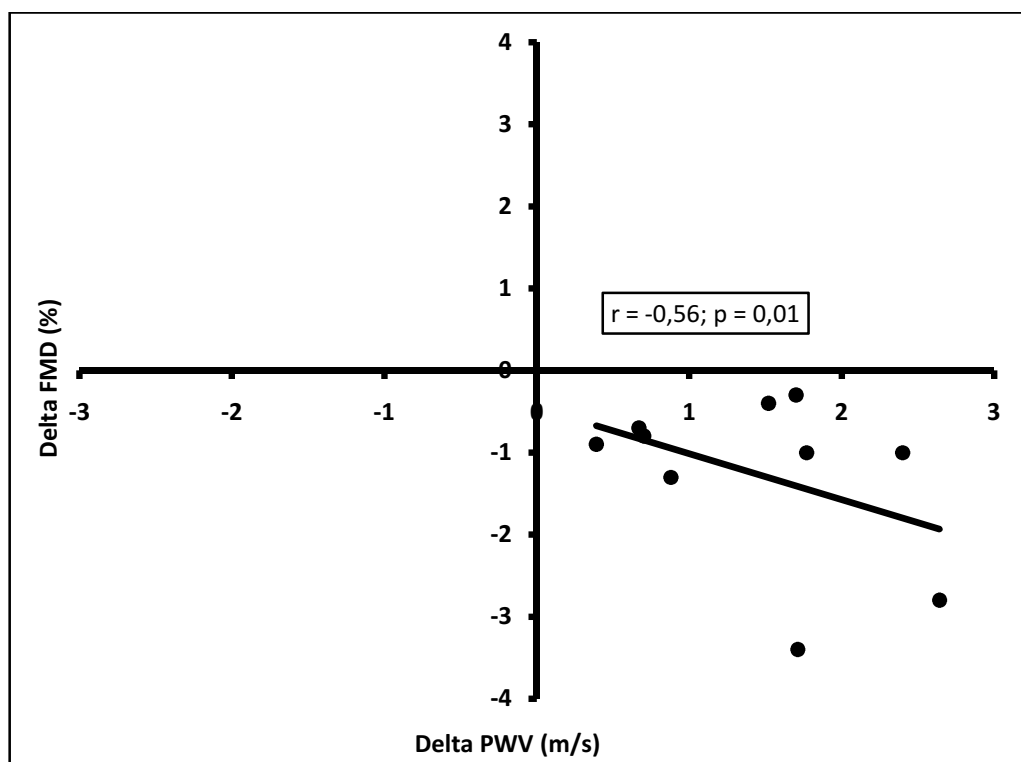


Abb. 18: Korrelation zwischen der FMD und der PWV (Tag 1 basal vs. Tag 14 prä)

In der ALT-FLAVANOL-Gruppe fand sich eine negative Korrelation zwischen den Veränderungen der FMD und der PWV im Vergleich zwischen Zeitpunkt Tag 1 basal und Tag 14 prä.

(m = Meter, s = Sekunde, % = Prozent, r = Korrelationskoeffizient, p = Signifikanzniveau, FMD = Flussvermittelte Vasodilatation, PWV = Pulswellengeschwindigkeit)

Zusammenfassend ist festzuhalten: Eine akute und chronische Flavanoleinnahme konnten sowohl in der JUNG- als auch in der ALT-Gruppe die zentrale PWV signifikant senken, was am ehesten durch eine signifikant gesteigerte endotheliale Funktion zu erklären ist. Die gesenkte PWV beeinflusst wiederum den Augmentationsindex. Dieser Mechanismus wird im folgenden Abschnitt genauer erläutert.

4.3 Die verlangsamte Pulswellengeschwindigkeit führt zu einem verminderten Augmentationsindex in der ALT-Gruppe

Bei den Probanden der ALT-Gruppe, nicht jedoch bei denen der JUNG-Gruppe, konnte nach akuter und chronischer Flavanoleinnahme ein signifikant verminderter Augmentationsindex im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 gemessen werden.

Der AIX stellt ein indirektes Maß für die arterielle Gefäßsteifigkeit dar und liefert ergänzend zur PWV weitere Informationen über die Pulswellenreflektion (10). Die Methode der AIX-Bestimmung mithilfe des *SphygmoCor*®-Gerätes wurde in Studien im Vergleich mit invasiven Methoden validiert und ist somit weithin anerkannt (98). Im Gegensatz zur PWV lässt sich die Studienlage hinsichtlich des AIX zur Prädiktion kardiovaskulärer Ereignisse bei gesunden Probanden mit einem niedrigen kardiovaskulären Risiko noch nicht als ausreichend bewerten (99). Allerdings ist der AIX bei Risikopopulationen bereits als Prädiktor etabliert. So zeigte der AIX in einer Studie mit mehr als 200 Patienten, mit und ohne bestehender kardiovaskulärer Erkrankung, Korrelationen mit mehreren kardiovaskulären Risikoscores (100). Zudem korreliert der AIX bei unter 60-jährigen mit dem Auftreten bzw. dem Ausmaß einer koronaren Herzkrankheit (101) und stellt bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz einen starken, unabhängigen Prädiktor der allgemeinen und kardiovaskulären Mortalität dar (102). Diese Studienlage verdeutlicht die klinische Relevanz der Bestimmung des AIX.

Folglich muss man sich die Frage stellen, durch welche Faktoren der AIX beeinflusst wird, um dessen Senkung erreichen zu können. Offensichtlich spielen der Zeitpunkt und das Ausmaß der Pulswellenreflektion eine entscheidende Rolle. Für den Zeitpunkt der Reflektion sind Faktoren wie Körpergröße, Herzfrequenz und vor allem die PWV ausschlaggebend (10).

In unserer Studie führte die Flavanoleinnahme zu einer signifikant verminderten PWV. Die Folge ist, dass die Pulswelle die zentrale Aorta erst zu einem späteren Zeitpunkt erreicht und somit zu einer späteren Phase der Systole oder sogar in einer frühen Phase der Diastole. Daraus resultiert eine verminderte Augmentation des systolischen Blutdruckes und folglich ein geringer Augmentationsindex.

Neben der Beeinflussung durch die PWV wird der AIx auch noch vom Ausmaß der Pulswellenreflektion determiniert. Hierbei sind funktionelle und anatomische Gegebenheiten der peripheren Zirkulation (10) entscheidend. Ein gesteigerter AIx entsteht zum Beispiel durch eine Rarefizierung der Mikrozirkulation und eine eingeschränkte endotheliale Funktion. Da die endotheliale Funktion in unserer Studie durch die Flavanoleinnahme signifikant gesteigert werden konnte, bietet dies neben der signifikant gesenkten PWV einen weiteren Erklärungsansatz für den signifikant gesenkten AIx.

Interessant ist, dass bei den Probanden der JUNG-Gruppe zu jedem Zeitpunkt, sowohl in der FLAVANOL- als auch in der KONTROLLE-Gruppe, negative AIx-Werte gemessen wurden und damit im Vergleich zur ALT-Gruppe signifikant niedrigere Werte. Dies kann mit der im Vergleich zu den Probanden der ALT-Gruppe deutlich geringeren Steifigkeit der arteriellen Gefäße erklärt werden, was eine verminderte Pulswellengeschwindigkeit bei den Probanden der JUNG-Gruppe zur Folge hat. Da die reflektierte Pulswelle unter diesen Umständen die zentrale Aorta erst in der Phase der Diastole erreicht, entsteht keine Augmentation des systolischen Anteils der Pulswelle. Vielmehr augmentiert die reflektierte Pulswelle so den diastolischen Anteil der initialen Pulswelle, sodass sich negative Werte für den AIx ergeben.

Diese Beobachtungen sind konsistent mit der Literatur, die ebenfalls altersabhängige Unterschiede beim AIx beschreibt. So zeigten Studien eine altersbedingte Steigerung des AIx, welche im Alter zwischen 20 und 50 Jahren am stärksten ausgeprägt ist (7, 92). Diese altersbedingt negativen Werte des AIx sind vermutlich der Grund, weshalb keine signifikante Senkung des Augmentationsindex in der JUNG-Gruppe festzustellen war. Da die Pulswelle in der JUNG-Gruppe bereits zum Zeitpunkt Tag 1 basal in der Phase der Diastole die zentrale Aorta erreicht hat, konnte damit die von Beginn an negative Augmentation nicht noch weiter gesenkt werden.

Zusammenfassend gesagt weisen die Veränderungen im Bereich der PWV und des AIx in der ALT-Gruppe und die fehlende Senkung des AIx in der JUNG-Gruppe auf einen bedeutenden Einfluss der Flavanole auf die altersabhängigen Prozesse im Gefäßsystem hin. Da die PWV als ein direktes und der AIx als ein indirektes Maß der arteriellen Gefäßsteifigkeit angesehen werden (10, 103), sind die verringerte PWV und der gesenkte AIx in Korrelation mit der verbesserten Endothelfunktion Ausdruck einer, durch die Flavanoleinnahme verursachten, verminderten Gefäßsteifigkeit im arteriellen System. Diese verminderte Gefäßsteifigkeit führt wiederum zu Veränderungen im Bereich des systolischen Blutdruckes, welche im folgenden Abschnitt genauer betrachtet werden.

4.4 Der verminderte Augmentationsindex geht mit einem gesunkenen systolischen Blutdruck in der ALT-Gruppe einher

Bei den Probanden der ALT-Gruppe, nicht jedoch bei denen der JUNG-Gruppe, konnte nach akuter und chronischer Flavanoleinnahme ein signifikant verminderter peripherer und zentraler systolischer Blutdruck im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 gemessen werden. Die Betrachtung des Blutdruckes ist aus klinischer Sicht extrem relevant, da er zu den bedeutendsten Risikofaktoren für das Entstehen kardiovaskulärer Erkrankungen zählt und dessen Behandlung zu einer signifikanten Senkung des allgemeinen kardiovaskulären Risikos führt (104-106).

Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Hypertonieformen des Alters fällt auf, dass die isolierte systolische Hypertonie mit mehr als 90 Prozent die häufigste der Hypertonieformen im Alter darstellt (10, 107). Dabei konnte in Studien gezeigt werden, dass die isolierte systolische Hypertonie einen eigenständigen kardiovaskulären Risikofaktor darstellt und dessen Behandlung eine signifikante Reduktion der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität erzielen kann (108-109). Problematisch bei dieser Form des Bluthochdruckes ist, dass der erhöhte systolische Blutdruck die Nachlast und damit den Sauerstoffverbrauch des Herzens steigert. Zusätzlich ist die myokardiale Durchblutung durch einen normalen oder sogar erniedrigten diastolischen Blutdruck limitiert, was die Sauerstoffversorgung des Myokards weiter verschlechtert. Angesichts dieser Erkenntnisse wird die klinische Relevanz des systolischen Blutdruckes deutlich.

Die in dieser Studie beobachtete signifikante Senkung des systolischen Blutdruckes in der ALT-Gruppe lässt sich durch den in der ALT-Gruppe ebenfalls signifikant gesenkten AIX erklären, der zu einer geringeren Augmentation des systolischen Blutdruckes führt. Diese Verknüpfung des AIX mit dem systolischen Blutdruck konnte durch eine signifikante positive Korrelation zwischen den Veränderungen der Werte des AIX und des systolischen Blutdruckes ($r = 0,772$; $p = 0,009$) in der ALT-Gruppe zum Zeitpunkt Tag 14 prä im Vergleich zu den Basalwerten an Tag 1 untermauert werden (s. Abb. 19). Analog zu diesen Ergebnissen hat eine vorherige invasive Studie gleichermaßen eine positive Korrelation zwischen dem AIX und dem systolischen Blutdruck aufgezeigt (110). Demzufolge ist festzuhalten, dass die Augmentation des systolischen Blutdruckes bei den Probanden der ALT-Gruppe eine der Ursachen für die hohe Prävalenz der isolierten systolischen Hypertonie im Alter darstellt (10).

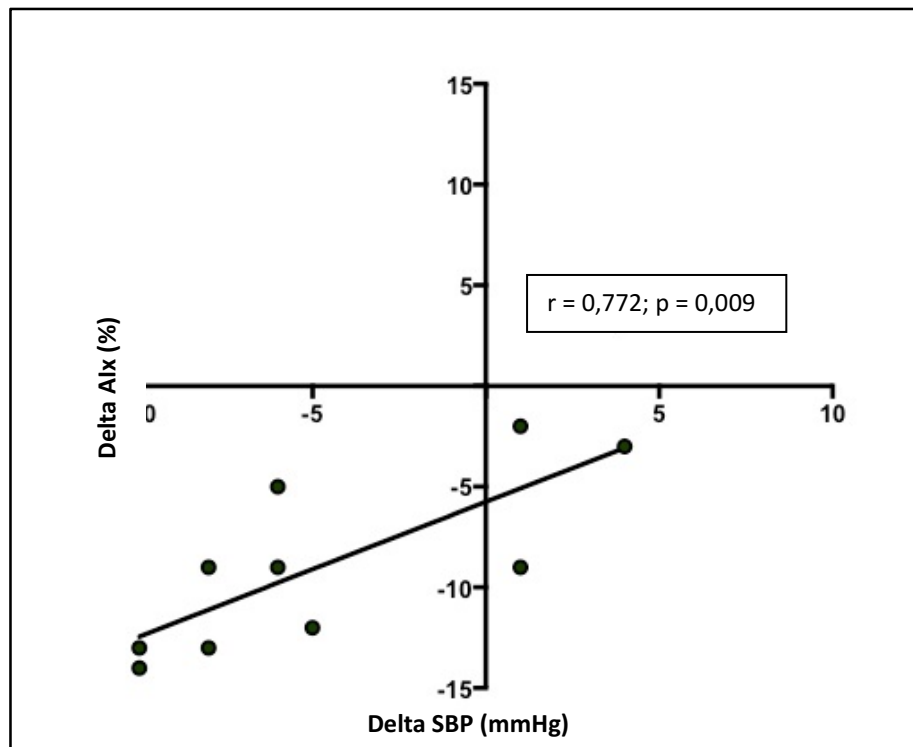


Abb. 19: Korrelation zwischen dem AIx und dem SBP (Tag 1 basal vs. Tag 14 prä)

In der ALT-FLAVANOL-Gruppe fand sich eine signifikante positive Korrelation zwischen den Veränderungen des SBP und des AIx im Vergleich zwischen Zeitpunkt Tag 1 basal und Tag 14 prä.

(mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, % = Prozent, r = Korrelationskoeffizient, p = Signifikanzniveau, SBP = Systolischer Blutdruck, AIx = Augmentationsindex)

Wichtig zu erwähnen ist in diesem Zusammenhang, dass die beobachtete signifikante Senkung des systolischen Blutdruckes in der ALT-Gruppe nicht nur peripher, sondern auch zentral gemessen werden konnte. Dabei besitzt der zentrale Blutdruck sogar einen größeren Effekt auf die kardiovaskuläre Prognose, da es derjenige Blutdruck ist, welcher auf wichtige Organe wie das Herz und das zentrale Nervensystem einwirkt (10). Diese Annahme konnte durch eine Studie an über 3500 Probanden bestätigt werden, bei denen der zentrale Blutdruck stärker mit der Intima-Media-Dicke der ACC, dem Plaque-Score und der Rate an kardiovaskulären Ereignissen korrelierte als der an der Arteria brachialis gemessene Blutdruck (111).

Ebenso wie die Veränderungen im AIx konnte die signifikante Verringerung der systolischen Blutdruckwerte in der vorliegenden Studie nur bei den Probanden der ALT-Gruppe beobachtet werden, wohingegen der systolische Blutdruck der JUNG-Gruppe keine signifikante Änderung zeigte. Diese Selektivität der Veränderung des systolischen Blutdruckes lässt sich durch das Vorliegen von niedrigeren systolischen Blutdruckwerten der JUNG-Gruppe erklären, wie sie bereits basal gemessen worden waren. Diese Annahme wird durch eine Metaanalyse (53) unterstützt, die postuliert, dass Probanden mit höheren basalen systolischen

Blutdrücken einen größeren Blutdruck vermindern Effekt nach Flavanoleinnahme aufweisen als Probanden mit niedrigeren basalen Blutdruckwerten.

Ein ähnlicher Zusammenhang zwischen basalen Blutdruckwerten und der Effektgröße von blutdrucksenkenden Mitteln ist bei vielen verschiedenen Medikamenten beschrieben worden, beispielsweise bei ACE-Inhibitoren (3). Diese Erläuterungen, zusammen mit den nicht vorhandenen Veränderungen im AIx gesehen, erklären den fehlenden Einfluss der Flavanole auf den systolischen Blutdruck in der JUNG-Gruppe.

Zusammenfassend lässt sich sagen: Die Flavanoleinnahme führte zu einem signifikant gesenkten zentralen und peripheren systolischen Blutdruck bei den Probanden der ALT-Gruppe, welcher unter anderem durch eine verminderte arterielle Gefäßsteifigkeit und eine damit verbundene reduzierte Augmentation des systolischen Blutdruckes erklärt werden kann.

4.5 Die Veränderungen im Bereich der Hämodynamik sind nicht durch Veränderungen der kardialen Ruhfunktion bedingt

Der Alterungsprozess geht mit einer zunehmenden Versteifung der kardialen Muskulatur und einer moderaten linksventrikulären konzentrischen Hypertrophie einher. Dies resultiert in einer Beeinträchtigung der diastolischen Füllung, was jedoch auf Grund einer gesteigerten atrialen Kontraktion nicht zwangsläufig zu einer Verminderung der enddiastolischen Füllung im Vergleich zu jüngeren Individuen führt.

Die systolische Ruhfunktion wird laut mehrerer Studienergebnisse genauso wenig durch das Alter beeinflusst, sondern zeigt erst unter gesteigerter körperlicher Aktivität eine signifikante Einschränkung im Vergleich zu jungen Menschen (112-114). Konträr zu diesen Ergebnissen wurden bei den Probanden der ALT-Gruppe in unserer Studie signifikant niedrigere Werte bei Herzschlagvolumen und Herzzeitvolumen unter Ruhebedingungen im Vergleich zu den Probanden der JUNG-Gruppe gemessen, was am ehesten durch die verhältnismäßig geringe Probandenzahl dieser Studie zu erklären ist.

Bisherige Studien konnten analog zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie nachweisen, dass Flavanole das kardiovaskuläre System insgesamt positiv beeinflussen (50-51, 115). Es wurde jedoch noch nicht untersucht, ob Flavanole sich auch speziell auf die kardiale Funktion auswirken.

Unsere Daten zeigen nun, dass weder die in Ruhe gemessenen Werte des Herzschlagvolumens oder des Herzzeitvolumens noch die der Herzfrequenz durch die Flavanoleinnahme beeinflusst werden.

Daraus lässt sich folgendes schließen: Die beobachteten Effekte im Bereich der

Hämodynamik wurden nicht durch Veränderungen auf kardialer Ebene, sondern durch Veränderungen auf Gefäßebene verursacht. Des Weiteren machen diese Ergebnisse eine flavanolbedingte Wirkung auf das vegetative Nervensystem und eine damit verbundene mögliche Beeinflussung der hämodynamischen Messergebnisse unwahrscheinlich.

4.6 Klinische Bedeutung

Die Therapie von kardiovaskulären Erkrankungen stellt auf Grund ihrer besonderen medizinischen und sozioökonomischen Bedeutung eine große Herausforderung dar. Dabei besteht die gängige Therapie meist in einer Reduktion der Risikofaktoren der kardiovaskulären Erkrankungen. Zu diesen eigenständigen Risikofaktoren zählt auch das Alter, welches naturgemäß nicht an sich beeinflusst werden kann. Allerdings geht ein zunehmendes Alter mit Veränderungen des vaskulären Systems einher, die bis zu einem gewissen Grad durchaus beeinflussbar sind. Dazu zählen die altersbedingte Abnahme der endothelialen Funktion, die Zunahme der arteriellen Gefäßsteifigkeit und das Ansteigen des systolischen Blutdruckes.

All diese Faktoren konnten in der vorliegenden Studie durch die diätetische Flavanoleinnahme positiv beeinflusst werden. Betrachtet man wiederum die Auswirkungen der erzielten Beeinflussung dieser einzelnen Faktoren auf die kardiovaskuläre Prognose, so wird die klinische Relevanz einer Flavanoleinnahme deutlich.

Angesichts des Einflusses des erstgenannten Faktors, der eingeschränkten endothelialen Funktion auf die kardiovaskuläre Prognose wird hier ein großes klinisches Potential erkennbar. Zahlreiche Studien haben Korrelationen zwischen einer eingeschränkten endothelialen Funktion und einer höheren kardiovaskulären Morbidität und Mortalität aufgezeigt. So konnte in einer multivariaten Analyse von zehn Studien an insgesamt beinahe 2500 Patienten über einen Studienzeitraum von bis zu 92 Monaten nachgewiesen werden, dass eine endotheliale Dysfunktion mit einem gesteigerten Risiko für kardiale Ereignisse inklusive des akuten Herzinfarktes einhergeht (29).

Bislang existieren nur wenige Studien, die speziell untersucht haben, inwiefern eine therapeutische Verbesserung der endothelialen Funktion zugleich das kardiovaskuläre Risiko verringert. In einer Studie an 400 postmenopausalen Frauen mit arterieller Hypertonie konnte gezeigt werden, dass eine therapeutische Steigerung der endothelialen Funktion zu einer signifikant geringeren Rate an kardiovaskulären Ereignissen in den folgenden fünf Jahren führte (116). Diese positive Beeinflussung der kardiovaskulären Prognose war dabei unabhängig von einer Veränderung des arteriellen Blutdruckes.

Dies zeigt das Potential einer therapeutischen Verbesserung der endothelialen Funktion bedingt durch eine Flavanoleinnahme, auch wenn es weiterer Studien bedarf um diesen Effekt ausreichend zu bestätigen. Die diesbezügliche Studienlage ist hier noch nicht aussagekräftig genug (117).

Der zweite der oben genannten Faktoren ist die arterielle Gefäßsteifigkeit, die ebenfalls einen eigenständigen Prädiktor der kardiovaskulären Mortalität darstellt, was durch zahlreiche Studien belegt werden konnte (10, 12-13).

In mehreren Studien wurde hierbei ebenfalls eine niedrigere kardiovaskuläre Mortalität auf Grund einer therapeutisch erzielten verminderten Gefäßsteifigkeit nachgewiesen (118-119). Diese Ergebnisse verdeutlichen die klinische Relevanz einer durch eine Flavanoleinnahme bedingten gesenkten arteriellen Gefäßsteifigkeit, wie sie in der vorliegenden Studie erzielt wurde.

Bezüglich des an dritter Stelle genannten Faktors, dem systolischen Blutdruck, konnten mehrere Studien zeigen, dass eine Senkung des systolischen Blutdruckes ebenfalls die kardiovaskuläre Prognose signifikant verbessern kann. In der „*Syst-Eur*“- und der „*SHEP-Study*“ an insgesamt mehr als 7000 Patienten mit isolierter systolischer Hypertonie korrelierte eine medikamentöse Senkung des systolischen Blutdruckes mit einer niedrigeren kardiovaskulären Mortalität (108, 120). Ein Review der *ESH* kam zu dem gleichen Ergebnis: Die Senkung des systolischen Blutdruckes kann das kardiovaskuläre Risiko reduzieren (121). Zusammenfassend gesagt: An diesen Betrachtungen lässt sich der große Einfluss einer diätetischen Flavanoleinnahme auf die altersbedingten Veränderungen des Gefäßsystems und die damit verbundene kardiovaskuläre Gesundheit ablesen.

4.7 Schlussfolgerung

Die signifikanten Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass sich durch eine diätetische Intervention mit Flavanolen eine signifikant verbesserte endotheliale Funktion, eine signifikant reduzierte arterielle Gefäßsteifigkeit und ein signifikant gesenkter systolischer Blutdruck bewirken lassen. Damit wird das Potential einer diätetischen Flavanoleinnahme unterstrichen, um die altersbedingten Veränderungen des arteriellen Gefäßsystems und die damit verbundenen negativen Prozesse im Bereich der Hämodynamik rückgängig zu machen oder zumindest abzuschwächen.

Des Weiteren ist zu vermuten, dass eine prophylaktische diätetische Einnahme von Flavanolen eine optimale vaskuläre Funktion im Verlauf des Alterungsprozesses aufrecht

erhalten kann, da die Flavanoleinnahme auch die vaskuläre Funktion der jungen Probanden steigern konnte. Dies wiederum lässt spekulieren, dass Flavanole das Potential besitzen ein gesundes vaskuläres Altern zu ermöglichen. Diese erzielten Effekt können mit einer gesenkten Morbidität und Mortalität von kardiovaskulären Ereignissen einhergehen, was bereits durch die Ergebnisse mehrerer Studien unterstützt wird (51).

Allerdings werden, um die Ergebnisse dieser Studie dauerhaft bestätigen zu können, in der Zukunft longitudinale Studien über einen Zeitraum von mehreren Jahren mit einer großen Probandenanzahl erforderlich sein.

5 Kritik und Limitierung

5.1 Studienkollektiv

Bei den Probanden dieser Studie handelte es sich ausschließlich um gesunde Individuen. Dadurch sind zuverlässige Aussagen über den primärprophylaktischen Wert einer Flavanoleinnahme auf das kardiovaskuläre Risiko möglich. Zu hinterfragen ist allerdings, ob die Ergebnisse dieser Studie vollständig auf bereits erkrankte Patienten übertragbar sind. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass zu unseren Ergebnissen analoge Effekte auf das kardiovaskuläre System gleichermaßen auch bei Patienten mit diversen Erkrankungen, wie einem Diabetes Mellitus, einer arteriellen Hypertonie und einer manifesten koronaren Herzkrankheit festzustellen sind (51, 53). Dies legt nahe, dass die Ergebnisse dieser Studie zu einem großen Teil auch auf Patienten mit Vorerkrankungen übertragbar sind, auch wenn dies nicht ohne jegliche Einschränkung möglich ist.

In dieser Studie wurden nur männliche Probanden untersucht. Dadurch sollten Unterschiede der basalen Hämodynamik auf Grund von Hormonschwankungen während des menstruellen Zyklus, wegen einer oralen Kontrazeption oder einer Hormonersatztherapie ausgeschlossen werden. Bislang ist der Einfluss von (Sexual-) Hormonen, die Wirkung von Flavanolen auf das Gefäßsystem betreffend, noch nicht hinreichend erforscht. Allerdings zeigten vorherige Studien, bei denen sowohl Männer als auch Frauen eingeschlossen wurden, positive Effekte durch Flavanole auf das Gefäßsystem bei beiden Geschlechtern (59). Deshalb sollten die Ergebnisse dieser Studie mit Einschränkungen weitestgehend auch auf Frauen übertragbar sein.

Die vorliegende Studie ist durch den festgesetzten Untersuchungszeitraum auf zwei Wochen limitiert, was zunächst nur eine begrenzte Aussage über die Wirkung einer dauerhaften Flavanoleinnahme zulässt. Allerdings zeigen mehrere Studien, die vorwiegend an Patienten durchgeführt wurden, dass die, durch eine Flavanoleinnahme, erzielten Effekte auf die endotheliale Funktion und den systolischen Blutdruck während einer dauerhaft fortgesetzten chronischen Flavanoleinnahme anhalten. Entsprechende Studien untersuchten die Effekte einer chronischen Flavanoleinnahme über einen Zeitraum von bis zu 12 Monaten (84, 87, 122-123). Es ist also davon auszugehen, dass in zukünftigen längerfristigen Studien, unter Einbeziehung gesunder Probanden, die Ergebnisse dieser Studie bestätigt werden können. Diese Annahme wird durch die Ergebnisse von prospektiven Studien unterstützt, in denen eine lang andauernde diätetische Flavanoleinnahme mit einem niedrigeren systolischen Blutdruck und einem niedrigerem kardiovaskulären Risiko assoziiert war (54, 124).

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt 42 Probanden untersucht. Auf Grund des Studiendesigns umfassten die einzelnen Untersuchungsgruppen somit lediglich zehn beziehungsweise elf Probanden. Trotz der relativ kleinen Anzahl an Probanden pro Untersuchungsgruppe konnten jedoch bei einem Großteil der Untersuchungen signifikante Effekte gezeigt werden. Trotzdem sollten weitere Studien mit größeren Probandenzahlen zur Bestätigung der Ergebnisse folgen.

5.2 Methodenkritische Aspekte der FMD-Messung

Die Bestimmung der endothelialen Funktion mittels FMD-Messung ist eine weithin anerkannte Methode (125). Sie wird bereits seit dem Jahr 1992 erfolgreich angewendet (126). Innerhalb dieser Zeit, konnten das Verfahren und dessen Genauigkeit optimiert werden. Dabei spielen vor allem technische Neuerungen wie die Entwicklung von hochauflösenden Ultraschallköpfen und die Weiterentwicklung der Auswertungssoftware eine entscheidende Rolle.

Allerdings bestehen nach wie vor einige Störfaktoren, die die Genauigkeit der Messung beeinflussen können. Zum Beispiel stellen Nahrungsaufnahme, Medikamenteneinnahme, Nikotinkonsum und psychischer Stress Störfaktoren dar (127), die kontrolliert werden müssen. Um diese Störfaktoren auf ein möglichst niedriges Maß zu reduzieren wurden entsprechende Maßnahmen getroffen.

Zur Minimierung möglicher Effekte durch die Nahrungsaufnahme, mussten die Probanden unserer Studie vor beiden Untersuchungstagen eine zwölfstündige Nahrungskarenz einhalten. Zusätzlich füllten sie einen Fragebogen aus, der die während der letzten 24 Stunden verzehrten Speisen und Getränke erfasst. Allerdings ist hierbei nicht auszuschließen, dass Probanden falsche Angaben auf Grund eines sozialen Erwartungsdruckes gemacht haben.

Da alle Probanden unserer Studie Nichtraucher waren und keine Medikamente einnahmen, konnten dadurch verursachte Verfälschungen ausgeschlossen werden. Als zusätzliche Maßnahme wurden die Probanden gebeten jegliche Passivrauchexposition zu vermeiden, da eine Studie auch einen Einfluss durch Passivrauchen auf die endotheliale Funktion feststellen konnte (128).

Um eventuellen mentalen Stress der Probanden zu minimieren wurden die Untersuchungen jeweils nach einer fünfzehnminütigen Ruhepause in liegender Position durchgeführt. Dies ist laut vorherigen Studien absolut notwendig für eine stabile und reproduzierbare FMD (129-130).

In einer vorherigen Studie konnte gezeigt werden, dass eine Aktivierung des sympathischen

Systems die FMD-Werte beeinflussen kann (129). In unserer Studie zeigten sich keine Veränderungen der Herzfrequenz, was eine Aktivierung des sympathischen Systems unwahrscheinlich macht.

Weiteren Einfluss auf die Ergebnisse der FMD-Messungen können die Umgebungstemperatur, die Lautstärke im Raum (131) und die Uhrzeit haben, da eine zirkadiane Rhythmik mit einem Maximum der FMD-Werte am Nachmittag besteht (132). Deshalb wurden in unserer Studie die FMD-Messungen sowie alle weiteren Untersuchungen in einem klimatisierten und geräuscharmen Untersuchungsraum und stets zu einem jeweils gleichen zeitlichen Beginn durchgeführt.

Einen Einfluss durch hormonelle Schwankungen, bedingt durch den Menstruationszyklus bei Frauen, auf die FMD (133-134) konnte durch die Rekrutierung ausschließlich männlicher Probanden ausgeschlossen werden.

Der Großteil dieser bisher genannten Störfaktoren ist beeinflussbar, womit deren Auswirkung auf die FMD-Messungen minimiert werden konnte. Eine nicht veränderbare Störgröße der FMD-Messung ist der Ruhediameter der Arteria brachialis, da dieser Diameter negativ mit der Größe der FMD korreliert (126, 135). In unserer Studie wiesen die Probanden der ALT-Gruppe im Vergleich zur JUNG-Gruppe signifikant größere Ruhediameter der Arteria brachialis auf, was zum Teil die signifikant niedrigeren FMD-Werte in der ALT-Gruppe erklären kann. Allerdings blieben die Ruhediameter innerhalb der JUNG- und der ALT-Gruppe während der Studiendauer konstant und beeinflussten somit nicht die Aussagekraft der beobachteten Änderungen der FMD.

Neben der Minimierung dieser Störfaktoren ist natürlich eine methodisch korrekte Durchführung der eigentlichen FMD-Messung erforderlich. Dazu wurden, um eine optimale Bilddarstellung zu erhalten, hochauflösende lineare Schallköpfe mit zehn Megahertz genutzt. Des Weiteren wurden die korrekte Lage der Blutdruckmanschette sowie die exakte Schallkopfposition mehrfach kontrolliert, um mögliche Einflüsse auf die Messwerte zu minimieren.

Um bei der Beurteilung der Bilder die Dehnbarkeit des Gefäßes und die systolische Expansion außer Acht zu lassen wurden sämtliche Bilder R-Zacken getriggert in der Phase der Enddiastole ausgewertet. Die technische Entwicklung der halbautomatischen Auswertungssoftware erlaubt heutzutage valide und reproduzierbare FMD-Messungen (136-138) trotz einer relativ hohen Inter- und Intraobserver-Variabilität (139).

Wichtig zu erwähnen bleibt, dass die FMD zu einem gewissen Anteil immer auch vom Ausmaß der postischämischen Vasodilatation abhängt und damit von der Funktion der Mikrozirkulation (140), was einen nicht beeinflussbaren Störfaktor darstellt.

Zusammenfassend lässt sich sagen: Die Störfaktoren, welche sich auf die FMD-Messung auswirken können, wurden auf ein Minimum reduziert und alle FMD-Messungen erfolgten nach den gegenwärtigen Leitlinien (141) um eine möglichst große Aussagekraft der FMD-Messungen zu erzielen.

5.3 Methodenkritische Aspekte der PWV-Messung

Die Bestimmung der zentralen PWV mit dem *SphygmoCor*®-Gerät ist eine etablierte und allgemein anerkannte Methode (20, 142), doch auch hier können Fehlerquellen zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen.

Eine wichtige Fehlerquelle ist die inexakte Abmessung der Distanz, welche die Pulswelle zurücklegt. Denn bereits kleine Abweichungen haben großen Einfluss auf den absoluten Wert der gemessenen PWV (20, 71). In einer Studie, welche unterschiedliche Methoden zur Bestimmung der zurückgelegten Wegstrecke und die damit verbundenen Differenzen einer nicht invasiven PWV-Messung zu einer invasiven PWV-Messung untersuchte, wies die für das *SphygmoCor*®-Gerät empfohlene Messmethode der Wegstrecke (Fossa jugularis bis AFC minus Fossa jugularis bis ACC) die geringsten Unterschiede zur invasiven Messung auf (143).

Problematisch ist die Distanzmessung bei Probanden mit Adipositas, da bei diesen, bedingt durch die Messung der Distanz an der Körperoberfläche, die wahre Distanz überschätzt wird. Da in unserer Studie keiner der Probanden eine Adipositas aufwies und bei jedem Probanden eine größtmögliche Exaktheit der Distanzmessung beachtet wurde, konnte diese Fehlerquelle minimiert werden. Allerdings ist es rein technisch nicht möglich, die wahre Distanz jeweils exakt zu bestimmen.

Eine weitere Fehlerquelle liegt in der manchmal nur schwierig abzuleitenden Pulswelle der AFC und/oder der ACC. An der AFC beeinträchtigt vor allem eine vorliegende Adipositas die Ableitung. An der ACC wird die Ableitung durch Schluck- und Atembewegungen erschwert. Um das Ausmaß dieser Fehlerquelle zu minimieren wurde eine Messung der PWV erst gestartet, sobald ein ausreichend starkes Pulssignal aufgezeichnet werden konnte. Zusätzlich wurden die Probanden gebeten, während der Aufzeichnung an der ACC vorübergehend den Atem anzuhalten und nicht zu schlucken.

Ein weiteres Problem stellt die methodisch bedingte zweizeitige Messung der PWV dar, da hintereinander die Pulswelle an der ACC und an der AFC abgeleitet wird. Hierbei kann die Herzfrequenz zwischen den Messungen an der ACC und an der AFC variieren, was die PWV beeinflussen und somit Schwankungen im Ergebnis auslösen kann. Zur Minimierung dieser

Fehlerquelle wurden bei allen Probanden zu jedem Untersuchungszeitpunkt mindestens zwei Messungen der PWV durchgeführt und daraus ein Mittelwert gebildet.

Zusammenfassend gesagt bietet die Messung der PWV einige Fehlerquellen, denen während der Studie jedoch große Aufmerksamkeit geschenkt wurde, um die entstehenden Ungenauigkeiten auf ein Minimum zu reduzieren.

5.4 Methodenkritische Aspekte der Berechnung der aortalen Druckpulskurve

In dieser Studie wurde die aortale Druckpulskurve mit Hilfe eines Umrechnungsalgorithmus aus der radial abgeleiteten Pulskurve errechnet.

Die Ableitung der radialen Pulskurve mit Hilfe des *SphygmoCor*®-Systems ist technisch relativ einfach durchzuführen und allgemein anerkannt. Die Software des *SphygmoCor*®-Systems ermittelt bei jeder Messung einen Qualitätsindex, der die Reliabilität und Validität der Ergebnisse steigern soll. Bei dieser Studie wurden lediglich Messungen berücksichtigt, die einen Qualitätsindex von mehr als 90% aufwiesen.

Die angewendete Transferfunktion der Software zur Berechnung der aortalen Pulswelle wurde in der Literatur über lange Zeit diskutiert (72, 144). In einer Studie mit 62 Patienten wurde die über die radiale Pulskurve errechnete aortale Pulskurve mit der invasiv gemessenen aortalen Pulskurve verglichen. Dabei zeigten sich jedoch vor allem im Hinblick auf den systolischen und diastolischen Blutdruck und auf den Pulsdruck durchschnittliche Differenzen von weniger als einem mmHg, womit die Transferfunktion invasiv validiert werden konnte (98).

Zusammenfassend ist festzuhalten: Die nichtinvasive Berechnung der aortalen Pulskurve mit Hilfe des *SphygmoCor*®-Systems stellt ein anerkanntes und invasiv validiertes Verfahren dar, auch wenn die Messgenauigkeit dabei aus technischen Gründen nie so groß wie bei einer invasiven Messung sein kann. Allerdings stellt die nichtinvasive Messung einen großen Vorteil dar, der für das Design dieser Studie entscheidend war.

5.5 Methodenkritische Aspekte der Blutdruck-Messung

In der vorliegenden Studie wurde der Blutdruck durch Einzelmessungen am Oberarm mittels eines automatischen oszillometrischen Blutdruckmessgerätes, einer kontinuierlichen Blutdruckmessung an der Fingerspitze und einer 24-Stunden-Langzeitmessung am Oberarm erfasst. Bei der Blutdruckmessung sind zahlreiche Fehlerquellen bekannt, deren Beachtung für ein korrektes Ergebnis essentiell ist.

Einen entscheidenden Aspekt stellen die Umgebungsbedingungen dar. Dabei können eine Medikation, die Tageszeit, störende Hintergrundgeräusche, die Raumtemperatur, Koffein-, Nikotin- oder Alkoholzufuhr und physische Anstrengung in den letzten 30 Minuten vor der Blutdruckmessung eine wichtige Rolle spielen (145). Um diese Faktoren zu minimieren, wurden, konsistent zu den Empfehlungen der *ESH* (146), alle Blutdruckmessungen (mit Ausnahme der ambulant durchgeführten 24-Stunden-Langzeitmessung) nach einer fünfzehnminütigen Ruhepause in liegender Position, in einem klimatisiertem und geräuscharmen Untersuchungsraum und stets zur jeweils gleichen Uhrzeit durchgeführt. Durch die zwölfstündige Nahrungskarenz vor beiden Untersuchungstagen konnten auch Einflüsse durch Nahrungsmittel, Alkohol und Koffein ausgeschlossen werden.

Eine weitere entscheidende Fehlerquelle bildet eine falsche Manschettenbreite, da dadurch sowohl zu niedrige als auch zu hohe Messwerte erhoben werden können. Deshalb wurde in dieser Studie bei jedem Probanden eine Blutdruckmanschette verwendet, die ca. 75% der jeweiligen Oberarmlänge (Schulter-Olecranon) entsprach.

Ein kaum zu beeinflussender Faktor ist der sogenannte „Weißkitteleffekt“, der erhöhte Blutdruckwerte zur Folge hat (145). Allerdings zeigten die 24-Stunden-Langzeitmessungen analoge Ergebnisse zu den Einzelblutdruckmessungen, was gegen einen großen Einfluss des „Weißkitteleffektes“ spricht.

Zusammenfassend lässt sich festhalten: Alle beeinflussbaren Fehlerquellen bei der Blutdruckmessung wurden auf ein Minimum reduziert und die Messungen nach den aktuell gültigen Leitlinien durchgeführt (147). Allerdings kann, mit Ausnahme der 24-Stunden-Langzeitblutdruckmessung, eine Beeinflussung der Blutdruckwerte vor allem durch den „Weißkittel-Effekt“ nicht ganz ausgeschlossen werden.

5.6 Methodenkritische Aspekte der Impedanzkardiographie

Die Impedanzkardiographie stellt eine nichtinvasive Methode zur Berechnung hämodynamischer Parameter, wie Herzschlagvolumen und Herzzeitvolumen dar.

Diese Methode ist im Vergleich zum Goldstandard der Thermodilution, als invasives Verfahren, validiert worden (148). Die Genauigkeit der Absolutwerte der erhobenen Parameter ist jedoch umstritten, auch wenn die Darstellung von relativen Veränderungen der Herzschlagvolumina anerkannt ist (149-150).

Da in dieser Studie die Messungen mit Hilfe der Impedanzkardiographie hauptsächlich durchgeführt wurden, um Einflüsse der Flavanole auf das vegetative Nervensystem auszuschließen, sind die absoluten Werte nicht entscheidend und die Aussagekraft der

durchgeführten Methode somit ausreichend. Dabei liegt der große Vorteil dieser Methode in der fehlenden Invasivität, was bei dem Design dieser Studie an gesunden Probanden eine essentielle Bedingung dargestellt hat.

6 Literaturverzeichnis

1. Gaber E, Wildner M. Themenheft 52 "Sterblichkeit, Todesursachen und regionale Unterschiede". Robert Koch-Institut; 2011. p. 54.
2. Nöthen M, Böhm K. Themenheft 48 "Krankheitskosten". Robert Koch-Institut; 2010. p. 34.
3. O'Rourke MF, Hashimoto J. Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J Am Coll Cardiol.* 2007 Jul 3;50(1):1-13.
4. Nichols WW. Clinical measurement of arterial stiffness obtained from noninvasive pressure waveforms. *Am J Hypertens.* 2005 Jan;18(1 Pt 2):3S-10S.
5. Kaess BM, Rong J, Larson MG, Hamburg NM, Vita JA, Levy D, et al. Aortic stiffness, blood pressure progression, and incident hypertension. *JAMA.* 2012 Sep 5;308(9):875-81.
6. Mukherjee D. Atherogenic vascular stiffness and hypertension: cause or effect? *JAMA.* 2012 Sep 5;308(9):919-20.
7. McEniery CM, Yasmin, Hall IR, Qasem A, Wilkinson IB, Cockcroft JR. Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT). *J Am Coll Cardiol.* 2005 Nov 1;46(9):1753-60.
8. Mahmud A, Feely J. Effect of smoking on arterial stiffness and pulse pressure amplification. *Hypertension.* 2003 Jan;41(1):183-7.
9. Egan BM, Li J, Shatat IF, Fuller JM, Sinopoli A. Closing the gap in hypertension control between younger and older adults: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1988 to 2010. *Circulation.* 2014 May 20;129(20):2052-61.
10. Baulmann J, Homsy R, Un S, Vetter H, Dusing R, Mengden T. [Arterial stiffness in arterial hypertension. A new risk factor for left ventricular hypertrophy and cardiac insufficiency?]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2004 Feb 27;129(9):447-52.
11. O'Rourke MF. Arterial aging: pathophysiological principles. *Vasc Med.* 2007 Nov;12(4):329-41.
12. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Mar 30;55(13):1318-27.
13. Cohn JN. Arterial stiffness, vascular disease, and risk of cardiovascular events. *Circulation.* 2006 Feb 7;113(5):601-3.
14. Kollias A, Stergiou GS, Dolan E, O'Brien E. Ambulatory arterial stiffness index: a systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis.* 2012 Oct;224(2):291-301.
15. DeLoach SS, Townsend RR. Vascular stiffness: its measurement and significance for epidemiologic and outcome studies. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008 Jan;3(1):184-92.
16. Claridge MW, Bate GR, Hoskins PR, Adam DJ, Bradbury AW, Wilkins AB. Measurement of arterial stiffness in subjects with vascular disease: Are vessel wall changes more sensitive than increase in intima-media thickness? *Atherosclerosis.* 2009 Aug;205(2):477-80.
17. Hwang MH, Yoo JK, Kim HK, Hwang CL, Mackay K, Hemstreet O, et al. Validity and reliability of aortic pulse wave velocity and augmentation index determined by the new cuff-based SphygmoCor Xcel. *J Hum Hypertens.* 2014 Jan 16.
18. Mitchell GF, Hwang SJ, Vasan RS, Larson MG, Pencina MJ, Hamburg NM, et al. Arterial stiffness and cardiovascular events: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2010 Feb 2;121(4):505-11.
19. Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Stiffness of capacitive and conduit arteries: prognostic significance for end-stage renal disease patients. *Hypertension.* 2005 Apr;45(4):592-6.

20. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. 2006 Nov;27(21):2588-605.
21. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Bohm M, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2013 Jul;34(28):2159-219.
22. Mitchell GF. Effects of central arterial aging on the structure and function of the peripheral vasculature: implications for end-organ damage. *J Appl Physiol* (1985). 2008 Nov;105(5):1652-60.
23. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol*. 1994 Aug;24(2):471-6.
24. Rossi M, Cupisti A, Mariani S, Santoro G, Pentimone F. Endothelium-dependent and endothelium-independent skin vasoreactivity in the elderly. *Aging Clin Exp Res*. 2002 Oct;14(5):343-6.
25. Fisher ND, Hollenberg NK. Aging and vascular responses to flavanol-rich cocoa. *J Hypertens*. 2006 Aug;24(8):1575-80.
26. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Versari D, Salvetti A. Endothelium, aging, and hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2006 Apr;8(1):84-9.
27. Donato AJ, Eskurza I, Silver AE, Levy AS, Pierce GL, Gates PE, et al. Direct evidence of endothelial oxidative stress with aging in humans: relation to impaired endothelium-dependent dilation and upregulation of nuclear factor-kappaB. *Circ Res*. 2007 Jun 8;100(11):1659-66.
28. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*. 1995 Mar 1;91(5):1314-9.
29. Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events. *Circulation*. 2005 Jan 25;111(3):363-8.
30. Triggle CR, Hollenberg M, Anderson TJ, Ding H, Jiang Y, Ceroni L, et al. The endothelium in health and disease--a target for therapeutic intervention. *J Smooth Muscle Res*. 2003 Dec;39(6):249-67.
31. Toborek M, Kaiser S. Endothelial cell functions. Relationship to atherogenesis. *Basic Res Cardiol*. 1999 Oct;94(5):295-314.
32. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Oct 1;42(7):1149-60.
33. Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, Covas MI, Corella D, Aros F, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med*. 2013 Apr 4;368(14):1279-90.
34. Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JP, Tognolini M, Borges G, Crozier A. Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal*. 2013 May 10;18(14):1818-92.
35. Williamson G, Sies H, Heber D, Keen CL, Macdonald IA, Actis-Goretta L, et al. Functional foods for health promotion: state-of-the-science on dietary flavonoids. Extended abstracts from the 12th Annual Conference on Functional Foods for Health Promotion, April 2009. *Nutr Rev*. 2009 Dec;67(12):736-43.
36. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*. 1992 Jun 20;339(8808):1523-6.
37. The International Organisation of Vine and Wine. [28.01.2020]; Available from: <http://www.oiv.int/en/statistiques/?year=2010&countryCode=FRA>.

38. Gronbaek M, Deis A, Sorensen TI, Becker U, Schnohr P, Jensen G. Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. *BMJ*. 1995 May 6;310(6988):1165-9.
39. Vogel RA. Vintners and vasodilators: are French red wines more cardioprotective? *J Am Coll Cardiol*. 2003 Feb 5;41(3):479-81.
40. Van Duyn MA, Pivonka E. Overview of the health benefits of fruit and vegetable consumption for the dietetics professional: selected literature. *J Am Diet Assoc*. 2000 Dec;100(12):1511-21.
41. Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr*. 2002;22:19-34.
42. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev*. 1998 Nov;56(11):317-33.
43. Duffy SJ, Keaney JF, Jr., Holbrook M, Gokce N, Swerdloff PL, Frei B, et al. Short- and long-term black tea consumption reverses endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001 Jul 10;104(2):151-6.
44. Hammerstone JF, Lazarus SA, Schmitz HH. Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *J Nutr*. 2000 Aug;130(8S Suppl):2086S-92S.
45. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr*. 2005 Jan;81(1 Suppl):230S-42S.
46. Deprez S, Brezillon C, Rabot S, Philippe C, Mila I, Lapiere C, et al. Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *J Nutr*. 2000 Nov;130(11):2733-8.
47. Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr*. 2000 Aug;130(8S Suppl):2073S-85S.
48. Baba S, Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Takizawa T, Nakamura T, et al. Bioavailability of (-)-epicatechin upon intake of chocolate and cocoa in human volunteers. *Free Radic Res*. 2000 Nov;33(5):635-41.
49. Holt RR, Lazarus SA, Sullards MC, Zhu QY, Schramm DD, Hammerstone JF, et al. Procyanidin dimer B2 [epicatechin-(4beta-8)-epicatechin] in human plasma after the consumption of a flavanol-rich cocoa. *Am J Clin Nutr*. 2002 Oct;76(4):798-804.
50. Schroeter H, Heiss C, Balzer J, Kleinbongard P, Keen CL, Hollenberg NK, et al. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Jan 24;103(4):1024-9.
51. Hooper L, Kay C, Abdelhamid A, Kroon PA, Cohn JS, Rimm EB, et al. Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Am J Clin Nutr*. 2012 Mar;95(3):740-51.
52. Ding EL, Hutfless SM, Ding X, Girotra S. Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutr Metab (Lond)*. 2006;3:2.
53. Ried K, Sullivan TR, Fakler P, Frank OR, Stocks NP. Effect of cocoa on blood pressure. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;8:CD008893.
54. Buijsse B, Feskens EJ, Kok FJ, Kromhout D. Cocoa intake, blood pressure, and cardiovascular mortality: the Zutphen Elderly Study. *Arch Intern Med*. 2006 Feb 27;166(4):411-7.
55. Taubert D, Berkels R, Roesen R, Klaus W. Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated systolic hypertension. *JAMA*. 2003 Aug 27;290(8):1029-30.
56. West SG, McIntyre MD, Piotrowski MJ, Poupin N, Miller DL, Preston AG, et al. Effects of dark chocolate and cocoa consumption on endothelial function and arterial stiffness in overweight adults. *Br J Nutr*. 2014 Feb;111(4):653-61.
57. Pase MP, Grima NA, Sarris J. The effects of dietary and nutrient interventions on arterial stiffness: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2011 Feb;93(2):446-54.
58. Hummel SL, Seymour EM, Brook RD, Koliass TJ, Sheth SS, Rosenblum HR, et al.

- Low-sodium dietary approaches to stop hypertension diet reduces blood pressure, arterial stiffness, and oxidative stress in hypertensive heart failure with preserved ejection fraction. *Hypertension*. 2012 Nov;60(5):1200-6.
59. Engler MB, Engler MM, Chen CY, Malloy MJ, Browne A, Chiu EY, et al. Flavonoid-rich dark chocolate improves endothelial function and increases plasma epicatechin concentrations in healthy adults. *J Am Coll Nutr*. 2004 Jun;23(3):197-204.
 60. Heiss C, Kleinbongard P, Dejam A, Perre S, Schroeter H, Sies H, et al. Acute consumption of flavanol-rich cocoa and the reversal of endothelial dysfunction in smokers. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Oct 4;46(7):1276-83.
 61. Grassi D, Necozione S, Lippi C, Croce G, Valeri L, Pasqualetti P, et al. Cocoa reduces blood pressure and insulin resistance and improves endothelium-dependent vasodilation in hypertensives. *Hypertension*. 2005 Aug;46(2):398-405.
 62. Heiss C, Schroeter H, Balzer J, Kleinbongard P, Matern S, Sies H, et al. Endothelial function, nitric oxide, and cocoa flavanols. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006;47 Suppl 2:S128-35; discussion S72-6.
 63. Macready AL, George TW, Chong MF, Alimbetov DS, Jin Y, Vidal A, et al. Flavonoid-rich fruit and vegetables improve microvascular reactivity and inflammatory status in men at risk of cardiovascular disease--FLAVURS: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2014 Mar;99(3):479-89.
 64. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA*. 2014 Feb 5;311(5):507-20.
 65. Whitworth JA, Chalmers J. World health organisation-international society of hypertension (WHO/ISH) hypertension guidelines. *Clin Exp Hypertens*. 2004 Oct-Nov;26(7-8):747-52.
 66. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998 Jul;15(7):539-53.
 67. Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, et al. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2003 Nov;26(11):3160-7.
 68. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002 Dec 17;106(25):3143-421.
 69. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2014 Jul 1;63(25 Pt B):2889-934.
 70. Yang CS, Chen L, Lee MJ, Balentine D, Kuo MC, Schantz SP. Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1998 Apr;7(4):351-4.
 71. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'. *Eur Heart J*. 2010 Oct;31(19):2338-50.
 72. Chen CH, Nevo E, Fetics B, Pak PH, Yin FC, Maughan WL, et al. Estimation of central aortic pressure waveform by mathematical transformation of radial tonometry pressure. Validation of generalized transfer function. *Circulation*. 1997 Apr 1;95(7):1827-36.
 73. Karamanoglu M, O'Rourke MF, Avolio AP, Kelly RP. An analysis of the relationship between central aortic and peripheral upper limb pressure waves in man. *Eur Heart J*. 1993 Feb;14(2):160-7.

74. Takazawa K, O'Rourke MF, Fujita M, Tanaka N, Takeda K, Kurosu F, et al. Estimation of ascending aortic pressure from radial arterial pressure using a generalised transfer function. *Z Kardiol.* 1996;85 Suppl 3:137-9.
75. Iliés C, Bauer M, Berg P, Rosenberg J, Hedderich J, Bein B, et al. Investigation of the agreement of a continuous non-invasive arterial pressure device in comparison with invasive radial artery measurement. *Br J Anaesth.* 2012 Feb;108(2):202-10.
76. Bartsch S, Ostojic D, Schmalgemeier H, Bitter T, Westerheide N, Eckert S, et al. [Validation of continuous blood pressure measurements by pulse transit time: a comparison with invasive measurements in a cardiac intensive care unit]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2010 Dec;135(48):2406-12.
77. Fortin J, Marte W, Grullenberger R, Hacker A, Habenbacher W, Heller A, et al. Continuous non-invasive blood pressure monitoring using concentrically interlocking control loops. *Comput Biol Med.* 2006 Sep;36(9):941-57.
78. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J.* 2012 Jul;33(13):1635-701.
79. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR, Jr., Lerman A. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation.* 2000 Mar 7;101(9):948-54.
80. Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest.* 1993 Jun;91(6):2546-51.
81. Ohara Y, Peterson TE, Sayegh HS, Subramanian RR, Wilcox JN, Harrison DG. Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *Circulation.* 1995 Aug 15;92(4):898-903.
82. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res.* 2000 Nov 10;87(10):840-4.
83. Heiss C, Keymel S, Niesler U, Ziemann J, Kelm M, Kalka C. Impaired progenitor cell activity in age-related endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 2005 May 3;45(9):1441-8.
84. Balzer J, Rassaf T, Heiss C, Kleinbongard P, Lauer T, Merx M, et al. Sustained benefits in vascular function through flavanol-containing cocoa in medicated diabetic patients a double-masked, randomized, controlled trial. *J Am Coll Cardiol.* 2008 Jun 3;51(22):2141-9.
85. Wang-Polagruto JF, Villablanca AC, Polagruto JA, Lee L, Holt RR, Schrader HR, et al. Chronic consumption of flavanol-rich cocoa improves endothelial function and decreases vascular cell adhesion molecule in hypercholesterolemic postmenopausal women. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2006;47 Suppl 2:S177-86; discussion S206-9.
86. Heiss C, Jahn S, Taylor M, Real WM, Angeli FS, Wong ML, et al. Improvement of endothelial function with dietary flavanols is associated with mobilization of circulating angiogenic cells in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Jul 13;56(3):218-24.
87. Heiss C, Finis D, Kleinbongard P, Hoffmann A, Rassaf T, Kelm M, et al. Sustained increase in flow-mediated dilation after daily intake of high-flavanol cocoa drink over 1 week. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2007 Feb;49(2):74-80.
88. Farouque HM, Leung M, Hope SA, Baldi M, Schechter C, Cameron JD, et al. Acute and chronic effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in subjects with coronary artery disease: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Clin Sci (Lond).* 2006 Jul;111(1):71-80.
89. Laurent S, Katsahian S, Fassot C, Tropeano AI, Gautier I, Laloux B, et al. Aortic

- stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. *Stroke*. 2003 May;34(5):1203-6.
90. Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, Gautier I, Benetos A, Lacolley P, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension*. 2002 Jan;39(1):10-5.
 91. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001 May;37(5):1236-41.
 92. van den Wijngaard JP, Siebes M, Westerhof BE. Comparison of arterial waves derived by classical wave separation and wave intensity analysis in a model of aortic coarctation. *Med Biol Eng Comput*. 2009 Feb;47(2):211-20.
 93. Ravikumar R, Deepa R, Shanthirani C, Mohan V. Comparison of carotid intima-media thickness, arterial stiffness, and brachial artery flow mediated dilatation in diabetic and nondiabetic subjects (The Chennai Urban Population Study [CUPS-9]). *Am J Cardiol*. 2002 Oct 1;90(7):702-7.
 94. Nigam A, Mitchell GF, Lambert J, Tardif JC. Relation between conduit vessel stiffness (assessed by tonometry) and endothelial function (assessed by flow-mediated dilatation) in patients with and without coronary heart disease. *Am J Cardiol*. 2003 Aug 15;92(4):395-9.
 95. Wiesmann F, Petersen SE, Leeson PM, Francis JM, Robson MD, Wang Q, et al. Global impairment of brachial, carotid, and aortic vascular function in young smokers: direct quantification by high-resolution magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Nov 16;44(10):2056-64.
 96. Ramsey MW, Goodfellow J, Jones CJ, Luddington LA, Lewis MJ, Henderson AH. Endothelial control of arterial distensibility is impaired in chronic heart failure. *Circulation*. 1995 Dec 1;92(11):3212-9.
 97. McEniery CM, Wallace S, Mackenzie IS, McDonnell B, Yasmin, Newby DE, et al. Endothelial function is associated with pulse pressure, pulse wave velocity, and augmentation index in healthy humans. *Hypertension*. 2006 Oct;48(4):602-8.
 98. Pauca AL, O'Rourke MF, Kon ND. Prospective evaluation of a method for estimating ascending aortic pressure from the radial artery pressure waveform. *Hypertension*. 2001 Oct;38(4):932-7.
 99. Song BG, Park JB, Cho SJ, Lee SY, Kim JH, Choi SM, et al. Pulse wave velocity is more closely associated with cardiovascular risk than augmentation index in the relatively low-risk population. *Heart Vessels*. 2009 Nov;24(6):413-8.
 100. Nurnberger J, Keflioglu-Scheiber A, Opazo Saez AM, Wenzel RR, Philipp T, Schafers RF. Augmentation index is associated with cardiovascular risk. *J Hypertens*. 2002 Dec;20(12):2407-14.
 101. Weber T, Auer J, O'Rourke MF, Kvas E, Lassnig E, Berent R, et al. Arterial stiffness, wave reflections, and the risk of coronary artery disease. *Circulation*. 2004 Jan 20;109(2):184-9.
 102. London GM, Blacher J, Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, Safar ME. Arterial wave reflections and survival in end-stage renal failure. *Hypertension*. 2001 Sep;38(3):434-8.
 103. Lemogoum D, Flores G, Van den Abeele W, Ciarka A, Leeman M, Degaute JP, et al. Validity of pulse pressure and augmentation index as surrogate measures of arterial stiffness during beta-adrenergic stimulation. *J Hypertens*. 2004 Mar;22(3):511-7.
 104. Miura K, Daviglius ML, Dyer AR, Liu K, Garside DB, Stamler J, et al. Relationship of blood pressure to 25-year mortality due to coronary heart disease, cardiovascular diseases, and all causes in young adult men: the Chicago Heart Association Detection Project in Industry. *Arch Intern Med*. 2001 Jun 25;161(12):1501-8.
 105. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Age-specific relevance of

- usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002 Dec 14;360(9349):1903-13.
1106. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003 Dec;42(6):1206-52.
 1107. Kocemba J, Kawecka-Jaszcz K, Gryglewska B, Grodzicki T. Isolated systolic hypertension: pathophysiology, consequences and therapeutic benefits. *J Hum Hypertens*. 1998 Sep;12(9):621-6.
 1108. Fagard RH, Staessen JA. Treatment of isolated systolic hypertension in the elderly: the Syst-Eur trial. Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) Trial Investigators. *Clin Exp Hypertens*. 1999 Jul-Aug;21(5-6):491-7.
 1109. Hall WD. Risk reduction associated with lowering systolic blood pressure: review of clinical trial data. *Am Heart J*. 1999 Sep;138(3 Pt 2):225-30.
 1110. Sakurai M, Yamakado T, Kurachi H, Kato T, Kuroda K, Ishisu R, et al. The relationship between aortic augmentation index and pulse wave velocity: an invasive study. *J Hypertens*. 2007 Feb;25(2):391-7.
 1111. Roman MJ, Devereux RB, Kizer JR, Lee ET, Galloway JM, Ali T, et al. Central pressure more strongly relates to vascular disease and outcome than does brachial pressure: the Strong Heart Study. *Hypertension*. 2007 Jul;50(1):197-203.
 1112. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation*. 2003 Jan 21;107(2):346-54.
 1113. Lakatta EG. Changes in cardiovascular function with aging. *Eur Heart J*. 1990 May;11 Suppl C:22-9.
 1114. Fleg JL. Alterations in cardiovascular structure and function with advancing age. *Am J Cardiol*. 1986 Feb 12;57(5):33C-44C.
 1115. Heiss C, Keen CL, Kelm M. Flavanols and cardiovascular disease prevention. *Eur Heart J*. 2010 Nov;31(21):2583-92.
 1116. Modena MG, Bonetti L, Coppi F, Bursi F, Rossi R. Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol*. 2002 Aug 7;40(3):505-10.
 1117. Quyyumi AA. Prognostic value of endothelial function. *Am J Cardiol*. 2003 Jun 19;91(12A):19H-24H.
 1118. Guerin AP, Blacher J, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness attenuation on survival of patients in end-stage renal failure. *Circulation*. 2001 Feb 20;103(7):987-92.
 1119. Opazo Saez AM MA, Philipp T, Nürnberger J. Arterial stiffness: A Potential Therapeutic Target to Reduce Cardiovascular Mortality. *Curr Hypertens Rev*. 2006;2:97-102
 1120. Probstfield JL, Applegate WB, Borhani NO, Curb JD, Cutler JA, Davis BR, et al. The Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP): an intervention trial on isolated systolic hypertension. SHEP Cooperative Research Group. *Clin Exp Hypertens A*. 1989;11(5-6):973-89.
 1121. Safar ME, London GM. Therapeutic studies and arterial stiffness in hypertension: recommendations of the European Society of Hypertension. The Clinical Committee of Arterial Structure and Function. Working Group on Vascular Structure and Function of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2000 Nov;18(11):1527-35.
 1122. Curtis PJ, Potter J, Kroon PA, Wilson P, Dhatariya K, Sampson M, et al. Vascular function and atherosclerosis progression after 1 y of flavonoid intake in statin-treated postmenopausal women with type 2 diabetes: a double-blind randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2013 May;97(5):936-42.
 1123. Desideri G, Kwik-Urbe C, Grassi D, Necozione S, Ghiadoni L, Mastroiacovo D, et al.

- Benefits in cognitive function, blood pressure, and insulin resistance through cocoa flavanol consumption in elderly subjects with mild cognitive impairment: the Cocoa, Cognition, and Aging (CoCoA) study. *Hypertension*. 2012 Sep;60(3):794-801.
124. Arts IC, Hollman PC, Feskens EJ, Bueno de Mesquita HB, Kromhout D. Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Am J Clin Nutr*. 2001 Aug;74(2):227-32.
 125. Pyke KE, Tschakovsky ME. The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function. *J Physiol*. 2005 Oct 15;568(Pt 2):357-69.
 126. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992 Nov 7;340(8828):1111-5.
 127. Leeson P, Thorne S, Donald A, Mullen M, Clarkson P, Deanfield J. Non-invasive measurement of endothelial function: effect on brachial artery dilatation of graded endothelial dependent and independent stimuli. *Heart*. 1997 Jul;78(1):22-7.
 128. Heiss C, Amabile N, Lee AC, Real WM, Schick SF, Lao D, et al. 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 May 6;51(18):1760-71.
 129. Dyson KS, Shoemaker JK, Hughson RL. Effect of acute sympathetic nervous system activation on flow-mediated dilation of brachial artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Apr;290(4):H1446-53.
 130. Guazzi M, Lenatti L, Tumminello G, Puppa S, Fiorentini C, Guazzi MD. The behaviour of the flow-mediated brachial artery vasodilatation during orthostatic stress in normal man. *Acta Physiol Scand*. 2004 Dec;182(4):353-60.
 131. Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, et al. Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005 Jan;23(1):7-17.
 132. Etsuda H, Takase B, Uehata A, Kusano H, Hamabe A, Kuhara R, et al. Morning attenuation of endothelium-dependent, flow-mediated dilation in healthy young men: possible connection to morning peak of cardiac events? *Clin Cardiol*. 1999 Jun;22(6):417-21.
 133. Chan NN, MacAllister RJ, Colhoun HM, Vallance P, Hingorani AD. Changes in endothelium-dependent vasodilatation and alpha-adrenergic responses in resistance vessels during the menstrual cycle in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Jun;86(6):2499-504.
 134. Williams MR, Westerman RA, Kingwell BA, Paige J, Blombery PA, Sudhir K, et al. Variations in endothelial function and arterial compliance during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Nov;86(11):5389-95.
 135. Adams MR, Robinson J, McCredie R, Seale JP, Sorensen KE, Deanfield JE, et al. Smooth muscle dysfunction occurs independently of impaired endothelium-dependent dilation in adults at risk of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 1998 Jul;32(1):123-7.
 136. Preik M, Lauer T, Heiss C, Tabery S, Strauer BE, Kelm M. Automated ultrasonic measurement of human arteries for the determination of endothelial function. *Ultraschall Med*. 2000 Oct;21(5):195-8.
 137. Sonka M, Liang W, Lauer RM. Automated analysis of brachial ultrasound image sequences: early detection of cardiovascular disease via surrogates of endothelial function. *IEEE Trans Med Imaging*. 2002 Oct;21(10):1271-9.
 138. Liang W BR, Lauer RM, Sonka M. Automated analysis of brachial ultrasound time series. *Proc of Spie. [Journal Article]*. 1998;3337(21):29-32.

139. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol.* 1994 Nov 15;24(6):1468-74.
140. Mitchell GF, Vita JA, Larson MG, Parise H, Keyes MJ, Warner E, et al. Cross-sectional relations of peripheral microvascular function, cardiovascular disease risk factors, and aortic stiffness: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2005 Dec 13;112(24):3722-8.
141. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol.* 2002 Jan 16;39(2):257-65.
142. Holland DJ, Sacre JW, McFarlane SJ, Coombes JS, Sharman JE. Pulse wave analysis is a reproducible technique for measuring central blood pressure during hemodynamic perturbations induced by exercise. *Am J Hypertens.* 2008 Oct;21(10):1100-6.
143. Weber T, Ammer M, Rammer M, Adji A, O'Rourke MF, Wassertheurer S, et al. Noninvasive determination of carotid-femoral pulse wave velocity depends critically on assessment of travel distance: a comparison with invasive measurement. *J Hypertens.* 2009 Aug;27(8):1624-30.
144. Hope SA, Tay DB, Meredith IT, Cameron JD. Use of arterial transfer functions for the derivation of aortic waveform characteristics. *J Hypertens.* 2003 Jul;21(7):1299-305.
145. Frese EM, Fick A, Sadowsky HS. Blood pressure measurement guidelines for physical therapists. *Cardiopulm Phys Ther J.* 2011 Jun;22(2):5-12.
146. O'Brien E, Asmar R, Beilin L, Imai Y, Mancia G, Mengden T, et al. Practice guidelines of the European Society of Hypertension for clinic, ambulatory and self blood pressure measurement. *J Hypertens.* 2005 Apr;23(4):697-701.
147. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA.* 2003 May 21;289(19):2560-72.
148. Osten H. [Rheocardiography in the orthostatic test (author's transl)]. *MMW Munch Med Wochenschr.* 1977 Jul 1;119(26):897-900.
149. Ebert TJ, Eckberg DL, Vetrovec GM, Cowley MJ. Impedance cardiograms reliably estimate beat-by-beat changes of left ventricular stroke volume in humans. *Cardiovasc Res.* 1984 Jun;18(6):354-60.
150. Ebert TJ, Smith JJ, Barney JA, Merrill DC, Smith GK. The use of thoracic impedance for determining thoracic blood volume changes in man. *Aviat Space Environ Med.* 1986 Jan;57(1):49-53.