

Arbeitsgruppe Endothelfunktion – Klinische Studien

Arbeitsgruppenleiter: Dr. Ascan Warnholtz

MitarbeiterInnen: Dr. Mir Abolfazl Ostad
cand. med. Nathalie Velich
cand. med. Christine Trautmann
cand. med. Eva Nick
cand. med. Vitor Paixao Gatinho
cand. med. Fabian Stieber
cand. med. Veronika Elsner
cand. med. Helene Fabrin
cand. med. Arne Petter
Mehti Ostad

Schwerpunkt der Arbeitsgruppe ist die Untersuchung der pharmakologischen Beeinflussbarkeit der endothelialen Dysfunktion bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit. In doppelblinden, randomisierten, monozentrischen und kontrollierten Studien wird der Einfluss verschiedener Pharmaka auf die flussabhängige Dilatation der Arteria brachialis untersucht. Zur Untersuchung des Mechanismus der endothelialen Dysfunktion werden Marker u.a. der Inflammation, des oxidativen Stress, der Thrombozytenfunktion bestimmt.

I. Einfluss der Thrombozyten auf die endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit

Die Atherosklerose ist ein krankhafter Prozess, bei dem sich strukturelle Veränderungen ausschließlich in den größeren Arterien zeigen, während funktionelle Veränderungen sowohl in den epikardialen Koronararterien als auch in der koronaren Mikrozirkulation auftreten. Funktionelle Veränderungen gehen morphologischen Veränderungen voraus. Die Forschung der letzten Jahre hat wichtige Erkenntnisse über die besondere Bedeutung des Gefäßendothels für die Protektion vor der Ausbildung einer Atherosklerose ergeben. Ex-vivo durchgeführte Untersuchungen weisen daraufhin, dass es bei der Entwicklung einer Atherosklerose zu wechselseitigen Interaktionen zwischen dem Gefäßendothel und aktivierten Thrombozyten kommt. So geht nicht nur der inhibitorische Einfluss des Endothels auf die Thrombozytenaktivierung verloren, sondern aktivierte Thrombozyten scheinen auch eine endotheliale Dysfunktion zu bewirken. Der Mechanismus dieser Thrombozyten-Endothelinteraktionen ist bisher nicht geklärt. Möglicherweise spielt die gesteigerte Bildung von Sauerstoffradikalen in den Thrombozyten mit der Folge einer Reduktion der endothelialen Bioverfügbarkeit von Stickstoffmonoxid (NO) eine wesentliche Rolle. Der Einsatz von ADP-Antagonisten (Clopidogrel) und Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten gehört zum Standard bei der Behandlung von Patienten mit akutem Koronarsyndrom bzw. im Rahmen der koronaren Stentimplantation. Inwieweit der positive klinische Vorteil einer Behandlung mit ADP-Antagonisten (Clopidogrel) bzw. Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten nur von dem Effekt auf die Thrombozytenfunktion abhängt oder zusätzlich die Interaktion zwischen Thrombozyten und Endothel beeinflusst wird, ist bisher nicht ausreichend geklärt.

1. Einfluss einer Bolusapplikation des Thrombozytenaggregationshemmers Clopidogrel auf die endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit (CLEOPATRA Studie)

Die CLEOPATRA Studie ist eine randomisierte, doppelblinde, monozentrische Studie, bei der der Einfluss einer einmaligen Applikation von Clopidogrel 300mg vs. 600mg p.o. (N=29 pro Gruppe) auf die Endothelfunktion untersucht wird. Das primäre Ziel dieser Studie ist die Untersuchung der Frage, ob eine Bolusgabe des Thrombozytenaggregationshemmers Clopidogrel die Endothelfunktion bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit verbessert. Dabei erfolgt die Beurteilung der Versuchsziele durch Bestimmung der Endothelfunktion der Patienten mit der sonographischen Messung der flussabhängigen Dilatation der Arteria brachialis im Vergleich zum Zeitpunkt vor der Bolusgabe und nach 2, 4 und 22 Stunden. Neben der Untersuchung der Wirkung von Clopidogrel auf die Endothelfunktion soll festgestellt werden, ob Änderungen der flussabhängigen Dilatation der Arteria brachialis mit Änderungen der Thrombozytenfunktion korrelieren. Außerdem soll der Einfluss von Clopidogrel auf die Superoxidationenproduktion untersucht werden.

2. Einfluss einer vierwöchigen Behandlung mit dem Thrombozytenaggregationshemmer Clopidogrel auf die endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit (CASSANDRA Studie)

Die CASSANDRA Studie ist eine randomisierte, doppelblinde, monozentrische Studie, bei der der Einfluss einer vierwöchigen Behandlung mit entweder Clopidogrel 75mg/d oder Clopidogrel 75mg/d+ASS 100mg/d oder ASS 100mg/d (n=40 pro Gruppe) auf die Endothelfunktion untersucht wird. Das primäre Ziel dieser Studie ist die Untersuchung der Frage, ob eine chronische Behandlung mit dem Thrombozytenaggregationshemmer Clopidogrel die Endothelfunktion bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit verbessert. Genau wie bei der CLEOPATRA Studie wird die Endothelfunktion durch Bestimmung der flussabhängigen Dilatation der Arteria brachialis vor der Behandlung und am Ende einer vierwöchigen Behandlung mit Clopidogrel gemessen. Neben der Untersuchung des Einflusses auf die Endothelfunktion wird auch der Einfluss von Clopidogrel auf verschiedene Superoxidquellen der Thrombozyten untersucht.

II. Einfluss von Niacin auf die endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit (INEF-Studie)

Kooperation mit dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (Direktor: Prof. Dr. K. Lackner)

Experimentelle und epidemiologische Studien haben gezeigt, dass eine Erniedrigung der HDL-Cholesterinplasmakonzentration mit einer erhöhten Inzidenz einer koronaren Herzerkrankung assoziiert ist. Mit der Arbiter-2-Studie konnte gezeigt werden, dass die Progression der Atherosklerose durch eine Behandlung mit Niacin zusätzlich zu einer Basistherapie mit Statinen verlangsamt werden konnte. Im Rahmen der INEF-Studie prüfen wir die Hypothese, dass eine zwölfwöchige Behandlung mit Niacin 1000 mg pro Tag zu einer Verbesserung der endothelialen

Dysfunktion bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung führt. Es handelt sich um eine randomisierte, doppelblinde, placebo-kontrollierte, monozentrische klinische Prüfung, bei der 50 Patienten mit Niacin 1000 mg pro Tag und 50 Patienten mit Placebo für 12 Wochen behandelt werden. Die Endothelfunktion wird durch die Messung der flussabhängigen Dilatation der Arteria brachialis bestimmt. Als sekundäre Zielparameter werden der Einfluss der Niacin-Therapie auf die Plasmalipidkomposition, auf Marker von Inflammation und oxidativem Status geprüft. Als wesentliche Einschlusskriterien gelten eine angiographisch dokumentierte koronare Herzerkrankung und eine flussabhängige Dilatation $< 8\%$ als Zeichen einer Endotheldysfunktion. Ausschlusskriterien sind eine klinisch relevante Herzinsuffizienz mit einer linksventrikulären Ejektionsfraktion $< 30\%$, ein unkontrollierter Hypertonus, eine relevante Nieren- oder Leberfunktionsstörung, systemisch entzündliche Erkrankungen oder die Initiierung anderer, die Endothelfunktion beeinflussender Medikamente innerhalb der letzten 12 Wochen, wie z. B. Statine, ACE-Hemmer, AT1-Rezeptorblocker, Hormonersatzpräparate, Aspirin.

III. Vergleich des Einflusses einer hochdosierten Behandlung mit Atorvastatin versus kombinierter Behandlung mit niedrig dosiertem Atorvastatin + Ezetimib auf die endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit (CEZAR-Studie)

Kooperation mit dem Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie, Hamburg (Direktor: Prof. Dr. T. Eschenhagen)

Die Behandlung mit Statinen ist ein wichtiger Bestandteil der Sekundärprävention der koronaren Herzkrankheit. Dabei spielen von der Cholesterinsenkung unabhängige Wirkungen von Statinen möglicherweise eine bedeutende Rolle. Inwieweit Statine über pleiotrope Effekte die Endothelfunktion verbessern, ist bisher nicht ausreichend untersucht. Das Ziel der CEZAR-Studie ist die Überprüfung der Hypothese, dass bei vergleichbarer Cholesterinreduktion eine hochdosierte Atorvastatinbehandlung die endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit stärker verbessert als eine niedrigdosierte Atorvastatinbehandlung. Dazu werden 72 Patienten mit koronarer Herzkrankheit im Rahmen einer monozentrischen, randomisierten Doppelblindstudie für 8 Wochen entweder mit Atorvastatin 80mg/d (A80) oder Atorvastatin 10mg in Kombination mit dem Cholesterinresorptionshemmer Ezetimib 10mg/d (A10E10) behandelt. Zu Beginn und am Ende der Studie wird die Endothelfunktion der Patienten durch die sonographische Messung der flussabhängigen Dilatation der Arteria brachialis (FAD), sowie Marker für oxidativen Stress und inflammatorische Marker gemessen..

Publikationen

1. Warnholtz, A., M.A. Ostad, N. Velich, C. Trautmann, R. Schinzel, U. Walter, T. Munzel, A single loading dose of clopidogrel causes dose-dependent improvement of endothelial dysfunction in patients with stable coronary artery disease: Results of a double-blind, randomized study. *Atherosclerosis*, 2007. Jan 8; [Epub ahead of print].
2. Warnholtz, A., M.A. Ostad, T. Heitzer, F. Thuneke, M. Frohlich, P. Tschentscher, E. Schwedhelm, R. Boger, T. Meinertz, T. Munzel, AT1-receptor blockade with irbesartan improves peripheral but not coronary endothelial dysfunction in patients with stable coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 2006. Sep 11; [Epub ahead of print].
3. Oelze, M., A. Warnholtz, J. Faulhaber, P. Wenzel, A.L. Kleschyov, M. Coldewey, U. Hink, O. Pongs, I. Fleming, S. Wassmann, T. Meinertz, H. Ehmke, A. Daiber, T. Munzel, NADPH Oxidase Accounts for Enhanced Superoxide Production and Impaired Endothelium-Dependent Smooth Muscle Relaxation in BK β 1-/- Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006.
4. Warnholtz, A., M.A. Ostad, T. Heitzer, B.U. Goldmann, G. Nowak, T. Munzel, Effect of tirofiban on percutaneous coronary intervention-induced endothelial dysfunction in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 2005. 95(1): p. 20-3.
5. Warnholtz, A., S. Genth-Zotz, T. Munzel, Should treatment of sepsis include statins? *Circulation*, 2005. 111(14): p. 1735-7.
6. Daiber, A., A. Mulsch, U. Hink, H. Mollnau, A. Warnholtz, M. Oelze, T. Munzel, The oxidative stress concept of nitrate tolerance and the antioxidant properties of hydralazine. *Am J Cardiol*, 2005. 96(7B): p. 25-36.
7. Baldus, S., R. Koster, P. Chumley, T. Heitzer, V. Rudolph, M.A. Ostad, A. Warnholtz, H.J. Staude, F. Thuneke, K. Koss, J. Berger, T. Meinertz, B.A. Freeman, T. Munzel, Oxypurinol improves coronary and peripheral endothelial function in patients with coronary artery disease. *Free Radic Biol Med*, 2005. 39(9): p. 1184-90.
8. Warnholtz, A., M. Wendt, M. August, T. Munzel, Clinical aspects of reactive oxygen and nitrogen species. *Biochem Soc Symp*, 2004(71): p. 121-33.
9. Warnholtz, A., T. Munzel, The failing human heart: another battlefield for the NAD(P)H oxidase? *J Am Coll Cardiol*, 2003. 41(12): p. 2172-4.
10. Warnholtz, A., M. Wendt, T. Munzel, When sleeping beauty turns ugly: mitochondria in hypoxia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002. 22(4): p. 525-7.
11. Warnholtz, A., N. Tsilimingas, M. Wendt, T. Munzel, Mechanisms underlying nitrate-induced endothelial dysfunction: insight from experimental and clinical studies. *Heart Fail Rev*, 2002. 7(4): p. 335-45.
12. Warnholtz, A., H. Mollnau, T. Heitzer, A. Kontush, T. Moller-Bertram, D. Lavall, A. Giaid, U. Beisiegel, S.L. Marklund, U. Walter, T. Meinertz, T. Munzel, Adverse effects of nitroglycerin treatment on endothelial function, vascular nitrotyrosine levels and cGMP-dependent protein kinase activity in hyperlipidemic Watanabe rabbits. *J Am Coll Cardiol*, 2002. 40(7): p. 1356-63.
13. Warnholtz, A., H. Mollnau, M. Oelze, M. Wendt, T. Munzel, Antioxidants and endothelial dysfunction in hyperlipidemia. *Curr Hypertens Rep*, 2001. 3(1): p. 53-60.
14. Mulsch, A., M. Oelze, S. Kloss, H. Mollnau, A. Topfer, A. Smolenski, U. Walter, J.P. Stasch, A. Warnholtz, U. Hink, T. Meinertz, T. Munzel, Effects of in vivo nitroglycerin treatment on activity and expression of the guanylyl

- cyclase and cGMP-dependent protein kinase and their downstream target vasodilator-stimulated phosphoprotein in aorta. *Circulation*, 2001. 103(17): p. 2188-94.
15. Laursen, J.B., M. Somers, S. Kurz, L. McCann, A. Warnholtz, B.A. Freeman, M. Tarpey, T. Fukai, D.G. Harrison, Endothelial regulation of vasomotion in apoE-deficient mice: implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. *Circulation*, 2001. 103(9): p. 1282-8.
 16. Hink, U., H. Li, H. Mollnau, M. Oelze, E. Matheis, M. Hartmann, M. Skatchkov, F. Thaiss, R.A. Stahl, A. Warnholtz, T. Meinertz, K. Griendling, D.G. Harrison, U. Forstermann, T. Munzel, Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res*, 2001. 88(2): p. E14-22.
 17. Warnholtz, A., T. Munzel, Why do antioxidants fail to provide clinical benefit? *Curr Control Trials Cardiovasc med*, 2000. 1(1): p. 38-40.
 18. Oelze, M., H. Mollnau, N. Hoffmann, A. Warnholtz, M. Bodenschatz, A. Smolenski, U. Walter, M. Skatchkov, T. Meinertz, T. Munzel, Vasodilator-stimulated phosphoprotein serine 239 phosphorylation as a sensitive monitor of defective nitric oxide/cGMP signaling and endothelial dysfunction. *Circ Res*, 2000. 87(11): p. 999-1005.
 19. Munzel, T., H. Li, H. Mollnau, U. Hink, E. Matheis, M. Hartmann, M. Oelze, M. Skatchkov, A. Warnholtz, L. Duncker, T. Meinertz, U. Forstermann, Effects of long-term nitroglycerin treatment on endothelial nitric oxide synthase (NOS III) gene expression, NOS III-mediated superoxide production, and vascular NO bioavailability. *Circ Res*, 2000. 86(1): p. E7-E12.
 20. Munzel, T., H. Mollnau, M. Hartmann, C. Geiger, M. Oelze, A. Warnholtz, A.H. Yehia, U. Forstermann, T. Meinertz, Effects of a nitrate-free interval on tolerance, vasoconstrictor sensitivity and vascular superoxide production. *J Am Coll Cardiol*, 2000. 36(2): p. 628-34.
 21. Heitzer, T., C. Brockhoff, B. Mayer, A. Warnholtz, H. Mollnau, S. Henne, T. Meinertz, T. Munzel, Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation in chronic smokers : evidence for a dysfunctional nitric oxide synthase. *Circ Res*, 2000. 86(2): p. E36-41.
 22. Warnholtz, A., G. Nickenig, E. Schulz, R. Macharzina, J.H. Brasen, M. Skatchkov, T. Heitzer, J.P. Stasch, K.K. Griendling, D.G. Harrison, M. Bohm, T. Meinertz, T. Munzel, Increased NADH-oxidase-mediated superoxide production in the early stages of atherosclerosis: evidence for involvement of the renin-angiotensin system. *Circulation*, 1999. 99(15): p. 2027-33.