

Aus dem Zentrum der Kardiologie
Klinik für Kardiologie Klinikum Mutterhaus der Borromäerinnen

„Effect of waterpipe-use on vascular endothelial function“

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Hendrik Strutz
aus Mainz

Mainz, 2024

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.- Prof. Dr. Hansjörg Schild

Tag der Promotion: 30.1.2025

**Gewidmet
Meiner Familie**

Inhaltsverzeichnis

I.	Abkürzungsverzeichnis	I
II.	Abbildungsverzeichnis	IV
III.	Tabellenverzeichnis	VII
1	Einleitung / Ziel der Diskussion	1
1.1	Einleitung	1
1.2	Ziel der Dissertation	3
2	Literaturdiskussion	4
2.1	Die Anatomie der Gefäße	4
2.1.1	Tunica intima: Endothel und Stratum subendotheliale	6
2.1.2	Tunica media.....	6
2.1.3	Die Arterien vom elastischen Typ	7
2.1.4	Die Arterien vom muskulären Typ	8
2.1.5	Die Arteriolen.....	9
2.1.6	Die Kapillaren.....	9
2.2	Die Bedeutung und Funktion des Stickstoffmonooxids (NO)	10
2.2.1	Die Bedeutung von Stickstoffmonooxid (NO)	11
2.2.2	Die Biosynthese des Stickstoffes (NO-Synthase)	13
2.3	Endothelfunktion und Dysfunktion	15
2.4	Atherosklerose und Arteriosklerose	20
2.5	Bedeutung und Mechanismus der Gewebeproteine (PAI, MCP-1)	27
2.5.1	PAI (Plasminogenaktivator-Inhibitor-1)	27
2.5.2	MCP-1 (Monozytochemotaktisches Protein-1).....	28
2.6	Quantifizierung der Endothelfunktion	28
2.6.1	Invasive und nicht-invasive Methoden zur Bestimmung der Endothelfunktion.....	29
2.6.2	Nicht invasive Messmethoden der Endothelfunktion	31
2.6.3	Analysen oszillometrischer Signale der Arteriolen mittels Laserdoppler	34
2.7	Rauchen und Endothelfunktion	35
2.8	Aufbau von Shishas / Wasserpfeifen	38
2.9	Nikotin	39
2.10	Pharmakokinetik.....	39
2.11	Pharmakodynamik.....	40

2.12	<i>Direkte Einwirkung des Nikotins auf das kardiovaskuläre System</i>	41
2.13	<i>Schadstoffe und toxische Verbindungen im Shisharauch</i>	42
3	Material und Methoden	44
3.1	<i>Studienprotokoll</i>	44
3.2	<i>Ethische Aspekte</i>	45
3.3	<i>Studiendesign</i>	45
3.4	<i>Akquise der Probanden</i>	45
3.5	<i>Kriterien zum Studienabbruch</i>	46
3.6	<i>Studienablauf</i>	46
3.7	<i>Analyse mit Hilfe von EDV-Software</i>	54
3.7.1	Cardiovascular suite	54
3.7.2	Perisoft für Windows	58
3.7.3	PORH (Post occlusion reaction hyperaemia)	59
3.7.4	Frequenzanalyse der Oszillationen	60
3.7.5	DOMINO light®	60
3.7.6	Sympathovagale Balance (SVB)	61
3.7.7	Messung der Pulswellenlaufzeit (pulse transit time, PTT)	61
3.8	<i>Eingesetzte Materialien</i>	63
3.8.1	Hardware	63
3.8.2	Software	65
3.9	<i>Statistische Auswertung</i>	66
3.9.1	Fallzahlplanung	66
3.9.2	Statistische Test und Verfahren	66
4	Ergebnisse	68
4.1	<i>Studienpopulation</i>	68
4.1.1	Alter, Geschlecht und BMI der Studienpopulation	68
4.1.2	Laborparameter der Studienpopulation zu Versuchsbeginn	71
4.2	<i>Flussvermittelte Dilatation (FMD)</i>	74
4.3	<i>Niedrig Flussvermittelte Vasokonstriktion (L- FMC)</i>	76
4.4	<i>Laserdoppler</i>	77
4.4.1	Post occlusive reactive hyperaemia	78
4.4.2	Frequenz- Analysen	81
4.5	<i>SOMNOWatch™</i>	84

4.5.1	Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität	84
4.5.2	Sympathovagale Balance (SVB)	86
4.6	<i>Fragebogen</i>	87
4.6.1	Unerwünschte Wirkungen durch die Inhalation des Shisha- Rauches	87
5	Diskussion	88
5.1	<i>Anthropometrie und Laborparameter</i>	88
5.2	<i>Wirkung des Shisha- Rauchs auf die FMD</i>	89
5.3	<i>Auswirkung des Shisha- Rauchs auf die L- FMC</i>	92
5.4	<i>Klinische Aussagekraft der Endothelfunktion</i>	93
5.5	<i>Diskussion der Laser-Doppler- Messungen</i>	94
5.5.1	Diskussion der PORH- Analyse mittels Laserdoppler	95
5.5.2	Diskussion der Frequenzanalyse mittels Laser-Doppler	96
5.6	<i>Diskussion der Messergebnisse der SOMNOWatch™</i>	98
5.6.1	Herzfrequenz	99
5.6.2	Herzfrequenzvariabilität (HRV) und sympathovagale Balance (SVB).....	100
5.7	<i>Methodenkritik</i>	103
5.8	<i>Beitrag zum aktuellen Stand der Forschung</i>	104
5.9	<i>Ausblick</i>	105
6	Zusammenfassung	107
7	Literaturverzeichnis	109
8	Anhang	121
9	Danksagung	130
10	Tabellarischer Lebenslauf	131

I. Abkürzungsverzeichnis

° C	Grad Celsius
A.	Arteria
ACh	Acetylcholin
AH	hyperaemia area
AO	Area of occlusion
BDC	Körperkorrelationsfaktor
BH4	Tetrahydrobiopterin
bpm	beats per minute
Ca ²⁺	Calcium
cm	centimeter
CO ₂	Kohlendioxid
d	Gefäßdurchmesser
DHFR	Dihydrofolatreduktase
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDRF	Endothelialum- derived relaxing Factor
eNOS	endotheliale NO-Synthase
EPR	paramagnetischen Elektronenresonanz
EWP	elektronische Wasserpfeife
E-Zigaretten	elektornische Zigaretten
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FMD	flow-mediated dilatation, Flussvermittelte Dilatation
FMN	Flavinmononucleotid
GABA	γ-Aminobuttersäure
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GTP	Guanin Triphosphat
Häm	Hämoglobin
HDL	high density lipoprotein
HPHCs	harmful and potentially harmful constituents
HQ	Gefährdungsquotienten/Hazard Quotient
HRV	Herzfrequenzvariabilität
Hz	Herz
ICAM	interzellulären Adhäsions Moleküle

IP3R	Inositoltriphosphatrezeptor
KHK	koronare Herzkrankheit
LDL	low density lipoprotein
L-FMC	low-flow mediated constriction
MCP	Monozytochemotaktisches Protein
mg	Milligramm
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
nAChR	nikotinischer Acetylcholin- Rezeptor
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
ng	nanogram
nNOS	neuronale Stickstoff-Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoff-Synthase, Stickstoff-Synthase
O ₂	Sauerstoff
oxLDL	oxidiertem LDL
Pa	Pascal
PAI	Plasminogenaktivator-Inhibitor
PDE	Phosphodiesterase
PECAM	Endothelzellen-Adhäsionsmolekül
PF	Peak Flow
pH	potentia Hydrogenii
PKC	Proteinkinase C
pKs	Säurekonstante
PORH	Post occlusion reaction hyperaemia
PTT	pulse transit time
PU	Perfusionseinheit
Py	Packyears
RF	Rest Flow, Rest Flow
ROI	Region Of Intrest
ROS	reactive oxygen species
RyR	Ryanodinrezeptor
SMC	smooth muscle cell, smooth muscle cells
SR	Scherrate
SVB	Sympathovagale Balance,

TG	Triglyceriden
t-PA	tissue-type plasminogen activator
u-PA-	Urokinase-Typ Plasminogen Aktivator
V	Flussgeschwindigkeit
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule-
Verg.	Vergrößerung
VERGF	vascular endothelial growth factor
WHO	World Human Organsiation
µm	mikrometer

II. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau Arterienwand (17).....	5
Abbildung 2: Elastische Arterien des Menschen, Bsp.: A. carotis communis (a: links) und der Aorta (b: rechts) (21).....	8
Abbildung 3: Arterien vom muskulären Typ (21).....	9
Abbildung 4: Mechanismen zur Auslösung von Kontraktion und Relaxierung im glatten Muskel (29).	12
Abbildung 5: Biosynthese von NO durch NO-Synthasen (38).	14
Abbildung 6: Überblick über das vereinfachte Modell der Redox- Biologie im Kreislaufsystem (50).	17
Abbildung 7: Redoxschalter in der endothelialen NO-Synthase (51).....	18
Abbildung 8: Molekulare Mechanismen der endothelialen und vaskulären Dysfunktion (66).....	19
Abbildung 9: Schematische Darstellung der Aufnahme von LDL in die Endothelzellen (76).....	22
Abbildung 10: Stadien der Entwicklung von atherosklerotischen Läsionen (79).	23
Abbildung 11: Wichtige Moleküle, die an den Interaktionen zwischen Leukozyten und Endothelien beteiligt sind (83).....	25
Abbildung 12: (A) Querschnitt einer Koronararterie, die kurz vor einer Bifurkation geschnitten wurde (75).	26
Abbildung 13: (B) Eine stärkere Vergrößerung der Schnittstelle zwischen Plaque und Thrombus (75).	26
Abbildung 14: Invasive und nicht-invasive Methoden zur Bestimmung der Endothelfunktion (6).....	29
Abbildung 15: Laserdoppler: Doppler-Verschiebungsfrequenz für eine gut durchblutete Region für Mikrozirkulation (119).	34
Abbildung 16: Bestandteile einer Shisha (132).....	38
Abbildung 17: Nikotin Strukturformel (133).....	39
Abbildung 18: Proband mit SOMNOWatch™ und EKG-Elektroden.	48
Abbildung 19: Proband auf der Versuchsliege bei der Messdurchführung der FMD.	49
Abbildung 20: Darstellung eines Gefäßabschnittes mittels Sonographie (154).....	50
Abbildung 21: Versuchsaufbau FMD- Messung.	50
Abbildung 22: Für die Studie verwendete Shisha.	52

Abbildung 23: Versuchsfenster der Cardiovascular Suite (161).	54
Abbildung 24: Endothelgrenzen mit der gestrichelten M- Linien (161).	55
Abbildung 25: Graphische Darstellung der Doppelflusskurve (161).	56
Abbildung 26: Bildliche Darstellung der Scherkraft in einem Gefäß (159).	57
Abbildung 27: Analysefenster einer Laserdoppler- Messung und Auswertung mit der Perisoft für Windows.	58
Abbildung 28: Graphischer Zusammenfassung der PORH- Analyse.	59
Abbildung 29: Graphische Darstellung einer PTT- Messung (163).	62
Abbildung 30: Body- Maß- Index im Vergleich zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.	70
Abbildung 31: Diastolischer Blutdruck im Vergleich zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.	70
Abbildung 32: Gesamtcholesterin im Serum im Vergleich zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.	72
Abbildung 33: LDL-Cholesterin im Serum im Vergleich zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.	72
Abbildung 34: Leukozytenzahl im EDTA- Blut im Vergleich von nichtrauchenden und rauchenden Probanden.	73
Abbildung 35: CRP- Konzentration im Blutplasma zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden	73
Abbildung 36: Hämoglobinwert im Vergleich zu nichtrauchenden und rauchenden Probanden.	73
Abbildung 37: Hämatokritwert im Vergleich zu zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.	73
Abbildung 38: FMD der Gesamtpopulation vor dem Rauchen.	74
Abbildung 39: FMD der Gesamtpopulation nach dem Rauchen.....	74
Abbildung 40: FMC der Gesamtpopulation vor dem Rauchen.	76
Abbildung 41: FMC der Gesamtpopulation nach dem Rauchen.....	76
Abbildung 42: Hyperaemia area der Gesamtpopulation.	79
Abbildung 43: Peak flow der Gesamtpopulation.	79
Abbildung 44: Occlusion area der Gesamtpopulation.....	79
Abbildung 45: Biological zero der Gsasmtpopulation.	79
Abbildung 46: Rest flow der Gesamtpopulation.....	80
Abbildung 47: Signalstärke der Oszillationen im Frequenzbereich 0,01-0,02 Hz.	82
Abbildung 48: Signalstärke der Oszillationen im Frequenzbereich 0,02- 0,05 Hz.	82

Abbildung 49: Signalstärke der Oszillationen im Frequenzbereich 0,05- 0,15 Hz.	83
Abbildung 50: Signalstärke der Oszillationen im Frequenzbereich 0,15- 0,6 Hz	83
Abbildung 51: Signalstärke der Oszillationen im Frequenzbereich 0,6- 2,0 Hz.	83

III. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Reaktive Sauerstoffspezies ROS-moleküle und Substanzen (62).....	16
Tabelle 2: Frequenzintervalle (FI) und Vaskuläre Aktivitäten (120).....	34
Tabelle 3: Erklärung der Messparameter der Endothelfunktion.....	55
Tabelle 4: Ermittelte Werte der Cardiovascular Suite.....	56
Tabelle 5: Übersicht der anthropologischen Daten Herzfrequenz und Blutdruck der Studienteilnehmer.....	68
Tabelle 6: Laborparameter der Studienteilnehmer.....	71
Tabelle 7: Ungepaarte T-Tests für die Laborwerte, die mit kardiovaskulärer Gesundheit einhergehen.....	72
Tabelle 8: Flussvermittelte FMD vor und nach dem Rauchen.....	74
Tabelle 9: T-Test für gepaarte Stichproben der gesamter Studienpopulation. FMD vor und nach dem Rauchen.....	75
Tabelle 10: FMC vor und nach dem Rauchen der Shisha.....	76
Tabelle 11: T-Test für gepaarte Stichproben der gesamten Studienpopulation FMC vor und nach dem Rauchen.....	77
Tabelle 12: PORH-Auswertung der gesamten Studienteilnehmer vor und nach dem Rauchen der Shisha.....	78
Tabelle 13: Frequenzanalyse der gesamten Studienpopulation vor und nach dem Rauchen der Shisha.....	81
Tabelle 14: Mittelwerte der Herzfrequenz der Gesamtpopulation vor, während und nach dem Rauchen.....	84
Tabelle 15: Herzfrequenzvariabilität Mittelwerte der Gesamtpopulation vor, während und nach dem Rauchen.....	85
Tabelle 16: Die SVB zu unterschiedlichen Messzeitpunkten während Versuchszeit der gesamten Studienpopulation.....	86
Tabelle 17: Unerwünschte Symptome nach der Inhalation des Shisha- Rauches....	87
Tabelle 18: Tabellarische Darstellung der Herzfrequenz eines Probanden aus dem Report der SOMNOWatch™.....	100

1 Einleitung / Ziel der Diskussion

1.1 Einleitung

Schon seit längerem ist bekannt, dass ein Zusammenhang zwischen endothelialer Dysfunktion und den traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Dyslipidämie, Adipositas und Rauchen besteht (1). Das Zigarettenrauchen wirkt mit o. g. Erkrankungen synergistisch und steigert somit die kardiovaskuläre Morbidität sowie Mortalität und wirkt sich auf alle Phasen der Atherosklerose aus (2). In den 1990er Jahren, machten kardiovaskuläre Erkrankungen ca. 50% der Todesursachen in den westlichen Nationen aus (3). Dies hat sich in den letzten Jahrzehnten geändert und man hat erkannt, dass es sich mittlerweile um ein globales Problem handelt. Heute liegt das Hauptrisiko für die Entwicklung von kardiovaskulären Erkrankungen in den bevölkerungsreichen Entwicklungsländern (4). Sowohl die aktive als auch die passive (umweltbedingte) Zigarettenrauchexposition sind prädisponierend für kardiovaskuläre Ereignisse (2). Für die Mehrheit der weltweiten Todesfälle, sind atherosklerotische bedingte kardiovaskuläre Erkrankungen verantwortlich (4). Laut einem WHO Bericht von 2019 ist der Konsum von Tabak an der Hälfte und für mehr als 8 Millionen Todesfällen verantwortlich, von denen wiederum 7 Millionen Todesfälle auf den direkten Tabakkonsum zurückzuführen sind (1,5).

Die endotheliale Dysfunktion ist auch bei gesunden Individuen bereits über einen längeren Zeitraum vorhanden, bevor sich die kardiovaskulären Ereignisse durch atherosklerotische Veränderungen bemerkbar machen (6). Es ist bekannt, dass bereits nach einmaligem Genuss von Zigaretten, eine temporäre Einschränkung der Endothelfunktion eintritt (7).

Die Wasserpfeife, die auch als Shisha, Wasserpfeife, Narghile, Goza und Hubble Bubble bekannt ist, wird im Nahen Osten, in Indien und in Teilen Asiens seit mehr als 400 Jahren zum Tabakkonsum verwendet und hat in jüngerer Zeit auch in den westlichen Ländern mehr Beachtung im Markt für rauchlosen Tabak erhalten (8). Neben der Terminologie gibt es auch vielfältige regionale Unterschiede in Form, Größe und Aussehen des gerauchten Tabaks (8). Seit Beginn des 21. Jahrhunderts, ist der Konsum von Wasserpfeifen auch in den westlichen Ländern, vor allem bei

Jugendlichen und jungen Erwachsenen sprunghaft angestiegen (9). Noch immer haben die Konsumenten die Vorstellung, dass aufgrund der möglichen Filterwirkung des Wassers, diese Art des Rauchens eine gesündere Alternative zum herkömmlichen Zigarettenkonsum sei (10,11). Auch die Prävalenz des lebenslangen Wasserpfeifenkonsums ist besorgniserregend. Münzel et al. beschreiben in ihrer Studie ein Anstieg von 2,1 % bis 44,0 % in den USA, 11,6 % bis 40,1 % in Großbritannien und 20,0 % bis 28,9 % in Deutschland (1).

Jüngste statistische Erhebungen in den Vereinigten Staaten und einigen westlichen Staaten zeigen, dass Rauchen von Wasserpfeifen bei Jugendlichen zur zweithäufigsten Methode des Tabakkonsums geworden ist (12). So zeigt beispielsweise eine im Jahr 2008-2009 durchgeführte Umfrage unter College-Studenten (n = 105.012) an 152 US-Universitäten, dass 30,5% der Befragten schon einmal eine Wasserpfeife geraucht haben und 8,4 % der Befragten diese derzeit konsumieren, und somit das Wasserpfeifenrauchen nach dem Zigarettenkonsum das zweitbeliebteste Tabakprodukt in dieser Bevölkerungsgruppe ist (12). Da in dieser Studie die Hälfte (51,4%) der befragten Wasserpfeifenraucher keine Zigarettenraucher waren, besteht die Annahme, dass das Rauchen von Wasserpfeifen möglicherweise als Einstieg zum späteren Zigarettenkonsum zu bewerten ist (12). Laut der KiGGS-Studie aus dem Jahre 2015, die den Konsum von Shisha- Rauchen der 12–17-Jährigen untersuchte, zeigt, dass männliche Jugendliche signifikant häufiger zur Wasserpfeife greifen als weibliche Jugendliche (13).

Es gibt bestimmte Gründe, die das Rauchen von Wasserpfeifen bei Jugendlichen so beliebt machen. Ein herausragender Faktor ist dabei der Geschmack. Schon in den 1990- Jahren gibt es aromatisierten Tabak (Doppelapfel, Melone etc.), die dem Rauchen einen angenehmen fruchtig- süßen Geschmack und Geruch geben und somit zum inhalieren anregen (13,14). In einigen Studien wurden bereits konkrete Erkenntnisse für die sogenannte „gateway hypotesis“ dokumentiert, die zu dem Ergebnis kommen, dass durch das Rauchen von Wasserpfeifen der Einstieg zum Konsumieren von Zigaretten erheblich erleichtert und viel wahrscheinlicher wird (13,15,16).

1.2 Ziel der Dissertation

Das Ziel dieser Forschungsarbeit liegt darin, die Auswirkungen des Shisha-Konsums auf die Endothelfunktion und somit auch auf das kardiovaskuläre System zu erfassen und zu dokumentieren. Im Vordergrund der Studie stehen somit folgende Fragen:

- Wie sind die Auswirkungen des Shisha-Rauchens auf die Endothelfunktion von Nichtrauchern und Rauchern?
- Lassen sich die Auswirkungen und die Risiken des Rauchens von Shishas auf andere rauchbare Produkte übertragen, beziehungsweise vergleichen?

Primäre Endpunkte:

Messung der flussabhängigen Gefäßdilataion (FMD in %) der Arteria brachialis vor und nach 30-minütigen Rauchen.

Sekundäre Endpunkte:

- Blutdruck, Herzfrequenz, Gefäßsteifigkeitsparameter
- Herzfrequenzvariabilität/ sympathovagale Balance (kontinuierliche Messung mit Hilfe der SOMNOWatch™)
- Flussvermittelte Gefäßkonstriktion (L-FMC in %, Low- flow mediated constriction)
- Messung der kapillären Durchblutung (mit Hilfe des Laserdopplerverfahrens)

2 Literaturdiskussion

2.1 Die Anatomie der Gefäße

Das menschliche Gefäßsystem unterscheidet sich strukturell und funktionell in verschiedene Abschnitte. Man kann das System sowohl in ein Hochdrucksystem als auch in ein Niederdrucksystem unterteilen. Das Hochdrucksystem wird von den Arterien gebildet, die sich in zwei unterschiedliche Typen unterteilen lassen. Zum einen in den elastischen Typ und zum anderen in den muskulären Typ. Herznahe Arterien, wie die Aorta und deren Abgänge werden dem elastischen Typ gezählt, während die peripheren Arterien dem muskulären Typ zugeordnet werden (17).

Der grundsätzliche Aufbau von Arterien untergliedert sich in drei Schichten (18). Nachfolgend wird der Aufbau von innen nach außen beschrieben.

Tunica intima:

Endothel und dem Stratum subendotheliale

Tunica media:

Glatte Muskelzellen, kollagenfibrillen Typ III, elastische Fasern, sowie Proteoglykane.

Tunica adventitia:

Bindegewebe mit Kollagenfasern Typ I, sowie aus längsverlaufende elastischen Fasern (je nach Gefäßabschnitt mehr oder weniger).

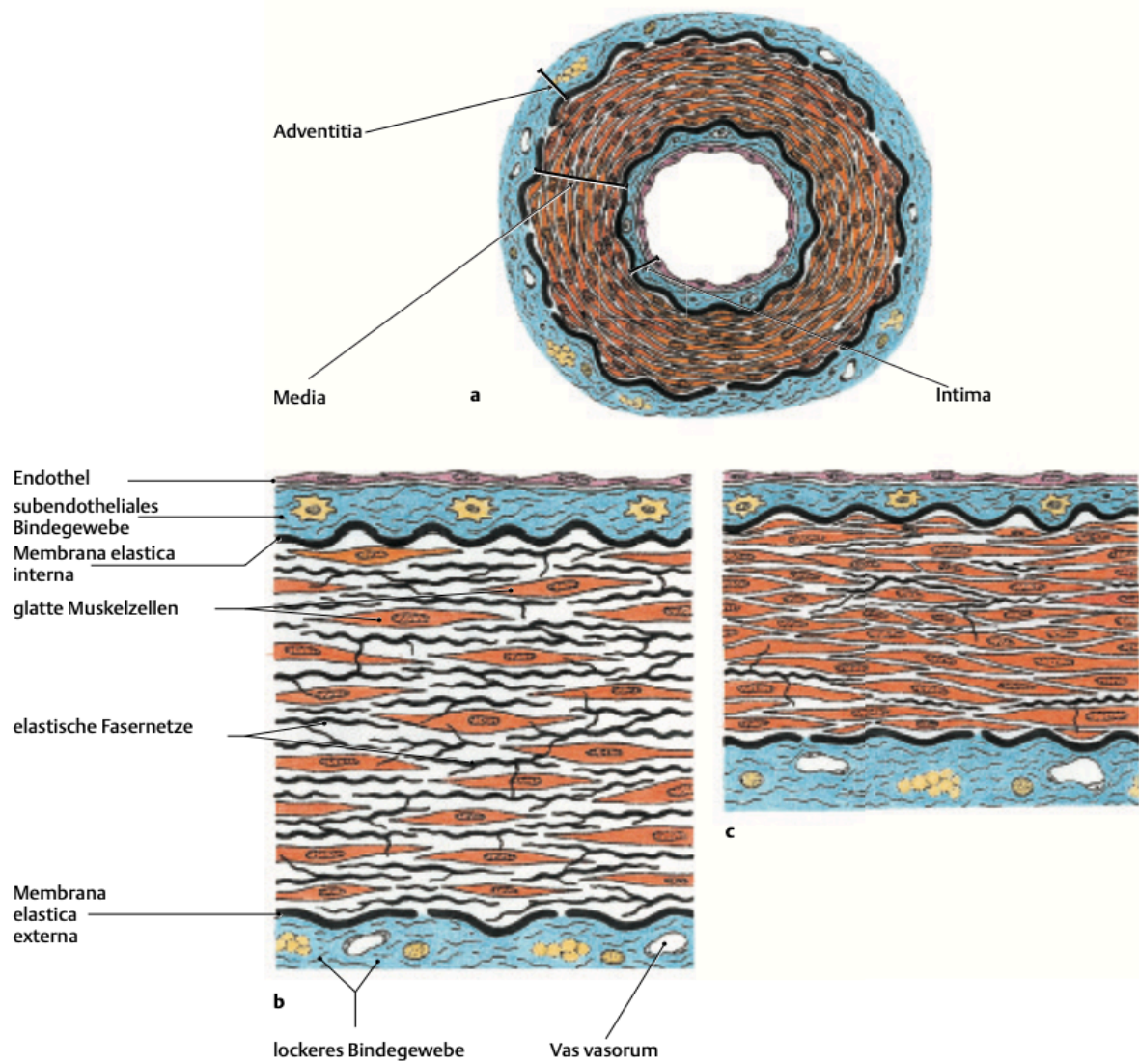


Abbildung 1: Aufbau Arterienwand (17)

Arterie (Schema). (a) Arterienwand; (b) Ausschnitt aus der Wand einer Arterie vom elastischen Typ; (c) Ausschnitt aus der Wand einer Arterie des muskulären Typen (17).

Für die Unterscheidung der Arterien in einen elastischen oder muskulären Typ, ist die Tunica media von großer Bedeutung. Eine genauere Erklärung erfolgt in den nächsten Unterkapiteln.

2.1.1 Tunica intima: Endothel und Stratum subendotheliale

Die mit flachen Endothelzellen ausgekleidete Intima bildet einen einschichtigen, lückenlosen Verband und ist die direkte Kontaktfläche zum Blut. Sie weist durch ihre vielseitigen Funktionen bezüglich der physiologischen Rheologie eine zentrale Rolle auf (19). Zwischen den Endothelzellen besteht eine Verbindung durch sogenannte Tight Junctions, sie bilden Leukozytenadhäsionsmoleküle, von-Willebrand-Faktor (in Weibel-Palade-Körperchen), gefäßerweiternde (z. B. Stickstoffmonoxid = NO), gefäßverengende (z. B. Endothelin,) Stoffe und spielen somit eine wichtige Rolle in der intravasalen Antiaggregation und Antikoagulation.

Das Endothel hat eine Barriere Funktion, welche den intra- und extravasalen Raum voneinander trennt und somit den Kontakt von Blutzellen mit der Extrazellulärenmatrix verhindert. Außerdem kann es auch durch seine Beschaffenheit den Transport von bestimmten Stoffen durch die Gefäßwand kontrollieren (19).

Da das subendotheliale Bindegewebe einem Alterungsprozess unterliegt, erfolgen im Laufe der Zeit Umbauprozesse, bei denen es zu einer Vermehrung von extrazellulären Matrixkomponenten, aber auch zu einer Proliferation der glatten Muskelzellen kommt, mit der Folge einer Intimaverdickung. Somit spielt dieser Bereich eine entscheidende Rolle im Alterungsprozess der Gefäße, sowie in der Entstehung der Atherosklerose (18,19).

2.1.2 Tunica media

Die Tunica media ist die breiteste Schicht und besteht bei den Arterien vom elastischen Typ aus vielen konzentrischen elastischen Lamellen, von denen die Elastica interna die Innerste ist. Eine Verbindung dieser Lamellen besteht durch elastische Fasern, sind dicht gepackt und können Poren und Lücken aufweisen (unterschiedliche Weite). Zwischen den Lamellen können auch vereinzelt längs angeordnete glatte Muskelzellen, Proteoglykane, sowie Kollagenfibrillen vorhanden sein. Die glatten Muskelzellen können mit dem Kollagen, sowie mit dem elastischen System verbunden sein (vor allem über Fibrillin-Mikrofibrillen) (21). In der Media der Arterien vom muskulären Typ, finden sich je nach Gefäßgröße zwischen 3 bis 30 Schichten überwiegend konzentrisch angeordnete, dicht gepackte glatte Muskelzellen von einer

Länge von 90 bis 130 Mikrometer. Sie sind von einer Basallamina umgeben, sind an der Innen- und Außenseite oft längs oder steilspiralig angeordnet und es besteht eine Verbindung über Gap Junctions (21). Auch befinden sich Proteoglykane und zarte Kollagenfibrillen (Typ-III-Kollagen), Mikrofibrillenbündel und zarte elastische Fasern in dieser Schicht. Die *Elastica externa* ist oft als dünne Linie gegebenfalls auch in mehreren Schichten am Übergang zur Adventitia zu erkennen. Eine Innervation der Media erfolgt über dort endende vegetative Nervenfasern (21).

2.1.3 Die Arterien vom elastischen Typ

Zu diesem Typ werden die herznahen Arterien gezählt. Sie besitzen eine relative dicke subendotheliale Schicht. Die Media wird von zahlreichen elastischen Fasern durchzogen, die konzentrisch (um das Lumen ziehend) angeordnet sind. Auf Grund von zahlreichen elastischen Fasern, ist eine exakte Abtrennung der *Membrana interna* und *externa* nicht eindeutig möglich. Durch die zahlreichen elastischen Fasern ist während der Systole (Austreibungs-/Anspannungsphase) und der Diastole (Füllungs-/Entspannungsphase) ein konstanter Blutstrom und somit eine konstante Blutversorgung gewährleistet. Diese Funktionsart wird auch Windkesselfunktion genannt (18).

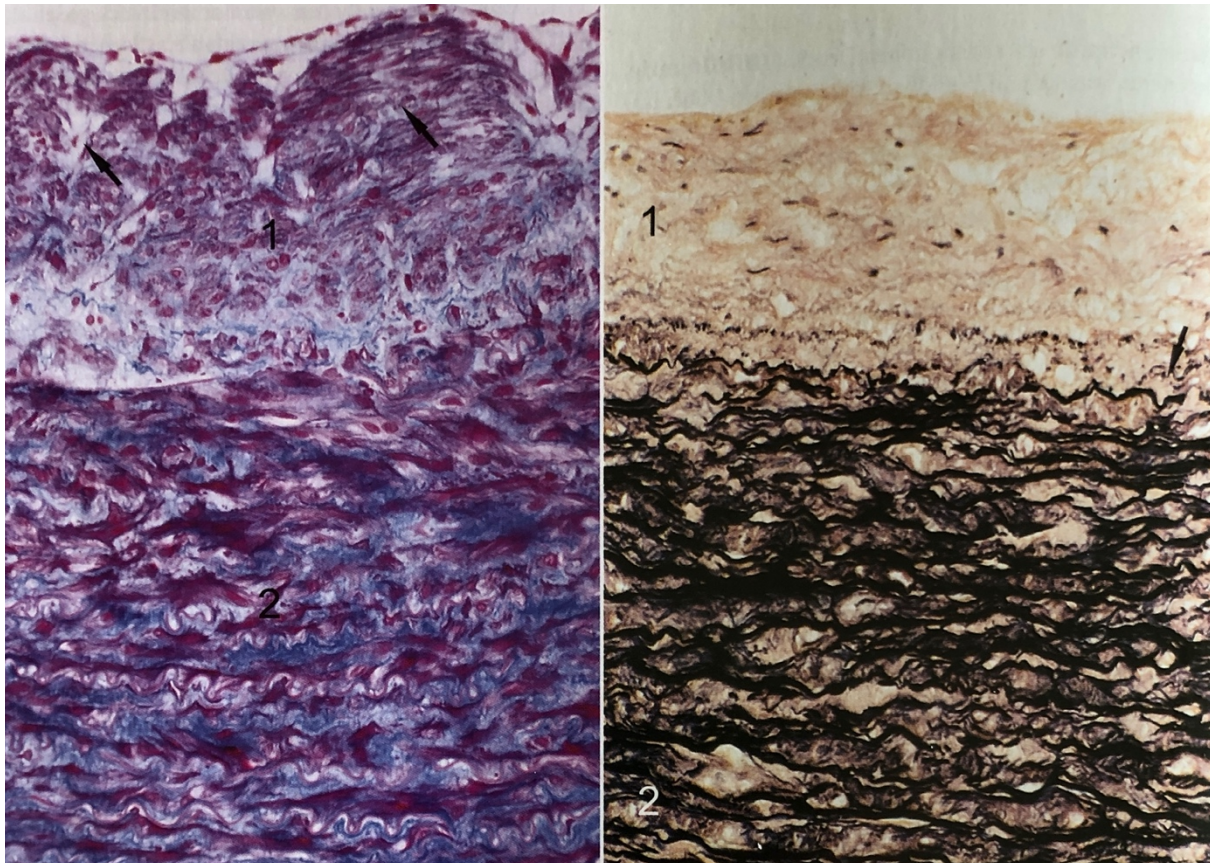


Abbildung 2: Elastische Arterien des Menschen, Bsp.: A. carotis communis (a: links) und der Aorta (b: rechts) (21).

- a) Breite Intima (1) mit zarten glatten Muskelzellen (rot gefärbt, →) die oft längs, aber auch zirkulär verlaufen. In der Media (2) glatte Muskelzellen (rot) und Kollagenfasern (blau), die elastischen Lamellen sind als gewellte helle Bänder zu erkennen. Azan-Färbung, Verg. 250- fach.
- b) Darstellung elastischer Lamellen in den inneren Teilen der Aortenwand. Zahlreiche elastische Lamellen in der Media (2). Die Elastica interna (→) ist die Innerste kräftige elastische Lamelle (1). Intima. Färbung: Verhoeffs Hämatoxylin, Verg. 250-fach (21).

2.1.4 Die Arterien vom muskulären Typ

Hierzu werden die sogenannten herzfernen Arterien, sowie die kleineren Arterien gezählt. In der Media befinden sich zirkulär angeordnete glatte Muskelzellen. Ihre subendotheliale Schicht ist dünn. Die Membrana elastica interna ist vorhanden, die Membrana elastica externa kann vorkommen. Dieser Typ von Arterien ist für die Regulierung der Blutversorgung in das Kapillargebiet zuständig und wird durch Vasokonstriktion oder Vasodilatation reguliert (18).

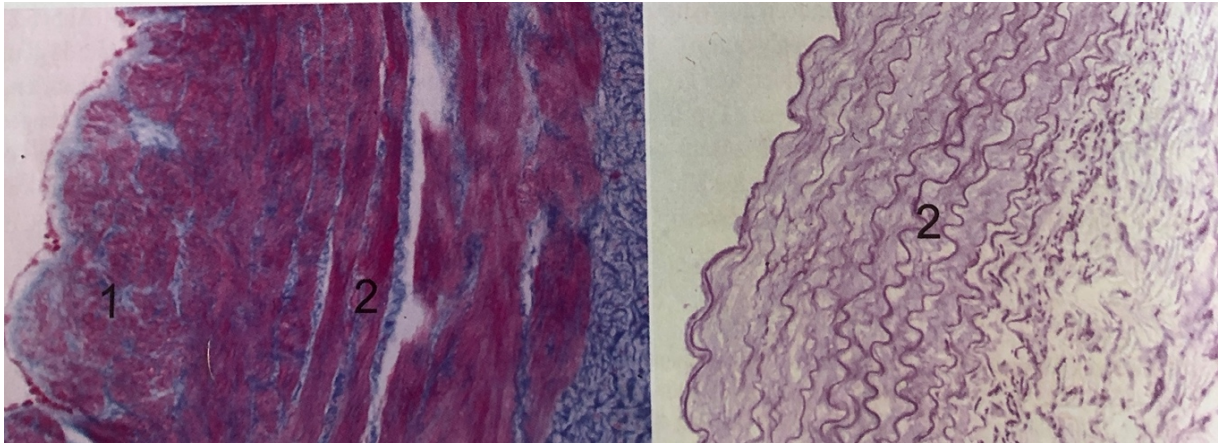


Abbildung 3: Arterien vom muskulären Typ (21).

Links: A. coronaria sinistra. Muskuläre Arterie im längs verlaufenden glatten Muskelzellen in der Intima (1). 2 Media. Azan- Färbung; Verg. 250- fach. Rechts: A. thoracica interna. Die Media (2) dieser muskulären Arterie enthält relativ viele kräftige elastische Lamellen. Elastica- Färbung (Aldehydfuchsin); Verg. 250- fach (21).

2.1.5 Die Arteriolen

Bei den größeren Arteriolen besteht die Media aus zwei geschlossenen Muskelzellschichten, allerdings ist die Media bei den überwiegenden Anteilen der Arteriolen durch nur eine glatte Muskelzellschicht verbunden. Häufig sind den Arteriolen noch sogenannte Metarteriolen nachgeschaltet, welche durch eine lückenhafte Muskelschicht charakterisiert werden und somit durch ihre Lumenweite für den peripheren Gefäßwiderstand unerlässlich sind (18).

2.1.6 Die Kapillaren

Das kapilläre Gefäßsystem ist das Bindeglied zwischen dem Hochdruck- und dem Niederdrucksystem und bildet somit das Gebiet, in dem der Austausch von Sauerstoff (O₂), Kohlendioxid (CO₂) und Nährstoffen stattfindet. Der Wandaufbau der Kapillaren (Durchmesser ca. 4- 15 µm) wird durch Endothelzellen, Basallamina und Perizyten gebildet. Der Beginn einer Kapillare ist durch einen peripheren Sphinkter (zirkulär und muskulär) gekennzeichnet, welcher den Blutzufuss in die Kapillare reguliert. Der Wandaufbau, aber auch die Permeabilität der Kapillaren ist entscheidend für den Stoffaustausch in den unterschiedlichen Organen und variiert somit. Beim Stoffaustausch können Stoffe somit entweder zellulär oder parazellulär (interzellulär) durch die Endothelzellen hindurchtreten. Der parazelluläre Transport ist charakterisiert

durch den Aufbau der Zellkontakte (Tight Junctions und Nexus). Elektronenmikroskopisch kann man unterschiedliche Bauweisen der Kapillaren erkennbar machen (18).

Geschlossene (kontinuierliche) Kapillaren:

In diesem Bereich wird das Endothel durch eine dünne Zytoplasmaschicht ohne Unterbrechung gebildet. Durch zytoplasmatische Vesikel wird durch die sogenannte Transzytose der Stoffaustausch gewährleistet. Diesen Typ von Kapillaren findet man im Bereich der Herz- und Skelettmuskulatur, sowie in der Lunge vor.

Gefensterte Kapillare:

Dieser Typ von Kapillaren ist siebartig gefenstert. Die Fenestrationsen können mit einem Diaphragma oder ohne Diaphragma vorkommen. Zwischen speichenartig angeordnete Glykoproteine befinden sich kleine Öffnungen, durch diese ein Stoffaustausch gewährleistet werden kann. Diesen Typ findet man beispielsweise in endokrinen Organen oder in der Darmschleimhaut vor (17).

2.2 Die Bedeutung und Funktion des Stickstoffmonoxids (NO)

Für medizinische Laien ist das Radikal Stickstoffmonoxid am ehesten in seiner schädlichen Wirkung bekannt. Im menschlichen Körper allerdings, erfüllt es eine enorm wichtige Aufgabe bei der Signaltransduktion, der spezifischen Immunabwehr, aber vor allem dient es zur Gefäßregulation und hat somit als Motor für die Vasodilatation der Gefäße höchste Relevanz (22). Stickstoffmonoxid (NO), ist ein sehr kleines Molekül, welches trotz seiner kurzen Halbwertszeit, seiner Größe, seiner lipophilen Eigenschaft, ungehindert durch die Gewebe diffundieren kann und dadurch eine große Reichweite erzielt, um seine Wirkung zu erfüllen (23).

Der Pharmakologe Ferid Murad wurde Ende der 1970er- Jahre zum ersten Mal auf die physiologische Wirkung des Stickstoffmonoxid aufmerksam. Bei Untersuchungen mit organischen Nitratgruppe, die zur Behandlung von Brustschmerzen eingesetzt werden, stellte er fest, dass NO freigesetzt wird, welches wiederum zu einer Vasodilatation führte (24). Der Pharmakologe, Robert F. Furchgott, untersuchte die Auswirkung von Medikamenten auf die Blutgefäße. Bei diesen Untersuchungen zeigte sich, dass das Endothel (innerste Schicht) eine unbekannt Substanz (Faktor)

produziert. Dieser Faktor sorgt für eine Relaxierung der darüber liegenden Schichten (Intima, Media, Adventitia) und somit zu einer Vasodilatation. Dieser Faktor wurde als EDRF (Endothelialum- derived relaxing Factor; vom Endothel stammender, Gefäßmuskulatur-erschaffender Faktor) benannt (25).

Die Bedeutung dieser Forschungsergebnisse zur Entdeckung der NO- Wirkung, aber auch der Entdeckung des EDRF's, verdeutlicht die Verleihung der Nobelpreise der Physiologie an die Amerikaner Robert Furchgott, Ferid Murad und Louis J. Ignarro im Jahre 1998 (26).

2.2.1 Die Bedeutung von Stickstoffmonoxid (NO)

Wie bereits vorher beschrieben, hat NO unterschiedliche Aufgaben. Es können zwei Wirkungsweisen unterschieden werden. Zum einen kann NO seine Wirkung über cGMP entfalten, zum anderen hat es eine direkte Wirkung als giftiges Gas und ist somit Bestandteil der unspezifischen Immunabwehr (27). Die Guanylatzyklase ist ein heterodimeres Enzym bestehend aus zwei Untereinheiten (alpha und beta) (28). NO bindet an die lösliche Guanylatzyklase und aktiviert somit über eine Konzentrationserhöhung von cGMP eine intrazelluläre Signalkaskade (27). Innerhalb dieser cGMP-Reaktion ist die Bindung von NO an den regulatorischen Häm-Anteil der NO-sensitiven Guanylatzyklase der Aktivator der cGMP-Synthese (28). Durch die intrazelluläre cGMP-Erhöhung, wird die Proteinkinase G aktiviert, welche wiederum durch Phosphorylierung die Myosin-Leichtketten-Phosphatase aktiviert. Durch diesen Vorgang kommt es zu einer reduzierten Phosphorylierung der regulatorischen leichten Ketten und somit zu einer Tonusabnahme der glatten Muskulatur (29).

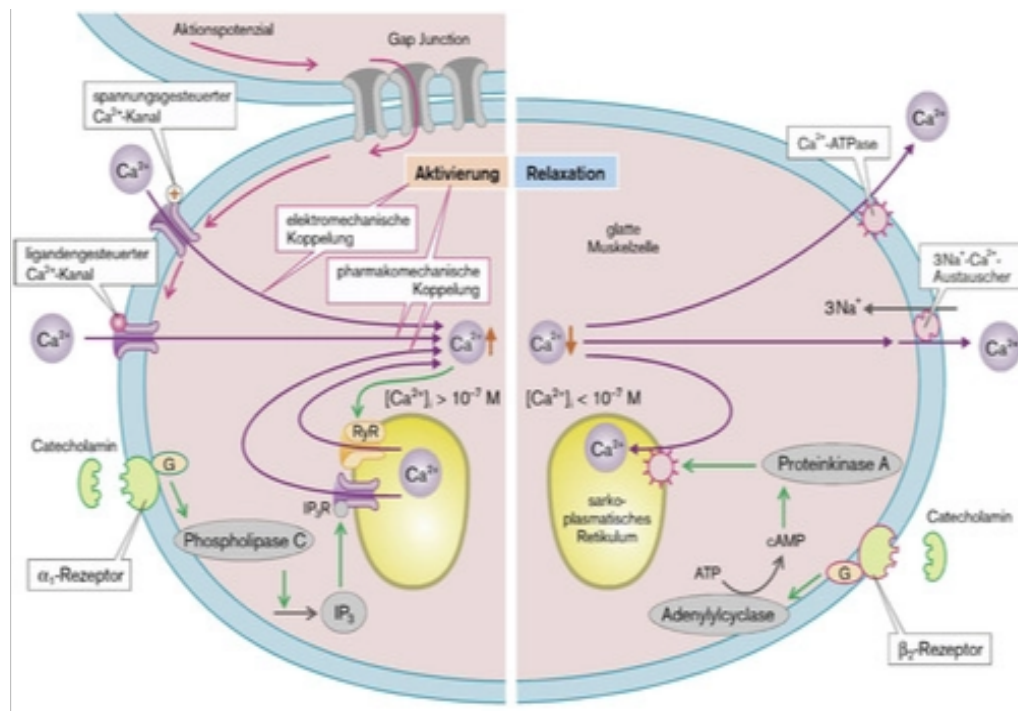


Abbildung 4: Mechanismen zur Auslösung von Kontraktion und Relaxierung im glatten Muskel (29).

Mechanismen zur Auslösung von Kontraktion und Relaxierung im glatten Muskel durch Änderung der zyttoplasmatischen Ca^{2+} Konzentration (29).

Zwei Wege führen zur Erhöhung der zyttoplasmatischen Ca^{2+} -Konzentration: zum einen über Ca^{2+} -Einstrom durch die spannungs- und ligandengesteuerten Ca^{2+} -Kanäle, zum anderen über Freisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum, sowohl bei Aktivierung des Ryanodinrezeptors (RyR: Ca^{2+} -induzierte Ca^{2+} -Freisetzung) als auch bei Aktivierung des Inositoltriphosphatrezeptors (IP₃R: Alpha 1-Adrenorezeptor-Phospholipase-C-Signalweg bzw. muskarinischer M₃-Rezeptor-Phospholipase-C-Signalweg). Es folgt eine Abnahme der zyttoplasmatischen Ca^{2+} -Konzentration über Ca^{2+} -ATPasen im sarkoplasmatischen Retikulum und Sarkolemm, sowie über einen $3\text{Na}^+/1\text{Ca}^{2+}$ -Austauschcarrier im Sarkolemm. Dadurch kommt es zu einer beschleunigten Relaxation durch den beta₂-Adrenorezeptoren-cAMP-Signalweg über Aktivierung der Ca^{2+} -ATPasen des sarkoplasmatischen Retikulums. Der parasympatische M₂-Rezeptor führt über Hemmung des cAMP-Signalwegs zu verzögerter Relaxation bzw. erhöhtem glattmuskulären Tonus (29).

Nicht nur bei der Regulation des Gefäßtonus ist NO entscheidend. Es ist ebenso ein wirksamer Inhibitor der Thrombozytenaggregation, ist an der Hemmung der Leukozytenadhäsion an die Gefäßwand beteiligt und hemmt die DNA-Synthese, Mitogenese und Proliferation von glatten Muskelzellen (30). Somit stellt wahrscheinlich

das endotheliale NO eines der wichtigsten antithrombogene Abwehrprinzipien im vaskulären System dar (30).

Auch bei der primären Hämostase spielt NO, neben Prostacyclin (= Prostaglandin I₂) eine entscheidende Rolle und greift somit in die Thrombozytenaggregationshemmung ein (29). Somit ist nicht nur die lösliche Guanylzyklase von großer Bedeutung, sondern es ist auch essenziell wichtig, dass ein intaktes Endothel vorhanden ist, da NO nur so eine Aktivierung des Enzyms hervorruft und somit adhäsions- und aggregationshemmend wirken kann (31).

Als weiterer essenzieller Faktor, kann NO den Beginn der Atherogenese schützen, indem es die Adhäsion von Leukozyten an der Gefäßwand hemmt. Dies wird reguliert durch Beeinträchtigung des Leukozyten-Adhäsionsmoleküls CD11/CD18, welches wiederum wichtig zur Bildung einer adhäsiven Bindung mit der Endothelzelloberfläche ist oder es wird die CD11/CD18-Expression auf Leukozyten unterdrückt. Die Adhäsion weißer Zellen ist ein frühes Ereignis bei der Entwicklung von Atherosklerose (30).

Das es einen eindeutigen Zusammenhang zwischen kardiovaskulären Ereignissen, einer eingeschränkten kardiovaskulären Gesundheit und der NO-Bioverfügbarkeit (erschwerter Freisetzung und vermehrter Abbau von NO) besteht, wurde in mehreren Studien gezeigt (30,32,33).

2.2.2 Die Biosynthese des Stickstoffes (NO-Synthase)

Bei der Biosynthese von Stickstoffmonoxid ist die NO-Synthase von entscheidender Bedeutung und somit ein zentraler Faktor für die physiologische Gefäßfunktion. Aber nicht nur für die Gefäßfunktion ist sie entscheidend, sondern auch in der Bekämpfung von Erregern und der neuronalen Signalübertragung spielt sie eine tragende Rolle (34). Die NO-Synthase ist somit das Schlüsselenzym von vielen wichtigen physiologischen Abläufen. Es konnten bis jetzt drei Isoformen isoliert werden. Unterschieden werden sie durch ihr Vorkommen. Die endotheliale (eNOS), die neuronale (nNOS), sowie die induzierbare NO-Synthase (34). Für das arterielle System konnte man zeigen, dass die NOS konstitutiv ausgeschüttet werden kann, was aber nicht für das venöse System gilt (35). Betrachtet man die Isoformen strukturell, erkennt man, dass alle drei Isoformen identisch aufgebaut sind. Sie alle

bestehen als Homodimere aus einer C- terminalen Reduktase- Domäne und einer Amino-Oxygenase- Domäne (36).

Alle drei Isoformen verwenden L-Arginin und molekularen Sauerstoff als Substrate und benötigen als Kofaktoren reduziertes Nikotinamid- Adenin- Dinukleotidphosphat (NADPH), Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD), Flavin-Mononukleotid (FMN) und (6R-)5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin (BH(4)) (36). Die enzymatische Aktivität der NO-Synthase hängt davon ab, wieviel Substrat und wie viele Cofaktoren zur Verfügung stehen (37). Bei dem enzymatischen Prozess, werden mit Hilfe von molekularen Sauerstoff und dem an die NOS gebundenen Cofaktor BH(4), Elektronen auf das NADPH übertragen, welches somit als Elektronendonator fungiert (36). Bei diesem oxidativen Vorgang entsteht reduziertes NAD⁺ und H⁺. Als Zwischenprodukt wird N-Hydroxy- Arginin gebildet. Im Weiteren werden die Cofaktoren FAD und FMN zu der Oxygenase-Domäne transportiert, an der sie dann mit dem Häm- Eisen und (6R-)5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin (BH4) interagieren. In einem weiteren Oxidationsschritt (N-Hydroxy- Arginin) wird nun unter Einfluss von O₂ NO abgespalten, wodurch die Produkte Stickstoff und Citrullin entstehen (34).

Eine funktionsfähige NOS überträgt Elektronen vom carboxyterminal gebundenen NADH über die Flavine FAD und FMN auf das Häm- Molekül der aminoterminalen Oxygenasedomäne (36,38).

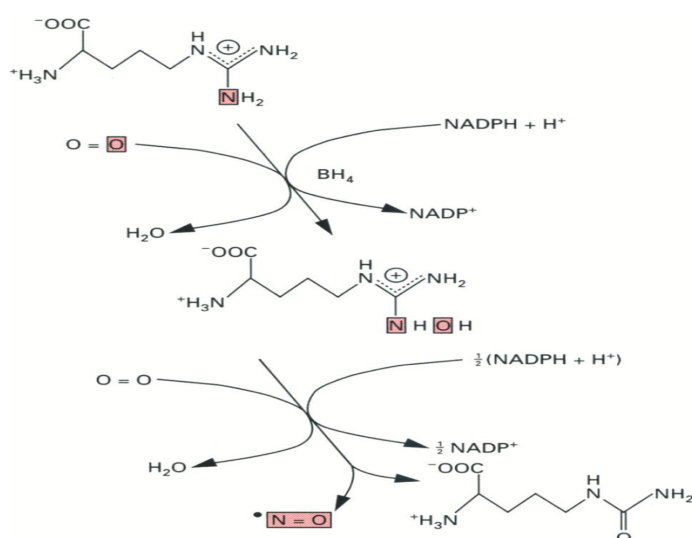


Abbildung 5: Biosynthese von NO durch NO-Synthasen (38).

Oxidation von L-Arginin zu L- Citrullin und NO verläuft in zwei Reaktionen unter Verbrauch von NADPH und molekularem Sauerstoff (38).

Es werden nachfolgend zwei unterschiedliche Aktivierungswege der eNOS beschrieben. Zum einen kann sie durch einen intrazellulären Ca^{2+} -Anstieg (Konzentration) die Affinität zu Calmodulin erhöhen, was dazu führt, dass es zu einer Übertragung der Elektronen vom NADH an der Reduktasedomäne zur Häm-Gruppe an der Oxygenasedomäne kommt (36). Eine Phosphorylierung der regulatorischen Einheit des Enzyms durch Agonisten wie Bradykinin und Histamin führen ebenfalls zu einer erhöhten Ca^{2+} -Konzentration und beschreibt den zweiten Aktivierungsweg der NOS-Induktion (39).

Es gibt deutliche Belegnachweise, dass auch Scherstress des Endothels dazu führen, dass dies zu einer Phosphorylierung und somit zu einer Enzymaktivierung kommt (40). Dieser Vorgang bewirkt, dass die Proteinkinase B die Serinreste der regulatorischen Einheit des Enzyms phosphoryliert und es dadurch zu einer unabhängig der Ca^{2+} -Konzentration bedingten Bindung von Calmodulin an das Enzym und der Enzyminduktion kommt (41). Ein weiterer Mechanismus, ist die Aktivierung durch den vascular endothelial growth factor (VEGF), welcher ebenfalls durch eine Phosphorylierung eine Enzyminduktion bewirkt (42).

2.3 Endothelfunktion und Dysfunktion

Die endotheliale Dysfunktion ist eine Funktionsstörung von Endothelzellen im Gefäßsystem, bei der eine gestörte Endothel-abhängige Vasodilatation, aber auch ein Redox- Ungleichgewicht in der Blutgefäßwand besteht und dadurch die Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Bluthochdruck Herzinsuffizienz und Atherosklerose begünstigt sind (43–46).

Bereits im Jahre 1985, wurde in der Redoxbiologie und Medizin das Konzept des oxidativen Stress beschrieben (47). Sauerstoff ist zwar ein überlebenswichtiger Bestandteil von Säugetieren, allerdings kann es auch eine schadensabweisende Funktion gegen eindringende Erreger übernehmen, und hat somit eine bakterizide und bakteriostatische Wirkung (29). Reaktive Sauerstoffspezies sind in erster Linie Signalmoleküle, wenn sie in niedrigen Konzentrationen (genauere Menge noch nicht geklärt) vorkommen (48). In höheren Konzentrationen sind sie für die Zellen schädlich und können somit die Apoptose herbeiführen. Unter physiologischen Bedingungen

besteht ein Gleichgewicht zwischen der Bildung und dem Abbau freier Radikale im Körper (49).

Superoxid-Anion ($O_2^{\cdot-}$)
Hydroxyl-Radikal (OH^{\cdot})
Wasserstoffperoxid (H_2O_2)
Hypochlorige Säure ($HOCl$)
Lipidradikale
Peroxynitrit ($ONOO^-$)

Tabelle 1: Reaktive Sauerstoffspezies ROS-moleküle und Substanzen (62).

Die am intensivsten untersuchten und verstandenen ROS sind in der Tabelle 1 aufgeführt (48). Zu den am häufigsten enzymatischen Quellen der ROS- Bildung im Endothel, gehören die NADPH-Oxidase oder Xanthinoxidase (XO) oder Produkte bei Elektronentransferreaktionen zwischen der inneren und äußeren Membran der Mitochondrien, sowie die entkoppelte NO-Synthase (48). Der Elektronentransfer in der eNOS unterliegt einem streng kontrollierten Prozess. Wird dieser Prozess gestört, werden nun die Elektronen auf den molekularen Sauerstoff anstatt auf das Arginin übertragen, woraus das Produkt Superoxid-Anion ($O_2^{\cdot-}$) entsteht. Die NOS wird somit ebenfalls ein Produzent von ROS-Molekülen (48).

Bei Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren wie Diabetes mellitus, Bluthochdruck, Hypercholesterinämie, Zigarettenrauchen, sowie Gefäßerkrankungen, weisen eine verminderte Verfügbarkeit von bioaktiven NO auf und können dadurch keine NO-vermittelte Vasodilatation hervorrufen. Die Verringerung der NO-Produktion ist nicht das Ergebnis einer verminderten eNOS- Proteinspiegels. Die eNOS- Expression, ist im Gegenteil, bei Gefäßerkrankungen sogar (kompensatorisch) erhöht. Dieser Kompensationsmechanismus ist jedoch oft vergeblich, da die eNOS-Aktivität gehemmt wird oder das eNOS Enzym abgekoppelt wird (32). Daher endet dies in einer endothelialen Dysfunktion (36).

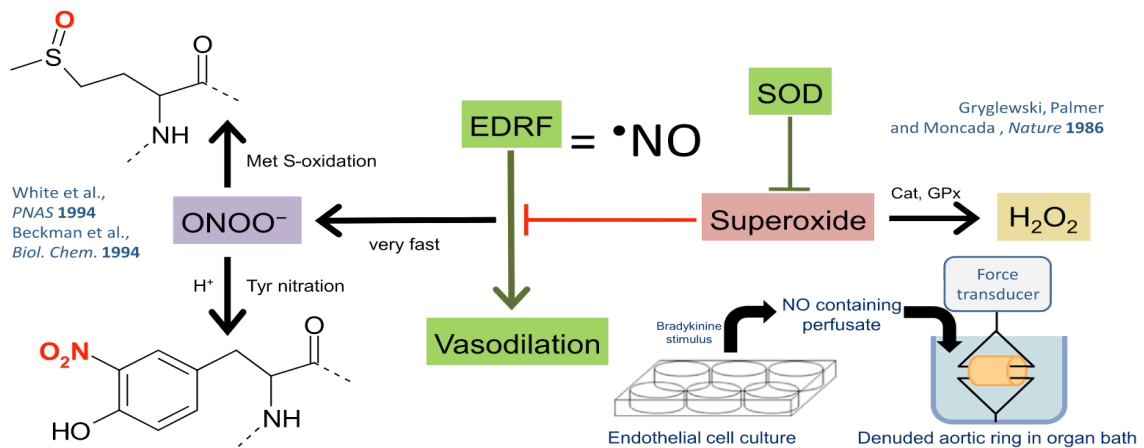


Abbildung 6: Überblick über das vereinfachte Modell der Redox- Biologie im Kreislaufsystem (50).

Superoxid wurde als Antagonist des „endothelium- derived relaxing factor“ (EDRF) identifiziert, lange bevor EDRF durch das berühmte Experiment von Gryglewski, Palmer und Moncada, als Stickoxid angenommen wurde. Bei dieser Entdeckung wurden bei Untersuchungen an Aortenringsegmenten das Endothel abgetragen (51). Die gefäßerweiternde Wirksamkeit von EDRF aus der Zellkultur wurde durch Zugabe von Superoxiddismutase (SOD) erhöht, in dem der Abbau von EDRF durch Superoxid verhindert wird. Aus früheren Arbeiten wissen wir heute, dass •NO und Superoxid in einer diffusionskontrollierten Reaktion reagieren und Peroxynitrit (ONOO⁻) entsteht (52,53). Kommt es nicht zu dieser Reaktion wird Superoxid entweder durch SODs disproportioniert oder unterliegt einer spontanen Selbstproportionierung unter Bildung von Wasserstoffperoxid.

Wasserstoffperoxid ist über die Oxidation spezifischer Thiolreste weitgehend an Redoxsignalwegen beteiligt oder wird durch Katalasen, Glutathionperoxidasen oder Peroxiredoxine inaktiviert. Peroxynitrit kann weitreichende oxidative Schäden in Proteinen (Tyrosinnitrierung und Methioninsulfoxidation), aber auch Schäden in Lipiden und an DNA-Molekülen verursachen (54).

Tetrahydrobiopterin (BH₄) ist ein essenzieller Cofaktor der eNOS, indem er eNOS-Dimere stabilisiert (48). Ein Mangel dieses Cofaktor stellt wahrscheinlich die Hauptursache einer Entkopplung der eNOS da. Allerdings sind auch ein Mangel an dem Substrat L-Arginin, eine Anhäufung von asymmetrischen Dimethylarginin (ADMA), sowie die S-Glutathionylierung der eNOS von entscheidender Bedeutung (32).

BH₄ ist eines der stärksten Reduktionsmittel in der Natur. Durch die Oxidation durch Peroxynitrit, entsteht nun das inaktive 7,8-Dihydrobiopterin (BH₂) (48). Chun- An Chen et al. beschreiben einen weiteren Mechanismus, der durch oxidativen Stress zur einer S-Glutathionylierung von zwei Cysteinresten der eNOS stattfindet und somit die Aktivität einschränkt, jedoch als reversibel eingestuft wird. Dieser Mechanismus ist ein zusätzlicher Schritt für mögliche Therapieansätze, um die endotheliale Dysfunktion zu verbessern (55).

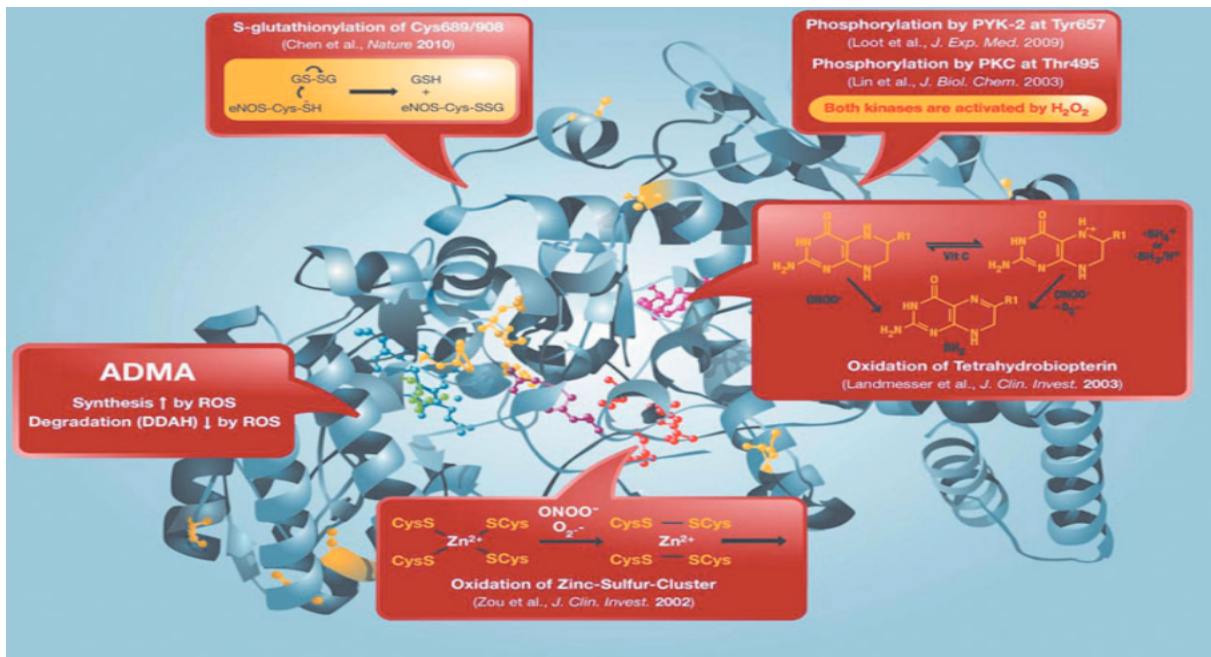


Abbildung 7: Redoxschalter in der endothelialen NO-Synthase (51).

Röntgenstruktur von menschlichem eNOS mit dem Eisenporphyrin (blau), dem Substrat L-Arginin (grün), dem P450-bildenden axialen Eisenthioalat-Liganden aus einem Cysteinrest (gelb), dem Cofaktor Tetrahydrobiopterin (BH4) (lila), der Zink-Thioalat-Komplex, der Cysteine bildet (rot, zwei aus jeder Untereinheit), und das Zinkion (braun). Die Kästchen stellen die „Redoxschalter“ in eNOS dar, wie z. B. S-Glutathionierung, PKC- und Protein-Tyrosinkinase-2 (PYK-2)-abhängige Phosphorylierung, oxidativer BH4-Abbau und Störung des Zink-Schwefel-Clusters B. asymmetrische Synthese/Abbau von Dimethylarginin (ADMA), die alle zur Regulierung seiner enzymatischen Aktivität beitragen. GSH, Glutathion; GSSG, Glutathiondisulfid. Die Kristallstruktur wurde aus dem Proteindatenbankeintrag 3NOS (DOI:10.2210/pdb3nos/pdb) mit dem PyMOL Molecular Graphics System Version 1.2r1 (DeLano Scientific LLC) erstellt. Diese Abbildung wurde aus der Originalversion übernommen (56).

Reaktive Sauerstoffspezies werden dauerhaft im menschlichen Körper als Nebenprodukte des zellulären Stoffwechsels produziert (48). Durch übermäßige UV-Bestrahlung, Langzeitstress, intensive körperliche Betätigung, falsche Ernährung und die Einnahme von Stimulanzien können reaktive Sauerstoffspezies entstehen und halten sich unter physiologischen Bedingungen im Gleichgewicht zwischen deren Bildung und deren Abbau (48). Eine zusätzliche entkoppelte eNOS führt dann auch noch zu einem Ungleichgewicht und kann den pathologischen Prozess vorantreiben. Da die entkoppelte eNOS von ausschlaggebender Bedeutung für die Entstehung der Atherogenese und weiteren Gefäßerkrankungen ist, verleiht ihr ein hohes pharmakologisches und somit therapeutisches Interesse (32).

Mit der de-novo Biosynthese von BH(4) aus GTP (Guanin- Triphosphat) durch die Guanosintriphosphat-Cyclohydrolase I (GTPCH), sowie die Reduktion des oxidierten BH(4) durch die Dihydrofolatreduktase (DHFR), werden zwei protektive Wege zur Verhinderung der Entkopplung der NOS beschrieben (57). In mehreren Studien wurde

2.4 Atherosklerose und Arteriosklerose

Arteriosklerose ist definiert als eine kontinuierliche entzündliche Schädigung der arteriellen Intima mit erhöhter Plasmadurchlässigkeit, Ablagerung von Plasmalipiden in Plaques sowie Fibrose und Verkalkung der Plaques (64). Die Begriffe werden häufig als Synonym verwendet, wobei der Begriff der Atherosklerose präziser ist (67). Die pathologischen Schritte werden nachfolgend erläutert.

Da es auf Grund der Wandverdickung/ -verkalkung und mit Entstehung eines sich vergrößernden Plaques in der Intima zu einer Reduktion des Gefäßlumen und somit zu einer reduzierten Blutflussgeschwindigkeit kommt, wird das distale Gewebe minderperfundiert, was zum Untergang des betroffenen Gebietes führen kann.

Mit Hilfe des physikalischen Gesetz des „Hagen-Poiseuille“, kann man rheologische Eigenschaften errechnen und dadurch potenzielle Risiken ableiten (68).

$$\frac{V}{t} = \frac{r^4 \cdot \pi \cdot \Delta P}{8 \cdot \eta \cdot l}$$

- $V [m^3/s]$ =Volumenstrom durch das Rohr (Gefäß)
- $r [m]$ = Innenradius des Rohres (Gefäß)
- $\eta [Pa \cdot s]$ = Dynamische Viskosität des Fluids (Blut)
- $l [m]$ = Länge des betrachteten Rohabschnittes (Blutgefäß)
- $\Delta P [Pa]$ = Druckdifferenz zwischen den beiden Enden des Betrachteten Rohrschnittes (Gefäß)

Das „Hagen-Poiseuille- Gesetz“ besagt, dass der Strömungswiderstand linear von der Blutviskosität abhängig ist. Unter physiologischen Umständen liegt dies auch tatsächlich vor (29). Folglich können sich bereits geringfügige Veränderungen im Muskeltonus der glatten Gefäßmuskulatur, im hohen Maße auf die Durchblutung auswirken. Die Entwicklung der Atherosklerose ist eine Art chronischer Entzündungsreaktion, welche durch angeborene, aber auch adaptive Immunmechanismen gekennzeichnet ist (69). Bereits im Jahre 1913 wurde von dem

russischen Pathologe Nikolai Nikolajewitsch Anitschkow in Tierversuchen nachgewiesen, dass die Fütterung von Kaninchen mit Cholesterin zur Bildung von lipidbeladenen Zellen in der Intima führt (70). Die Atherosklerose entwickelt sich bevorzugt in Gefäßregionen mit gestörtem Blutfluss (Bögen, Verzweigungen und Bifurkationen) (71). Der chronische Prozess der Gefäßwandverdickung, sowie die Proliferation der glatten Muskelzellen und die extrazelluläre Matrixbildung, sind wesentlichen Schritte für das Fortschreiten der Arteriosklerose (72).

In Studien mit gentechnisch veränderten Mäusen, wurde gezeigt, dass die drei Isoformen der NOS bei der Atherosklerose unterschiedliche Rollen spielen. Während die eNOS und nNOS atheroprotektiv sind, ist die iNOS proatherogen (67). Bei Verletzung eines arteriellen Gefäßes, kommt es durch eine Hochregulierung des Ubiquitin- konjugierende Enzym UbcH10 in glatten Gefäßmuskelzellen zu einer neointimalen Hyperplasie. NO hemmt nun dieses Enzym und wirkt somit der Hyperplasie entgegen, was wiederum eine Lumenverkleinerung verhindert (74).

Es werden drei Phasen (Initialphase, inflammatorische Phase und Plaqueruptur) bei der Pathogenese der Atherosklerose beschrieben. Die Initialphase ist durch die endotheliale Dysfunktion beschrieben, die durch kardiovaskuläre Erkrankungen verursacht wird. In dieser Phase werden Low-Density-Lipoprotein- Partikel (LDL) von der Intima aufgenommen und oxidiert (oxLDL) (75). Die Mechanismen, die für die artherogene Modifikation von LDL verantwortlich sind, sind noch nicht ausreichend geklärt. Man geht davon aus, dass sie durch die Lipooxygenase, Myeloperoxidase und der NOS erfolgen (75).

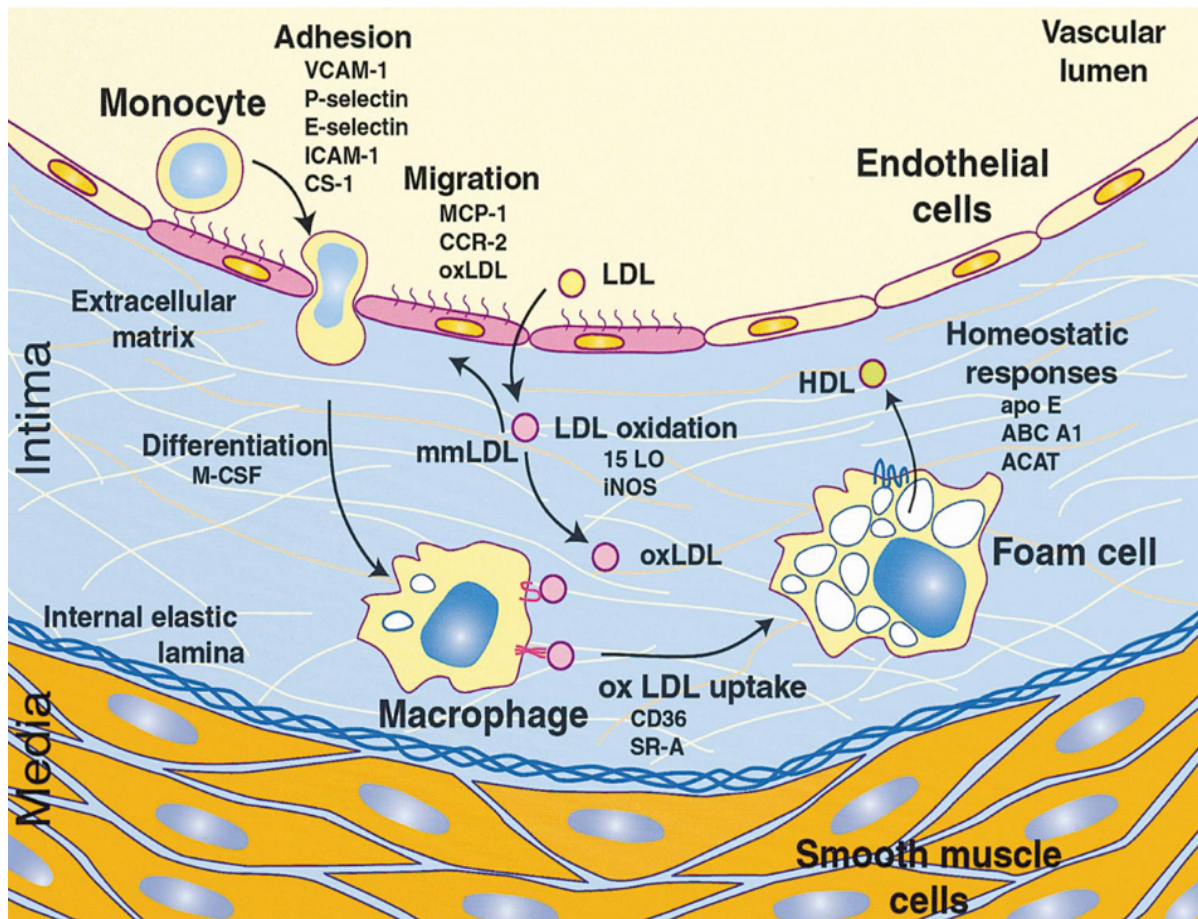


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Aufnahme von LDL in die Endothelzellen (76).

LDL unterliegt im subendothelialen Raum oxidativen Modifikationen, die von minimal modifiziertem LDL (mmLDL) bis zu extensiv oxidiertem LDL (oxLDL). Monozyten heften sich an Endothelzellen, die durch mmLDL und entzündliche Zytokine zur Expression von Zelladhäsionsmolekülen angeregt wurden. Adhärenente Monozyten wandern in den subendothelialen Raum ein und differenzieren sich zu Makrophagen. Die Aufnahme von oxLDL über Scavenger-Rezeptoren führt zur Bildung von Schaumzellen. OxLDL-Cholesterin, das von Scavenger-Rezeptoren aufgenommen wird, wird in Lipidtröpfchen verestert und gespeichert, in löslichere Formen umgewandelt oder über Cholesterintransporter wie ABC-A1 zu extrazellulären HDL-Akzeptoren exportiert (76).

Während der inflammatorischen Phase kommt es zur Immigration von Immunzellen, welche die Progression vorantreiben. Dazu sind chemotaktische Zytokine essenziell, die eine weitere Rekrutierung von Immunzellen aus dem Blut begünstigen. Experimentelle Studien identifizierten das oxLDL und monozytochemotaktische Protein-1 (MCP-1) als die wichtigsten atherogenen Aktivatoren (75). Das MCP-1 hat eine starke chemotaktische Aktivität, das von Monozyten/ Makrophagen, vaskulären Endothelzellen und glatten Muskelzellen eigenständig exprimiert werden kann und somit eine eigenständige Rekrutierung von weiteren Monozyten erlaubt (75,77). Die aus Monozyten hervorgehenden Makrophagen besitzen den sogenannten Scavenger Rezeptor, der für die Phagozytose von oxLDL verantwortlich ist. Da es bei diesen Rezeptoren, im Vergleich zu LDL-Rezeptoren keine „Downregulation“ gibt, findet eine

kontinuierliche Aufnahme von oxLDL statt, wodurch sie als sogenannte Schaumzellen bezeichnet werden (75). Die lipidbeladenen Makrophagen wandeln sich in Lipophagen um und werden als „fatty streaks“ bezeichnet (78). Nachfolgend werden die detaillierten Schritte bildlich in Abbildung 10 erklärt.

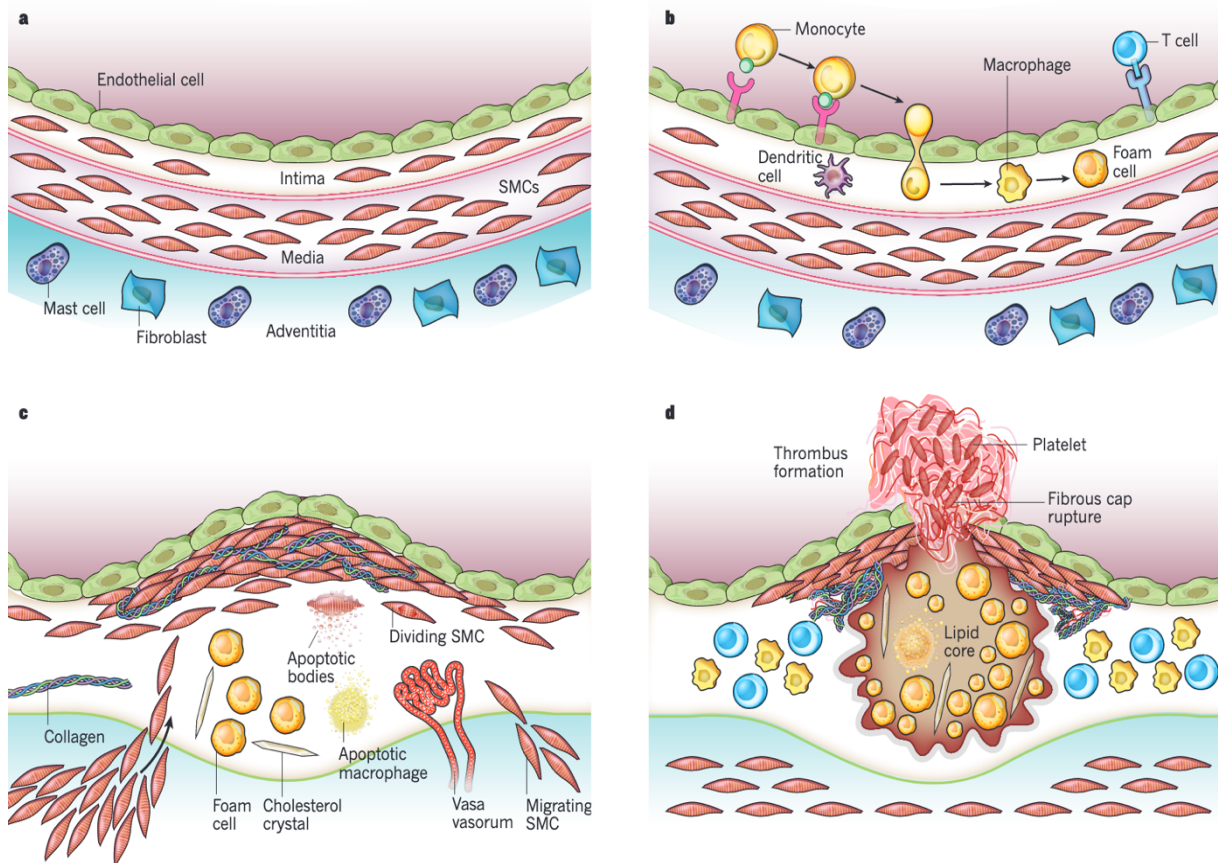


Abbildung 10: Stadien der Entwicklung von atherosklerotischen Läsionen (79).

Stadien der Entwicklung von atherosklerotischen Läsionen. Die normale Muskelarterie und die Zellveränderungen, die beim Fortschreiten der Krankheit bei Thrombose auftreten (79).

a Die normale Arterie enthält drei Schichten. Die innere Schicht, die Tunica intima, ist von einer Monoschicht aus Endothelzellen ausgekleidet, die in Kontakt mit dem Blut über einer Basalmembran steht. Im Gegensatz zu vielen Tierarten, die für Atherosklerose-Experimente verwendet werden, enthält die menschliche Intima glatte Muskelzellen (SMCs) ansässig. Die mittlere Schicht, oder Tunica media, enthält SMCs, die in eine komplexe extrazelluläre Matrix eingebettet sind. Arterien, die von obstruktiver Atherosklerose betroffen sind, haben im Allgemeinen die Struktur von muskulären Arterien. Die Arterien, die häufig bei experimenteller Atherosklerose untersucht werden, sind elastische Arterien, die klar abgegrenzte Laminae in der Tunica media aufweisen, in der Schichten aus Elastin zwischen Schichten von SMCs liegen. Die Adventitia, die äußere Schicht der Arterien, enthält Mastzellen, Nervenendigungen und Mikrogefäße.

b Zu den ersten Schritten der Atherosklerose gehört die Adhäsion von Blutzellen an der aktivierten Endothelschicht, die ausgerichtete Wanderung der gebundenen Leukozyten in die Intima, die Reifung

der Monozyten (die zahlreichsten der rekrutierten Leukozyten) zu Makrophagen und deren Aufnahme von Lipiden, wodurch Schaumzellen entstehen.

c Das Fortschreiten der Läsion beinhaltet die Migration von SMCs aus der Media in die Intima, die Proliferation der in der Intima ansässigen SMCs aus der Intima und SMCs aus der Media sowie die verstärkte Synthese von extrazellulären Matrix-Makromolekülen wie Kollagen, Elastin und Proteoglykanen. Plaque Makrophagen und SMCs können in fortschreitenden Läsionen absterben, einige durch Apoptose. Extrazelluläres Lipid, das von toten und absterbenden Zellen stammt, kann sich in dem zentralen Bereich einer Plaque ansammeln, der oft als Lipid- oder nekrotischer Kern bezeichnet wird. Fortschreitende Plaques enthalten auch Cholesterin-Kristalle und Mikrogefäße.

d Thrombose, die letztendliche Komplikation der Atherosklerose, erschwert oft eine physische Zerstörung der atherosklerotischen Plaque. Dargestellt ist ein Bruch der fibrösen Kappe der Plaque, durch die Blutgerinnungskomponenten mit Gewebefaktoren im Inneren der Plaque in Kontakt kommen und einen Thrombus auslösen, der sich in das Gefäßlumen ausdehnt, wo er den Blutfluss behindern kann.

Durch die veränderten intimalen Gegebenheiten des Endothels, insbesondere durch die von Makrophagen und Endothelzellen abgesonderten chemotaktischen Stoffe und Bildung von Adhäsionsmolekülen, kommt es zu einer weiteren Leukozytenrekrutierung (80). Die Adhäsionsmoleküle können in drei Gruppen unterteilt werden. Die Selektine (P- E- und L- Selektine) sind überwiegend für die lockere Bindung und für das sogenannte „Rollen“ (verlangsamte Bewegung) der Leukozyten am Endothel verantwortlich (81).

Für eine feste Bindung und Transmigration sind Integrine (feste Bindung), die interzellulären Adhäsions Moleküle (ICAM-1 und ICAM-2), das Endothelzellen-Adhäsionsmolekül-1 (PECAM-1), sowie seinen Endothelrezeptor Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) verantwortlich (79,80).

Table 1. Important Molecules Involved in Leukocyte Endothelial Interactions.

Adhesion Molecules	Cells Expressing the Molecule	Cluster of Differentiation (CD) Marker	Role
Selectins			
P-selectin	Platelets, endothelial cells	CD62P	Tethering, rolling
E-selectin	Endothelial cells	CD62E	Tethering, rolling
L-selectin	Leukocytes (neutrophils, monocytes, subsets of T cells)	CD62L	Tethering, rolling
Integrins			
LFA-1	Leukocytes (neutrophils, monocytes, subsets of T cells)	CD11a/CD18	Tight adhesion
Mac-1, CR3	Neutrophils, monocytes	CD11b/CD18	Tight adhesion
VLA-4 (very late antigen-4)	Lymphocytes, monocytes, eosinophils	CD49d/CD29	Tethering, Rolling, Tight adhesion
Immunoglobulin superfamily			
ICAM-1	Endothelial cells	CD54	Endothelial ligand for LFA-1, Mac-1, CR3. Important for tight adhesion
ICAM-2	Endothelial cells	CD102	Endothelial ligand for LFA-1. Important for tight adhesion
VCAM-1	Endothelial cells	CD106	Endothelial ligand for VLA-4. Important for tethering, rolling and tight, adhesion
PECAM-1	Leukocytes, endothelial cells	CD31	Diapedesis

Abbildung 11: Wichtige Moleküle, die an den Interaktionen zwischen Leukozyten und Endothelien beteiligt sind (83).

Durch die Entzündungsreaktion in der Intima freigesetzten Zytokine und Wachstumsfaktoren, kommt es zu einer Einwanderung von glatten Muskelzellen aus der Tunica media in die Tunica Intima. Resultat ist eine Proliferation und verstärkte Synthese von extrazellulären Matrix-Makromolekülen wie Kollagen, Elastin und Proteoglykanen, die dann zu einer Lumenverkleinerung führen (79). Zusätzlich kommt es durch Makrophagen zu einer destabilisierenden und thrombogenen Eigenschaft, indem sie matrixabbauende proteolytische Enzyme (Matrix-Metalloproteinasen) produzieren und somit zu einem Fortschreiten der Atherogenese führen, was als Friendly Fire bezeichnet wird (75).

Die Plaqueruptur, als dritte Phase, ist mit der Freisetzung von thrombogenen Material aus dem Kern, gefolgt von einer Thrombozytenaggregation und humoraler Gerinnung und somit einer Bildung eines Thrombus oder Embolus, der letzte pathologische Schritt der Atherosklerose, der zu einem Verschluss der Gefäße führt und somit das distal gelegene Stromgebiet minder perfundiert (80). Die Rolle von NO und oxidativem Stress bei der LDL-Akkumulation in der Gefäßwand ist bisher noch nicht ausreichend untersucht worden (71).

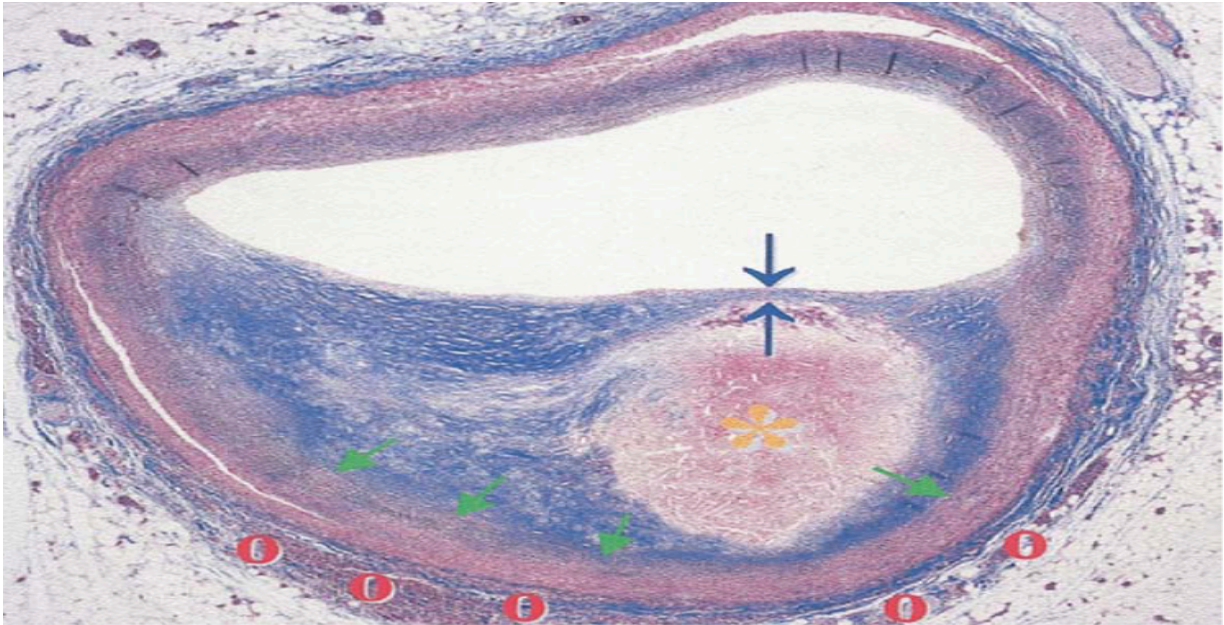


Abbildung 12: (A) Querschnitt einer Koronararterie, die kurz vor einer Bifurkation geschnitten wurde (75).

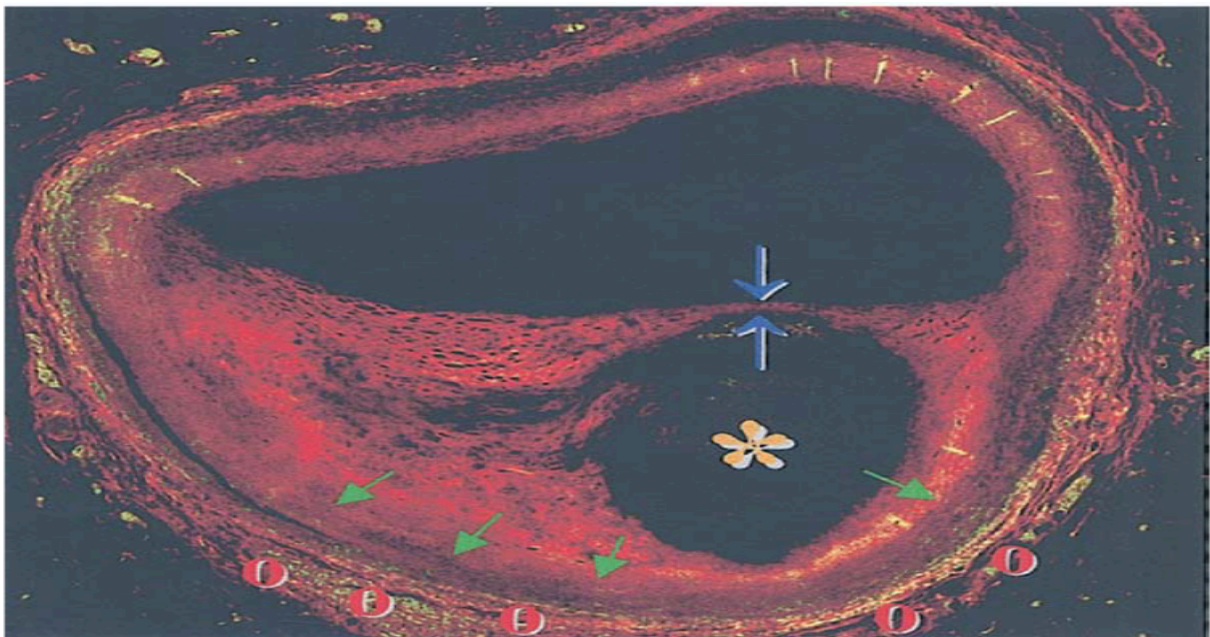


Abbildung 13: (B) Eine stärkere Vergrößerung der Schnittstelle zwischen Plaque und Thrombus (75).

Molekulare und strukturelle Ziele für die Bildgebung. Querschnitt einer Koronararterie mit vermutlich rupturgefährdeter Plaque. Potenzielle Ziele für die Bildgebung sind hervorgehoben. Sie bestehen aus:

- 1) dem großen lipidreichen nekrotischen Kern (orangefarbener Stern),
- 2) die dünne Faserkappe (blaue Pfeile)
- 3) expansives Remodeling (grüner Pfeil)
- 4) Vasa vasorum und Neovaskularisierung (rote offene Kreise) (75)

2.5 Bedeutung und Mechanismus der Gewebeproteine (PAI, MCP-1)

2.5.1 PAI (Plasminogenaktivator-Inhibitor-1)

PAI-1 gehört zu der Familie der Serinproteaseninhibitoren und ist der wichtigste physiologische Inhibitor der Urokinase-/Gewebeplasminogenaktivator (uPA/tPA), sowie von Plasmin (84). PAI-1 wird zu den Akute-Phase-Proteinen gezählt. Eine Produktion erfolgt über entzündliche Zytokine wie Interleukin-1, Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF α), sowie epidermalen Wachstumsfaktor (EGF), Lipopolysaccharid (LPS [Endotoxin]), Lipoproteine, Thrombin und Hormonen (Östrogen und Insulin) (85).

Der u-PA- und t-PA- Faktor gehören dem humoralen fibrinolytischen System an und dienen somit zum körpereigenen Abwehrmechanismus bei der Prävention von intravaskulären Thrombosen und der Gewebemöostase. Es ergänzt die Wirkung von weiteren Protein Antikoagulanzen (Protein C und S, Antithrombin-II etc.) und vom Endothel stammende Thrombozytenaggregationshemmer (NO und Prostazyklin). Die Aktivierung des Plasmin zum Plasminogen erfolgt durch den t-PA Faktor (tissue-plasminogen activator) und wird mit Hilfe des schnellen und sehr spezifischen Plasminogenaktivator-Inhibitor (PAI) in seiner Wirkung reguliert, sodass eine überschüssige Produktion verhindert wird (29).

Die von o.g. Faktoren initiierte Überexpression von PAI-1 führt unter pathologischen Umständen zu einer übermäßigen Anhäufung von Kollagen und anderen extrazellulären Matrix Proteinen im Wundbereich, wodurch die Narbenbildung aufrecht gehalten wird. Durch diesen Vorgang kann im geschädigten Gewebe eine Fibrose entstehen (Herz, Lunge, Niere, Leber und Haut) (84).

Die Korrelation zwischen einer Überexpression von PAI-1 und der Atherosklerose beim Menschen konnte durch A. Hamsten et al., 1985 Dezember, dargestellt werden (86). In keiner veröffentlichten Studie wurde allerdings die Auswirkungen eines pharmakologischen PAI-1 Inhibitors, der bei Menschen eingesetzt wird, für die Atherosklerose untersucht. Khoukaz, et al. zeigten in Experimenten an Mäusen, dass die pharmakologische Hemmung von PAI-1 durch PAI-039 eine signifikante und anhaltende Verringerung von Fettleibigkeit und der Bildung von Atherosklerose hat

(87). Somit ist nach diesen Untersuchungsergebnissen ein weiterer Ansatz in der Behandlung der Atherosklerose gegeben.

2.5.2 MCP-1 (Monozytochemotaktisches Protein-1)

Das monozytochemotaktische Protein-1 ist eines, von insgesamt vier Proteinen (MCP1-4). Es gehört wie alle anderen zu der Familie der CC-Chemokine und kommt in Epithelzellen, Endothelzellen, glatten Muskelzellen, Monozyten/Makrophagen, Fibroblasten, Astrozyten und Mikroglia Zellen vor. Durch seine chemotaktische Wirkung spielt es eine entscheidende Rolle bei inflammatorischen Prozessen, führt zu einer Rekrutierung von Monozyten und Makrophagen und steigert die Expression von anderen Zytokinen. Durch diesen Mechanismus ist es bei der Atherogenese, aber auch bei vielen anderen Erkrankungen wie beispielsweise toxischen Lebererkrankungen beteiligt (88). Ferner wurde in mehrere Studien eine Verbindung von MCP-1 und oxidativen Stress beschrieben. So zeigten Zamara et al. in einer Studie an Mäusen, die eine gezielte Deletion des MCP-1-Gens tragen, dass das Fehlen von MCP-1 ein Schutz vor Leberschäden und der Entwicklung von oxidativen Stress ist (89). Auf Grund des Vorhandenseins von MCP-1 bei vielen pathologischen Zuständen, kann es auch als Parameter in der nicht- invasiven Messmethode (z.B. im Urin) für die Diagnostik und Behandlung dienen (88).

2.6 Quantifizierung der Endothelfunktion

Im Rahmen der Quantifizierung der Endothelmessung, kann man ein invasives und ein nicht-invasives Verfahren unterscheiden. Die invasiven Messungen spielen in der Forschung, sowie der klinischen Diagnostik in der heutigen Zeit keine Rolle mehr. Sie waren historisch gesehen die Vorreiter der endothelialen Funktionsmessung. Nachfolgend werden beide Verfahren erläutert.

2.6.1 Invasive und nicht-invasive Methoden zur Bestimmung der Endothelfunktion.

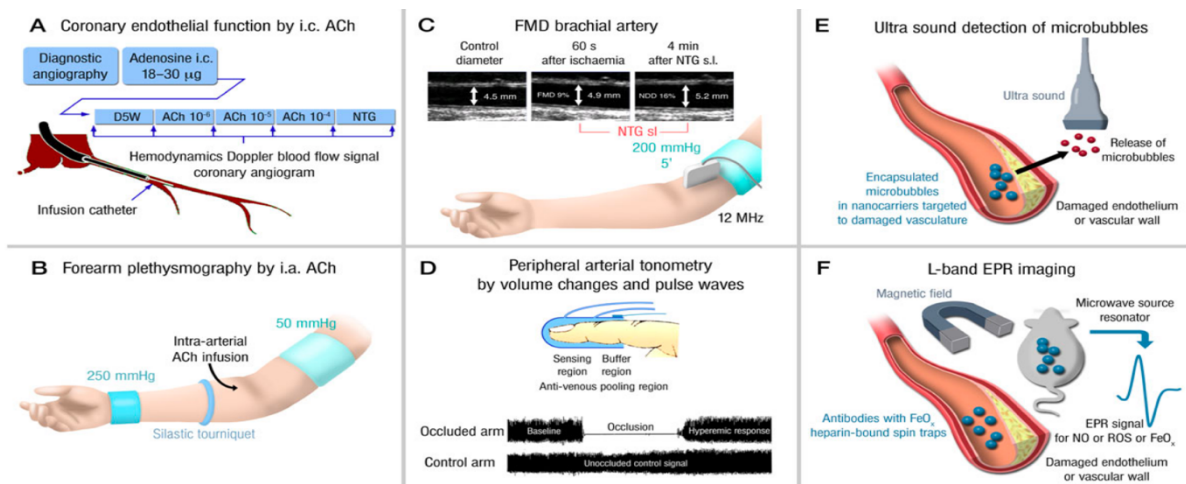


Abbildung 14: Invasive und nicht-invasive Methoden zur Bestimmung der Endothelfunktion (6).

- A Acetylcholin (ACh)-abhängige Vasoreaktivität der Koronargefäße, verursacht durch intrakoronare (i.c.) ACh-Infusion. Die Gefäßerweiterung und die stenosierenden Bereiche werden durch angiographische Aufnahmen und Doppler-Ultraschall (Blutfluss) überwacht.
- B ACh-abhängige Vasoreaktivität von Kapazitätsgefäßen des Unterarms nach intra-arterieller ACh-Infusion. Die Gefäßerweiterung wird mit Doppler-Ultraschall aufgezeichnet (Durchmesser und Blutfluss).
- C Flussvermittelte Dilatation (FMD) von Kapazitätsgefäßen des Unterarms (Arteria brachialis) nach Okklusion/Ischämie und Reperfusion/Hyperämie. Die Gefäßerweiterung wird mittels Doppler-Ultraschall aufgezeichnet (Durchmesser und Blutfluss). Die maximale Vasoreaktivität/ Dilatation wird durch sublinguale Verabreichung von Nitroglycerin (NTG) bestimmt.
- D Die periphere arterielle Tonometrie misst Volumenänderungen und Pulswellen mit einer Fingersonde.
- E Ultraschallbasierter Nachweis von Mikroläschen, die von Nanoträgern bei chemischer Reaktion mit ROS oder bei Zerstörung der Träger durch Ultraschall freigesetzt werden. Die Nanoträger werden auf das geschädigte Endothel ausgerichtet (z. B. durch gebundene Antikörper). Die freigesetzten Mikroläschen werden mit Ultraschall nachgewiesen.
- F Die L-Band-Spektroskopie der paramagnetischen Elektronenresonanz (EPR) kann zum Nachweis paramagnetischer Verbindungen oder Partikel (in der Regel mit einem ungepaarten Elektron) in ganzen Tieren und Geweben verwendet werden. Beschädigte Blutgefäße können mit Antikörpern markiert werden, die an Eisenoxid gebunden sind (EPR-aktiv). Ebenso werden heparin-gebundene Spin-Fallen an die Endotheloberfläche gebunden und ermöglichen den Nachweis von Stickstoffmonoxid oder ROS (6).

2.6.1.1 Invasive Messmethoden der Endothelfunktion

Normalerweise bewirkt der Neurotransmitter Acetylcholin eine Vasodilatation über muskarinerge Rezeptoren der motorischen Endplatte am Endothel (90). Bei Versuchen an isolierten Aorten von Kaninchen, konnte man eine Vasodilatation feststellen, jedoch zeigten Furchgott und Zawadzki auf, dass bei unachtsamer Präparation des Endothels (Entfernung des Endothels) eine paradoxe Wirkung hervorgerufen wurde (90). Wurde jedoch bei der Präparation darauf geachtet, dass die Tunica intima des Endothels nicht beschädigt wurde, konnte man bei der Gabe von Acetylcholin eine Vasodilatation feststellen. Bereits in den 1980er Jahren wurde von Furchgott eine Substanz identifiziert, die von Endothel ausgeschüttet wird und eine Vasodilatation hervorruft, welche er als „endothelial derived relaxing factor“ (EDRF) definierte (91). In weiteren Studien konnten bewiesen werden, dass es sich hierbei um NO (Stickstoff) handelte (92,93).

Vita et al. erläuterten, dass es einen signifikanten Zusammenhang zwischen koronaren Risikofaktoren und der vasomotorischen Reaktion auf eine intrakoronare Ach-Infusion gibt. Bei Patienten mit koronaren Risikofaktoren oder einer bereits manifesten Atherosklerose konnte eine paradoxe Wirkung bei der Gabe von Acetylcholin während der Angiographie beobachtet werden. Bei einem bereits atherosklerotisch veränderten Gefäß konnte eine Vasokonstriktion festgestellt werden. Im gesunden Gefäß führte die Acetylcholin -Gabe zu einer Vasodilatation (94). Ebenfalls wurde beobachtet, dass Patienten ohne Atherosklerose, aber mit koronaren Risikofaktoren ebenfalls eine Einschränkung der vasodilatatorischen Wirkung zeigten. Folglich ist durch die Anwendung des Verfahren möglich, ob eine Störung der Endothelfunktion vor der Entstehung der Atherosklerose vorliegt oder ein frühes Stadium der Atherosklerose erkannt wird, auch wenn dieses noch nicht in der Angiographie nachweisbar ist (94). Nicht nur im Bereich der koronaren Gefäße findet diese Methode Anwendung, sondern auch in dem peripheren Gefäßsystem. Hierbei wird die mit Hilfe der Plethysmographie versucht periphere endotheliale Dysfunktion bei Diabetikern und Rauchern zu identifizieren (95–97). Für den klinischen Alltag sind invasive Messmethoden nur bestimmten Patientenkollektiven vorbehalten. Um eine Progression, Reversibilität oder symptomfreie Endothelläsionen festzustellen sind diese Messverfahren allerdings nicht geeignet (93).

2.6.2 Nicht invasive Messmethoden der Endothelfunktion

2.6.2.1 Flussvermittelte Dilatation an peripheren Gefäßen

Für eine physiologische Vasomotorik ist ein intaktes Endothel erforderlich (99). Bereits in Jahr 1965, zeigten Olsson und Gregg, dass veränderte Strömungsbedingungen zu einer endothelabhängigen Dilatation führten (100). Auch in weiteren Studien wurde auf die enorme Bedeutung eines intakten Endothels hingewiesen (90). Es werden bei den nicht invasiven Messmethoden in ein endothelabhängige, sowie unabhängige Vasodilatation unterschieden. Bei der endothelabhängigen Messmethode wird die Dilatation des Gefäßes durch den sogenannten „Scherstress“ ausgelöst, was zur Aktivierung einer Mechanotransduktionskaskade unter Beteiligung von Tyrosinkinase(n) führt und durch Serin-Threonin- regulierte Phosphorylierungen die endogene NO-Synthase aktiviert (101). Celmaier et al. zeigten bereits 1992, dass bei der endothelunabhängigen Methode ein exogener NO- Liberator verabreicht wird, der im bereits beschriebenen Mechanismus die Guanylatzyklase aktiviert, was wiederum in der weiteren Kaskade die Vasodilatation hervorruft (98). Auch Vallance, Collier und Moncada wiesen nach, dass die NO-Produktion basal und als Reaktion auf eine pharmakologische Stimulation erfolgt, während die Erhöhung der flussassoziierten Scherung nach einer unterschiedlich langen arteriellen Okklusion eine Vasodilatation der großen Leitungsarterien auslöste (102).

Um herauszufinden, dass eine nicht invasive Methode der Endothelfunktionsmessung etabliert werden kann, wurde im Jahr 1995 durch Anderson et al. in einer Vergleichsstudie untersucht, in der beide Verfahren evaluiert worden sind und deren Ergebnisse gezeigt hat, dass eine enge Korrelation der Ergebnisse zwischen invasiven und nicht-invasiven Messmethoden besteht (103).

Da zwischen Herzkreislaufereignissen und der endothelialen Dysfunktion eine enge Korrelation besteht, ist daher festzustellen, dass die endotheliale Dysfunktion als vorhandener nicht manifester Risikofaktor zum Erlangen einer Arteriosklerose angesehen werden kann (94). In einer Vielzahl von Studien wurde aufgezeigt, dass Studienteilnehmer mit einer eingeschränkten Endothelfunktion ein signifikant erhöhtes Risiko haben, ein kardiovaskuläres Ereignis zu bekommen, als diejenigen mit einer physiologischen Endothelfunktion (104,105). Durch einen geringen Aufwand der

Untersuchung, der guten Reproduzierbarkeit und der fehlenden Invasivität, ist die Flussvermittelte Dilatation zu einem Standardverfahren geworden (106,107).

Anzumerken bleibt aber, da die FMD keine Information auf den Scherstress während der Ruhezeit liefert, wird diese Methode als „alleiniges Messverfahren“ von einigen Autoren kritisch gesehen. Daher wird von Gori et al. empfohlen das Messverfahren mit der L-FMC zu ergänzen (107).

2.6.2.2 Flussvermittelte Konstriktion (Low-flow mediated constriction, L-FMC) an peripheren Gefäßen

Die L-FMC wurde entwickelt, um die vorhandenen Lücken in der Diagnostik der Endothelfunktion zu ergänzen und somit einen umfassenden Überblick auf die endothelabhängige vasomotorische Funktion und Dysfunktion zu darzustellen (108). Sie beschreibt einen physiologische Zustand der Vasokonstriktion auf eine verminderte lokale Perfusion im betroffenen Gefäßabschnitt (108). Die Messung erfolgt nach maximalem Aufpumpen der distal gelegenen Blutdruckmanschette über den suprasystolischen Druck und misst die maximale Verringerung des Gefäßdurchmessers (109). Die L-FMC wurde zwar bisher nicht als Standardverfahren in der Gefäßdiagnostik etabliert, jedoch haben sich mehrere Autoren zu Komplementierung und weiteren Evaluierung der Endothelfunktion ausgesprochen (108–110). Obwohl im Jahre 1987 Levenson et al. bereits über dieses Verfahren berichtete, wurde diesem Messverfahren in den letzten 20 Jahren nicht sonderlich viel Aufmerksamkeit geschenkt (111).

Dawson et al. beschreiben, dass die physiologische Vasodilatation der FMD und die Vasokonstriktion der L-FMC von einem intakten Endothel abhängig sind (99). Der Unterschied zwischen FMD und L-FMC ist jedoch, dass die Vasokonstriktion kein NO-abhängiger Prozess ist (109). Es zeigte sich bei den Forschungen, dass ein durch Scherkräfte sezernierter Stoff, der sogenannte endotheliale hyperpolarisierende Faktor (EDHF, Endothelium-derived hyperpolarizing Factor), eine wichtige Rolle bei der L-FMC spielt und das beim Verlust der Scherkräfte auch keine Vasodilatation durch EDHF stattfand (109).

Um die klinische Relevanz der L-FMC weiter zu etablieren, wurde von Gori et al. eine Studie mit 451 KHK-Probanden begonnen, bei denen eine Koronarangiographie durchgeführt wurde. Hierbei wurde eine statistisch signifikante Korrelation zwischen L-

FMC und dem SYNTAX-Score nachgewiesen (112). Dieser Score wird zur Einteilung in eine koronare Ein- oder Mehrgefäß-Erkrankung verwendet (112,113). Es bedarf weiteren Studien, dass sich die Kombination der beiden Verfahren, als eine komplementäre Evaluation der Endothelfunktion durchsetzt (108,112).

2.6.2.3 Messung der Mikrozirkulation mit Hilfe des Laserdopplers

Die bisher erläuterten Methoden beschreiben die Untersuchung mit Hilfe des Ultraschalles oder der Angiographie von großen Gefäßen. Zur Quantifizierung der Mikrozirkulation der Arteriolen, Venolen oder Kapillaren werden nicht invasive Verfahren eingesetzt. Dazu zählt die Laser-Doppler-Perfusionsüberwachung. Mit diesem Verfahren wird das Licht vom untersuchten Gewebe gestreut und teilweise absorbiert. Wenn es nun auf bewegte Erythrozyten trifft, kommt es zu einer Frequenzänderung (Dopplerverschiebung), während monochromatisches Laserlicht, dass auf ein statisches Objekt trifft, unverändert bleibt. Diese Dopplerschiebung steht im direkten Zusammenhang mit der Anzahl und Geschwindigkeit der Erythrozyten. Die gewonnenen Informationen werden in ein elektrisches Signal umgewandelt und analysiert (114). Diese registrierten Signale werden als Biological zero definiert und mit Hilfe der Brown'schen Molekularbewegung im Interstitium erklärt (115). Die Messtiefe hängt in erster Linie vom Abstand zwischen den Sende- und Empfangsfasern in der Laser-Doppler-Sonde und von der Wellenlänge des Laserlichtes ab. Sie hängt auch von den Gewebeeigenschaften in deren Struktur und Dichte der Kapillarnetze, der Pigmentierung und der Sauerstoffversorgung ab (114). Um eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erhalten, werden die Messungen in einer willkürlichen Einheit, den sogenannten Perfusionseinheit (PU) ausgedrückt (115,116).

Durch die Analysesoftware wird dabei der Biological zero vor jeder Versuchsbedingung gemessen und vom Flusssignal subtrahiert (115,117). In einer groß angelegten Studie von Stiefel et al. konnte bei der Auswertung der Ergebnisse zusammenfassend für die Hyperaemia area (AH) eine Spezifität von 0,97 sowie eine Sensitivität von 0,82 beobachtet werden (118).

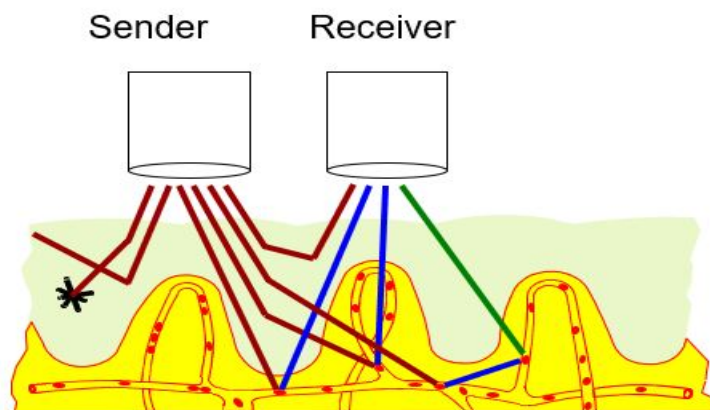


Abbildung 15: Laserdoppler: Doppler-Verschiebungsfrequenz für eine gut durchblutete Region für Mikrozirkulation (119).

Im oberen Bild ist eine schematische Darstellung einer Laserdoppler-Messung dargestellt. Das Licht wird vom untersuchten Gewebe gestreut und teilweise absorbiert. Wenn rote Blutkörperchen sich bewegen und Licht auf diese trifft, kommt es zu einer Frequenzänderung (Doppler-Verschiebung). Bei statischen Objekten bleibt das Licht unverändert. Die Größe und Häufigkeitsverteilung dieser Doppler-Verschiebungen stehen in direktem Zusammenhang mit der Anzahl und Geschwindigkeit der roten Blutkörperchen im Probenvolumen. Eine zurücklaufende Faser nimmt die gewonnenen Informationen auf, wandelt diese in ein elektronisches Signal um und analysiert sie.

2.6.3 Analysen oszillometrischer Signale der Arteriolen mittels Laserdoppler

Mit Hilfe der Laser-Doppler Fluxmetrie kann klinisch die Hämodynamik der Mikrozirkulation bewertet werden. Durch Kontraktion und Relaxierung der Arteriolenwände, welche durch den Herzschlag, Atmung, sympathische Innervation oder durch glattmuskulärer und endothelialer Aktivität hervorgerufen werden, wird der Gefäßdurchmesser rhythmisch verändert (Vasomotion), wodurch periodische Oszillationen der Laser Doppler Signale entstehen (120,121). Die auf Laser-Doppler-Signale angewandte Wavelet-Analyse zeigt sechs charakteristische Frequenzintervalle von 0,005 bis 2 Hz. Jedes Intervall ist einer bestimmten Struktur des kardiovaskulären Systems zugeordnet (120).

Frequenzbereich	Physiologische Interpretation
0,0095- 0,021 Hz	NO-abhängige Endothelfunktion
0,021-0,052 Hz	Neuronale sympathische Aktivität
0,052-0,145 Hz	Glattmuskuläre Kontraktion
0,145-0,6 Hz	Respiratorische Aktivität
0,6-2,0 Hz	Herzschlag

Tabelle 2: Frequenzintervalle (FI) und Vaskuläre Aktivitäten (120).

Im Segment der Mikrozirkulation bilden insbesondere die Frequenzbereiche 0,009-0,02 Hz, 0,2- 0,06 Hz und 0,06- 0,2 Hz die endotheliale Aktivität ab (122). Das ein chronischer Genuss von Zigarettenrauch einen Einfluss auf niederfrequente Oszillationen hat, konnte bereits durch Rossi et al. gezeigt werden (122). Ebenso konnte in weiteren Studien eine NO-Abhängigkeit der Oszillationen belegt werden (123).

2.7 Rauchen und Endothelfunktion

Bereits seit Jahren ist bekannt, dass ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Rauchen von Zigaretten und der Atherosklerose besteht und somit erheblich zur kardiovaskulären Morbidität und Mortalität beiträgt (2,124). Der Zigarettenrauch ist ein Gemisch aus schädlichen Bestandteilen, welcher bei einer Verbrennung mit Temperaturen von bis 950° Celsius, einer Pyrolyse und einer Destillation entsteht (125). Konventionell kann man das Rauchen in zwei Phasen aufteilen (Teer- und Gasphase). Die Teerphase (Partikelphase), ist die Phase, in der Rauch durch den Cambridge-Glasfilter gezogen wird und dadurch bis zu 99,9% der Partikel von 0,01 µm zurückhält. Die Gasphase wird als die Phase bezeichnet, in der das Material durch den Filter strömt (2). Im Zigarettenrauch befinden sich Radikale, die in kurzlebig (flüchtig) oder langlebig unterteilt werden können (126).

Die Radikale der Gasphase sind sehr kurzlebig (Millisekunden) und hochreaktiv. Trotz der relativen Halbwertszeit und begrenzten Diffusionszeit, können sie in die oberen Atemwege eindringen und dort ihre schädigende Wirkung entfalten (125). Die Partikelphase hingegen, beinhaltet Radikale mit einer deutlich längeren Halbwertszeit (in einzelnen Fällen mehrere Monate) und können in die tiefen Atemwege gelangen (125). Der eingeatmete Rauch, wird als Hauptstrom bezeichnet und macht 15% aus. Der Nebenstrom beträgt 85% des Rauches und hat auf Grund seiner inkompletten Verbrennung eine höhere Konzentration von giftigen Inhaltsstoffen (127). Zigarettenrauch enthält mehr als 4000 bekannte Bestandteile, von denen allerdings nur einige wenige isoliert untersucht worden sind (2). Unter den Inhaltsstoffen befinden sich mindestens 40 Karzinogene (127). Im Nebenstrom befinden sich im Vergleich zum Hauptstrom deutlich mehr Kohlenmonoxid, Benzopyren (eine tumor- und plaquebildende Verbindung) und 50-mal so viel Ammoniak. Dies ist darauf zurückzuführen, dass während der Inhalation eine Verbrennung der Stoffe stattfindet

und zusätzlich diese auch noch gefiltert werden und somit den Nebenstrom gefährlicher machen (127). Auch wenn nicht mit Sicherheit festgestellt werden kann, wie hoch die Zahl der kardiovaskulären Todesfälle sind, die im Zusammenhang mit Tabakrauch stehen, ist das Risiko einer Herzerkrankung erheblich erhöht (127).

Bereits 1993 konnte Celmajer et al. zeigen, dass kontinuierliches Rauchen die Flussvermittelte FMD der Arteria brachialis dosisabhängig beeinträchtigt, was durch den Zusammenhang zwischen FMD und gerauchten Packungsjahren belegt wird (98). Es ist bereits bekannt, dass oxidativer Stress durch freie Radikale hervorgerufen wird und somit Entwicklung der Atherosklerose fördert (2,128).

Das Zigarettenrauch eine Entzündungsreaktion an den Gefäßwänden hervorruft und somit eine wesentliche Komponente bei der Entstehung der Atherosklerose spielt, wurde in mehreren Studien gezeigt. Die Leukozytenzahl ist dabei um 20-25 % im peripheren Blut erhöht (129). Darüber hinaus kommt es in vivo zu einem Anstieg des C-reaktiven Protein, Interleukin-6 und dem Tumornekrosefaktor alpha (2). Bernhard D. et al. berichten, dass Chemikalien aus dem Zigarettenrauch zur Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche von Endothelzellen führen und die Freisetzung von proatherogenen Zytokinen wie Interleukin-6 und Interleukin-8 induzieren (130). Der induzierter oxidativer Stress aktiviert ebenfalls, Makrophagen und Thrombozyten (126). Makrophagen erkennen die Adhäsionsmoleküle auf den Endothelzelle, immigrieren und nehmen über ihre Scavanger-Rezeptoren oxidierte Lipide auf (126).

Yamaguchi et al. zeigten, dass Peroxynitrit (Produkt aus der Reaktion zwischen NO und Superoxiden) wesentlich an der oxidativen Veränderung von LDL im Blut von Rauchern beteiligt ist (131). Die daraus resultierten sogenannten Schaumzellen, geben wiederum beim Absterben die gespeicherten oxidierten Lipide frei und tragen somit zur Bildung lipidreicher Aortenplaques bei (126). Allerdings konnte in einer großen, prospektiven Studie von Johnson et al. gezeigt werden, dass sich ein Jahr nach der Raucherentwöhnung die Endothelfunktion deutlich verbesserte (132).

In den letzten 40 Jahren wurden mehrere Studien veröffentlicht, die die Auswirkungen des Rauchens auf Serumlipide untersuchten, allerdings wurde erst im Jahre 1989 durch Craig et al. eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Rauchen und

erhöhten Serumkonzentrationen von Gesamtcholesterin, Lipoprotein sehr niedriger Dichte, Lipoprotein niedriger Dichte (LDL) und Triglyceriden (TG) nachgewiesen. Das High-Density-Lipoprotein und Apolipoprotein A1 war bei Rauchern dosisabhängig gesenkt (133).

Zahlreiche Eingriffe des Rauchens auf die physiologische Endothelfunktion sind bereits bekannt und zeigen die deutlichen Folgen auf die kardiovaskuläre Gesundheit. Trotz des umfangreichen Wissens, ist eine vollumfängliche Darstellung der Pathomechanismen der tabakrauchbedingten kardiovaskulären Erkrankung noch nicht endgültig gelungen und bedarf weiterer Forschungen (126).

2.8 Aufbau von Shishas / Wasserpfeifen

- Wasserbehälter
- Pfeife (Körper, Stiel)
- Kopf (Bowl)
- Filter
- Mundstück (Verlängerung):
 - Alufolie
 - Holzkohle
 - Tabak
 - Dampfsteine

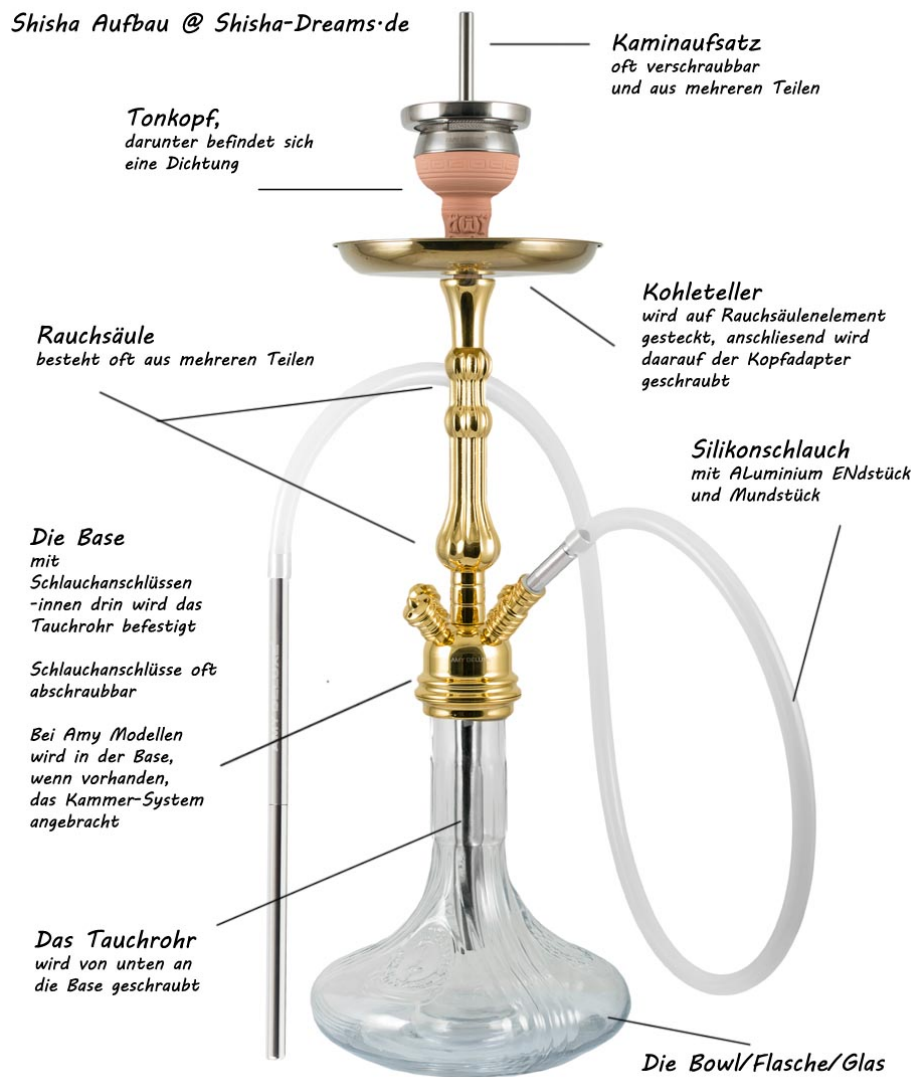


Abbildung 16: Bestandteile einer Shisha (132).

2.9 Nikotin

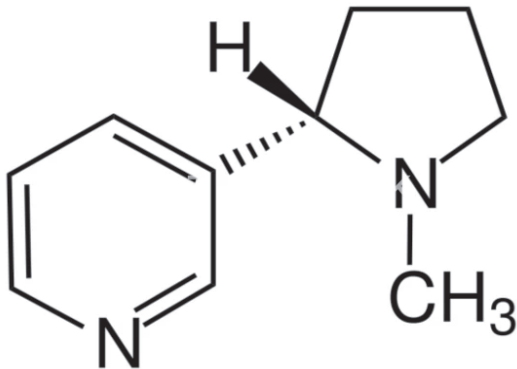


Abbildung 17: Nikotin Strukturformel (133).

(S)-(-)-3-(1-Methyl-pyrrolidin-2-yl) Pyridine. In der Natur kommt ausschließlich (S)-Nicotin vor. Das Enantiomer (R)-Nicotin hat keine pathophysiologische Bedeutung.

Nikotin ist ein tertiäres Amin, das aus einem Pyridin- und einem Pyrrolidinring besteht. Das (R)-Nikotin, das aufgrund von Racemisierung während des Pyrolyseprozesses in geringen Mengen im Zigarettenrauch vorkommt, ist ein schwacher Agonist an nAChRs und hat somit eine kaum eine Bedeutung (134).

2.10 Pharmakokinetik

Die Aufnahme von Nikotin, welches eine schwache Base ist ($pK_s = 8,0$), ist abhängig von den konsumierten Tabakprodukten. Herkömmliche Zigaretten haben einen sauren pH-Wert (pH 5,5 bis 6,5) und somit wird das Nikotin ionisiert, was zu Folge hat, dass das Nikotin nur im geringen Maße bukkal aufgenommen werden kann, auch wenn der Rauch länger im Mund gehalten wird. Kautabak hingegen hat einen alkalischen pH-Wert von bis zu 8,5 und ist somit für die bukkale Aufnahme geeignet (135,136).

Da im alveolären Raum ein pH-Wert von 7,4 herrscht, ist der transmembrane Transport und somit die Aufnahme vom Nikotin vereinfacht, dies zu einer schnellen Verteilung im Blutkreislauf und letztendlich im zentralen Nervensystem führt (137). Es dauert ca. 10 bis 19 Sekunden, bis das Nikotin von der Zigarette ins Gehirn gelangt (135). Die Nikotinkonzentration im arteriellen Blut nach dem Rauchen einer Zigarette liegt normalerweise zwischen 20 und 60 ng/ml, kann allerdings auch Konzentrationen bis

zu 100 ng/ml-1 erreichen (137). Inhalierete Drogen wie Nikotin entgehen dem First-Pass-Effekt von Darm und Leber wodurch die Konzentration, Wirkung und somit der Rausch größer ist (134).

Die Elimination des Nikotins findet zu 70% bis 80% in der Leber statt. Hierbei wird mit Hilfe des CYP2A6- Enzyms Nikotin zu Cotinin verstoffwechselt, welches auch als quantitativer Marker für die Nikotinexposition verwendet werden kann (134) (135). Cotinin hat im Vergleich zu Nikotin eine viel längere Halbwertszeit (durchschnittlich 16 Stunden gegenüber 2 Stunden bei Nikotin) und die Cotininwerte sind im Durchschnitt 15-mal höher als die Nikotinwerte bei regelmäßigem Rauchen oder einer Nikotinersatztherapie (138). Sowohl die Nikotin, als auch die Cotinin- Exkretion erfolgen renal, wobei die Nikotinclearance pH-abhängig ist (137). Die Clearance von Nikotin unterliegt erheblichen individuellen Schwankungen, die von genetischen, rassischen und hormonellen (geschlechtsspezifischen) Faktoren bestimmt werden (136).

2.11 Pharmakodynamik

Das Nikotin selbst, ist nicht die tödliche Substanz in den Zigaretten, aber es ist der limitierende Abhängigkeitsfaktor, der Menschen dazu bringt die mehr als 7000 Chemikalien, von denen Hunderte giftig sind und von denen mindestens 40 Krebs verursachen können, weiterhin zu konsumieren (139). In der Literatur werden unterschiedliche Angaben gemacht, wie hoch eine letale Nikotindosis ist. Die Spannweite liegt zwischen 1 mg bis 500 mg (140,141).

Nach dem das Nikotin über den pulmonal- venösen Kreislauf aufgenommen worden ist, gelangt es per Diffusion in das Nervengewebe des Gehirns und kann dort an cholinergen Nikotinrezeptoren (nAChR) binden (136). Hierbei handelt es sich um ligandengesteuerte Ionenkanäle, die sich bei Bindung von Agonisten öffnen und es so zum Einstrom von Kationen kommt, einschließlich Natrium und Kalium. Diese Kationen bewirken eine Aktivierung von spannungsabhängigen Calcium-Kanälen, die wiederum einen Einstrom von Kalzium bewirken. Diese Signalkaskade, bewirkt nun eine Freisetzung von Dopamin und zahlreichen weiteren Neurotransmitter (u.a. Noradrenalin, Acetylcholin, Serotonin, γ -Aminobuttersäure (GABA), Glutamat und Endorphine) (136). Nikotin setzt im mesolimbischen System Dopamin frei und führt

somit zu einem angenehmen Gefühl. Da der ventralen tegmentalen Bereich des Mittelhirns und die Hülle des Nucleus accumbens dem Belohnungszentrum zugeordnet sind, spielen sie eine entscheidende Rolle bei der Wahrnehmung von Belohnung und Vergnügen (136,142). Besteht eine wiederholte Exposition mit Nikotin, entsteht eine Neuroadaptation und somit eine Hochregulierung und Desensibilisierung von cholinergen Nikotinrezeptoren und damit einhergehend eine Toleranzentwicklung (142). In nächtlichen Abstinenzphasen, findet eine Resensibilisierung statt, was dazu führt, dass die Raucher von Tag zu Tag die gleichen Mengen an Nikotin zu sich nehmen, um den Mangel von Dopamin, den Verlust von „positiven“ Gefühlen des Nikotins (reduzierter Stress und Angst) und somit den Entzugssymptomen vorzubeugen (136).

2.12 Direkte Einwirkung des Nikotins auf das kardiovaskuläre System

Neal L. Benowitz, und Andrea D. Burbank et al. führten aus, dass durch Nikotin eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems stattfindet und somit eine Noradrenalinfreisetzung bewirkt wird. Dies zeigt sich in einer erhöhten Adrenalin-Plasmakonzentration, deren Folge eine Steigerung der Herzfrequenz (um 10-15 bpm), eine erhöhte Kontraktilität des Herzmuskels und somit eine Erhöhung des Blutdruckes um 5-10 mmHg nach sich zieht (143).

Weitere Effekte auf das kardiovaskuläre System sind eine Vasokonstriktion der Herzkranzgefäße und der Blutgefäße, führt allerdings an der Skelettmuskulatur zu einer Vasodilatation. Hanan Qasim et al. zeigten ebenfalls nach Zusammenfassung mehrerer Studien, dass der Konsum von Wasserpfeifen diese Effekte hervorbringen (144). Nach Auswertung von mehreren Studien, konnte bislang keine signifikante Evidenz dargelegt werden, dass Nikotin eine Hypertonie begünstigt (145).

Nach wie vor wird als Hauptursache für eine endotheliale Dysfunktion der oxidative Stress gesehen (146). Darüber hinaus wurde bestätigt, dass eine lokale Injektion von Nikotin oder die Verwendung von nikotinhaltigen Nasensprays die Endothelfunktion beeinträchtigen. Allerdings ist noch unklar, wie entscheidend dabei der Effekt von Nikotin ist (143). Auch konnte in einer randomisierten kontrollierten Studie keine erhöhte Inzidenz von kardiovaskulären Ereignissen bei Patientinnen mit bestehenden

kardiovaskulären Vorerkrankungen festgestellt werden, die vorher rauchfreien Tabak konsumierten (143).

Arefalk et al. konnten nachweisen, dass die Mortalität bei Abstinenz von rauchfreien Nikotin bei Patienten nach einem Herzinfarkt um fünfzig Prozent verringert war (148). Auch wenn keine eindeutige Evidenz vorliegt, ist davon auszugehen, dass rauchfreies Nikotin ebenfalls einen negativen Effekt auf das kardiovaskuläre System und somit auf die Entstehung von Atherosklerose hat (143).

2.13 Schadstoffe und toxische Verbindungen im Shisharauch

Zwar wurde in der Shisha- Acute Studie kein explizites Augenmerk auf die Schadstoffe und toxischen Verbindungen im Shisharauch gelegt, dennoch sollte diese eine Erwähnung erhalten. Die Arten schädlicher und potenziell schädlicher Bestandteile (HPHCs: harmful and potentially harmful constituents) in Wasserpfeifentabak sind denen in Zigarettentabak recht ähnlich. Der Unterschied liegt jedoch in der Verbrennungsart, der Temperatur, bei der der Tabak verbrennt und der abgegebenen Rauchmenge (149).

Es wird geschätzt, dass der Nikotinspiegel im Plasma nach einer Sitzung Wasserpfeifenrauchen dem Rauchen von 2–3 Zigaretten entspricht (150,151). Normalerweise führt die Nikotinwirkung über eine Rezeptoraktivierung oder Katecholaminfreisetzung zu pathologischen Ereignissen, jedoch konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass es auf zellulärer Ebene zu nikotinabhängigen oxidativen Stress kommt und somit zu einer Steigerung der ROS-Produktion oder einer Beeinträchtigung der antioxidativen Kapazität (152). Arany et al. konnte bei Versuchen an Mäusen, die mit Nikotin behandelt wurden, eine Erhöhung des Markers für oxidativen Nierenstress, einer verminderte Expression eines Antioxidans und eine Erhöhung eines prooxidativen Proteins feststellen (153).

Darüber hinaus ist der Wasserpfeifentabak die Hauptquelle für Feinstaub, wodurch oxidativer Stress verursacht werden kann. Es wird beschrieben, dass in einer 45-minütigen Wasserpfeifensitzung bis zu 802 mg nikotinfreie Trockenpartikel produziert werden (154). Naddafi et al. führten eine Untersuchung in 50 Wasserpfeifencafes durch, bei der eine höhere durchschnittliche Staubpartikelbelastung mit einem

Gefährdungsquotienten (HQ) von > 1 festgestellt wurde. Dies weist ein sehr hohes Gesundheitsrisiko aus (155). Aber auch Schwermetalle konnten in hohen Dosen festgestellt werden (156). Zudem sind flüchtige organische Chemikalien bei einer Wasserpfeifensitzung wie zum Beispiel Formaldehyd (27-fach), Acrolein (19-fach) erhöht gewesen, was dazu führt, dass durch Acrolein sich Proteine und die DNA addieren und oxidativen Stress auslösen, was wiederum Entzündungen auslösen kann (156,157). Sowohl in vivo, als auch in vitro konnte festgestellt werden, dass Acrolein die Konzentration von antioxidativen Enzymen senkt, die Translokation hemmt und somit wiederum Lipide oxidieren kann, die eine erneute Produktion von Acrolein forciert (157).

Es wurde bereits in einigen Studien postuliert, dass eine bessere Aufklärung über die Wirkung des Rauchens einer Wasserpfeife erfolgen sollte, damit vor allem die jungen Leute, über die Gefahren informiert werden und ein besseres Verständnis erhalten. Auch wenn in dieser Studie kein Augenmerk auf der direkten Wirkung der Schadstoffe lag, bedarf es einer Erwähnung dieser Schadstoffe und den daraus resultierenden Auswirkungen, sowie deren Risiken und Folgen.

3 Material und Methoden

3.1 Studienprotokoll

Das Ziel ist, herauszufinden, wie sich die akuten Effekte des Shisha- Rauchen auf die Endothelfunktion bei Nichtraucher auswirken. Es wird eine Zwischenanalyse nach der Aufnahme von 30 (Akut) Probanden geplant. Ist die Qualität der Studiendaten nicht ausreichend oder wird bereits bei der Zwischenanalyse eine statistisch eindeutige Antwort auf die Primärfrage erkannt, wird die Studie abgebrochen. Das Einschlusskriterium der Probanden war deren Alter zwischen 18 und 60 Jahren. Zu den Ausschlusskriterien zählen Asthma bronchiale, chronische Lungenerkrankungen, vaskuläre oder andere Anomalien, die das Anlegen der Blutdruckmanschette zur Durchführung der FMD-/FMC- Messungen unmöglich machen. Auch Probanden mit symptomatischen Herz-Kreislauf- Erkrankungen oder die Verwendung von vasoaktiven Medikamenten, wie lang wirkenden Nitrate oder Kalziumantagonisten wurden von Anfang an ausgeschlossen.

Nach dem die Probanden ihre 30- minütige Rauchsitzung abgehalten haben, sollten sie mit Hilfe eines Fragebogens unerwünschte Empfindungen und Auswirkungen dokumentieren.

Um die Endothelfunktion überprüfen zu können, wurde mit Hilfe einer sonographischen Messung die Flussvermittelte Dilatation und Kontraktion der Arteria brachialis mit einer Linearsonde gemessen. Diese Methode ist das übliche etablierte Standardverfahren in unserem Labor. Mit Hilfe der Laser-Doppler-Methode, wurde durch eine Sonde (Periflux System 5000, Perimed, Schweden) eine schmerzfreie Messung der Vasomotion im Bereich des Thenars vorgenommen.

Um eine Kontrolle der kardiovaskulären Parameter während des Shisha-Rauchens zu dokumentieren, werden mit Hilfe der SOMNOwatch die Herzfrequenz, kontinuierlicher Blutdruck und das Holter- EKG aufgezeichnet. Mit der mitgelieferten Software, können später die erhobenen Daten ausgewertet werden. Alle während der Studie verwendeten Geräte sind CE-zertifiziert. Die Funktionsprüfung und Kalibrierung werden nach Standardanweisungen durchgeführt. Die Sicherheitsvorschriften der Hersteller werden eingehalten. Das ausführliche Studienprotokoll ist im Anhang dieser Arbeit angeführt.

3.2 Ethische Aspekte

Um die ethischen Aspekte einzuhalten, wurden keine Probanden in die Studie eingeschlossen, die nicht einwilligungsfähig, chronisch oder sucht erkrankt oder minderjährig waren. Der Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland- Pfalz, Deutschhausplatz 3, 55116 Mainz, wurde vor Beginn der Arbeit die Studie zu Genehmigung vorgelegt.

3.3 Studiendesign

Probandenkollektiv

Bei dem Probandenkollektiv handelt es sich um 51 gesunde Probanden im Alter 18 bis 60 Jahren. Das Probandenkollektiv wurde in zwei Kohorten aufgeteilt.

Kohorte A: Raucher

Kohorte B: Nichtraucher

Eine Einverständniserklärung lag zu Beginn der Studie vor.

3.4 Akquise der Probanden

Die Bekanntmachung der Studie erfolgte auf unterschiedlichen Wegen. Zum einen wurde die Aufmerksamkeit über soziale Netzwerke wie facebook.com geweckt, sowie durch Flyer in der Mainzer Innenstadt. Ebenfalls wurde auf dem Gelände der Unimedizin durch Plakate und die verbale Weitergabe der Information unter den Studenten die Aufmerksamkeit geweckt. Parallel wurde die VaPOR- Acute Studie „Effect of electronic- cigarette on vascular endothelial function“ durchgeführt, die von einem Kollegen betreut wurde. Somit bestand bereits eine gewisse Größe des Probandenkollektivs.

3.5 Kriterien zum Studienabbruch

Die Studie wurde im Falle von nachfolgenden Umständen abgebrochen. Der Proband wünschte den Abbruch der Teilnahme. Für den Probanden entstanden neue und somit nicht tolerierbare Situationen mit der Studie oder medizinische Kontraindikationen, die eine Fortführung der Studie nicht zulassen.

3.6 Studienablauf

Vor Beginn der Studie, wurde ein standardisierter Ablauf in Form einer Checkliste schriftlich fixiert.

Bevor der Proband eintrifft, wird der Shishakopf (Tonkopf) mit dem Shishatabak (16 g) befüllt und mit Alufolie abgedeckt. Die Alufolie wird mit Löchern versehen. Die Shisha wird mit 1,4 Liter Wasser bis zur Markierung befüllt. Das Gewicht des Tabaks und die Wasserangabe ist exakt vorgegeben, damit bei jedem Probanden die gleichen Verhältnisse vorliegen.

(1) Allgemeine Informationen zu der geplanten Studie.

Die Ziele und der Ablauf der Studie werden dem Probanden genau erklärt. Aufklärung über mögliche Risiken, die während der Teilnahme auftreten könnten. Der Proband wurde auf sein Recht hingewiesen, dass er auch ohne Nennung von Gründen von der Teilnahme an der Studie zurücktreten kann. Ebenfalls wurde darüber aufgeklärt, dass jeder an der Studie Beteiligte eine Verschwiegenheitspflicht unterliegt. Alle erhobenen Daten werden erst nach der Anonymisierung verarbeitet. Ein Einverständnis zur Teilnahme an der Studie wurde erst dann eingeholt, nachdem der Proband über alle Risiken aufgeklärt worden ist und keine weiteren Fragen seinerseits bestanden.

(2) Anamnese

Der nächste Schritt war eine genaue Erhebung der Anamnese um mögliche kardiovaskuläre Risikofaktoren, Atemwegserkrankungen, sowie eine mögliche Medikation zu identifizieren. Dies war entscheidend, um vor Beginn der Studie herauszufinden, ob der Proband aus gesundheitlichen Gründen ausgeschlossen werden müsste.

Bei Nikotinkonsumenten wurde eine ausführliche Raucheranamnese durchgeführt, welche folgende Kriterien umfasste:

- a) Bestehen noch andere Nikotinkonsumarten (Nasensprays, transdermale Pflaster oder E- Zigaretten).
- b) Wie hoch ist der aktuelle tägliche Konsum von Zigaretten und über welchen Zeitraum wird oder wurde konsumiert.
- c) Anhand einer Formel kann man berechnen (durchschnittliche Zahl des tgl. Konsums; Zeitraum des Konsums) wie hoch die sogenannten Packyears (Py) sind. Aufgrund der uneinheitlichen Packungsgrößen wird in der Regel mit 20 Stück Zigaretten pro Packung gerechnet.

$$\text{Py} = (\text{Pro Tag gerauchte Zigarettenpackungen}) \times (\text{Raucherjahre})$$

(3) Körperliche Untersuchung

Jeder Patient wurde anschließend einer körperlichen Untersuchung unterzogen, welche die Inspektion, Auskultation, Perkussion und Palpation des Thorax und des Abdomens umfassten.

(4) Kalibrierung der SOMNOWatch™

Das Gerät wird mit dem PC verbunden und mittels der Software-Domino light von Somnomedics GmbH kalibriert, indem die probandenbezogenen Daten (Größe, Gewicht, Geschlecht und Geburtsdatum) eingegeben werden.

(5) Anlegen der SOMNOWatch™

Nun wird dem Probanden das 3- Kanal- EKG angelegt. Hierbei werden die Ableitungen nach Eindhoven abgeleitet. Zwei Elektroden werden cranial (unterhalb der Clavicula beidseits) und caudal links (medial der Spina iliaca anterior superior) angelegt. Anschließend wird der Fingerplethmograph am linken Zeigefinger und zusätzlich mit einem Klebestreifen fixiert (ohne zusätzlichen Druck) um eine Fehlmessung zu verhindern. Dann wird beim sitzenden Probanden zur weiteren Kalibrierung, in Ruhe, eine elektronische Blutdruckmessung am linken Oberarm durchgeführt. Per Knopfdruck am Messgerät wird dann eine Markierung in der Zeitachse fixiert.



Abbildung 18: Proband mit SOMNOwatch™ und EKG-Elektroden.

(6) Flow- mediated-dilation (FMD), Low- flow- constriction (FMC) und Laser Doppler (vor der Intervention)

In einem gleichmäßig temperierten (ca. 22°-25° C), verdunkelten Raum der Unimedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Abteilung für Endothelfunktion, Zentrum für Kardiologie- Kardiologie 1, wird der Proband auf eine Untersuchungsliege gelegt. Der linke Arm wird nun in 90° abduzierter Haltung auf ein Vakuumkissen gelegt. Um für die Dauer der Untersuchung eine möglichst angenehme Position für den Probanden zu gewährleisten, wird die elektrisch verstellbare Liege auf die gewünschte Höhe eingestellt.

Bei der Positionssuche wird vor allem darauf geachtet, dass der abduzierte Arm nicht auf einer Kante aufliegt und die dadurch verursachte Impression eine Fehlmessung hervorruft. Zur weiteren Durchführung der Untersuchung, ist es enorm wichtig, dass der Proband weder spricht noch eine anderweitige Bewegung durchführt. Ist dies gewährleistet, wird dem Vakuum-Kissen mit Hilfe einer Handpumpe die Luft entzogen, um somit eine möglichst stabile und fixierte Position zu erhalten.

(7) Anlage der Laserdoppler- Elektrode

Am linken Thenar wird nun der Detektor des Laserdoppler aufgelegt und mit einem Leukosilkstreifen fixiert. Als nächstes wird dem Probanden ca. 2 cm proximal des

Epicondylus humeri medialis die Blutdruckmanschette angelegt. Aufsuchen der Arteria brachialis mit Hilfe des Ultraschallgerätes.

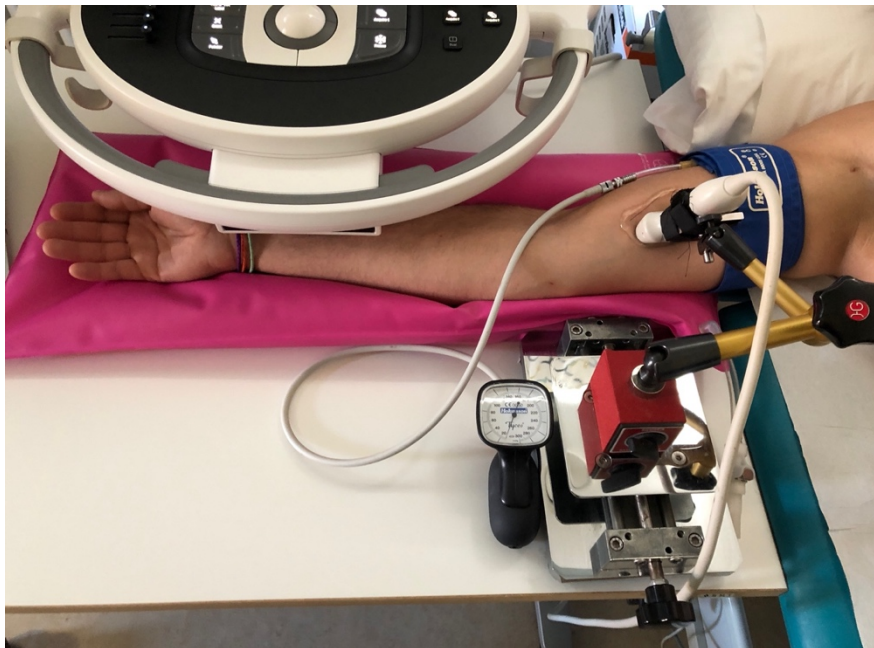


Abbildung 19: Proband auf der Versuchsliege bei der Messdurchführung der FMD.

In dem oben dargestellten Versuchsaufbau wird allerdings auf Grund einer Raumumgestaltung der rechte Arm ausgelagert. Zum Versuchszeitpunkt waren die räumlichen Gegebenheiten wie im nachfolgenden Text beschrieben aufgebaut.

Die Endothelfunktionsmessung wird nun bei der liegenden Person in einem gleichtemperierten Raum sonographisch unterstützt. Der Proband nimmt auf der höhenverstellbaren Liege eine bequeme Position ein. Der linke Arm wird auf dem Vakuum- Kissen abgelegt und unter Erzeugung eines Vakuums im Kissen fixiert. Als nächstes erfolgt das Aufsuchen der Arteria brachialis mit dem Ultraschallgerät, welches anschließend in einem Haltearm arretiert wird. Dies ist wichtig, um Bewegungsartefakte zu verhindern. Mit Hilfe des Ultraschallgerätes wird ein Abschnitt der Arteria brachialis aufgesucht, der eine korrekte Identifizierung der Gefäßwände und die Differenzierung der Tunica media und Tunica intima zulässt.

Für die Kontrollmessung ist es enorm wichtig einen Abschnitt der Gefäßwand zu finden, welcher zu re-identifizieren ist. Dies wäre beispielsweise die Bifurkation in der Nähe des Messpunktes. Mit Hilfe der Cardiovascular suite Software kann durch das Ultraschall erzeugte und übertragene Bild auf dem PC dargestellt und ausgewertet werden. Die sogenannte M-Linie ist dabei ein entscheidender Faktor. Sie stellt die

Grenze zwischen der Tunica media und Tunica adventitia der schallkopfnahen und schallkopffernen Wand dar (158).

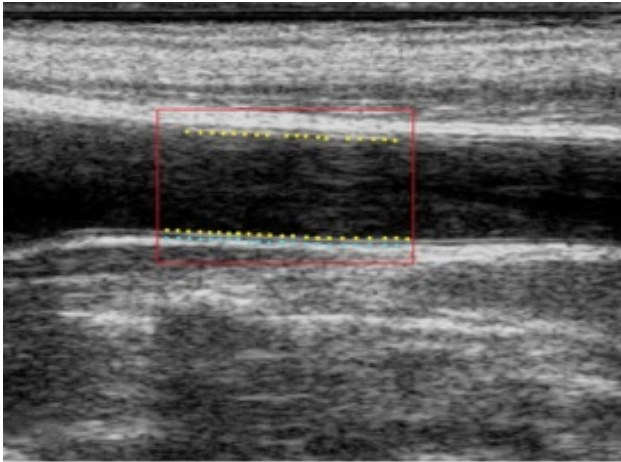


Abbildung 20: Darstellung eines Gefäßabschnittes mittels Sonographie (154).

Die Abbildung 20 zeigt ein Ultraschallbild einen Gefäßabschnitt einer Arterie als Beispiel. Mit Hilfe der Cardiovascular suite Software kann nun ein Bereich der Gefäßwand vom Untersucher festgelegt werden, der für die Messung geeignet ist (rote durchgezogene Linie = Region Of Interest = ROI). Mit Hilfe der Software werden nun durch die gepunkteten Linien das Endothel erkannt und dargestellt. Der Untersucher kann somit die korrekte Lage bestimmen und korrigieren.



Abbildung 21: Versuchsaufbau FMD- Messung.

Man erkennt zur Darstellung der Arteria brachialis sinistra (in der Abbildung ist es die A. brachialis dextra) den Linearschallkopf auf dem linken Oberarm des Probanden aufliegen. Zeitgleich erfolgt am linken Thenar die dermale Messung der Mikrozirkulation durch den Laserdoppler, da die Messung eine fünfminütige Okklusion der Arteria brachialis sinistra vorsehen. (Laserdoppler lag während der Fotoaufnahmen leider nicht mehr vor). Die Untersuchung erfolgte in einem gleichmäßig temperierten Raum der Unimedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Abteilung für Endothelfunktion, Zentrum für Kardiologie- Kardiologie 1.

Mit Hilfe des Linearschallkopfes wird nun in der Arteria brachialis sinistra ein geeignetes Schallfenster des Gefäßes dargestellt, um die Messung durchführen zu können. Diese wird dann mit einem roten Rahmen eingegrenzt. Durch die Software wird nun eine gepunktete Linie für den Untersucher hervorgehoben, damit das Endothel ermittelt werden kann. Somit kann der Untersucher das Endothel beurteilen und ggf. noch korrigieren.

Die Darstellung der Arteria brachialis wurde durch eine erfahrene Mitarbeiterin von der Kardiologie I der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt. Sie arbeitet bereits seit 2011 als Studynurse und führt jährlich ca. 250 sonographische Darstellungen der Arteria brachialis durch. Sie besitzt dadurch einen hohen Erfahrungswert und hohe Fertigkeiten mit der sonographischen Durchführung. Anschließend wird der Ultraschallkopf in einer Halterung fixiert, um mögliche Bewegungsartefakte zu vermeiden.

(8) Verwendung der Blutdruckmanschette

Mit Hilfe der Cardiovascular suite Software wird nun der Beginn der Messung auf dem Sonographiebild markiert. Nach 60 Sekunden ertönt ein Signalton, der den Untersucher daran erinnert die Blutdruckmanschette aufzupumpen. Die Manschette wird 50 mmHg über den systolischen Druck (jedoch mindestens auf 200 mmHg) aufgepumpt, damit der periphere Blutfluss sistiert.

(9) Reaktive Hyperämie nach der Okklusion

Um die Messung genau nach fünfminütiger Okklusion zu beenden, erfolgt kurz davor ein erneuter Signalton zur Erinnerung. Die Blutdruckmanschette wird nun rasch entlüftet. Dadurch entsteht eine plötzliche Reperfusion distal der Blutdruckmanschette. Anschließend wird erneut eine Markierung am Ende der Messung gesetzt.

(10) Messung der Postokklusionshyperämie

Während der Proband weiterhin ruhig daliegt, wird die Messung mit dem Laserdoppler weitergeführt, und die Arteria brachialis sinistra dargestellt.

(11) Venenverweilkanüle und Blutentnahme

Als nächster Schritt erfolgt das Legen einer Venenverweilkanüle am rechten Arm für die Blutentnahmen vor, während und nach dem Rauchen.

(12) Vorbereitung der Shisha

Gleichzeitig erfolgt die Erhitzung der Kohle auf einer Herdplatte mit Hilfe eines Gebläses (Hookah Pump) für 15 Sekunden, damit die Kohle gleichmäßig von allen Seiten durchglühen kann. Anschließend wird die durchgeglühte Kohle auf den vorbereiteten Shishakopf gelegt.



Abbildung 22: Für die Studie verwendete Shisha.

Der Shisha Aufbau war bei jedem Probanden gleich. Der Tabak wurde vorher genaustens abgewogen (16 Gramm +/- 0,5 g). Der Tabak wurde nicht angepresst und wurde mit Alufolie bedeckt, die mit Löchern versehen war. Die Befüllung der Shisha erfolgte mit 1,4 Liter Leitungswasser (bis zur schwarzen Markierung).

(13) Erste Blutentnahme

Nun erfolgt aus dem intravenösen Zugang die erste Blutentnahme (2x Lithium-Heparin; 1x Differentialblutbild; 3 x Serum, 1 x Blutbild und 3 x Citrat- Röhrchen, insgesamt 30 ml). Ein Teil der Blutproben wurden in das Zentrallabor der Unimedizin der Johannes-Gutenberg-Universität gebracht und der andere Teil wird vor Ort im Studienzentrum verarbeitet.

(14) Anleitung zum Rauchen

Dem Probanden wird nun erläutert, wie der Rauchvorgang erfolgen soll. Dazu soll er alle 45 Sekunden einen möglichst tiefen Zug über das Mundstück nehmen und dies

über einen Zeitraum von 30 Minuten. Mit Hilfe einer Intervalltimer-App wurde der Proband alle 45 Sekunden mit einem Signalton erinnert zu inhalieren. Zusätzlich wurde ein Kopf auf der SOMNOwatch™ gedrückt, damit ein Marker gesetzt wird, um bei der anschließenden Softwareanalyse auf der Zeitachse den Startpunkt und das Ende der Messung definieren zu können. Nach den ersten 15 Minuten, erfolgte die zweite Blutentnahme (Citrat-Röhrchen) bei dem Probanden.

(15) Blutentnahme und erneute FMD-Messung

Nach der Beendigung des Rauchens, wurde der Proband wieder in das Untersuchungszimmer geführt. Hier erfolgte die dritte Blutentnahme. Anschließend wurde die FMD- Messung und die Laserdopplermessung gemäß dem Punkt (5) bis (10) wiederholt.

(16) Entfernung des Messinstrumentes

Während der erneuten Messung, wurde bereits die Shisha abgebaut. Nach der Messung erfolgte die letzte venöse Blutentnahme (1 x Lithium- Heparin; 1x Differentialblutbild; 2 x Serum, 1 x Blutbild und 2 x Citrat- Röhrchen). Danach wurde der intravenöse Zugang, sowie das Messinstrument (SOMNOwatch™) entfernt. Der Proband wurde nach Abschluss des Messvorgangs noch einmal nach seinem subjektiven Empfinden und möglichen unerwünschten Nebenwirkungen befragt. Diese werden dann dokumentiert.

(17) Zentrifugation und Probenvorbereitung

In einem separaten Raum im Gebäude 503 3. OG der Unimedizin Mainz, wird nach Beendigung der Messung die letzten Serum-Röhrchen in eine Zentrifuge gestellt, um die festen Blutbestandteile vom Blutplasma zu trennen. Der Überstand wird mit Hilfe eine Eppendorf Pipette entnommen und in kleine Eppendorf Gefäße um pipettiert. Diese werden mit der Probandennummer versehen, damit diese für die weitere Untersuchung richtig gekennzeichnet sind. Anschließend werden die Proben in einem Kühlschrank mit einer Temperatur von -80° Celsius gelagert.

3.7 Analyse mit Hilfe von EDV-Software

Um nun die generierten Daten der Probanden auswerten zu können, wurden spezielle EDV- Systeme zur Gefäßfunktionsdiagnostik verwendet, die in den folgenden Unterkapiteln weiter erklärt werden.

3.7.1 Cardiovascular suite

Die Cardiovascular suite Software ist eine nicht- invasive Frühmethode zu Erfassung von Markern, die ein kardiovaskuläres Risiko darstellen (159,160). Die sonographisch erzeugten Bilder werden in Echtzeit an den PC weitergeleitet und dargestellt. Mit Hilfe der Software lassen sich somit Ergebnisse entfernen, die als "Ausreißer" gelten. Dies kann z. B. der Fall sein, wenn sich der Patient in einem kurzen Zeitintervall bewegt hat und die Arteria brachialis nicht korrekt angezeigt wurde. Auch nach der Messung können diese noch korrigiert werden, um somit ein optimales Ergebnis zu erzielen.

Das Analysefenster unterteilt sich in vier Bereiche:

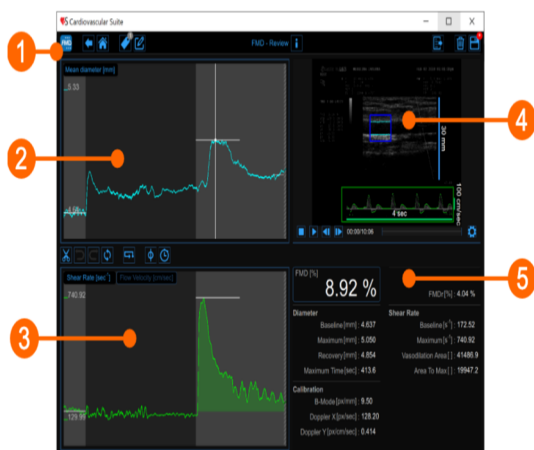


Abbildung 23: Versuchsfenster der Cardiovascular Suite (161).

Die Schaltfläche (1) FMD-Studio zeigt ein Panel mit einigen Informationen über die Cardiovascular Suite und über die aktuelle Studie. In Bezug auf die Studie wird die Studien-ID zusammen mit Informationen über den Patienten und das Institut angezeigt.

Im linken oberen Fenster (2), wird in die drei Bereiche Basal-, Ischämie- und Postokklusions-/Vasodilatationszeit unterteilt.

Im unteren linken Fenster (3) werden die Scherkräfte der aktuellen Position des gemessenen Gefäßabschnittes graphisch dargestellt. Der Bereich, der im oberen rechten Fenster (4) abgebildet ist, zeigt die exakt eingestellte ROI mit der M- Linie (gestrichelte Linie), welche während der gesamten Untersuchung korrekt von der Software erkannt wird. Im rechten unteren Bild (5) werden dann die erfassten Ergebnisse angezeigt.

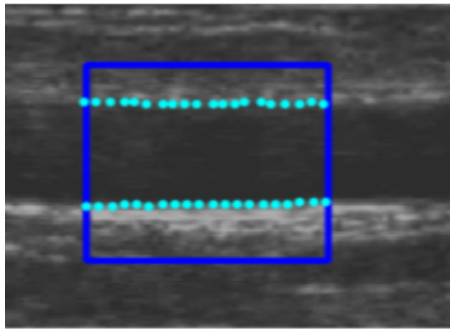


Abbildung 24: Endothelgrenzen mit der gestrichelten M- Linien (161).

Die Endothelgrenzen werden computergestützt erfasst, können jedoch durch den Untersucher noch korrigiert werden.

In den beiden linken Fenstern der Abbildung 23, können 3 unterschiedliche Bereiche der FMD- Messung unterteilt werden.

- Phase I: (0- 60 s) Ruhephase
- Phase II: (60- 360 s) Okklusionsphase/ Ischämiephase
- Phase III: (360- 420 s) Post- Okklusionsphase, reaktive Vasodilatation

In dem linken oberen Fenster der Abbildung 23 wird in der Phase I, durch die horizontal verlaufende Linie, der Gefäßdurchmesser eingestellt. Nach 60 Sekunden in der Phase III wird der maximale Peak ebenfalls mit einer horizontalen weißen Linie markiert und somit als maximaler Gefäßdurchmesser definiert.

Im unteren linken Fenster werden die Scherkräfte gemessen. Die Baseline wird mit einer weißen horizontalen Linie in der Phase I definiert. In der Phase III (Postokklusionsphase) wird die maximal gemessene Scherkraft ebenfalls mit einer weißen horizontalen Linie markiert. Im rechten unteren Fenster (5) werden die Messwerte in der nachfolgenden Tabelle (3) angezeigt.

D Baseline [mm]	Gefäßdurchmesser während der Ruhephase (Phase I) in mm
D Maximum [mm]	Maximaler Gefäßdurchmesser während der Vasodilatation (Phase II)
D Recovery [mm]	Gefäßdurchmesser am Ende der Untersuchung während der Erholung
SR Baseline [s^{-1}]	Scherkräfte während der Ruhephase
SR Maximum [s^{-1}]	Maximum der gemessenen Scherkräfte

Tabelle 3: Erklärung der Messparameter der Endothelfunktion.

Aus den gemessenen Werten können zusätzliche Werte ermittelt werden, die in der folgenden Tabelle (4) erläutert werden.

FMD [%]	Flussvermittelte Dilatation
FMDr [%]	Flussvermittelte Dilatation in Relation zum Durchmesser während der Erholungsphase
SR area [dimensionslos]	Area under curve (AUC), Integral der ermittelten Scherkräfte.
SR area to max [dimensionslos]	Area under curve (AUC), Integral der ermittelten Scherkräfte. Berechnet ab dem Ende der Ischämiephase des zur max. Dilatation in Bezug auf die Baseline der Scherkräfte
CAL [pixel/mm]	Kalibrierungsfaktor

Tabelle 4: Ermittelte Werte der Cardiovascular Suite.

Berechnung der FMD:

$$\text{FMD} = \frac{\text{Maximum Baseline} - \text{Diameter Baseline}}{\text{Diameter Baseline}}$$

Um die Scherkräfte berechnen zu können, nutzt das System die Doppelflusskurve.

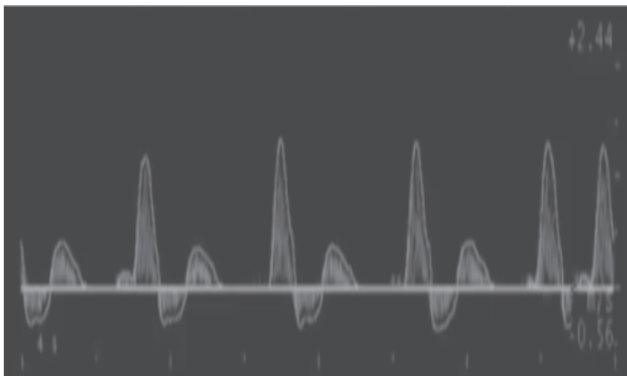


Abbildung 25: Graphische Darstellung der Doppelflusskurve (161).

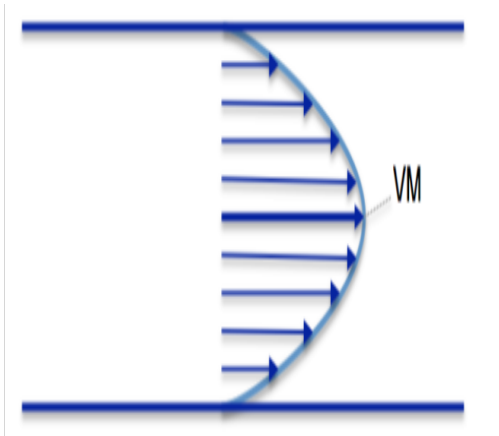


Abbildung 26: Bildliche Darstellung der Scherkraft in einem Gefäß (159).

Um die Scherkräfte genau zu berechnen, werden zur Ermittlung die maximale Flussgeschwindigkeit (V), sowie der Gefäßdurchmesser (d) verwendet. Mit diesen Parametern kann die Scherrate (SR) wie folgt berechnet werden.

$$\text{Shear Rate } SR: \frac{4 \times V}{d}$$

Um die genaue Flussgeschwindigkeit exakt bestimmen zu können, werden aus den positiven, wie auch den negativen Werten, welche aus der ROI errechnet werden, der Mittelwert ermittelt, welcher die Flussgeschwindigkeit darstellt.

VTAP: Zeitlicher Mittelwert der positiven Werte von V .

VTAN: Zeitlicher Mittelwert der negativen Werte von V .

SRTAP: Zeitlicher Mittelwert positive Wandschwingungsrate.

SRTAN: Zeitlicher Mittelwert negativen Wandschwingungsrate.

3.7.2 Perisoft für Windows

Mit Hilfe dieser Software können die durch den Laserdoppler erzeugten Messwerte graphisch, sowie tabellarisch dargestellt werden. Zur Analyse der Messwerte, wurden zwei Methoden verwendet.

1. Die Analyse der Postokklusionshyperämie
2. Die Frequenzanalysen der ermittelten Oszillationen

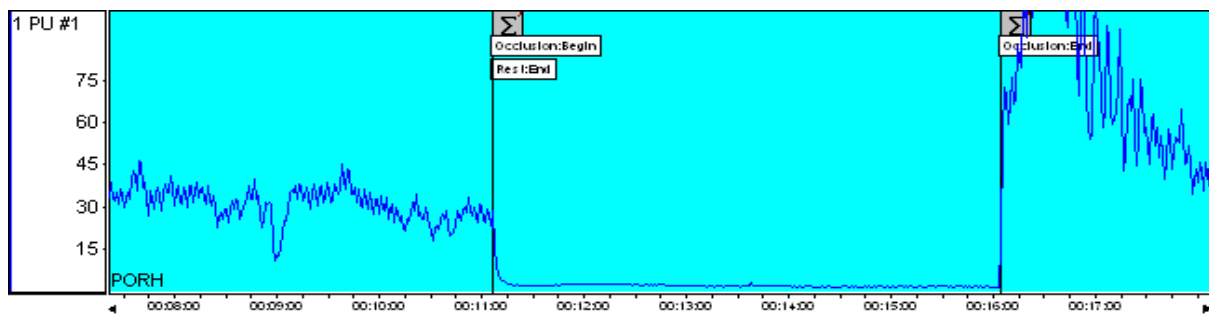


Abbildung 27: Analysefenster einer Laserdoppler- Messung und Auswertung mit der Perisoft für Windows.

Auf der oben gezeigten Grafik kann man auf der Abszisse die relative Flussgeschwindigkeit erkennen. Auf der Ordinate wird die Flussmenge dargestellt. Bei der Beurteilung der Durchblutung, handelt es sich nicht um absolute Werte, sondern lediglich um eine dimensionslose Einheit (perfusion unit, PU).

Die Abbildung 27 zeigt eine Veranschaulichung einer Messung eines Probanden, bei dem keine äußeren Einflüsse einwirken. Hier kann man erkennen, dass nach ca. 10 Minuten ein starker Abfall der Durchblutung stattfindet, die durch die pneumatische Okklusion der Blutdruckmanschette entsteht. Nach dem Messintervall von 5 Minuten wird die Okklusion beendet, sodass man wieder einen starken Anstieg der Durchblutung erkennen kann. Mit speziellen Markern („Okklusion Beginn“ und „Okklusion Ende“), kann nun der Beginn und das Ende der Ischämiephase genau definiert werden.

3.7.3 PORH (Post occlusion reaction hyperaemia)

Um die gewonnenen Daten nun auswerten zu können, wird die Funktion „Report Wizard“ benötigt. Es muss die PORH-Funktion ausgewählt werden, sodass die gewonnenen Daten nun automatisch generiert und ausgewertet werden. Die weiteren möglichen Optionen werden nachstehend erläutert.

Biological zero (BZ):

Ist das Ruhesignal, welches ohne Blutfluss registriert werden kann. Erklärbar ist dies durch die Braun`sche Molekularbewegung.

Area of occlusion (AO):

Ist das Integral zwischen dem Ruhesignal und dem durchschnittlichen Ruhefluss in der ischämischen Phase.

Rest Flow (RF):

Ohne Einfluss messbarer Ruhefluss.

Hyperaemia area (AH):

Ermittelt wird das Integral der hyperämischen Fläche (AH, area of hyperaemia). Fläche über dem durchschnittlichen Ruhefluss.

Peak Flow (PF):

In der hyperämischen Phase.

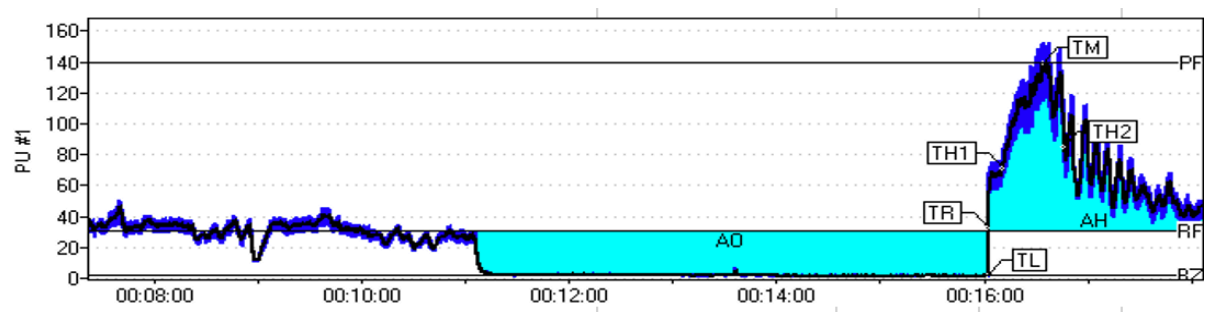


Abbildung 28: Graphischer Zusammenfassung der PORH- Analyse.

BZ: Biological zero; AO: Area of occlusion; AH: Hyperaemia area; RF: Rest Flow; PF: Peak Flow; TH1: Time to half hyperaemia; TH2: Time to half after hyperaemia; TM: Time to maximum; TR: time to recovery; TL: Time to latency.

Die graphische Darstellung der Abbildung 28, zeigt eine Messung vor dem Shisha-Rauchen. Initial findet eine ca. 11-minütige wellenförmige Signalmessung statt, woraus der Ruhefluss berechnet wird. Diesem Messsignal schließt sich auf Grund der Okklusion eine 5-minütige Ruhephase an. Erkennbar ist, dass durch die Braun'sche Molekularbewegung kein absoluter Ruhefluss zu messen ist. Mit Beendigung der Okklusion, kommt es durch die Reperfusion zum Wechsel in die Hyperämische Phase, der sich die Ruhefluss Phase anschließt.

3.7.4 Frequenzanalyse der Oszillationen

Gleichzeitige Messungen mit dem Laserdoppler ermöglichen uns, periphere Schwingungen, welche unterschiedliche Frequenzen aufweisen, in den unterschiedlichen Organsystemen zu erfassen und diese mit Hilfe der Fourier Transformation zu analysieren. Vorab wurden die Frequenzbereiche definiert.

- 0,01- 0,02 Hz
- 0,02- 0,05 Hz
- 0,05- 0,15 Hz
- 0,15- 0,60 Hz
- 0,60- 2,00 Hz

Zu weiteren Analyse wurden jeweils die höchsten Amplituden der Frequenzbereiche verwendet.

3.7.5 DOMINO light®

Die Daten aus dem Holter- EKG und dem Fingerplethysmographen konnten von der der SOMNOWatch™ mit der Hilfe der DOMINO light® Software ausgelesen und ausgewertet werden. Im Anhang dieser Arbeit findet sich eine exemplarische Darstellung eines Probanden.

3.7.6 Sympathovagale Balance (SVB)

Mit Hilfe der SOMNOwatch™, kann durch die DOMINO light© Software die gemessenen Werte vollautomatisch berechnet werden. Hierzu werden die R- R Abstände des EKG verwendet. Da eine gewisse Variabilität der R-R- Abstände vorhanden ist, werden diese in hochfrequente und niederfrequente Herzfrequenzvariabilitäten unterschieden. Darüber hinaus muss man wissen, dass die hochfrequenten parasymphatisch und die niederfrequenten sympathisch zu geordnet werden müssen (162). Mit Hilfe dem Quotienten, ermittelt nun die Software die sympathovagale Balance.

$$SVB = \frac{LF (low frequencys)}{HF (high frequencys)} \times 10$$

3.7.7 Messung der Pulswellenlaufzeit (pulse transit time, PTT)

Um automatisch die Daten errechnen zu lassen, werden aus dem EKG- Modul, sowie aus dem Fingerplethysmographen der SOMNOwatch™, die Zeit, der zwischen der im EKG aufgezeichneten R-Zacke und der folgenden plethysmographisch erfassten Pulswelle verwendet. Zur exakten Bestimmung der Werte, werden zudem die genau Körpergröße, sowie das Gewicht benötigt, um mit Hilfe der nachfolgenden Formel die Pulswellengeschwindigkeit zu errechnen (163).

$$PWG = \frac{BDCX \times Gr\ddot{o}\ddot{z}e}{PTT}$$

PWG = Pulswellengeschwindigkeit [cm/ ms]

BDC = Körperkorrelationsfaktor, entspricht bei der Messung am Zeigefinger bei einem Erwachsenen 0,5.

Größe= Körpergröße in cm

PTT = Pulse transit time (oben erläutert)

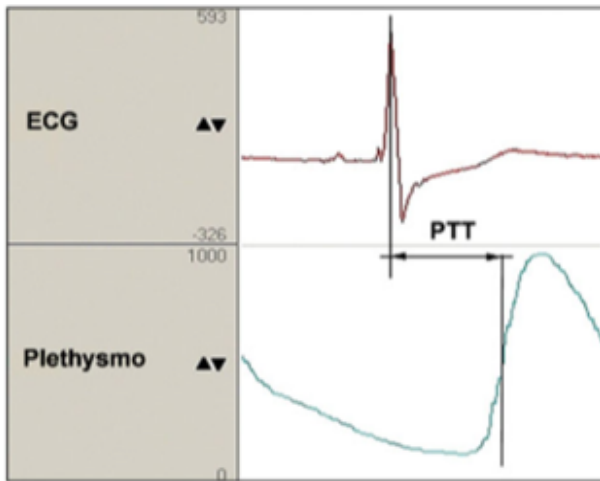


Abbildung 29: Graphische Darstellung einer PTT- Messung (163).

In der Abbildung 29 zeigt sich in der oberen Bildhälfte eine EKG-Aufzeichnung mit einem QRS- Komplex in der Bildmitte. In der unteren Hälfte befindet sich die gleichzeitige Aufzeichnung der Pulswellen mit Hilfe des Fingerplethysmographen. Beide Kurven verlaufen in einer gemeinsamen Zeitachse. Dadurch kann der horizontale Abstand zwischen der R-Zacke und dem Ankommen der Pulswelle als Pulswellenlaufzeit ermittelt werden.

3.8 Eingesetzte Materialien

3.8.1 Hardware

Blutdruckmessgerät:

boso medicus uno
BOSCH + SOHN GmbH und Co. KG
Bahnhofstrasse 64 Oszillationen
72417 Jungingen
www.boso.de

Blutentnahme Röhrchen:

Sarstaedt S-Monovetten

Laser-Doppler:

Perimed Periflux System 5000
Mit Zusatzmodul PF 5010 LDPM Unit
Perimed AB
Datavägen 9 A
17543 Järfälla (Schweden)
Phone: + 46 8 580 100 90
mail@perimed-instruments.com
<https://www.perimed-instruments.de>

Mehrkanalrekorder:

SOMNOwatch™
SOMNOmedics GmbH
Am Sonnenstuhl 63
D- 97236 Randersacker
<http://somnomedics.de>

Blutdruckmanschette:

SC5™ 6 x 23 cm
D.E. Hokanson, Inc.
12840 NE, 21st. Place Bellevue
WA 98005 USA
Phone: (425) 882 1689 oder (800)999 8251
Fax: (425) 881 1636
<https://hokansonvascular.com/products/cuffs>

Shisha-Tabak:

Hersteller: Start Now
Geschmack: Two Apple & Mint

Anrauch Luftpumpe:

Aladin Kotb
Aladin Hookah Pump
Netzspannung: 230 Volt
Nennleistung 150 Watt
Stromkabel: ca. 135 cm
Abmessungen: ca. 11 x 15 x10 cm
www.aladin-shishashop.de

Tonkopf:

Masta Terrakotta Tabakkopf
Kaya-shisha.de

Ultraschallgerät:

Vivid 7 dimension, General ElectricCo.
GE Healthcare GmbH
Beethovenstr. 239
42655 Solingen

Linearschallkopf:

GE Vivid M12L, Linearschallkopf 5.0- 14 MHz
GE Healthcare GmbH
Beethovenstr. 239
42655 Solingen

Untersuchungsliege:

Elektrisch höhenverstellbar Baujahr 09/200

Räumlichkeiten:

Die Räumlichkeiten für die Voruntersuchungen (Blutentnahmen, Anlage der SOMNOwatch™, durchführen der FMC/FMD), war ein gleichbleibend temperierter Raum im Bereich von 21° C bis 24° C auf dem Gelände der Universitätsmedizin Mainz. Inhalationen wurden auf einem Balkon durchgeführt. Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Gebäude 503 3.OG.
Langenbeckstraße 1, 5131 Mainz

3.8.2 Software

FMD- Messung: Cardiovascular Suite Ultrasound Edition Version
Quipu srl, via Moruzzi 1, 56124 Pisa, Italien

Laserdoppler- Software: Perisoft for Windows Version 2.0
(Auswertung) Perimed AB
Datavägen 9 A
17543 Järfälla (Schweden)
<https://www.perimed-instruments.com>

SOMNOwatch™-Software: Domino light Version 1.4.0
SOMNOmedics GmbH
Am Sonnenstuhl 63
D- 97236 Randersacker
www.somnomedics.com

Statistik: IBM SPSS Statistics Version 23.0.0.3
IBM
1 New Orchard Road
Armonk, Nex York 10504- 1722
United States

Intervall- Timer: Interval Timer- Tabata Timer
Shanghai Fengche Information Technologies
Shanghai, Shanghai, China

3.9 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung mit Hilfe der IBM Software IPSS Statistiscs Version 23.0.0.3, erfolgt vorab eine statische Beratung und ein Online- Kurs durch das Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik (IMBEI) der Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

3.9.1 Fallzahlplanung

Nach Cohen benötigt man mindestens 30 Probanden, um eine Effektstärke von 0,5 d mit einer Power von mindestens 82% zu einem Signifikanzniveau von 5% aufdecken zu können (164).

Folgende Annahmen wurde für die Berechnung als Grundlage verwendet:

- Zweiseitige T-Test für verbundene Stichproben wurde zur Analyse zu einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ verwendet.
- Durchschnittliche FMD von 8% in der untersuchten Population.
- Standardabweichung der FMD der Gesamtbevölkerung von 4%.

Unter der Betrachtung der oben aufgeführten Bedingungen, wird angenommen eine Differenz von 2% der FMD vor und nach dem Rauchen zu ermitteln. Die Fallzahlplanung erfolgte mit der Software G*Power Version 3.1.9.2 für Windows.

3.9.2 Statistische Test und Verfahren

Um die Hauptfragenstellung zu beantworten, wurde eine Nullhypothese und eine Alternativhypothese formuliert. Die Nullhypothese (H_0) soll beweisen, dass „das Rauchen einer Shisha keinen Einfluss“ auf die Flussvermittelte Dilatation (FMD) hat. Als Alternativhypothese wurde formuliert, dass „das Rauchen einen Einfluss“ auf die Flussvermittelte Dilatation hat.

Der T-Test für gepaarte Messungen wurde eingesetzt, um die Mittelwertgleichheit zweier Messungen zu beschreiben. Bei Datensätze, die eine schiefe Verteilung

aufwiesen, wurde der natürliche Logarithmus der einzelnen Messwerte gebildet, um diese den statistischen Test zugänglich zu machen. Somit können die neuen Daten einer Normalverteilung angenähert werden.

Im Rahmen der Shisha- Acute Studie, konnten neben der Haufragestellung noch weitere Nebenfragestellungen beantwortet werden.

- SOMNOwatch (Herzfrequenz; Blutdruck, SVB)
- Laserdoppler (Oszillationsfrequenzen und Post occlusive hyperaemia area)
- Subjektive Empfindungen/ Wirkungen (Kopfschmerzen, Reizung der oberen Atemwege, Übelkeit/ Erbrechen und Hypersalivation)

4 Ergebnisse

4.1 Studienpopulation

Im Zeitraum 08.02.2016 bis zum 23.05.2016 wurden insgesamt 51 Probanden in die Shisha- Acute Studie eingeschlossen. Darunter haben sich 43 Nichtraucher und 8 Raucher befunden, die im Durchschnitt 10 Zigaretten geraucht hatten. Das Alter der Probanden lag zwischen 18 und 55 Jahren, durchschnittlich bei 26,9 Jahren. Die Studienpopulation setzt sich aus 24 weiblichen und 27 männlichen Probanden zusammen.

Auf Grund der nicht ausgeglichenen Populationsanteile, wurde ausschließlich die Gesamtpopulation betrachtet. Die Nichtraucher hatten nie zuvor geraucht. Bei den Rauchern rauchten zwei Probanden Shisha. Einer seit 2008 (1-2 Shishas/ Tag) und ein Proband seit 2010 unregelmäßig Shisha und 10 Zigaretten täglich. Die restlichen 6 Probanden rauchten Zigaretten. Zum Beginn der Studie, lagen bei den Probanden keine kardiorespiratorischen Erkrankungen vor.

4.1.1 Alter, Geschlecht und BMI der Studienpopulation

Parameter	Gesamt	Nichtraucher	Raucher
Gesamtzahl	51	43	8
Geschlecht	m: 27 w: 24	m: 22 w: 21	m: 5 w: 3
Alter [a]	26,29 (\pm 6,83)	26,40 (\pm 6,67)	25,75 (\pm 8,10)
BMI [kg/m ²]	23,6 (\pm 3,5)	23,6 (\pm 3,5)	23,8 (\pm 3,2)
Blutdruck systolisch [mmHg]	126,9 (\pm 14,2)	127,7 (\pm 15,2)	122,6 (\pm 5,6)
Blutdruck diastolisch [mmHg]	82,8 (\pm 11)	84,0 (\pm 11,3)	76,7 (\pm 6,2)
Herzfrequenz [bpm]	72,1 (\pm 12,4)	73,1 8 (\pm 13,0)	66,8 (\pm 7,5)

Tabelle 5: Übersicht der anthropologischen Daten Herzfrequenz und Blutdruck der Studienteilnehmer.

In der Tabelle werden die Parameter Geschlecht, Alter, BMI, Herzfrequenz, systolischer und diastolischer Blutdruck der Gesamtpopulation, der Raucher, sowie der Nichtraucher dargestellt. In den runden Klammern sind die Standardabweichungen angegeben.

Bei der Auswertung der Daten für Alter, dem systolischen und diastolischen Blutdruck, sowie der Herzfrequenz, zeigte sich keine Signifikanz in der Gesamtpopulation. Auch bei der rauchenden und nichtrauchenden Studienprobanden konnte keine Signifikanz festgestellt werden. In Bezug auf den Body- Mass- Index wurde für die deutsche Bevölkerung ein durchschnittlicher Wert von 26,5 kg/m² für Männer und 25,2 kg/m² für Frauen ermittelt (165). Die vorliegenden Ergebnisse des Body- Mass- Index zeigt, dass sich die Gesamtpopulation und die Subgruppen im Bereich des Normalgewichtes befinden.

Ergebnisse

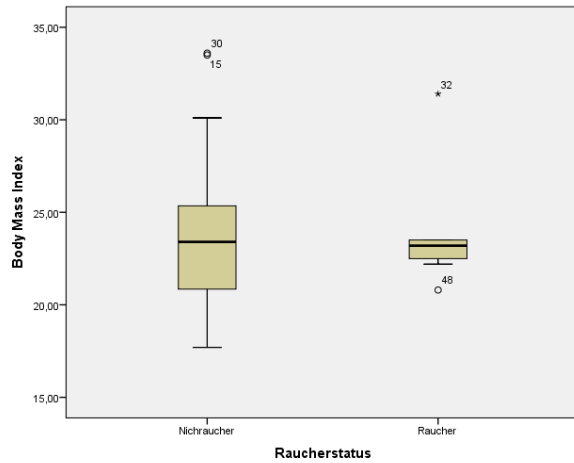


Abbildung 30: Body- Maß- Index im Vergleich zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.

Boxplot- Darstellung des BMI bei nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern. Bei Beiden Gruppen zeigen sich Ausreißer. Bei den Rauchern noch oben wie auch nach unten.

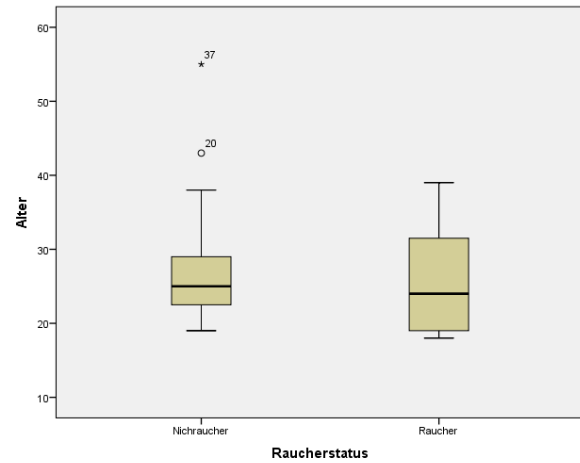


Abbildung 30: Alter im Vergleich zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.

Boxplot- Darstellung des Alters bei nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern. Bei den Nichtrauchenden zeigen sich zwei Ausreißer nach oben.

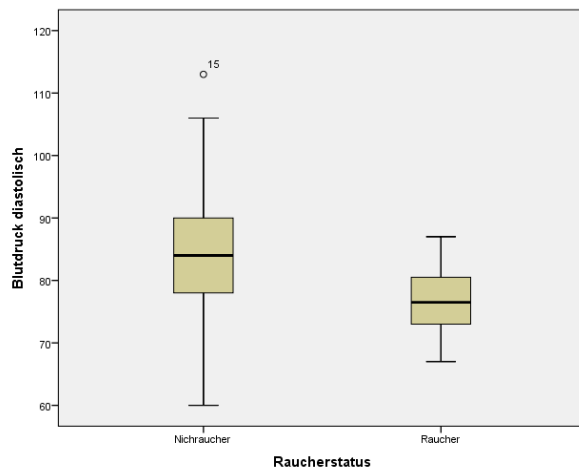


Abbildung 31: Systolischer Blutdruck im Vergleich zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.

Boxplot- Darstellung des systolischen Blutdruckes im Vergleich von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern. In der Gruppe der Nichtraucher zeigen sich zwei Ausreißer.

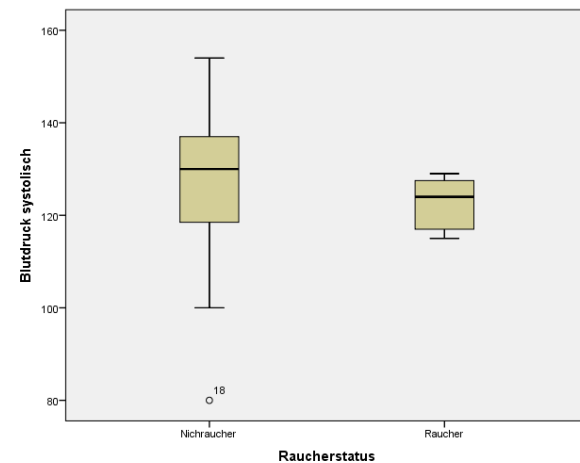


Abbildung 31: Diastolischer Blutdruck im Vergleich zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.

Boxplot- Darstellung des diastolischen Blutdruckes im Vergleich von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern. In der Gruppe der Nichtraucher zeigen sich ebenfalls zwei Ausreißer.

4.1.2 Laborparameter der Studienpopulation zu Versuchsbeginn

Laborergebnisse: Mittelwerte (Standardabweichung, SD)			
Parameter	Gesamt	Nichtraucher	Raucher
Erythrozyten [p/l]	4,51 (± 1,05)	4,58 (± 0,89)	4,17 (± 1,74)
Leukozyten [n/l]	5,28 (± 1,6)	5,19 (± 1,23)	5,75 (± 2,89)
Thrombozyten [n/l]	224,43 (± 77,70)	233,97 (± 69,03)	173,12 (± 104,73)
Hämatokrit [%]	39,74 (± 9,17)	40,20 (± 7,57)	37,32 (± 15,78)
Hämoglobin [g/dl]	13,3 (± 3,12)	13,46 (± 2,62)	12,40 (± 5,20)
Cholesterin [mg/dl]	174,10 (± 56,61)	176,86 (± 51,82)	159,25 (± 80,50)
LDL-Cholesterin [mg/dl]	101,71 (± 39,00)	102,00 (± 33,40)	100,13 (± 64,56)
Kreatinin [mg/dl]	0,78 (± 0,22)	0,79 (± 0,21)	0,72 (± 0,30)
TSH [mU/l]	1,47 (± 0,78)	1,54 (± 0,80)	1,09 (± 0,51)
INR	0,85 (± 0,32)	0,86 (± 0,32)	0,83 (± 0,34)
aPTT [Sek.]	25,56 (± 9,69)	25,40 (± 9,60)	26,43 (± 10,81)
Fibrinogen [mg/dl]	212,74 (± 91,80)	213,86 (± 91,85)	210,37 (± 97,80)
D-Dimere	0,23 (± 0,12)	0,24 (± 0,13)	0,20 (± 0,09)
CRP [mg/L]	1,57 (± 1,93)	1,64 (± 2,02)	1,18 (± 1,39)

Tabelle 6: Laborparameter der Studienteilnehmer.

In der oben gezeigten Tabelle werden die Laborparameter der Studienteilnehmer aufgeführt. In den runden Klammern sind die Standardabweichungen dargestellt. Die Blutentnahmen erfolgten nach der FMD-Messung und unmittelbar nach dem Shisha-Rauchen. TSH = Thyreoides stimulierendes Hormon; INR= International Ratio; aPTT= activated Partial Thromboplastin Time (aktivierte Thromboplastinzeit)

Um eine nähere Betrachtung der Laborparameter zu erhalten, die im Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen bei Rauchern und Nichtrauchern stehen, wurden ungepaarte T-Tests durchgeführt. Weitere hämatologische Parameter, welche nicht im direkten Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen stehen, wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht berücksichtigt und nicht mit statistischen Tests verglichen.

Ergebnisse

Laborergebnisse: Mittelwerte (Standardabweichung, SD)				
Parameter	Gesamtpopulation	Raucher	Nichtraucher	Signifikanz der Stichprobengleichheit des T-Test für ungepaarte Stichproben
Gesamtcholesterin	174,10 (\pm 56,61)	159,25 (\pm 80,50)	176,86 (\pm 51,82)	0.001
LDL-Cholesterin	101,71 (\pm 39,00)	100,13 (\pm 64,56)	102,00 (\pm 33,40)	0.001
CRP	1,57 (\pm 1,93)	1,18 (\pm 1,39)	1,64 (\pm 2,02)	0.001

Tabelle 7: Ungepaarte T-Tests für die Laborwerte, die mit kardiovaskulärer Gesundheit einhergehen.

Die Venenpunktion und die Entnahme der oben genannten Parameter wurden unmittelbar vor dem Shisha-Rauchen entnommen. Initial wurde mit Hilfe des Levene- Tests die Varianzgleichheit getestet. Alle dargestellten Parameter erfüllten die Voraussetzung einer gegebenen Varianzgleichheit.

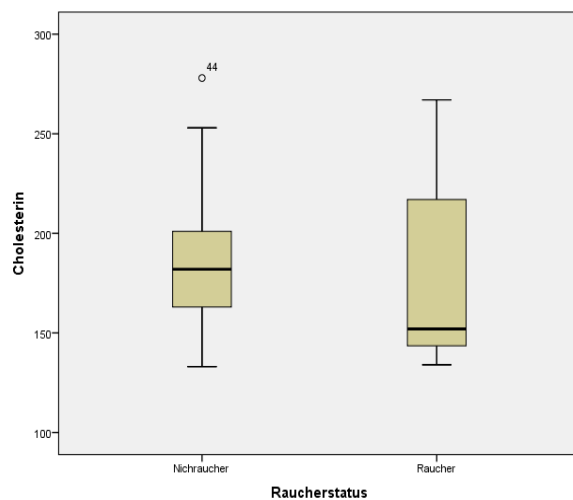


Abbildung 32: Gesamtcholesterin im Serum im Vergleich zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.

Boxplot- Darstellung des Gesamtcholesterin im Serum von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern. Der Median liegt bei Rauchern unterhalb der Nichtraucher.

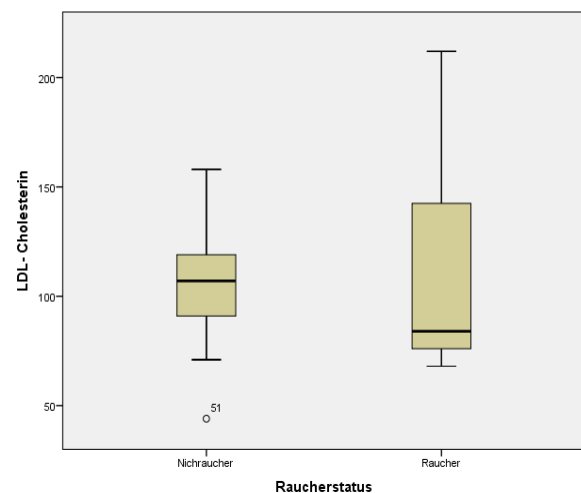


Abbildung 33: LDL-Cholesterin im Serum im Vergleich zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.

Boxplot- Darstellung des LDL- Cholesterins im Serum von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern. Der Median liegt bei Rauchern unterhalb der Nichtraucher.

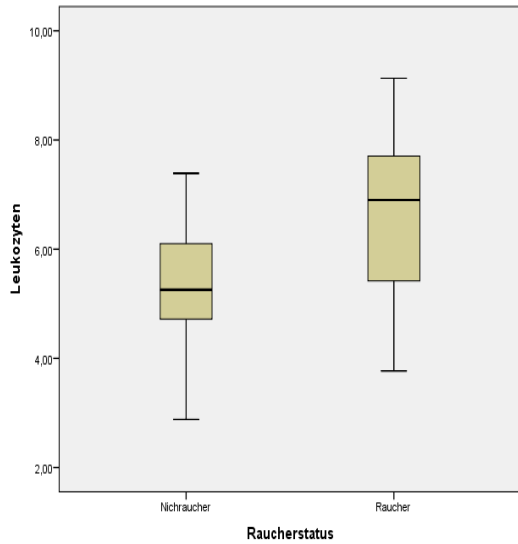


Abbildung 34: Leukozytenzahl im EDTA- Blut im Vergleich von nichtrauchenden und rauchenden Probanden.

Boxplot- Darstellung der Leukozytenzahl von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmer. Die erhobenen Werte verbleiben im Normwertbereich (4-10 Leukozyten/ μ l).

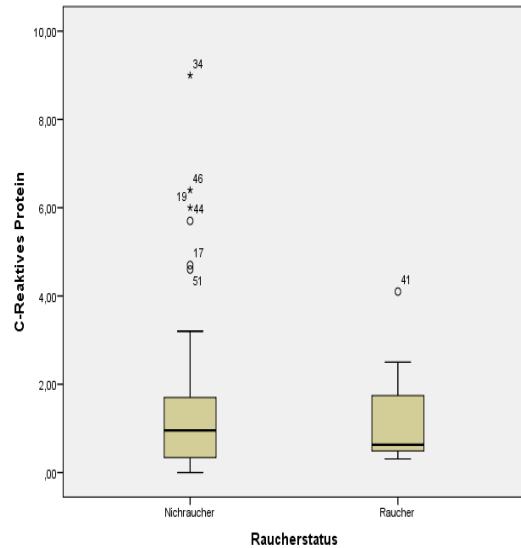


Abbildung 35: CRP- Konzentration im Blutplasma zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden

Boxplot- Darstellung der CRP- Konzentration von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmer. Im Vergleich erkennt man deutlich mehr Ausreißer bei den Nichtrauchern zu den Rauchern. Allerdings bei deutlich geringer Raucheranzahl.

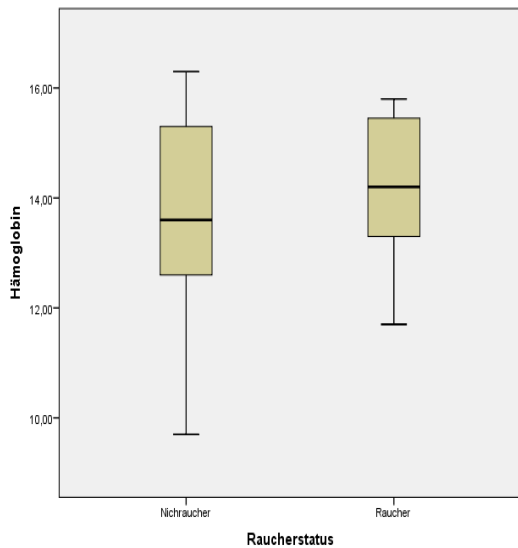


Abbildung 36: Hämoglobinwert im Vergleich zu nichtrauchenden und rauchenden Probanden.

Boxplot- Darstellung der Hämoglobinkonzentrationen von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmer. Hier zeigen sich diskret erhöhte Konzentrationen bei den Nichtrauchern.

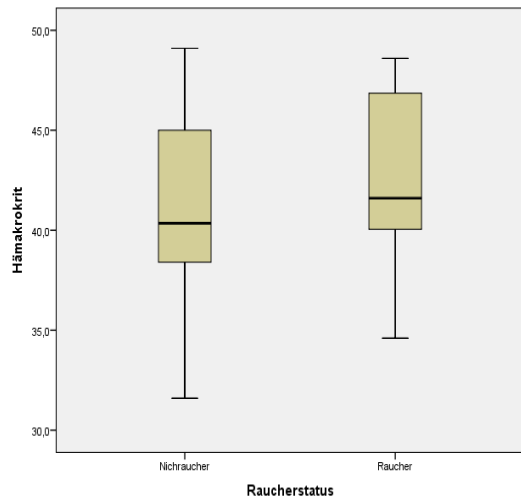


Abbildung 37: Hämatokritwert im Vergleich zu zwischen nichtrauchenden und rauchenden Probanden.

Boxplot- Darstellung der Hämatokritwerte von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmer. Die Medianwerte liegen im Vergleich bei den Rauchern diskret höher.

4.2 Flussvermittelte Dilatation (FMD)

In den nachfolgenden Tabellen und Boxplots werden die Mittelwerte der FMD der Gesamtpopulation vor und nach dem Rauchen dargestellt. Nach dem 30-minütigen Rauchen konnte keine signifikante Reduktion zwischen den Nichtrauchern und den Rauchern festgestellt werden.

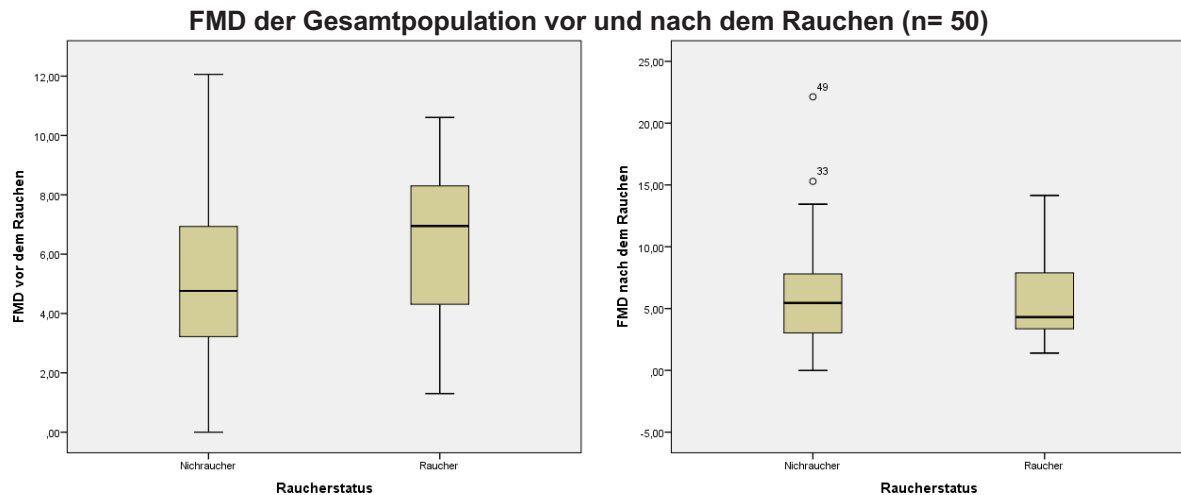


Abbildung 38: FMD der Gesamtpopulation vor dem Rauchen.

Abbildung 39: FMD der Gesamtpopulation nach dem Rauchen.

Boxplot-Darstellungen der FMD der Gesamtpopulation vor und nach dem Shisha-Rauchen. Nach dem Rauchen können zwei Ausreißer in der Gruppe der Nichtraucher erkannt werden.

FMD vor und nach dem Rauchen der Shisha		
	FMD vor der Intervention	FMD nach der Intervention
Gesamtpopulation (n= 50)	5,42 (± 2,57)	6,23 (± 4,30)

Tabelle 8: Flussvermittelte FMD vor und nach dem Rauchen

Tabellarische Darstellung der FMD vor und nach dem Rauchen der Shisha. In der ersten Spalte ist die Gesamtzahl der Studienteilnehmer zusehen. In den beiden rechten Spalten jeweils die Mittelwerte der Messungen mit ihren Standardabweichungen.

Ergebnisse

T-Test für gepaarte Stichproben der gesamter Studienpopulation (n= 50)			
	Mittelwert der Differenz	Standardfehler des Mittelwertes der Differenz	p-Wert
FMD vor -FMD nach Intervention	0,809	0,544	0,144

Tabelle 9: T-Test für gepaarte Stichproben der gesamter Studienpopulation. FMD vor und nach dem Rauchen.

Tabellarische Darstellung der FMD vor und nach dem Rauchen der Shisha mit dem Mittelwert der Differenz, sowie der Standardfehler des Mittelwertes der Differenz. In der rechten Spalte ist der p-Wert dargestellt.

Zum Signifikanzniveau von 0,05 liegt ein nicht signifikanter Unterschied der FMD zwischen vor und nach der Intervention vor. Somit kann die in der Hauptfragestellung definierte Nullhypothese nicht verworfen werden.

4.3 Niedrig Flussvermittelte Vasokonstriktion (L- FMC)

Um den Gefäßdurchmesser der Arteria brachialis durchgehend zu messen, wurde dies computergestützt durchgeführt. Während die Blutdruckmanschette aufgepumpt war, wurde der kleinste Gefäßdurchmesser eruiert und mit dem Ausgangswert (Baseline) in Relation gesetzt. Als FMC- Wert, wurde die prozentuale Änderung des Gefäßdurchmessers erfasst.

FMC der gesamten Studienpopulation vor und nach dem Rauchen (n=50)

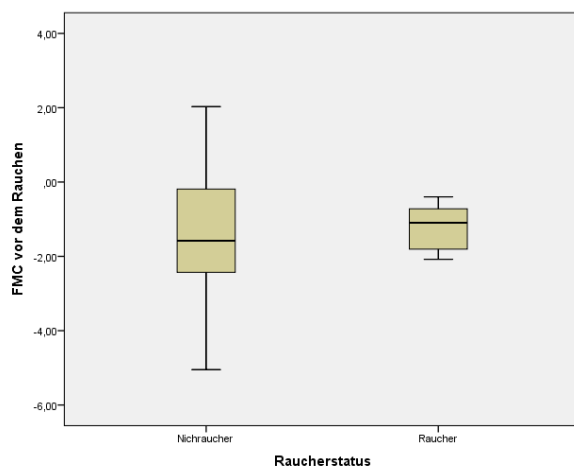


Abbildung 40: FMC der Gesamtpopulation vor dem Rauchen.

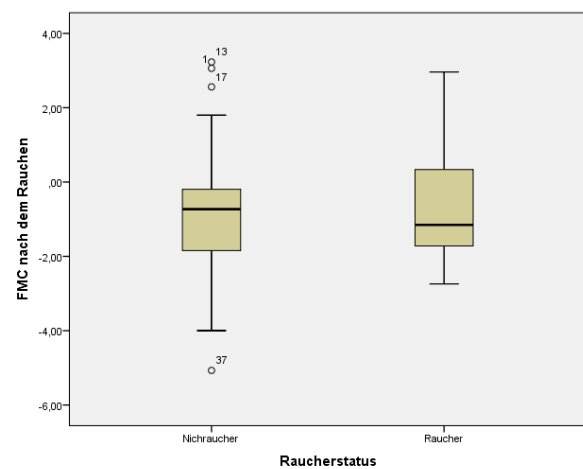


Abbildung 41: FMC der Gesamtpopulation nach dem Rauchen.

Boxplot-Darstellung der Flussvermittelten Konstriktion der A. brachialis der gesamten Studienpopulation vor und nach dem Shisha- Rauchen. Nach dem Raucher können 3 positive und ein negativer Ausreißer bei den Nichtrauchern erkannt werden.

FMC vor und nach dem Rauchen der Shisha		
	FMC vor der Intervention	FMC nach der Intervention
Gesamtpopulation (n= 50)	-1,419	-0,826

Tabelle 10: FMC vor und nach dem Rauchen der Shisha.

Tabellarische Darstellung der Gesamtpopulation der FMC vor und nach dem Rauchen der Shisha.

T-Test für gepaarte Stichproben der gesamten Studienpopulation (n= 50)			
	Mittelwert der Differenz FMC vor und FMC nach der Intervention	Standardfehler des Mittelwertes der Differenz	p-Wert
Gesamte Studienpopulation (n= 50)	-0,592	0,338	0,086

Tabelle 11: T-Test für gepaarte Stichproben der gesamten Studienpopulation FMC vor und nach dem Rauchen.

Tabellarische Darstellung der FMC vor und nach dem Rauchen der Shisha mit dem Mittelwert der Differenz, sowie der Standardfehler des Mittelwertes der Differenz. In der rechten Spalte ist der p-Wert dargestellt.

4.4 Laserdoppler

An allen Studienteilnehmern wurde zusätzlich eine Analyse mittels Mikrozirkulation mit Hilfe eines Laserdopplers durchgeführt. Darunter waren 43 Nichtraucher und 8 Raucher. Ein Proband ist bei der Messung rausgefallen. Somit ergibt sich eine Population von n= 50.

4.4.1 Post occlusive reactive hyperaemia

Die PORH wurde kurz vor beziehungsweise kurz nach dem 20-minütigen Rauchen durchgeführt. Mit Hilfe des Laserdopplers wird die dermale Perfusion gemessen.

PORH-Auswertung der gesamten Studienteilnehmer (n= 50)				
Parameter/ Messzeitpunkt	Mittelwert (SD)	Mittelwert der Differenz	Standardfehler des Mittelwertes der Differenz	p- Wert
Hyperaemia area vor dem Rauchen	2705,65 (±2455,29)	274,95	430,99 (0,092)	0,527
Hyperaemia area nach dem Rauchen	2430,69 (± 2475,79)			
Peak flow vor dem Rauchen	131,27 (± 69,74)	13,57	9,52 (0,163)	0,160
Peak flow nach dem Rauchen	117,035 (± 70,57)			
Biological zero vor dem Rauchen	4,74 (±3,20)	0,187	0,70 (0,03)	0,792
Biological zero nach dem Rauchen	4,55 (± 4,84)			
Occlusion area vor dem Rauchen	16200,51 (±16591,98)	4143,44	2932,81 (0,204)	0,164
Occlusion area nach dem Rauchen	12057,07 (±14534,69)			
Rest flow vor dem Rauchen	56,48 (±56,89)	13,57	9,52 (0,204)	0,160
Rest flow nach dem Rauchen	42,91 (±48,78)			

Tabelle 12: PORH-Auswertung der gesamten Studienteilnehmer vor und nach dem Rauchen der Shisha.

Tabellarische Darstellung der Laserdoppler- Auswertung. In der ersten Spalte werden die Daten vor und nach dem Rauchen aufgelistet. In der zweiten Spalte ist der Mittelwert mit der jeweiligen Standardabweichung aufgeführt. Die dritte Spalte zeigt den Mittelwert der Differenz. In der vierten Spalte ist der Standardfehler der Differenz des Mittelwertes aufgeführt womit die Schätzgenauigkeit abgebildet wird und in der rechten Spalte sind die p-Werte dargestellt. Die einzelnen Parameter wurden bereits in **Kapital 3.7.3** ausführlich erläutert

Die Auswertung der Laserdoppler-Daten wurden mit Hilfe eine T-Testes für gepaarte Stichproben durchgeführt. Bei allen Messungen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede vor und nach dem Rauchen. Da die Subgruppen eine unterschiedliche Größe aufwiesen, wurde nur die Gesamtpopulation betrachtet.

Hyperaemia area von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern (n=50)

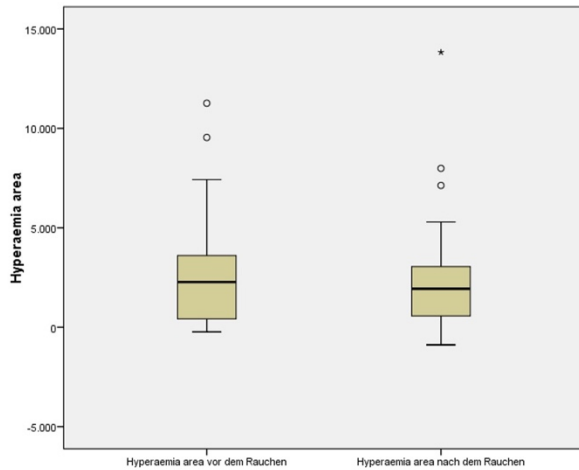


Abbildung 42: Hyperaemia area der Gesamtpopulation.

Boxplot- Darstellung der Hyperaemia area von 42 nichtrauchenden und 8 rauchenden Studienteilnehmern.

Peak flow von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern (n=50)

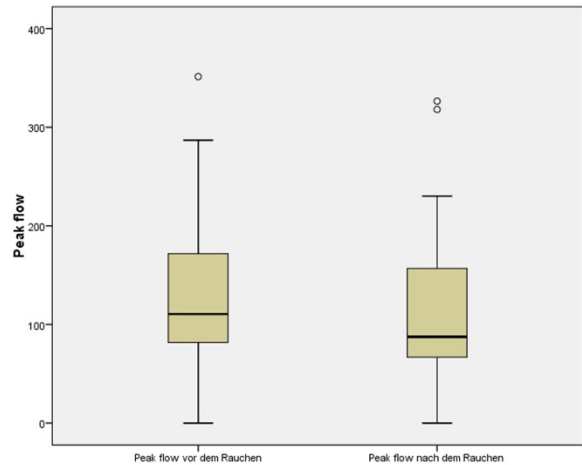


Abbildung 43: Peak flow der Gesamtpopulation.

Boxplot- Darstellung der Peak flow von 42 nichtrauchenden und 8 rauchenden Studienteilnehmern.

Occlusion area von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern (n=50)

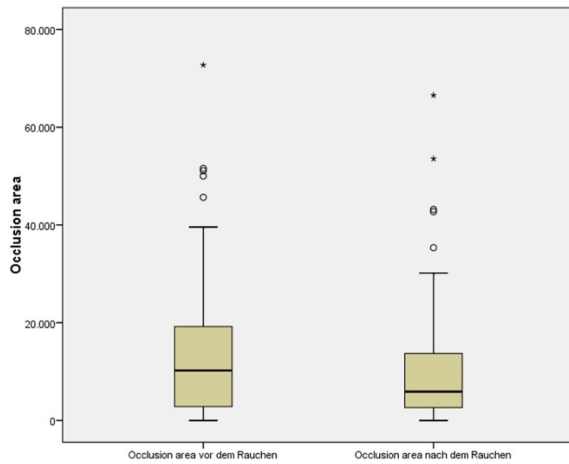


Abbildung 44: Occlusion area der Gesamtpopulation.

Boxplot- Darstellung der Occlusion area von 42 nichtrauchenden und 8 rauchenden Studienteilnehmern. Man erkennt mehrere Ausreißer oberhalb der Whisker vor und nach dem Rauchen.

Biological zero von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern (n=50)

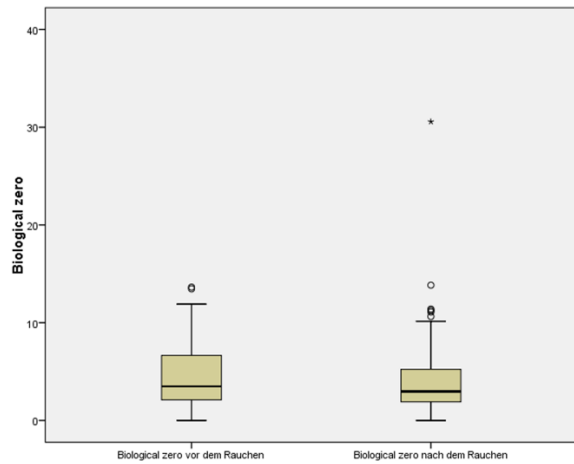


Abbildung 45: Biological zero der Gesamtpopulation.

Boxplot- Darstellung der Biological zero von 42 nichtrauchenden und 8 rauchenden Studienteilnehmern. Man erkennt mehrere Ausreißer oberhalb der Whisker vor und nach dem Rauchen.

Rest Flow von nichtrauchenden und rauchenden Studienteilnehmern (n=50)

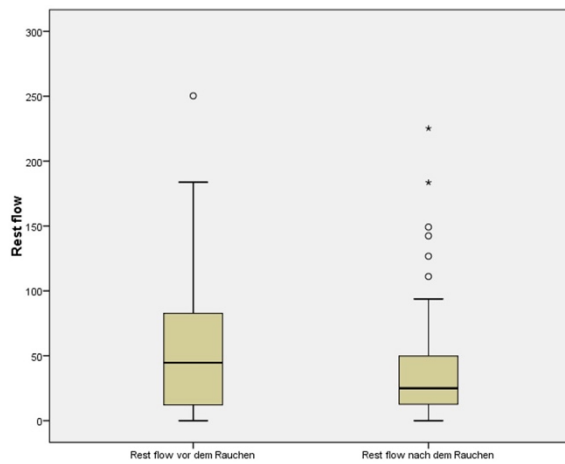


Abbildung 46: Rest flow der Gesamtpopulation.

Boxplot- Darstellung der Rest flow von 42 nichtrauchenden und 8 rauchenden Studienteilnehmern. Zu beobachten sind mehrere Ausreißer oberhalb der Whisker vor und nach dem Rauchen.

4.4.2 Frequenz- Analysen

Mit Hilfe der spektrometrischen Analyse der Oszillationen verschiedenen Frequenzbereichen konnte das Blutflusssignal ermittelt werden. Die Signalstärke (Perfusionsunit/Hz [PU]) in dem jeweiligen Frequenzbereich wurde vor und nach dem Rauchen aufgezeichnet und dokumentiert. Nachfolgend werden diese tabellarisch dargestellt.

Frequenzanalyse der gesamten Studienpopulation (n= 50)				
Frequenzbereich/ Messzeitpunkt	Mittelwert (SD)	Mittelwert der Differenz	Standardfehler des Mittelwertes der Differenz	p- Wert
0,01- 0,02 HZ vor dem Rauchen	9,042 (±7,455)	0,589	1,437	0,683
0,01- 0,02 HZ nach dem Rauchen	8,453 (±10,091)			
0,02- 0,05 vor dem Rauchen	6,620 (±4,973)	0,343	0,956	0,721
0,02-0,05 HZ nach dem Rauchen	6,276 (±6,573)			
0,05- 0,15 HZ vor dem Rauchen	3,953 (±2,853)	0,333	0,527	0,531
0,05- 0,15 HZ nach dem Rauchen	3,620 (±2,853)			
0,15- 0,6 HZ vor dem Rauchen	1,205 (±0,933)	0,254	0,148	0,92
0,15-0,6 HZ nach dem Rauchen	0,950 (±0,818)			
0,6- 2,0 HZ vor dem Rauchen	1,674 (±1,230)	0,173	0,212	0,417
0,6- 2,0 Hz nach dem Rauchen	1,500 (±1,380)			

Tabelle 13: Frequenzanalyse der gesamten Studienpopulation vor und nach dem Rauchen der Shisha.

In dieser Tabelle sind in der linken Spalte die unterschiedlichen Frequenzbereiche vor und nach dem Rauchen aufgeführt, welche getrennt voneinander untersucht worden sind. In der zweiten Spalte werden die maximalen Signalstärken bzw. Amplituden aufgeführt. In den runden Klammern sind die Standardabweichungen. Die Spalte drei zeigt den Mittelwert der gepaarten Stichproben vor und nach dem Rauchen der Shisha. In der vierten Spalte sind die Standardfehler der Mittelwerte der Differenzen. Der p-Wert in der 5 Spalte wurde mit Hilfe des T-Test für gepaarte Stichproben ermittelt. Bei einem Signifikanzniveau von 5% konnte für alle Frequenzbereiche keine Signifikanz ermittelt werden.

Anhand der erhobenen Daten konnte für die Gesamtpopulation keine signifikante Änderung der oszillometrischen Signale ermittelt werden. Es kommt zu keinem deutlichen Abfall der Signale. In allen Frequenzbereichen kommt es nach dem Rauchen zu mehreren Ausreißern.

**Frequenzen 0,01- 0,02 Hz der Gesamtpopulation
(n= 50)**

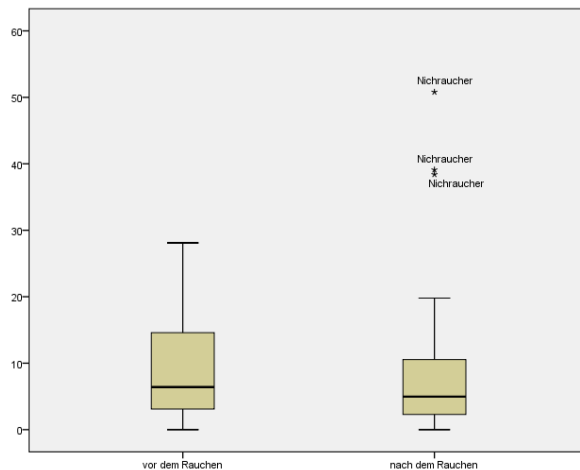


Abbildung 47: Signalstärke der Oszillationen im Frequenzbereich 0,01-0,02 Hz.

Boxplots- Darstellung im Niederfrequenzbereich der Laserdoppler- Messung. Nach dem Rauchen erkennt man eine niedrigere Amplitude, sowie drei Ausreißer oberhalb des Whiskers.

**Frequenzen 0,02- 0,05 Hz der Gesamtpopulation
(n= 50)**

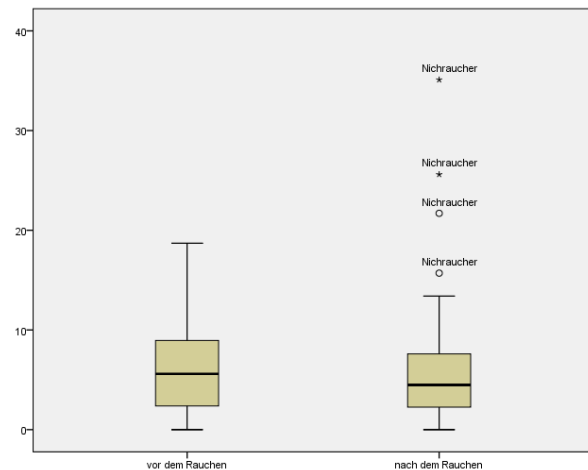


Abbildung 48: Signalstärke der Oszillationen im Frequenzbereich 0,02- 0,05 Hz.

Boxplots- Darstellung der Laserdoppler- Messung. Nach dem Rauchen erkennt man eine niedrigere Amplitude, sowie vier Ausreißer oberhalb des Whiskers.

Frequenzen 0,05- 0,15 Hz der Gesamtpopulation (n= 50)

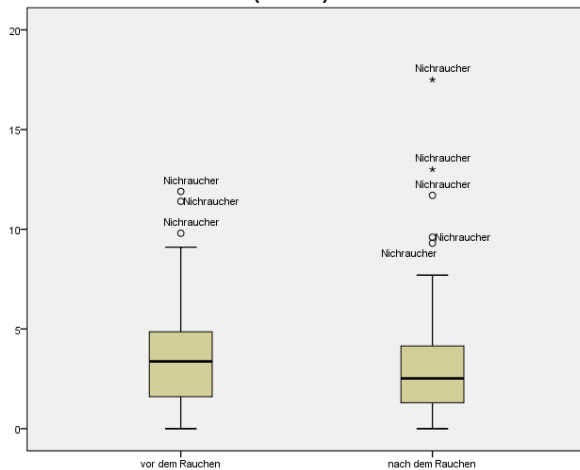


Abbildung 49: Signalstärke der Oszillationen im Frequenzbereich 0,05- 0,15 Hz.

Boxplots- Darstellung der Laserdoppler-Messung. Nach dem Rauchen erkennt man eine niedrigere Amplitude, sowie fünf Ausreißer oberhalb des Whiskers und 3 Ausreißer vor dem Rauchen.

Frequenzen 0, 15- 0,06 Hz der Gesamtpopulation (n= 50)

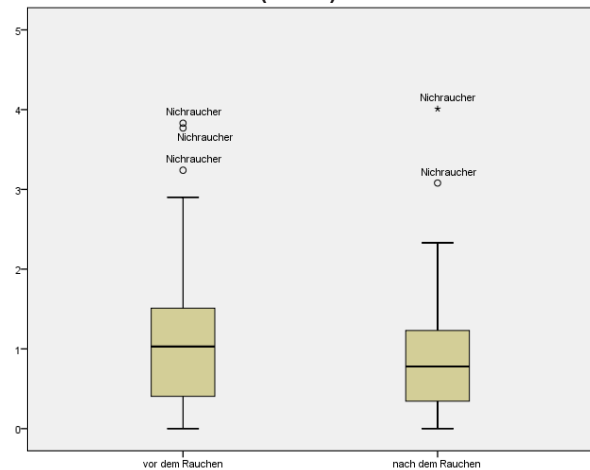


Abbildung 50: Signalstärke der Oszillationen im Frequenzbereich 0,15- 0,6 Hz

Boxplots- Darstellung der Laserdoppler-Messung. Nach dem Rauchen erkennt man eine niedrigere Amplitude, sowie zwei Ausreißer oberhalb des Whiskers und drei Ausreißer vor dem Rauchen.

Frequenzen 0,06- 2,0 Hz der Gesamtpopulation (n= 50)

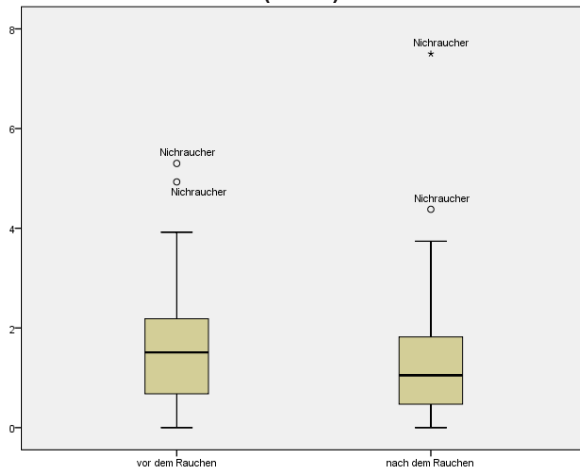


Abbildung 51: Signalstärke der Oszillationen im Frequenzbereich 0,6- 2,0 Hz.

Boxplots- Darstellung der Laserdoppler- Messung. Vor und nach dem Rauchen erkennt man zwei Ausreißer oberhalb des Whiskers, sowie eine niedrigere Amplitude nach dem Rauchen.

Mit Hilfe der Fournier- Transformation, konnten die Amplituden in den unterschiedlichen Frequenzbereichen der gesamten Studienpopulation eine

Reduktion darstellen. Allerdings muss beachtet werden, dass in allen Messungen Ausreißer vorhanden sind.

4.5 SOMNOwatch™

Mit Hilfe des Polysomnographie- Gerätes SOMNOwatch™ der Firma SOMNOmedics, wird die Möglichkeit gegeben, eine nicht invasive Messung durchzuführen. Gleichzeitig können zahlreiche Messparameter aufgezeichnet werden und später ausgewertet werden. Ein Teil der möglichen Parameter und deren Ergebnisse, werden nachfolgend dargestellt. Da bei den Versuchen unterschiedliche Störeinflüsse auftraten, konnten nicht von allen teilnehmenden Probanden die Messdaten verwendet werden. Die Anzahl der Studienteilnehmer wird oberhalb der Ergebnisse in runden Klammern angegeben.

4.5.1 Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität

Durch die Fingerplethysmographie konnte gewährleistet werden, dass die Herzfrequenz und die Herzfrequenzvariabilität vor, während und nach dem Rauchen ermittelt werden konnte.

Mittelwerte Herzfrequenz der Gesamtpopulation (n=48)		
Vor dem Rauchen	Versuchszeit	Nach dem Rauchen
75,92	77,75	80,81

Tabelle 14: Mittelwerte der Herzfrequenz der Gesamtpopulation vor, während und nach dem Rauchen.

Tabellarische Darstellung der Mittelwerte der Gesamtpopulation zu unterschiedlichen Messzeitpunkten vor, während und nach dem Rauchen. Man erkennt einen Anstieg der Herzfrequenz zu den unterschiedlichen Messzeiten.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse in der Tabelle 14, erkennt man einen Anstieg der Herzfrequenz im Verlauf mit einem erhöhten Niveau am Ende der Intervention.

Ergebnisse

Mittelwerte Akzeleration der Gesamtpopulation (n=48)		
Vor dem Rauchen	Versuchszeit	Nach dem Rauchen
179,94	222,23	146,71

Tabelle 15: Herzfrequenzvariabilität Mittelwerte der Gesamtpopulation vor, während und nach dem Rauchen.

Tabellarische Darstellung der Mittelwerte der Akzeleration, die vor dem Rauchen der Shisha, in der Versuchszeit und nach dem Rauchen gemessen wurden. Man kann einen Anstieg und dann wieder einen Abstieg der Herzfrequenz (Einheit= beats per minute; bpm) erkennen.

Bei der Betrachtung der Herzfrequenzvariabilität, kann man einen deutlichen Anstieg der Werte von der Zeit vor der Intervention bis in die Versuchszeit erkennen, die zum Ende der Versuchszeit wieder deutlich abnimmt.

4.5.2 Sympathovagale Balance (SVB)

Das Messgerät SOMNOwatch™, hat während der gesamten Zeit der Messung die SVB der Studienteilnehmer aufgezeichnet. Die Daten wurden im Anschluss mit Hilfe der Software ausgewertet. Es wurden für diese Studie 3 Messzeitpunkte (vor, während und nach dem Rauchen) festgelegt und im Anschluss ausgewertet. Hierbei haben sich die Ergebnisse in der unten aufgeführten Tabelle gezeigt.

Mittelwerte und Standardabweichung der sympathovagale Balance (SVB) der Gesamtpopulation (n=48)		
Vor dem Rauchen	Versuchszeit	Nach dem Rauchen
18,44 ($\pm 7,66$)	26,69 ($\pm 10,99$)	22,08 ($\pm 7,97$)

Tabelle 16: Die SVB zu unterschiedlichen Messzeitpunkten während Versuchszeit der gesamten Studienpopulation.

Tabellarische Darstellung der Mittelwerte der sympathovagale Balance (SVB), die vor dem Rauchen der Shisha, in der Versuchszeit und nach dem Rauchen gemessen wurden. Man kann einen Anstieg und dann wieder einen Abstieg der sympathovagale Balance (SVB) erkennen. In der runden Klammer ist die Standardabweichung aufgeführt.

Bei der Betrachtung der in der Tabelle dargestellten Werte erkennt man, dass es während der Versuchszeit zu einem Anstieg der SVB bis zu einem Maximum kommt und sich nach Beendigung des Rauchens wieder absenkt.

4.6 Fragebogen

4.6.1 Unerwünschte Wirkungen durch die Inhalation des Shisha- Rauches

Nachfolgend werden die unerwünschten Wirkungen nach der Inhalation des Shisha-Rauches aufgelistet. Diese sind unterteilt in die rauchenden und nichtrauchenden Subgruppen der Studienpopulation, sowie die Gesamtpopulation.

Symptom	Gesamt (n= 51)	Raucher (n=8)	Nichtraucher (n=43)
Reizung obere Atemwege	2 (3,92%)	0 (0%)	2 (4,65%)
Kopfschmerz	4 (7,84%)	0 (0%)	4 (9,30%)
Schwindel	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Übelkeit	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Erbrechen	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Hypersalivation	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Unangenehmes Empfinden	35 (68%)	8 (100%)	27 (62,79%)

Tabelle 17: Unerwünschte Symptome nach der Inhalation des Shisha- Rauches.

Tabellarische Darstellung der absoluten Anzahl der Studienteilnehmern. In den runden Klammern wird der relative Anteil dargestellt, der nach der Inhalation aufgetretenen unerwünschten Nebenwirkungen. Aufteilung in rauchende und nichtrauchende Studienteilnehmer.

Wenn man die Studienpopulationen im direkten Vergleich betrachtet, zeigt die Gruppe der Nichtraucher einen insgesamt höheren Anteil von Symptomen als die Raucher. Unter der Betrachtung der einzelnen Nebenwirkungen, beschreiben die Nichtraucher am häufigsten ein unangenehmes Empfinden nach der Inhalation des Shisha-Rauches. Kopfschmerz und Reizung der oberen Atemwege sind nur im geringen Maße ausgeprägt. Bei der rauchenden Studienpopulation wird hingegen nur ein unangenehmes Empfinden angegeben und keine weiteren Nebenwirkungen. Da die Gruppen unterschiedliche Größe aufweisen, ist eine eindeutige Aussage über die unerwünschten Nebenwirkungen nicht zu treffen.

5 Diskussion

5.1 Anthropometrie und Laborparameter

Bei der Betrachtung der kardiovaskulären Parameter, konnte im Vergleich der beiden Subgruppen der Studienpopulationen kein signifikanter Unterschied für den Body-Mass-Index festgestellt werden. Beide Subgruppen, aber auch für die Gesamtpopulation, wiesen im Vergleich zu der deutschen Gesamtbevölkerung per definitionem ein Normalgewicht auf (165,166).

Auch konnte kein signifikanter Unterschied in Bezug auf den Blutdruck zwischen den Subgruppen festgestellt werden. In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass zwar ein akuter Anstieg des Blutdruckes vorlag, allerdings konnte kein Nachweis erbracht werden, dass es zu einem chronischen Anstieg des Blutdruckes durch Zigarettenkonsum gekommen ist (223-225).

Da die beiden Subgruppen auf Grund der unterschiedlichen Gruppengröße nicht direkt miteinander verglichen werden können, ist eine endgültige Aussagkraft nicht eindeutig zu tätigen.

In Hinblick auf die Blutkonzentrationen des Gesamtcholesterin, dem LDL- Cholesterin oder dem CRP, kann auch hier keine definitive Aussage getroffen werden, da die beiden Subgruppen eine unterschiedliche Größe haben. Betrachtet man die Subgruppen für sich, erkennt man auch hier keinen signifikanten Unterschied.

Es wurde bereits in einigen Studien dargestellt, dass nicht nur eine quantitative, sondern auch eine qualitative Veränderung von Serum-Lipiden maßgeblich an der Entstehung und Progression der Atherosklerose beteiligt sind (63,86,131). Als Schlüsselereignis wurde somit die Oxidation der LDL-Lipoproteine definiert (63). Heitzer et al. beschreibt einen synergistischen Effekt zwischen der Hypercholesterinämie und des Zigarettenkonsums, was zu einem erhöhten Anteil von Autoantikörper im Plasma gegen oxidiertes LDL führt und somit die Endothelfunktion nachhaltig schädigt (95).

Bereits im Kapitel 2, wurden die genauen enzymatischen Prozesse erläutert. Auf Grund der kleinen Studienpopulation mit unterschiedlicher Größe, ist eine definitive Aussagekraft über einen Zusammenhang zwischen den Laborwerten und der Endothelfunktion nicht endgültig möglich. Allerdings wurde bereits in vorherigen Studien die Kausalität der Initiation, Progression und Manifestation der Atherosklerose dargelegt (63).

In einigen Studien wurde bereits das C-reaktives Protein als Akute- Phase-Protein identifiziert und als unabhängiger Risikofaktor beschrieben, welches über die klassische Komplementkaskade aktiviert wird und somit als wichtiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen gilt (167,83). Es wurde beschrieben, dass das CRP durch mehrere Faktoren wie der Body- Mass- Index (168), Diabetes (168), Zigarettenrauch (169), Bluthochdruck (170), Cholesterinspiegel (171), aber auch genetischen Polymorphismen (172), beeinflusst werden kann. Die gelieferten Daten deuten zwar auf ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse hin, allerdings bleibt umstritten, ob das singuläre CRP neben den traditionellen Risikofaktoren signifikant prognostische Erkenntnisse liefert. Um eine detaillierte Aussagekraft über die in dieser Studie erhobenen CRP-Ergebnisse treffen zu können, wäre eine deutliche größere Studienpopulation mit einer höheren Diversität nötig.

Somit ist festzustellen, dass die in dieser Studie erhobenen CRP-Konzentrationen nur als ein deskriptiver Parameter anzusehen sind und keine endgültige Aussagekraft haben.

5.2 Wirkung des Shisha- Rauchs auf die FMD

Es ist bekannt, dass sich das herkömmliche Rauchen von Zigaretten negativ auf die FMD auswirkt (173). Auch konnte Qasim et al. zeigen, dass ein kurzzeitiger Konsum von Wasserpfeifenrauch die flussvermittelte Dilatation beeinträchtigt (154). Es wurde bereits in vergangenen Studien dargestellt, dass es sich bei der eingeschränkten Endothelfunktion, ohne klinische Manifestation, um einen potentiell reversiblen Zustand handelt (173). Diesen Zustand beschreibt auch Celermajer et al. bereits in einer seiner Studie, in der beobachtet wurde, dass sich bei Rauchabstinenz die FMD verbessert und somit ein reversibler Zustand der Endothelschädigung besteht (173). Betrachtet man die Ergebnisse der Gesamtpopulation dieser Studie, die mit Hilfe eines

T-Testes für gepaarte Stichproben erhoben wurden, erkennt man eine geringe Zunahme der flussvermittelten Dilatation von 0,81 zwischen vor und nach dem Rauchen und somit einem nicht signifikanten Anstieg bei einem p-Wert von 0,144.

Celermajer et al. beschreiben, dass das Messverfahren der FMD mit einer hohen Reliabilität und Reproduzierbarkeit aufzeigt. Dabei haben erfahrene Untersucher eine ungefähre Streuung der FMD von 1-3 % und bei Untersuchungen, bei denen nur ein Untersucher vorhanden war, von einer noch geringeren Streuung auszugehen ist (98).

In der Studie von Celermajer et al., wurde eine Veränderung der FMD bei regelmäßigen Zigarettenkonsum beschrieben (173), allerdings zeigte sich bei der Auswertung der Ergebnisse in dieser Studie kein signifikanter Unterschied. Durch das Studienprotokoll wurden alle Studienteilnehmer aufgefordert eine 12-stündige Nikotinabstinenz einzuhalten. Dies könnte als eine mögliche Ursache der gegensätzlichen Ergebnisse diskutiert werden.

Almaori et al. verdeutlichte interessanterweise in einer durchgeführten Querschnittsstudie, die den Zusammenhang zwischen chronischem Wasserpfeifenrauchen und kardiovaskulärer Hämodynamik bei Jugendlichen untersuchte, eine Senkung des Blutdrucks und der Herzfrequenz bei diesen jugendlichen Wasserpfeifenrauchern im Unterschied zu Nichtrauchern und im Gegensatz zu den zuvor berichteten Ergebnissen der Untersuchungen die zum Beispiel von Celermajer et al. bei Erwachsenen festgestellt wurden (174). Auch in dieser Studie könnte die "Abstinenz" des Wasserpfeifenrauchens für 12 Stunden vor dem Test eine Möglichkeit sein, dass die Reduktion des Nikotingehaltes im System sich somit auf die neuro-hormonelle Regulierung auswirkt (verringerte Cortisol- und Sympathikusaktivität) und zu diesen Ergebnissen führt. Der genaue Mechanismus, der diesem Ergebnis zugrunde liegt, ist jedoch noch unklar und bedarf der weiteren Untersuchung (174).

Ebenfalls könnte zu überprüfen sein, dass bei den Studienteilnehmern eine erhöhte Vulnerabilität der Gefäße zu Grunde liegt. Diese Annahme würde mit der stärkeren Reaktion auf die Noxe des Shisha-Rauches zu erklären sein und dadurch einer geringeren Reserve an funktionsfähiger eNOS. In mehreren Studien konnte beobachtet werden, dass der akute Konsum von Wasserpfeifenrauch, ähnlich wie

beim Zigarettenrauch, die Freisetzung/Synthese von freien Sauerstoffradikalen, den Stillstand des Zellzyklus und einer verminderten NO-Aktivität bewirkt und sich somit auf die FMD auswirkt (175–177). Ähnlich wie beim Zigarettenrauch, beeinträchtigt der kurzzeitige Konsum einer Wasserpfeife die flussvermittelte Dilatation (FMD), die auf eine endotheliale Dysfunktion hinweist, signifikant (175). Allerdings konnte dies durch die hier vorliegende Studie nicht belegt werden.

Rammah et al. untersuchten die Wirkung von Wasserpfeifenrauchkondensat mit Apfelgeschmack auf menschliche Endothelzellen in vitro. Wasserpfeifen-Rauch induzierte Zellzyklus-Arrest, Apoptose, oxidativen Stress, verringerte NO-Aktivität, beeinträchtigte Gefäßerweiterung und Entzündung, allerdings ist nicht klar ob diese Ergebnisse mit denen in vivo vergleichbar sind (177).

Die Auswertung des Fragebogens zeigt, dass die häufigste unerwünschte Nebenwirkung, das unangenehme Empfinden war. Da die Populationsgröße unterschiedlich war, ist eine eindeutig Aussage darüber nicht zu treffen. In der Gruppe der Raucher, äußerten allerdings alle dieses Empfinden, es wurden aber keine sonstigen Angaben zu Nebenwirkungen gemacht. In der Gruppe der Nichtraucher gaben 27 Probanden ein unangenehmes Empfinden an. Zwei der Probanden haben eine Reizung der obere Atemweg und vier Probanden haben Kopfschmerzen angegeben. Alle Probanden wurden vor Studienbeginn angehalten tiefe Inhalationszüge durchzuführen, jedoch wurde die jeweilige Inhalationstiefe nicht quantifiziert. Ob ein Zusammenhang zwischen einer tiefen Inhalation und einer Veränderung der FMD besteht, kann daher nicht abschließend geklärt werden.

Da es nicht nur interessant ist, welche Auswirkung der Shisharauch auf die Endothelfunktion hat, muss auch untersucht werden, wie sich Nikotin isoliert auf die FMD auswirkt. Aufschluss geben könnte dabei die Studie von Mayhan et al., in der bei Versuchen an Hamstern, die Gabe von isoliertem Nikotin eine tiefgreifende und selektive Beeinträchtigung der endothelabhängigen Gefäßerweiterung hervor gerufen hatte (178). In einer durchgeführten Studie von Neunteufl et al. wurde untersucht wie sich Nikotin in Sprays und im Tabakrauch auf die Endothelfunktion auswirkt. Hierbei zeigte sich, dass das nikotinhaltige Nasenspray weniger gefährlich ist als das Nikotin im Zigarettenrauch (179). Das bestätigt, dass weitere Mechanismen im Rauch zu einer Verschlechterung der Endothelfunktion führen. Wie bereits im vorherigen Abschnitt

erklärt, reicht bereits ein kurzzeitiger Konsum aus, um eine verminderte FMD hervorzurufen, die auf eine eingeschränkte Endothelfunktion hinweist (154).

Bei Nutzern von rauchlosem Tabak konnte durch Bollinder et al. gezeigt werden, dass bei Nichtrauchern kein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse besteht und das vermehrte Auftreten von Atherosklerose bei Rauchern durch andere Komponenten verursacht wird (180). Für diesen Sachverhalt sind oxidative Einflüsse durch Verbrennungsprozesse wahrscheinlich verantwortlich (7,60).

5.3 Auswirkung des Shisha- Rauchs auf die L- FMC

In dieser Studie lag das Hauptaugenmerk zwar auf der flussvermittelten Vasodilatation (FMD), jedoch wurde auch die flussvermittelte Vasokonstriktion gemessen und evaluiert. Bei der Auswertung der Gesamtpopulation, zeigte sich ein Anstieg der FMC von $-1,41\%$ auf $-0,82\%$. Bei der Betrachtung des T-Test für gepaarte Stichproben konnte ein p- Wert von 0,086 festgestellt werden. Auf Grund dieser Feststellung konnte die Nullhypothese nicht verworfen werden. In einer Studie von Norioka et al. konnte die L-FMC bei $33,6\%$ (47/140) der Raucher und bei 25% (12/48) der Nichtraucher nachgewiesen werden. Es zeigten sich in der Raucherpopulationen ebenfalls Werte im Bereich von $-3,45\%$ bei Raucher und $-1,47\%$ bei Nichtrauchern. Für das Vorhandensein der L-FMC wurden als unabhängige Prädiktoren, das jüngere Alter, ein kleinerer Ausgangsdurchmesser der Brachialarterie und ein niedrigerer BMI assoziiert, was darauf hindeutet, dass das Vorhandensein der L-FMC auf weniger beeinträchtigte Gefäßfunktionen und Gefäßstrukturen bei männlichen Rauchern zurückzuführen ist (181). Auch in der Shisha-Acute Studie, zeigte sich ein jüngeres Alter, geringer BMI, sodass sich die Ergebnisse ähneln. Auch in Ergebnissen von Harrison et al. zeigten sich deutlich negative Werte von $-5-6\%$ in der L-FMC, sodass die Ergebnisse vergleichbar sind (182).

Für die Beurteilung der Endothelfunktion wurde dabei die FMD als Grundlage als ein etabliertes Messverfahren gewählt. Gori et al. dokumentierte, dass die FMD ein anerkanntes Verfahren für die Messung der endothelialen Vasomotorik ist, die FMC noch weniger gut erforscht ist, aber Informationen liefert, die komplementär zur FMD sind (183). Zwar ist bereits bekannt, dass die FMC nachweislich die flussvermittelte Dilatation negativ beeinflusst, allerdings ist die Reproduzierbarkeit der FMC- Reaktion

noch unbekannt (184). Auf Grund der aktuell fehlenden multizentrischen Studienlage und der damit fehlenden Etablierung der L-FMC als Standardmessverfahren, kann gegeben falls mit Hilfe der ermittelten Daten dieser Studie, ein weiterer Beitrag in der Endothelfunktionsforschung erfolgen.

In den meisten Studien wurden die Messungen an der A. radialis durchgeführt oder an A. brachialis und A. radialis, wodurch eine genaue Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen dieser Studie erschwert und nahezu fast unmöglich macht, zumal in dieser Studie an der A. brachialis untersucht wurde. Die häufigsten Aussagen über die Prognose von Kardiovaskulären Erkrankungen basieren auf Messung der FMC der A. radialis (185,186).

Die in dieser Studie erhobenen Werte der FMC deuten auf eine Vasodilatation anstatt einer Vasokonstriktion während der ischämischen Phase hin, welche konträr zu der Annahme sind, dass eine Verstärkung der Vasokonstriktion vorliegen muss. Dieser Umstand wurde bereits durch Thijessen et al. beschrieben (187). Bei der aktuell fehlenden Etablierung des Verfahrens und geringen Aussagekraft der Messungen an der A. brachialis, ist eine zuverlässige Interpretation der Ergebnisse dieser Studie nicht möglich (185). Es bedarf noch weiteren Studien um die FMC als ein ergänzendes Verfahren zur Messung der Endothelfunktion zu etablieren.

5.4 Klinische Aussagekraft der Endothelfunktion

Die endotheliale Dysfunktion kann als ein unabhängiger Vorhersagewert für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse angesehen werden (188,189). Da in dieser Studie kein signifikanter Unterschied der FMD festgestellt werden konnte, bleibt die Frage offen, welche Faktoren zu diesen Ergebnissen geführt haben könnten. Daher müssen weitere Studien mit Shisha-Raucher und/ oder Tabakrauchern erfolgen, um eine eindeutige Aussagekraft über den Zusammenhang zwischen der initialen Beeinflussung der FMD, der endothelialen Dysfunktion und der Entstehung der Atherosklerose zu treffen. Bereits in vergangenen Studien wurde die Komplexität der unterschiedlichen Einflusskriterien beschrieben (36,71). Da in dieser Studie der Anteil der Nichtraucher höher als der der Raucher lag, hätte man davon ausgehen können, dass in der Gruppe der Nichtraucher ein geringeres Potential der Gefäßschädigung vorliegen könnte und Nichtraucher initial eine bessere FMD aufweisen. Dies könnten Gründe sein, dass eine Reduktion der FMD ausblieb. Münzel et al. hatten bereits

beschrieben, dass Patienten mit einer FMD > 8% ein signifikant geringeres Risiko aufweisen kardiovaskuläre Ereignisse zu erleiden (190). Der Zusammenhang zwischen der Endothelfunktion und der kardiovaskulären Gesundheit wurde auch in weiteren Studien beschrieben (191,192).

5.5 Diskussion der Laser-Doppler- Messungen

In den beiden folgenden Kapiteln werden die Messmethoden der Laserdoppler-Technologie beschrieben und die Ergebnisse der Messungen diskutiert. Die Technologie der Laserdopplermethode ist ein noch junges Verfahren zur weiteren Evaluation der Endothelfunktion. Dadurch gehört sie aktuell noch nicht zu den wissenschaftlichen Standardverfahren in der Beurteilung der Endothelfunktion. Es wird in einigen Studie beschrieben, dass die Reproduzierbarkeit auf Grund verschiedener Einflusskriterien erschwert ist, allerdings konnte ebenfalls bei gleichen Bedingungen eine erhöhte Messgenauigkeit und somit Vergleichbarkeit festgestellt werden (193,194). Zwar gilt die nicht invasive Methode als Vorteil bei der Messung, jedoch wird als Nachteil gesehen, dass der Laserdoppler nur einen Index der Hautperfusion ermittelt, der als Produkt der durchschnittlichen Geschwindigkeit roter Blutkörperchen und ihrer Konzentration quantifiziert wird und oft als Fluss bezeichnet wird, sodass keine Möglichkeit besteht die absolute Menge des passierten Blutes zu bestimmen (193). Die Ergebnisse werden meist in Perfusionseinheit (perfusion unit; PU) beurteilt. Für die Beurteilung des Blutflusses im untersuchten Gebiet, werden dann die ermittelten Werte (PU) mit der Baseline in Relation gesetzt (193).

Auch wenn in einigen Studien die Reproduzierbarkeit als Nachteil gesehen wird, war dies für diese Studie kein Ausschlusskriterium, da in dieser Studie nur die Ergebnisse der Studienpopulation vor und nach dem Rauchen evaluiert und verglichen worden sind. Cracowski et al. beschreiben in ihrer Studie einige Anforderungen, um eine mögliche Standardisierung des Verfahrens zu erlangen (193). Der akute, sowie chronische Zigarettenkonsum als schädlicher Faktor und der damit einhergehenden Beeinflussung der Mikrozirkulation konnte nachgewiesen werden (195,196). Chemische Radikale, die durch akute oder chronischen Zigarettenkonsum aufgenommen werden, führen zur Schädigung des Endothels (197). Die schädlichen und potenziell schädlichen Bestandteile im Wasserpfeifentabak sind denen in Zigarettentabak recht ähnlich (152).

5.5.1 Diskussion der PORH- Analyse mittels Laserdoppler

Um eine exakte Aussage treffen zu können, wie die Wirkung des Rauchens einer Shisha auf die Endothelfunktion ist, ist zunächst die Frage zu stellen, wie valide die Laser-Doppler Messung ist. Dabei sollte die Aussagekraft der Parameter (Peakflow, Restflow etc.), aber auch die Validität des Verfahrens beantwortet werden können. In einer Studie von Stieffel et al. wurde untersucht, welche Parameter am besten geeignet sind, um eine hohe Sensitivität und Spezifität zu erhalten. Hierbei wurde ein Probandenkollektiv von jungen gesunden Probanden, gegenüber Probanden mit einer kardiovaskulären Erkrankung verglichen. Die untersuchten Parameter waren der Peak flow, Rest flow und die Hyperaemia area. Dabei stellte sich heraus, dass die Postocclusionsphase (Hyperaemia area) der Parameter war, welcher die höchste Sensitivität und Spezifität aufwies, um Probanden mit einer kardiovaskulären Erkrankung zu detektieren (118). Allerdings lässt die Studie offen, ob die Ergebnisse nur auf chronische Endothelfunktionsstörungen oder auch auf akute Schädigungen anzuwenden ist und bedarf somit weiterer Untersuchungen (118).

In dieser Studie konnte angesichts der erhobenen Werte der Hyperaemia area mit einem p-Wert von 0,527 die Nullhypothese nicht verworfen werden. Auch ein Vergleich dieser Studie mit der von Stiefel et al. ist ausgeschlossen, da in der Shisha- Acute Studie keine Probanden mit einer KHK eingeschlossen wurden (118).

Betrachtet man die Messergebnisse des Peak flow (p-Wert = 0,16) und des Biological zero (p-Wert= 0,79) der gesamten Studienpopulation, konnte auch hier kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Beim Rest flow zeigte sich nur eine Reduktion nach dem Shisha Rauchen von 56,48 PU auf 48,78 PU und somit eine Verringerung von 13,63%. Bei der Durchführung eines T-Test für gepaarte Stichproben zeigte sich ein p-Wert von 0,16 und somit ebenfalls kein signifikantes Ergebnis.

Alle erhobene Laserdoppler- Daten zeigten keinen signifikanten Unterschied der gesamten Studienpopulation zwischen vor und nach dem Rauchen der Shisha. Somit ist eine endgültige Aussagekraft, inwieweit sich das Rauchen einer Shisha auf die Mikrozirkulation auswirkt, nicht möglich. Auf Grund dessen bedarf es weitere Untersuchungen mit einer größeren Diversität in der Probandenpopulation. Auch wenn

bei den erhobenen Daten keine Signifikanz gezeigt werden konnte, muss davon ausgegangen werden, dass bei Erkrankungen, die die Mikrozirkulation beeinträchtigen (diabetische Mikroangiopathie oder Vaskulitiden), eine klinische Relevanz besteht. In den letzten Jahren ist die Akzeptanz des Shisha Rauchens gerade durch das jüngere Publikum enorm gestiegen. Durch den immer mehr florierenden Markt und neu eröffneten Shisha- Bars in den letzten Jahren, besteht die Möglichkeit, gelegentlich, aber auch regelmäßig zu konsumieren. Hierbei besteht die Gefahr, dass nicht nur durch das Passivrauchen, sondern auch durch die längeren Rauchsitzungen eine potenziell höhere Schadstoffbelastung und -aufnahme besteht und somit kurz, aber auch langfristige Folgen in der Perfusionseinschränkung entstehen können.

5.5.2 Diskussion der Frequenzanalyse mittels Laser-Doppler

Um die Mikrozirkulation und somit die Endothelfunktion weiter zu verifizieren, kann mit Hilfe der Erfassung von Oszillationen der Arteriolen Abhilfe geschaffen werden. Hierbei handelt es sich um niederfrequente Schwingungen, die durch sympathische Aktivität (Herzschlag, Atmung, glattmuskuläre und endotheliale Aktivität) verursacht werden (122,198). Bollinger et al. beschreibt, dass die Bewegung des Hautblutflusses teilweise mit der rhythmischen Kontraktion und Erweiterung der Hautarteriolen (Vasomotion) zusammenhängt (198). Um die durch die Spektralanalyse gemessenen Frequenzbereiche darstellen zu können, wurde die Fourier-Transformation angewendet. Somit konnten die unterschiedlichen Bereiche definiert und ausgewertet werden (199). Auch bei diesen Messverfahren können keine absoluten Werte (Flussvolumina pro Zeiteinheit) verwendet werden, sodass die dimensionslose Einheit PU/Hz verwendet wird. Da in dieser Studie die Auswirkung des Rauchens einer Shisha auf die Endothelfunktion untersucht wurde, wird der Fokus auf den Frequenzbereich von 0,009- 0,02 Hz gelegt. Dieser Bereich ist laut Rossi et al. der Frequenzbereich der das Endothel widerspiegelt (199).

Um als Nebenfrage noch weitere Bereiche zu untersuchen, können der Frequenzbereich von 0,02– 0,06 Hz, der die sympathische Aktivität widerspiegelt (199) und 0,06– 0,2 Hz als glattmuskuläre Aktivität herangezogen werden (200). Der Frequenzbereich von 0,2- 0,6 Hz (Atmungsaktivität), sowie 0,6–1,6 Hz (Herzaktivität) fanden keine weitere nähere Bedeutung in der Auswertung (199). Bei der Betrachtung der Ergebnisse der Frequenzanalysen mittels Laser-Doppler, konnte mit Hilfe eines T-

Test für gepaarte Stichproben für die Gesamtpopulation kein signifikanter Unterschied zwischen vor und nach dem Rauchen der Shisha festgestellt werden. Bei allen Frequenzbereichen erfolgte nach dem Rauchen eine Reduktion. Zwar konnte ein Teil der Ergebnisse der Studie aus dem Jahr 2007 von Rossi et al. reproduziert werden, jedoch zeigte sich in der Shisha- Acute Studie in keinem der Frequenzbereiche ein signifikanter Unterschied (122). Die Ursache dafür könnte womöglich eine zu geringe Diversität in der Probandenpopulation sein. Ein weiterer Faktor könnte sein, dass bei der Studie von Rossi et al. eine Nikotinkarenz von acht Stunden (201) und in dieser Studie eine Karenz von zwölf Stunden Voraussetzung war. Somit ist ein direkter Vergleich schwierig. Auch auf Grund des unterschiedlichen Probandenkollektives in der Studie von Rossi et al. (Vorerkrankung und Alter) und der Shisha-Acute Studie, sollte eher davon abgesehen werden, einen absoluten Vergleich der Laserdoppler Messergebnisse herzustellen (199). In Hinblick auf die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse an dem Versuchstag, ist diese zu vernachlässigen, da in der Shisha- Acute Studie lediglich die Kernfrage untersucht wurde, ob akute Effekte auf die Endothelfunktion während des Shisha- Rauchens an nur einem Versuchstag vorliegen. Außerdem ist die Reproduzierbarkeit des Verfahrens weiterhin umstritten, da sich Ergebnisse tagesabhängig unterscheiden können (202). Um eine Standardisierung der beiden Messungen zu etablieren, wurden alle nötigen Voraussetzungen versucht zu erfüllen, jedoch kann keine Garantie für eine ideale Reliabilität und Validität gegeben werden.

Auch wenn die Erhebung der Ergebnisse durch den Laserdoppler keine signifikanten Unterschiede hervorbrachte, ist es wichtig weitere klinische Studien durchzuführen, um zu verdeutlichen, inwieweit das Rauchen einer Shisha die Endothelfunktion beeinträchtigen kann.

5.6 Diskussion der Messergebnisse der SOMNOwatch™

Für die Aufzeichnung der Vitalparameter während der Intervention, wurde ein polygraphisches Messgerät (SOMNOwatch™) der Firma Somnomedics GmbH Deutschland verwendet. Hierbei handelt es sich um ein Gerät, das es erlaubt eine zeitgenaue nicht invasive Messung der Vitalparameter (3-Kanal EKG, Blutdruck, Puls, Herzfrequenzvariabilität, Pulswellengeschwindigkeit) mit Hilfe eines Plethysmographen und eines EKG- Moduls durchzuführen. Gesche et al., sowie Bartsch et al. konnten die Validität des Gerätes darstellen (203,204).

Bartsch et al. beschreiben eine hohe Störanfälligkeit während einer Messung von 60 Minuten, die sich mit den Auswertungen der Shisha- Acute Studie zum Teil decken. Auch wurden mehrere Artefakte/ Störungen festgestellt. Da sich die Messungen von Bartsch et al. auf Patienten beziehen, die sich auf einer kardiologischen Intensivstation befanden und wahrscheinlich während des Messzyklus immobil waren, ist diesbezüglich ebenfalls kein Vergleich möglich, da sich in der Shisha- Acute Studie die Teilnehmer, während der Intervention in sitzender Position befanden (203). Dadurch ist vermutlich schon eine höhere Störanfälligkeit gegeben. Der Fingerplethmograph wurde den Probanden am rechten Zeigfinger angelegt und fixiert. Dies war notwendig, da die Probanden während des Messzyklus auf einem Balkon rauchen mussten und Handschuhe trugen. Diese Maßnahmen können zu einer erhöhten Störanfälligkeit führen und dadurch Messfehler hervorrufen. Eine Blutdruckmanschette hatten die Probanden während der Intervention nicht getragen, sondern es wurde die Messungen vor und nach der Intervention bei gleichmäßigen Innentemperaturen durchgeführt und per Knopfdruck am SOMNOwatch™ Modul markiert. Auf Grund der vermehrten Artefakte (Bewegung durch Zittern etc.) in dieser Studie ist nur eine eingeschränkte Aussage möglich.

5.6.1 Herzfrequenz

Die Herzfrequenzmessung erfolgte mit Hilfe des Finger- Plethysmographen der SOMNOwatch™. Um eine verbesserte Veranschaulichung zu gewährleisten, wurde das Hauptaugenmerk auf definierte Messzeitpunkte gelegt. Bei der Betrachtung der Ergebnisse, zeigten sich während der Messungen keine extremen Schwankungen der Herzfrequenz. Bei drei Probanden konnten auf Grund von technischen Problemen keine Daten ermittelt werden. Bei der Begutachtung der graphischen Darstellung konnten einige Artefakte erkannt werden, sodass man bei den ermittelten Daten diese trotzdem mit Vorsicht betrachten sollte. Um eine genauere Aussagekraft treffen zu können, müsste das Studiensetting gegeben falls angepasst werden. In dieser Studie mussten die Probanden den Fingerplethysmographen an dem linken Zeigfinger tragen. Da es aus brandschutztechnischen Gründen nur möglich gewesen ist auf einem Balkon die Rauchintervention durchzuführen und somit das Rauchen tagesabhängigen Temperaturschwankungen unterlag, sodass die Probanden mit Handschuhen Rauchen mussten, könnte dies eine Irritation des Sensors gewesen sein, die zu Artefakten geführt haben könnte. Benowitz et al. beschreiben, dass Nikotin in normalen Dosen die Herzfrequenz und den Blutdruck steigern und in hohen (toxischen) Dosen zu einer Hypotonie und Bradykardie, wie etwa bei einer Nikotinvergiftung führen können (136). In dieser Studie lag die Nikotinkonzentration in einem normalen Verhältnis vor. Ob die Herzfrequenzsteigerung auf das Rauchen zurückzuführen ist, lässt sich nicht abschließend klären, auch wenn eine optimale Messqualität und Messsituation vorhanden gewesen wäre. Auch andere Faktoren in der sich die Probanden zur Zeit der Studie begeben, wie eine psychische Belastung auf Grund der Situation einer Untersuchung (Berührung einer fremden Person), die Venenpunktion mit Blutentnahme, können eine Beeinflussung auf die physiologische Herzfrequenz haben und somit eine Steigerung hervorrufen.

Da die Probanden aufgefordert wurden alle 45 Sekunden einen möglichst tiefen Zug über das Mundstück zu nehmen und dies über einen Zeitraum von 30 Minuten durchzuführen, wäre eine atemsynchronen Variation der Herzfrequenz anzunehmen (205).

Proband 003	
Zeit nach dem Beginn der Inhalation/sek	Herzfrequenz /bpm
00:01	74
00:02	105
00:03	124
00:04	81
00:05	80
00:06	74
00:07	73
00:08	72
00:09	71
00:10	69

Tabelle 18: Tabellarische Darstellung der Herzfrequenz eines Probanden aus dem Report der SOMNOwatch™.

In der oben aufgeführten Tabelle des Probanden 003 vom 19.2.2016. Die Messungen erfolgten ca. alle 600 ms. In der linken Spalte werden die Messzeiten in Sekunden während der Versuchszeit angegeben, in der rechten Spalte die dazu gemessenen Herzfrequenzen. Man erkennt eine deutliche Schwankung der Herzfrequenz in den ersten Sekunden. Eine physiologische Herzfrequenzschwankung in diesem Ausmaß ist nicht einem physiologischen Prozess erklärbar. Zum Zeitpunkt der Studie hat keiner der Probanden an einer Arrhythmie gelitten, sodass von einem Messfehler oder einem technischen Fehler ausgegangen werden muss.

Auf Grunde der bereits beschriebenen Messsituation und den in der Tabelle 19 aufgezeigten Messfehler, ist eine abschließende Aussage über eine Beeinflussung der Herzfrequenz durch das Rauchen der Shisha nicht abschließend möglich.

5.6.2 Herzfrequenzvariabilität (HRV) und sympathovagale Balance (SVB)

Die Herzfrequenzvariabilität (HRV; Akzeleration/ Dezeleration) ist ein Indikator für die Anpassbarkeit der Herzfrequenz und kann somit zur Beurteilung für das Zusammenspiel zwischen Sympathikus und Parasympathikus herangezogen werden (206). In den Achtziger- und neunziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts vermutete man, dass sich die Ermittlung und Interpretation der HRV einfach darstellen würde, da man hauptsächlich von intrinsischen Faktoren ausging (207,208). Mit zunehmender Zeit wurden allerdings immer mehr Zweifel an der Aussagekraft des Messverfahrens laut (209,210). Eine negative Beeinflussung der HRV kann unter anderem durch das Rauchen oder Übergewicht erfolgen. Auch spielen externe Faktoren bei der Beeinflussung eine Rolle. Das Alter und das Geschlecht müssen bei

der Beurteilung der Ergebnisse richtig eingeordnet werden und können nicht in direkten Vergleich gesetzt werden (206). Pop et al. beschreiben, dass die Exposition von umweltbedingtem Tabakrauch, die autonome Herzfrequenz verringert und somit die HRV abnimmt. Dies bedeutet im Umkehrschluss, dass eine Verbindung zwischen HRV-Abnahme und einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität bestehen könnte (211). Kleiger et al., konnte in einer Follow-up Studie bei Patienten mit einem Zustand nach einem Herzinfarkt zeigen, dass eine verringerte HRV ein starker unabhängiger Prädiktor für ein erhöhtes Mortalitätsrisiko ist (208). Huikuri et al. konnten in ihrer Studie den prognostischen Wert der Herzfrequenzvariabilität in Frage stellen (212) und Compostella et al. konnten sogar die prognostische Wertigkeit durch ihre Studie widerlegen (213).

In unserer Studie lag bei keinem der Probanden im Vergleich zu anderen Studien eine kardiovaskuläre Erkrankung vor. Es konnte zwar gezeigt werden, dass das Rauchen einer Shisha die SVB und die HRV während der Intervention beeinflusst, jedoch konnte keine definitive Aussage getroffen werden, ob Zusammenhänge zwischen dem Rauchen einer Shisha, der sympathovagalen Balance und der Mortalität bestehen. Während der Intervention, konnte ein signifikanter Anstieg der SVB um 62,10% und der HRV von 80,97% beobachtet werden.

Das das Nikotin eine Beeinflussung auf das Gleichgewichts des sympathischen und parasympathischen Systems hat, wurde bereits von Benowitz et al. beschrieben (214). Ob weitere Faktoren vorlagen, die eine mögliche Zunahme der HRV und SVB bei der Studienpopulation hervorgerufen haben könnten, lässt sich durch die vorliegenden Ergebnisse nicht abschließend klären und bedürfte weiterer Forschungen.

In Gesamtbetrachtung der Ergebnisse der Gesamtpopulation der Shisha- Acute Studie, konnte allerdings kein signifikanter Unterschied der FMD/FMC gemessen werden. Bei der Ermittlung der Laserdoppler Werte konnte in der Gesamtpopulation bei der HRV und der SVB ein deutlicher und somit signifikanter Unterschied aufgezeigt werden.

Während der Intervention wurden die Probanden aufgefordert alle 45 Sekunden und über einen Zeitraum von 30 Minuten einen möglichst tiefen Zug über das Mundstück zu nehmen. Wenn man diese Herangehensweise mit der vorliegenden Literatur

vergleicht, könnte davon ausgegangen werden, dass der Anstieg der HRV und somit der SVB ein physiologischer Anstieg ist und keine pharmakologische Wirkung des Nikotins, weiteren Bestandteilen des Nikotins oder der Kohle. Vergleicht man die Ergebnisse dieser Studie mit den Ergebnissen in dem Review von Billman et al., ergeben sich Hinweise, dass die Gefahr der falschen Interpretation der sympathovagalen Balance bestehen könnte, da zahlreiche Einflüsse wie beispielsweise Atemparameter oder mechanische Einflüsse die HRV beeinflussen können (209). In der Übersichtarbeit von Billmann et al. werden noch zahlreiche weitere Veröffentlichungen zitiert, die Einflüsse auf die R-R- Abstände im EKG vornehmen (209).

5.7 Methodenkritik

Vor der Durchführung der Shisha- Acute Studie wurden definierte Standards und Protokolle festgelegt, welche auch strikt befolgt worden sind. Diese wurden bei der Aufklärung der Probanden, den Materialien und bei der Durchführung der Untersuchungen angewendet und mit Hilfe einer vordefinierten Checkliste wurde ein reibungsloser Ablauf der Versuchsschritte abgehakt. Die Messinstrumente unterliegen einer regelmäßigen Prüfung. Greyling et al. zeigten bei einer Untersuchung von mehreren Studien, dass das Einhalten von Richtlinien während der Untersuchung mit einer deutlich geringeren Variation der Ergebnisse der FMD der Arteria brachialis einhergeht (215). Es wird empfohlen eine gründliche praktische Schulung zu durchlaufen und mindestens 100 Messungen unter Aufsicht durchzuführen, bevor selbstständige Scans geleitet und durchgeführt werden sollten. Ebenso sollten pro Jahr 100 Scans durchgeführt werden, um die Kompetenz der Ausführung des Untersuchers aufrecht zu halten. Diese und andere Qualitätsanforderungen konnten in der Shisha- Acute Studie eingehalten werden. Auch wenn von Seiten des Untersuchers und seines Teams eine präzise Aufklärung der Probanden erfolgte, konnte man keine einhundertprozentige Sicherheit haben, ob die Probanden die nötige Compliance besitzen sich an die Anforderungen zu halten. Für einen reibungslosen Ablauf wurden die Probanden vor Ihrem Termin telefonisch und via E-Mail noch einmal über die Einhaltung der Anforderungen unterrichtet. Das impliziert den Hinweis, vier Stunden vor dem Versuch keine Nahrung zu sich zu nehmen und unmittelbar vor dem Versuch keinen Sport mehr zu betreiben. Dies beinhaltete auch, dass die Anreise nicht mit dem Fahrrad erfolgen sollte. Auch sollten die rauchenden Probanden zwölf Stunden vor dem Versuch keine nikotinhaltigen Produkte zu sich nehmen.

Um diese Störfaktoren zu vermeiden, hätten sich die Probanden in einem stationären Setting befinden müssen, um eine hundertprozentige Sicherheit zu gewährleisten, dies ist allerdings als unverhältnismäßig in Bezug auf die Studie angesehen worden. Es handelt sich um zwei unterschiedlich Probandenkollektive, bei denen anzunehmen ist, dass die nichtrauchenden Probanden einen gesünderen Lebensstil pflegen und somit ein niedrigeres kardiovaskuläres Risiko haben.

Da bei der Studie auch eine invasive Messmethode in Form einer Venenpunktion durchgeführt wurde, muss auch dies als wichtiger Störfaktor angesehen werden. Hierbei kommt es zur Freisetzung von Katecholaminen und anderen Substanzen,

welche die primäre und sekundäre Hämostase aktivieren und somit die laborchemischen Ergebnisse beeinflussen können.

Die weiblichen Studienteilnehmer unterliegen ihrem Menstruationszyklus, der ebenfalls als Störfaktor anzusehen ist. Hashimoto et al. fanden heraus, dass der Menstruationszyklus einen Einfluss auf die FMD nimmt (216). Der Menstruationszyklus wurde in der Shisha- Acute Studie nicht mit aufgenommen, da es nicht um den Vergleich von Absolutwerten an verschiedenen Tagen ging, sondern um die Frage individueller Auswirkungen. Daher besteht nicht die Gefahr, dass dieser Faktor die Ergebnisse der Arbeit beeinflussen. Auf Grund des weiblichen Probandenkollektiv, wurde auch die Kontrazeption mitbetrachtet. Acht Frauen gaben an aktuell zu verhüten. Um eine bessere Aussagekraft in folgenden Studien zu erhalten, könnten diese Probanden daher ausgeschlossen werden, um eine bessere Vergleichbarkeit zu erhalten. Da bei der Studie 24 Teilnehmerinnen vorhanden waren, mit einem medianen Alter von 26,2 Jahren, von den ein Drittel eine hormonelle Kontrazeption eingenommen hatten, würde ein Ausschluss aller weiblichen Teilnehmerinnen mit hormoneller Kontrazeption zu einem höheren relativen Anteil von männlichen Probanden führen. Aus diesem Grund wurden keine weiblichen Teilnehmer mit hormoneller Kontrazeption ausgeschlossen.

5.8 Beitrag zum aktuellen Stand der Forschung

Da das Shisha- Rauchen in den letzten Jahren bei Jugendlichen zu einem hohen gesellschaftlichen Aspekt geworden ist, ist es wichtig in der Zukunft eine intensivere Aufklärung darüber zu führen, dass das Rauchen von Shisha's keine gesündere Alternative zum herkömmlichen Genuss von Zigaretten ist. Während der Shisha- Acute Studie, wurde eine hohen Intensität bezüglich der Inhalationsfrequenz durchgeführt, welche im Normalfall deutlich geringer ausfällt. Daher können einige Parameter vor, während und nach dem Rauchen einer starken Schwankung im Vergleich zum regulären Konsum vorhanden sein. Demzufolge ist es wichtig, ein Umdenken der Konsumenten zu erreichen. Die Veröffentlichung dieser Studie ist also nicht nur von wissenschaftlicher, sondern insbesondere von hohem gesellschaftlichem Wert.

5.9 Ausblick

Das Rauchen von Shisha-Tabak ist bereits seit Jahrhunderten etabliert und hat in den letzten Jahren weiterer Beliebtheit, vor allem bei Jugendlichen in den westlichen Industrieländern zwischen 18 und 24 Jahren erlangt. Diese Altersgruppe zeigt auch die höchsten Raten an tabakhaltigen Wasserpfeifenkonsum (217). Obwohl die mit dem Rauchen von traditionellen Wasserpfeifen verbundenen Gesundheitsrisiken bekannt sind, nimmt die Prävalenz des Konsums vor allen in den USA weiter zu (217). Angesichts der hohen Konsumraten der traditionellen Wasserpfeife und E-Zigaretten bei jungen Erwachsenen, gibt es Grund zu der Annahme, dass die elektronische Wasserpfeife das Potenzial hat, eine beliebte Methode des Nikotinkonsums werden. Möglicherweise könnte wie bei den E-Zigaretten, diese Art des Rauchens irrtümlicherweise zu einer positiven Wahrnehmung führen, es läge ein geringeres Suchtpotential und ein geringeres Gesundheitsrisiko vor und dass somit der Konsum von elektronischen Wasserpfeifen zunimmt (218). Es werden weitere Forschungen nötig sein, um zu klären, in welcher Form der Durchgang des Aerosols durch Wasser die Nikotin- und Toxinexposition beeinflusst. Darüber hinaus ist es notwendig, den Genuss des Rauchens zu verstehen, das für die E-Zigarette möglicherweise einzigartig ist. Zum Beispiel werden bei der Verwendung einer E-Zigarette kürzere und leichtere Züge empfohlen, während traditionelle Wasserpfeifen-Raucher dazu neigen, längere und tiefere Züge zu nehmen. Es ist nicht bekannt, ob traditionelle Wasserpfeifen-Konsumenten, die auf elektronische Wasserpfeifen umsteigen, ihr Zugverhalten ändern oder weiterhin auf ähnliche Weise wie traditionelle Wasserpfeifen rauchen (218).

Allen et al. zeigten, dass viele Aromastoffe in E-Liquids als unsicher in ihren Auswirkungen gelten und gesundheitsschädlich sind (219). Daher ist davon auszugehen, dass die elektronische Wasserpfeife ebenfalls ähnliche Gesundheitsrisiken in sich birgt. Bevor jedoch umfassende Regulierungsmaßnahmen für die EWP erlassen werden können, ist ein tieferes Verständnis der Nutzungsmuster, der potenziellen Risiken, der Exposition und der Abhängigkeit erforderlich (218).

Ein Großteil des Tabakkonsums beginnt bereits im Kindes- oder Jugendalter, Achtzig Prozent der Raucher beginnen mit dem Rauchen im Alter von 18 Jahren. Während jedoch viele Jugendliche das Rauchen von Zigaretten ausprobieren, werden nur 20–

25 % derjenigen, die mit Zigaretten experimentieren, zu süchtigen erwachsenen Rauchern. Zu den Risikofaktoren für das Rauchen unter Jugendlichen zählen der Einfluss von Gleichaltrigen und Eltern, Verhaltensprobleme, zum Beispiel schlechte schulische Leistungen, Persönlichkeitsmerkmale wie Aufsässigkeit oder Risikobereitschaft, Depression und Angstzustände und genetische Einflüsse (214). Daher sollte bereits frühestmöglich eine sorgfältige Aufklärung erfolgen.

Schon im Jahr 2000 wurde durch Saloojee et al. die große Herausforderung in der Regulierung für Wasserpfeifentabak gesehen, da es zu einer starken Zunahme an Produzenten, Importeuren und Herstellern von Wasserpfeifentabak und Zubehör gekommen ist (220).

Da in der in der heutigen Zeit über soziale Medien wie Instagram, vereinfacht wird für Produkte wie Wasserpfeifen oder E- Wasserpfeifen zu werben, sollte ein größeres Interesse darin bestehen, diesen Vermarktungsweg zu regulieren. Ben Taleb et al. untersuchten dies in ihrer Inhaltsanalyse bei 279 Instagram Einträgen und fanden heraus, dass eine durchweg positive Darstellung des Shisha- Konsums vorlag (221). Viele Social-Media-Nutzer durchsuchen Inhalte über Hashtags oder folgen ausländischen Konten und sind somit nicht nur der inländischen Shisha-Werbung ausgesetzt, sondern auch Produkten und Werbeaktionen aus anderen Ländern (221). Zwar werden durch die der grenzüberschreitenden Werbebestimmungen des WHO-Rahmenübereinkommens zur Eindämmung des Tabakkonsums in Artikel 13 Richtlinien festgelegt, dass sogenannte „Content-Hosts“ verpflichtet sein sollten, Tabakwerbung, Verkaufsförderung und Sponsoring einmalig zu entfernen oder den Zugang dazu zu sperren, allerdings stellt das eine große Herausforderung für eine Restriktion dar (222).

Abschließend kann man sagen, dass es eine große Herausforderung bleibt, eine einheitliche Regulierung für das Bewerben von Tabakwaren nicht nur auf nationaler, sondern vor allem auf globaler Ebene einzurichten um den ansteigenden Konsum von tabakhaltigen Rauchprodukten, wie auch elektronischen Rauchwaren einzudämmen.

6 Zusammenfassung

Das Rauchen von Shishas wird schon seit Jahrhunderten praktiziert und hat in den letzten Jahren auch in den westlichen Industrieländern an Beliebtheit gewonnen. Gerade Jugendliche und junge Erwachsene rauchen Shishas in speziellen Bars, Cafés oder im privaten Umfeld. Dabei wird immer wieder suggeriert, dass das Rauchen einer Shisha im Vergleich zum normalen Zigarettenrauchen eine gesündere Alternative sei. Das Schädigungspotential von herkömmlichen Zigaretten auf das kardiovaskuläre System wurde bereits in vielen früheren großen Studien erforscht und dargelegt. Neben den zahlreichen Noxen im Zigarettenrauch nimmt allerdings auch auf zellulärer Ebene der oxidative Stress, der durch Verbrennungsprodukte entsteht, eine zentrale Komponente in den pathophysiologischen Prozessen ein.

Durch die unterschiedlichen Geschmacksrichtungen des Tabaks, wird dem Raucher eine angenehmere Wahrnehmung vermittelt, sodass das Gefühl entstehen kann, eine gesündere Rauchalternative zu haben. Darüber hinaus wird das Rauchen der Shisha eher in Gesellschaft praktiziert, sodass ein sozialer Anreiz als möglicher Grund des Konsums festgehalten werden kann. Das Ziel dieser Arbeit war es, einen wissenschaftlichen Beitrag zum Verständnis der Wirkung des Shisharauchens auf das kardiovaskuläre System zu leisten.

Mit Hilfe der flussvermittelten Dilatation (FMD) konnte eine Quantifizierung der vaskulären Gesundheit ermittelt werden. Seit Jahren wird die FMD bereits als ein nichtinvasives Verfahren von hoher Reproduzierbarkeit und Validität in der kardiovaskulären Forschung eingesetzt. Durch eine Vielzahl von Studien konnte die FMD als Prognosemethode zur Vorbeugung einer Einschränkung der Endothelfunktion und Manifestation einer Atherosklerose eingesetzt werden, die wiederum mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse und Mortalität korreliert.

Um die Hauptfragestellung dieser Studie zu beantworten, wurde die ultraschallgestützte Messung der FMD bei der Studienpopulation (43 Nichtraucher und 8 Raucher) vor und nach dem Rauchen gemessen. Die Messung erfolgte an der A. brachialis sinistra. Parallel dazu, wurde am linken Thenar die Mikrozirkulation mit Hilfe der Laserdoppler- Technologie untersucht und durch ein zusätzliches Modul die

Vitalparameter aufgezeichnet und später mit Hilfe einer Software ausgewertet. Es konnte gezeigt werden, dass bei Betrachtung der Gesamtpopulation kein signifikanter Unterschied der FMD vor und nach dem Rauchen auftrat.

Die Auswertung der Laserdoppler Ergebnisse konnte zwar eine Steigerung der HRV und SVB während der Intervention zeigen, jedoch lag hier keine eindeutige Signifikanz vor, da auch physiologische Einflüsse dazu geführt haben könnten.

Abschließend ist festzuhalten, dass auf Grund der Ergebnisse der Shisha- Acute Studie keine eindeutige und abschließende Aussage getroffen werden kann, ob das Rauchen einer Shisha einen signifikanten Einfluss auf die Endothelfunktion hat. Es werden weitere klinische Studien nötig sein, um diese Frage weiter beantworten zu können.

7 Literaturverzeichnis

1. Münzel T, Hahad O, Kuntic M, Keaney JF, Deanfield JE, Daiber A. Effects of tobacco cigarettes, e-cigarettes, and waterpipe smoking on endothelial function and clinical outcomes. *European Heart Journal*. 1. November 2020;41(41):4057–70.
2. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*. Mai 2004;43(10):1731–7.
3. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*. April 1993;362(6423):801–9.
4. Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature*. 22. April 2021;592(7855):524–33.
5. WHO global report on trends in prevalence of tobacco use 2000-2025, third edition.
6. Daiber A, Steven S, Weber A, Shuvaev VV, Muzykantov VR, Laher I, u. a. Targeting vascular (endothelial) dysfunction: Targeting vascular (endothelial) dysfunction. *British Journal of Pharmacology*. Juni 2017;174(12):1591–619.
7. Lekakis J, Papamichael C, Vemmos C, Stamatelopoulos K, Voutsas A, Stamatelopoulos S. Effects of Acute Cigarette Smoking on Endothelium-Dependent Arterial Dilatation in Normal Subjects. *The American Journal of Cardiology*. Mai 1998;81(10):1225–8.
8. Neergaard J, Singh P, Job J, Montgomery S. Waterpipe smoking and nicotine exposure: A review of the current evidence. *Nicotine & Tobacco Res*. Oktober 2007;9(10):987–94.
9. Maziak W, Taleb ZB, Bahelah R, Islam F, Jaber R, Auf R, u. a. The global epidemiology of waterpipe smoking. *Tob Control*. März 2015;24(Suppl 1):i3–12.
10. Maziak W. The Waterpipe: A New Way of Hooking Youth on Tobacco: Waterpipe and Tobacco Dependence. *Am J Addict*. März 2014;23(2):103–7.
11. Eissenberg T, Bhatnagar A, Chapman S, Jordt SE, Shihadeh A, Soule EK. Invalidity of an Oft-Cited Estimate of the Relative Harms of Electronic Cigarettes. *Am J Public Health*. Februar 2020;110(2):161–2.
12. Primack BA, Shensa A, Kim KH, Carroll MV, Hoban MT, Leino EV, u. a. Waterpipe smoking among U.S. university students. *Nicotine Tob Res*. Januar 2013;15(1):29–35.
13. KiGGS Study Group, Kuntz B, Lampert T. Wasserpfeifenkonsum (Shisha-Rauchen) bei Jugendlichen in Deutschland: Ergebnisse der KiGGS-Studie – Erste Folgebefragung (KiGGS Welle 1). *Bundesgesundheitsbl*. April 2015;58(4–5):467–73.
14. Rastam S, Ward KD, Eissenberg T, Maziak W. Estimating the beginning of the waterpipe epidemic in Syria. *BMC Public Health*. Dezember 2004;4(1):32.
15. Fielder RL, Carey KB, Carey MP. Hookah, cigarette, and marijuana use: A prospective study of smoking behaviors among first-year college women. *Addictive Behaviors*. November 2013;38(11):2729–35.
16. Mzayek F, Khader Y, Eissenberg T, Al Ali R, Ward KD, Maziak W. Patterns of Water-Pipe and Cigarette Smoking Initiation in Schoolchildren: Irbid Longitudinal Smoking Study. *Nicotine & Tobacco Research*. 1. April 2012;14(4):448–54.
17. Lüllmann-Rauch R, Asan E. Taschenbuch Histologie. 5., vollst. überarb. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2015. 726 S.
18. Ulfing N. Kurzlehrbuch Histologie: nach dem neuen GK 1. 2., korrigierte Aufl. Stuttgart: Thieme; 2005. 264 S.
19. Welsch U, Kummer W, Deller T. Histologie: Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie: das Lehrbuch. 6. Auflage. München: Elsevier; 2022. 743 S.
20. Puranik R, Celermajer DS. Smoking and endothelial function. *Progress in Cardiovascular Diseases*. Mai 2003;45(6):443–58.
21. Welsch U, Deller T, Kummer W. Lehrbuch Histologie. 4. Auflage. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2014. 699 S.
22. Robbins RA, Grisham MB. Nitric oxide. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. Juni 1997;29(6):857–60.

23. Cyr AR, Huckaby LV, Shiva SS, Zuckerbraun BS. Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. *Critical Care Clinics*. April 2020;36(2):307–21.
24. Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, Murad F. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc Natl Acad Sci USA*. August 1977;74(8):3203–7.
25. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J*. Juli 1989;3(9):2007–18.
26. NobelPrize.org [Internet]. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1998.
27. Horn F. *Biochemie des Menschen: das Lehrbuch für das Medizinstudium*. 6., überarbeitete Auflage. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag; 2015. 704 S.
28. Mullershausen F. NO-sensitive guanylyl cyclase and NO-induced feedback inhibition in cGMP signaling. *Front Biosci*. 2005;10(1–3):1269.
29. Pape HC, Klinke R, Brenner B, Herausgeber. *Physiologie*. 7., vollst. überarb. und erw. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2014. 1024 S.
30. Förstermann U, Münzel T. Endothelial Nitric Oxide Synthase in Vascular Disease: From Marvel to Menace. *Circulation*. 4. April 2006;113(13):1708–14.
31. Radomski MW, Vallance P, Whitley G, Foxwell N, Moncada S. Platelet adhesion to human vascular endothelium is modulated by constitutive and cytokine induced nitric oxide. *Cardiovascular Research*. 1. Juli 1993;27(7):1380–2.
32. Li H. Uncoupling of endothelial NO synthase in atherosclerosis and vascular disease. *Current Opinion in Pharmacology*. 2013;7.
33. Napoli C, Ignarro LJ. Nitric Oxide and Atherosclerosis. *Nitric Oxide*. April 2001;5(2):88–97.
34. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochemical Journal*. 1. August 2001;357(3):593–615.
35. Moncada S, Higgs EA. Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest*. August 1991;21(4):361–74.
36. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*. 1. April 2012;33(7):829–37.
37. Rochette L, Lorin J, Zeller M, Guillard JC, Lorgis L, Cottin Y, u. a. Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: Possible therapeutic targets? *Pharmacology & Therapeutics*. Dezember 2013;140(3):239–57.
38. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochemical Journal*. 1. März 1994;298(2):249–58.
39. Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflügers Arch - Eur J Physiol*. Mai 2010;459(6):923–39.
40. Zhang Y, Lee TS, Kolb EM, Sun K, Lu X, Sladek FM, u. a. AMP-Activated Protein Kinase Is Involved in Endothelial NO Synthase Activation in Response to Shear Stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. Juni 2006;26(6):1281–7.
41. Fulton D, Gratton JP, McCabe TJ, Fontana J, Fujio Y, Walsh K, u. a. Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt. *Nature*. 10. Juni 1999;399(6736):597–601.
42. Reihill JA, Ewart MA, Hardie DG, Salt IP. AMP-activated protein kinase mediates VEGF-stimulated endothelial NO production. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. März 2007;354(4):1084–8.
43. Boulanger CM. Endothelium. *ATVB*. April 2016;36(4).
44. Ooi BK, Chan KG, Goh BH, Yap WH. The Role of Natural Products in Targeting Cardiovascular Diseases via Nrf2 Pathway: Novel Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches. *Front Pharmacol*. 15. November 2018;9:1308.
45. Leung SWS, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarization: age, gender and blood pressure, do they matter? *Acta Physiol*. Januar 2017;219(1):108–23.

46. Suryavanshi SV, Kulkarni YA. NF- κ B: A Potential Target in the Management of Vascular Complications of Diabetes. *Front Pharmacol.* 7. November 2017;8:798.
47. Sies H. Biochemistry of Oxidative Stress. *Angew Chem Int Ed Engl.* Dezember 1986;25(12):1058–71.
48. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. *Antioxidants & Redox Signaling.* März 2014;20(7):1126–67.
49. Jakubczyk K, Dec K, Kałduńska J, Kawczuga D, Kochman J, Janda K. Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage. *Pol Merkur Lekarski.* 22. April 2020;48(284):124–7.
50. Daiber A, Oelze M, Steven S, Kröller-Schön S, Münzel T. Taking up the cudgels for the traditional reactive oxygen and nitrogen species detection assays and their use in the cardiovascular system. *Redox Biology.* August 2017;12:35–49.
51. Gryglewski RJ, Palmer RMJ, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature.* April 1986;320(6061):454–6.
52. Beckmann JS, Ye YZ, Anderson PG, Chen J, Accavitti MA, Tarpey MM, u. a. Extensive Nitration of Protein Tyrosines in Human Atherosclerosis Detected by Immunohistochemistry. *Biological Chemistry Hoppe-Seyler.* Januar 1994;375(2):81–8.
53. White CR, Brock TA, Chang LY, Crapo J, Briscoe P, Ku D, u. a. Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* Februar 1994;91(3):1044–8.
54. Radi R. Peroxynitrite, a Stealthy Biological Oxidant. *Journal of Biological Chemistry.* September 2013;288(37):26464–72.
55. Chen CA, Wang TY, Varadharaj S, Reyes LA, Hemann C, Talukder MAH, u. a. S-glutathionylation uncouples eNOS and regulates its cellular and vascular function. *Nature.* Dezember 2010;468(7327):1115–8.
56. Schulz E, Wenzel P, Münzel T, Daiber A. Mitochondrial Redox Signaling: Interaction of Mitochondrial Reactive Oxygen Species with Other Sources of Oxidative Stress. *Antioxidants & Redox Signaling.* 10. Januar 2014;20(2):308–24.
57. Chen CA, Wang TY, Varadharaj S, Reyes LA, Hemann C, Talukder MAH, u. a. S-glutathionylation uncouples eNOS and regulates its cellular and vascular function. *Nature.* Dezember 2010;468(7327):1115–8.
58. Schulz E, Gori T, Münzel T. Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. *Hypertens Res.* Juni 2011;34(6):665–73.
59. Crabtree MJ, Hale AB, Channon KM. Dihydrofolate reductase protects endothelial nitric oxide synthase from uncoupling in tetrahydrobiopterin deficiency. *Free Radical Biology and Medicine.* Juni 2011;50(11):1639–46.
60. Schulz E, Jansen T, Wenzel P, Daiber A, Münzel T. Nitric Oxide, Tetrahydrobiopterin, Oxidative Stress, and Endothelial Dysfunction in Hypertension. *Antioxidants & Redox Signaling.* Juni 2008;10(6):1115–26.
61. Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, u. a. Mechanisms Underlying Endothelial Dysfunction in Diabetes Mellitus. *Circulation Research.* 2. Februar 2001;88(2).
62. Pritchard KA, Groszek L, Smalley DM, Sessa WC, Wu M, Villalon P, u. a. Native Low-Density Lipoprotein Increases Endothelial Cell Nitric Oxide Synthase Generation of Superoxide Anion. *Circulation Research.* September 1995;77(3):510–8.
63. Stroes E, Kastelein J, Cosentino F, Erkelens W, Wever R, Koomans H, u. a. Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in hypercholesterolemia. *J Clin Invest.* 1. Januar 1997;99(1):41–6.
64. Ganguly P, Alam SF. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutrition Journal.* 10. Januar 2015;14(1):6.

65. Shenoy V, Mehendale V, Prabhu K, Shetty R, Rao P. Correlation of Serum Homocysteine Levels with the Severity of Coronary Artery Disease. *Ind J Clin Biochem*. Juli 2014;29(3):339–44.
66. Münzel T, Daiber A, Mülsch A. Explaining the Phenomenon of Nitrate Tolerance. *Circulation Research*. 30. September 2005;97(7):618–28.
67. Rassow J, Herausgeber. *Biochemie: 50 Tabellen*. Stuttgart: Thieme; 2006. 836 S. (Duale Reihe).
68. Brandes R, Lang F, Schmidt RF, Herausgeber. *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie*. 32. korrigierte Auflage. Berlin: Springer; 2019. 1057 S. (Springer-Lehrbuch).
69. Rosenfeld ME. Inflammation and atherosclerosis: direct versus indirect mechanisms. *Current Opinion in Pharmacology*. 2013;7.
70. Finking G, Hanke H. Nikolaj Nikolajewitsch Anitschkow (1885–1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. *Atherosclerosis*. November 1997;135(1):1–7.
71. Förstermann U, Xia N, Li H. Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circ Res*. 17. Februar 2017;120(4):713–35.
72. Claus J, Fechner C, Zimpfer A, Erbersdobler A. *Kurs Allgemeine Pathologie: Mit AMBOSS-Verknüpfung*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019.
73. Liu V, Huang P. WITHDRAWN: Cardiovascular roles of nitric oxide: A review of insights from nitric oxide synthase gene disrupted mice. *Cardiovascular Research*. 30. Juni 2007;S0008636307003033.
74. Tsihlis ND, Oustwani CS, Vavra AK, Jiang Q, Keefer LK, Kibbe MR. Nitric Oxide Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Neointimal Hyperplasia by Increasing the Ubiquitination and Degradation of UbcH10. *Cell Biochem Biophys*. Juni 2011;60(1–2):89–97.
75. Falk E. Pathogenesis of Atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*. April 2006;47(8):C7–12.
76. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. *Cell*. Februar 2001;104(4):503–16.
77. Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *American Society for Clinical Investigation*; 1991.
78. Riede UN, Riede FN. Arterien. In: Riede UN, Werner M, Herausgeber. *Allgemeine und Spezielle Pathologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2017. S. 279–91. (Springer-Lehrbuch).
79. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*. Mai 2011;473(7347):317–25.
80. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol*. März 2011;12(3):204–12.
81. Wagner DD, Frenette PS. The vessel wall and its interactions. *Blood*. 1. Juni 2008;111(11):5271–81.
82. Lawson C, Wolf S. ICAM-1 signaling in endothelial cells. *Pharmacological Reports*. Januar 2009;61(1):22–32.
83. Pant S, Deshmukh A, GuruMurthy GS, Pothineni NV, Watts TE, Romeo F, u. a. Inflammation and Atherosclerosis—Revisited. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. März 2014;19(2):170–8.
84. Ghosh AK, Vaughan DE. PAI-1 in Tissue Fibrosis. *J Cell Physiol*. Februar 2012;227(2):493–507.
85. Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb Haemost*. August 2005;3(8):1879–83.
86. Hamsten A, Wiman B, de Faire U, Blombäck M. Increased Plasma Levels of a Rapid Inhibitor of Tissue Plasminogen Activator in Young Survivors of Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 19. Dezember 1985;313(25):1557–63.

87. Khoukaz HB, Ji Y, Braet DJ, Vadali M, Abdelhamid AA, Emal CD, u. a. Drug Targeting of Plasminogen Activator Inhibitor-1 Inhibits Metabolic Dysfunction and Atherosclerosis in a Murine Model of Metabolic Syndrome. *ATVB*. Juni 2020;40(6):1479–90.
88. Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *International Immunopharmacology*. Dezember 2021;101:107598.
89. Zamara E, Galastri S, Aleffi S, Petrai I, Aragno M, Mastrocola R, u. a. Prevention of severe toxic liver injury and oxidative stress in MCP-1-deficient mice. *Journal of Hepatology*. Februar 2007;46(2):230–8.
90. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. November 1980;288(5789):373–6.
91. Förstermann U, Neufang B. The endothelium-dependent vasodilator effect of acetylcholine: Characterization of the endothelial relaxing factor with inhibitors of arachidonic acid metabolism. *European Journal of Pharmacology*. August 1984;103(1–2):65–70.
92. Moncada S, Radomski MW, Palmer RMJ. Endothelium-derived relaxing factor. *Biochemical Pharmacology*. Juli 1988;37(13):2495–501.
93. Schreiber V. [EDRF-NO. The endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide]. *Cas Lek Cesk*. 10. Juli 1992;131(13):388–90.
94. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish RD, Yeung AC, u. a. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation*. Februar 1990;81(2):491–7.
95. Heitzer T, Ylä-Herttuala S, Luoma J, Kurz S, Münzel T, Just H, u. a. Cigarette Smoking Potentiates Endothelial Dysfunction of Forearm Resistance Vessels in Patients With Hypercholesterolemia: Role of Oxidized LDL. *Circulation*. April 1996;93(7):1346–53.
96. Heitzer T, Krohn K, Albers S, Meinertz T. Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation by increasing nitric oxide activity in patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia*. 26. Oktober 2000;43(11):1435–8.
97. Yu PK, Yu DY, Cringle SJ, Su EN. Tetrahydrobiopterin Reverses the Impairment of Acetylcholine-induced Vasodilatation in Diabetic Ocular Microvasculature. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. April 2001;17(2):123–9.
98. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, u. a. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *The Lancet*. November 1992;340(8828):1111–5.
99. Dawson EA, Alkarmi A, Thijssen DHJ, Rathore S, Marsman DE, Cable NT, u. a. Low-Flow Mediated Constriction is Endothelium-Dependent: Effects of Exercise Training After Radial Artery Catheterization. *Circ: Cardiovascular Interventions*. Oktober 2012;5(5):713–9.
100. Olsson RA, Gregg DE. Myocardial reactive hyperemia in the unanesthetized dog. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1. Februar 1965;208(2):224–30.
101. Corson MA, James NL, Latta SE, Nerem RM, Berk BC, Harrison DG. Phosphorylation of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Response to Fluid Shear Stress. *Circulation Research*. November 1996;79(5):984–91.
102. Vallance P, Collier J, Moncada S. EFFECTS OF ENDOTHELIUM-DERIVED NITRIC OXIDE ON PERIPHERAL ARTERIOLAR TONE IN MAN. *The Lancet*. Oktober 1989;334(8670):997–1000.
103. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrange D, u. a. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *Journal of the American College of Cardiology*. November 1995;26(5):1235–41.
104. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR, Lerman A. Long-Term Follow-Up of Patients With Mild Coronary Artery Disease and Endothelial Dysfunction. *Circulation*. 7. März 2000;101(9):948–54.
105. Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic Impact of Coronary Vasodilator Dysfunction on Adverse Long-Term Outcome of Coronary Heart Disease. *Circulation*. 25. April 2000;101(16):1899–906.

106. Stoner L, Sabatier MJ. Use of Ultrasound for Non-Invasive Assessment of Flow-Mediated Dilation. *JAT*. 2012;19(5):407–21.
107. Gori T, Dragoni S, Lisi M, Di Stolfo G, Sonnati S, Fineschi M, u. a. Conduit Artery Constriction Mediated by Low Flow. *Journal of the American College of Cardiology*. Mai 2008;51(20):1953–8.
108. Gori T, Grotti S, Dragoni S, Lisi M, Di Stolfo G, Sonnati S, u. a. Assessment of vascular function: flow-mediated constriction complements the information of flow-mediated dilatation. *Heart*. 15. Januar 2010;96(2):141–7.
109. Gori T, Dragoni S, Lisi M, Di Stolfo G, Sonnati S, Fineschi M, u. a. Conduit Artery Constriction Mediated by Low Flow. *Journal of the American College of Cardiology*. Mai 2008;51(20):1953–8.
110. Gori T, Parker JD, Munzel T. Flow-mediated constriction: further insight into a new measure of vascular function. *European Heart Journal*. 1. April 2011;32(7):784–7.
111. Levenson J, Simon A, Pithois-Merli I. Brachial arterial changes in response to wrist occlusion in normotensive and hypertensive men. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1. August 1987;253(2):H217–24.
112. Gori T, Muxel S, Damaske A, Radmacher MC, Fasola F, Schaefer S, u. a. Endothelial function assessment: flow-mediated dilation and constriction provide different and complementary information on the presence of coronary artery disease. *European Heart Journal*. Februar 2012;33(3):363–71.
113. Kommentar zu den Leitlinien (2018) der ESC und EACTS zur Myokardrevaskularisation.
114. Fredriksson I, Larsson M, Strömberg T. Measurement depth and volume in laser Doppler flowmetry. *Microvascular Research*. Juni 2009;78(1):4–13.
115. Kernick DP, Tooke JE, Shore AC. The biological zero signal in laser doppler fluximetry - origins and practical implications. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*. 23. Februar 1999;437(4):624–31.
116. Laser Doppler Perfusion Monitoring (LDPM). Perimed.
117. Bircher A, de Boer EM, Agner T, Wahlberg JE, Serup J. Guidelines for measurement of cutaneous blood flow by laser Doppler flowmetry: A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis *. *Contact Dermatitis*. Februar 1994;30(2):65–72.
118. Stiefel P, Moreno-Luna R, Vallejo-Vaz AJ, Beltrán LM, Costa A, Gómez L, u. a. Which parameter is better to define endothelial dysfunction in a test of postocclusive hyperemia measured by Laser-Doppler flowmetry? *Coronary Artery Disease*. Januar 2012;23(1):57–61.
119. Laser Doppler Perfusion Monitoring (LDPM). Perimed. Verfügbar unter: <https://www.perimed-instruments.com/content/laser-doppler-perfusion-monitoring-ldpm/>
120. Bagno A, Martini R. Wavelet analysis of the Laser Doppler signal to assess skin perfusion. In: 2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC). Milan: IEEE; 2015. S. 7374–7.
121. Jan YK, Brienza DM, Geyer MJ. Analysis of week-to-week variability in skin blood flow measurements using wavelet transforms. *Clin Physiol Funct Imaging*. September 2005;25(5):253–62.
122. Rossi M, Carpi A, Di Maria C, Galetta F, Santoro G. Absent post-ischemic increase of blood flowmotion in the cutaneous microcirculation of healthy chronic cigarette smokers. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2007;36(2):163–71.
123. Kvandal P, Landsverk SA, Bernjak A, Stefanovska A, Kvernmo HD, Kirkebøen KA. Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin. *Microvascular Research*. November 2006;72(3):120–7.
124. Michael Pittilo. Cigarette smoking, endothelial injury and cardiovascular disease: Smoking and endothelial injury. *International Journal of Experimental Pathology*. 25. Dezember 2001;81(4):219–30.

125. Goel R, Bitzer Z, Reilly SM, Trushin N, Foulds J, Muscat J, u. a. Variation in Free Radical Yields from U.S. Marketed Cigarettes. *Chem Res Toxicol.* 17. April 2017;30(4):1038–45.
126. Messner B, Bernhard D. Smoking and Cardiovascular Disease: Mechanisms of Endothelial Dysfunction and Early Atherogenesis. *ATVB.* März 2014;34(3):509–15.
127. Taylor AE, Johnson DC, Kazemi H. Environmental tobacco smoke and cardiovascular disease. A position paper from the Council on Cardiopulmonary and Critical Care, American Heart Association. *Circulation.* August 1992;86(2):699–702.
128. Kojda G. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovascular Research.* 15. August 1999;43(3):562–71.
129. Smith C. Particulate and vapor phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis.* Oktober 2001;158(2):257–67.
130. Bernhard D, Csordas A, Henderson B, Rossmann A, Kind M, Wick G. Cigarette smoke metal-catalyzed protein oxidation leads to vascular endothelial cell contraction by depolymerization of microtubules. *FASEB j.* Juli 2005;19(9):1096–107.
131. Yamaguchi Y, Haginaka J, Morimoto S, Fujioka Y, Kunitomo M. Facilitated nitration and oxidation of LDL in cigarette smokers. *Eur J Clin Invest.* März 2005;35(3):186–93.
132. Johnson HM, Gossett LK, Piper ME, Aeschlimann SE, Korcarz CE, Baker TB, u. a. Effects of Smoking and Smoking Cessation on Endothelial Function. *Journal of the American College of Cardiology.* Mai 2010;55(18):1988–95.
133. Craig WY, Palomaki GE, Haddow JE. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations: an analysis of published data. *BMJ.* 25. März 1989;298(6676):784–8.
134. Benowitz NL. Pharmacology of Nicotine: Addiction, Smoking-Induced Disease, and Therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1. Februar 2009;49(1):57–71.
135. Benowitz NL. NICOTINE ADDICTION. Primary Care: Clinics in Office Practice. September 1999;26(3):611–31.
136. Benowitz N. Clinical Pharmacology of Nicotine: Implications for Understanding, Preventing, and Treating Tobacco Addiction. *Clin Pharmacol Ther.* April 2008;83(4):531–41.
137. Benowitz NL, Hukkanen J, Jacob P. Nicotine Chemistry, Metabolism, Kinetics and Biomarkers. In: Henningfield JE, London ED, Pogun S, Herausgeber. *Nicotine Psychopharmacology.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. S. 29–60. (Hofmann FB, Reihenherausgeber. *Handbook of Experimental Pharmacology*; Bd. 192).
138. Benowitz NL. Pharmacology of Nicotine: Addiction and Therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* April 1996;36(1):597–613.
139. Zeller M. The Future of Nicotine Regulation: Key Questions and Challenges. *Nicotine & Tobacco Research.* 18. Februar 2019;21(3):331–2.
140. Mayer B. How much nicotine kills a human? Tracing back the generally accepted lethal dose to dubious self-experiments in the nineteenth century. *Arch Toxicol.* Januar 2014;88(1):5–7.
141. Braillon A. Nicotine Lethal Dose: Ignorance or Counterfeit? *The American Journal of Medicine.* Oktober 2015;128(10):e69.
142. Benowitz NL. Nicotine Addiction. Schwartz RS, Herausgeber. *N Engl J Med.* 17. Juni 2010;362(24):2295–303.
143. Benowitz NL, Burbank AD. Cardiovascular toxicity of nicotine: Implications for electronic cigarette use. *Trends in Cardiovascular Medicine.* August 2016;26(6):515–23.
144. Qasim H, Alarabi AB, Alzoubi KH, Karim ZA, Alshbool FZ, Khasawneh FT. The effects of hookah/waterpipe smoking on general health and the cardiovascular system. *Environ Health Prev Med.* Dezember 2019;24(1):58.

145. Piano MR, Benowitz NL, FitzGerald GA, Corbridge S, Heath J, Hahn E, u. a. Impact of Smokeless Tobacco Products on Cardiovascular Disease: Implications for Policy, Prevention, and Treatment: A Policy Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 12. Oktober 2010;122(15):1520–44.
146. Sun HJ, Wu ZY, Nie XW, Bian JS. Role of Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Link Between Inflammation and Hydrogen Sulfide. *Front Pharmacol*. 21. Januar 2020;10:1568.
147. Joseph AM, Norman SM, Ferry LH, Prochazka AV, Westman EC, Steele BG, u. a. The Safety of Transdermal Nicotine as an Aid to Smoking Cessation in Patients with Cardiac Disease. *N Engl J Med*. 12. Dezember 1996;335(24):1792–8.
148. Arefalk G, Hambræus K, Lind L, Michaëlsson K, Lindahl B, Sundström J. Discontinuation of Smokeless Tobacco and Mortality Risk After Myocardial Infarction. *Circulation*. 22. Juli 2014;130(4):325–32.
149. Khattab A, Javaid A, Iraqi G, Alzaabi A, Ben Kheder A, Koniski ML, u. a. Smoking habits in the Middle East and North Africa: Results of the BREATHE study. *Respiratory Medicine*. Dezember 2012;106:S16–24.
150. Shihadeh A. Investigation of mainstream smoke aerosol of the argileh water pipe. *Food and Chemical Toxicology*. Januar 2003;41(1):143–52.
151. Monn C, Kindler P, Meile A, Brandli O. Ultrafine particle emissions from waterpipes. *Tobacco Control*. 1. Dezember 2007;16(6):390–3.
152. Badran M, Laher I. Waterpipe (shisha, hookah) smoking, oxidative stress and hidden disease potential. *Redox Biology*. Juli 2020;34:101455.
153. Arany I, Hall S, Reed DK, Reed CT, Dixit M. Nicotine Enhances High-Fat Diet-Induced Oxidative Stress in the Kidney. *NICTOB*. Juli 2016;18(7):1628–34.
154. Qasim H, Alarabi AB, Alzoubi KH, Karim ZA, Alshbool FZ, Khasawneh FT. The effects of hookah/waterpipe smoking on general health and the cardiovascular system. *Environ Health Prev Med*. Dezember 2019;24(1):58.
155. Naddafi K, Nabizadeh R, Rostamy R, Ebrahimi Kalan M, Hassanvand MS, Fazlzadeh M. Indoor air quality in waterpipe cafés: exposure level to particulate matter. *Environ Sci Pollut Res*. September 2019;26(26):26605–16.
156. Nuran Ercal BSP, Hande Gurer-Orhan BSP, Nukhet Aykin-Burns BSP. Toxic Metals and Oxidative Stress Part I: Mechanisms Involved in Metal induced Oxidative Damage. *CTMC*. 1. Dezember 2001;1(6):529–39.
157. Moghe A, Ghare S, Lamoreau B, Mohammad M, Barve S, McClain C, u. a. Molecular Mechanisms of Acrolein Toxicity: Relevance to Human Disease. *Toxicological Sciences*. Februar 2015;143(2):242–55.
158. Wendelhag I, Gustavsson T, Suurkula M, Berglund G, Wikstrand J. Ultrasound measurement of wall thickness in the carotid artery: fundamental principles and description of a computerized analysing system. *Clin Physiol*. November 1991;11(6):565–77.
159. Cardiacasculare suite. <https://www.smt-medical.com/produkte/cardiovascular-suite-endothelfunktion-fmd-imt.html>.
160. Gemignani V, Faita F, Ghiadoni L, Poggianti E, Demi M. A System for Real-Time Measurement of the Brachial Artery Diameter in B-Mode Ultrasound Images. *IEEE Trans Med Imaging*. März 2007;26(3):393–404.
161. Cardiovascular+Suite+User+Manual+rev12.pdf
<http://test2.quipu.eu:8090/cvsmanual/files/latest/en/25362433/25362902/1/1568882939000/TEC0002EN+Cardiovascular+Suite+User+Manual+rev12.pdf>
162. Bootsma M, Swenne CA, Van Bolhuis HH, Chang PC, Cats VM, Brusckhe AV. Heart rate and heart rate variability as indexes of sympathovagal balance. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1. April 1994;266(4):H1565–71.

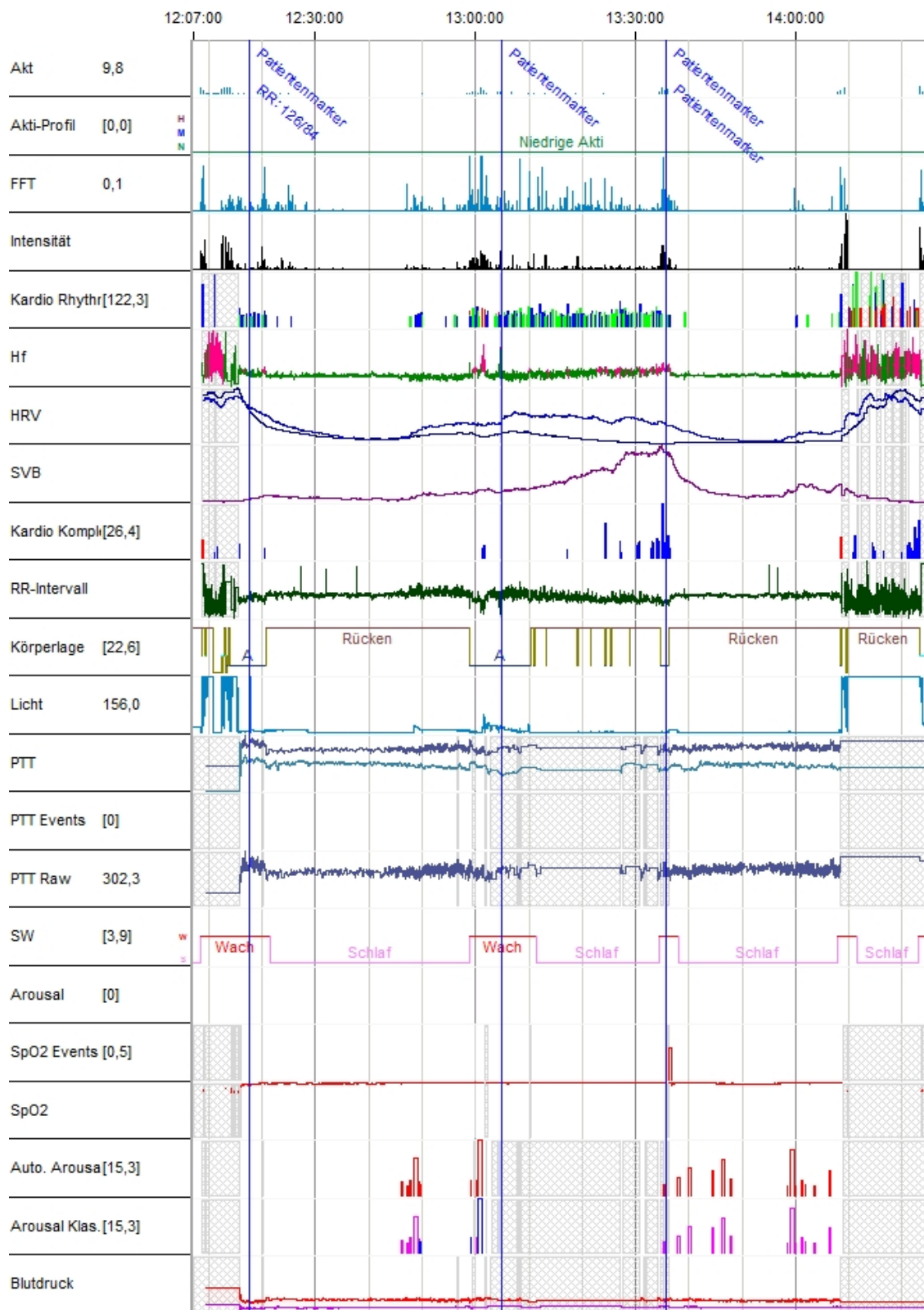
163. Gesche H, Grosskurth D, K uchler G, Patzak A. Continuous blood pressure measurement by using the pulse transit time: comparison to a cuff-based method. *Eur J Appl Physiol*. Januar 2012;112(1):309–15.
164. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. 2nd ed. Hillsdale, N.J.: L. Erlbaum Associates; 1988.
165. Moon K, Krems C, Heuer T, Roth A, Hoffmann I. Predictors of BMI Vary along the BMI Range of German Adults - Results of the German National Nutrition Survey II. *Obes Facts*. 2017;10(1):38–49.
166. Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
167. Morrow DA, Rifai N, Antman EM, Weiner DL, McCabe CH, Cannon CP, u. a. C-Reactive Protein Is a Potent Predictor of Mortality Independently of and in Combination With Troponin T in Acute Coronary Syndromes: A TIMI 11A Substudy. *Journal of the American College of Cardiology*. Juni 1998;31(7):1460–5.
168. Ford ES. Body mass index, diabetes, and C-reactive protein among U.S. adults. *Diabetes Care*. 1. Dezember 1999;22(12):1971–7.
169. Bazzano LA, He J, Muntner P, Vupputuri S, Whelton PK. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Ann Intern Med*. 3. Juni 2003;138(11):891–7.
170. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA*. 10. Dezember 2003;290(22):2945–51.
171. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. 14. November 2002;347(20):1557–65.
172. Carlson CS, Aldred SF, Lee PK, Tracy RP, Schwartz SM, Rieder M, u. a. Polymorphisms within the C-reactive protein (CRP) promoter region are associated with plasma CRP levels. *Am J Hum Genet*. Juli 2005;77(1):64–77.
173. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, u. a. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation*. November 1993;88(5):2149–55.
174. Alomari MA, Al-Sheyab NA. Impact of waterpipe smoking on blood pressure and heart rate among adolescents: The Irbid-TRY. *Journal of Substance Use*. 4. Mai 2018;23(3):280–5.
175. Diab OA, Abdelrahim EM, Esmail M. Effect of water pipe tobacco smoking on plasma high sensitivity C reactive protein level and endothelial function compared to cigarette smoking. *The Egyptian Heart Journal*. September 2015;67(3):233–41.
176. Mayhan WG, Sharpe GM. Superoxide dismutase restores endothelium-dependent arteriolar dilatation during acute infusion of nicotine. *Journal of Applied Physiology*. 1. Oktober 1998;85(4):1292–8.
177. Rammah M, Dandachi F, Salman R, Shihadeh A, El-Sabban M. In vitro effects of waterpipe smoke condensate on endothelial cell function: A potential risk factor for vascular disease. *Toxicology Letters*. Mai 2013;219(2):133–42.
178. Mayhan WG, Patel KP. Effect of nicotine on endothelium-dependent arteriolar dilatation in vivo. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1. Mai 1997;272(5):H2337–42.
179. Neunteufl T, Heher S, Kostner K, Mitulovic G, Lehr S, Khoschorur G, u. a. Contribution of nicotine to acute endothelial dysfunction in long-term smokers. *Journal of the American College of Cardiology*. Januar 2002;39(2):251–6.
180. Bolinder G, Nor en A, De Faire U, Wahren J. Smokeless tobacco use and atherosclerosis: an ultrasonographic investigation of carotid intima media thickness in healthy middle-aged men. *Atherosclerosis*. Juli 1997;132(1):95–103.

181. Norioka N, Takemoto Y, Kobayashi M, Makuuchi A, Yoshikawa J, Yamazaki Y, u. a. Low-flow mediated constriction incorporated indices as indicators of cardiovascular risk in smokers. *Atherosclerosis*. August 2016;251:132–8.
182. Harrison M, Parkhurst K, Tarumi T, Lin H, Tanaka H. Low flow-mediated constriction: prevalence, impact and physiological determinant. *Clin Physio Funct Imaging*. September 2011;31(5):394–8.
183. Gori T, Von Henning U, Muxel S, Schaefer S, Fasola F, Vosseler M, u. a. Both flow-mediated dilation and constriction are associated with changes in blood flow and shear stress: Two complementary perspectives on endothelial function. *Jung F, Gori T, Herausgeber. CH*. 21. Januar 2017;64(3):255–66.
184. Ostrem JD, Evanoff NG, Ryder JR, Dengel DR. Intra- and interday reproducibility of high-flow-mediated constriction response in young adults. *Clin Physio Funct Imaging*. März 2018;38(2):200–5.
185. Humphreys RE, Green DJ, Cable NT, Thijssen DH, Dawson EA. Low-flow mediated constriction: the yin to FMD's yang? *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. Mai 2014;12(5):557–64.
186. Gori T, Dragoni S, Lisi M, Di Stolfo G, Sonnati S, Fineschi M, u. a. Conduit Artery Constriction Mediated by Low Flow. *Journal of the American College of Cardiology*. Mai 2008;51(20):1953–8.
187. Thijssen DHJ, Bruno RM, Van Mil ACCM, Holder SM, Fata F, Greyling A, u. a. Expert consensus and evidence-based recommendations for the assessment of flow-mediated dilation in humans. *European Heart Journal*. 7. August 2019;40(30):2534–47.
188. Yeboah J, Reboussin DM, Waters D, Kowalchuk G, Herrington DM. Effects of estrogen replacement with and without medroxyprogesterone acetate on brachial flow-mediated vasodilator responses in postmenopausal women with coronary artery disease. *American Heart Journal*. März 2007;153(3):439–44.
189. Thijssen DHJ, Bruno RM, van Mil ACCM, Holder SM, Fata F, Greyling A, u. a. Expert consensus and evidence-based recommendations for the assessment of flow-mediated dilation in humans. *European Heart Journal*. 7. August 2019;40(30):2534–47.
190. Münzel T. Endotheliale Dysfunktion: Pathophysiologie, Diagnostik und prognostische Bedeutung. *Dtsch med Wochenschr*. November 2008;133(47):2465–70.
191. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial Function and Dysfunction: Testing and Clinical Relevance. *Circulation*. 13. März 2007;115(10):1285–95.
192. Halcox J, Donald AE, Ellins E, Witte DR, Shipley MJ, Brunner EJ, u. a. Endothelial Function Predicts Progression of Carotid Intima-Media Thickness. *Circulation*. 24. Februar 2009;119(7):1005–12.
193. Roustit M, Cracowski J. Non-invasive Assessment of Skin Microvascular Function in Humans: An Insight Into Methods. *Microcirculation*. Januar 2012;19(1):47–64.
194. Cracowski JL, Minson CT, Salvat-Melis M, Halliwill JR. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends in Pharmacological Sciences*. September 2006;27(9):503–8.
195. Tur E, Yosipovitch G, Oren-Vulfs S. Chronic and Acute Effects of Cigarette Smoking on Skin Blood Flow. *Angiology*. April 1992;43(4):328–35.
196. Monfrecola G, Riccio G, Savarese C, Posteraro G, Procaccini EM. The Acute Effect of Smoking on Cutaneous Microcirculation Blood Flow in Habitual Smokers and Nonsmokers. *Dermatology*. 1998;197(2):115–8.
197. Cai H, Harrison DG. Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Role of Oxidant Stress. *Circulation Research*. 10. November 2000;87(10):840–4.
198. Bollinger A, Yanar A, Hoffmann U, Franzeck UK. Is High-Frequency Flux Motion due to Respiration or to Vasomotion Activity?1. In: Allegra C, Intaglietta M, Messmer K, Herausgeber. *Progress in Applied Microcirculation*. S. Karger AG; 1993. S. 52–8.

199. Rossi M, Carpi A, Di Maria C, Galetta F, Santoro G. Spectral analysis of laser Doppler skin blood flow oscillations in human essential arterial hypertension. *Microvascular Research*. Juli 2006;72(1–2):34–41.
200. Stefanovska A, Bracic M, Kvernmo HD. Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser Doppler technique. *IEEE Trans Biomed Eng*. Oktober 1999;46(10):1230–9.
201. Rossi M, Ricco R, Carpi A. Spectral analysis of skin laser Doppler blood perfusion signal during cutaneous hyperemia in response to acetylcholine iontophoresis and ischemia in normal subjects. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2004;31(4):303–10.
202. Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski JL. Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvascular Research*. März 2010;79(2):102–8.
203. Bartsch S, Ostojic D, Schmalgemeier H, Bitter T, Westerheide N, Eckert S, u. a. Validierung der kontinuierlichen nicht-invasiven Blutdruckmessung mittels Puls-Transit-Zeit. *Dtsch med Wochenschr*. Dezember 2010;135(48):2406–12.
204. Gesche H, Grosskurth D, Kuchler G, Patzak A. Continuous blood pressure measurement by using the pulse transit time: comparison to a cuff-based method. *European Journal of Applied Physiology*. Januar 2012;112(1):309–15.
205. Blumenfeldt E, Putzig H. Experimentelle elektrokardiographische Studien über die Wirkung der Respiration auf die Herzstätigkeit. *Pflüger's Arch*. Januar 1914;155(8–9):443–60.
206. Herzfrequenzvariabilität – wie wird sie gemessen? /www.aok.de/pk/magazin/koerperpsyche/herz-und-kreislauf/herzfrequenzvariabilitaet-wie-wird-sie-gemessen/. 2022.
207. Van Ravenswaaij-Arts CMA. Heart Rate Variability. *Ann Intern Med*. 15. März 1993;118(6):436.
208. Kleiger RE, Miller JP, Bigger JT, Moss AJ. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. *The American Journal of Cardiology*. Februar 1987;59(4):256–62.
209. Billman GE. The LF/HF ratio does not accurately measure cardiac sympatho-vagal balance. *Front Physio*. 2013;4.
210. Berntson GG, Thomas Bigger J, Eckberg DL, Grossman P, Kaufmann PG, Malik M, u. a. Heart rate variability: Origins, methods, and interpretive caveats. *Psychophysiology*. November 1997;34(6):623–48.
211. Pope CA, Eatough DJ, Gold DR, Pang Y, Nielsen KR, Nath P, u. a. Acute exposure to environmental tobacco smoke and heart rate variability. *Environ Health Perspect*. Juli 2001;109(7):711–6.
212. Huikuri HV, Tapanainen JM, Lindgren K, Raatikainen P, Mäkikallio TH, Juhani Airaksinen KE, u. a. Prediction of sudden cardiac death after myocardial infarction in the beta-blocking era. *Journal of the American College of Cardiology*. August 2003;42(4):652–8.
213. Compostella L, Lakusic N, Compostella C, Truong LVS, Iliceto S, Bellotto F. Does heart rate variability correlate with long-term prognosis in myocardial infarction patients treated by early revascularization? *WJC*. 2017;9(1):27.
214. Benowitz NL. Clinical Pharmacology of Nicotine. *Annu Rev Med*. Februar 1986;37(1):21–32.
215. Greyling A, van Mil ACCM, Zock PL, Green DJ, Ghiadoni L, Thijssen DH. Adherence to guidelines strongly improves reproducibility of brachial artery flow-mediated dilation. *Atherosclerosis*. Mai 2016;248:196–202.
216. Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Ishikawa M, Kozaki K, Toba K, u. a. Modulation of Endothelium-Dependent Flow-Mediated Dilatation of the Brachial Artery by Sex and Menstrual Cycle. *Circulation*. 15. Dezember 1995;92(12):3431–5.
217. Hu SS, Neff L, Agaku IT, Cox S, Day HR, Holder-Hayes E, u. a. Tobacco Product Use Among Adults — United States, 2013–2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 15. Juli 2016;65(27):685–91.

218. Stroup AM, Branstetter SA. An introduction to the electronic waterpipe. *Addictive Behaviors*. April 2019;91:90–4.
219. Allen JG, Flanigan SS, LeBlanc M, Vallarino J, MacNaughton P, Stewart JH, u. a. Flavoring Chemicals in E-Cigarettes: Diacetyl, 2,3-Pentanedione, and Acetoin in a Sample of 51 Products, Including Fruit-, Candy-, and Cocktail-Flavored E-Cigarettes. *Environmental Health Perspectives*. Juni 2016;124(6):733–9.
220. Saloojee Y, Dagli E. Tobacco industry tactics for resisting public policy on health. *Bull World Health Organ*. 2000;78(7):902–10.
221. Ben Taleb Z, Laestadius LI, Asfar T, Primack BA, Maziak W. #Hookahlife: The Rise of Waterpipe Promotion on Instagram. *Health Educ Behav*. Februar 2019;46(1):106–13.
222. World Health Organization, WHO Framework Convention on Tobacco Control. WHO Framework Convention on Tobacco Control: guidelines for implementation Article 5.3; Article 8; Articles 9 and 10; Article 11; Article 12; Article 13; Article 14. 2013 edition. Convention-cadre de l’OMS pour la lutte antitabac : directives pour l’application de l’article 5.3, de l’article 8; des articles 9 et 10; de l’article 11; de l’article 12; de l’article 13; de l’article 14 - Édition 2013. Geneva: World Health Organization; 2013.

8 Anhang



Einwilligungserklärung

Studientitel: Einfluss von E-Zigaretten und Shisha-Gebrauch auf die Gefäßfunktion
 Studienzentrum: II. Medizinische Klinik, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz

Hiermit erkläre ich,

 Name, Vorname Geburtsdatum des/der Teilnehmers/in

 Straße, Hausnummer Postleitzahl, Ort

Code-Nr. _____

dass ich durch Herrn/Frau _____

in einem persönlichen Gespräch ausführlich und verständlich über Wesen, Bedeutung, Risiken und Tragweite der Studie aufgeklärt worden bin. Ich hatte die Gelegenheit zu einem Beratungsgespräch. Alle meine Fragen wurden zufriedenstellend beantwortet, ich kann jederzeit neue Fragen stellen. Ich habe darüber hinaus den Text der Studienaufklärung gelesen und verstanden. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden. Mir ist bekannt, dass ich jederzeit und ohne Angabe von Gründen meine Einwilligung zur Teilnahme an der Studie zurückziehen kann (mündlich oder schriftlich), ohne dass mir dadurch Nachteile entstehen. Die Aufwandsentschädigung wird entsprechend der Studienteilnahme anteilig ausgezahlt. Mögliche Risiken der Teilnahme sind mir bewusst. Beim Auftreten unerwünschter Wirkungen werde ich dies dem Studienzentrum mitteilen. Die An- und Abreise vom Studienzentrum stehen in meiner persönlichen Verantwortung. Ich habe zur Kenntnis genommen, dass für die Studie kein über die üblichen Haftungsbestimmungen hinausgehender oder zusätzlicher Versicherungsschutz abgeschlossen wurde.

Ich erkläre mich einverstanden, freiwillig an der E-Zigaretten Studie teilzunehmen. Ich versichere die Richtigkeit meiner Angaben und verpflichte mich in Bezug auf den Studienverlauf die Vorgaben des Studienprotokolls einzuhalten. Mögliche Abweichungen werde ich dem Studienzentrum mitteilen.

Ich willige in die Verwendung der Daten zu wissenschaftlichen Zwecken ein. Meine persönlichen Daten unter Beachtung der geltenden Datenschutzbestimmungen behandelt und nach Ende der Studie werden personenbezogene Daten gelöscht. Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie mich betreffende personenbezogene Daten/Angaben durch den Studienarzt erhoben, pseudonymisiert auf elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und verarbeitet werden dürfen. Diese Daten werden i.d.R. für 10 Jahre im Studienzentrum aufbewahrt, Blutproben werden dagegen spätestens nach 2 Jahren vernichtet. Ich bin auch damit

Stand 24.08.2014

Probandeninformation

Titel:

Einfluss von Wasserpfeifengebrauch auf die Gefäßfunktion

Englischer Titel:

Effect of „Shisha“-use on vascular endothelial function.

Studienkoordination:

Dr. med. Frank Patrick Schmidt
II. Medizinische Klinik und Poliklinik
Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Langenbeckstr. 1
55131 Mainz
Tel: 06131-17 7058
E-mail: frank.schmidt@unimedizin-mainz.de

Prüfstelle:

Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
II. Medizinische Klinik und Poliklinik
Gebäude 503, 3. OG, Raum 3.226
Langenbeckstrasse 1
55131 Mainz
Tel: 06131-17-2476
Fax: 06131-17-3420

Sehr geehrte Damen und Herren,

wir möchten Sie fragen, ob Sie Interesse haben, an der nachfolgend beschriebenen Studie teilzunehmen. Der Einfachheit geschuldet sprechen wir Sie im Folgenden mit „der Proband“ an.

Bevor Sie als Proband eingeschlossen werden können, müssen Sie mehr über Ziel, Ablauf und mögliche Risiken der Untersuchung erfahren. Darum haben wir für Sie hier die wesentlichen Informationen zur Studie zusammengestellt.

Wir bitten Sie diese sorgfältig durchzulesen. Natürlich werden später im persönlichen Gespräch die wichtigsten Punkte noch einmal erläutert und auch Ihre Fragen beantwortet.

Ziel der Untersuchung

Diese Studie untersucht die Auswirkungen von sogenannten E-Zigaretten und „Shishas“ auf Herz- und Kreislauffunktion. Insbesondere Veränderungen in der Funktion von Blutgefäßen sollen erforscht werden. E-Zigaretten werden als vermeintlich gesündere Alternative zu herkömmlichen Zigaretten bzw. als Hilfe beim Rauchverzicht vermarktet. Leider gibt es keinen ausreichenden wissenschaftlichen Daten zu gesundheitlichen Auswirkungen dieser Produkte. Um das Risiko hier einschätzen zu können, ist es notwendig sowohl die kurzfristigen Wirkungen dieser Produkte als auch mögliche Langzeitschädigungen zu erfassen. Im Falle von Shishas (Wasserpfeifen) ist mit ähnlichen Folgen wie beim normalen Zigarettenrauch zu rechnen, was allerdings häufig unterschätzt bzw. verharmlost wird. Diese Studie soll zur Beantwortung offener Fragen beitragen, indem sowohl die kurzfristige Wirkung als auch mittelfristige Wirkung auf die Gefäßfunktion untersucht werden. Von Zigaretten und Nikotin ist bekannt, daß eine frühzeitige Beeinträchtigung der Gefäßfunktion nachweisbar ist und einen Schädigungsmechanismus darstellt.

Versuchsaufbau und Untersuchungsmethoden

Die Versuchsteilnehmer (Probanden) sollen für einen bestimmten Zeitraum E-Zigaretten eines verbreiteten Herstellers anwenden. Vorher und nachher erfolgen Untersuchungen, um die Wirkungen zu erkennen.

Die Messung der Gefäßfunktion erfolgt im Labor mittels Ultrachall. Dazu liegen Sie auf einer Liege. Es erfolgt eine Messung des Durchmessers der Armschlagader in Ruhe. Dann wird ähnlich wie beim Blutdruckmessen mit einer Manschette der Puls abgedrückt. Dies kann etwas unangenehm sein. Nach Ablassen der Manschette wird erneut die Gefäßweite gemessen. Außerdem wird danach eine Untersuchung des Herzens mittels Ultraschall durchgeführt (Dauer ca. 5 Minuten).

Ablauf

Die Studie besteht aus mehreren Teilen, je nachdem an welchem Sie teilnehmen werden besteht ein unterschiedlicher Ablauf. Sie werden id.R. nur einen Studienteil durchlaufen. Wir bitten Sie, den Studienarzt bei Unklarheiten zusätzlich zu dieser Probandeninformation zum konkreten Ablauf der Studie in Ihrem Fall zu befragen. Im Folgenden sind die drei Studienteile beschrieben:

Akut, Shisha:

Hier wird die kurzfristige Wirkung gemessen, d.h. Sie müssen nur für ca. 2 h das Studienzentrum aufsuchen. Dort werden Sie befragt und es werden entsprechende Daten wie Blutdruck, Gewicht etc. erhoben. Dann werden bestimmte Messungen der Gefäß- und Kreislauffunktion (siehe oben) gemacht.

Anschließend sollen Sie dann für ca. 20 Minuten die zu prüfenden Produkte (e-Zigaretten oder Shisha = Wasserpfeife) benutzen. Dann werden die zuvor durchgeführten Messungen wiederholt um mögliche Unterschiede zu erkennen. Außerdem wird eine Blutentnahme durchgeführt, wobei ca. 30 ml Blut entnommen werden. Damit soll untersucht werden, ob E-Zigaretten Konsum Blutwerte verändert, die in Zusammenhang mit Herz-Kreislaufkrankungen stehen, z.B. Entzündungswerte. Außerdem werden Zucker- und Fettwerte zu messen um das allgemeine Risikoprofil der Teilnehmer zu erfassen.

Außerdem kann es sein, daß man Sie fragt ob Sie Bereit wären eine weitere Messung nach Gabe von 2 g Vitamin C oder Placebo mitzumachen. Placebo bedeutet, daß in der Tablette kein Wirkstoff vorhanden ist. Damit soll geprüft werden, ob mögliche Unterschiede wirklich durch Inhaltsstoffe ausgelöst werden. In diesem Fall würden Sie dies verblindet einnehmen, d.h. man sagt Ihnen nicht ob es sich um Vitamin C handelt oder nicht. Die Gabe erfolgt jeweils

in oral als Tablette oder Brausetablette. Zwei Stunden später erfolgt eine erneute Messung der Gefäßfunktion, danach ist die Studie für Sie beendet, außer Sie möchten an mehr als einem Studienteil teilnehmen, z.B. sowohl e-Zigaretten als auch „Shisha“.

Switch:

In diesem Untersuchungsteil sollen Raucher für einen Zeitraum von 4 Wochen auf das Rauchen verzichten und dafür auf E-Zigaretten umsteigen. Diese werden vom Studienzentrum gestellt. Vor Umstellung und nach 2 Wochen und 4 Wochen wird jeweils die Gefäßfunktion im Studienzentrum gemessen und ca. 30 ml Blut entnommen. Außerdem müssen einige Fragebögen beantwortet und ein Tagebuch über die Rauchgewohnheiten geführt werden.

Erläuterungen zum Ablauf:

Risiken und Nachteile

Die Untersuchung beinhaltet keine Testung von neuen Medikamenten

Die einzige invasive Maßnahme ist die Blutentnahme, wie sie auch sonst beim Arzt erfolgt. *Zu den üblichen Risiken einer Blutentnahme gehören: Verletzung von Gefäßen und dadurch bedingte Durchblutungsstörungen, Blutungen, Verletzung von Nerven mit Gefühls- oder Kraftverlust, Infektionen, Schmerzen, Kreislaufreaktionen auf die Entnahme.*

Ein kurzzeitiger Gebrauch von E-Zigaretten ist bisher nicht mit wesentlichen Gesundheitsschädigungen in Verbindung gebracht worden, allerdings sind Blutdrucksteigerungen und Auslösung von Herzrhythmus- und Durchblutungsstörungen zumindest denkbar. Für Personen die über längere Zeit E-Zigaretten konsumieren sind mögliche Langzeitschäden denkbar und noch nicht ausreichend untersucht.

Von einem Langzeit-Konsum solcher Produkte ist daher aus ärztlicher Sicht strikt abzuraten. Eine Unterstützung beim Rauchverzicht kann sinnvoll sein, allerdings bleibt unklar inwiefern E-Zigaretten wirklich dazu beitragen, das Rauchen gänzlich einzustellen.

Raucher die auf E-Zigarette umstellen, müssen mit Entzugssymptomen rechnen. Werden E-Zigaretten zusätzlich zu regulären Zigaretten verwendet, kann sich dadurch ein zusätzlich erhöhtes gesundheitliches Risiko ergeben.

Shisha- (Wasserpfeifen-) und Zigarettenrauch enthalten die gleichen suchtfördernden bzw. gesundheitsschädlichen Substanzen Nikotin, Teer und Kohlenmonoxid.

Ein langjähriger Wasserpfeifenkonsum kann die Lungenfunktionen verschlechtern und erhöht das Risiko, an Tumoren zu erkranken. Darüber hinaus sind Frauen, die während der Schwangerschaft Wasserpfeife rauchen, stärker gefährdet, ein Kind mit niedrigem Geburtsgewicht zu gebären.

Versicherungsschutz

Vorsorglich werden Sie darauf hingewiesen, dass eine Versicherung für nicht schuldhaft verursachte Schäden, die im Zusammenhang mit der Studie auftreten können nicht abgeschlossen wurde. Ein Versicherungsschutz besteht damit nur, wenn den Arzt oder einen anderen Mitarbeiter der Prüfstelle der Vorwurf eines schuldhaften Verhaltens trifft. In Zweifelsfällen muss dabei der Entlastungsbeweis geführt werden, dass kein Verschulden vorliegt. Wegeunfälle sind ebenfalls nicht versichert.

Für die studienbedingten Blutentnahmen besteht Versicherungsschutz über die Unfallkasse des Landes Rheinland-Pfalz (Orensteinstr. 10, 56626 Andernach, Tel. 02632-960-0; Fax 02632-960-1000).

Datenschutz

Der Schutz Ihrer Daten wird von uns ernst genommen. Die Untersuchungsergebnisse werden getrennt von personenbezogenen Daten aufbewahrt (Pseudonymisierung, d.h. codiert ohne Angabe von Namen, Geburtsdatum, Initialen oder ähnlichem). Ihre Daten sind unter Verschluss. Die Auswertung und Veröffentlichung von Daten erfolgt nur anonymisiert. Die Daten werden nicht an Dritte weitergegeben. Nach vollständiger wissenschaftlicher Auswertung werden die Daten den Bestimmungen entsprechend vernichtet. Die in der Studie erhobenen Daten werden in pseudonymisierter Form für 10 Jahre aufbewahrt, Blut- und Urinproben werden dagegen entweder direkt nach Studienende oder bis spätestens 2 Jahre danach vernichtet.

Vorteile

Die mit Untersuchung erlangten Erkenntnisse sollen dem Gesundheitsschutz der Bevölkerung dienen. Hiervon könnten langfristig eventuell auch die Versuchsteilnehmer profitieren. Die Frage inwiefern e-Zigaretten eine sicherere bzw. weniger schädliche Alternative zu Zigaretten darstellt ist von hoher Bedeutung für die Vorbeugung. Insbesondere Raucher können von den Ergebnissen profitieren und können mit Hilfe der E-Zigaretten im Rahmen der Studie versuchen den Zigarettenkonsum zu reduzieren bzw. zu beenden. Dabei werden die e-Zigaretten kostenfrei bereitgestellt und die Studiensituation kann unterstützend beim Rauchverzicht wirken. Langfristig können sich dadurch im Erfolgsfalle gesundheitliche Verbesserungen für den Teilnehmer ergeben.

Aufwandsentschädigung

Für die Teilnahme erhält der Proband pro Studienteil 30 € als Aufwandsentschädigung. Die entsprechenden Materialien (Shisha, Tabak) werden natürlich ebenfalls bereitgestellt.

Der Betrag wird dem Probanden auf ein seiner Wahl Konto überwiesen. Eine Barauszahlung ist nur nach vorheriger Absprache in begründeten Ausnahmefällen möglich.

Studienende

Die Studie endet nach Beendigung beider Versuchsblöcke oder jederzeit auf Wunsch des Studienteilnehmers ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile.

Meldung unerwünschter Wirkungen

Als Versuchsteilnehmer sollten Sie uns jede über dieses normale Maß hinausgehende Veränderung (bzgl. psychischem und körperlichem Zustand) mitteilen, sowohl in Form der

auszufüllenden Fragebögen als auch mündlich. Nur so ist eine frühzeitige Erkennung unerwünschter Wirkungen möglich. Wir bitten daher bei eventuellen gesundheitlichen Problemen die Studienärzte zu kontaktieren.

Im Falle akut auftretender gesundheitlicher Probleme sollten Sie sich selbstverständlich auch als Teilnehmer an dieser Studie unverzüglich in medizinische Betreuung begeben.

Pflichten des Probanden und Widerruf

Der Proband verpflichtet sich während der Untersuchung studienbezogene Fragen wahrheitsgemäß und sorgfältig zu beantworten. Abweichungen vom Studienplan und den Anweisungen zur Durchführung müssen entsprechend angezeigt werden. Bei grober Abweichung vom Studienplan können die Studiendurchführenden den Probanden von der weiteren Teilnahme ausschließen.

Der Proband hat jederzeit das Recht die Einwilligung zur weiteren Teilnahme mündlich oder schriftlich ohne Angabe von Gründen zu widerrufen. Dann erfolgt eine sofortige Vernichtung der erhobenen Daten, außer diese Daten sind bereits in eine Analyse eingeflossen. In letzterem Fall werden die Daten vollständig anonymisiert.

Weitere Fragen

Natürlich stehen wir Ihnen jederzeit zu Fragen bezüglich des Untersuchungsablaufs, konkreter Durchführung und möglichen Risiken zur Verfügung.

Kontakt

Ansprechpartner
Dr. Frank Schmidt (medizinische Fragen)
Frau Hannelore Seiler (Terminabsprachen etc.)
Tel. 06131-17- 2476
II. Medizinische Klinik
Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Langenbeckstr. 1
55131 Mainz

Datum _____ Probandennummer _____ shisha

Checkliste – Ablauf Shisha-Studie

1. Patienten über die Studie informieren
2. Aufklärung
3. Einverständniserklärung unterschreiben
4. Einverstanden mit Vit C- Gabe?
5. Anamnese + körperliche Untersuchung(siehe Anamnesebogen)
6. Somnowatch anlegen (**RR Kalibrierung**, Uhrzeiten notieren!)
 - Somnowatch Name der Messung:
Pat. Name: Shisha_00n, Vorname : Initialien, Pat. ID acute
Angelegt: _____ Uhr
RR-Messung: _____ Uhr _____ mmHg Marker gesetzt
7. FMD-Messung (prä)

Messbeginn: _____ Uhr Messende _____ Uhr
8. **Während FMD-Messung läuft:**
 - 8.1. Herdplatte mit zwei Kohlewürfeln einschalten
Uhrzeit: _____ Uhr 27min heizen lassen
 - 8.2. Kohle auf Sieb legen
 - 8.3. Hookah-Pump anschließen
15 sec einschalten, wieder ausschalten +3 sec einschalten
9. BE (re Arm/Zugang legen, siehe Aushang:
„Zentrallabor“+, Verarbeitung vor Ort‘, Citrat #1 abnehmen)

BE: _____ Uhr
10. Rauchen: alle 45sec 1 möglichst tiefer Zug, 30 Minuten
 - (Metronom, Timer, Somnowatch Marker setzen)

Start rauchen: _____ Uhr - Ende rauchen: _____ Uhr
Marker gesetzt Marker gesetzt

Datum _____ Probandennummer _____ shisha

11. Citrat #2 abnehmen, 15min nach Beginn mit Rauchen
12. BE (siehe Aushang: ‚*Verarbeitung vor Ort*‘, Citrat #3 abnehmen)
Uhrzeit Abnahme: _____
13. FMD Messung (post)
Messbeginn: _____ Uhr Messende _____ Uhr
14. Shisha abbauen während die Messung läuft
15. Blut ins Labor bringen
16. Citrat Röhrchen #4 abnehmen, Zugang entfernen
Uhrzeit Abnahme: _____
17. Zentrifugieren, in Eppendorf Pipetten pipettieren
Probennummer: _____

Bemerkung: _____

9 Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich recht herzlich bei Herrn Prof. Dr. Münzel für die Überlassung der Dissertation bedanken. Herrn PD Dr. Schmidt bedanke ich mich für seine hervorragende Unterstützung, Förderung und Betreuung während diesen Promotionsverfahrens. Herr PD Dr. Schmidt hat mich im besonderen Maße unterstützt und stand mir mit Rat und Tat zur Seite, sodass ich das selbstständige wissenschaftliche Arbeiten erlernen und vertiefen konnte.

Einen herzlichen Dank gilt auch unserer Studynurse, die einige organisatorische Angelegenheiten erledigte. Sie übernahm, während der FMD- Messung die Betreuung der Probanden und hat somit einen großen Einfluss für einen reibungslosen Ablauf. Auch sie hat auf Grund ihrer Erfahrung mit vorherigen Doktoranden, mir bei Fragen mit Rat und Tat zur Seite gestanden.

Der größte Dank gilt meiner Familie, die mir während meiner kompletten Studienzeit und während der aktuellen Arbeitszeit viel Kraft und Verständnis gegeben haben, auch wenn die Jahre nicht immer einfach waren. Durch dieses Verständnis konnte ich mich allerdings im vollen Umfang auf diesen wichtigen Lebensabschnitt konzentrieren und somit das Studium, wie auch die Dissertation mit Erfolg absolvieren.

Auch bei meinen Freunden möchte ich mich recht herzlich bedanken, die mich über die gesamte Zeit des Studiums und des Promotionsverfahrens begleitet haben oder mir im Rahmen der Studie als Unterstützung zur Seite standen. Allen Studienteilnehmern danke ich, dass sie mir im Rahmen der Shisha- Acute Studie als Probanden zur Verfügung gestanden haben.