

**Aus dem Institut für Physiologie der Universität Tübingen
Abteilung Physiologie I
Abteilungsleiter: Professor Dr. F. Lang**

**Wirkung von Knoblauch auf arterielle Pulswellenlaufzeit
und Bildung atherosklerotischer Plaques im
hypercholesterinämischen Weißen Neuseelandkaninchen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der
Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

**Joachim Polligkeit
aus Esslingen a.N.**

2005

Dekan:

Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter:

Professor Dr. H. Heinle

2. Berichterstatter:

Professor Dr. F. W. Schmahl

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|------------|---|-----------|
| 1 | EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG | 1 |
| 2 | MATERIAL UND METHODEN | 4 |
| 2.1 | Tiermodell | 4 |
| 2.1.1 | Tierhaltung | 4 |
| 2.1.2 | Gruppeneinteilung und Behandlungsschema | 4 |
| 2.1.3 | Narkose und Blutentnahme | 4 |
| 2.1.4 | Gefäß- und Organentnahme | 5 |
| 2.1.4.1 | Verabreichung von 5-Bromo-2-desoxyuridin (BrdU) und 2-Desoxycytidin (d-cyt) | 5 |
| 2.1.4.2 | Entnahme des Gefäßbaums und der Organe | 6 |
| 2.2 | Plasmaparameter | 7 |
| 2.2.1 | Cholesterin und individuelle Cholesterinexposition (AUC) | 7 |
| 2.2.2 | LDL-, HDL- und VLDL-Cholesterin | 7 |
| 2.2.3 | Triglyzeride | 8 |
| 2.2.4 | Weitere klinisch-chemische Parameter | 9 |
| 2.3 | Histologie und Morphometrie | 9 |
| 2.3.1 | Herstellung von Paraffinpräparaten | 9 |
| 2.3.2 | Elastica-van-Gieson-Färbung (EvG) | 9 |
| 2.3.3 | Auswertung der Segmentschnitte: Verwendete Geräte | 10 |
| 2.3.4 | Morphometrische Auswertemethoden der intimalen Plauefläche, Gefäßlumenfläche, Gefäßquerschnittsfläche und des Stenosegrades | 10 |
| 2.4 | Untersuchungen zur Hämodynamik | 11 |
| 2.4.1 | Blutdruck | 11 |
| 2.4.2 | Dopplersonographie und Pulswellenlaufzeit | 12 |
| 2.5 | Statistische Auswertung | 14 |
| 3 | ERGEBNISSE | 15 |
| 3.1 | Körpergewicht und Futteraufnahme | 15 |
| 3.1.1 | Körpergewicht | 15 |
| 3.1.2 | Futteraufnahme | 16 |
| 3.1.3 | Cholesterin- und Knoblauchaufnahme | 17 |
| 3.2 | Organgewichte | 18 |
| 3.3 | Plasmalipide | 19 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 3.3.1 | Gesamtcholesterin | 19 |
| 3.3.2 | Lipoproteinfraktionen | 21 |
| 3.4 | Weitere klinisch-chemische Parameter | 22 |
| 3.4.1 | Fibrinogen | 22 |
| 3.4.2 | Hämoglobin, Hämoglobin im Plasma, Erythrozytenzahl und Hämatokrit | 23 |
| 3.4.3 | Transaminasen und γ -GT | 24 |
| 3.5 | Histologie und Morphometrie | 25 |
| 3.5.1 | Neointimale Plauefläche | 25 |
| 3.5.2 | Fläche des Gefäßlumens, Stenierungsgrad und Gefäßquerschnittsfläche | 27 |
| 3.6 | Untersuchungen zur Hämodynamik | 33 |
| 3.6.1 | Mittlerer Blutdruck (RR) | 33 |
| 3.6.2 | Herzfrequenz (HF) | 34 |
| 3.6.3 | Pulswellenlaufzeit (PWLZ) | 34 |
| 3.6.4 | Pulswellenlaufzeit skaliert auf Herzfrequenz | 40 |
| 3.7 | Zusammenfassung der Ergebnisse | 41 |
| 4 | DISKUSSION | 45 |
| 4.1 | Definition der Atherosklerose | 45 |
| 4.2 | Pathogenese der Atherosklerose | 48 |
| 4.2.1 | Endotheldysfunktion und Plauebildung | 49 |
| 4.2.2 | Morphologie atherosklerotischer Plaques | 53 |
| 4.2.3 | Plauestabilität und fibröse Kappe | 55 |
| 4.3 | Wahl eines geeigneten Tiermodells | 56 |
| 4.4 | Knoblauch (<i>Allium sativum</i>) in der Atherosklerosetherapie | 59 |
| 4.5 | Pulswellenlaufzeit (PWLZ) und Pulswellengeschwindigkeit (PWV) als Indikatoren atherosklerotischer Gefäßwandveränderungen | 66 |
| 4.5.1 | Fibrinogen als Risikofaktor | 72 |
| 4.5.2 | Blutdruck als Risikofaktor | 73 |
| 4.6 | Diskussion der eigenen Ergebnisse | 75 |
| 5 | ZUSAMMENFASSUNG | 83 |
| 6 | LITERATURVERZEICHNIS | 86 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------------------|---|
| A.fem.comm. | Arteria femoralis communis |
| A.fem.ext. | Arteria femoralis externa |
| AGE | aged garlic extract |
| Ao.abd. | Aorta abdominalis |
| Ao.thorac. | Aorta thoracalis |
| AT-III | Antithrombin III |
| AUC | area under the curve |
| BPM | beats per minute |
| BrdU | 5'-Bromo-2'-Desoxyuridin |
| CETP | Cholesteryl-Ester-Transferase-Protein |
| CSF | colony stimulating factor |
| CW | continous wave |
| d-Cyt | 2'-Desoxycytidin |
| EDRF | endothelium derived relaxing factor |
| EvG-Färbung | Elastica-van-Gieson-Färbung |
| GGT/ γ -GT | Gamma-Glutamyltransferase |
| GOT | Glutamat-Oxalacetat-Transaminase |
| GPT | Glutamat-Pyruvat-Transaminase |
| HDL-C(holesterin) | High Density Lipoprotein Cholesterin |
| HF | Herzfrequenz |
| HMG-CoA | Hydroxymethylglutaryl-Koenzym A |
| ICAM | intercellular adhesion molecule |
| KG | Körpergewicht |
| KHK | koronare Herzkrankheit |
| LDL-C(holesterin) | Low Density Lipoprotein Cholesterin |
| MCP | monocyte chemotactic protein |
| NADPH | Nikotinamid-adenin-dinukleotid-phosphat |
| NZW | New Zealand White (Weißes Neuseelandkaninchen) |
| NO | Stickoxid |
| oxLDL | oxidiertes Low Density Lipoprotein |
| PAI-1 | Plasminogen activator inhibitor 1 |
| pAVK | periphere arterielle Verschlusskrankheit |
| PDGF | platelet derived growth factor |
| PWLZ | Pulswellenlaufzeit |
| PWV | pulse wave velocity (Pulswellengeschwindigkeit) |
| RR | Blutdruck |
| t-PA | tissue-type plasminogen activator |
| VCAM | vascular cell adhesion molecule |
| VLDL-C(holesterin) | Very Low Density Lipoprotein Cholesterin |
| VSMC | vascular smooth muscle cell |
| WHHL | Watanabe Heritable Hyperlipidemic (rabbit) |

1 Einleitung und Fragestellung

Arterienerkrankungen, überwiegend in Form der Atherosklerose, sind die häufigste Ursache von Tod und Invalidität in den westlichen Industrienationen. In Deutschland betrug 2002 die Anzahl der Todesfälle durch Herz-Kreislauf-erkrankungen ca. 394.000 und war damit ähnlich hoch wie die Mortalität durch alle übrigen erfassten Todesursachen zusammen [133].

Der Begriff „Atherosklerose“ bezeichnet eine in erster Linie fokale und oft fulminant verlaufende Form der Wandveränderung arterieller Blutgefäße. Die Entwicklung atherosklerotischer Plaques geht mit einer Fehlfunktion des Gefäßendothels sowie mit einem Elastizitätsverlust der Gefäßwand einher. Von der Atherosklerose ist die Arteriosklerose abzugrenzen, die eine allgemeine Wandverdickung und -verhärtung des gesamten arteriellen Gefäßgebiets bezeichnet. Die Arteriosklerose ist eine normale Alterungserscheinung und wird daher auch als „Physiosklerose“ bezeichnet [55].

Bis heute sind die Mechanismen von Entstehung und Weiterentwicklung der Atherosklerose nicht vollständig geklärt. Dies ist nicht zuletzt in komplizierten zellulären Interaktionen, in einer späten klinischen Manifestation mit langem symptomfreien Intervall sowie in fehlenden Möglichkeiten der Frühdiagnostik begründet. Verschiedene Risikofaktoren begünstigen das Auftreten atherosklerotisch bedingter Erkrankungen. Risikofaktoren wie Alter, Geschlecht sowie familiär oder genetisch bedingte Vorerkrankungen sind von großer Bedeutung, vom Patienten jedoch nicht zu beeinflussen. Daher stellt die am weitesten verbreitete Möglichkeit zur Prävention die Veränderung beeinflussbarer Risikofaktoren wie Hypertonie, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus Typ II und Nikotinabusus dar. Als wichtige Risikofaktoren gelten hierbei das Gesamtcholesterin und das LDL-Cholesterin [106].

Diese in der Minimierung von Risikofaktoren bestehende Therapie wird als indirekte Therapie bezeichnet. Eine bereits bestehende atherosklerotische Läsion wird durch sie nicht wirkungsvoll beeinflusst. Etwa die Hälfte der klinisch

manifesten atherosklerotischen Läsionen ist nicht mit den oben genannten Risikofaktoren assoziiert. In einer Längsschnittuntersuchung ereigneten sich lediglich 30 % aller kardiovaskulären Ereignisse bei Personen, die einen der drei bedeutendsten Risikofaktoren Hypercholesterinämie, Nikotinabusus und Hypertonie aufwiesen [97]. Direkte Therapien der Atherosklerose gliedern sich in antiatherogene/präventive sowie antiatherosklerotische/therapeutische, also auch Regression induzierende Therapien [113].

Aus dem Bereich der Phytotherapie stellt die Applikation von schwefelhaltigen, pleiotropen Substanzen eine Möglichkeit der kombiniert indirekten und direkten Therapie dar. Knoblauch und Knoblauchpräparate sind die bekannteste Quelle dieser natürlich vorkommenden Substanzen. Bereits in den ältesten Kulturen der Menschheit wurde Knoblauch medizinisch verwendet; auch heute werden ihm protektive Effekte gegen Apoplex, KHK und Atherosklerose im Allgemeinen zugesprochen [136]. Ein lipidsenkendes Potential wird diskutiert. In einer Meta-Analyse wurde beispielsweise gezeigt, dass eine halbe Knoblauchzehe pro Tag den Serumcholesterinwert um ca. 9 % senken konnte [143]. Im Tierversuch mit cholesteringefütterten Kaninchen wurde durch Applikation einer vergleichbaren Knoblauchmenge sowohl die Serumcholesterinkonzentration als auch der Ausprägungsgrad der Atherosklerose signifikant reduziert [72]. Eine direkte therapeutische Wirkung von Knoblauchpräparaten wurde in einigen klinischen Studien und Tiermodellen nachgewiesen.

Für die Untersuchung der antiatherosklerotischen Wirkung von Substanzen im Tiermodell ist ein intravitales Parameter zur Verlaufsbeobachtung der Plaque-Entwicklung wünschenswert.

Aortaler Elastizitätsverlust ist ein wichtiger Risikofaktor der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität. Er stellt einen verlässlichen Ersatzmarker für atherosklerotisch bedingte Krankheitsbilder dar. Eine Möglichkeit zur Abschätzung der Gefäßwandelastizität bietet die nicht-invasive, gut reproduzierbare Bestimmung der Pulswellengeschwindigkeit (PWV) bzw. der Pulswellenlaufzeit (PWLZ) im betreffenden Gefäßsegment [10].

In einer klinischen Studie mit 710 essentiell hypertonen Patienten zeigten Blacher et al. [17] die Assoziation von insbesondere aortaler PWV mit dem Vorhandensein und dem Ausmaß atherosklerotischer Läsionen. PWV wurde als aussagekräftiger Marker des kardiovaskulären Risikos bzw. Prädiktor der kardiovaskulären Mortalität identifiziert. Mit vergleichbaren Untersuchungsmethoden konnten Boudoulas et al. [19] in cholesteringefütterten Kaninchen eine Abnahme der Gefäßelastizität bei zunehmender Atherosklerose nachweisen. In einer 1996 veröffentlichten klinischen Studie von Breithaupt-Grögler et al. [25] wurde in einem gesunden, älteren Patientenkollektiv (n=101) der Einfluss einer Knoblauchsubstitution auf die altersassoziierte Arteriosklerose untersucht. Bei vergleichbaren Werten von Plasmalipidspiegeln, Blutdruck und Herzfrequenz zeigte sich in der mit dem Knoblauchpräparat behandelten Patientengruppe eine signifikant verringerte aortale Pulswellengeschwindigkeit.

Die Untersuchung des gefäßelastizitätsmodulierenden Potentials von Knoblauch im Fall der altersassoziierten Arteriosklerose in einem weiteren Versuchsaufbau an Patienten mit manifester KHK wäre die logische Fortführung dieser Studie. Die nicht mögliche Standardisierbarkeit der Läsionen in einem Patientenkollektiv sowie die Notwendigkeit einer histologischen Aufarbeitung erfordern an dieser Stelle jedoch ein tierexperimentelles Modell.

In der vorliegenden Studie sollte daher unter Hypercholesterinämie die Auswirkung einer Knoblauchfütterung auf die Gefäßwandelastizität in Aorta abdominalis und Arteria femoralis communis, verschiedene Plasmaparameter sowie Ausmaß und Zusammensetzung atherosklerotischer Plaques von männlichen Weißen Neuseelandkaninchen untersucht werden. Effekte auf die Gefäßwandelastizität sollten in vivo durch die dopplersonographisch bestimmte Pulswellenlaufzeit als nicht-invasive und leicht reproduzierbare Messmethode quantifiziert werden. In einem weiteren begleitenden Versuchsaufbau von Emmerich [41] erfolgten in vitro-Messungen zur direkten Bestimmung der mechanischen Gefäßwandeigenschaften.

2 Material und Methoden

2.1 Tiermodell

Als Versuchstiere wurden insgesamt 24 männliche Weiße Neuseelandkaninchen (Charles River, Kisslegg) mit einem durchschnittlichen Körpergewicht (KG) von 2808 ± 149 g verwendet. Zu Versuchsbeginn waren die Tiere ca.4-5 Monate alt.

2.1.1 Tierhaltung

Die Haltung der Kaninchen erfolgte als Einzelhaltung mit konstantem Tag-/Nachtrhythmus bei einer Durchschnittstemperatur von 18 °C. Während der gesamten Versuchsdauer erhielten die Tiere Wasser und Futter ad libitum. Die Futteraufnahme wurde durch das Ein- und Rückwiegen des Futters einmal pro Woche ermittelt.

2.1.2 Gruppeneinteilung und Behandlungsschema

Die Studie erstreckte sich über einen Zeitraum von insgesamt 15 Wochen. Die Kaninchen wurden in 3 Gruppen randomisiert.

Die Tiere der Kontrollgruppe (Gruppe 1, n=4) erhielten über die gesamte Versuchsdauer ein cholesterinfreies Kaninchenstandardfutter (Ssniff, Soest). Die Versuchsgruppe 2 (n=10) wurde während der 15-wöchigen Versuchszeit mit dem Standardfutter, das zusätzlich 0,5 % Cholesterin enthielt, ernährt. Die Tiere in Versuchsgruppe 3 (n=10) erhielten über den gesamten Zeitraum ein Standardfutter, das zusätzlich mit 0,5 % Cholesterin und 2 % Knoblauchpulver (Biocur, Holzkirchen) angereichert war.

2.1.3 Narkose und Blutentnahme

Blutentnahmen wurden zu Versuchsbeginn sowie nach 5, 10 und 15 (Versuchsende) Wochen unter Narkose durchgeführt. Nach einer 16-18-stündigen Nahrungskarenz wurde den Tieren im Anschluss an die hämodynamischen Untersuchungen 6-8 ml Blut aus der Ohrarterie entnommen. Das Blut wurde auf

Eis gekühlt und anschließend 10 min. bei 3000 U/min in einer Kühlzentrifuge (Varifuge st. Heraeus Christ Holding GmbH, Stuttgart) bei 4 °C zentrifugiert.

Für die Narkose wurde ein Gemisch aus Ketaminhydrochlorid (Ketanest®50, Parke-Davis, Berlin), Xylazin-Hydrochlorid (Rompun 2 %, Bayer-AG, Leverkusen) und Atropinsulfat (Braun, Melsungen) verwendet (1 ml entspricht 34 mg Ketaminbase, 0,59 mg Xylazin und 0,012 mg Atropin). Die Injektion erfolgte in die Glutealmuskulatur. Die Dosis betrug in Woche 0, 5 und 10 jeweils 2 ml, in Woche 15 aufgrund der Herzpunktion 6-8 ml (Kap. 2.1.4.2). Bei insuffizienter Narkose erfolgte eine Nachinjektion von bis zu 2 ml des Narkosegemisches.

2.1.4 Gefäß- und Organentnahme

2.1.4.1 Verabreichung von 5-Bromo-2-desoxyuridin (BrdU) und 2-Desoxycytidin (d-cyt)

5-Bromo-2-Desoxyuridin (BrdU) ist eine Thymidin-analoge Substanz und wird entsprechend in der S-Phase der Mitose in die DNA eingebaut. Mit Hilfe eines monoklonalen Antikörpers (Mouse-Anti-BrdU-Antikörper, Bio Cell Consulting, Reinach, Schweiz), welcher histochemisch durch eine Peroxidasereaktion sichtbar gemacht wird, kann dies im histologischen Präparat nachgewiesen werden. Die BrdU-positiven Zellkerne erscheinen rot.

Achtzehn Stunden vor der Gefäß- und Organentnahme wurden jedem Versuchstier 100 mg/kg KG BrdU und 75 mg/kg KG 2-Desoxycytidin (d-cyt) (Sigma, St. Louis, USA) in Pulverform subkutan verabreicht. Außerdem wurden 18 und 12 h vor Versuchsende jeweils 30 mg BrdU/kg KG und 25 mg d-cyt/kg KG in physiologischer Kochsalzlösung in die Glutealmuskulatur der Tiere injiziert.

Die Tiere wurden mit 5 ml des Narkosegemisches (Kap. 2.1.3) narkotisiert. Der Nacken der Tiere wurde rasiert, anschließend erfolgte die Präparation von 2 subkutanen Taschen mit jeweils etwa 2 cm Durchmesser und 5 cm Tiefe an der dorsalen Halsseite. Nach Applikation der Substanz in die Taschen wurde die Haut der Tiere mit einer fortlaufenden Naht verschlossen.

Als Positivkontrolle in einem regenerierenden Gewebe wurde die BrdU-Anreicherung in der Dünndarmmukosa kontrolliert. Bei Versuchsende erfolgte daher die Entnahme eines Stückes Dünndarm. Eine dort herabgesetzte Mitoserate würde auf eine nicht ausreichende Verteilung des BrdU im Organismus schließen lassen. Dies war jedoch bei keinem der 24 Versuchstiere der Fall.

2.1.4.2 Entnahme des Gefäßbaums und der Organe

Zur Gefäß- und Organentnahme wurden den Tieren initial 6-8 ml des Narkosegemisches i. m. injiziert. An Bauch und Hals erfolgte eine vollständige Rasur. Nach Aufsuchen des Herzspitzenstoßes wurde der linke Herzventrikel mit einer 20G-Monovetten®-Kanüle punktiert. Die maximal mögliche Blutmenge wurde entnommen, so dass die systemische Minderperfusion schließlich zum Kreislaufstillstand führte. Die Tiere wurden mit einem Längsschnitt von der Symphyse bis zum Kehlkopf eröffnet. An den Hinterpfoten wurden die Inzisionen bis zum Knie erweitert, die Rippen wurden an ihren Gelenken mobilisiert, um die Präparation zu erleichtern. Die Aa. carotes, die Aorta in ihrem gesamten Verlauf sowie die Aa. Iliacae und femorales externae wurden vollständig dargestellt und von perivaskulärem Gewebe befreit.

Zuerst wurden die linke und rechte A. carotis entnommen. Der herznah gelegene Abschnitt wurde als A. carotis I definiert. Der sich distal daran anschließende Abschnitt wurde entsprechend als A. carotis II bezeichnet. Aortenbogen und Aorta bis zur iliakalen Bifurkation wurden entnommen. Der Aortenbogen wurde in 3 Abschnitte von jeweils 0,4-0,6 cm Länge unterteilt. Der 1. Abschnitt wurde vor dem Abgang des Truncus brachiocephalicus abgetrennt, der 2. Abschnitt vor dem Abgang der A. subclavia sinistra, der 3. Abschnitt entsprach dem proximalen Anteil der Aorta descendens. Im Anschluss wurde die Aorta in 8 Abschnitte unterteilt. Im weiteren Text werden die 4 Abschnitte proximal der A. renalis als Aorta thoracalis 1-4, distal davon als Aorta abdominalis 1-4 bezeichnet. Zusätzlich wurden das rechte und linke Iliakalgefäß entnommen. Zuletzt erfolgte beidseits die Entnahme der A. femoralis externa, die in jeweils 2 Segmente unterteilt wurde. Die Gefäßabschnitte wurden in eine 4%ige Formalinlösung überführt.

Außerdem wurden Herz, beide Nieren, Lunge, Milz und Leber entnommen und gewogen. Darüber hinaus wurde ein ca. 1 cm langes Darmsegment zur Kontrolle der BrdU-Färbung exzidiert. Alle Präparate wurden sofort nach ihrer Entnahme in die Formalinlösung gegeben.

2.2 Plasmaparameter

2.2.1 Cholesterin und individuelle Cholesterinexposition (AUC)

Die Cholesterinbestimmung im Plasma erfolgte mit einem enzymatischen Standardtest durch Cholesterinoxidase (CHOD-PAP-Methode, Boehringer, Mannheim). In Anwesenheit von Sauerstoff wird freies Cholesterin zu Delta-4-Cholestenon und Wasserstoffperoxid umgesetzt. H_2O_2 wird durch Peroxidase mit Phenol und 4-Aminophenazon in den roten Farbkomplex 4-p-Benzochinon-monoiminophenazon umgewandelt. Die bei 546 nm im Photometer gemessene Extinktion dieses Farbkomplexes ist proportional zur Cholesterinkonzentration im Plasma. Die individuelle Cholesterinexposition als Maß der Gefäßbelastung über die gesamte Dauer der Studie wurde als Flächenintegral (area under the curve, AUC) berechnet. Dieser Wert setzt sich zusammen aus den Einzelwerten des Gesamtcholesterins zu Versuchsbeginn und in Woche 5, 10 und 15. Bei der Berechnung wurde die Trapezregel^a verwendet.

2.2.2 LDL-, HDL- und VLDL-Cholesterin

Die wichtigste Trennungsmethode für Lipoproteine stellt die Flotation in der Ultrazentrifuge dar. Durch ihren hohen Lipidgehalt haben Lipoproteine eine vergleichsweise geringe Dichte. Bei Verwendung von Salzlösung einer bestimmten Dichte beginnen Lipoproteine mit entsprechend geringerer Dichte zu flotieren. Dadurch ist es möglich, Partikel mit einer Dichte <1,006 g/ml

^a

$$\left(\frac{Chol-0 + Chol-1}{2} * 5\right) + \left(\frac{Chol-1 + Chol-2}{2} * 5\right) + \left(\frac{Chol-2 + Chol-3}{2} * 5\right)$$

Chol-0, Chol-1, Chol-2 und Chol-3 entsprechen den Cholesterinkonzentrationen zu den Messzeitpunkten Woche 0, 5, 10 und 15.

(VLDL-C und Chylomikronen) von solchen mit höherer Dichte (LDL-C und HDL-C) zu trennen. Die Isolierung der HDL-C aus der größeren Dichteklasse erfolgte durch Präzipitation der LDL-C-Fraktion. Initial wurde 1 ml Plasma mit 0,3 ml einer 0,15 M Natriumchloridlösung in einem 2-ml-Polyallomer-Zentrifugen-Röhrchen (Kontron, Neufahrn) überschichtet. Es folgte die Ultrazentrifugation (Ti 50,3 Rotor, Beckmann, München) bei 40.000 U/min und 10 °C für 18 h. Dies ergab ein Zentrifugat mit VLDL-C und Chylomikronen im Überstand, einer dazwischen liegenden klaren Zone aus NaCl-Lösung sowie LDL-C und HDL-C im Unterstand. Durch das Schneiden der Röhrchen an der Grenze zwischen unterer und klarer Zone wurde der Überstand entfernt. Der LDL-C und HDL-C-haltige Unterstand wurde mit 0,15 M Natriumchloridlösung wieder auf das Ausgangsvolumen von 1 ml aufgefüllt. Zur Bestimmung des HDL-C aus dem Unterstand wurden die LDL-C-Partikel durch Zugabe von Phosphorwolframsäure und Magnesium-Ionen bei einem pH-Wert von 7,6 ausgefällt (Fällungsreagenz, Boehringer, Mannheim). Der klare Überstand, der das HDL-C enthält, wurde nach 10-minütigem Zentrifugieren bei 12.000 U/min abgetrennt. Der LDL-C-Gehalt ergab sich als Differenz des Gesamtcholesterins des verdünnten Unterstandes und des darin enthaltenen HDL-C. Für die Bestimmung der Cholesterinkonzentration wurde die CHOD-PAP-Methode (Kap. 2.2.1) verwendet.

Durch Substraktion des HDL-C und LDL-C von dem in Kapitel 2.2.1 ermittelten Gesamtplasmacholesterin wurde der VLDL-C-Gehalt berechnet.

$$\text{LDL-C} = \text{Cholesterin im Unterstand} - \text{HDL-C}$$

$$\text{VLDL-C} = \text{Gesamtcholesterin} - \text{Cholesterin im Unterstand}$$

2.2.3 Triglyzeride

Der Nachweis der Triglyzeride erfolgte durch einen enzymatischen Standardtest (Peridochrom® Triglyzeride GPO-PAP-Methode, Boehringer, Mannheim). Nach enzymatischer Spaltung der Plasmatriglyzeride wird das entstandene Glycerin

durch eine Farbreaktion bestimmt. Mit Hilfe von Glycerokinase und Glycerinphosphatoxidase wird Glycerin in Dihydroxyacetonphosphat und H_2O_2 umgewandelt. Peroxidase setzt H_2O_2 mit 4-Aminophenazon und 4-Chlorphenol in das farbige Nachweisprodukt 4-p-Benzochinonmonoiminophenazon um. Die Extinktion bei 546 nm ist proportional zur Triglyzeridkonzentration.

2.2.4 Weitere klinisch-chemische Parameter

Die Bestimmung der Parameter Fibrinogen, Hämoglobin, Hämoglobin im Plasma, Erythrozytenzahl, Hämatokrit sowie Transaminasen und GGT (γ -Glutamyltranspeptidase) erfolgte nach Standardmethoden im Zentrallabor des Universitätsklinikums Tübingen.

2.3 Histologie und Morphometrie

2.3.1 Herstellung von Paraffinpräparaten

Nach der Entnahme der Gefäße und Organe wurden die Präparate für mindestens 24 Stunden in einer 4%igen Formalinlösung fixiert. Nach der Freipräparation der Gefäßteile von noch vorhandenem perivaskulären Bindegewebe wurden sie durch eine aufsteigende Alkoholreihe (70-99 %) dehydratisiert. Anschließend wurden die Präparate 3-mal in Methylbenzoat (Merck, Darmstadt) für insgesamt mindestens 40 h und 2-mal für 10 min in Rotihistol® (Roth, Karlsruhe) überführt. Nach der Einbettung in Paraffin (Paraplast®, Sherwood, St. Louis, USA) wurden Semidünnschnitte mit einer Dicke von 4 μ m mit einem Mikrotom (Jung RM 2045, Leica, Bensheim) angefertigt.

2.3.2 Elastica-van-Gieson-Färbung (EvG)

Zur besseren Beurteilung der Grenze zwischen Tunica intima und Tunica media bei der morphometrischen Bestimmung der Plaquegröße wurde die Elastica-van-Gieson-Färbung (EvG-Färbung) angewendet. Die elastischen Fasern stellen sich dunkelviolett bis schwarz, Bindegewebe leuchtend rot und Muskulatur gelb dar. Die entparaffinierten Gefäßschnitte wurden 15 min mit

Resorcinfuchsin (Chroma Gesellschaft, Köngen) gefärbt, um anschließend nach Spülen mit 80%igem Alkohol und H₂O für 6 min in Eisenhämatoxylin nach Weigert (Chroma Gesellschaft, Köngen) belassen zu werden. Es folgte die Differenzierung in HCl-Alkohol für die Dauer von 10 min, danach wurden die Präparate unter fließendem Leitungswasser gebläut und nach erneutem Spülen mit Wasser etwa 2 min in van-Gieson-Lösung (Chroma Gesellschaft, Köngen) belassen. In einer aufsteigenden Alkoholreihe erfolgte die Entwässerung. Anschließend wurden die gefärbten Schnitte in Xylol getaucht und in Vitro Clud® (Langenbrinck, Emmendingen) eingebettet.

2.3.3 Auswertung der Segmentschnitte: Verwendete Geräte

Für die morphometrische Auswertung der gefärbten Gefäßpräparate wurden ein Mikroskop (Laborlux S, Okular 10fach, Tubus 1,25fach, Leica, Bensheim), eine spezielle Maus mit einer Induktionsspule, ein Digitalisierungstableau (SummaSketch Typ III, Summagraphics, München) und die Software "Bioquant Intro: BQANALYSIS BQ-IAD Analysis Software" und "BQANALYSIS BQ-IAD Measurement Software" (Bilany Consultants GmbH, Düsseldorf) verwendet. Die entsprechenden Plaueflächen der Aortenbogensegmente wurden unter einem 1,25fach Objektiv (Plan 1,25/0,04; Zeiss, Oberkochen) bzw. unter einem 10fach Objektiv (EF 10/0,25; Leica, Bensheim) ausgewertet. Für das 1,25fach Objektiv ergab sich eine 24fache, für das 10fach Objektiv eine 188fache Vergrößerung.

2.3.4 Morphometrische Auswertemethoden der intimalen Plauefläche, Gefäßlumenfläche, Gefäßquerschnittsfläche und des Stenosierungsgrades

Die morphometrische Bestimmung wurde an EvG-gefärbten Präparaten durchgeführt. Bei der Auswertung wurden die lumenwärts vom Endothel gelegene Fläche (F1) und die von der Lamina elastica interna eingeschlossene Fläche (F2) ausgemessen (**Abb. 1**). Die Fläche F1 (mm²) stellt das Gefäßlumen dar, durch Subtraktion (F1-F2) wurde die neointimale Plauefläche (mm²) berechnet. F1 und F2 waren in der Kontrollgruppe sowie bei plauefreien Gefäßabschnitten identisch. F3 als die von der Außengrenze der Tunica media eingeschlossene Fläche entspricht der Gefäßquerschnittsfläche (mm²). Die

Adventitia wurde in Ermangelung klarer Grenzstrukturen nicht in die Messung einbezogen. Jede Messung wurde dreimal durchgeführt und daraus das arithmetische Mittel gebildet. Der Stenosegrad (%) bezeichnet den Anteil der Neointima an der von der Lamina elastica interna begrenzten Fläche und wird durch die Formel $100 - [(F1/F2) \cdot 100]$ wiedergegeben.

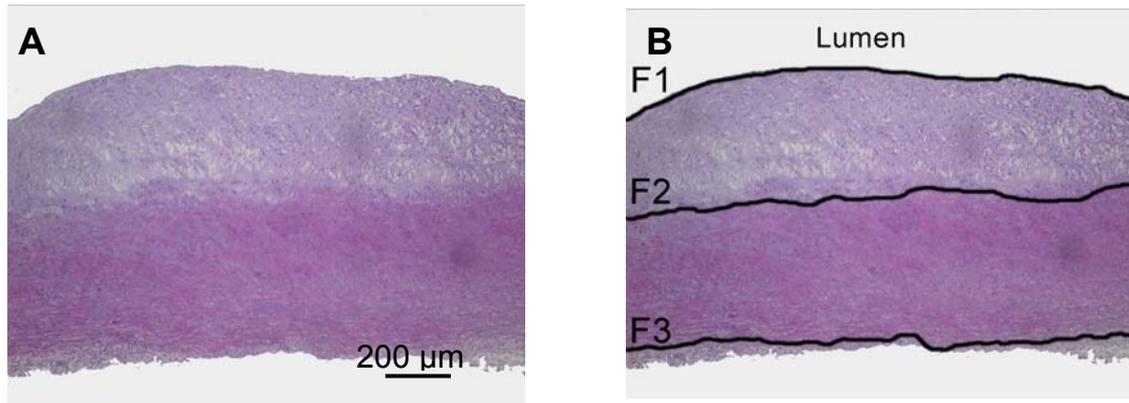


Abb. 1: Gefäßwandabschnitt mit Neointima (A), gleicher Abschnitt mit angezeichneten Messflächen F1, F2, F3 (B)

2.4 Untersuchungen zur Hämodynamik

Untersuchungen zur Hämodynamik wurden jeweils in Narkose zu Versuchsbeginn sowie nach 5, 10 und 15 (Versuchsende) Wochen durchgeführt. Das EKG wurde mit einem HP 7341 A von Hewlett-Packard (Bad Münstereifel/Palo Alto, California, USA) über die Extremitätenableitung III nach Einthoven aufgenommen. Zur Erfassung der Blutflussgeschwindigkeit wurde die Ultraschall-Dopplersonographie angewendet. Verwendet wurde zum einen ein Debimetre ultrasonique directionel von Delande elektronique mit einer 8-MHz-Stiftsonde und zum anderen ein Dyne Flow pocket Doppler (Sanol Schwarz GmbH, Monheim) mit einer 4-MHz-Sonde.

2.4.1 Blutdruck

Die intraarterielle Blutdruckmessung erfolgte über eine Blutentnahmekanüle in der Ohrarterie, welche mit 2 ml einer Lösung aus NaCl 0,9 % und Heparin-Natrium (Liquemin 7500 I.E., Roche, Grenzach-Wyhlen) gespült und gefüllt

wurde. Die kontinuierliche Druckerfassung erfolgte mittels eines Statham-Elements.

2.4.2 Dopplersonographie und Pulswellenlaufzeit

Mit Hilfe der EKG-getriggerten Continuous-Wave-Dopplersonographie (CW-Dopplersonographie) lassen sich über den Parameter Pulswellenlaufzeit indirekt Veränderungen der Elastizität der Gefäßwand und der Viskosität des Blutes sowie das Vorhandensein von intraluminalen Hindernissen darstellen. Über die Flusskurvenmorphologie können hämodynamisch relevante Stenosen ab einer Lumeneinengung von etwa 50 % diagnostiziert werden. Eine solche Flusskurvenanalyse wurde im vorliegenden Versuchsaufbau nicht durchgeführt. Der Vergleich der Pulswellenlaufzeiten ist dagegen deutlich sensitiver, vor allem im Tiermodell, bei dem ein Ausgangsbefund vor Beginn des atherosklerotischen Prozesses protokolliert werden kann. Dabei erfolgte die simultane Ableitung von EKG und Flusskurve (als Dopplersignal) der Aorta abdominalis (Ao. abd.) bzw. der Arteria femoralis communis (A. fem. comm.). Die Pulswellenlaufzeiten (PWLZ) wurden als zeitlicher Abstand zwischen R-Zacke im EKG und Pulswellenmaximum in der Flusskurve ermittelt. Zur besseren Reproduzierbarkeit der Werte wurde ein Algorithmus verwendet.

In **Abb. 2** ist ein typisches Bild von EKG und Dopplersignal der Ao. abd. im Kaninchen dargestellt. In **Abb. 3** wird die Versuchsanordnung gezeigt.

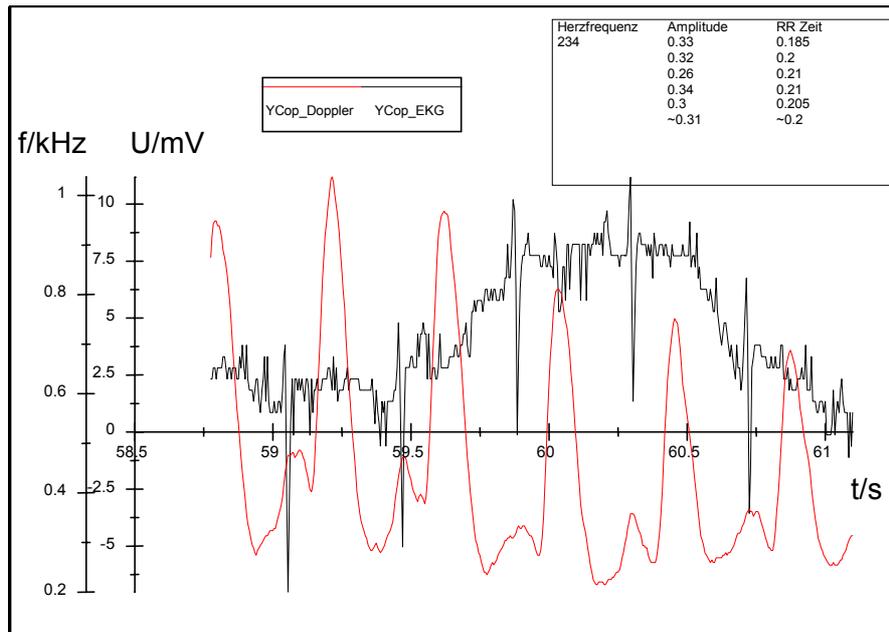


Abb. 2: Simultane Messung von EKG (schwarz) und Dopplersignal der Aorta abdominalis (rot). Aus der Pulswellenlaufzeit von R-Zacke bis Pulswellenmaximum lassen sich Aussagen über Veränderungen der Gefäßwandelastizität und der Strömungshindernisse machen.

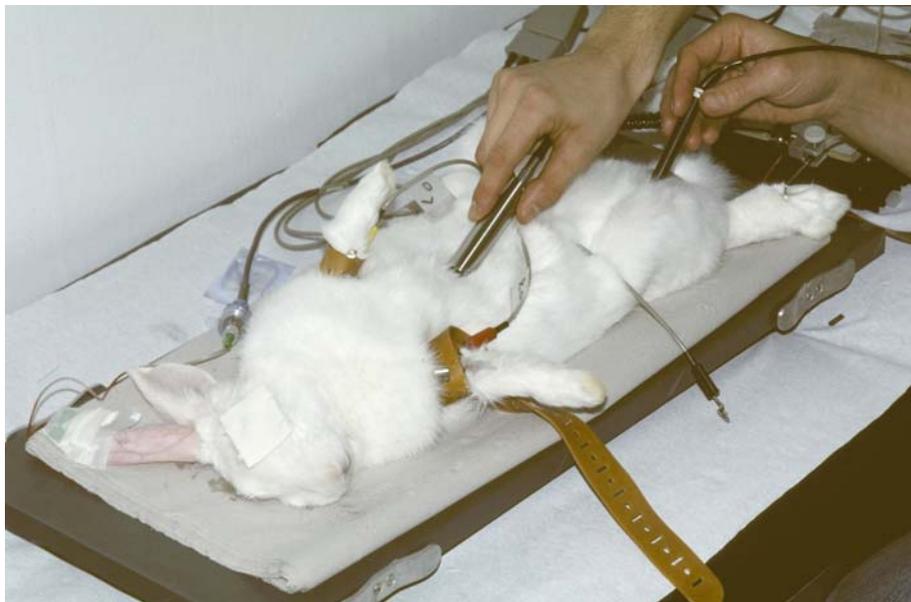


Abb. 3: EKG-getriggerte CW-Dopplersonographische Bestimmung der Pulswellenlaufzeit an Aorta abdominalis und Arteria femoralis communis im narkotisierten Kaninchen.

Die zu untersuchenden Gefäßabschnitte wurden in einem Winkel von etwa 45 % beschallt. Kontaktgel wurde verwendet, um einen luftfreien Hautkontakt zu erreichen. Anatomische Orientierungspunkte für eine verbesserte Reproduzierbarkeit der Messungen an den verschiedenen Tieren waren für die Ao. abd. der Processus xiphoideus, für die A. fem. comm. das Leistenband. An diesen Stellen verläuft neben der Begleitvene kein weiteres größeres Gefäß, so dass eine relativ sichere Zuordnung der abgeleiteten Signale zu dem spezifischen Gefäß möglich ist.

2.5 Statistische Auswertung

Die statistischen Analysen wurden mit dem Programm Jump 3.1 (SAS Institute Inc, Cary, USA) durchgeführt. Die graphische Darstellung der Daten erfolgte mit den Programmen Excel 2000 (Microsoft, Redmond, USA), Diadem 6.0 (GfS, Aachen) und PlotIT V3.2 (Scientific Programming Enterprises, Haslett, USA).

Von den gemessenen Daten der Versuchstiere jeder Gruppe wurden in der Regel der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung berechnet. Es wurde vorausgesetzt, dass die Daten unabhängig sind. Eine Varianzanalyse (ANOVA) wurde durchgeführt, wenn bei den Messwerten Normalverteilung der Varianzen (Shapiro-Wilk-Test) und Homogenität der Varianzen (Bartlett-Test) als Voraussetzung gegeben waren. Zeigte die ANOVA signifikante Unterschiede, schloss sich der Tukey Kramer-Test für den Vergleich aller Gruppen untereinander an. War die Homogenität der Varianzen nicht gegeben, wurde versucht, dies durch Logarithmieren der Daten zu erreichen. Auf ein anschließendes Rücktransformieren der logarithmierten Daten wurde verzichtet. Wenn keine Homogenität der Varianzen bei den logarithmierten Daten gegeben war, wurden die Werte der Welch ANOVA berücksichtigt.

Lag keine Normalverteilung der Werte vor, wurde der Wilcoxon-Test als nicht-parametrischer Test durchgeführt. Korrelationen wurden mit dem Pearson-Korrelationskoeffizienten über alle Gruppen berechnet. Es wurden die Absolutwerte aller Tiere der Gruppen verwendet. Die Prüfung auf Signifikanz erfolgte auf einem α -Signifikanzniveau von 0,05.

3 Ergebnisse

Das Versuchsende wurde von 33 der 34 Tiere erreicht. Ein Tier der Gruppe 3, das die Futteraufnahme verweigert hatte, wurde eine Woche früher aus dem Versuch genommen. Von diesem Kaninchen wurden die hämodynamischen Parameter mit Ausnahme der Woche 15 sowie die Daten zur Gefäßmorphologie berücksichtigt.

3.1 Körpergewicht und Futteraufnahme

3.1.1 Körpergewicht

Das Körpergewicht wurde wöchentlich protokolliert. Zu Versuchsbeginn war kein signifikanter Unterschied zwischen den 3 Gruppen feststellbar. Bis Woche 10 verlief die Körpergewichtsentwicklung annähernd parallel. Danach zeigte sich jedoch eine stärkere Gewichtszunahme in der Kontrollgruppe (**Abb. 4**).

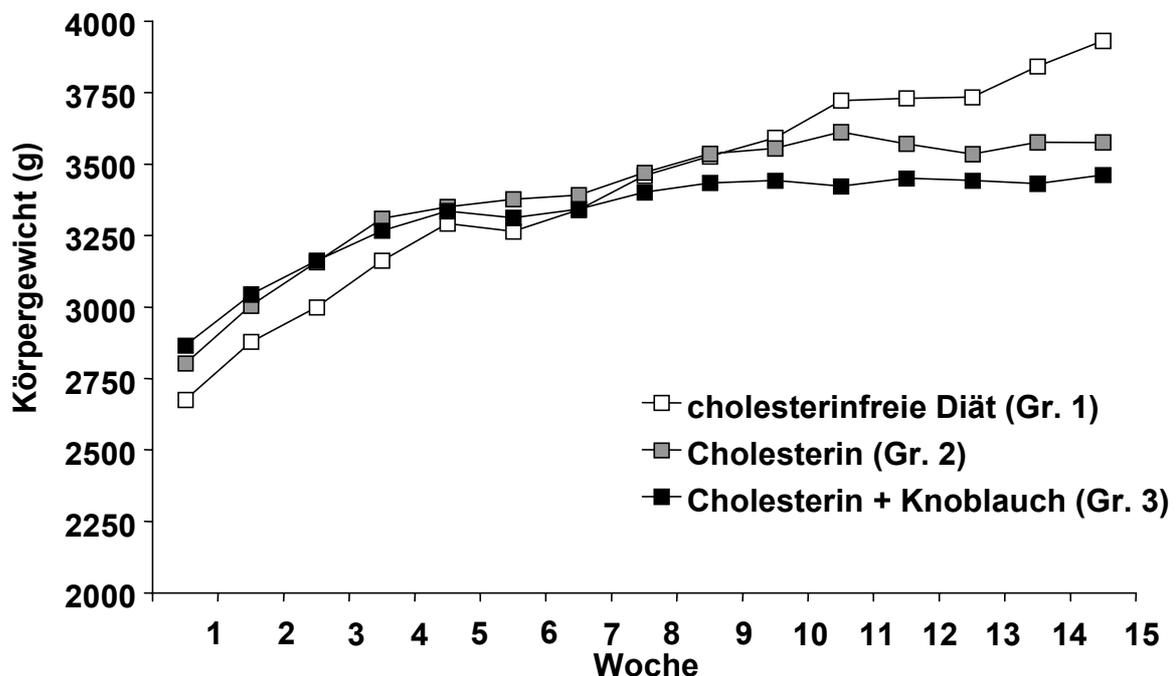


Abb. 4: Entwicklung des Körpergewichts in den 3 Tiergruppen über die Untersuchungsdauer von 15 Wochen (arithmetischer Mittelwert)

Durchschnittlich nahmen die Tiere während der Studie 1257 g in Gruppe 1 (n=4), 774 g in Gruppe 2 (n=10) und 576 g in Gruppe 3 (n=10) ($p = 0,0025$) zu. Damit war die Gewichtszunahme in Gruppe 2 und 3 um 38 bzw. 54 % geringer als in Gruppe 1.

3.1.2 Futteraufnahme

Die Futteraufnahme wurde wöchentlich protokolliert und auf die durchschnittliche Menge pro Tag umgerechnet (**Abb. 5**).

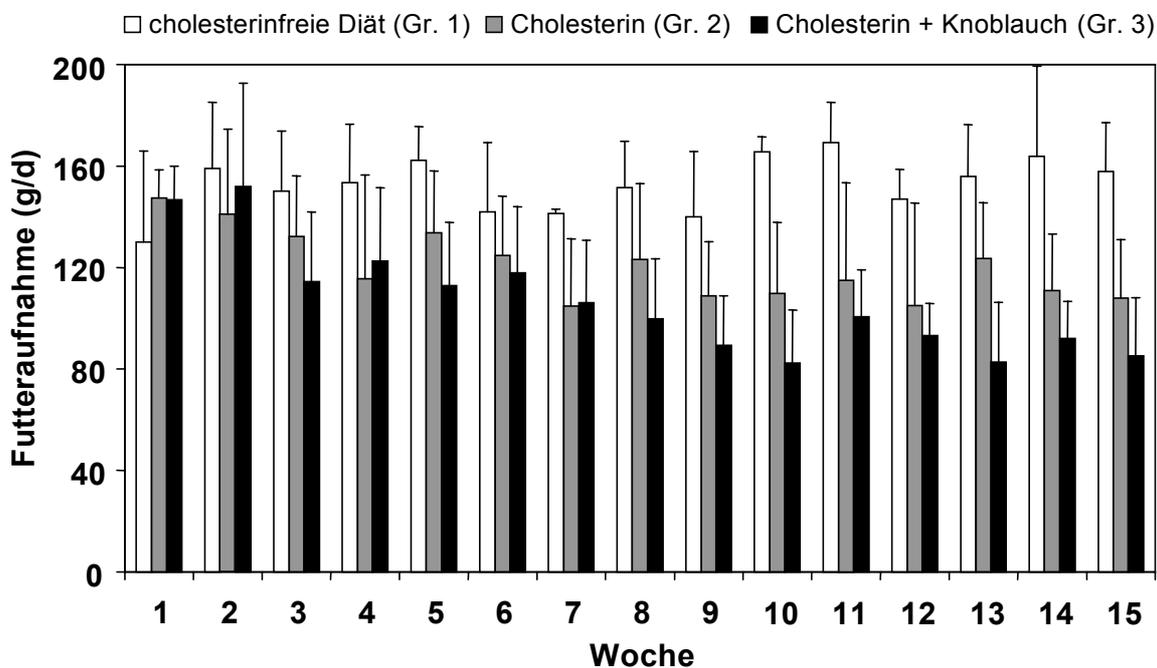


Abb. 5: Durchschnittliche tägliche Futteraufnahme in den 3 Tiergruppen im Untersuchungsverlauf

Während die Futteraufnahme in den ersten beiden Wochen in den 3 Tiergruppen ähnlich hoch war, nahm sie in Gruppe 2 und 3 in der Folge ab. Auch zwischen Gruppe 2 und 3 gab es geringe Unterschiede; in den meisten Wochen war die Futteraufnahme der cholesteringefütterten Tiere leicht höher als die der Tiere mit Cholesterin- und Knoblauchzusatz im Futter. Innerhalb der 15 Wochen nahmen die Tiere der Gruppe 1 insgesamt $15,5 \pm 1,1$ kg Futter auf. In Gruppe 2 betrug die Futteraufnahme $12,0 \pm 2,0$ kg, in Gruppe 3 betrug sie

10,7 ± 1,9 kg. Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigten die Tiere der Gruppen 2 und 3 eine signifikant niedrigere Gesamtfutteraufnahme ($p = 0,0011$), die Gruppen 2 und 3 unterschieden sich nicht signifikant voneinander. In Gruppe 2 war die Futteraufnahme um 23 %, in Gruppe 3 um 31 % geringer als in der Kontrollgruppe.

3.1.3 Cholesterin- und Knoblauchaufnahme

Aufgrund der unterschiedlich hohen Futtermengen, die die Tiere verzehrten, schwankte auch die Cholesterin- und Knoblauchaufnahme, die sich aus der Futteraufnahme berechnet (**Abb. 6**).

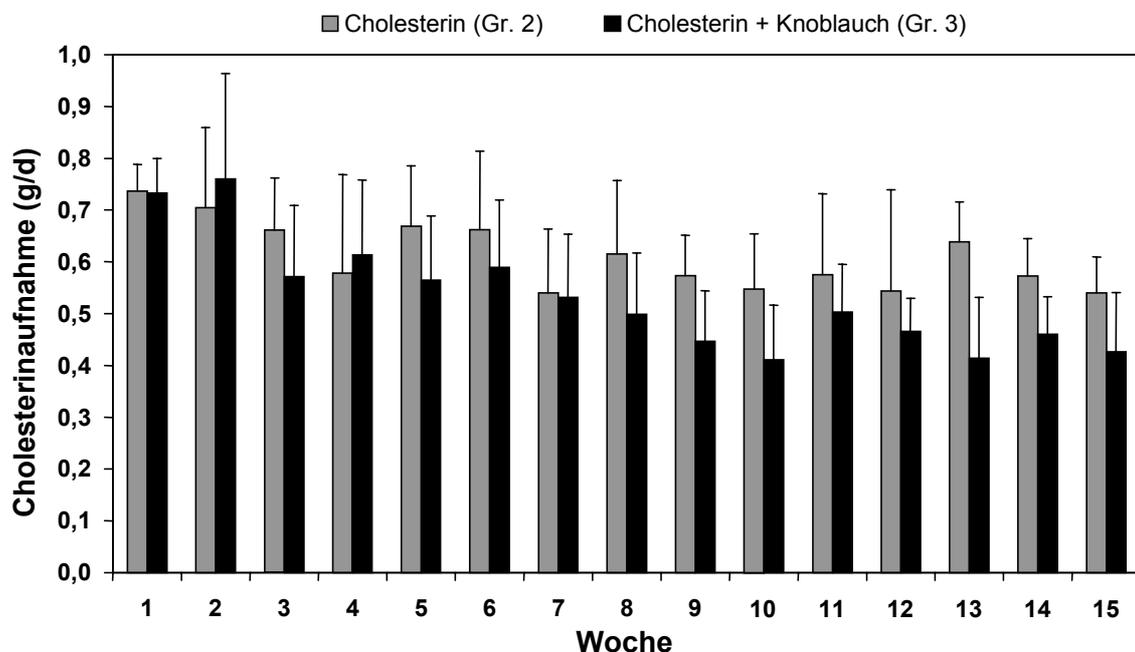


Abb. 6: Tägliche durchschnittliche Cholesterinaufnahme in Gruppe 2 und 3 im Untersuchungsverlauf

Die Summe der aufgenommenen Cholesterinmenge über die gesamte Untersuchungsdauer lag in Gruppe 2 bei 60 ± 10 g, in Gruppe 3 bei 54 ± 9 g ($p = 0,1665$) und war damit in Gruppe 3 um 10 % geringer. Die Knoblauchaufnahme verlief parallel zur Cholesterinaufnahme. Im Durchschnitt nahmen die Tiere täglich 2,1 g Knoblauch auf. Zu Untersuchungsbeginn betrug die Knoblauchzufuhr $20,5 \pm 1,9$ g pro Woche. Im Verlauf der Studie nahm sie ab

und lag in Woche 15 bei $10,1 \pm 1,1$ g pro Woche. Pro kg Körpergewicht errechnete sich eine durchschnittliche Knoblauchaufnahme von 0,63 g.

3.2 Organgewichte

Bei Versuchsende wurden verschiedene Organe entnommen, gewogen und in Prozent des Körpergewichts berechnet. Das Lebergewicht war bei den cholesteringefütterten Tieren um etwa 50 g gegenüber den Kontrolltieren erhöht. Das Gewicht der Milz betrug im Durchschnitt 3,6 bzw. 4,0 g in Gruppe 2 und 3 und war damit 3fach höher als in Gruppe 1. Ein Einfluss der Knoblauchfütterung auf Leber- und Milzgewicht war nicht feststellbar. Bei Herz, Niere und Lunge wurden keine Unterschiede zwischen den 3 Gruppen beobachtet (Tab. 1).

Tab. 1: Organgewichte absolut (g) und im Verhältnis zum Körpergewicht (%)

| | | Gruppe 1: cholesterin- freie Diät | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch | ANOVA (p) |
|-----------------------|------------|--|----------------------------------|--|----------------------|
| Leber | (g) | $82,8 \pm 17,7^{\dagger\dagger}$ | $137,8 \pm 21,5^*$ | $130,5 \pm 22,9^*$ | 0,001 |
| | (%) | $2,12 \pm 0,42^{\dagger\dagger}$ | $3,83 \pm 0,71^*$ | $3,80 \pm 0,62^*$ | < 0,0001 |
| Milz | (g) | $1,3 \pm 0,5^{\dagger\dagger}$ | $3,6 \pm 1,1^*$ | $4,0 \pm 1,4^*$ | 0,003 |
| | (%) | $0,03 \pm 0,01^{\dagger\dagger}$ | $0,10 \pm 0,04^*$ | $0,12 \pm 0,04^*$ | < 0,0001 |
| Herz | (g) | $6,9 \pm 0,9$ | $6,8 \pm 1,3$ | $6,5 \pm 0,8$ | 0,70 |
| | (%) | $0,18 \pm 0,02$ | $0,19 \pm 0,04$ | $0,19 \pm 0,02$ | 0,47 |
| Niere (rechts) | (g) | $8,8 \pm 0,6$ | $8,2 \pm 0,9$ | $8,4 \pm 1,4$ | 0,71 |
| | (%) | $0,22 \pm 0,01$ | $0,23 \pm 0,04$ | $0,24 \pm 0,04$ | 0,31 |
| Niere (links) | (g) | $8,9 \pm 1,4$ | $8,7 \pm 0,8$ | $8,7 \pm 1,7$ | 0,97 |
| | (%) | $0,23 \pm 0,02$ | $0,24 \pm 0,03$ | $0,25 \pm 0,04$ | 0,51 |
| Lunge | (g) | $10,5 \pm 2,6$ | $9,8 \pm 1,5$ | $10,6 \pm 1,8$ | 0,62 |
| | (%) | $0,27 \pm 0,05$ | $0,27 \pm 0,04$ | $0,31 \pm 0,04$ | 0,16 |

Signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu * Gruppe 1, † Gruppe 2, ‡ Gruppe 3

3.3 Plasmalipide

3.3.1 Gesamtcholesterin

Zu Untersuchungsbeginn lag die Plasma-Cholesterinkonzentration in den 3 Gruppen bei durchschnittlich 40 mg/dl. In der Kontrollgruppe nahm die Cholesterin-Konzentration bis zum Versuchsende um ca. 50 % ab. In Gruppe 2 und 3 bewirkte die Konzentration von 0,5 % Cholesterin im Futter einen starken Anstieg der Plasmakonzentrationen. Nach 5 Wochen war die Konzentration in Gruppe 2 auf 1402 ± 474 mg/dl gestiegen, in Gruppe 3 auf 1151 ± 269 mg/dl ($p = 0,229$). Nach 10 Wochen war die Cholesterinkonzentration in Gruppe 3 (1668 ± 538 mg/dl) etwas höher als in Gruppe 2 (1439 ± 304 mg/dl); der Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant ($p = 0,238$). Nach 15 Wochen war die Cholesterinkonzentration in der mit Knoblauch gefütterten Gruppe um durchschnittlich 388 mg/dl höher als in Gruppe 2 ($p = 0,027$) (Abb. 7).

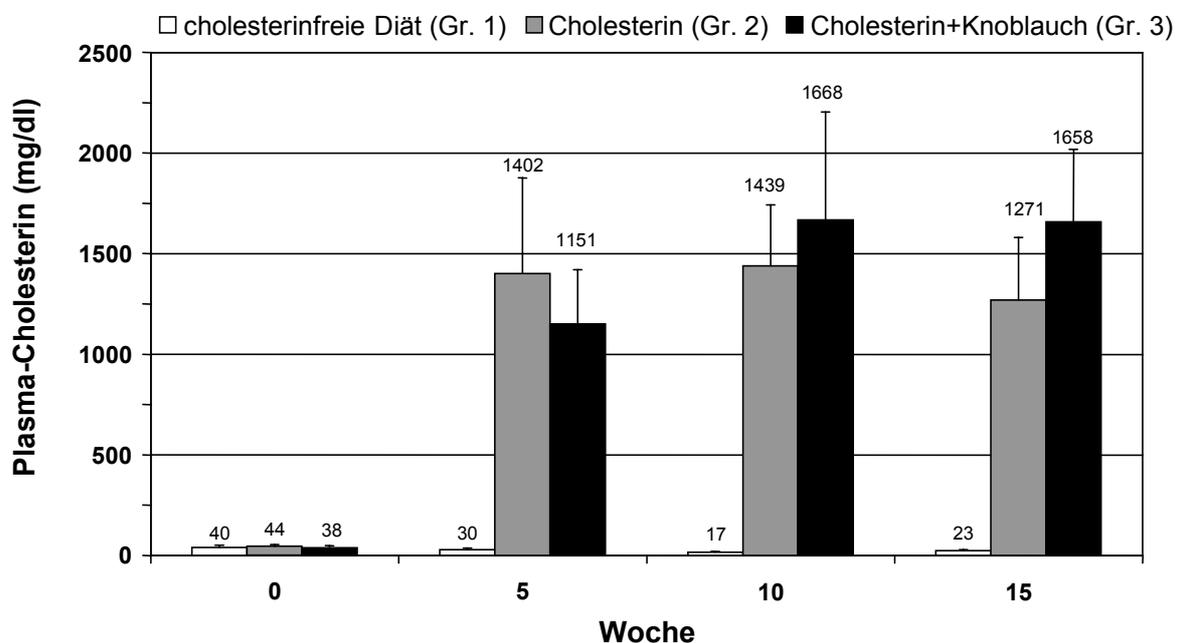


Abb. 7: Cholesterinkonzentration im Plasma der 3 Tiergruppen im Untersuchungsverlauf

Die Berechnung der Gesamtcholesterinbelastung über die Untersuchungsdauer als area under the curve (AUC) ergab, dass zwischen Gruppe 2 und 3 kein signifikanter Unterschied bestand (17482 ± 2873 vs. 18698 ± 4254 mg/dl * Wochen; $p = 0,567$) (**Abb. 8**).

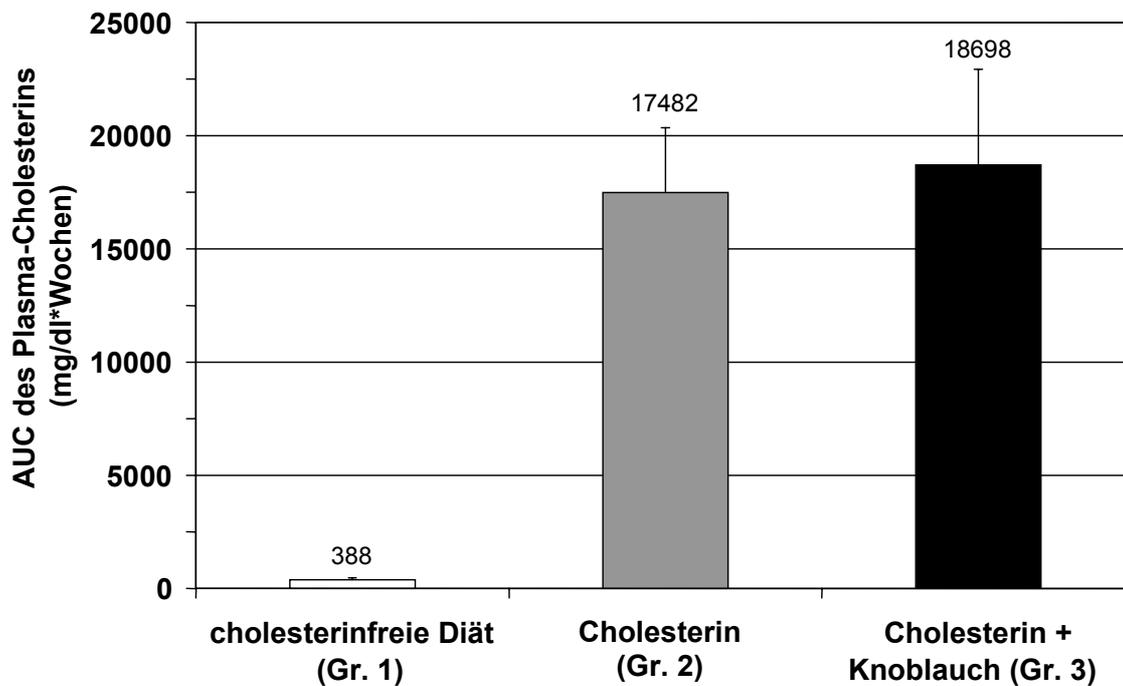


Abb. 8: Gesamtcholesterinbelastung berechnet als area under the curve (AUC) in den 3 Tiergruppen

3.3.2 Lipoproteinfraktionen

Zu Versuchsbeginn lagen in allen Gruppen ähnlich hohe Konzentrationen an HDL- ($p = 0,726$), LDL- ($p = 0,065$) und VLDL-Cholesterin ($p = 0,897$) vor (**Tab. 2**). Die LDL-Cholesterinkonzentration der knoblauchgefütterten Tiere war in Woche 5 um 11 % niedriger, in Woche 10 und 15 um 23 bzw. 50 % höher als in Gruppe 2. Signifikant war der Unterschied in Woche 15 ($p = 0,002$). Die VLDL-Cholesterinkonzentrationen unterschieden sich nicht wesentlich zwischen Gruppe 2 und 3.

Tab. 2: Konzentration der Lipoproteine im Plasma (in mg/dl) im Untersuchungsverlauf

| | Gruppe 1: cholesterin- freie Diät | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch | ANOVA (p) |
|-------------------------|--|----------------------------------|--|----------------------|
| HDL-Cholesterin | | | | |
| Versuchsbeginn | 17,5 ± 5,6 | 18,1 ± 5,6 | 16,2 ± 4,8 | 0,726 |
| nach 5 Wochen | 14,9 ± 3,6 | 12,3 ± 3,7 | 15,8 ± 7,6 | 0,38 |
| nach 10 Wochen | 8,9 ± 1,6 | 6,5 ± 1,9 | 8,6 ± 3,6 | 0,19 |
| nach 15 Wochen | 7,5 ± 1,7 | 5,8 ± 2,6 | 5,5 ± 3,1 | 0,46 |
| LDL-Cholesterin | | | | |
| Versuchsbeginn | 11,5 ± 3,5 | 16,0 ± 6,1 | 10,6 ± 4,1 | 0,065 |
| nach 5 Wochen | 11,8 ± 4,9 ^{†‡} | 349 ± 135* | 311 ± 65* | 0,0001 |
| nach 10 Wochen | 4,1 ± 2,1 ^{†‡} | 363 ± 136* | 447 ± 144* | 0,0001 |
| nach 15 Wochen | 6,3 ± 4,9 ^{†‡} | 420 ± 119* | 634 ± 110* | 0,0001 |
| VLDL-Cholesterin | | | | |
| Versuchsbeginn | 11,0 ± 7,0 | 9,9 ± 3,8 | 10,9 ± 5,9 | 0,897 |
| nach 5 Wochen | 3,0 ± 2,4 ^{†‡} | 1040 ± 381* | 823 ± 254* | 0,0001 |
| nach 10 Wochen | 3,5 ± 1,9 ^{†‡} | 1070 ± 257* | 1212 ± 420* | 0,0001 |
| nach 15 Wochen | 9,8 ± 2,1 ^{†‡} | 897 ± 277* | 940 ± 238* | 0,0001 |

Signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu * Gruppe 1, † Gruppe 2, ‡ Gruppe 3

3.4 Weitere klinisch-chemische Parameter

3.4.1 Fibrinogen

Zu Untersuchungsbeginn war in den 3 Tiergruppen die Fibrinogenkonzentration im Plasma vergleichbar hoch ($p = 0,628$). Im weiteren Verlauf blieb die Konzentration in Gruppe 1 bis Woche 10 relativ stabil, in den Gruppen 2 und 3 war hingegen ein Abfall festzustellen (**Abb. 9**). In Woche 10 war die Fibrinogenkonzentration in der Kontrollgruppe signifikant größer als in Gruppe 2 und 3 ($p = 0,0001$), auch zwischen Gruppe 2 und 3 war der Unterschied signifikant. Das Niveau der Werte in Woche 15 war insgesamt höher, signifikante Unterschiede ergaben sich jedoch nur zwischen Gruppe 1 und den beiden anderen Gruppen ($p = 0,0001$). Möglicherweise ist für die höheren Plasmawerte der operative Eingriff und die Applikation von BrdU 18 h vor Versuchsende verantwortlich (Kap. 2.1.4.1).

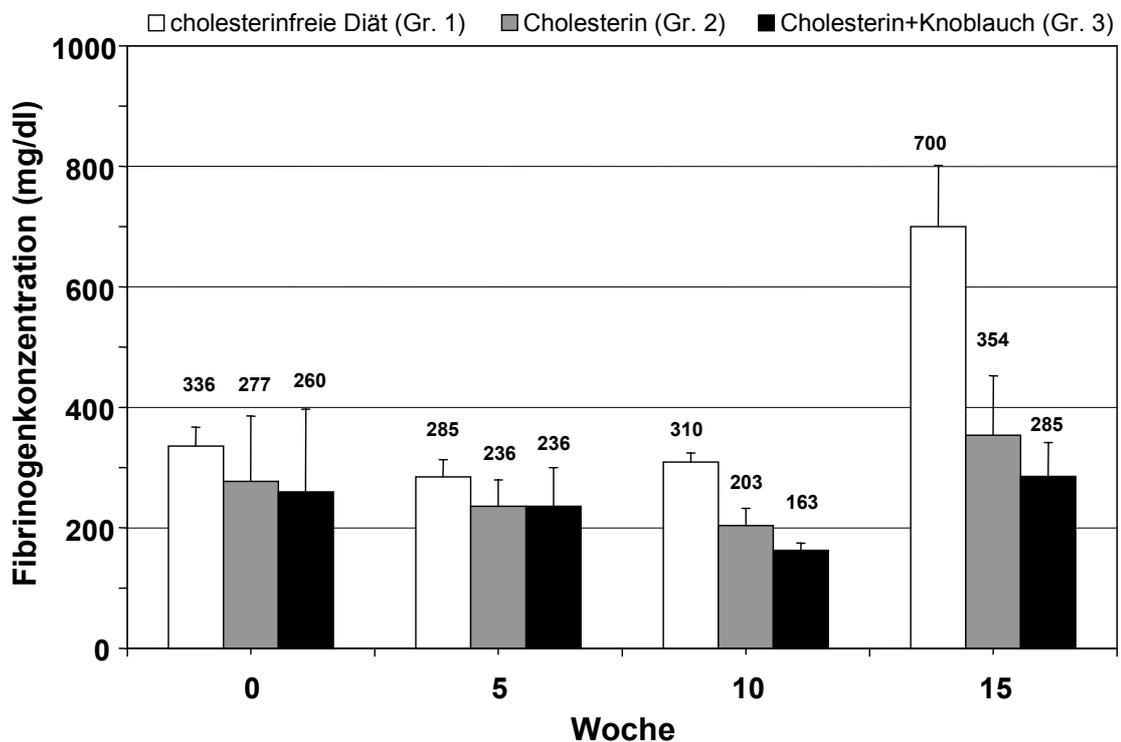


Abb. 9: Fibrinogenkonzentration im Plasma der 3 Tiergruppen im Untersuchungsverlauf

3.4.2 Hämoglobin, Hämoglobin im Plasma, Erythrozytenzahl und Hämatokrit

Zu Untersuchungsbeginn gab es keine signifikanten Unterschiede bei den hämatologischen Parametern. Ab Woche 5 waren der Hämatokrit, die Erythrozytenzahl und die Hämoglobinkonzentration in den Gruppen 2 und 3 gegenüber der Gruppe 1 signifikant erniedrigt, die Konzentration des Hämoglobins im Plasma mit Ausnahme von Woche 15 signifikant größer. Die Werte der Gruppen 2 und 3 unterschieden sich zu keinem Zeitpunkt signifikant voneinander (**Tab. 3**).

Tab. 3: Hämoglobin, Hämoglobin im Plasma, Erythrozytenzahl und Hämatokrit im Untersuchungsverlauf

| | Gruppe 1: cholesterin- freie Diät | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch | ANOVA (p) |
|-------------------------------------|---|--------------------------|---|--------------|
| Hämatokrit (%) | | | | |
| Versuchsbeginn | 41,3 ± 1,1 | 39,4 ± 1,5 | 40,1 ± 2,6 | 0,2881 |
| nach 5 Wochen | 41,3 ± 2,5 ^{†‡} | 32,7 ± 1,1* | 33,1 ± 1,2* | <0,0001 |
| nach 10 Wochen | 41,8 ± 1,2 ^{†‡} | 30,9 ± 3,2* | 29,6 ± 2,7* | <0,0001 |
| nach 15 Wochen | 41,8 ± 2,7 ^{†‡} | 28,8 ± 5,1* | 25,7 ± 3,5* | <0,0001 |
| Erythrozyten (Mio/μl) | | | | |
| Versuchsbeginn | 6,7 ± 0,4 | 6,4 ± 0,3 | 6,5 ± 0,4 | 0,3759 |
| nach 5 Wochen | 6,7 ± 0,3 ^{†‡} | 5,4 ± 0,4* | 5,5 ± 0,3* | <0,0001 |
| nach 10 Wochen | 6,8 ± 0,3 ^{†‡} | 4,8 ± 0,5* | 4,6 ± 0,6* | <0,0001 |
| nach 15 Wochen | 6,6 ± 0,3 ^{†‡} | 4,2 ± 1,1* | 3,7 ± 0,7* | 0,0002 |
| Hämoglobin (g/dl) | | | | |
| Versuchsbeginn | 13,8 ± 0,7 | 13,3 ± 0,5 | 13,3 ± 0,8 | 0,3553 |
| nach 5 Wochen | 13,6 ± 0,6 ^{†‡} | 11,9 ± 0,5* | 12,0 ± 0,6* | 0,0006 |
| nach 10 Wochen | 14,6 ± 0,6 ^{†‡} | 11,3 ± 1,1* | 11,0 ± 0,9* | <0,0001 |
| nach 15 Wochen | 14,3 ± 0,9 ^{†‡} | 10,2 ± 2,0* | 9,0 ± 1,2* | <0,0001 |
| Hämoglobin im Plasma (mg/dl) | | | | |
| Versuchsbeginn | 4,5 ± 0,6 | 5,5 ± 2,4 | 4,9 ± 0,7 | 0,5489 |
| nach 5 Wochen | 5,0 ± 2,7 ^{†‡} | 39,9 ± 15,2* | 33,4 ± 14,3* | 0,0008 |
| nach 10 Wochen | 4,0 ± 0,0 ^{†‡} | 33,9 ± 9,5* | 40,1 ± 17,1* | <0,0001 |
| nach 15 Wochen | 7,8 ± 5,6 ^{†‡} | 45,8 ± 49,3* | 28,6 ± 8,4* | <0,0001 |

Signifikanter Unterschied (p < 0,05) zu * Gruppe 1, † Gruppe 2, ‡ Gruppe 3

3.4.3 Transaminasen und γ -GT

Die Leberenzyme GOT, GPT und γ -GT lagen zu Untersuchungsbeginn innerhalb des Normbereichs, zwischen den 3 Gruppen waren keine Unterschiede vorhanden. Während es bei der GPT zu keinen gravierenden Veränderungen kam, war die GOT bei der zu Versuchsende stattfindenden Blutentnahme bei allen Tieren leicht erhöht.

Bei der γ -GT war ein starker Einfluss der Cholesterinfütterung feststellbar. In den Blutproben nach 5, 10 und 15 Wochen war die γ -GT in Gruppe 2 und 3 gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Ein Einfluss durch die zusätzliche Verabreichung von Knoblauch wurde nicht festgestellt: Zwischen Gruppe 2 und 3 bestand zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied (Tab. 4).

Tab. 4: Transaminasen und γ -GT im Untersuchungsverlauf

| | Gruppe 1: cholesterin- freie Diät | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch | ANOVA (p) |
|-------------------------------------|--|----------------------------------|--|----------------------|
| GOT (U/I) | | | | |
| Versuchsbeginn | 10,0 ± 6,6 | 10,0 ± 6,8 | 7,3 ± 2,7 | 0,47 |
| nach 5 Wochen | 7,5 ± 1,7 [‡] | 9,9 ± 3,1 [‡] | 18,3 ± 9,8 ^{*†} | 0,002 |
| nach 10 Wochen | 8,0 ± 0,8 [‡] | 14,2 ± 7,0 [‡] | 21,1 ± 7,6 ^{*†} | <0,0001 |
| nach 15 Wochen | 31,0 ± 9,8 | 55,4 ± 26,2 | 40,3 ± 10,9 | 0,07 |
| GPT (U/I) | | | | |
| Versuchsbeginn | 26,3 ± 8,8 | 24,5 ± 12,0 | 18,7 ± 6,0 | 0,28 |
| nach 5 Wochen | 18,5 ± 4,8 | 21,4 ± 8,4 | 30,2 ± 17,1 | 0,19 |
| nach 10 Wochen | 21,5 ± 4,2 | 23,5 ± 14,2 [‡] | 47,2 ± 27,6 [†] | 0,04 |
| nach 15 Wochen | 33,5 ± 10,1 | 42,5 ± 14,2 | 36,2 ± 14,4 | 0,45 |
| γ-GT (U/I) | | | | |
| Versuchsbeginn | 3,3 ± 0,5 | 3,3 ± 0,9 | 3,7 ± 0,7 | 0,46 |
| nach 5 Wochen | 4,3 ± 1,0 ^{†‡} | 134,6 ± 129,5 [*] | 75,0 ± 46,9 [*] | <0,001 |
| nach 10 Wochen | 3,8 ± 0,5 ^{†‡} | 207,4 ± 206,9 [*] | 300,3 ± 322,4 [*] | <0,001 |
| nach 15 Wochen | 2,0 ± 0,8 ^{†‡} | 131,4 ± 83,4 [*] | 186,7 ± 134,6 [*] | <0,001 |

Signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu * Gruppe 1, † Gruppe 2, ‡ Gruppe 3

3.5 Histologie und Morphometrie

Neben der Auswertung der Aortenbögen wurde eine morphometrische Auswertung der gesamten Aorta, der Aa. carotes, der Aa. iliacae und Aa. femorales externae durchgeführt. Aufgrund der starken Streuung der Daten in den kleineren Gefäßabschnitten wurde ab der Aorta thoracalis der Wilcoxon-Test angewendet, die Angabe der Werte erfolgt als Median mit den 25 %- und 75 %-Quartilen (x [y-z]).

3.5.1 Neointimale Plauefläche

Die Intimafläche wurde in 3 Segmenten des Aortenbogens bestimmt; aus den 3 Werten wurde der arithmetische Mittelwert berechnet. In Gruppe 1 war nach der 15-wöchigen Untersuchungsphase keine Plaueentwicklung festzustellen. In der cholesteringefütterten Gruppe 2 betrug die geringste Plaueentwicklung 2,2 mm², die größte 8,7 mm². In Gruppe 3, die zusätzlich Knoblauch erhalten hatte, wurden Größen zwischen 2,9 und 8,9 mm² gemessen. Die Plauegröße war in Gruppe 3 mit 5,6 ± 1,9 mm² nicht signifikant unterschiedlich zur Plauegröße der Gruppe 2 mit 5,4 ± 2,2 mm² (p = 0,8) (**Abb. 10**).

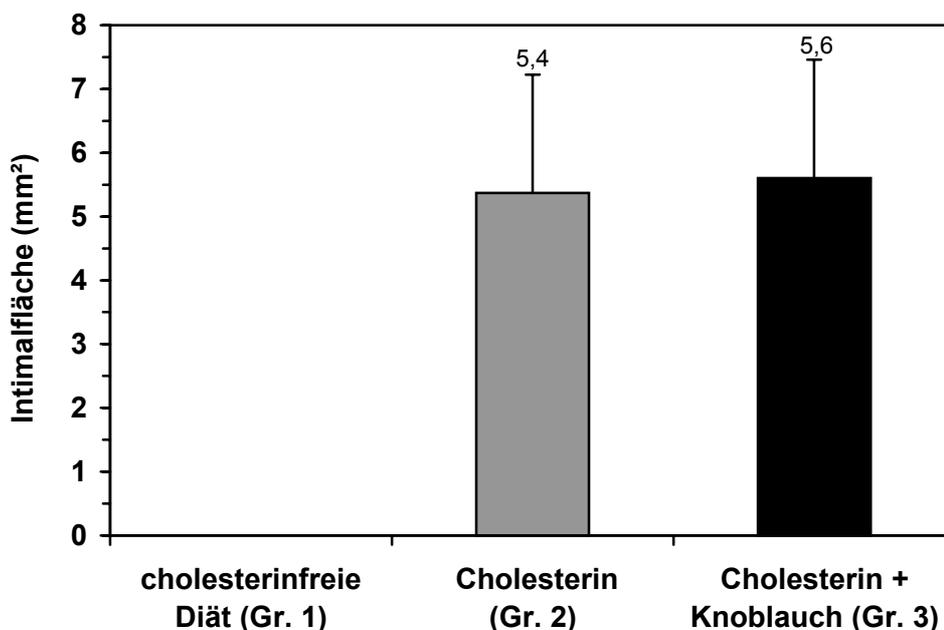


Abb. 10: Neointimale Plauefläche im Aortenbogen

In den übrigen Gefäßabschnitten der Gruppen 2 und 3 kam es ebenfalls zu einer neointimalen Plauebildung. Die Plaueflächen im Bereich der proximalen Aorta thoracalis waren am größten, sie nahmen nach distal ab. Tendenziell wiesen die Tiere der Gruppe 3 die größten Werte auf; am deutlichsten zeigte sich dies im Bereich der Aorta abdominalis 1 (Gruppe 2: 0,05 [0,01-0,27] vs. Gruppe 3: 0,56 [0,17-2,16], Wilcoxon Aorta abdominalis 1-4: $p = 0,03$) (**Tab. 5**).

Tab. 5: Neointimale Plauefläche im übrigen Gefäßbaum (mm²)

| | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch |
|--------------------------------|----------------------------------|--|
| A. carotis ($p = 0,28$) | | |
| re 1 | 0 [0-0,53] | 0 [0-0,38] |
| re 2 | 0 [0-0,15] | 0 [0-0,02] |
| li 1 | 0,01 [0-0,37] | 0 [0-0,1] |
| li 2 | 0 [0-0,01] | 0 [0-0] |
| Ao. thoracalis ($p = 0,29$) | | |
| 1 | 2,93 [2,06-4,26] | 3,38 [1,42-6,42] |
| 2 | 1,02 [0,51-1,80] | 2,27 [0,42-4,88] |
| 3 | 0,47 [0,35-0,72] | 1,26 [0,44-2,59] |
| 4 | 0,36 [0,26-0,72] | 0,82 [0,41-2,26] |
| Ao. abdominalis ($p = 0,03$) | | |
| 1 | 0,05 [0,01-0,27] | 0,56 [0,17-2,16] |
| 2 | 0,09 [0-0,25] | 0,24 [0,12-1,57] |
| 3 | 0,02 [0-0,3] | 0,32 [0,15-1,22] |
| 4 | 0,05 [0-0,32] | 0,35 [0,01-0,64] |
| A. iliaca ($p = 0,54$) | | |
| re | 0 [0-0,08] | 0,04 [0,01-0,2] |
| li | 0,04 [0-0,12] | 0,07 [0-0,25] |
| A. fem. ext. ($p = 0,50$) | | |
| re 1 | 0 [0-0,03] | 0,05 [0-0,06] |
| re 2 | 0 [0-0,02] | 0,16 [0-0,35] |
| li 1 | 0 [0-0,02] | 0,11 [0,01-0,3] |
| li 2 | 0 [0-0,05] | 0,03 [0-0,17] |

Die Darstellung der Werte erfolgt als Median mit den 25 %- und 75 %-Quartilen. Die p-Werte (Wilcoxon) beziehen sich auf die Analyse von Mittelwerten der 2 (A. iliaca) bzw. 4 Segmente (übrige Gefäßabschnitte) in den jeweiligen Gefäßabschnitten.

3.5.2 Fläche des Gefäßlumens, Stenosegrad und Gefäßquerschnittsfläche

Die durchschnittliche Gefäßlumengröße wird analog zur Plaquentwicklung ebenfalls durch die Cholesteringabe beeinflusst. In Gruppe 3 hatte das Restlumen im Aortenbogen eine Fläche von $6,1 \pm 1,4 \text{ mm}^2$ und war damit etwas kleiner als in Gruppe 2 mit einer Fläche von $6,5 \pm 1,2 \text{ mm}^2$ (**Abb. 11**). Die Lumenfläche in der Kontrollgruppe war im Vergleich zu Gruppe 2 und 3 signifikant größer ($p = 0,0018$).

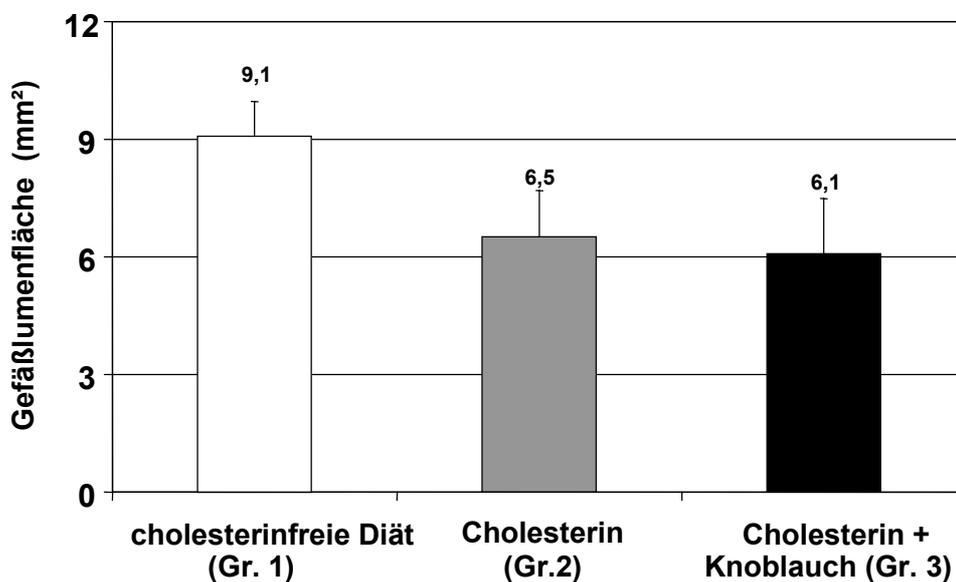


Abb. 11: Fläche des Gefäßlumens im Aortenbogen (mm²)

Im weiteren Gefäßverlauf zeigten sich zwischen den Gefäßlumina der 3 Tiergruppen nur geringe, nicht signifikante Unterschiede (**Tab. 6**). Im Bereich der Aorta thoracalis wies Gruppe 1 tendenziell die größten Werte auf.

Tab. 6: Fläche des Gefäßlumens im übrigen Gefäßbaum (mm²)

| | Gruppe 1: cholesterinfreie Diät | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch |
|------------------------|--|----------------------------------|--|
| A. carotis | Gr1 vs. Gr2: p = 0,26 | Gr1 vs. Gr3: p = 0,08 | Gr2 vs. Gr3: p = 0,62 |
| re 1 | 0,94 [0,54-1,20] | 0,58 [0,32-1,08] | 0,67 [0,32-0,77] |
| re 2 | 0,57 [0,37-0,81] | 0,38 [0,27-0,48] | 0,45 [0,32-0,61] |
| li 1 | 0,50 [0,42-0,61] | 0,50 [0,30-0,58] | 0,41 [0,32-0,53] |
| li 2 | 0,49 [0,39-0,56] | 0,46 [0,40-0,49] | 0,52 [0,35-0,57] |
| Ao. thoracalis | Gr1 vs. Gr2: p = 0,89 | Gr1 vs. Gr3: p = 0,26 | Gr2 vs. Gr3: p = 0,33 |
| 1 | 5,12 [4,97-5,48] | 0,74 [0,66-0,80] | 3,19 [2,79-5,55] |
| 2 | 4,95 [4,77-5,36] | 4,65 [4,10-5,92] | 3,94 [3,24-5,10] |
| 3 | 5,61 [5,09-5,66] | 5,67 [4,71-5,80] | 4,36 [2,36-6,09] |
| 4 | 5,68 [3,85-7,51] | 5,56 [3,43-6,36] | 3,57 [2,13-4,83] |
| Ao. abdominalis | Gr1 vs. Gr2: p = 0,20 | Gr1 vs. Gr3: p = 0,89 | Gr2 vs. Gr3: p = 0,20 |
| 1 | 3,53 [3,44-4,17] | 4,76 [3,07-5,29] | 4,14 [3,13-4,72] |
| 2 | 3,06 [2,65-3,47] | 4,50 [3,45-5,65] | 4,00 [3,22-4,93] |
| 3 | 3,54 [3,30-3,83] | 4,48 [3,49-5,42] | 3,28 [3,10-4,35] |
| 4 | 3,82 [2,57-4,84] | 4,69 [3,62-5,25] | 3,63 [3,03-4,76] |
| A. iliaca | Gr1 vs. Gr2: p = 0,89 | Gr1 vs. Gr3: p = 0,83 | Gr2 vs. Gr3: p = 0,71 |
| re | 0,47 [0,30-0,88] | 0,37 [0,23-0,49] | 0,46 [0,18-0,62] |
| li | 0,23 [0,20-0,33] | 0,28 [0,19-0,49] | 0,32 [0,20-0,37] |
| A. fem. ext. | Gr1 vs. Gr2: p = 0,67 | Gr1 vs. Gr3: p = 0,67 | Gr2 vs. Gr3: p = 0,06 |
| re 1 | 0,23 [0,13-0,39] | 0,27 [0,21-0,32] | 0,32 [0,25-0,43] |
| re 2 | 0,28 [0,16-0,55] | 0,19 [0,14-0,27] | 0,28 [0,09-0,37] |
| li 1 | 0,26 [0,11-0,41] | 0,22 [0,18-0,29] | 0,29 [0,22-0,43] |
| li 2 | 0,22 [0,15-0,43] | 0,18 [0,11-0,33] | 0,30 [0,20-0,35] |

Die Darstellung der Werte erfolgt als Median mit den 25 %- und 75 %-Quartilen. Die p-Werte (Wilcoxon) beziehen sich auf die Analyse von Mittelwerten der 2 (A. iliaca) bzw. 4 Segmente (übrige Gefäßabschnitte) in den jeweiligen Gefäßabschnitten. Jeweils 2 Versuchsgruppen wurden miteinander verglichen (Gruppe 1 - Gruppe 2, Gruppe 2 - Gruppe 3, Gruppe 1 - Gruppe 3).

Das Verhältnis von ursprünglicher Größe des Lumens zur Plaquegröße ergibt den Stenosegrad (**Abb. 12**). Für Gruppe 1 betrug er überall 0 %. Mit $42,8 \pm 10,2$ % in Gruppe 2 und $46,4 \pm 7,1$ % in Gruppe 3 war der Stenosegrad im Aortenbogen zwischen den beiden cholesteringefütterten Gruppen nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,38$).

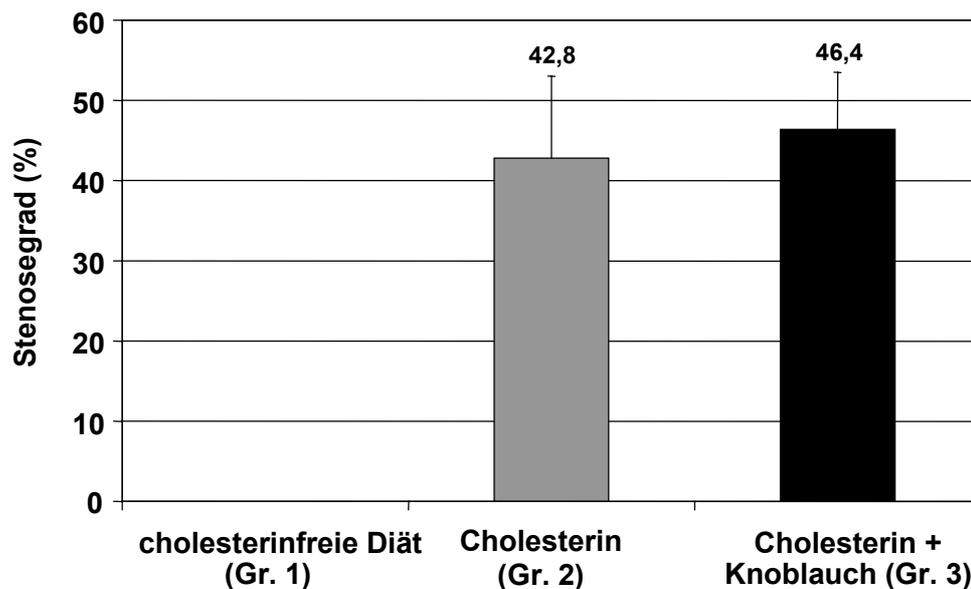


Abb. 12: Stenosegrad im Aortenbogen (%)

Mit Ausnahme der Aa. carotes zeigten sich im gesamten weiteren Gefäßverlauf in Gruppe 3 tendenziell höhere Stenosegrade als in Gruppe 2. Signifikant waren sie in den Abschnitten der Aorta abdominalis (Wilcoxon: $p = 0,02$) sowie der Arteria femoralis externa (Wilcoxon: $p = 0,047$) (**Tab. 7**).

Tab. 7: Stenosegrade im übrigen Gefäßbaum (%)

| | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch |
|----------------------------|----------------------------------|--|
| A. carotis (p = 0,25) | | |
| re 1 | 0 [0-54,0] | 0 [0-41,7] |
| re 2 | 0 [0-31,0] | 0 [0-1,5] |
| li 1 | 2,6 [0-45,3] | 0 [0-17,4] |
| li 2 | 0 [0-0,5] | 0 [0-0] |
| Ao. thoracalis (p = 0,07) | | |
| 1 | 38,7 [26,4-43,4] | 51,0 [30,4-57,1] |
| 2 | 16,4 [30,5-7,3] | 36,4 [5,9-54,5] |
| 3 | 8,1 [5,8-12,5] | 23,9 [10,1-34,3] |
| 4 | 6,8 [4,3-13,3] | 20,5 [8,4-35,2] |
| Ao. abdominalis (p = 0,02) | | |
| 1 | 1,0 [0,1-6,2] | 10,3 [2,6-24,3] |
| 2 | 1,7 [0-5,3] | 3,9 [1,7-19,0] |
| 3 | 0,5 [0-7,4] | 8,1 [2,9-17,0] |
| 4 | 1,4 [0-6,9] | 6,7 [0-12,7] |
| A. iliaca (p = 0,50) | | |
| re | 0 [0-17,4] | 5,8 [1,5-47,3] |
| li | 5,7 [0-33,3] | 19,1 [0-32,6] |
| A. fem. ext. (p = 0,047) | | |
| re 1 | 0 [0-11,2] | 8,9 [0-18,1] |
| re 2 | 0 [0-5,0] | 5,9 [0-79,3] |
| li 1 | 0 [0-4,7] | 29,6 [0,9-54,3] |
| li 2 | 0 [0-20,0] | 4,4 [0-34,1] |

Die Darstellung der Werte erfolgt als Median mit den 25 %- und 75 %-Quartilen. Die p-Werte (Wilcoxon) beziehen sich auf die Analyse von Mittelwerten der 2 (A. iliaca) bzw. 4 Segmente (übrige Gefäßabschnitte) in den jeweiligen Gefäßabschnitten.

Durch die Gabe des cholesterinhaltigen Futters kam es neben der Entwicklung von Plaques auch zu einer Vergrößerung der Gefäßquerschnittsfläche. In den cholesteringefütterten Gruppen war die Gefäßquerschnittsfläche im Aortenbogen im Wesentlichen gleich bei Werten von $18,4 \pm 2,7 \text{ mm}^2$ (Gruppe 2) sowie $18,1 \pm 3,9 \text{ mm}^2$ (Gruppe 3) (**Abb. 13**). Im Vergleich zu den Tieren in der

Kontrollgruppe mit Werten von $14,3 \pm 1,6 \text{ mm}^2$ verfehlten die Veränderungen bei den cholesteringefütterten Tieren knapp statistische Signifikanz ($p = 0,0682$).

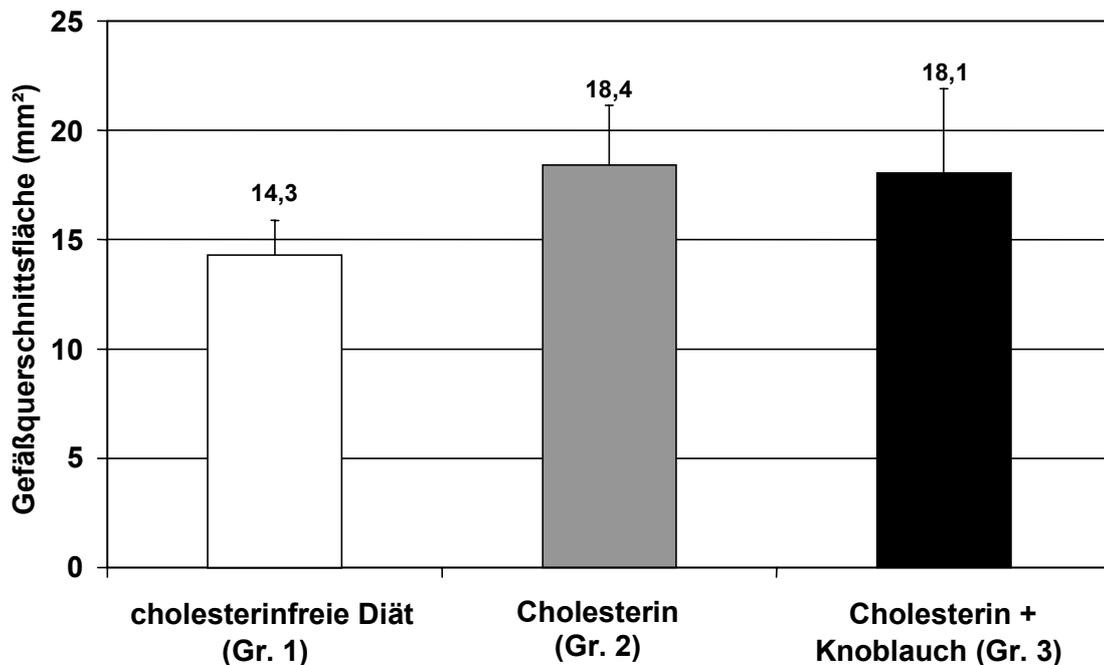


Abb. 13: Querschnittsfläche des Aortenbogens in den 3 Tiergruppen (mm²)

Bei vergleichbaren Lumenflächen (s. o.) zwischen den 3 Tiergruppen wiesen die cholesteringefütterten Tiere gegenüber der Kontrollgruppe deutlich vergrößerte Gefäßquerschnitte auf. Diese Veränderungen waren signifikant im Bereich der Aorta thoracalis bzw. der Aorta abdominalis von Gruppe 2 ($p = 0,005$ bzw. $p = 0,007$).

Beim Vergleich der cholesteringefütterten Tiere untereinander zeigte sich, dass die Gefäßquerschnitte im Bereich der Arteria femoralis externa in Gruppe 3 gegenüber Gruppe 2 signifikant vergrößert waren (Wilcoxon: $p = 0,003$) (**Tab. 8**).

Tab. 8: Gefäßquerschnittsflächen im übrigen Gefäßbaum (mm²)

| | Gruppe 1: cholesterinfreie Diät | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch |
|------------------------|--|----------------------------------|--|
| A. carotis | Gr1 vs. Gr2: p = 1,00 | Gr1 vs. Gr3: p = 0,32 | Gr2 vs. Gr3: p = 0,26 |
| Re 1 | 1,86 [1,00-2,45] | 1,27 [0,99-3,22] | 1,34 [0,75-2,20] |
| Re 2 | 1,01 [0,75-1,44] | 0,97 [0,92-1,07] | 0,89 [0,80-1,02] |
| li 1 | 0,92 [0,75-1,19] | 1,11 [0,97-1,50] | 0,93 [0,72-1,33] |
| li 2 | 0,90 [0,76-1,13] | 0,90 [0,87-1,02] | 0,91 [0,77-1,08] |
| Ao. thoracalis | Gr1 vs. Gr2: p = 0,005 | Gr1 vs. Gr3: p = 0,40 | Gr2 vs. Gr3: p = 0,55 |
| 1 | 8,17 [7,66-8,46] | 12,91 [11,03-4,68] | 9,87 [7,08-15,99] |
| 2 | 7,55 [7,05-8,01] | 9,39 [8,88-10,07] | 8,89 [7,62-13,89] |
| 3 | 8,17 [8,14-8,19] | 9,36 [8,21-9,88] | 9,22 [5,99-10,75] |
| 4 | 8,22 [6,05-10,38] | 8,88 [7,37-9,33] | 7,49 [5,92-9,53] |
| Ao. abdominalis | Gr1 vs. Gr2: p = 0,007 | Gr1 vs. Gr3: p = 0,07 | Gr2 vs. Gr3: p = 0,55 |
| 1 | 5,58 [5,39-6,20] | 7,09 [5,70-8,06] | 7,32 [5,65-8,06] |
| 2 | 4,97 [4,58-5,36] | 6,71 [5,60-8,09] | 6,80 [5,90-8,03] |
| 3 | 5,34 [4,91-5,60] | 6,73 [5,47-7,65] | 6,22 [5,76-7,78] |
| 4 | 5,50 [4,32-6,74] | 6,85 [5,75-7,49] | 6,16 [5,47-7,57] |
| A. iliaca | Gr1 vs. Gr2: p = 1,00 | Gr1 vs. Gr3: p = 0,48 | Gr2 vs. Gr3: p = 0,55 |
| Re | 1,19 [0,66-2,17] | 0,77 [0,62-1,27] | 1,12 [0,70-1,58] |
| Li | 0,88 [0,58-1,14] | 1,01 [0,52-1,36] | 0,98 [0,77-1,18] |
| A. fem. ext. | Gr1 vs. Gr2: p = 0,57 | Gr1 vs. Gr3: p = 0,09 | Gr2 vs. Gr3: p = 0,003 |
| Re 1 | 0,49 [0,44-1,00] | 0,61 [0,55-0,65] | 0,71 [0,63-0,92] |
| Re 2 | 0,62 [0,41-1,00] | 0,55 [0,49-0,60] | 0,74 [0,64-0,89] |
| li 1 | 0,49 [0,25-0,79] | 0,53 [0,48-0,72] | 0,87 [0,60-1,07] |
| li 2 | 0,69 [0,47-0,74] | 0,58 [0,44-0,69] | 0,66 [0,57-0,80] |

Die Darstellung der Werte erfolgt als Median mit den 25 %- und 75 %-Quartilen. Die p-Werte (Wilcoxon) beziehen sich auf die Analyse von Mittelwerten der 2 (A. iliaca) bzw. 4 Segmente (übrige Gefäßabschnitte) in den jeweiligen Gefäßabschnitten. Jeweils 2 Versuchsgruppen wurden miteinander verglichen (Gruppe 1 - Gruppe 2, Gruppe 2 - Gruppe 3, Gruppe 1 - Gruppe 3).

3.6 Untersuchungen zur Hämodynamik

Die Flusskurve wurde verwendet, um die EKG-getriggerte Pulswellenlaufzeit zu ermitteln. Auf die genaue Analyse der Flusskurvenmorphologie und Wellendikrotie wurde verzichtet.

3.6.1 Systolischer Blutdruck (RR)

Zu Versuchsbeginn gab es bei Mittelwerten von $62,7 \pm 19,3$ mmHg bis $69,5 \pm 8,5$ mmHg keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tiergruppen (Abb.14).

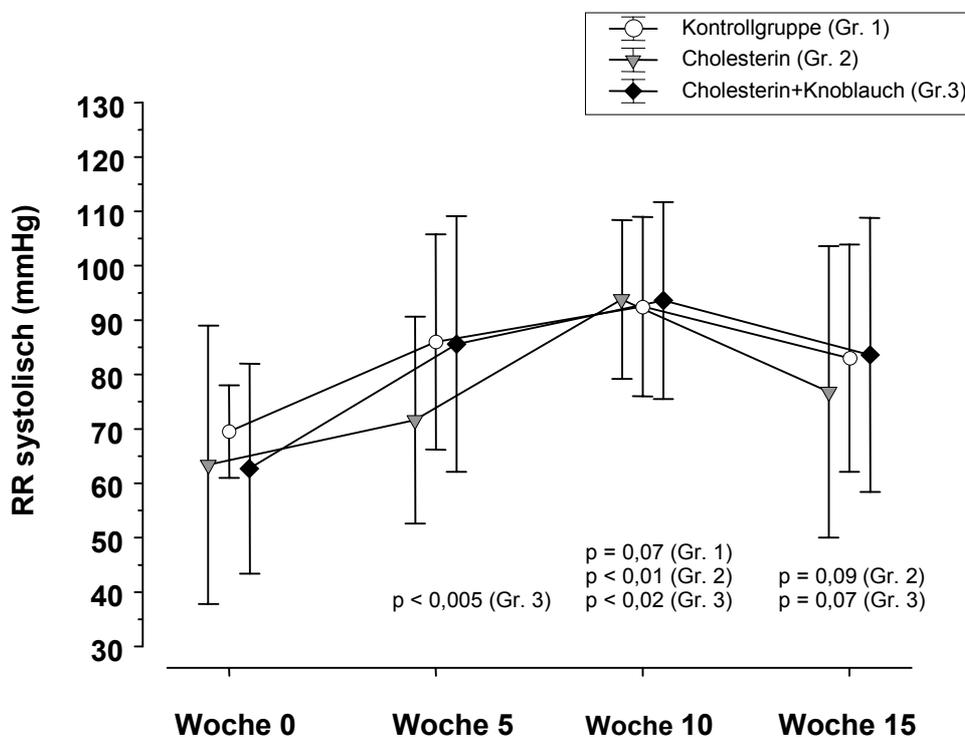


Abb. 14: Verlauf des systolischen Blutdrucks an der A. femoralis communis über die gesamte Versuchsdauer in den 3 Tiergruppen. p-Werte (zweiseitiger, gepaarter t-Test) beziehen sich auf den Versuchsbeginn.

In Woche 5 war der systolische Blutdruck in allen Versuchsgruppen höher, diese Zunahme war in Gruppe 3 signifikant ($p < 0,005$). Auffallend waren in Woche 5 größere Unterschiede ($p = 0,18$) zwischen Gruppe 3 und Gruppe 2;

letztere wies die geringsten Werte auf ($71,6 \pm 19,0$ mmHg). In der Versuchswoche 10 waren bei Werten von $92,5 \pm 16,5$ mmHg bis $93,8 \pm 14,6$ mmHg keine nennenswerten Unterschiede zwischen den 3 Tiergruppen festzustellen. Allgemein fiel eine leichte Zunahme des systolischen Blutdrucks auf. Diese Blutdruckzunahme war gegenüber Woche 0 in Gruppe 1 deutlich ($p = 0,07$), in den Gruppen 2 ($p < 0,02$) und 3 ($p < 0,01$) signifikant. Auch in Versuchswoche 15 unterschieden sich die Gruppen wenig voneinander. Bei Werten von $76,8 \pm 26,8$ mmHg (Gruppe 2) bis $83,6 \pm 25,2$ mmHg (Gruppe 3) zeigten sich Unterschiede zu Woche 0, die das Signifikanzniveau knapp verfehlten (Gruppe 2: $p = 0,09$; Gruppe 3: $p = 0,07$).

3.6.2 Herzfrequenz (HF)

Die mit der Standarddiät ernährten Tiere wiesen mit Werten von maximal $185,3 \pm 28,8$ BPM in Woche 0 bis minimal $166,3 \pm 7,3$ BPM in Woche 15 tendenziell höhere Herzfrequenzen zu einem gegebenen Zeitpunkt auf (**Tab. 9**), wobei die Veränderungen zu keinem Zeitpunkt statistische Signifikanz erreichten. Effekte durch die Knoblauchfütterung waren nicht nachweisbar.

Tab. 9: Herzfrequenz (BPM) über die gesamte Versuchsdauer

| | Gruppe 1: cholesterin- freie Diät | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch | ANOVA (p) |
|-----------------------|--|----------------------------------|--|----------------------|
| Versuchsbeginn | $185,3 \pm 28,8$ | $174,8 \pm 38,2$ | $180,7 \pm 43,0$ | 0,89 |
| nach 5 Wochen | $193,3 \pm 36,2$ | $158,7 \pm 47,1$ | $159,4 \pm 54,4$ | 0,46 |
| nach 10 Wochen | $167,1 \pm 31,0$ | $145,7 \pm 36,3$ | $136,7 \pm 28,7$ | 0,31 |
| nach 15 Wochen | $166,3 \pm 7,3$ | $152,6 \pm 31,4$ | $147,7 \pm 30,5$ | 0,57 |

3.6.3 Pulswellenlaufzeit (PWLZ)

Der Vergleich der 3 Gruppen untereinander zu den Messzeitpunkten zeigt, dass es zu Versuchsbeginn sowie nach 5 Wochen keine signifikanten Unterschiede bei der PWLZ gab. In der Ao. abd. gab es über den gesamten Versuchsverlauf keine signifikanten Unterschiede. Bei Nichtberücksichtigung von 5 „Ausreißern“

war nach 10 und 15 Wochen PWLZ in den cholesteringefütterten Gruppen 2 und 3 signifikant gegenüber der Kontrollgruppe verlängert. In der A. fem. comm. war PWLZ nach 10 Wochen in Gruppe 2 und 3, nach 15 Wochen nur in Gruppe 3 signifikant länger als in Gruppe 1. Allerdings war die PWLZ in der A. fem. comm. bereits bei Untersuchungsbeginn in Gruppe 2 und 3 tendenziell größer ($p = 0,0838$) als in Gruppe 1 (**Tab. 10**).

Tab. 10: Pulswellenlaufzeit (sec) in der Aorta abdominalis und Arteria femoralis communis

| | Gruppe 1: cholesterin- freie Diät | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch | ANOVA (p) |
|-----------------------------------|--|----------------------------------|--|-------------------------|
| Aorta abdominalis | | | | |
| Versuchsbeginn | 0,171 ± 0,013 | 0,168 ± 0,011 | 0,164 ± 0,016 | 0,7360 |
| nach 5 Wochen | 0,154 ± 0,020 | 0,166 ± 0,011 | 0,168 ± 0,022 | 0,5428 |
| nach 10 Wochen | 0,154 ± 0,013 | 0,176 ± 0,019 | 0,180 ± 0,021 | 0,0846 [§] |
| nach 15 Wochen | 0,161 ± 0,014 | 0,176 ± 0,015 | 0,177 ± 0,017 | 0,2212 ^{&} |
| Arteria femoralis communis | | | | |
| Versuchsbeginn | 0,174 ± 0,010 | 0,196 ± 0,016 | 0,196 ± 0,020 | 0,0838 |
| nach 5 Wochen | 0,184 ± 0,013 | 0,216 ± 0,027 | 0,200 ± 0,014 | 0,1201 |
| nach 10 Wochen | 0,190 ± 0,013 ^{†‡} | 0,217 ± 0,021 [*] | 0,221 ± 0,017 [*] | 0,0221 |
| nach 15 Wochen | 0,201 ± 0,022 [‡] | 0,215 ± 0,018 | 0,232 ± 0,013 [*] | 0,0253 |

Signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu * Gruppe 1, † Gruppe 2, ‡ Gruppe 3 zum jeweiligen Zeitpunkt

[§] in Gruppe 2 und 3 jeweils ein deutlich vom Mittelwert abweichender Wert nicht berücksichtigt: $p = 0,0115$ (Gruppe 1 ↔ Gruppe 2,3)

[&] in Gruppe 2 zwei, in Gruppe 3 ein deutlich vom Mittelwert abweichender Wert nicht berücksichtigt: $p = 0,0114$ (Gruppe 1 ↔ Gruppe 2,3)

Insgesamt kam es im Versuchsverlauf in den cholesteringefütterten Gruppen (Gruppe 2 und 3) ab Woche 10 zu signifikanten Verlängerungen der PWLZ in der A. fem. comm (Woche 10: $p = 0,03$ bzw. $p = 0,008$; Woche 15: $p = 0,03$ bzw. $p = 0,0008$) gegenüber Woche 0. Die knoblauchgefütterten Tiere zeigten hierbei die höchsten Werte mit $0,232 \pm 0,013$ sec (Woche 15). Im Bereich der Ao. abd. war eine tendenzielle Zunahme der PWLZ in den Gruppen 2 und 3

feststellbar. Eine geringe, in Woche 15 signifikante Verlängerung ($p = 0,03$) der PWLZ gegenüber dem Versuchsbeginn wiesen auch die Tiere der Kontrollgruppe im Bereich der A. fem. comm. auf (**Abb. 15**).

Parameter wie die Herzfrequenz, Blutdruck, Elastizität der Gefäßwand und vegetativer Erregungszustand sind u. a. entscheidende Einflussgrößen für die PWLZ. In **Abb. 16a** und **Abb. 17a** ist der inverse Zusammenhang zwischen Herzfrequenz und PWLZ aufgezeigt, der mit $r = -0,46$ in der Ao. abd. sowie $r = -0,48$ in der A. fem. comm. signifikant ist (jeweils $p < 0,001$): Bei steigender Herzfrequenz verkürzt sich die PWLZ, d. h. die Pulswellengeschwindigkeit nimmt zu. In **Abb. 16b** und **Abb. 17b** ist jeweils bezogen auf die unterschiedlichen Gruppen und Untersuchungszeitpunkte die Steigung der Regressionsgeraden des Zusammenhangs von Herzfrequenz und PWLZ dargestellt. Dieser Parameter beschreibt unabhängig von der individuellen Herzfrequenz das Ausbreitungsverhalten der Pulswelle in den großen Arterien. Die herzfrequenzabhängige Veränderung der PWLZ war bei Cholesterinfütterung ohne Knoblauchzusatz (Gruppe 2) nach 5 Wochen am ausgeprägtesten. Durch Knoblauchgabe (Gruppe 3) kam es im Bereich der Aorta abdominalis nach 5, 10 und 15 Wochen zu einer gegenüber Gruppe 2 relativen Abnahme der PWV bei erhöhter Herzfrequenz. In der Ao. abd. der Gruppe 3 wies die Pulswellenlaufzeit in Woche 5 eine größere Herzfrequenzneutralität auf als in der nicht cholesteringefütterten Kontrollgruppe. Diese Zusammenhänge waren in der A. fem. comm. in geringerem Maße ausgeprägt.

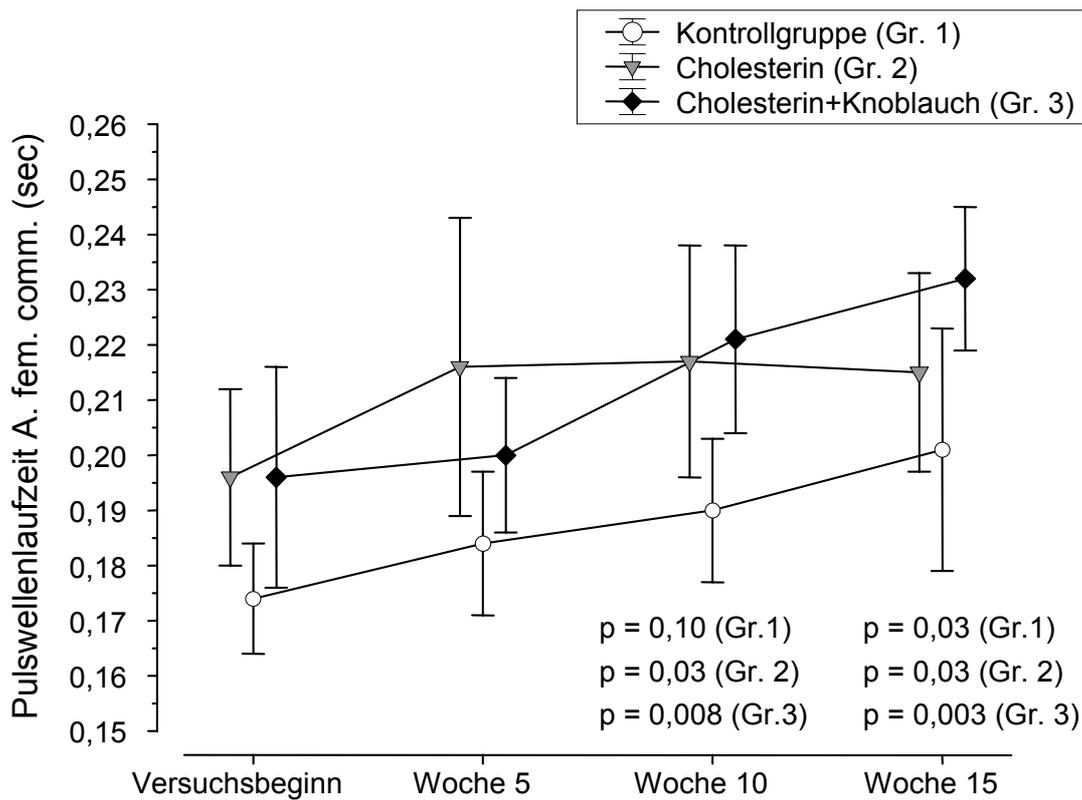
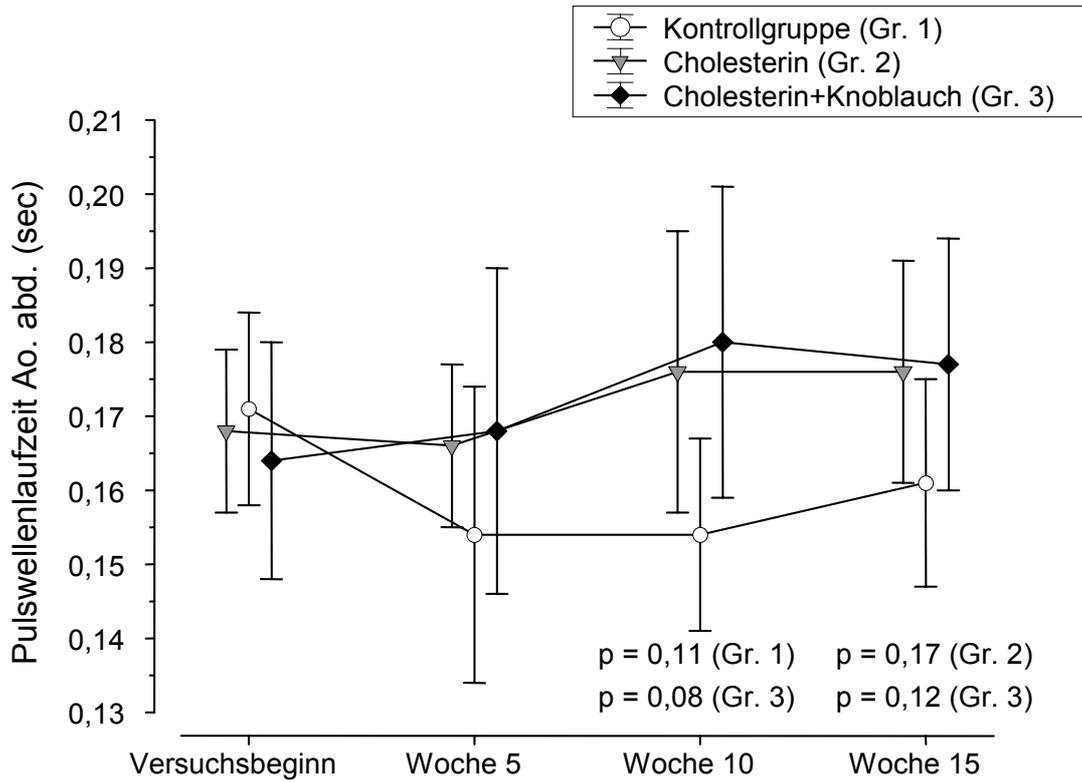


Abb. 15: Veränderung der Pulswellenlaufzeit in Aorta abdominalis und Arteria femoralis communis über die gesamte Versuchsdauer in den 3 Tiergruppen. p-Werte (zweiseitiger, gepaarter t-Test) beziehen sich auf den Versuchsbeginn.

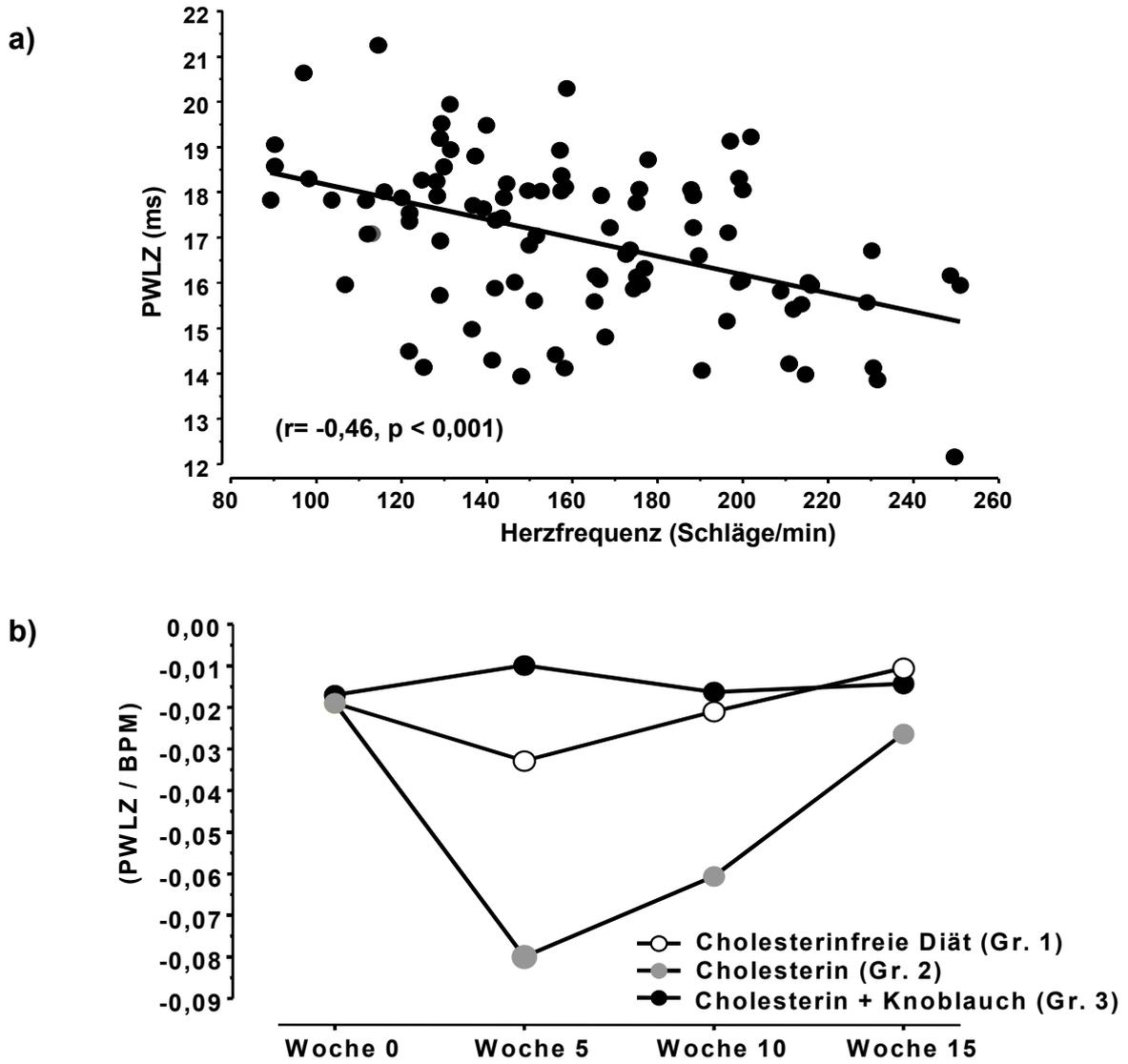


Abb. 16: EKG-getriggerte CW-Dopplersonographie in der Arteria abdominalis in den 3 Tiergruppen
 a) Korrelation zwischen Herzfrequenz und Pulswellenlaufzeit (PWLZ) aller Werte der 4 Untersuchungszeitpunkte
 b) Steigung der Regression „Pulswellenlaufzeit/Herzfrequenz“ pro Gruppe und Untersuchungszeitpunkt

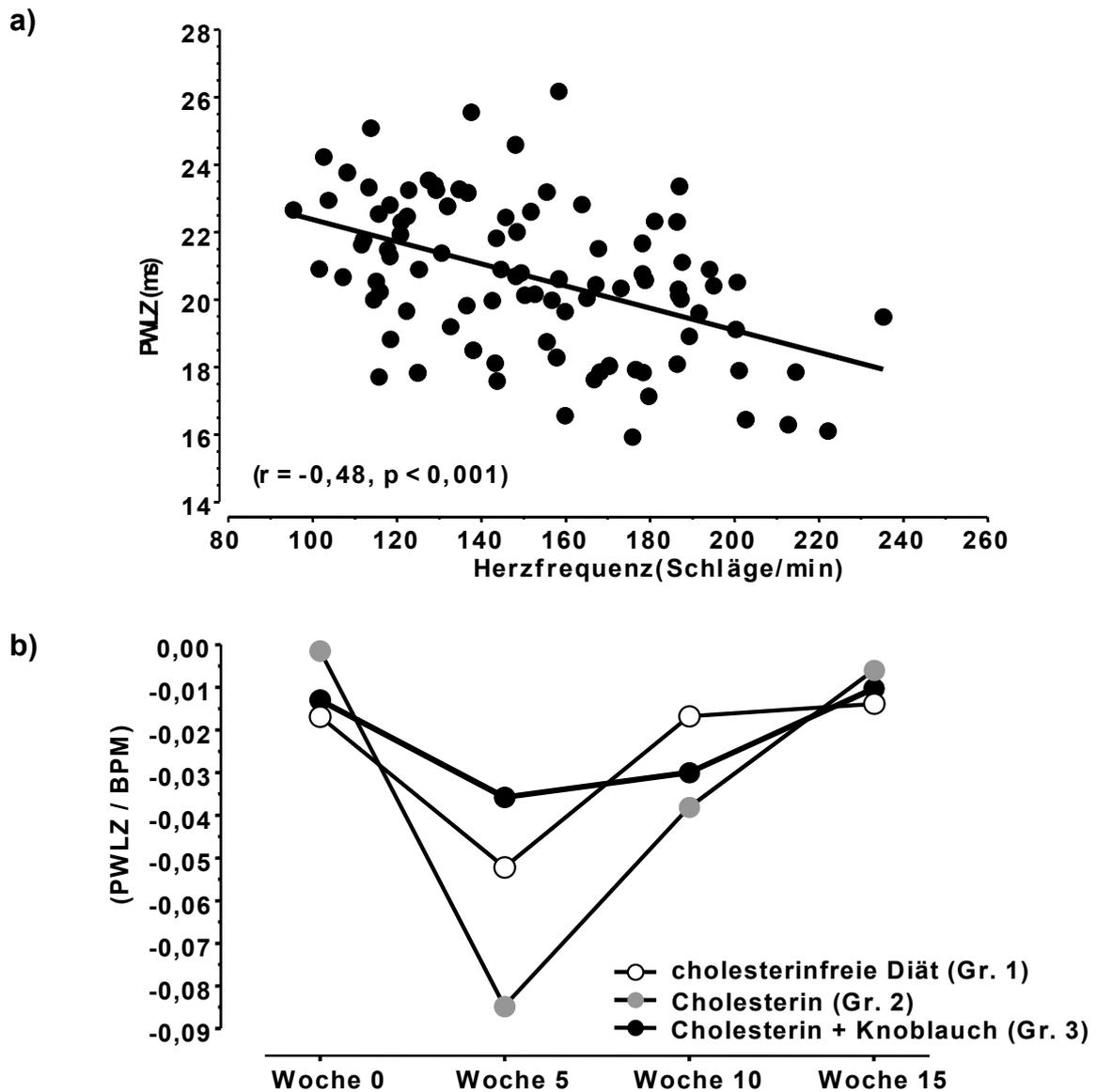


Abb. 17: EKG-getriggerte CW-Dopplersonographie in der Arteria femoralis communis in den 3 Tiergruppen
a) Korrelation zwischen Herzfrequenz und Pulswellenlaufzeit (PWLZ) aller Werte der 4 Untersuchungszeitpunkte
b) Steigung der Regression „Pulswellenlaufzeit/Herzfrequenz“ pro Gruppe und Untersuchungszeitpunkt

3.6.4 Pulswellenlaufzeit skaliert auf Herzfrequenz

Entsprechend des in Kap. 3.6.3 beschriebenen Zusammenhangs zwischen Herzfrequenz und Pulswellenlaufzeit wurde eine skalierte, herzfrequenzneutrale Pulswellenlaufzeit berechnet. Dazu wurden die Formeln $[-0,019 + \text{PWLZ A. fem. comm.} - \text{HF A. fem. comm.} \cdot (-0,00019)]$ für die A. fem. comm. und $[-0,0255 + \text{PWLZ Ao. abd.} - \text{HF Ao. abd.} \cdot (-0,000255)]$ für die Ao. abd. verwendet.

Nach Skalierung der Pulswellenlaufzeiten verringerten sich die Unterschiede zwischen cholesterin- und standardernährten Kaninchen (**Tab. 11**).

Tab. 11: Pulswellenlaufzeit skaliert (sec) in der Aorta abdominalis und Arteria femoralis communis

| | Gruppe 1: cholesterin- freie Diät | Gruppe 2: Cholesterin | Gruppe 3: Cholesterin + Knoblauch | ANOVA (p) |
|-----------------------------------|--|----------------------------------|--|-------------------------|
| Aorta abdominalis | | | | |
| Versuchsbeginn | 0,192 ± 0,012 | 0,187 ± 0,015 | 0,185 ± 0,020 | 0,7623 |
| nach 5 Wochen | 0,178 ± 0,011 | 0,181 ± 0,016 | 0,184 ± 0,012 | 0,7891 |
| nach 10 Wochen | 0,171 ± 0,012 | 0,187 ± 0,014 | 0,189 ± 0,019 | 0,1575 [§] |
| nach 15 Wochen | 0,178 ± 0,013 | 0,189 ± 0,016 | 0,189 ± 0,017 | 0,4556 |
| Arteria femoralis communis | | | | |
| Versuchsbeginn | 0,191 ± 0,012 | 0,210 ± 0,018 | 0,210 ± 0,018 | 0,0354 ^{&} |
| nach 5 Wochen | 0,196 ± 0,011 | 0,235 ± 0,066 | 0,209 ± 0,015 | 0,2338 |
| nach 10 Wochen | 0,200 ± 0,014 [‡] | 0,224 ± 0,017 | 0,228 ± 0,017 [*] | 0,0311 [#] |
| nach 15 Wochen | 0,219 ± 0,022 [‡] | 0,223 ± 0,017 | 0,240 ± 0,012 [*] | 0,049 [€] |

Signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zu * Gruppe 1, † Gruppe 2, ‡ Gruppe 3 zum jeweiligen Zeitpunkt

€ in Gruppe 3 ein deutlich vom Mittelwert abweichender Wert nicht berücksichtigt: $p = 0,0408$ (Gruppe 1 ↔ 3)

in Gruppe 3 ein deutlich vom Mittelwert abweichender Wert nicht berücksichtigt: $p = 0,0177$ (Gruppe 1 ↔ Gruppe 2,3)

§ in Gruppe 2 und 3 jeweils ein deutlich vom Mittelwert abweichender Wert nicht berücksichtigt: $p = 0,0163$ (Gruppe 1 ↔ Gruppe 2,3)

& in Gruppe 2 ein, in Gruppe 3 zwei deutlich vom Mittelwert abweichende Werte nicht berücksichtigt: $p = 0,0354$ (Gruppe 1 ↔ Gruppe 3)

Lediglich in der A. fem. comm. konnten nach 10 ($p = 0,03$) bzw. 15 ($p = 0,05$) Wochen signifikante Unterschiede zwischen Gruppe 1 ($0,200 \pm 0,014$ sec bzw. $0,219 \pm 0,022$ sec) und Gruppe 3 ($0,228 \pm 0,017$ sec bzw. $0,240 \pm 0,012$ sec) gezeigt werden. Nach Nichtberücksichtigung jeweils eines in Gruppe 2 und 3 deutlich vom Mittelwert abweichenden Einzelwertes waren in der Ao. abd. nach 10 Wochen signifikante ($p = 0,0163$) Unterschiede zwischen Gruppe 1 und den cholesteringefütterten Tiergruppen feststellbar.

3.7 Zusammenfassung der Ergebnisse

Der Knoblauchzusatz zum Futter wurde von den Tieren soweit akzeptiert, dass eine ausreichende Futteraufnahme erfolgte. Im Vergleich zur Standarddiät wurde von den Tieren allerdings signifikant weniger gefressen, verglichen mit der Cholesteringruppe zeigte sich kein deutlicher Unterschied. Durchschnittlich nahmen die Tiere während der Untersuchung 2,1 g Knoblauch pro Tag auf, das entspricht 0,63 g/kg Körpergewicht und Tag. Die Cholesterinaufnahme der knoblauchgefütterten Tiere betrug durchschnittlich 0,51 g/d und war damit gegenüber den Tieren der Cholesteringruppe (0,59 g/d) um ca. 10 % niedriger (**Abb. 6**). Bei zu Versuchsbeginn vergleichbarem Körpergewicht in den 3 Gruppen zeigte sich ab Woche 10 eine stärkere Gewichtszunahme in der Kontrollgruppe. Die durchschnittliche Zunahme des Körpergewichts war bei der Kontrollgruppe (1257 g) gegenüber den cholesteringefütterten Gruppen 2 (774 g) und 3 (576 g) signifikant höher (**Abb. 4**).

Bei den Tieren der Gruppen 2 und 3 zeigte sich ein insgesamt vergleichbarer, gegenüber der Kontrollgruppe signifikanter Anstieg des Plasma-Cholesterins auf bis zu 1668 ± 538 mg/dl (Gruppe 3, Woche 10), wobei die knoblauchgefütterten Tiere die größten Werte aufwiesen (**Abb. 7**). LDL- und VLDL-Cholesterin waren bei Maximalwerten von 634 ± 110 mg/dl (LDL-C, Gruppe 3, Woche 15) bzw. 1212 ± 420 mg/dl (VLDL-C, Gruppe 3, Woche 10) ebenfalls signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Nach 15 Wochen

waren die Gesamtcholesterin- und die LDL-Cholesterinkonzentrationen in der mit Knoblauch gefütterten Gruppe signifikant gegenüber Gruppe 2 erhöht. In allen 3 Tiergruppen kam es zu einem Abfall des HDL-Cholesterins von $18,1 \pm 6$ mg/dl (Gruppe 2, Woche 0) auf bis zu $5,5 \pm 3$ mg/dl (Gruppe 3, Woche 15), diese Veränderung war in den cholesteringefütterten Tieren am ausgeprägtesten (**Tab. 2**). Ein lipidsenkender Effekt der Knoblauchsupplementation war nicht nachweisbar.

Beim Fibrinogenspiegel wiesen die cholesteringefütterten Tiere der Gruppe 2 nach Woche 10 (203 ± 29 mg/dl) und 15 (353 ± 99 mg/dl) signifikant niedrigere Werte gegenüber der Kontrollgruppe auf. Die zusätzlich mit Knoblauch behandelten Tiere hatten lediglich nach Woche 10 (163 ± 12 mg/dl) eine signifikant niedrigere, nach Woche 15 (285 ± 56 mg/dl) eine tendenziell niedrigere Fibrinogenkonzentration als die Tiere der Gruppe 2 (**Abb. 9**). Durch die Cholesterinfütterung kam es in den beiden Gruppen zu einem Abfall des Hämatokrits um etwa 30 %, der Erythrozytenzahl um etwa 40 % und der Hämoglobinkonzentration um etwa 30 %. Das Hämoglobin im Plasma stieg hingegen bis auf das 8fache an (**Tab. 3**). Bei keinem der Parameter war eine Verbesserung oder Verschlechterung der Werte durch die zusätzliche Knoblauchfütterung im Vergleich zur reinen Cholesterinfütterung festzustellen. Bei der GOT und GPT kam es in der Knoblauchgruppe nach 5 ($18,3 \pm 9,8$ mg/dl) und 10 ($21,1 \pm 7,6$ mg/dl) Wochen bzw. nach 10 ($47,2 \pm 27,6$ mg/dl) Wochen zu signifikant höheren Werten als in der Cholesteringruppe. Die γ -GT hingegen stieg in den beiden cholesteringefütterten Gruppe um bis zu 100fach im Vergleich zu den Kontrolltieren an (**Tab. 4**). Eine signifikante Zunahme der Leber- und Milzgewichte wurde in beiden cholesteringefütterten Gruppen festgestellt (**Tab. 1**), die Knoblauchbehandlung hatte keinen Einfluss.

Bei den cholesteringefütterten Tieren kam es im gesamten Gefäßbaum zu einer ausgedehnten Plaqueeentwicklung, wobei die Plaques im Aortenbogen am größten waren und nach distal kleiner wurden. Die Plaquergröße war im Bereich des Aortenbogens in Gruppe 3 mit $5,6 \pm 1,9$ mm² nicht signifikant unterschiedlich zur Plaquergröße der Gruppe 2 mit $5,4 \pm 2,2$ mm² ($p = 0,8$)

(**Abb. 10**). Vor allem in den distalen Abschnitten des Gefäßbaums wiesen die Tiere der Gruppe 3 tendenziell größere Plaques auf (**Tab. 5**). Obwohl die zunehmende Stenosierung des Gefäßlumens durch eine Vergrößerung der Gefäßquerschnittsfläche z. T. kompensiert wurde (**Abb. 13**), war das Restlumen des Aortenbogens in Gruppe 2 ($6,5 \pm 1,2 \text{ mm}^2$) und 3 ($6,1 \pm 1,4 \text{ mm}^2$) um 30 % geringer als in Gruppe 1 ($p = 0,0018$) (**Abb. 11**). Im weiteren Gefäßverlauf zeigten sich zwischen den Gefäßlumina der 3 Tiergruppen nur geringe Unterschiede (**Tab. 6**), wobei in Gruppe 2 die Gefäßquerschnittsflächen von Ao. thoracalis ($p = 0,005$) und Ao. abd. ($p = 0,007$) gegenüber der Kontrollgruppe signifikant vergrößert waren (**Tab. 8**). Bei vergleichbaren Stenosegraden von 43 % (Gruppe 2) bzw. 46 % (Gruppe 3) im Aortenbogen (**Abb. 12**) wiesen die Knoblauchgefütterten Tiere im übrigen Gefäßbaum teilweise signifikant höhere Stenosegrade auf als in Gruppe 2 (Ao.abd.: $p = 0,02$, A. fem. ext.: $p = 0,047$, **Tab. 7**).

Der systolische arterielle Blutdruck zeigte zu keinem Untersuchungszeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den 3 Tiergruppen. Tendenziell kam es allerdings zu einer Blutdruckzunahme mit Maximalwerten von $93,8 \pm 14,6 \text{ mmHg}$ (Gruppe 3, Woche 10). Gegenüber dem Versuchsbeginn waren diese Veränderungen bei den cholesteringefütterten Tieren in Woche 10 signifikant (Gruppe 2: $p = 0,02$; Gruppe 3: $p = 0,01$) (**Abb. 14**).

Die Herzfrequenz war bei den Tieren der Kontrollgruppe gegenüber den cholesteringefütterten Tieren über den gesamten Versuchsverlauf tendenziell erhöht bei Maximalwerten von $193,3 \pm 36,2 \text{ BPM}$ (Woche 2). Ebenfalls zeigte sich eine nicht signifikante Abnahme der Herzfrequenz über den Versuchsverlauf in allen 3 Tiergruppen (**Tab. 9**). Effekte durch die Knoblauchfütterung waren nicht nachweisbar.

Die Pulswellenlaufzeit zeigte in den cholesteringefütterten Tieren (Gruppe 2 und 3) eine tendenzielle Verlängerung über die Zeit, wobei diese Veränderungen in der A. fem. comm. nach 10 und 15 Wochen Signifikanzniveau erreichten. Die Knoblauchgefütterten Tiere wiesen insgesamt die höchsten Werte auf, in Woche

15 war auch bei den Tieren der Kontrollgruppe in der A. fem. comm eine gegenüber dem Versuchsbeginn signifikant verlängerte PLWZ nachweisbar (**Abb. 15**).

Sowohl in der Aorta abdominalis ($r = -0,46$) als auch in der Arteria femoralis communis ($r = -0,48$) zeigte sich eine signifikante inverse Relation von Herzfrequenz und Pulswellenlaufzeit ($p < 0,001$). Bei steigender Herzfrequenz kam es somit zu einer Zunahme der Pulswellengeschwindigkeit. Die herzfrequenzabhängige Veränderung der PWLZ war in Gruppe 2 am deutlichsten. Ferner zeigte sich in den knoblauchsubstituierten Tieren der Gruppe 3 eine verringerte Beeinflussbarkeit der Pulswellenlaufzeit durch die Herzfrequenz gegenüber Gruppe 2 („Herzfrequenzneutralität“), im Bereich der Aorta abdominalis auch gegenüber Gruppe 1 (Woche 5) (**Abb. 16b, Abb. 17b**).

Nach Skalierung der PWLZ auf eine einheitliche Herzfrequenz konnte im Bereich der Arteria femoralis communis zu den Messzeitpunkten Woche 10 ($0,228 \pm 0,017$ sec) bzw. Woche 15 ($0,240 \pm 0,012$ sec) eine signifikant erhöhte Pulswellenlaufzeit in Gruppe 3 gegenüber der Kontrollgruppe nachgewiesen werden ($p = 0,03$ bzw. $p = 0,05$). Tendenziell erhöhte Pulswellenlaufzeiten gegenüber Gruppe 1 wiesen auch die Tiere der Gruppe 2 auf (**Tab. 11**).

4 Diskussion

4.1 Definition der Atherosklerose

Atherosklerose ist definiert als eine variable und komplexe Kombination von Intimaveränderungen mit fokaler Akkumulation verschiedener Substrate und Zelltypen in großen und mittleren elastischen und muskulären Arterien. Typische Merkmale der Atherosklerose sind die Anhäufung von extra- und intrazellulären Lipiden, Schaumzellbildung, Proliferation glatter Muskelzellen sowie die Ansammlung von Bindegewebe in der Gefäßwand [23;55]. Der Begriff „Atherosklerose“ wurde erstmals 1904 von Marchand [95] definiert und bezeichnete ursprünglich den Zusammenhang von „fettiger Degeneration“ und herabgesetzter Elastizität einer Gefäßwand. Die Atherosklerose ist eine systemische Erkrankung, die sich hämodynamisch wirksam in allen Organen des Körpers manifestieren kann. Am häufigsten sind mit 47 % Veränderungen der hirnversorgenden Arterien, gefolgt von Verengungen der Herzkranzgefäße (KHK) in 40 % der Fälle und der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) mit einem Anteil von 13 % [77].

Laut einer Studie der WHO stellt die koronare Herzkrankheit als bedeutendste Form der Atherosklerose die weltweit häufigste Todesursache dar [102]. In der Altersgruppe der über 75-jährigen ist sie für mehr als 70 % der Todesfälle verantwortlich, zwei Drittel aller tödlichen Herzerkrankungen sind atherosklerotisch bedingt [61].

Als multifaktorielle Erkrankung ist die Atherosklerose mit einer Vielzahl von Risikofaktoren, die den Ausprägungsgrad stark variieren, assoziiert. Wie das Zusammenspiel dieser Risikofaktoren letztlich zu Plaqueentwicklung, Plaquezusammensetzung und Komplikationen, wie etwa Plaqueruptur oder Thrombusapposition, führt, ist nicht vollständig geklärt. Frühe Stadien der Atherosklerose sind bei praktisch jedem Individuum der westlichen Industriegesellschaften vorhanden (Manifestation), tatsächlich kommt es jedoch nur bei einem Bruchteil dieser initialen Krankheitsbilder zu klinischen Symptomen (Komplikation) [23].

Gegenüber der Atherosklerose ist die Arteriosklerose abzugrenzen [55]. Während des normalen Alterungsprozesses verändern sich die mechanischen Eigenschaften der Gefäßwand kreislaufwirksam. Elastische Fasern und glatte Muskelzellen als Grundelemente des Systems werden durch kollagenes Bindegewebe ersetzt. Diese alterungsbedingten Veränderungen werden daher auch als „Physiosklerose“ bezeichnet. Trotz kontinuierlicher altersbedingter Abnahme der Funktionsbreite des Systems kann jedoch erst bei klinischen Symptomen von Krankheit gesprochen werden. Nur in diesem Sinn kann Alter als eigenständiger Risikofaktor der Atherosklerose bezeichnet werden [4].

Atherosklerotische Veränderungen führen über vier Grundmechanismen zu klinischen Symptomen. Als erstes ist die rein mechanische Verengung eines Blutgefäßes durch die atherosklerotische Plaque zu nennen. Weiterhin besteht die Gefahr einer Plaqueruptur bzw. Thrombusapposition, die über lokale Verengung des Gefäßdurchmessers oder Embolisation in distale Abschnitte zum Gefäßverschluss führen kann. Ein weiterer Mechanismus ist ein in atherosklerotisch veränderten Gefäßen gestörter Vasotonus, der insbesondere bei körperlichen Anstrengungen zu passageren Lumenverlegungen führen kann. Der überwiegende Teil klinischer Beschwerden ist durch die von diesen Mechanismen verursachte Ischämie eines vaskulären Versorgungsgebietes bedingt. Zuletzt ist aufgrund der mit Atherosklerose verbundenen Mediadegeneration das erhöhte Risiko der Aneurysmenbildung zu nennen.

Atherosklerotische Veränderungen treten typischerweise fokal an Prädilektionsstellen wie Gefäßverzweigungen und Orten turbulenter Blutströmung mit starken Scher- bzw. Zugkräften auf. Betroffen sind vor allem die Koronar- und Hirnbasisarterien, der proximale Anteil der A. renalis sowie die großen Extremitätenarterien. Die koronare Gefäßverengung führt zur Unterversorgung des Herzmuskels mit Sauerstoff, klinisch entsteht das Bild der koronaren Herzkrankheit (KHK). Eine weitere Unterteilung der KHK erfolgt in stabile/instabile Angina pectoris, Myokardinfarkt, chronische Herzinsuffizienz, plötzlicher Herztod sowie Herzrhythmusstörungen. Verschlüsse der Hirnbasisarterien führen je nach Ausprägungsgrad zu transitorischen ischämischen

Attacken (TIA), neurologischen Defiziten (PRIND), Apoplex und Hirninfarkt. Eine Minderperfusion der Extremitärenarterien (pAVK) ist mit den Krankheitsbildern Claudicatio intermittens und Gangrän assoziiert.

Die Atherogenese ist ein multifaktorieller Vorgang, gekennzeichnet durch das Auftreten vieler verschiedener Risikofaktoren, die sich in ihren Wirkungen gegenseitig beeinflussen und oft sogar potenzieren [96]. Entsprechend der Definition der WHO sind Risikofaktoren „genetisch, endogen oder funktionell bedingte Eigenschaften oder Zustände, die für eine erhöhte Erkrankungswahrscheinlichkeit der Merkmalsträger an KHK verantwortlich sind“ (**Abb. 18**). Durch die positive Beeinflussung dieser Risikofaktoren kann die Inzidenz atherosklerotisch bedingter Erkrankungen gesenkt werden [74]. Risikofaktoren wie Alter, Geschlecht, familiäre und genetische Vorbelastung sowie der physiologische, altersbedingte Elastizitätsverlust der Gefäße sind nicht beeinflussbar. Zu den wichtigsten beeinflussbaren Risikofaktoren zählen Hypercholesterinämie, Hypertonus, Diabetes mellitus, Nikotinabusus, Adipositas, Bewegungsmangel und Stress.

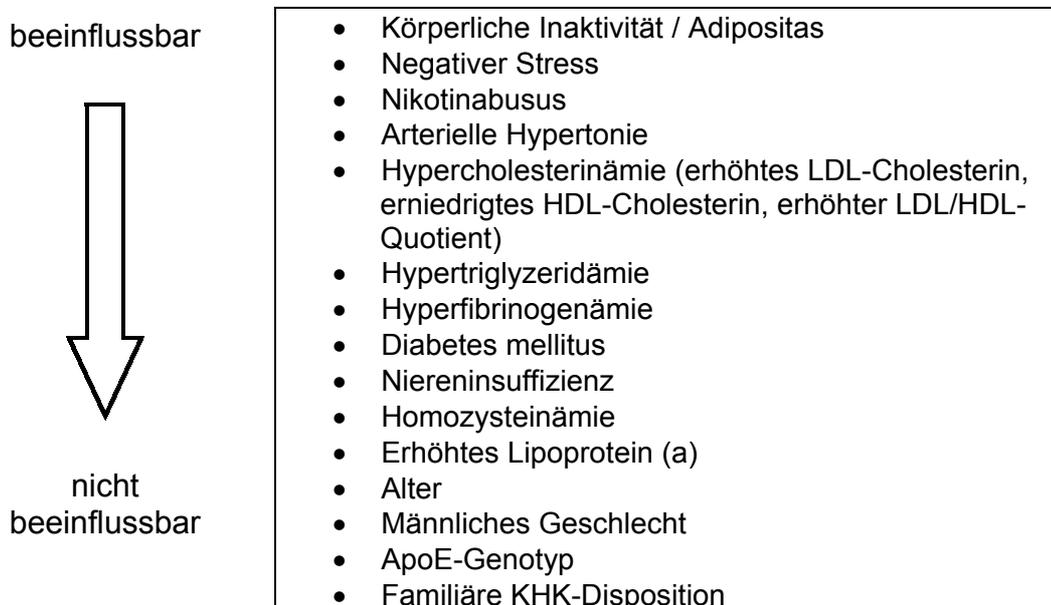


Abb. 18: Risikofaktoren der Koronaren Herzkrankheit (nach [106])

4.2 Pathogenese der Atherosklerose

Bereits im 19. Jahrhundert wurde von Rudolph Virchow die Erkenntnis formuliert, dass „die Entzündung der Gefäßwand den Ausgangspunkt der so genannten atheromatösen Degeneration“ darstellt [138]. Die These, dass eine Schädigung des Endothels dem atherosklerotischen Prozess vorausgeht, geht auf tierexperimentelle und klinische Studien zurück und wurde in ihrer heute gültigen Form von Ross als „Response to injury“-Hypothese oder „Inflammationshypothese“ formuliert [124]. Die initiale Endothelläsion wird durch Strömungseffekte, mechanische Einwirkungen oder verschiedene Noxen ausgelöst. Unter physiologischen Bedingungen kommt es zu einer Re-endothelialisierung, die Einwirkung verschiedener pathogener Faktoren behindert jedoch die normalen Reparationsvorgänge. Im weiteren Verlauf kommt es zu einer ursprünglich protektiven, jedoch nun exzessiven fibroproliferativen Immunantwort der verletzten Gefäßwand, welche schließlich zum Krankheitsbild der Atherosklerose führt (**Abb. 19**).

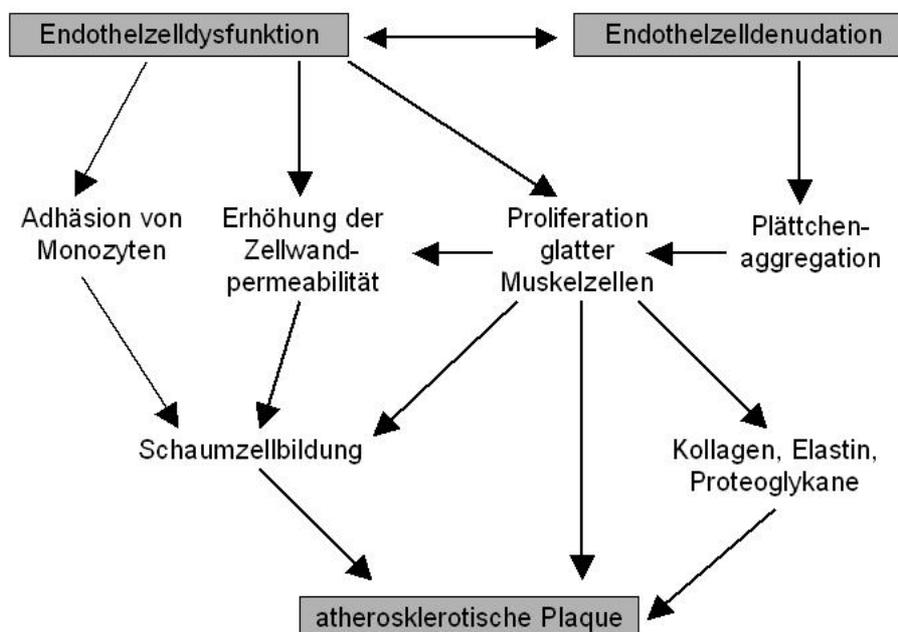


Abb. 19: „Response to injury“-Hypothese: Die Aktivierung oder Verletzung des Endothels initiiert den atherosklerotischen Prozess (nach Ross [105]).

Die Atherogenese ist demnach kein degenerativer, sondern vielmehr ein aktiver, multifaktoriell bedingter Prozess, der in mehreren charakteristischen Schritten verläuft.

4.2.1 Endotheldysfunktion und Plaquebildung

Die Wand der größeren Blutgefäße besitzt einen charakteristischen dreischichtigen Aufbau mit Adventitia, Media und Intima. Die Intima als innerste Schicht wird vom Endothel und dem angrenzenden subendothelialen Raum gebildet. Das Endothel ist eine einlagige, direkt an das Lumen angrenzende Schicht der Gefäßwand und verhindert als Barriere das Eindringen zellulärer und molekularer Bestandteile in den subendothelialen Raum. Gleichzeitig ist das intakte Endothel ein endo-, auto- und parakrines Organ. Es besitzt durch die Freisetzung verschiedener Modulatoren eine antikoagulierende Oberfläche und wirkt fibrinolytisch.

Chronisch leichte Endothelschädigungen und eine sog. adaptive intimale Verdickung sind an Stellen mit turbulenter Strömung und starken Scherkräften als physiologisch zu betrachten. Die daraus möglicherweise resultierende Endotheldysfunktion manifestiert sich primär in einer veränderten endokrinen Funktion, in gestörten Rezeptorfunktionen sowie in einer Erhöhung der endothelialen Permeabilität [55].

Vielen vaskulären Erkrankungen liegt eine Störung der Endothel-abhängigen Vasodilatation zugrunde [62]. Geschädigte Endothelzellen sind z. B. nicht mehr in der Lage, NO (syn. EDRF, endothelium derived relaxing factor) zu synthetisieren und damit die Relaxierung glatter Muskelzellen in der Gefäßwand mit nachfolgender Vasodilatation und Blutdrucksenkung anzuregen. Aikawa et al. [3] konnten im Tierexperiment an Kaninchen zeigen, dass Endothelzellen unter hypercholesterinämischen Bedingungen deutlich weniger NO freisetzen. Entsprechend kam es durch Lipidsenkung nach 16 Monaten zu erhöhter Expression von endothelialer NO-Synthase (eNOS). Kugiyama et al. [82] wiesen in einem in vitro/vivo-Modell bei nativem LDL-Cholesterin keine Wirkung auf NO nach, wohingegen oxidiertes LDL (oxLDL) die Endothelrelaxation nach

Acetylcholinzugabe vollständig blockierte. Das Vorhandensein atherosklerotischer Plaques scheint keine Voraussetzung für die verringerte NO-Freisetzung unter Hypercholesterinämie zu sein, da dieser Mechanismus auch in plaquefreien, kleineren Widerstandsgefäßen (z. B. Arteriolen) nachgewiesen wurde [62].

NO kann als starker antiatherogener Faktor bewertet werden: Es hemmt die Proliferation glatter Muskelzellen, reduziert die Thrombozytenaggregation und verringert die Expression chemotaktischer Proteine (z. B. VCAM-1), was wiederum in einer abnehmenden Anheftung leukozytärer Bestandteile an der Gefäßwand resultiert [91]. Im Tierversuch werden ICAM-1 und VCAM-1 noch vor der Monozytenadhäsion vor allem von Endothelzellen exprimiert, die sich in plaquevulnerablen Regionen befinden [91]. Sie erleichtern die Migration von Monozyten, Plasmalipiden und Proteinen in die Arterienwand, weswegen ihnen eine wichtige Bedeutung in der Frühphase der Atheromentstehung zugesprochen wird. Weitere wichtige Adhäsionsmoleküle werden von dem geschädigten Endothel (P-Selectin, E-Selectin) bzw. von Leukozyten (L-Selectin) sezerniert. Die Selectine führen durch Verlangsamung der monozytären Fließgeschwindigkeit zu stärkerer Interaktion mit der geschädigten Gefäßwand. So zeigen hyperlipidämische, P-Selectin-defiziente Mäuse eine verlangsamte Atherombildung gegenüber hyperlipidämischen Kontrolltieren [91].

Physiologischerweise findet ein ständiger Transport von Lipoproteinen, insbesondere HDL-C, LDL-C und VLDL-C aus dem Gefäßlumen in die Gefäßwand statt. Die Konzentration in der Gefäßwand ist hierbei proportional zur Konzentration im Blutplasma und resultiert in erster Linie aus der hohen Affinität des Apolipoproteins des LDL-C, des Apo B100, zu den Proteoglykanen bzw. dem Elastin der Arterienwand. Mit fortschreitender Intimasklerose nimmt die Menge an Proteoglykanen zu, LDL-Cholesterin gelangt vermehrt in die Intima [8].

Bereits während seines Endothel-Durchtritts [36] oder erst im subendothelialen Raum, in dem es von im Blut zirkulierenden antioxidativen Substanzen getrennt ist, kann LDL chemisch zu oxLDL modifiziert werden. OxLDL steht in kausalem

Zusammenhang mit der Plaqueprogression: Es wirkt chemotaktisch auf Monozyten, führt zu deren Transformation zu Schaumzellen und inhibiert die Migrationsfähigkeit der Monozyten; es beeinflusst die Endothelfunktion im Sinne einer Permeabilitätserhöhung und führt zur Expression von Leukozytenadhäsionsmolekülen; es stimuliert die Cytokinfreisetzung und wirkt proliferationssteigernd auf glatte Muskelzellen (VSMC), kann aber auch deren nekrotischen Untergang bewirken [59]. Indirekt führt oxLDL zur Freisetzung von tissue factor (TF) durch Makrophagen, das die antikoagulative Wirkung des Endothels herabsetzt [145]. In zahlreichen Studien konnte die Bedeutung von oxLDL insbesondere im Frühstadium der Atherogenese nachgewiesen werden [111;150]. Die Möglichkeit einer Oxidation von LDL nimmt mit dem Alter der LDL-Partikel zu. Gealtertes LDL tritt vermehrt auf bei extremer LDL-Hyperlipoproteinämie und genetisch bedingtem LDL-Rezeptormangel. Zusätzlich sind in die Intima eingewanderte modifizierte Monozyten und neutrophile Granulozyten in der Lage, über Radikalbildung LDL zu oxidieren. Eine erleichterte Oxidierbarkeit der LDL scheint ebenfalls mit herabgesetzten Konzentrationen an endogenen Antioxidantien, z. B. Vitamin E, in Zusammenhang zu stehen [49].

Die der Atherosklerose zugrundeliegende Endozytose von Lipoproteinen ist nur indirekt von der Lipoproteinkonzentration im Serum abhängig. Chemisch intaktes LDL wird normalerweise über den von Goldstein und Brown erstmals beschriebenen LDL-Rezeptor in Zellen aufgenommen [27], durch eine negative Rückkopplung unterbleibt bei genügend hoher intrazellulärer LDL-Konzentration die weitere Aufnahme von LDL. Das pathologische Phänomen einer intimalen Lipidakkumulation durch übersteigerten LDL-Import wird somit verhindert.

In den subendothelialen Raum gelangte und zu Makrophagen umgewandelte Monocyten sind der hauptsächliche zelluläre Entzündungsmediator. Sie stimulieren ihre eigene Proliferation durch Bildung des Mediators CSF, aktivieren glatte Muskelzellen der Media und nehmen über den sog. "scavenger receptor" unkontrolliert große Mengen von extrazellulärem oxLDL auf. Dadurch bilden sich Schaumzellen, diese akkumulieren im subendothelialen Raum und morphologisch zeigen sich erstmals Plaques der Stadien I und II [131]. Im

Gegensatz zum Apo B/E-Rezeptor unterliegt der "scavenger receptor" keinem negativen "feed-back"-Mechanismus [135].

Bei Persistenz der Endotheldysfunktion kommt es durch Migration medialer glatter Muskelzellen (VSMC) in die Intima und deren Proliferation zur Entstehung sog. fortgeschrittener Läsionen (Atherom, Fibroatherom). Glatte Muskelzellen sind ein wichtiger Faktor in der Atherogenese. Sie bilden eine bindegewebige Matrix, in die sich im weiteren Verlauf der Atherogenese kollagene/elastische Fasern und Proteoglykane einlagern. Ihre Migration und Proliferation wird durch chemotaktisch wirksame Stoffe unterstützt, die vom geschädigten Endothel, von Makrophagen, Thrombozyten oder glatten Muskelzellen selbst produziert werden [127]. Ein weiterer wichtiger Faktor für das Einwandern und die Proliferation glatter Muskelzellen ist das oxLDL. Es stimuliert die Aktivität der Lactosylceramid-Synthetase und erhöht dadurch die Produktion des proliferativ wirkenden Lactosylceramid [30]. Aufgrund von in vitro-Untersuchungen ist bekannt, dass glatte Muskelzellen bei Stimulation durch Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) oder Interferon- γ (IFN- γ) zur Expression von Scavenger-Rezeptoren angeregt werden können. Sie sind dann auch in der Lage, oxLDL aufzunehmen und sich in Schaumzellen umzuwandeln [55].

In der Folge führt die anhaltende generelle Zellmigration und -proliferation zu fortschreitender luminaler Stenose, die jedoch meist aufgrund von Kompensationsmechanismen klinisch unauffällig bleibt. An Stellen ohne endotheliale Deckschicht können sich murale Thromben bilden. Eine Ausbildung intimaler Nekroseherde bewirkt eine deutliche Zunahme des Atherothrombose-Risikos.

4.2.2 Morphologie atherosklerotischer Plaques

Atherosklerotische Läsionen unterliegen während ihrer Entwicklung einem ständigen Umbau in Struktur und zellulärer Zusammensetzung (**Abb. 20**).

Zu den typischen Merkmalen der Atherosklerose in Sinne der Terminologie von Marchand [95] zählt die Bildung von Atheromen. Eine Klassifikation der verschiedenen Läsionstypen wurde von Stary et al. [132] vorgeschlagen. Typ I und II werden als frühe Läsionen, Typ III-VI als fortgeschrittene Läsionen bezeichnet.

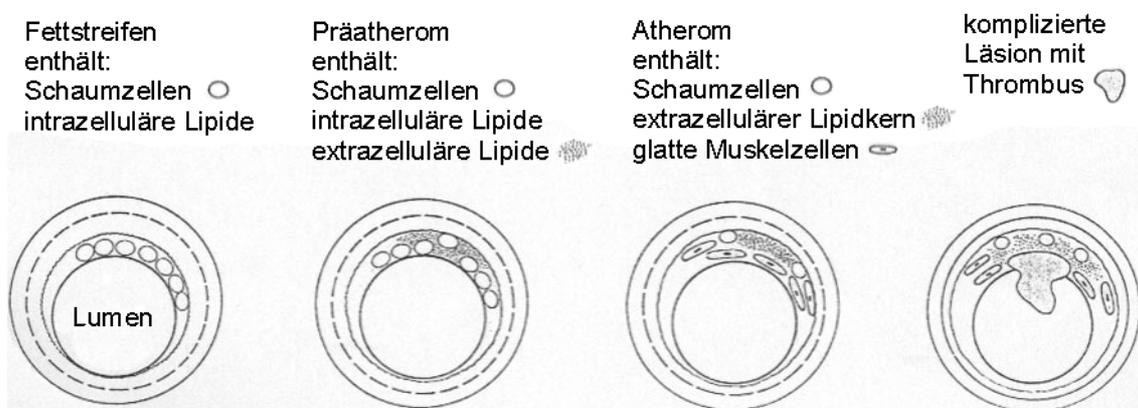


Abb. 20: Vereinfachte Darstellung der verschiedenen Stadien der Plaquentwicklung (nach Stary, [132])

In der frühen Phase der Plaquentwicklung entspricht die **Typ I**-Läsion nach Stary, oder „Initialläsion“, einem erhöhten Auftreten noch vereinzelter Makrophagen und intrazellulärer Lipide in einer meist adaptiv verdickten Intima. Läsionen dieser Art werden auch als „Lipidflecken“ bezeichnet, sie sind vollständig reversibel [132]. Die **Typ II**-Läsion, auch „fatty streak“ (Fettstreifen) genannt, ist bereits makroskopisch sichtbar. Die Makrophagen konfluieren innerhalb der Intima zu Schaumzellbeeten, erstmals treten auch vereinzelt extrazelluläre Lipide auf. Die Lokalisation dieser Läsionen korreliert bereits mit den Stellen, an denen auch bei älteren Menschen fortgeschrittene Plaques zu finden sind [35]. Charakteristisch für die **Typ III**-Läsion, das „Präatherom“, ist die Zunahme der extrazellulären Lipidakkumulationen, sog. Lipidpools, die Lipidansammlungen bestehen hauptsächlich aus oxLDL.

Im Anschluss bilden sich fibröse Plaques, diese Phase umfasst die Läsionstypen IV und V. Die **Typ IV**-Läsion, das Atherom, ist durch einen lipidreichen Kern gekennzeichnet, der durch Konfluieren der einzelnen Lipidpools entsteht. Atherome werden auch als „fibröse-fettige“ Plaques bezeichnet. Proliferierende glatte Muskelzellen sind Hauptbestandteil und produzieren Kollagen und elastische Fasern, wodurch die Stabilität der Plaque erhöht wird. Ergebnisse einer Studie von Stary et al. [132] legen nahe, dass sie ab einem Alter von 25 Jahren vor allem in der linken Koronararterie der meisten Menschen vorhanden sind. Die **Typ V**-Läsion als typische fortgeschrittene Läsion wird auch als Fibroatherom bezeichnet. Zusätzlich zu den Kriterien des Atheroms tritt hier eine sog. fibröse Kappe auf, welche den lipidreichen Kern zum Gefäßlumen hin abgrenzt.

Das Fibroatherom ist der häufigste Ausgangszustand für die komplizierte Läsion (**Typ VI**-Läsion nach Stary), eine thrombohämorrhagische Komplikation. Diese Läsion entsteht in der Regel durch einen Einriss der fibrösen Kappe. Durch eine Gerinnungskaskade gebildete Thromben (Typ VIb), hämorrhagische Plaqueeinblutungen (Typ VIc) bzw. Kombinationen beider Mechanismen (Typ VIa) können so zu einer Stenosierung des Gefäßlumens führen. Morphologisch ist die Typ VI-Läsion durch große Lipideinlagerungen und eine Vielzahl an Cholesterinkristallen gekennzeichnet [132].

Ebenfalls zu den komplizierten Läsionen zählen die **Typ VII**- und **Typ VIII**-Läsionen. Hier besteht ein besonders hoher Anteil an kalzifizierten, meist im Atheromkern gelegenen nekrotischen Arealen (Typ VII) bzw. zellarmem kollagenem Bindegewebe (Typ VIII) bei stark reduziertem Lipidanteil. Beide Läsionen werden als metabolische, regressive Formen der Plaqueentwicklung verstanden.

4.2.3 Plaquestabilität und fibröse Kappe

Im Herz ist bei Vorliegen stabiler Plaques meist eine dauerhafte Perfusion gewährleistet, die Gefahr koronarer Ereignisse ist herabgesetzt. Klinische Symptome treten perfusionsbedingt erst ab einem Stenosegrad von $> 70\%$ auf, Kollateralkreisläufe und sog. „vascular remodeling“ können diese Entwicklung jedoch kompensatorisch verzögern. Bei stabilen Plaques ist das Risiko erniedrigt, dass sie durch Risikofaktoren (sog. „Trigger“) aufreißen und zu einem plötzlichen, nicht unmittelbar kompensierbaren Gefäßverschluss führen. Etwa die Hälfte aller Myokardinfarkte entstehen in gering (bis maximal 50%) stenosierte Gefäßen, nur 15% gehen aus über 70% igen Stenosen hervor [115]. Plaquerupturen entstehen meist an Übergangsregionen von Geweben mit unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften, besonders häufig an der sog. Plaqueschulter [122].

Fortgeschrittene atherosklerotische Läsionen sind primär durch einen lipidreichen, atheromatösen Kern und sekundär durch die fibröse Kappe, die den Lipidkern zum Gefäßlumen abgrenzt, gekennzeichnet. Vorhandensein, zentrische Lage und Größe des Atheromkerns sind entscheidende Voraussetzungen für die Plaquestabilität. Als besonders risikoreich werden Läsionen mit einem Atheromkern betrachtet, der mehr als 40% der Plaquesgesamtfläche einnimmt [34]. Die fibröse Kappe besteht aus einer dichten extrazellulären Matrix mit den Proteinbestandteilen Kollagen Typ I, Kollagen Typ III und Elastin, die von glatten Muskelzellen synthetisiert werden. In $75-100\%$ der Fälle ist die Ruptur der fibrösen Kappe das zum Verschluss des Gefäßes führende Ereignis [23]. Bei Ruptur der fibrösen Kappe kommen der Lipidkern und die hochthrombogene Kollagenmatrix der Plaque mit dem Blut in Kontakt. Dies führt zu Fibrindeposition, Thrombusbildung und gegebenenfalls zu vollständigem Gefäßverschluss oder Embolisierung des Thrombus in distale Gefäßabschnitte. Häufig treten erst in diesem Stadium klinisch fassbare Symptome auf.

Durch den starken inflammatorischen Reiz der Intimanekrose werden Monozyten aktiviert und führen über eine Freisetzung verschiedener Proteasen zur Auflösung der fibrösen Kappe. Zusätzlich sind Monozyten in der Lage, den Gewebefaktor zur Thrombinaktivierung zu exprimieren, was die Thrombusbildung noch verstärkt. Makrophagen werden dazu angeregt, eine Reihe von Zytokinen, z. B. Interleukin-1 (IL-1), IFN- γ und TNF- α , zu produzieren, die durch ihre zytotoxische Wirkung auf glatte Muskelzellen ebenfalls die fibröse Kappe der Plaque schwächen [90]. Weiterhin wird eine erhöhte Apoptoserate glatter Muskelzellen durch direkten zellulären Kontakt mit Makrophagen diskutiert, der Anteil glatter Muskelzellen ist in stabilen Läsionen höher als in instabilen. Histologisch ist der Makrophagengehalt in der fibrösen Kappe ein wichtiger Parameter. Lendon et al. [89] zeigten, dass ein erhöhter Makrophagengehalt mit einer verminderten Reißfestigkeit der fibrösen Kappe verbunden ist. Somit führt weniger die Beeinflussung der Plaquegröße als vielmehr eine lokale Entzündungshemmung im Atherom letztendlich zu einer Stabilisierung der Plaque [91].

4.3 Wahl eines geeigneten Tiermodells

Aufgrund der komplexen und langfristigen Pathogenese mit ausgeprägter individueller Variabilität, einer Vielzahl beeinflussender Faktoren sowie einer schwierigen Dokumentation des Ausprägungsgrads beim Menschen ist es sinnvoll, die Atherogenese unter experimentellen Bedingungen zu simulieren. Seit den ersten Untersuchungen von Anitschkow spielen daher Tiermodelle eine wichtige Rolle im Verständnis der Atherogenese [148]. Tiermodelle haben den Vorteil, dass atherosklerotische Plaques in kurzer Zeit entstehen und Einflussfaktoren kontrolliert werden können. Einerseits kann über die Art und Menge des Futters, andererseits über die genetische Veränderung von Apolipoproteinen, Enzymen und Lipoprotein-Rezeptoren die Qualität und Quantität der induzierten Atherosklerose verändert werden. Generell kann festgestellt werden, dass eine dem Menschen morphologisch vergleichbare Atherosklerose im Tierexperiment eine Hyperlipidämie voraussetzt [65]. Für die Berücksichtigung aller Faktoren der Atherogenese ist ein Spektrum unterschiedlicher Modelle erforderlich, wobei ausreichende Analogien zur

menschlichen Atherosklerose bezüglich Morphologie, Genese und Beeinflussbarkeit der Entwicklung Voraussetzung sind.

Das Kaninchen ist das in der Praxis am häufigsten verwendete Tiermodell, da durch Fütterung eines cholesterinhaltigen Futters (0,3 %-2,5 %) eine Hypercholesterinämie und nach etwa 8 Wochen (bei 0,5%iger Cholesterinfütterung) erste, reproduzierbare atherosklerotische Läsionen im Aortenbogen nachweisbar sind [42]. Beim gesunden Kaninchen sind nicht experimentell bedingte Läsionen außerdem nahezu ausgeschlossen [104]. Weitere Vorteile sind die gute Verfügbarkeit und Haltung der Tiere sowie wirtschaftliche Aspekte. Aufgrund der Größe der Tiere sind regelmäßige Blutentnahmen möglich.

Ein Nachteil des Weißen Neuseelandkaninchens ist in seinem unterschiedlichen Cholesterinmetabolismus als Pflanzenfresser zu sehen. Cholesteringefütterte Kaninchen besitzen ein zum Teil anderes Lipid- und Lipoproteinprofil als der Mensch. Beim Mensch und beim Watanabe Heritable Hyperlipidemic (WHHL)-Kaninchen liegt der Hauptanteil des Plasma-Cholesterins als LDL-Cholesterin vor, beim genetisch unveränderten Kaninchen hingegen stellt das VLDL-Cholesterin die proportional größte Lipidfraktion im Plasma dar [52]. Für die Entstehung atherosklerotischer Plaques mit Schaumzellen gilt LDL-Cholesterin als hauptverantwortlich. Als Gemeinsamkeiten mit dem menschlichen Organismus sind eine ähnliche Aktivität des Plasma-Cholesterylester-Transfer Proteins (CETP) sowie eine hohe Absorptionsrate diätetischen Cholesterins zu nennen [100].

Die atherosklerotischen Plaques im Weißen Neuseelandkaninchen sind überwiegend im Aortenbogen und thorakalen Teil der Aorta lokalisiert, kombiniert mit einer starken Einbeziehung kleiner Arterien und Arteriolen. Dies differiert von den menschlichen Prädilektionsstellen [104]. Bei einer Supplementation mit mindestens 0,5 % Cholesterin stellen sich die Plaques als auf die Intima begrenzte Läsionen vom Typ IV mit wenig Tendenz zu stärkerer Differenzierung und Progression dar [45]. Narayanaswamy et al. [104] beschrieben Läsionen im hypercholesterinämischen Kaninchen als Xanthomatose, d. h. als stark

vergrößerte „Fettstreifen“, die Lipide hauptsächlich in Schaumzellen enthalten. Der Anteil an fortgeschrittenen Läsionen ist entsprechend gering. Insbesondere generalisierte, fibrokalzifizierte Läsionen im Kaninchen sind jedoch mit den menschlichen Plaques vergleichbar [33].

Bei gendefizienten Kaninchenmodellen sind Läsionen mit Lipidkernen häufiger [35]. So beschrieben Hansen et al. [52] eine gute Übereinstimmung von Plaquebildung und -verteilung bei den WHHL-Kaninchen mit atherosklerotischen Läsionen beim Menschen. Aufgrund des genetisch bedingten Fehlens von LDL-Rezeptoren bilden WHHL-Kaninchen auch ohne Zugabe von cholesterinreichem Futter eine Hypercholesterinämie mit 10-20fach erhöhten Cholesterinkonzentrationen und atherosklerotische Plaques aus [7]. Rosenfeld und Ross [123] verglichen Struktur und Zusammensetzung der Läsionen von WHHL-Kaninchen mit denen cholesteringefütterter Kaninchen. Ihre Untersuchungen ergaben, dass das cholesteringefütterte NZW-Kaninchen als adäquates Modell für die Erforschung der Atherosklerose betrachtet werden kann. Die Ausbildung komplizierter Läsionen im NZW wird vor allem durch langfristige Supplementation mit niedrigen Cholesterinkonzentrationen ($\leq 0,5\%$ Nahrungsanteil) [45] sowie durch intermittierende bzw. zyklische Fütterung [32] induziert bzw. beschleunigt. Eine weitere Möglichkeit stellen mechanische Manipulationen, z. B. Endotheldenudation oder Ballonangioplastie [104], dar.

4.4 Knoblauch (*Allium sativum*) in der Atherosklerosetherapie

Die Zwiebel von Knoblauch (*Allium sativum*) enthält als genuinen Bestandteil das hydrophile Alliin (geruchlos), das durch das Enzym Alliinase in das lipophile Allicin (knoblauchtypischer Geruch) umgewandelt wird [108].

Aus einem Gramm frischen Knoblauchs können ca. 3,7 mg Allicin freigesetzt werden [2]. Allicin selbst wirkt nur indirekt über seine Umwandlungsprodukte, da es schnell oxidiert wird und zusammen mit Cystein in S-Allylmercaptocystein umgewandelt wird (Halbwertszeit < 1 min). Durch Wasserdampfdestillation kann aus Knoblauch das darin zu etwa 0,5 % enthaltene Knoblauchöl gewonnen werden. Knoblauchöl enthält neben Alliin und Allicin verschiedene Polysulfide als Abbauprodukte. Eine genauere Untergliederung erfolgt u. a. in Diallyldisulfid (60 %), -trisulfid (20 %), -tetrasulfid (10 %) und Allylpropyldisulfid (6 %) sowie Diallylsulfid. Auf atomarer Ebene enthält Knoblauch große Mengen an Phosphor, Kalium, Schwefel und Zink, geringere Mengen an Selen sowie Spuren von Calcium, Magnesium, Natrium, Eisen und Mangan. In Knoblauch sind vor allem die Vitamine A, C und B-Vitamine enthalten. Bislang wurden 17 Aminosäuren als inhaltliche Komponenten von Knoblauch identifiziert [108].

In der Vergangenheit konnte in verschiedenen epidemiologischen Studien gezeigt werden, dass eine diätetische Einnahme von Knoblauchpräparaten das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse senken kann [2;14;121]. In einzelnen Studien nachgewiesene Effekte betreffen vor allem verringerte Konzentrationen von Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin und Triglyzeriden, eine Beeinflussung der LDL-Oxidation und Thrombozytenaggregation sowie Beeinflussungen von fibrinolytischer Aktivität, Fibrinogenspiegel und Blutdruck. Knoblauch besitzt durch die Beeinflussung von Risikofaktoren einerseits und spezifischer anti-atherosklerotischer Mechanismen andererseits direkte und indirekte Wirkungen bei der Therapie der Atherosklerose [114].

In einer Vielzahl klinischer Studien wurden lipidsenkende Effekte von Knoblauch und seinen einzelnen Bestandteilen nachgewiesen. Es existieren jedoch widersprüchliche Ergebnisse und methodologische Bedenken bei nicht Plazebo-kontrollierten Studien [21]. Bei der Behandlung mit standardisierten Knoblauchpulverpräparaten (600-900 mg/Tag) konnten signifikante Reduktionen des Serumcholesterins sowie der Triglyzeridwerte nachgewiesen werden (siehe **Tab. 12**). Die hypocholesterinämischen Effekte in den genannten Studien waren zwar nur moderat ausgeprägt (ca. 10 %), jedoch signifikant [113]. Steiner et al. [134] konnten bei Patienten signifikant positive Effekte von Knoblauch auf Blutdruck und Lipoproteinprofil nach 4-wöchiger Vorbehandlung mit einer cholesterinarmen Diät nachweisen. In dieser Studie wurde während der ersten zwei Monate der Supplementation mit Knoblauch ein Anstieg von Cholesterin, Triglyzeriden und LDL/VLDL-C festgestellt. Ein Erklärungsansatz war, dass es zu einer Mobilisation von Gewebefett in den Blutkreislauf kam.

Silagy et al. [129] zeigten in einer Meta-Analyse von 16 klinischen Studien, dass durch Knoblauchsupplementation eine Senkung der Plasmacholesterinkonzentration möglich ist. Die cholesterinsenkende Wirkung wurde bereits einen Monat nach Therapiebeginn erreicht und hielt mindestens 6 Monate an. Eine erneute Meta-Analyse von Warshafsky et al. [143], die an 5 klinischen Studien mit hypercholesterinämischen Patienten durchgeführt wurde, bestätigte diesen Effekt in geringerem Maße und ermittelte eine durchschnittliche Senkung der Plasmacholesterinkonzentration von 9 %.

Eine weitere Meta-Analyse kam jedoch zu dem Schluss, dass die früheren Analysen nicht ausreichend exakt durchgeführt worden waren und ein lipidsenkender Effekt nicht eindeutig belegt werden könne [107].

Differierende Ergebnisse zeigten sich auch in einer randomisierten, placebo-kontrollierten Doppelblindstudie von Isaacsohn et al. [69] mit 50 hypercholesterinämischen Patienten. Die Interventionsgruppe (n=28) erhielt nach vorheriger 8-wöchiger cholesterinarmen Standarddiät über einen Zeitraum von 12 Wochen Knoblauch-Pulver (300 mg/3-mal täglich). Die Patienten in der

Kontrollgruppe erhielten ein Placebopräparat. In beiden Versuchsgruppen konnten keine signifikanten Veränderungen des Lipidprofils nachgewiesen werden. Auch andere klinische Studien kamen zu diesem Ergebnis [15;130].

Tab. 12: Verabreichung von Knoblauch („Kwai“-Knoblauchpulver) und Senkung der Gesamtcholesterin- und Triglyzeridkonzentrationen im Serum

| Autor Jahr & Referenz | Dosis (mg) | Therapie- dauer (Wochen) | Cholesterin (mg/dl) | | Triglyzeride (mg/dl) | |
|--------------------------------|---------------|--------------------------------|---------------------|--------------------|-------------------------|-------------------|
| | | | vorher | nachher | vorher | nachher |
| Auer et al. (1990) [11] | 600 | 12 | 268 | 230 (p = 0,05) | 171 | 140 (p = 0,05) |
| Vorberg et al. (1990) [139] | 900 | 16 | 294 | 230 (p < 0,001) | 207 | 156 (p = 0,05) |
| Jain et al. (1993) [71] | 900 | 12 | 262 | 247 (p = 0,01) | 151 | 165 (ns) |
| Brosche et al. (1990) [26] | 600 | 12 | 260 | 240 (p < 0,001) | 207 | 174 (p = 0,05) |

ns = nicht signifikant

Zusammenfassend ist zu sagen, dass trotz eines vielfach nachgewiesenen hypocholesterinämischen Potentials bei teilweise schlechter methodologischer Qualität älterer Studien eine lipidsenkende Wirkung durch Knoblauch in neueren Studien (randomisiert, Plazebo-kontrolliert) bezweifelt wird [21].

Bislang existiert keine zufriedenstellende Erklärung für einen hypocholesterinämischen Mechanismus. Es wird vermutet, dass der lipidsenkende Effekt in der Hemmung verschiedener lipogener und cholesterogener Enzyme begründet ist. Studien demonstrierten die Inhibition der hepatischen HMG-CoA-Reduktase sowohl in vivo als auch in vitro durch Knoblauchpräparate [99]. Chi et al. [31] konnten nach Knoblauchgabe in cholesteringefütterten Ratten über eine Abnahme der Glucose-6-PDH-Aktivität eine Verringerung von NADPH, das für die Biosynthese von Fettsäuren und Cholesterin benötigt wird, feststellen. Augusti et al. [12] beschrieben die Fähigkeit von Allicin, mit der SH-Gruppe von

CoA-SH zu reagieren und dadurch die Synthese von Cholesterin, Fettsäuren und Lipoproteinen zu inhibieren. Dies zeigt, dass der hypocholesterinämische Effekt von Knoblauch zum Teil in einer verringerten hepatischen Cholesterinogenese begründet sein muss. Gebhardt [47] berichtete über 3 mögliche Mechanismen einer Hemmung der HMG-CoA-Reduktase, die das entscheidende Enzym der Cholesterinsynthese darstellt: Insbesondere Allicin kann zum einen über eine Beeinflussung enzymatischer Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsmechanismen, zum anderen über die Bildung HMG-CoA-Reduktase-inhibierender Oxide durch die Lanosterol-14 α -Demethylase wirken. Weiterhin wird eine Hemmung der HMG-CoA-Reduktase durch erhöhtes cAMP bei gleichzeitigem Anstieg des intrazellulären Calciums diskutiert. Zusammenfassend spricht vieles dafür, dass die cholesterinbezogene Wirkung von Knoblauch auf (a) einer verzögerten aortalen Cholesterinaufnahme aufgrund verringerter Plasma-Cholesterinkonzentration, (b) einer erhöhten Mobilisierung von Cholesterin und anderen Lipiden und ihrer verringerten Biosynthese in der Aorta bzw. Leber sowie (c) einer erhöhten Sekretion von Gallensäuren und neutralen Steroiden beruht [126].

In mehreren tierexperimentiellen Studien am Kaninchen wurde eine signifikant verringerte Neointimabildung durch Knoblauchpräparate festgestellt (**Tab. 13**).

Tab. 13: Veränderungen der Plasmacholesterinkonzentration und Neointimabildung durch Knoblauchpräparate in hypercholesterinämischen Kaninchenmodellen

| Autor Jahr & Referenz | Knoblauch- präparat | Plasmacholesterin | Neointimabildung |
|------------------------------|--------------------------------------|-------------------|------------------|
| Ismail et al. 1999 [70] | Knoblauchpulver 2 % | ↓ | ↓ (ns) |
| Eilat et al. 1995 [40] | Allicin 3 mg/kg/d | ↓ | nicht untersucht |
| Prasad et al. 1997 [117] | Knoblauchpulver 600 mg/d | ↓ (ns) | ↓ (ns) |
| Efendy et al. 1997 [39] | AGE 800 µl/ kg KG/ d | ↓ | ↓ |
| Durak et al. 2002 [38] | Knoblauchextrakt 1,5 ml /kg KG/ d | ↓ | nicht untersucht |
| Campbell et al. 2001 [29] | AGE 800 µl/ kg KG/ d | ↔ | ↓ |

↓ Verringerung, ↑ Erhöhung, ↔ keine Beeinflussung, ns = nicht signifikant
AGE = aged garlic extract

Eine knoblauchinduzierte Plaqueregression wurde erstmals von Koscielny et al. [80] dopplersonographisch in einer doppelblinden, placebo-kontrollierten Studie mit 152 Probanden nachgewiesen. Efendy et al. [39] wiesen eine verringerte Bildung selbst „fibrös-fettiger“ Plaques nach Endotheldenudation und Gabe eines Knoblauchextrakts bei ebenfalls unverändertem Lipidprofil nach. Dies bestätigt einen direkten antiatherosklerotischen Effekt von Knoblauch, der unabhängig von Veränderungen im Lipidprofil ist. Hierfür werden weitere Wirkmechanismen verantwortlich gemacht. So stellt die Oxidation von LDL-Cholesterin einen zentralen Pathomechanismus in der Initiation und Progression der Atherosklerose dar. In mehreren in vitro-Studien wurde nachgewiesen, dass Knoblauch antioxidatives Potential besitzt: Ide et al. [68] zeigten, dass Knoblauchbestandteile die Oxidation von LDL sowie dosisabhängig aktiv Peroxide inhibieren. Zusätzlich wird eine oxLDL-bedingte Abnahme von Glutathion, das die Entstehung von cytotoxischen Peroxiden (z. B. H₂O₂) und Lipidperoxiden erschwert, verhindert. Prasad et al. [116] erzeugten in vitro durch Photolyse von H₂O₂ mit UV-Licht Hydroxylradikale,

welche direkt und konzentrationsabhängig durch Zugabe von Allicin bzw. Knoblauchextrakt abgefangen werden konnten. Durak et al. [38] sowie Munday et al. [101] konnten ebenfalls in einer experimentellen bzw. klinischen Studie einen antioxidativen Effekt von Knoblauchextrakt nachweisen.

Eine Beeinflussung des Pathomechanismus der arteriellen Lipidablagerung durch Knoblauchextrakte wurde ebenfalls gezeigt. Kwon et al. [83] wiesen auf die Verringerung der Cholesterylestertransferase-Aktivität bei Nahrungsergänzung hypercholesterinämischer Kaninchen mit 1 % Knoblauchpulver hin. Gleichzeitig kam es zu weiteren signifikanten Veränderungen mit Abnahme der Lipoproteine, Anstieg des HDL-C sowie verkleinerten Plaques. Orekhov et al. [114] zeigten durch in vitro-Untersuchungen, dass Knoblauchpulverextrakt die Menge an Cholesterylestern und freiem Cholesterin in Kulturen humaner vaskulärer glatter Muskelzellen (VSMCs) signifikant senken kann. Zusätzlich wurde die Proliferationsaktivität, gemessen an der Thymidininkorporation in die DNS, gehemmt. Dies verweist ebenfalls auf einen direkten antiatherosklerotischen Effekt von Knoblauch. Ein weiterer Versuchsaufbau der Autoren bestätigte diesen präventiven Mechanismus. Mit 40%igem atherogenem Serum für 24 h inkubierte humane VSMCs wiesen einen starken Anstieg an freiem Cholesterin, zellulärem Cholesterylestergehalt und erhöhte Proliferationsraten auf. Knoblauchpulverextrakt war in der Lage, diese Effekte bereits bei einer in der therapeutischen Dosis angewendeten Konzentration von 10 µg/ml signifikant zu reduzieren.

Hämostase, Thrombozytenaggregation und Fibrinolyse stellen weitere von Knoblauch beeinflusste Größen dar. Knoblauchextrakte und verschiedene Knoblauchbestandteile zeigten sowohl in vivo als auch in vitro eine signifikante Hemmung der Thrombozytenaggregation und Thromboxanbildung [141].

Die Infusion von Arachidonsäure im Tierversuch führte zu intravaskulärer Thrombozytenaggregation und Thromboxanbildung. Ali [5] konnte zeigen, dass Knoblauchbestandteile die Umwandlung von Arachidonsäure in entzündliche Metabolite über eine nicht-kompetitive und irreversible Hemmung der Cyclo-

oxygenase herabsetzen. Die Wirkung von Knoblauch wäre somit vergleichbar mit Wirkstoffen wie Acetylsalicylsäure oder Indometacin. Der Autor beschreibt Unterschiede verschiedener Knoblauchzubereitungen, wobei er frischem Knoblauchextrakt den höchsten Wirkungsgrad zuordnet. Als mögliche Erklärung wird hier die Thermolabilität der Knoblauchbestandteile angesehen.

Breithaupt-Grögler et al. [25] konnten außerdem eine geringe Senkung des Blutdrucks sowie eine Verbesserung der elastischen Eigenschaften der Aorta durch Knoblauchsubstitution beim älteren Menschen feststellen. Eine signifikant blutdrucksenkende Wirkung durch 4-wöchige Gabe von täglich 50 mg wässrigen Knoblauchextrakts wurde von Sharifi et al. [128] an 2K1C (two-kidney-one-clip)-Ratten gezeigt, wobei dieser Effekt unabhängig von Atherosklerose oder Hypercholesterinämie war. Weitere tierexperimentelle Studien bestätigten einen blutdrucksenkenden Effekt von Knoblauch und seinen Bestandteilen, der vasodilatatorisch bedingt war [113]. Ashraf et al. [9] konnten *in vitro* an isolierten Aortae von Ratten zeigen, dass diese Wirkung unabhängig von NO war.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Knoblauchpräparate unter bestimmten Bedingungen zu einer verzögerten Entwicklung atherosklerotischer Läsionen führen können. Ein Hauptmechanismus scheint diesbezüglich die Senkung hoher Cholesterinspiegel zu sein. Auch wenn der Einfluss von Knoblauch auf einzelne Größen schwächer ist als bei vielen synthetischen Medikamenten, stellen das breite Spektrum an beeinflussten Risikofaktoren, das weitgehende Fehlen von Nebenwirkungen sowie lange Anwendungserfahrung klare Vorteile dieser Therapie dar [113].

Vereinzelt wurde nach Knoblauchgabe im Tierexperiment über Leberenzym-erhöhung, Störungen der Mikroarchitektur von Organen (Leber, Niere, Herz) sowie fokale Leberzellnekrosen berichtet. Als letal erwies sich bei Ratten eine Dosierung von 100 mg/kg Knoblauchöl nach 24-stündiger Nüchternphase. Ebenfalls wurde im Tierexperiment an Ratten eine signifikant verringerte Gewichts-

zunahme nach Gabe von Knoblauchöl bzw. Diallyldisulfid (200 mg/kg) gezeigt [14].

4.5 Pulswellenlaufzeit (PWLZ) und Pulswellengeschwindigkeit (PWV) als Indikatoren atherosklerotischer Gefäßwandveränderungen

Die nicht-invasive Dopplersonographie in vivo stellt ein angiologisches Untersuchungsverfahren des Kreislaufsystems dar, welches gut reproduzierbare Ergebnisse mit geringen Variationskoeffizienten und hohem Aussagewert bei günstigem Zeit- und Kostenfaktor liefert [13]. Die Methode zur Bestimmung der Pulswellenlaufzeit wurde erstmals 1922 von Bramwell und Hill beschrieben [22]. Seit Anfang der 1960er-Jahre wird die Dopplersonographie in der klinischen Gefäßdiagnostik angewendet. Mittlerweile stellen PWV und PWLZ in den großen Gefäßen von Menschen und zahlreichen anderen Spezies etablierte Messmethoden zur Abschätzung der vaskulären Elastizität/ Compliance dar [10].

Das zugrundeliegende physikalische Prinzip ist eine Frequenzverschiebung bei Grenzflächenbewegung (**Abb. 21**). Die ausgesandten Ultraschallwellen (2-10 MHz) werden partiell an Grenzflächen reflektiert. Bei Beschallung von Gefäßen stellen insbesondere Erythrozyten diese Grenzflächen dar. Aufgrund der Grenzflächenbewegung im Gefäßsystem (Blutfluss) kommt es zu einer zeitlichen Änderung des Abstandes zwischen Schallquelle und Schallempfänger und somit auch zu einer Änderung der von der Schallquelle ausgestrahlten Frequenz. Dies wird auch als Dopplereffekt bezeichnet [37]. Über einen in derselben Sonde angebrachten „Empfangskristall“ werden die reflektierten Schallwellen wieder aufgefangen.

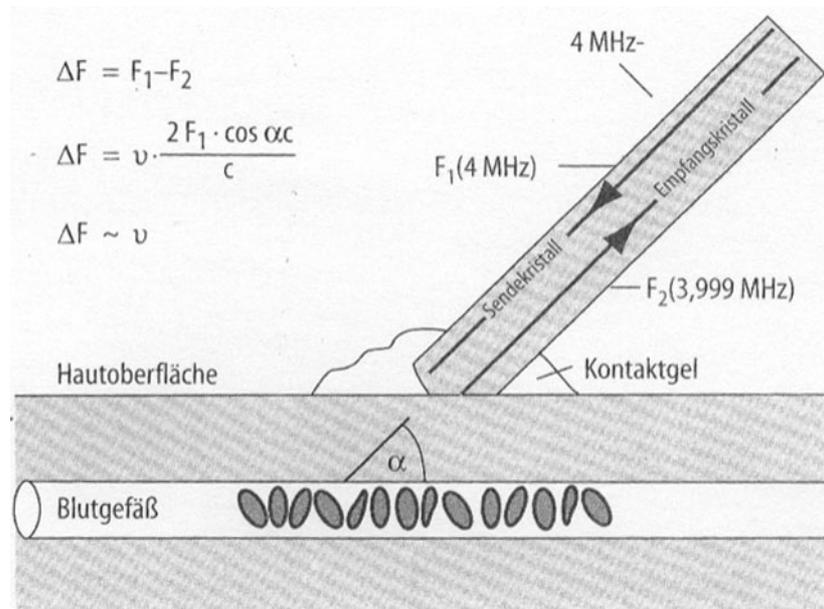


Abb. 21: Prinzip der dopplersonographischen Untersuchungsmethode: Die durch die Bewegung der beschallten Erythrozyten bedingte Frequenzverschiebung ΔF ist proportional der Erythrozytenfließgeschwindigkeit (v). ΔF Frequenzverschiebung; F_1 ausgesandte Frequenz; F_2 empfangene Frequenz; v Erythrozytenfließgeschwindigkeit; α Winkel zwischen Gefäßachse und Schallstrahlachse; c Schallgeschwindigkeit im Gewebe (ca. 1500 m/s) [nach Wacker et al. [140]]

Die Dopplersonographie basiert auf der Doppler-Formel (**Abb. 22**). Diese besagt, dass die Dopplerverschiebung, d. h. die Dopplerfrequenz (f_D), von der Geschwindigkeit der Grenzflächenbewegung (v), der Sendefrequenz (f_0), dem Winkel (α) zwischen Schallstrahl und Strömungsrichtung sowie der Schallausbreitungsgeschwindigkeit (c) im Gewebe abhängig ist.

$$f_D = \frac{v \times f_0 \times 2 \times \cos \alpha}{c}$$

Abb. 22: Doppler-Formel

Die Dopplerfrequenz wird graphisch in einer Kurvenform (Flusskurve) (**Abb. 2**, Seite 13) wiedergegeben und erlaubt Aussagen über Änderungen der Blutströmungsgeschwindigkeit (z. B. Zunahme der Geschwindigkeit im Bereich einer Gefäßstenose) sowie der Blutströmungsrichtung (z. B. turbulente Strömungen, Strömungsumkehr). Zusätzlich können mit Hilfe der Doppler-Formel absolute Geschwindigkeiten aus der gemessenen Dopplerfrequenz berechnet werden. Soll nur die PWLZ bestimmt werden, ist es nicht notwendig, Dopplerfrequenz und Winkel exakt zu erfassen. Relative Daten und die zuverlässige Identifikation des Pulswellenmaximums in der Flusskurve sind ausreichend [86].

Eine Konsequenz von Atherosklerose und Arteriosklerose ist der erhöhte Elastizitätsverlust der betroffenen Gefäße, welcher mit einer Zunahme der Pulswellengeschwindigkeit bzw. einer Abnahme der Pulswellenlaufzeit einhergeht [88]. Im Tiermodell konnten gute Übereinstimmungen zwischen der in vivo gemessenen PWV und der anhand der Moens-Kortweg-Gleichung ermittelten PWV gezeigt werden. Diese Gleichung basiert auf invasiv bestimmten Elastizitätsmodulen [50]. Erhöhte Steifheit, d. h. verminderte Compliance ist durch eine verminderte Volumenänderung eines arteriellen Segments bei einem einwirkenden transmuralen Druck gekennzeichnet. Die Compliance wird daher auch durch den Blutdruck wesentlich beeinflusst [144]. In der Rotterdam Studie [137] wurden an über 3000 älteren Menschen signifikant positive Korrelationen von vaskulärem Elastizitätsverlust, dargestellt durch PWV, und Größe der sonographisch bestimmten Plaquelächen in Aorta und Arteria carotis gezeigt. Aufgrund der Tatsache, dass bei der dopplersonographischen Bestimmung der PWV die transkutane Messung der arteriellen Laufstrecke die größte Fehlerquelle darstellt [86], beschränkte sich unsere Studie auf die Messung der Pulswellenlaufzeit (PWLZ).

Neben den elastischen Eigenschaften der Gefäßwand beeinflusst auch eine Veränderung der Lumengröße die Pulswellengeschwindigkeit (PWV). Durchströmt eine Flüssigkeit eine Engstelle, so muss sich aufgrund des Kontinuitätsgesetzes (**Abb. 23**) („was in ein Rohrsystem hineinfließt, muss pro Zeiteinheit

aus ihm herausfließen“) im stenosierten Segment die Strömungsgeschwindigkeit erhöhen.

$$(1) \quad Q = \Delta P / R \qquad (2) \quad R = (l \cdot \eta \cdot 8) / (r^4 \cdot \pi)$$

Abb. 23: In einem einfachen Rohrsystem hängt die Stromstärke (Q) ab von der Druckdifferenz (ΔP) zwischen Eingang und Ausgang des Rohres und dem Strömungswiderstand (R) (1). Der Strömungswiderstand (R) hängt seinerseits ab vom Radius (r) und der Länge (l) des durchströmten Rohres sowie von der dynamischen Viskosität (η) der verwendeten Flüssigkeit (2).

Im menschlichen Organismus scheint die Entwicklung von atherosklerotischen Plaques in größeren Gefäßen wie der Aorta früher einzusetzen als in den Herzkranzgefäßen [73]. Dies ergibt die Möglichkeit, über nichtinvasive Messungen der Hämodynamik in der Aorta Rückschlüsse auf drohende oder bereits bestehende atherosklerotische Veränderungen in den Koronarien zu ziehen [64]. Hirai et al. [63] konnten diesen Zusammenhang von aortalem Elastizitätsverlust und koronarangiographisch bestimmten Gefäßveränderungen erstmals beim Menschen nachweisen. Ähnliche Zusammenhänge wurden zwischen aortaler Pulswellengeschwindigkeit und unabhängig ermittelten kardiovaskulären Risikoscores gezeigt [87].

Die arterielle, insbesondere die aortale Pulswellengeschwindigkeit ist ein Index für den arteriellen Elastizitätsverlust. Epidemiologische Studien konnten zeigen, dass die PWV einen unabhängigen Marker des kardiovaskulären Risikos darstellt [125]. Laurent et al. [85] bestimmten an 1980 essentiell hypertensiven Patienten die Pulswellengeschwindigkeit zwischen A. carotis und A. femoralis und unterzogen die Patienten einer Nachbeobachtung (112 ± 53 Monate). Während dieser Periode verstarben 107 Patienten, 46 davon kardiovaskulär

bedingt. Unabhängig von den o. g. Risikofaktoren konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen PWV und kardiovaskulärer ($p < 0,0001$) sowie Gesamt-Mortalität ($p < 0,0001$) nachgewiesen werden, womit PWV erstmals als unabhängiger Prediktor identifiziert wurde. Eine Studie von Blacher et al. [17] konnte in einer Gruppe von 710 Patienten mit essentieller Hypertension bestätigen, dass die aortale PWV einen zuverlässigen Prediktor der kardiovaskulären Mortalität darstellt. So betrug die Odds ratio für die Zuordnung in die kardiovaskuläre Hochrisikogruppe ($>5\%$ in 10 Jahren) bei Patienten mit PWV-Werten im oberen Quartil 7,1 (95 %-Konfidenzintervall 4,5-11,3). In einer weiteren longitudinalen Studie von Lehmann et al. [88] wurde in einer Kohorte diabetischer Patienten eine signifikante Korrelation von aortalem Elastizitätsverlust und Gesamt-Mortalität demonstriert.

Beim Menschen kommt es auch als Altersfolge im Rahmen der physiologischen Arteriosklerose zu einer Versteifung der Arterien. Eine positive Korrelation von Alter und PWV wurde von Ohmori et al. [112] gezeigt. Zur Verwendung von PWV als Marker bei atherosklerotischen Erkrankungen sind daher Normwerte für verschiedene Altersgruppen erforderlich. Unabhängig von altersassoziierten Begleiterkrankungen konnten erstmals Haidet et al. [51] diese rein altersbedingte Reduktion der systemischen als auch regionalen vaskulären Compliance im Tierexperiment an Beagles, einer Atherosklerose-resistenten Hunderasse, nachweisen. In den meisten Tiermodellen scheint der Faktor Alter die Pulswellengeschwindigkeit jedoch nicht zu beeinflussen [53]. In unserem Versuchsaufbau wurden Tiere derselben Altersgruppe verwendet, so dass von gleichartigen Effekten durch die Einflussgröße Alter ausgegangen werden kann.

Weiterhin sind PWV bzw. PWV abhängig von Herzfrequenz, vasomotorischem Status und anderen Faktoren. Von besonderem Interesse ist hier die Herzfrequenz, allerdings sind die Zusammenhänge mit der PWV nur unvollständig geklärt. Hartley et al. [53] stellten bei Messung der PWV an Mäusen nur eine geringe Korrelation mit der Herzfrequenz ($r^2 = 0,52$) fest. Andererseits zeigten die Untersuchungen von Lantelme et al. [84] eine signifikante Zunahme der Pulswellengeschwindigkeit bei erhöhter Herzfrequenz (s. a. Kap. 4.6, Seite 80).

Auch unabhängige Risikofaktoren wie männliches Geschlecht, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus und Hypercholesterinämie sind mit arteriellem Elastizitätsverlust und konsekutiv erhöhter PWV assoziiert [87]. Anhand von mehreren Regressionsmodellen konnten Namekata et al. [103] zeigen, dass eine pathologisch erhöhte PWV als Zeichen eines Gefäßelastizitätsverlustes mit dem Vorhandensein vieler dieser Risikofaktoren korreliert. In einer klinischen Studie konnten Krause et al. [81] bei 63 jugendlichen, insulinpflichtigen Diabetikern mit einer mittleren Diabetesdauer von $8,5 \pm 3,8$ Jahren eine signifikant höhere PWV als in einer Kontrollgruppe mit gesunden Probanden nachweisen. Weiterhin zeigten Ni et al. [109] in einem Kollektiv von 3156 essentiell hypertensiven Patienten eine signifikant erhöhte PWV bei Blutdruckamplituden von ≥ 60 mmHg gegenüber < 60 mmHg. Bots et al. [18] konnten lediglich bei Begleiterkrankungen (arterielle Hypertonie, terminale Niereninsuffizienz) die PWV als Indikator für das KHK-Risiko identifizieren. In einer Longitudinalstudie über durchschnittlich 5,7 Jahre an 1045 essentiell hypertensiven Patienten zeigten Boutouyrie et al. [20] erstmalig, dass die PWV signifikant mit dem Framingham Risk Score, mit dem das kardiovaskuläre Risikoprofil berechnet werden kann, bzw. über den Studienverlauf mit der tatsächlichen KHK-Inzidenz korrelierte. Yamashina et al. [149] bestätigten und quantifizierten dies in einer Querschnittsstudie an über 10.000 Patienten. Eine PWV (Arm-Fuß) von $\geq 14,0$ m/s wurde dabei als Grenzwert zur Diskriminierung von Patienten mit manifester KHK identifiziert. Hier stellt sich die Frage, inwieweit PWV zur Frühdiagnose von Makroangiopathien bei klinisch gesunden Patienten geeignet ist.

In einer klinischen Studie von Maldonado [93] an 69 hypertensiven Patienten und 20 Patienten einer Kontrollgruppe konnte nach einem Zeitraum von 12 Wochen durch die Bestimmung des Parameters PWV der therapeutische Effekt von antihypertensiver Medikation auf die elastischen Eigenschaften der Gefäßwand belegt werden. Ohne Medikation zeigten die hypertensiven Patienten eine signifikant erhöhte PWV. Ebenfalls korrelierte in experimentellen Studien [88] eine erhöhte PWV mit dem Atherosklerosegrad, der analog zu unseren Untersuchungen postmortal durch Gefäßschnitte bestimmt wurde,

sowie mit der Ausprägung der Hypercholesterinämie. Wang et al. [142] konnten im Tierexperiment an 13 Monate alten Apolipoprotein E-defizienten (apoE-KO) Mäusen mit vergleichbarem Blutdruck eine signifikante Zunahme der aortalen Pulswellengeschwindigkeit bei gleichzeitiger extensiver Plaquebildung gegenüber der Kontrollgruppe nachweisen. Farrar et al. [44] zeigten in einer tierexperimentellen Studie, dass bereits frühe atherosklerotische Läsionen mit einer erhöhten PWV einhergehen. An 20 Makaken mit atherogener Diät wurde nach 6 (n=4), 12 (n=8) und 18 (n=8) Monaten in verschiedenen arteriellen Segmenten die PWV bestimmt und mit der Gefäßmorphologie verglichen. Gegenüber einer morphologisch unauffälligen Kontrollgruppe (n=5) zeigte sich erstmals nach 18 Monaten eine signifikante Erhöhung von PWV in den Segmenten der Aorta thoracalis und der Aorta abdominalis, aber nicht in distalen Gefäßabschnitten. In einem weiteren experimentellen Versuchsaufbau am Kaninchenmodell wurde gezeigt, dass bereits eine Hypercholesterinämie ohne anatomische Läsionen mit einer gesteigerten arteriellen PWV einhergehen kann [94].

4.5.1 Fibrinogen als Risikofaktor

In den letzten Jahren hat die Bedeutung hämostatischer Faktoren, vor allem Fibrinogen, in der Atheroskleroseforschung zugenommen. Fibrinogen spielt eine wesentliche Rolle in der Gerinnungskaskade und beeinflusst Thrombozytenaggregation, Endothelfunktion und die glatten Muskelzellen der Gefäßwand. Zusätzlich ist Fibrinogen die bedeutendste Determinante der Plasmaviskosität und verantwortlich für das Phänomen der reversiblen Erythrozytenaggregation (Rouleaux-Phänomen) [78]. Über welchen Mechanismus der Fibrinogenspiegel erhöht wird, ist noch unklar. In vitro kann die Fibrinogensynthese über Interleukin-6 stimuliert werden, das ebenfalls unter dem Einfluss bestimmter Stimuli von Endothelzellen, VSMCs, Makrophagen und Fibroblasten sezerniert wird [16].

Prospektive Untersuchungen (Framingham-Studie [75], Northwick Park Heart-Studie [98], Göteborg-Studie [146]) belegen, dass ein Plasma-Fibrinogen-

spiegel von über 300 bis 350 mg/dl einen bedeutsamen, unabhängigen Risikofaktor für die Inzidenz atherogenetisch bedingter Krankheiten darstellt, der an Bedeutung dem Serumcholesterin vergleichbar ist. Zusätzlich scheinen sich die Wirkungen von Fibrinogen und Hypercholesterinämie zu potenzieren, so dass eine Erhöhung beider Parameter mit einer höheren KHK-Inzidenz als bei den Einzelfaktoren verbunden ist [60].

Bereits seit langem ist bekannt, dass kardiovaskuläre Ereignisse mit erhöhten Fibrinogenwerten einhergehen und der Fibrinogenspiegel mit der Ausdehnung und dem Stenosegrad der KHK sowie der Schwere der klinischen Symptomatik korreliert. Nach einem Myokardinfarkt bleibt Fibrinogen noch auf Jahre hinaus erhöht [78]. In einer klinischen prospektiven Studie wurden 1716 Männer nach einem Myokardinfarkt 2 Jahre lang nachbeobachtet. Während dieser Zeit kam es bei 126 Patienten zu einem zweiten ischämischen Ereignis, Fibrinogen war bei diesen Patienten signifikant erhöht. Das relative Risiko für einen kardiovaskulär bedingten Tod zeigte eine annähernde lineare Beziehung zum Fibrinogenspiegel [79]. In der DART-Studie (Diet and Reinfarction Trial, [28]) wurden bei 1755 Männern 6 Monate nach einem Herzinfarkt die Fibrinogenwerte ermittelt. Ein erhöhter Fibrinogenspiegel zeigte sich von prädiktiver Bedeutung für einen weiteren Myokardinfarkt.

4.5.2 Blutdruck als Risikofaktor

Blutdruck gilt als unabhängiger Prediktor der aortalen Elastizität sowie der kardiovaskulären Mortalität und ist mit den anderen Risikofaktoren der Atherosklerose assoziiert [46].

Bei hohem Blutdruck wird die arterielle Wand gedehnt, wobei die Dehnkräfte hauptsächlich auf die weniger dehnbaren Kollagenfasern und in geringerem Ausmaß auf die Elastinfasern übertragen werden. Dies führt zu erhöhter Gefäßwandrigidität. Weiterhin verstärkt Hypertonus physiologische Effekte des Kreislaufstresses auf die Gefäßwand. Erhöhter Tonus der VSMCs, heterogene Strukturveränderungen (Intima-Media-Dicke) sowie verminderter Fluss in den vasa vasorum werden als Pathomechanismen genannt [24]. Veränderungen

des Blutdrucks stellen daher deutliche Limitationen bei einer Messung der Gefäßwandelastizität mittels PWV dar [84]. Andererseits führen Athero- und Arteriosklerose über den resultierenden arteriellen Elastizitätsverlust primär zu einer Vergrößerung der Amplitude mit Anstieg der systolischen und Abfall der diastolischen Blutdruckwerte. Zentrale, d. h. aortale Blutdruckwerte werden durch ihre stärker verminderte Wellenreflektion in größerem Ausmaß beeinflusst als periphere Arterien. Der mittlere arterielle Blutdruck, der durch kardialen Output und peripheren Gefäßwiderstand maßgeblich bestimmt wird, verändert sich nach Elastizitätsverlusten größerer Gefäße nur geringfügig [110]. Aufgrund der reduzierten Aussagekraft peripher ermittelter, mittlerer arterieller Blutdruckwerte wird daher zur kardiovaskulären Risikobeurteilung die Messung an zentralen Gefäßen gefordert [147]. Gegenwärtig existieren jedoch keine genauen oder ausreichend validierten, nicht invasiven Messmethoden zur aortalen Blutdruckmessung. Eine signifikante Korrelation von mittlerem bzw. systolischem Blutdruck und PWV wurde nachgewiesen [24]. Breithaupt-Grögler et al. [25] zeigten einen signifikanten Zusammenhang von systolischem Blutdruck ($r = 0,48$ bis $0,54$, $p < 0,05$) und PWV in gesunden Versuchspersonen ohne Nikotinabusus. Bei Probanden mit mehrjähriger Knoblauchsubstitution stieg mit zunehmendem Blutdruck die PWV in relativ geringerem Umfang an.

4.6 Diskussion der eigenen Ergebnisse

Die Cholesterin+Knoblauch-Diät führte zu Veränderungen der klinisch-chemischen Parameter, die in den meisten Fällen eindeutig dem Cholesterinzusatz zuzuordnen waren.

Eine lipidsenkende Wirkung von Knoblauch in neueren klinischen Studien wird bezweifelt, wohingegen in den meisten Studien am Kaninchenmodell eine signifikante Verringerung einer alimentär bedingten Hypercholesterinämie durch Knoblauchprodukte nachgewiesen wurde. Eine Zusammenfassung der hierzu veröffentlichten Daten stellt **Tab. 13** (Seite 63) dar. Bei Verwendung von 2%igem Knoblauchpulver wiesen Ismail et al. [70] signifikante Abnahmen der Plasmacholesterinkonzentrationen nach, Prasad et al. [117] berichteten über einen hypocholesterinämischen, nicht signifikanten Effekt bei Gabe von 600 mg Knoblauchpulver/Tag. Ergänzend konnten Ali et al. [6] und Heinle et al. [58] in Studien an Ratten sowie Abramovitz et al. [1] an Mäusen signifikant verringerte Plasmacholesterinspiegel durch Knoblauchsubstitution feststellen. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen unserer Studie, in der keine hypocholesterinämischen Effekte von Knoblauchpulver feststellbar waren. In Woche 15 wiesen die knoblauchgefütterten Tiere sogar signifikant höhere Konzentrationen von Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin gegenüber Gruppe 2 auf.

In unserem Versuchsaufbau wurde bei den cholesteringefütterten Tieren ab Woche 5 ein gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erniedrigter Hämatokrit nachgewiesen. Es ist bekannt, dass eine alimentär bedingte Hypercholesterinämie im Kaninchen mit verringerten Hämatokritwerten einhergeht [54]. Ein Grund hierfür wird in einer verminderten osmotischen Resistenz der Erythrozyten gesehen, die durch oxidativen Stress (z. B. oxLDL) und eine behinderte Thiol- und Glutathion-Reduktion verursacht wird [57]. Durch Knoblauchzusatz wurde in unserer Studie die Hämatokritsenkung nicht verhindert. Dennoch wäre an dieser Stelle ein protektiver Effekt durch Knoblauch, der ein antioxidatives Potential besitzt, denkbar gewesen [38;68;101;116].

Die Fibrinogenkonzentration nahm bei den cholesteringefütterten Tieren über den Versuchsverlauf ab und war gegenüber der Kontrollgruppe ab Woche 10 signifikant erniedrigt. Effekte durch die Knoblauchsupplementation waren nicht feststellbar. Ichino et al. [67] zeigten, dass es im Tierexperiment an hypercholesterinämischen Kaninchen früh zu einem Anstieg des Fibrinogens mit Zunahme der Blutgerinnung (Plasminogen, t-PA) und später erhöhter Fibrinolyseaktivität (PAI-1, AT-III) kommt. Eine durch die Hypercholesterinämie verursachte Senkung der fibrinolytischen Aktivität unter Hypercholesterinämie im Kaninchenmodell konnte durch Knoblauchsubstitution kurz- und langfristig wieder erhöht werden [113].

Die Bedeutung von Fibrinogen beschränkt sich jedoch nicht auf seine Funktion als Gerinnungskomponente. Da Atherosklerose und hyperlipidämische Zustände mit Merkmalen einer systemischen, entzündlichen Reaktion einhergehen, wird zunehmend die Rolle von Fibrinogen als Akute-Phase-Protein und Entzündungsmarker betrachtet [92]. Da Knoblauchbestandteile über eine nicht-kompetitive und irreversible Hemmung der Cyclooxygenase antiinflammatorisches Potential aufweisen, wäre über diesen Mechanismus auch eine Modulierung der Fibrinogenkonzentration denkbar [5].

Im Kaninchenmodell besteht eine Beziehung zwischen alimentärer Cholesterinaufnahme und dem Ausprägungsgrad der Hypercholesterinämie [148]. Wie von Fan et al. [42] beschrieben, kommt es im Kaninchen bei Hypercholesterinämie zu atherosklerotischen Intimaveränderungen im gesamten Gefäßbaum. Untersuchungen von Hsu et al. [66] zeigten, dass die dabei entstandenen Plaques morphologisch „fatty streaks“ ohne Kalzifikationen ähnelten. Auch in früheren Studien am Kaninchenmodell kam es zu einer deutlichen Atheroskleroseentwicklung mit maximalen Plaueflächen im Aortenbogen. Verantwortlich gemacht wurden hierfür turbulente Strömungen mit konsekutiv erhöhter Lipoproteinaufnahme (Beta-VLDL) und Endothelläsionen [120]. Diese Beobachtungen stimmen mit den Daten unserer Studie überein. Bei den cholesteringefütterten Tieren kam es im gesamten Gefäßbaum zu einer signifikanten, insbesondere proximal lokalisierten Plaueentwicklung.

In der eigenen Studie wiesen die Tiere der cholesteringefütterten Gruppen tendenziell größere Gefäßquerschnitte auf. Jedoch waren die Lumenflächen des Aortenbogens in den cholesteringefütterten Tieren gegenüber der Kontrollgruppe signifikant verkleinert, was auf eine unzureichende Kompensation hindeutet. Das „vascular remodeling“ stellt eine adaptive Dilatation der betroffenen Gefäßabschnitte dar. Durch diesen bei langsam fortschreitenden Läsionen feststellbaren Mechanismus kann meist ein stabiler Lumendurchmesser aufrecht erhalten werden [76]. Glagov et al. [48] konnten zeigen, dass eine kompensatorische Gefäßdilatation und „vascular remodeling“ der Arterienwand nur bis zu einer Plaquebedeckung von ca. 40 % der intimalen Fläche stattfindet und es danach zu einer Lumenverkleinerung kommt. Bei Stenosegraden von 43 % (Gruppe 2) bzw. 46 % (Gruppe 3) im Aortenbogen wurde dieser Wert in unserer Studie überschritten.

In der Literatur existieren widersprüchliche Aussagen bezüglich der Beeinflussbarkeit hypercholesterinämisch induzierter Plaques durch Knoblauchsubstitution. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen konnte in mehreren Studien am Kaninchenmodell eine verringerte Neointimabildung durch Knoblauchpräparate festgestellt werden. Insbesondere bei der Applikation von aged garlic extract (AGE) waren signifikante Effekte feststellbar (**Tab. 13**, Seite 63). Bei Verwendung von Knoblauchpulver zeigten Ismail et al. [70] sowie Prasad et al. [117] jedoch nur eine tendenzielle Hemmung der Neointimabildung ohne signifikante Unterschiede zur hypercholesterinämischen Kontrollgruppe. In unserem Versuchsaufbau konnte keine Verringerung der Plaquebildung durch Knoblauchsupplementation gezeigt werden. Tendenziell wiesen die Tiere der Knoblauchgruppe gegenüber den cholesteringefütterten Tieren der Gruppe 2 vor allem in den distalen Gefäßbaumabschnitten sogar größere Plaques auf. Statistisch signifikante Ergebnisse sind hierbei aufgrund der schwierigen histologischen Auswertung kleiner Gefäßquerschnitte mit Vorsicht zu interpretieren.

In bisherigen tierexperimentellen Studien wurde bei hypercholesterinämischen Kaninchen eine erhöhte PWV entsprechend einer erniedrigten Gefäßwandelastizität und eines erhöhten Elastizitätsmoduls beschrieben [44;64;94;142].

Farrar et al. [44] zeigten in einer tierexperimentellen Studie, dass bereits frühe atherosklerotische Läsionen mit einer erhöhten PWV einhergehen. An 20 Makaken mit atherogener Diät wurde nach 6 (n=4), 12 (n=8) und 18 (n=8) Monaten in verschiedenen arteriellen Segmenten die PWV bestimmt und mit der Gefäßmorphologie verglichen. Gegenüber einer morphologisch unauffälligen Kontrollgruppe (n=5) zeigte sich erstmals nach 18 Monaten eine signifikante Erhöhung von PWV in den Segmenten der Aorta thoracalis und der Aorta abdominalis, nicht jedoch in den distaleren Gefäßabschnitten. In einem weiteren experimentellen Versuchsaufbau am Kaninchenmodell wurde schließlich gezeigt, dass bereits eine Hypercholesterinämie ohne anatomische Läsionen mit einer gesteigerten arteriellen PWV einhergehen kann [94]. Dies unterscheidet sich deutlich von den Ergebnissen unserer Studie, die im Bereich der Arteria femoralis communis in den cholesteringefütterten Gruppen 2 und 3 ab Woche 10 signifikant verlängerte Pulswellenlaufzeiten (entsprechend einer verringerten Pulswellengeschwindigkeit) gegenüber den Ausgangswerten in Woche 0 zeigten. Nach Skalierung auf eine einheitliche Herzfrequenz konnten bei den knoblauchgefütterten Tieren (Gruppe 3) im Gefäßabschnitt Arteria femoralis communis in den Wochen 10 und 15 signifikant erhöhte Pulswellenlaufzeiten gegenüber der Kontrollgruppe nachgewiesen werden ($p = 0,03$ und $p = 0,05$). Die genannten Ergebnisse verweisen auf eine mögliche Steigerung der Gefäßwandelastizität durch alimentäre Knoblauchsupplementation.

Obwohl anatomische Landmarken gewählt wurden, und obwohl die Tiere alle vergleichbare Körpergewichte bei abgeschlossenem Längenwachstum aufwiesen, stellen unterschiedliche Messpunkte an Aorta abdominalis und Arteria femoralis communis sowie die schwierige morphometrische Auswertung der kleinen peripheren Gefäße mögliche Fehlerquellen in unserem Versuchsaufbau dar. Da auch die Wahl des Anästhetikums entscheidend die Hämodynamik beeinflusst, sind selbst bei gleicher Dosierung Messfehler durch unterschiedliche Metabolisierung der Kaninchen möglich. Eine strikt einheitliche Dosierung eines jeweils gleichen Anästhetikums ist unbedingt erforderlich [53]. Möglicherweise stellte die gewählte Konzentration von 0,5 % Cholesterin im Futter einen zu starken Reiz dar, sodass in unserem Tiermodell Verbesse-

rungen der Untersuchungsparameter durch den Zusatz von Knoblauch zu gering ausgeprägt waren. Die verwendete Dosis stimmt jedoch mit den in der Literatur verwendeten Dosierungen im Kaninchenmodell überein. Eine weitere mögliche Fehlerquelle sind die geringe Zahl der Versuchstiere sowie differierende Gruppengrößen zwischen Kontrollgruppe (n=4) und den cholesteringefütterten Tieren (jeweils n=10).

Heinle [56] beschreibt, dass in Tiermodellen, wie z. B. cholesterinreich ernährten Kaninchen, transient im Verlauf der Hypercholesterinämie eine Zunahme der Gefäßdehnbarkeit beobachtet werden konnte. Es wird vermutet, dass dies zeitlich mit der Phase der Migration glatter Muskelzellen (VSMC) und erhöhter proteolytischer Aktivität in der Intima korreliert. Rekhter et al. [119] zeigten, dass eine Hypercholesterinämie im Kaninchen mit Kollagenabbau und dem Verlust von VSMCs innerhalb der Plaques einer Plaqueruptur vorausgeht. Gleichzeitig war eine verstärkte Aktivität von makrophagenabhängigen Matrix-Metalloproteasen innerhalb der Plaque feststellbar. Diese verstärkte Enzymaktivität und ein lokaler Kollagenabbau insbesondere während der Induktionsphase der Plaqueentwicklung wäre als Mechanismus für eine weitere Auflockerung der extrazellulären Matrix denkbar und als mögliche Erklärung für eine erhöhte Gefäßwandelastizität, wie sie in unserem Versuchsaufbau gezeigt wurde, heranzuziehen [41]. Farrar et al. [43] konnten an Cynomolgus-Affen (n=79) feststellen, dass es bei cholesterinreicher Ernährung nach einem Zeitraum von 6 Monaten zu einem leichten Abfall der PWV kam, dem eine lineare Zunahme der PWV bis zu einem Maximum nach ca. 30 Monaten folgte. Da die Veränderungen der PWLZ in Gruppe 3 am ausgeprägtesten waren, könnten spezifische Mechanismen der Knoblauchsupplementation diskutiert werden. So zeigten Mirhadi et al. [99], dass es unter Knoblauchgabe zu einer verminderten Kollagenakkumulation in der Gefäßwand kommt. Als mögliche Mechanismen wurden eine verringerte Kollagenbiosynthese sowie eine vermehrte Lipidmobilisation diskutiert.

In einer 1997 von Breithaupt-Grögler et al. [25] veröffentlichten Querschnittsstudie wurde die Wirkung einer Langzeitknoblaucheinnahme auf die elastischen

Eigenschaften der Aorta von gesunden, älteren Nichtrauchern untersucht. Hierbei wurden 52 Frauen und 49 Männer (Durchschnittsalter 63 Jahre), die täglich mindestens 300 mg Knoblauchpulver (Durchschnittswert 460 mg/d) für mindestens 2 Jahre (mittlere Zeitdauer 5,6 Jahre) konsumiert hatten, mit einer alters- und geschlechtsgepaarten Kontrollgruppe verglichen. Beide Gruppen zeigten die bekannte Blutdruck- und altersassoziierte Abhängigkeit der aortalen Elastizität (siehe Kap. 4.5). Nach Multivarianzanalyse waren diese Effekte in der Knoblauchgruppe vermindert ausgeprägt, d. h. die Knoblauchgruppe wies eine signifikant erniedrigte PWV gegenüber der Kontrollgruppe auf. Dies korrespondiert mit einer erhöhten Gefäßwandelastizität in der Aorta. Bei den Serumlipiden und der Blutdruckmessung ergaben sich keine Unterschiede. Als Kritikpunkt kann angeführt werden, dass die Studie weder prospektiv noch randomisiert oder doppelblind durchgeführt wurde. Zudem wurden Effekte durch weitere Nahrungsadditiva nicht ausgeschlossen, eine genaue Prüfung der Compliance fand nicht statt. Die klinische Messung der PWV ist eine indirekte Methode. Die Transmission der Flusskurve kann durch eine Vielzahl struktureller und funktioneller Parameter beeinflusst werden, was eine zusätzliche Fehlerquelle darstellt. Dennoch ist dies die erste klinische Studie zur Veränderung der altersbedingten Gefäßelastizität unter Knoblauchgabe. Eine Untersuchung des gefäßwandelastizitätsverstärkenden Potentials von Knoblauch durch PWV bei bereits klinisch atherosklerotisch erkrankten Patienten wurde bislang noch nicht durchgeführt.

In unserer Studie wurde über die gesamte Versuchsdauer an beiden Messpunkten eine signifikante Korrelation von Herzfrequenz und Pulswellenlaufzeit festgestellt (Aorta abdominalis: $r = -0,46$; Arteria femoralis communis: $r = -0,48$). Diese negative Korrelation zwischen Herzfrequenz und Pulswellenlaufzeit deutet auf eine höhere Pulswellengeschwindigkeit bei höherer Herzfrequenz hin. Lantelme et al. [84] untersuchten die Auswirkungen der Herzfrequenz an 22 Patienten mit permanentem Herzschrittmacher (durchschnittliches Alter $77,8 \pm 8,4$ Jahre) bei 5 verschiedenen Herzfrequenzen (60, 70, 80, 90, 100 BPM) ohne signifikante Veränderungen des Blutdrucks. Es zeigte sich analog zu unseren Untersuchungen eine Zunahme der Pulswellengeschwindigkeit bei

erhöhter Herzfrequenz [60↔90 BPM ($p = 0,04$), 70↔90 BPM ($p = 0,03$), 60↔100 BPM ($p = 0,006$), 70↔100 BPM ($p = 0,004$)]. Eine Steigerung der Herzfrequenz um 40 BPM führte zu einer durchschnittlichen Erhöhung der PWV um ca. 1,36 m/s. Die Herzfrequenz wurde von den Autoren als ein wichtiger Faktor der intraindividuellen Variation von PWV bei älteren Menschen identifiziert. Die auf eine einheitliche Herzfrequenz normierte Messung der PWV, wie sie in unserem Versuchsaufbau durchgeführt wurde, erscheint daher als unerlässlich zur Vergleichbarkeit ermittelter PWV-Werte.

Die Herzfrequenz scheint einen eigenständigen kardiovaskulären Risikofaktor darzustellen, der Schweregrad und Progression atherosklerotischer Läsionen mitbestimmt [118]. Einerseits ist unter einer Tachykardie die für die Gefäßrückstellung zur Verfügung stehende Zeit verkürzt. Eine neue Pulswelle trifft auf die von der vorherigen Pulswelle bereits vorgedehnte und entsprechend weniger elastische Gefäßwand, was in einer erhöhten Pulswellengeschwindigkeit resultiert. Andererseits ist ebenfalls eine langfristige Modulation der Gefäßwandeigenschaften bei dauerhaft erhöhter Herzfrequenz denkbar.

Untersuchungen an Tiermodellen unterstützen das Konzept eines direkten anti-atherosklerotischen Effekts bei erniedrigter Herzfrequenz [118]. In unserem Tiermodell wiesen die Tiere der Knoblauchgruppe (Gruppe 3) eine verringerte Beeinflussbarkeit der Pulswellenlaufzeit durch die Herzfrequenz („Herzfrequenzneutralität“) gegenüber der cholesteringefütterten Gruppe 2, in Woche 5 auch gegenüber der Kontrollgruppe auf. Anders ausgedrückt führte die Erhöhung der Herzfrequenz bei den Tieren der Knoblauchgruppe zu einer gegenüber Gruppe 2 relativ verminderten Pulswellengeschwindigkeit. Durch Knoblauchsupplementation könnte somit eine Modulierung des Einfluss- und Risikofaktors Herzfrequenz stattfinden. Da die Pulswellenlaufzeit multifaktoriell beeinflusst wird, sind Aussagen zu einem möglichen Mechanismus jedoch nur begrenzt möglich. Zum Teil sind auch gegenläufige Effekte im Tiermodell zu erwarten.

Das oben genannte Rückstellvermögen der Gefäßwand nach vorausgegangener Dehnung wird durch die Viskoelastizität der Gefäßwand determiniert. Eine erhöhte Viskoelastizität führt zur beschleunigten Wiederherstellung des nicht vorgedehnten Ausgangszustands der Gefäßwand. Die daraus resultierende maximale Gefäßwandelastizität geht mit einer reduzierten PWV einher. Emmerich [41] stellte in diesem Zusammenhang in einem begleitenden in vitro-Versuchsaufbau (identische Versuchstiere) an Gefäßabschnitten der Aorta thoracalis in Gruppe 3 eine signifikant erhöhte Viskoelastizität gegenüber der cholesteringefütterten Gruppe 2 fest. Ein möglicher Erklärungsansatz für die oben genannten Beobachtungen zur Herzfrequenz wäre daher eine erhöhte Viskoelastizität der Gefäßwand.

Unsere Untersuchungen sowie Messungen zur Gefäßwandmechanik in vitro in einem begleitenden Versuchsaufbau (s. o.) lassen vermuten, dass die durch Knoblauchgabe abgeschwächten Effekte der Hypercholesterinämie auf die arterielle Pulswellenlaufzeit in einer erhöhten Elastizität bzw. Viskoelastizität der Gefäßwand begründet sind. Die Knoblauchgabe könnte somit den Cholesterineffekt vermindern und in geringem Ausmaß aktiv zur Verbesserung der elastischen und viskoelastischen Gefäßwandeigenschaften beitragen. Als möglicher Mechanismus wurde in unserem Versuchsaufbau eine Modulierung des Einflussfaktors Herzfrequenz durch Knoblauch identifiziert. Die Fragestellung, ob ein alimentärer Knoblauchzusatz mit einer gesteigerten Gefäßwandelastizität einhergeht, kann jedoch nicht abschließend beantwortet werden und erfordert weiterführende experimentelle Untersuchungen.

5 Zusammenfassung

In den westlichen Industrienationen stellt die Atherosklerose mit ihren Folgeerkrankungen die häufigste Ursache von Tod und Invalidität dar. Sowohl die Atherosklerose als auch die altersbedingte Arteriosklerose gehen mit einer verringerten Gefäßwandelastizität einher. Die Gefäßwandelastizität kann über die dopplersonographisch bestimmte Pulswellenlaufzeit bzw. Pulswellengeschwindigkeit quantifiziert werden.

Knoblauch und Knoblauchpräparaten werden verschiedene präventive und therapeutische Wirkungen insbesondere für atherosklerotische Erkrankungen zugeschrieben. In der durchgeführten Studie sollte die Fragestellung bearbeitet werden, ob es am hypercholesterinämischen Weißen Neuseelandkaninchen durch alimentäre Knoblauchsubstitution zu einer Änderung der Gefäßwandelastizität kommt. Als Marker der Gefäßwandelastizität wurde die dopplersonographisch bestimmte arterielle Pulswellenlaufzeit (PWLZ) verwendet.

Als Versuchstiere wurden 24 männliche Weiße Neuseelandkaninchen (NZW) verwendet. Über einen Zeitraum von 15 Wochen wurde Tieren der Kontrollgruppe (Gruppe 1; n=4) ein cholesterinfreies Kaninchenstandardfutter verabreicht. Die Tiere der Gruppe 2 (n=10) wurden über die gesamte Versuchsdauer mit dem Standardfutter, das zusätzlich 0,5 % Cholesterin enthielt, ernährt. Tiere der Gruppe 3 (n=10) erhielten ein Futter, das mit 0,5 % Cholesterin und zusätzlich 2 % Knoblauchpulver angereichert war. Wöchentlich wurden Körpergewicht und Futteraufnahme dokumentiert. Zu Versuchsbeginn sowie in den Wochen 5, 10 und 15 wurde die arterielle Pulswellenlaufzeit an 2 Messpunkten (Aorta abdominalis, Arteria femoralis communis) mittels continuous-wave-Dopplersonographie und simultan aufgezeichnetem EKG bestimmt. Zusätzlich wurden Blutentnahmen zur Messung verschiedener klinisch-chemischer Parameter wie Gesamtcholesterin, Lipoproteinfraktionen, Fibrinogen oder Blutbild, sowie die Bestimmung von Blutdruck und Herzfrequenz durchgeführt. Zum Versuchsende wurden der arterielle Gefäßbaum und die Organe der Tiere entnommen und in 4%iger Formalinlösung fixiert.

Nach Paraffineinbettung wurden Semidünnschnitte angefertigt. An EvG-gefärbten Präparaten erfolgten morphometrische Messungen des arteriellen Gefäßbaums zur Bestimmung von Plaquefläche, Lumenfläche, Gefäßquerschnittsfläche und Stenosegrad der Gefäße.

Erwartungsgemäß kam es bei den Tieren der Gruppen 2 und 3 zu einer gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöhten Cholesterinkonzentration von bis zu 1668 ± 538 mg/dl (Gruppe 3, Woche 10), wobei die Knoblauchgefütterten Tiere die größten Werte aufwiesen. Bei Versuchsende waren die Gesamtcholesterin- und die LDL-Cholesterinkonzentrationen in der mit Knoblauchgefütterten Gruppe signifikant gegenüber Gruppe 2 erhöht.

Bei den cholesteringefütterten Tieren zeigten sich ab Woche 5 bzw. 10 gegenüber der Kontrollgruppe signifikant niedrigere Werte beim Blutbild (Abnahme Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration um jeweils ca. 30 %) bzw. der Fibrinogenkonzentration (bis minimal 163 mg/dl). Ein Einfluss der Knoblauchbehandlung auf die genannten Parameter wurde nicht identifiziert.

Nach Cholesterinfütterung kam es im gesamten Gefäßbaum zu einer ausgedehnten Plaqueentwicklung, wobei die Plaques im Bereich des Aortenbogens am größten waren (Gruppe 2: $5,4 \pm 2,2$ mm², Gruppe 3: $5,6 \pm 1,9$ mm²) und nach distal kleiner wurden. Vor allem in den distalen Abschnitten des Gefäßbaums wiesen die Tiere der Gruppe 3 tendenziell größere Plaques auf. Die Restlumina im Aortenbogen waren in den cholesteringefütterten Gruppen um 30 % geringer als in Gruppe 1 ($p = 0,0018$), eine Zunahme der Gefäßquerschnittsflächen konnte dies nicht kompensieren. Die beobachteten Auswirkungen der Diät waren meist eindeutig dem Cholesterinzusatz zuzuordnen, deutliche Effekte der Knoblauchsupplementation waren nicht nachweisbar.

Im Versuchsverlauf kam es in den 3 Tiergruppen zu einer jeweils tendenziellen systolischen Blutdruckerhöhung und Herzfrequenzabnahme. Die Pulswellenlaufzeit zeigte eine tendenzielle Verlängerung über die Zeit, die im Gefäßabschnitt Arteria femoralis communis bei den cholesteringefütterten Tieren ab

Woche 10, in der Kontrollgruppe ab Woche 15 Signifikanzniveau erreichte. Nach Skalierung der PWLZ auf eine einheitliche Herzfrequenz konnte ab Woche 10 in Gruppe 3 eine signifikant erhöhte Pulswellenlaufzeit gegenüber der Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Die Dokumentation einer verlängerten Pulswellenlaufzeit, d. h. einer erhöhten Gefäßwandelastizität im hypercholesterinämischen Kaninchen, differiert von den Ergebnissen der meisten Studien. Diese zeigten unter hypercholesterinämisch bedingter Atherosklerose eine verringerte Pulswellenlaufzeit entsprechend einer verminderten Gefäßwandelastizität.

In beiden Gefäßabschnitten zeigte sich bei allen Versuchsgruppen eine in der Literatur vorbeschriebene, signifikante inverse Relation von Herzfrequenz und Pulswellenlaufzeit. Insbesondere in der Knoblauchgruppe ergab sich bei gleicher Herzfrequenz eine relativ verminderte Pulswellengeschwindigkeit („Herzfrequenzneutralität“) gegenüber Gruppe 2 und teilweise auch gegenüber der Kontrollgruppe. Durch Knoblauchsupplementation könnte somit eine Modulierung des Einfluss- und Risikofaktors Herzfrequenz stattfinden. Eine Erhöhung der Viskoelastizität der Gefäßwand durch Knoblauchsupplementation, die in einem begleitenden Versuchsaufbau *in vitro* nachgewiesen wurde, ist an dieser Stelle als Mechanismus denkbar.

Unsere Untersuchungen sowie Messungen zur Gefäßwandmechanik *in vitro* in dem genannten begleitenden Versuchsaufbau lassen vermuten, dass die durch Knoblauchgabe abgeschwächten Effekte der Hypercholesterinämie auf die arterielle Pulswellenlaufzeit in einer erhöhten Elastizität bzw. Viskoelastizität der Gefäßwand begründet sind. Knoblauchgabe könnte somit den Cholesterineffekt aufheben bzw. in geringem Ausmaß aktiv zur Verbesserung der elastischen Gefäßwandeigenschaften beitragen. Als möglicher Mechanismus wurde in unserem Versuchsaufbau eine Modulierung des Einflussfaktors Herzfrequenz durch Knoblauch identifiziert. Die anfangs gestellte Frage, ob ein alimentärer Knoblauchzusatz mit einer gesteigerten Gefäßwandelastizität einhergeht, kann jedoch nicht abschließend beantwortet werden und erfordert weiterführende experimentelle Untersuchungen.

6 Literaturverzeichnis

- [1] Abramovitz D, Gavri S, Harats D, Levkovitz H, Mirelman D, Miron T, Eilat-Adar S, Rabinkov A, Wilchek M, Eldar M, Vered Z. Allicin-induced decrease in formation of fatty streaks (atherosclerosis) in mice fed a cholesterol-rich diet. *Coron Artery Dis* 1999; 10(7): 515-519.
- [2] Agarwal KC. Therapeutic actions of garlic constituents. *Med Res Rev* 1996; 16(1): 111-124.
- [3] Aikawa M, Sugiyama S, Hill CC, Voglic SJ, Rabkin E, Fukumoto Y, Schoen FJ, Witztum JL, Libby P. Lipid lowering reduces oxidative stress and endothelial cell activation in rabbit atheroma. *Circulation* 2002; 106: 1390-1396.
- [4] Alexander K. *Gefäßkrankheiten*. München, Wien, Baltimore: Urban und Schwarzenberg, 1993.
- [5] Ali M. Mechanism by which garlic (*Allium sativum*) inhibits cyclooxygenase activity. Effect of raw versus boiled garlic extract on the synthesis of prostanoids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1995; 53(6): 397-400.
- [6] Ali M, Al-Qattan KK, Al-Enezi F, Khanafer RM, Mustafa T. Effect of allicin from garlic powder on serum lipids and blood pressure in rats fed with a high-cholesterol diet. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2000; 62(4): 253-259.
- [7] Aliev G, Burnstock G. Watanabe rabbits with heritable hypercholesterolaemia: a model of atherosclerosis. *Histol Histopathol* 1998; 13(3): 797-817.
- [8] Alves CS, Mourao PA. Interaction of high molecular weight chondroitin sulfate from human aorta with plasma low density lipoproteins. *Atherosclerosis* 1988; 73: 113-124.
- [9] Ashraf MZ, Hussain ME, Fahim M. Endothelium mediated vasorelaxant response of garlic in isolated rat aorta: role of nitric oxide. *J Ethnopharmacol* 2004; 90(1): 5-9.
- [10] Asmar R, Rudnichi A, Blacher J, London GM, Safar ME. Pulse pressure and aortic pulse wave are markers of cardiovascular risk in hypertensive populations. *Am J Hypertens* 2001; 14(2): 91-97.
- [11] Auer W, Eiber A, Hertkorn E, Hoehfeld E, Koehrlé U, Lorenz A, Mader F, Merx W, Otto G, Schmid-Otto B, et al. Hypertension and hyperlipidaemia: garlic helps in mild cases. *Br J Clin Pract Suppl* 1990; 69: 3-6.
- [12] Augusti KT, Narayanan A, Pillai LS, Ebrahim RS, Sivadasan R, Sindhu KR, Subha I, Abdeen S, Nair SS. Beneficial effects of garlic (*Allium sativum* Linn) on rats fed with diets containing cholesterol and either of the oil seeds, coconuts or groundnuts. *Indian J Exp Biol* 2001; 39(7): 660-667.
- [13] Baguet JP, Kingwell BA, Dart AL, Shaw J, Ferrier KE, Jennings GL. Analysis of regional pulse wave velocity by Doppler: methodology and reproducibility. *J Hum Hypertens* 2003; 17(6): 407-412.
- [14] Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutrition J* 2002; 1: 4.
- [15] Berthold HK, Sudhop T, von Bergmann K. Effect of a garlic oil preparation on serum lipoproteins and cholesterol metabolism. A randomized controlled trial. *JAMA* 1998; 279(23): 1900-1902.

- [16] Bini A, Kudryk BJ. Fibrinogen and fibrin in the arterial wall. *Thromb Res* 1994; 75(3): 337-341.
- [17] Blacher J, Asmar R, Djane S, London GM, Safar ME. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertension* 1999; 33(5): 1111-1117.
- [18] Bots ML, Dijk JM, Oren A, Grobbee DE. Carotid intima-media thickness, arterial stiffness and risk of cardiovascular disease: current evidence. *J Hypertens* 2002; 20(12): 2317-2325.
- [19] Boudoulas H, Wooley CF. Functional abnormalities of the Aorta. *J Heart Valve Dis* 1996; 5, Suppl.3: 258-263.
- [20] Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, Gautier I, Benetos A, Lacolley P, Laurent S. Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients. A longitudinal study. *Hypertension* 2002; 39: 10-15.
- [21] Brace LD. Cardiovascular benefits of garlic (*Alium sativum* L.). *J Cardiovasc Nurs* 2002; 16(4): 33-49.
- [22] Bramwell JC, Hill AV. Velocity of transmission of the pulse-wave and elasticity of arteries. *Lancet* 1922.
- [23] Bräsen JH, Niendorf A. Atherosklerose. Formale Pathogenese, Klassifikation und funktionelle Bedeutung. *Pathologie* 1997; 18(3): 218-227.
- [24] Breithaupt-Grögler K, Belz GG. Epidemiology of the arterial stiffness. *Pathol Biol* 1999; 47(6): 604-613.
- [25] Breithaupt-Grögler K, Ling M, Boudoulas H, Belz GG. Protective effect of chronic garlic intake on elastic properties of aorta in the elderly. *Circulation* 1997; 96(8): 2649-2655.
- [26] Brosche T, Platt D, Dorner H. The effect of a garlic preparation on the composition of plasma lipoproteins and erythrocyte membranes in geriatric subjects. *Br J Clin Pract Suppl* 1990; 69: 12-19.
- [27] Brown MS, Faust JR, Goldstein JL. Role of low density lipoprotein receptor in regulating the content of free and esterified cholesterol in human fibroblasts. *J Clin Invest* 1975; 55: 783-793.
- [28] Burr ML, Holliday RM, Fehily AM, Whitedhead PJ. Haematological prognostic indices after myocardial infarction: evidence from the Diet and Reinfarction Trial (DART). *Eur Heart J* 1992; 13(2): 166-170.
- [29] Campbell JH, Efendy JL, Smith NJ, Campbell GR. Molecular basis by which garlic suppresses atherosclerosis. *J Nutr* 2001; 131(3s): 1006S-1009S.
- [30] Chatterjee S, Ghosh N. Oxidized low density lipoprotein stimulates aortic smooth muscle cell proliferation. *Glycobiology* 1996; 6(3): 303-311.
- [31] Chi MS, Koh ET, Stewart TJ. Effects of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol and lard. *J Nutr* 1982; 112(2): 241-248.
- [32] Constantinides P, Booth J, Carlson G. Production of advanced cholesterol atherosclerosis in the rabbit. *Arch Path* 1960; 70: 712.

- [33] Dabanoglu I. A quantitative study of the aorta of the New Zealand rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L.). *Anat Histol Embryol* 2000; 29(3): 145-147.
- [34] Davies MJ, Richardson PD, Woolf N, Katz DR, Mann J. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br Heart J* 1993; 69: 377-381.
- [35] Davies MJ, Woolf N. Atherosclerosis: what is it and why does it occur? *Br Heart J* 1993; 69(1 Suppl): S3-S11.
- [36] De Meyer GR, Herman AG. Vascular endothelial dysfunction. *Prog Cardiovasc Dis* 1997; 39(4): 325-342.
- [37] Doppler C. Über das farbige Licht der Dopplersterne und einiger anderer Gestirne des Himmels. *Abhandlungen der Königlichen Böhmisches Gesellschaft der Wissenschaften* 1843; 2: 465.
- [38] Durak I, Ozturk HS, Olcay E, Can B, Kavutcu M. Effects of garlic extract on oxidant/antioxidant status and atherosclerotic plaque formation in rabbit aorta. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2002; 12(3): 141-147.
- [39] Efendy JL, Simmons DL, Campbell GR, Campbell JH. The effect of the aged garlic extract, 'Kyolic', on the development of experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1997; 132(1): 37-42.
- [40] Eilat S, Oestraicher Y, Rabinkov A, Ohad D, Mirelman D, Battler A, Eldar M, Vered Z. Alteration of lipid profile in hyperlipidemic rabbits by allicin, an active constituent of garlic. *Coron Artery Dis* 1995; 6(12): 985-990.
- [41] Emmerich M. Modulation mechanisch funktioneller Parameter und der Radikalsekretion in arteriellen Gefäßwänden durch atherogene Risikofaktoren. Universität Tübingen, Dissertation, 2003.
- [42] Fan J, Watanabe T. Cholesterol-fed and transgenic rabbit models for the study of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2000; 7(1): 26-32.
- [43] Farrar DJ, Bond MG, Riley WA, Sawyer JK. Anatomic correlates of aortic pulse wave velocity and carotid artery elasticity during atherosclerosis progression and regression in monkeys. *Circulation* 1991; 83(5): 1754-1763.
- [44] Farrar DJ, Bond MG, Sawyer JK, Green HD. Pulse wave velocity and morphological changes associated with early atherosclerosis progression in the aortas of cynomolgus monkeys. *Cardiovasc Res* 1984; 18(2): 107-118.
- [45] Finking G, Hanke H. Nikolaj Nikolajewitsch Anitschkow (1885-1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. *Atherosclerosis* 1997; 135(1): 1-7.
- [46] Franklin SS, Khan SA, Wong ND, Larson MG, Levy D. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease? The Framingham Heart Study. *Circulation* 1999; 100(4): 354-360.
- [47] Gebhardt R. Garlic: the key to sophisticated lowering of hepatocellular lipid. *Nutrition* 1997; 13(4): 379-380.

- [48] Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankuravicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1987; 316: 1371-1375.
- [49] Gotto AMjr. Antioxidants, Statins, and Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(7): 1206-1210.
- [50] Greenwald SE, Newman DL, Bowden NLR. Comparison between theoretical and directly measured pulse propagation velocities in the aorta of the anesthetised dog. *Cardiovasc Res* 1978; 12: 407-414.
- [51] Haidet GC, Wennberg PW, Finkelstein SM, Morgan DJ. Effects of aging per se on arterial stiffness: systemic and regional compliance in beagles. *Am Heart J* 1996; 132(2 Pt 1): 319-327.
- [52] Hansen BF, Mortensen A, Hansen JF, Ibsen P, Frandsen H, Nordestgaard BG. Atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidaemic rabbits. Evaluation by macroscopic, microscopic and biochemical methods and comparison of atherosclerosis variables. *APMIS* 1994; 102: 177-190.
- [53] Hartley CJ, Taffet GE, Michael LH, Pham TT, Entman ML. Noninvasive determination of pulse-wave velocity in mice. *Am J Physiol* 1997; 273(1 Pt 2): H494-H500.
- [54] Heinle H. Stoffwechseländerungen der Gefäßwand bei experimenteller Atherosklerose. Universität Tübingen, Habilitation, 1985.
- [55] Heinle H. Pathogenese der Arteriosklerose. In: Marshall M, Breu FX (Hrsg). *Handbuch der Angiologie. Arterien-, Venen- und Lymphgefäßerkrankungen in Klinik und Praxis.* Landsberg: ecomed, 1999: 1-7.
- [56] Heinle H. Physiologie und Pathophysiologie der Arterien. In: Marshall M, Breu FX (Hrsg). *Handbuch der Angiologie. Arterien-, Venen- und Lymphgefäßerkrankungen in Klinik und Praxis.* Landsberg: ecomed, 1999: 1-12.
- [57] Heinle H, Ableiter H, Betz E. Diet-induced hypercholesterolaemia decreases osmotic resistance of rabbit erythrocytes: possible involvement of the thiol protecting system. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1991; 1: 125-129.
- [58] Heinle H, Betz E. Effects of dietary garlic supplementation in a rat model of atherosclerosis. *Arzneimittelforschung* 1994; 44(5): 614-617.
- [59] Heinle H, Kling D, Betz E. Metabolism of fibromuscular and atheromatous plaques in an experimental model: causal mechanisms for the development of intimal necrosis. In: Vollmer E, Roessner A (Hrsg). *Current Topics in Pathology.* Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1993: 193-221.
- [60] Heinrich J, Balleisen L, Schulte H, Assman G, van de Loo J. Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk: results from the PROCAM study in healthy men. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 54-59.
- [61] Henderson A. Coronary heart disease: overview. *Lancet* 1996; 348 (Suppl 1): S1-S4.
- [62] Henry PD, Cabello OA, Chen C-H. Hypercholesterolemia and endothelial dysfunction. *Curr Opin Lipidol* 1995; 6(4): 190-195.
- [63] Hirai T, Sasayama S, Kawasaki T, Yagi S. Stiffness of systemic arteries in patients with myocardial infarction. *Circulation* 1989; 80(1): 78-86.

- [64] Hiromoto M, Toma Y, Tomochika Y, Umemoto S, Matsuzaki M. Echographical assessment of the early stage of experimental atherosclerosis of the descending aorta in rabbits. *Jap Circul J* 1996; 60(9): 691-698.
- [65] Hoeg JM. Lipoproteins and atherogenesis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998; 27(3): 569-584.
- [66] Hsu HH, Camacho NC, Tawfik O, Sun F. Induction of calcification in rabbit aortas by high cholesterol diets: roles of calcifiable vesicles in dystrophic calcification. *Atherosclerosis* 2002; 161(1): 85-94.
- [67] Ichino K, Okazaki M, Usami S, Oguchi K. Involvement of enhanced coagulation and fibrinolysis system in induction of atherosclerosis in hyperlipidemic rabbits fed on a high cholesterol diet. *In Vivo* 1997; 11(2): 115-123.
- [68] Ide N, Lau BH. Garlic compounds minimize intracellular oxidative stress and inhibit nuclear factor-kappa b activation. *J Nutr* 2001; 131(3): 1020S-1026S.
- [69] Isaacsohn JL, Moser M, Stein EA, Dudley K, Davey JA, Liskov E, Black HR. Garlic powder and plasma lipids and lipoproteins: A multicenter, randomized, placebo-controlled trial. *Arch Intern Med* 1998; 158(11): 1189-1194.
- [70] Ismail MF, Gad MZ, Hamdy MA. Study of the hypolipidemic properties of pectin, garlic and ginseng in hypercholesterolemic rabbits. *Pharmacol Res* 1999; 39(2): 157-166.
- [71] Jain AK, Vargas R, Gotzkowsky S, McMahon FG. Can garlic reduce levels of serum lipids? A controlled clinical study. *Am J Med* 1993; 94(6): 632-635.
- [72] Jain RC, Konar DB. Effect of garlic oil in experimental cholesterol atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1978; 29: 125-129.
- [73] Kagan AR, Sternby NH. (eds). *Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries in five towns*. Bull WHO 1976; 53.
- [74] Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *JAMA* 1996; 275(20): 1571-1576.
- [75] Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA* 1987; 258(9): 1183-1186.
- [76] Kiechl S, Willeit J. The natural course of atherosclerosis. Part II: vascular remodeling. Bruneck Study Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(6): 1491-1498.
- [77] Kiesewetter H, Jung F, Witt R, Kotitschke G, Winkelhog C, Nuttgens HP, Gerhards M, Roebruck P, Waterloo E. Prevalence of peripheral arterial occlusive disease, risk factors and rheologic profile: results of a preliminary examination in the Aachen study. *Vasa Suppl* 1987; 20: 266-269.
- [78] König W. Fibrin(ogen) in cardiovascular disease: an update. *Thromb Haemost* 2003; 89: 601-609.
- [79] König W, Resch KL, Hombach V, Ernst E. Fibrinogen und kardiovaskuläres Risiko. *Pathophysiologie, Klinik und Epidemiologie*. *Dtsch Arztebl* 1994; 91(37): B-1799-B-1803.
- [80] Koscielny J, Klüßendorf D, Latza R, Schmitt R, Radtke H, Siegel G, Kiesewetter H. The antiatherosclerotic effect of *Allium sativum*. *Atherosclerosis* 1999; 144(1): 237-249.

- [81] Krause M, Ederer G, Regling B, Holker S, Bartels H. Früherkennung von Veränderungen peripherer Gefäße bei Kindern und Jugendlichen mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus durch Doppler-Ultraschall. *Monatsschr Kinderheilkd* 1991; 139(5): 282-286.
- [82] Kugiyama K, Kerns SA, Morrisett JD, Roberts R, Henry PD. Impairment of endothelium-dependent relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins. *Nature* 1990; 334: 160-162.
- [83] Kwon M-J, Song Y-S, Choi M-S, Park S-J, Jeong K-S, Song Y-O. Cholesteryl ester transfer protein activity and atherogenic parameters in rabbits supplemented with cholesterol and garlic powder. *Life Sci* 2003; 72: 2953-2964.
- [84] Lantelme P, Mestre C, Lievre M, Gressard A, Milon H. Heart Rate. An important confounder of pulse wave velocity assessment. *Hypertension* 2002; 39: 1083-1087.
- [85] Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, Ducimetiere P, Benetos A. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 2001; 37(5): 1236-1241.
- [86] Lehmann ED. Noninvasive measurements of aortic stiffness: methodological considerations. *Pathol Biol* 1999; 47(7): 716-730.
- [87] Lehmann ED, Hopkins KD, Rawesh A, Joseph RC, Kongola K, Coppack SW, Gosling RG. Relation between number of cardiovascular risk factors/events and non-invasive Doppler ultrasound assessments of aortic compliance. *Hypertension* 1998; 32(3): 565-569.
- [88] Lehmann ED, Riley WA, Clarkson P, Gosling RG. Non-invasive assessment of cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Lancet* 1997; 350(Suppl I): S14-S19.
- [89] Lendon CL, Davies MJ, Born GVR, Richardson PD. Atherosclerotic plaque caps are locally weakened when macrophages density is increased. *Atherosclerosis* 1991; 87: 87-90.
- [90] Libby P. The increasing significance of the unstable atheroma. *Newsletter of the International Atherosclerosis Society* 1999; 8(1): 2-3.
- [91] Libby P. Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med* 2000; 247(3): 349-358.
- [92] Luc G, Bard J-M, Juhan-Vague I, Ferrieres J, Evans A, Amouyel P, Arveiler D, Fruchart J-C, Ducimetiere P, PRIME Study Group. C-Reactive Protein, Interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1255-1261.
- [93] Maldonado J. Pulse wave velocity as expression of arterial compliance and its importance in the evaluation of arterial hypertension. *Rev Port Cardiol* 1992; 11(11): 929-932.
- [94] Maldonado J, Galhano E, Almeida L, Pego M, Bastos M, Cabrita S, Ribeiro CA, Wulfroth M, Beja MM, Providencia LA, et al. Pulse wave velocity as initial marker of atherosclerosis. *Rev Port Cardiol* 1994; 13(11): 845-51,808.
- [95] Marchand F. Über Arteriosklerose (Athero-Sklerose). *Verh dtsh Congr inn Med* 1904; 21: 23-59.

- [96] Martin MJ, Hulley SB, Browner WS, Kuller LH, Wentworth D. Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361,662 men. *Lancet* 1986; 2(8513): 933-936.
- [97] Matts JP, Buchwald H, Fitch LL, Campos CT, Varco RL, Campbell GS, Pearce MB, Yellin AE, Smink RDjr, Sawin HSjr, et al. Subgroup analyses of the major clinical endpoints in the Program on the Surgical Control of the Hyperlipidemias (POSCH): overall mortality, atherosclerotic coronary heart disease (ACHD) mortality, and ACHD mortality or myocardial infarction. *J Clin Epidemiol* 1995; 48: 389-405.
- [98] Meade TW, Chakrabarti R, Haines A, North WRS, Stirling Y, Thompson SG. Haemostatic function and cardiovascular death: early results of a prospective study. *Lancet* 1980; 1: 1050-1053.
- [99] Mirhadi SA, Singh S, Gupta PP. Effect of garlic supplementation to atherogenic diet on collagen biosynthesis in various tissues of rabbits. *Indian Heart J* 1990; 42(2): 99-104.
- [100] Moghadasian MH. Experimental atherosclerosis: a historical overview. *Life Sci* 2002; 70(8): 855-865.
- [101] Munday JS, James KA, Fray LM, Kirkwood SW, Thompson KG. Daily supplementation with aged garlic extract, but not raw garlic, protects low density lipoprotein against in vitro oxidation. *Atherosclerosis* 1999; 143(2): 399-404.
- [102] Murray CJ, Lopez AD. Mortality by cause for eight regions of the world: Global burden of disease study. *Lancet* 1997; 349: 1269-1276.
- [103] Namekata T, Moore D, Suzuki K, Mori M, Hatano S, Hayashi C, Abe N, Hasegawa M. A study of the association between the aortic pulse wave velocity and atherosclerotic risk factors among Japanese Americans in Seattle, U.S.A. *Nippon Koshu Eisei Zasshi* 1997; 44(12): 942-951.
- [104] Narayanaswamy M, Wright KC, Kandarpa K. Animal models for atherosclerosis, restenosis, and endovascular graft research. *J Vasc Interv Radiol* 2000; 11(1): 5-17.
- [105] Nawroth P, Lasch HG. Hypothesen der Arterioskleroseentstehung. In: Nawroth P, Lasch HG (Hrsg). *Vaskuläre Medizin systematisch*. Bremen: UNI-MED Verlag, 1999: 78-90.
- [106] Nawroth P, Lasch HG. Stoffwechsel der Plasmalipoproteine. In: Nawroth P, Lasch HG (Hrsg). *Vaskuläre Medizin systematisch*. Bremen: UNI-MED, 1999: 91-100.
- [107] Neil HAW, Silagy CA, Lancaster T. Garlic powder in the treatment of moderate hyperlipidaemia: a controlled trial and meta-analysis. *J Royal Coll Phys* 1996; 30: 329-336.
- [108] Neumüller O-A. (Hrsg), *Römpps Chemie-Lexikon*, 8. Aufl. Stuttgart: Franckhsche Verlagshandlung, 1983.
- [109] Ni Y, Wang H, Hu D, Zhang W. The relationship between pulse wave velocity and pulse pressure in Chinese patients with essential hypertension. *Hypertens Res* 2003; 26(11): 871-874.
- [110] Nichols WW, O'Rourke MF. *McDonald's blood flow in arteries: theoretical, experimental and clinical principles*. London: 1998.

- [111] Obermann K, Graf v.d.Schulenburg J-M, Mautner GC. Ökonomische Analyse der Sekundärprävention der koronaren Herzkrankheit mit Simvastatin (Zocor®) in Deutschland. *Med Klin* 1997; 92(11): 686-694.
- [112] Ohmori K, Emura S, Takashima T. Risk factors of atherosclerosis and aortic pulse wave velocity. *Angiology* 2000; 51(1): 53-60.
- [113] Orekhov AN, Grünwald J. Effects of garlic on atherosclerosis. *Nutrition* 1997; 13(7-8): 656-663.
- [114] Orekhov AN, Tertov VV, Sobenin IA, Pivovarova EM. Direct anti-atherosclerosis-related effects of garlic. *Ann Med* 1995; 27(1): 63-65.
- [115] Pétursson MK, Jónmundsson EH, Brekkan Á, Hardarson T. Angiographic predictors of new coronary occlusions. *Am Heart J* 1995; 129(3): 515-520.
- [116] Prasad K, Laxdal VA, Yu M, Raney BL. Evaluation of hydroxyl radical-scavenging property of garlic. *Mol Cell Biochem* 1996; 154(1): 55-63.
- [117] Prasad K, Mantha SVKJ, Lee P. Prevention of Hypercholesterolemic Atherosclerosis by Garlic Antioxidant. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 1997; 2(4): 309-320.
- [118] Rapezzi C, Manes C, Branzi A. Increased heart rate is detrimental: the peripheral-plaque theory. *Eur Heart J* 1999; 1 (Suppl H): H29-H32.
- [119] Rekhter MD, Hicks GW, Brammer DW, Hallak H, Kindt E, Chen J, Rosebury WS, Anderson MK, Kuipers PJ, Ryan MJ. Hypercholesterolemia causes mechanical weakening of rabbit atheroma : local collagen loss as a prerequisite of plaque rupture. *Circ Res* 2000; 86(1): 101-108.
- [120] Restori G, Boiardi L, Barbagallo M, Novo S, Passeri M, Strano A. Progression of induced aortic atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet. *Int Angiol* 1990; 9(4): 263-265.
- [121] Reuter HD, Koch HP, Lawson LD. Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. In: Koch HP, Lawson LD (eds). *Garlic. The science and therapeutic application of Allium sativum L. and related species*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1996: 135-212.
- [122] Richardson PD, Davies MJ, Born GVR. Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques. *Lancet* 1989; 2: 941-944.
- [123] Rosenfeld ME, Ross R. Macrophage and smooth muscle cell proliferation in atherosclerotic lesions of WHHL and comparably hypercholesterolemic fat-fed rabbits. *Arteriosclerosis* 1990; 10(5): 680-687.
- [124] Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 1999; 138(5 Pt 2): S419-S420.
- [125] Safar ME, Henry O, Meaume S. Aortic pulse wave velocity: an independent marker of cardiovascular risk. *Am J Geriatr Cardiol* 2002; 11(5): 295-298.
- [126] Sendl A, Schliack M, Loser R, Stanislaus F, Wagner H. Inhibition of cholesterol synthesis in vitro by extracts and isolated compounds prepared from garlic and wild garlic. *Atherosclerosis* 1992; 94(1): 79-85.

- [127] Shanahan CM, Weissberg PL. Smooth muscle cell phenotypes in atherosclerotic lesions. *Curr Opin Lipidol* 1999; 10(6): 507-513.
- [128] Sharifi AM, Darabi R, Akbarloo N. Investigation of antihypertensive mechanisms of garlic in 2K1C hypertensive rat. *J Ethnopharmacol* 2003; 86(2-3): 219-224.
- [129] Silagy C, Neil A. Garlic as a lipid lowering agent - a meta-analysis. *J Royal Coll Phys* 1994; 28: 39-45.
- [130] Simons LA, Balasubramaniam S, von Konigsmark M, Parfitt A, Simons J, Peters W. On the effect of garlic on plasma lipids and lipoproteins in mild hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 1995; 113(2): 219-225.
- [131] Sparrow CP, Parthasarathy S, Steinberg D. A macrophage receptor that recognizes oxidized low density lipoprotein but not acetylated low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1989; 264(5): 2599-2604.
- [132] Stary H. The histological classification of atherosclerotic lesions in human coronary arteries. In: Fuster V, Ross R, Topol EJ (eds). Philadelphia, New York: Lippincott-Raven Publishers, 1996: 463-474.
- [133] Statistisches Bundesamt. Die Gesundheitsberichterstattung des Bundes: Anzahl der Sterbefälle (ab 1980, Region, Alter, Geschlecht, Nationalität, Todesursachen lt. "Europäischer Kurzliste"). <http://www.gbe-bund.de> (Stand: September 2004).
- [134] Steiner M, Khan AH, Holbert D, Lin RI. A double-blind crossover study in moderately hypercholesterolemic men that compared the effect of aged garlic extract and placebo administration on blood lipids. *Am J Clin Nutr* 1996; 64(6): 866-870.
- [135] Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, Kamada N, Kataoka M, Jishage K, Ueda O, Sakaguchi H, Higashi T, Suzuki T, Takashima Y, Kawabe Y, Cynshi O, Wada Y, Honda M, Kurihara H, Aburatani H, Doi T, Matsumoto A, Azuma S, Noda T, Toyoda Y, Itakura H, Yazaki Y, Kodama T, et al. A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature* 1997; 386(6622): 292-296.
- [136] Turner M. Garlic and circulatory disorders. *J Royal Soc Health* 1994; 110(3): 90.
- [137] van Popele NM, Grobbee DE, Bots ML, Asmar R, Topouchian J, Reneman RS, Hoeks APG, van der Kuip DAM, Hofman A, Witteman JCM. Association between arterial stiffness and atherosclerosis. The Rotterdam Study. *Stroke* 2001; 32: 454-460.
- [138] Virchow R. Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre. 3. Aufl. Berlin: Verlag von August Hirschwald, 1862.
- [139] Vorberg G, Schneider B. Therapy with garlic: results of a placebo-controlled, double-blind study. *Br J Clin Pract Suppl* 1990; 69: 7-11.
- [140] Wacker R, von Scheidt W. Dopplersonographie der Gefäße. In: Erdmann E (Hrsg). *Klinische Kardiologie*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 2000: 123-133.
- [141] Wang HX, Ng TB. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. *Life Sci* 1999; 65(25): 2663-2677.
- [142] Wang YX, Halks-Miller M, Vergona R, Sullivan ME, Fitch R, Mallari C, Martin-McNulty B, da Cunha V, Freay A, Rubanyi GM, Kauser K. Increased aortic stiffness assessed by

- pulse wave velocity in apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278(2): H428-H434.
- [143] Warshafsky S, Kamer RS, Sivak SL. Effect of garlic on total serum cholesterol. A meta-analysis. *Ann Intern Med* 1993; 119(7 Pt 1): 599-605.
- [144] Wiinberg N. Measurement of arterial compliance in vivo. *Stud Health Technol Inform* 2000; 71: 99-108.
- [145] Wilcox JN, Smith KM, Schwartz SM, Gordon D. Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86(8): 2839-2843.
- [146] Wilhelmssen L, Svardsudd K, Korsan-Bengsten K, Larsson B, Welin L, Tibblin G. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984; 311: 501-505.
- [147] Wilkinson IB, Webb DJ, Cockcroft JR. Aortic pulse-wave velocity. *Lancet* 1999; 354(9194): 1996-1997.
- [148] Wissler RW, Vesselinovitich D. The development and the use of animal models in atherosclerosis research. In: Gallo LL (ed). *Cardiovascular Disease: Molecular and Cellular Mechanisms, Prevention and Treatment*. New York: Plenum Press, 1987: 337-357.
- [149] Yamashina A, Tomiyama H, Arai T, Hirose K, Koji Y, Hirayama Y, Yamamoto Y, Hori S. Brachial-ankle pulse wave velocity as a marker of atherosclerotic vascular damage and cardiovascular risk. *Hypertens Res* 2003; 26(8): 615-622.
- [150] Zaman AG, Helft G, Osende JI, Fusfer V, Badimon JJ. Histopathology and pathogenesis of plaque instability and thrombus formation. *Drugs Today* 1999; 35(8): 641-656.

Danksagung

Mein Dank gilt insbesondere Herrn Prof. Dr. Helmut Heinle für die freundliche Überlassung des Themas sowie für seine Unterstützung bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit.

Ferner danke ich aufrichtig Frau Dr. Ute Brehme, die sich meiner angenommen hat und mir während des Schreibens stets mit Rat, Kritik und viel persönlichem Engagement zur Seite stand.

Das überaus angenehme und unkomplizierte Verhältnis zu Prof. Heinle und Dr. Brehme war mir eine nicht zu unterschätzende Stütze.

Herrn Dr. Hans-Martin Häfner danke ich für die konstruktive Zusammenarbeit und Unterstützung bei der Auswertung der hämodynamischen Parameter.

Weiterhin möchte ich Frau Dr. Tina Herberts vom Institut für Medizinische Informationsverarbeitung für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten danken.

Nicht unerwähnt bleiben darf der Zuspruch, den ich stets von meinen Eltern erhielt. Nur durch sie war mein Studium in dieser Form möglich.

Zuletzt möchte ich meiner Freundin Caroline, meinen Geschwistern, Großeltern und Freunden für Ihre Unterstützung danken.

Lebenslauf

PERSÖNLICHE ANGABEN

Name: Joachim Polligkeit
Geburtsdatum/-ort: 11. Juni 1976 in Esslingen a. N.
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig
Eltern: Dr. rer. nat. Wolfgang Polligkeit
Barbara Luise Polligkeit

BERUFSTÄTIGKEIT

seit 12/2004 Klinikum Nürnberg
Klinik für Mund-, Kiefer- und plastische Gesichtschirurgie
10/2004 Vollapprobation Humanmedizin
10/2003-11/2004 Eberhard Karls Universität Tübingen
Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie

STUDIUM UND SCHULBILDUNG

04/1997 - 10/2003 Eberhard Karls Universität Tübingen
Studium der Zahnmedizin
Gesamtnote: gut
04/1996 - 04/2003 Eberhard Karls Universität Tübingen
Studium der Humanmedizin
Gesamtnote: sehr gut
30.04.2003 3. Staatsexamen Medizin
04/2003 - 03/2004 Praktisches Jahr
Universität Tübingen (HNO/Innere Medizin)
Hôtel Dieu, Université de Paris VI, Frankreich (Innere Medizin)
Universität Genf, Schweiz (Chirurgie)
09/2001 2. Staatsexamen Medizin
07/2000 - 12/2000 Brown University, Providence, Rhode Island, USA
Auslandssemester
03/1999 1. Staatsexamen Medizin
08/1998 Zahnärztliche Vorprüfung
03/1998 Ärztliche Vorprüfung
1986-1995 Märkisches Gymnasium Schwelm (Nordrhein-Westfalen)
Allgemeine Hochschulreife