

**Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg-Essen**

Aus dem Institut für Pathophysiologie

**Auswirkungen der „ischämischen Konditionierung auf Distanz“ auf
die Gehstrecke und Durchblutungsparameter von Patienten mit
peripherer arterieller Verschlusskrankheit im Stadium II nach
Fontaine**

**I n a u g u r a l – D i s s e r t a t i o n
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg-Essen**

**Vorgelegt von
Fabian Säcker
aus Dortmund
2022**

DuEPublico

Duisburg-Essen Publications online

UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Offen im Denken

ub | universitäts
bibliothek

Diese Dissertation wird via DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt und liegt auch als Print-Version vor.

DOI: 10.17185/duepublico/77433

URN: urn:nbn:de:hbz:465-20230428-064642-8

Alle Rechte vorbehalten.

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. J. Buer
1. Gutachter: Frau Univ.-Prof. Dr. rer. nat. P. Kleinbongard
2. Gutachter: Frau Univ.-Prof. Dr. rer. nat. A.C. Fender

Tag der mündlichen Prüfung: 2. Februar 2023

Es ist geplant, die wesentlichen Teile dieser Arbeit in einem Manuskript zusammen zu fassen.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	7
1.1 Endotheliale Dysfunktion und Atherosklerose	7
1.2 Die periphere arterielle Verschlusskrankheit der unteren Extremität	8
1.3 Ischämische Konditionierung auf Distanz	9
1.4 Zielsetzung	14
2 Material und Methoden	15
2.1 Material	15
2.1.1 Geräte	15
2.1.2 Chemikalien	15
2.1.3 Verbrauchsmaterial	16
2.2 Methoden	16
2.2.1 Voruntersuchungen: Reproduzierbarkeit der Untersuchungsmethoden	16
2.2.1.1 Transkutaner Sauerstoffpartialdruck	17
2.2.1.2 Venenverschlussplethysmographie	17
2.2.1.3 Knöchel-Arm-, niedrigerer Knöcheldruck- und Zehen-Arm-Index	18
2.2.1.4 Laufbandgehtest	18
2.2.2 Probandenstudie I: Auswirkungen der ischämischen Konditionierung auf Distanz auf Durchblutungsparameter der unteren Extremität gesunder Probanden	19
2.2.2.1 Studiendesign	19
2.2.2.2 Studienpopulation, Ein- und Ausschlusskriterien	19
2.2.2.3 Studienablauf	19
2.2.2.4 Ischämische Konditionierung auf Distanz	20
2.2.3 Probandenstudie II: Auswirkungen der ischämischen Konditionierung auf Distanz auf den transkutanen Sauerstoffpartialdruck der unteren Extremitäten gesunder Probanden	21
2.2.3.1 Studiendesign	21
2.2.3.2 Studienpopulation, Ein- und Ausschlusskriterien	21
2.2.3.3 Studienablauf	22
2.2.4 Auswirkungen der ischämischen Konditionierung auf Distanz auf den transkutanen Sauerstoffpartialdruck der Haut im Tiermodell	23

2.2.4.1 Akutversuche im Tiermodell	23
2.2.4.2 Experimentelle Präparation und abdominelle transkutane Sauerstoff- partialdruckmessung	23
2.2.4.3 Protokoll der ischämischen Konditionierung auf Distanz	23
2.2.4.4 Placebo	24
2.2.5 Patientenstudie: Auswirkungen der ischämischen Konditionierung auf Distanz auf die Gehstrecke von Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit im Stadium II nach Fontaine	25
2.2.5.1 Studiendesign	25
2.2.5.2 Studienpopulation, Ein- und Ausschlusskriterien	25
2.2.5.3 Studienablauf	26
2.3 Statistische Analyse	28
3 Ergebnisse	29
3.1 Reproduzierbare Messergebnisse und Verbesserung der VVP durch Ruhephase	29
3.2 Tendenzielle Erhöhung des T _{cp} O ₂ nach RIC an gesunden Probanden	30
3.3 Erhöhung des prozentualen T _{cp} O ₂ nach RIC an gesunden Probanden	32
3.4 Erhöhung des prozentualen T _{cp} O ₂ über der Bauchwand nach RIC im Tiermodell	33
3.5 Patientenstudie	34
3.5.1 Patientencharakteristika und PaVK-Status	34
3.5.2 Kein Unterschied von arteriellem Einstrom, ABI, LAP und TBI nach RIC	36
3.5.3 Erhöhung des prozentualen T _{cp} O ₂ und der RGS nach RIC; keine Veränderung der MGS	36
3.5.4 Subjektive Verbesserung der RGS; Bereitschaft zur Fortführung RIC	38
4 Diskussion	40
4.1 Verbesserung der relativen Gehstrecke durch RIC im Crossover-Design	40
4.2 Verbesserung des T _{cp} O ₂ und der Gewebsoxygenierung durch RIC	43
4.3 Crossover-Design sichert Aussagekraft trotz T _{cp} O ₂ -Seitenunterschied	46
4.4 Keine Veränderung des ABI nach RIC	46
4.5 Limitationen	48
4.6 Schlussfolgerung	49
5 Zusammenfassung	50

6 Literaturverzeichnis	51
6.1 Abkürzungsverzeichnis	59
6.2 Abbildungsverzeichnis	61
6.3 Tabellenverzeichnis	62
7 Danksagung	63
8 Lebenslauf	65

1 Einleitung

1.1 Endotheliale Dysfunktion und Atherosklerose

Das Endothel stellt die innere Wandschicht der Blutgefäße im menschlichen Körper dar und dient als Barriere zwischen dem zirkulierenden Blut und dem umliegenden Gewebe. Zu seinen physiologischen Funktionen zählt die kontinuierliche Regulation des Gefäßtonus und somit des lokalen Gefäßwiderstandes durch die Synthese von vasoaktiven Substanzen wie Stickstoffmonoxid oder Prostacyclinen. Die Gesamtheit der lokalen Gefäßwiderstände bildet den totalen peripheren Widerstand, welcher den systemischen Blutdruck maßgeblich beeinflusst. Zu den Funktionen des Endothels zählt ebenfalls die Verhinderung von Adhäsionen von Thrombozyten und Leukozyten in den Gefäßen sowie die Regulation von Gerinnungsprozessen. Das Endothel reguliert das lokale Zellwachstum insbesondere der glatten Gefäßmuskulatur. Der Stoffaustausch zwischen Blut und dem jeweils umliegenden Gewebe wird über das Endothel reguliert (A. J. Donato et al., 2015).

Durch chronisch mechanische oder biochemische Reize in Form von kardiovaskulären Risikofaktoren kommt es zu entzündlichen und destruktiven Vorgängen innerhalb des Endothels. Risikofaktoren hierfür sind das Rauchen, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Dyslipidämien, Übergewicht und das Alter. Die Folge ist die Funktionsstörung des Endothels, was als endotheliale Dysfunktion bezeichnet wird. Hierdurch kommt es unter anderem zu einer verringerten Synthese von Stickstoffmonoxid. Als Folge dieser Funktionseinschränkung kommt es zur Aggravation des chronischen Entzündungszustandes (Alfaras et al., 2016; Ungvari et al., 2020).

Die endotheliale Dysfunktion stellt eine Grundlage für die Entstehung der Atherosklerose dar. Aufgrund der komplexen Pathogenese erfolgt hier eine stark zusammengefasste Darstellung: Durch die chronische Entzündung des Endothels werden Adhäsionsmoleküle und Chemokine exprimiert und freigesetzt. Dies führt zu einer erhöhten Gefäßpermeabilität und in der Folge zur Einwanderung von Monozyten und Lymphozyten in die Intima. Die Monozyten verbleiben dort als Lipoprotein-speichernde, sogenannte Schaumzellen. Beide Zelltypen in Kombination mit extrazellulärem Cholesterin entwickeln sich zu einem Lipidkern. Glatte Muskelzellen aus der Media werden subintimal integriert. Die glatten Muskelzellen sind zusammen mit den Schaumzellen verantwortlich für die Entstehung einer atherosklerotischen Plaque (Ungvari et al., 2018). Langsam entstehende Folgen sind die Stenose des Gefäßlumens und somit eine Einschränkung der Durchblutung poststenotisch, wie bei der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (PaVK). Je nach Beschaffenheit kann es zum Abriss dieser Plaque und

zur Ausschwemmung in ein poststenotisches Gefäß kommen. Ein hierdurch entstehender partieller oder vollständiger Verschluss des Gefäßes wird als Embolie bezeichnet. Dies kann zu Nekrosen des nachgeschalteten Stromgebietes führen. Die Embolie ist ein akutes und - je nach Lokalisation - lebensbedrohliches Ereignis (Aboyans et al., 2018).

1.2 Die periphere arterielle Verschlusskrankheit der unteren Extremität

Eine der möglichen Manifestationen der Atherosklerose stellt die PaVK der unteren Extremitäten dar. Bei ca. 202 Millionen Menschen weltweit wurde diese Erkrankung diagnostiziert, etwa 40 Millionen davon kommen aus Europa. Während im Alter von 45 bis 49 Jahren die Prävalenz der PaVK abhängig von Geschlecht und Wohnort bei ca. 5,28 % liegt, nimmt sie im höheren Alter bis ca. 18,83 % zu. Besonders stark assoziierte Risikofaktoren mit der PaVK sind das Rauchen und Diabetes mellitus (Aboyans et al., 2018). Die PaVK ist gekennzeichnet durch die endotheliale Dysfunktion der Gefäße der unteren Extremitäten mit zunehmender Lumen-Einengung und Ischämie des nachgeschalteten Gewebes. Dies führt zu einer kontinuierlichen und bei Belastung zunehmenden Gewebeschämie insbesondere der peripheren Skelettmuskulatur. In der Folge entstehen intermittierende oder kontinuierliche Schmerzen in der betroffenen Muskulatur - je nach Ausprägung der Gewebeschämie. Aufgrund der steigenden Alterung der Bevölkerung, einer Akkumulation von kardiovaskulären Risikofaktoren und der erhöhten Morbidität und Mortalität im Alter, ist es bei PaVK-Patienten eine Herausforderung, eine adäquate Therapie sowie Prognose festzulegen (Bonaca & Creager, 2015). Die Leitlinien-gerechte Therapie der PaVK ist abhängig vom klinischen Stadium der Erkrankung, beschrieben durch die Fontaine Klassifikation (Aboyans et al., 2018). Das Fontaine Stadium I ist meist ein Zufallsbefund und gekennzeichnet durch Beschwerdefreiheit bei gleichzeitigem pathologischem Untersuchungsbefund (Pulsstatus, Knöchel-Arm-Index-Messung, Farbkodierte Duplex-Sonographie, Digitale Substraktions-/Computertomographische-/Magnetresonanz-Angiographie). Die therapeutische Strategie besteht in diesem Fall aus einem rein konservativen Vorgehen mit Bewegungstherapie, Lebensstilmodifikationen und optimaler pharmakologischer Einstellung der kardiovaskulären Risikofaktoren. Diese Maßnahmen bilden die Basis der Therapie in jedem weiteren Stadium der PaVK. Charakteristisch für eine PaVK im Stadium II nach Fontaine ist das Auftreten eines belastungsabhängigen und in Ruhe reversiblen Ischämie-Schmerzes. Dieses Symptom wird Claudicatio intermittens genannt, dem Synonym für die „Schaufensterkrankheit“. Das Stadium II erfordert ein individuelles Abwägen zwischen konservativer und/oder interventioneller Therapie (Aboyans et al., 2018; Lawall et al., 2017). Zum konservativen Therapieregime gehört

im Stadium II die strukturierte Bewegungstherapie als effektivste Therapieoption. Auf lange Sicht verhindert das konservative Prozedere häufig nicht die progrediente Ischämie (Pipinos et al., 2007, 2008). Die PaVK im Stadium III ist gekennzeichnet durch Ruheschmerz in der betroffenen Extremität. Das Stadium IV wird definiert durch das Auftreten von trophischen Störungen in Form von Gangrän, Nekrosen und/oder Ulzeration als Zeichen der Wundheilungsstörung. Die Therapie im Stadium III und IV besteht neben der grundsätzlichen Lebensstilmodifikation, pharmakologischen Einstellung und Wundpflege vor allem aus der interventionellen und operativen Therapie zur Revaskularisation der Extremität.

Aufgrund des systemischen Prozesses der Atherosklerose sind Komorbiditäten mit anderen kardiovaskulären Erkrankungen häufig und die damit verbundene Morbidität bereits im Stadium II im Vergleich zur Referenzpopulation deutlich erhöht (Bonaca et al., 2015). Bei Fortschreiten der Erkrankung und dem Übergang in Stadium III und IV ist das Risiko an einem Myokardinfarkt oder Schlaganfall zu sterben sogar bis zu dem Dreifachen erhöht im Vergleich zum Stadium II (Aboyans et al., 2018). Mangels wirksamer Therapiealternativen und dem langfristig nur schwer aufhaltbaren Progress der Erkrankung durch prolongierte Gewebsischämie und konsekutive Myopathie bedarf es der weiteren Suche nach alternativen und zusätzlichen Methoden zur Verhinderung der Aggravation der Atherosklerose und somit auch der PaVK.

1.3 Ischämische Konditionierung auf Distanz

Eine Fülle an Studien und Erkenntnissen zu der sogenannten „ischämischen Konditionierung“ beleuchtet diese potenzielle neue und nicht-invasive Therapiealternative: Hierbei wird durch wiederholte Ischämie- und Reperfusionsepisoden der Blutversorgung eines Organs dasselbe Organ in der Folge bei länger andauernden ischämischen Episoden konditioniert bzw. geschützt (Heusch et al., 2015; Murry et al., 1986). Am besten untersucht und beschrieben ist diese Protektion bislang für die Ischämie des Herzens (Heusch, 2017, 2020; Kleinbongard et al., 2017). Es konnte zudem gezeigt werden, dass auch durch Herz-ferne Stimuli protektive Mechanismen des Herzens aktiviert werden (Kleinbongard et al., 2017).

Die Methode der „ischämischen Konditionierung auf Distanz“ (Engl.: Remote ischemic conditioning; RIC) stellt eine einfach durchführbare und kostensparende Variante dar: Hierbei handelt es sich um wiederholte Ischämie- und Reperfusionsepisoden an einem, dem untersuchten Organ fernen Körperareal. Im Sinne der einfachen Durchführbarkeit dient hierzu das nicht-invasive Aufblasen und Ablassen einer Blutdruckmanschette am Oberarm (Heusch, 2020).

RIC wurde auch an anderen Organen untersucht: ein protektiver Effekt zeigte sich bisher für das Gehirn (Wang et al., 2021; W. Zhao et al., 2019), Nieren (Thielmann et al., 2010), Lunge (Garcia-de-la-Asuncion et al., 2017), Leber (Leung et al., 2015), Skelettmuskulatur (Y. Zhao et al., 2011) und die Mikrozirkulation der Haut (Akkoca et al., 2018).

Da diese Protektion für alle bislang untersuchten Organe gilt, wird bei RIC von einem systemischen Phänomen gesprochen (Heusch, 2020; Kleinbongard et al., 2017).

Der detaillierte Wirkmechanismus des RIC ist bislang nicht bekannt und die Entschlüsselung ist immer noch Gegenstand vieler Studien. Auf der Basis heutiger Erkenntnisse wird der Wirkmechanismus in folgende Ebenen unterteilt: die Stimulus-, Transfer- und Zielorgan-Ebene (Heusch, 2020; Kleinbongard et al., 2017).

Auf Stimulus-Ebene - am Beispiel der Verwendung einer Blutdruckmanschette am Oberarm - entstehen durch wiederholte Ischämie-Intervalle und die während der Reperfusion beobachtete reaktive Hyperämie erhöhte Scherkräfte. Es kommt zur Ausschwemmung diverser humoraler Faktoren in das periphere Kapillargebiet und in den weiteren Kreislauf (Heusch, 2020; Kleinbongard et al., 2017; Rassaf et al., 2014). Weiterhin kommt es zu einer Aktivierung peripherer sensorischer Nerven durch den mechanischen Stimulus und einer lokalen Hypoxie und Azidose (Heusch, 2015). Unklar ist, in welchem Ausmaß diese lokalen Mechanismen eine kausale Rolle in dem systemischen Effekt von RIC spielen (Heusch, 2020; Kleinbongard & Heusch, 2015; Kleinbongard et al., 2017).

Auf Transfer-Ebene steht einerseits der humorale und andererseits der neuronale Transfer des Signals vom Ort des Stimulus zum Zielorgan. Der Nachweis eines humoralen Transfers erfolgte bei isoliert-perfundierten Herzen im Langendorff-Modell nach Transfer von Blut, Plasma oder Plasmadialysat eines vorab RIC ausgesetzten, anderen Individuums. Es zeigte sich eine Reduktion der Infarktgröße nach ausgedehnter Ischämie und Reperfusion (Hildebrandt et al., 2016; Skyschally et al., 2015).

Der Konditionierungseffekt von RIC wurde nicht erzielt bei Durchtrennung der sensorischen Nerven an der RIC-ausgesetzten Extremität und anschließendem Transfer des Blutes (M. Donato et al., 2013) oder bei Durchtrennung der efferenten Neurone des beobachteten Zielorgans (Basalay et al., 2016; Lieder et al., 2018). Daher wird ebenfalls von einer neuronalen Beteiligung am Signaltransfer von RIC ausgegangen (Heusch, 2020; Kleinbongard et al., 2017).

Im Rahmen der Transduktion des RIC kommt es zu Interaktionen der Signalwege auf Stimulus-, Transfer- und Zielorgan-Level (Abb. 1.1) (Kleinbongard et al., 2017). Es ist bislang

unklar, welchen genauen Anteil die jeweiligen Signalwege haben und welcher spezifische Mechanismus Grund für den Effekt von RIC ist (Heusch, 2015).

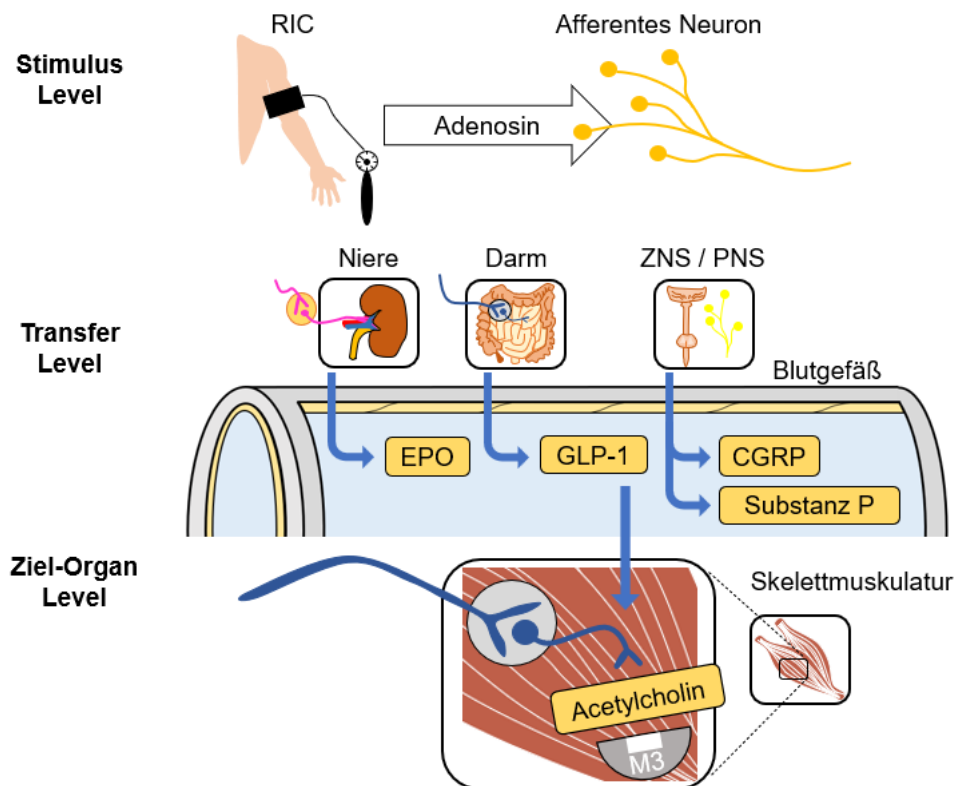


Abb. 1.1: Interaktionen zwischen humoralen und neuronalen Reizweiterleitungen nach RIC (modifiziert aus Kleinbongard et al., 2017). Über Aktivierung peripherer sensorischer Nerven direkt durch ischämische Konditionierung auf Distanz (RIC) oder in der Folge sezernierter humoraler Wirkstoffe, werden Reize zum Rückenmark und von dort in die autonomen Zentren im zentralen Nervensystem (ZNS) geleitet. Hier kommt es zur Aktivierung vagaler Nerven und entsprechender Acetylcholin-mediierter Aktivierung von muskarinergen Acetylcholin M3-Rezeptoren im Endothel der Blutgefäße des Ziel-Organes und weiteren Organen. Diese sezernieren humorale Faktoren wie Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) oder Erythropoetin (EPO), die anschließend Einfluss auf das Ziel-Organ nehmen (Kleinbongard et al., 2017). CGRP: Calcitonin Gene-related Peptid; PNS: peripheres Nervensystem.

Auf Zielorgan-Ebene scheinen gängige intrazelluläre Signalwege an der Fortleitung des Signals nach Eingang über den humoralen und/oder neuronalen Weg beteiligt zu sein (Heusch, 2015). Wie RIC auf verschiedenen Zelltypen wirkt und ob es Organ- und Zell-spezifische Unterschiede der beteiligten Signalwege gibt, ist nicht ausreichend beschrieben. Organ- und Zell-übergreifend scheinen insbesondere die Mitochondrien als Ziel-Organellen von RIC eine

große Rolle zu spielen, da Sie bei intakter Funktion die jeweilige Zelle vor Zelluntergang verschiedener Genese bewahren (Heusch, 2015; Heusch et al., 2008; Kleinbongard et al., 2018). Im Myokard sind bisher die reperfusion injury salvage kinase-, survivor activating factor enhancement- und endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase/Proteinkinase G-Signalwege identifiziert worden, welche Einfluss auf die Erhaltung der Mitochondrienfunktion nehmen (Kleinbongard et al., 2017). Mansour et al. zeigten, dass RIC auch einen protektiven Einfluss auf die Mitochondrienfunktion der Skelettmuskulatur hat (Mansour et al., 2012).

Als systemische molekulare und mechanistische Reaktionen von RIC sind eine Ausschüttung von Substanzen/Mediatoren und daraus resultierende erhöhte Blutflussraten sowie eine Verringerung des Gefäßwiderstandes beschrieben (Enko et al., 2011; Heusch, 2015; Kharbanda et al., 2002; Kleinbongard et al., 2017; Lambert et al., 2016; Shimizu et al., 2007). Stickstoffmonoxid respektive Nitrit ist als eine dieser Substanzen charakterisiert (Grau et al., 2016; Rassaf et al., 2014). Stickstoffmonoxid spielt eine große Rolle in der Pathogenese der endothelialen Dysfunktion und der PaVK (Falconer et al., 2018; Hong et al., 2019; Premont et al., 2020).

Auf der Basis des protektiven Einflusses von RIC auf die Mitochondrien der Skelettmuskulatur und dem systemischen protektiven Effekt von RIC wurde ein potentieller Effekt auf die Gehstrecke und die Durchblutungsparameter von PaVK-Patienten vermutet (Tengfei & Jiangning, 2015).

Bisherige Studien zu RIC bei PaVK-Patienten im Stadium II nach Fontaine zeigten kontroverse Resultate (Tab. 1.1): Saes et al. untersuchten erstmalig die schmerzfreie bzw. relative (RGS) und maximale Gehstrecke (MGS) mittels Laufbandgehtest (LGT) von 18 Patienten mit drei Zyklen Ischämie/Reperfusion für jeweils fünf Minuten im Vergleich zu Placebo. Sie wiesen eine Erhöhung der RGS in Folge der Applikation von RIC nach (Saes et al., 2013). Ahmed et al. verglichen RIC mit Placebo an Patienten mit einer PaVK Stadium II nach Fontaine über eine Dauer von 28 Tagen an 20 Patienten (Ahmed et al., 2019). Hier wurden vier Zyklen von Ischämie/Reperfusion für jeweils fünf Minuten verwendet. Die RGS war mit RIC verbessert, jedoch wurde keine Steigerung durch die Kombination mit dem strukturierten Bewegungstraining nachgewiesen, welches für Fontaine Stadium II einen Grundpfeiler der Therapie darstellt. In beiden Studien konnte kein Effekt auf die MGS nachgewiesen werden. Delagarde et al. verwendeten drei Zyklen von Ischämie/Reperfusion. In 20 Patienten wurde die

MGS zweimalig im Abstand von sieben Tagen nach RIC respektive Placebo ermittelt (Delagarde et al., 2015). Es wurde kein Effekt auf die MGS durch RIC im Vergleich zu Placebo festgestellt. Die RGS wurde nicht untersucht. Ahmed et al. und Shahvazian et al. haben zusätzlich den Knöchel-Arm-Index (Engl.: Ankle-brachial index; ABI) beobachtet und jeweils eine Verbesserung dessen nach RIC festgestellt (Ahmed et al., 2019; Shahvazian et al., 2017). In der Studie von Balin & Kivrak waren RGS und MGS nach täglich repetitivem RIC über 28 Tage mit fünf Zyklen Ischämie/Reperfusion à fünf Minuten erhöht (Balin & Kivrak, 2019).

Tab. 1.1: RIC-Studien mit PaVK-Patienten Stadium II nach Fontaine. ABI: Knöchel-Arm-Index; I/R: Ischämie/Reperfusion; MGS: maximale Gehstrecke; PaVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit; RGS: relative Gehstrecke; RIC: ischämische Konditionierung auf Distanz; T_{cpO₂}: transkutaner Sauerstoffpartialdruck. *p<0,05 vs. Placebo.

Autor, Jahr	Konditionierung	Patientenanzahl (Placebo vs. RIC)	Endpunkt (Placebo vs. RIC)
Saes et al., 2013	Arm: 3x 5/5 min I/R	n=18	Crossover nach 7 Tagen: RGS, 60 min nach RIC ↑* MGS, 60 min nach RIC ↔
Delagarde et al., 2015	Beide Arme: 3x 5/5 min I/R	n=20	Crossover nach 7 Tagen: T _{cpO₂} direkt nach RIC ↔ MGS direkt nach RIC ↔
Shahvazian et al., 2017	Beide Arme: 3x 5/5 min I/R	30 vs. 30	vorher vs. nachher: ABI direkt nach RIC ↑*
Ahmed et al., 2019	Arm: 4x 5/5 min I/R alle 3-4 Tage	10 vs. 10	vorher vs. nach 30 Tagen: RGS direkt nach RIC ↑* ABI direkt nach RIC ↑*
Balin & Kivrak, 2019	Arm: 5x 5/5 min I/R täglich	32 vs. 31	vorher vs. nach 28 Tagen: RGS nach RIC ↑* MGS nach RIC ↑*

Bei gesunden Probanden und Leistungssportlern gibt es Hinweise auf einen protektiven Effekt des RIC auf die Skelettmuskulatur: Paull und van Guilder zeigten in einer Crossover-Studie, dass die Zeit bis zur Erschöpfung zehn trainierter Mittelstreckenläufer während eines mit maximalem Kraftaufwand durchgeführten Lauftests nach Anwendung von vier Zyklen Ischämie/Reperfusion am Oberarm im Vergleich zu Placebo verlängert war (Paull & Van Guilder, 2019). Barbosa et al. zeigten eine Verzögerung der Ermüdung der Unterarm- und Handmuskulatur während eines Handgriff-Tests nach drei Zyklen RIC im Vergleich zu Placebo (Barbosa et al., 2015). Im Gegensatz dazu zeigten Zinner et al. keine Verbesserung der Zeiten in 13 trainierten Probanden in einem multidirektionalen Sprint-Test nach RIC im Vergleich zu Placebo (Zinner et al., 2017). Weitere Studien zeigten Leistungsverbesserungen durch ischämische Konditionierung am Zielorgan auf, untersuchten jedoch nicht die Auswirkungen

des RIC (Bailey et al., 2012; Jean-St-Michel et al., 2011; Patterson et al., 2015).

Zusammengefasst zeigen die bisherigen Veröffentlichungen in Bezug auf PaVK-Patienten, dass sich die RGS durch RIC verlängert, es jedoch keinen Effekt auf die MGS hat. Dieser Nachweis erfolgte jedoch bislang nur in Studien mit täglicher Anwendung von RIC und/oder ohne Crossover-Design. Weiterhin erhielten die subjektiven Beschwerden der Patienten in der Folgezeit nach RIC-Anwendung keine Beachtung (Tab. 1.1). Zudem gab es bislang keinen Hinweis für eine Beeinflussung der Mikrozirkulation in Form des transkutanen Sauerstoffpartialdruckes ($TcpO_2$) durch RIC bei PaVK-Patienten. Die Leistungssteigerung bei gesunden Probanden sowie die vorbeschriebene protektive systemische Wirkung von RIC in Bezug auf ischämisches Gewebe lassen jedoch vermuten, dass eine verbesserte Sauerstoffverfügbarkeit in der Mikrozirkulation einen Teil der Wirkung von RIC darstellen kann.

1.4 Zielsetzung

Die bisherigen teils kontroversen Studienergebnisse zur Anwendung von RIC bei PaVK-Patienten bedürfen weiterer Abklärung bzw. Bestätigung. Aufgrund des fundierten Wissens, dass RIC eine systemische Antwort zu Folge hat und vitales Gewebe gegen ischämischen Schaden schützt, wurde ein positiver Effekt auf die Skelettmuskulatur der unteren Extremität bei PaVK-Patienten vermutet. Aus diesem Grund war das Ziel in der vorliegenden Arbeit, den RIC-Effekt in einer doppelt-verblindeten, prospektiven, randomisierten und kontrollierten Crossover-Studie an Patienten mit einer PaVK im Stadium II nach Fontaine zu untersuchen. Die Verbesserung der Claudicatio intermittens-Intensität und der RGS/MGS wurden als Endpunkte der Studie festgelegt. Eine vorgeschaltete Untersuchung an gesunden Probanden wurde genutzt, um den Effekt des RIC auf den $TcpO_2$ der unteren Extremität in physiologischem Zustand zu evaluieren. Da hierbei keine RGS/MGS bestimmt werden konnte, war die Evaluierung der Mikrozirkulation nach RIC von besonderer Bedeutung. Um entsprechende mikrozirkulatorische Veränderungen zu objektivieren, wurde der $TcpO_2$ auch Spezies-übergreifend mit und ohne RIC quantifiziert.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Geräte

Belastungslaufband Software CASE V6.51	GE Healthcare, Little Chalfont, GBR
Belastungslaufbandsystem GE Marquette CASE T2100	GE Healthcare, Little Chalfont, GBR
Doppler-Messgerät logidop®2	ELCAT GmbH, Wolfrathshausen, DEU
Plethysmograph Vasoquant VQ4000	ELCAT GmbH, Wolfrathshausen, DEU
Sauerstoffpartialdrucksensor E5250	Radiometer GmbH, Kopenhagen, DNK
Blutdruckmanschette bosso K2	bosso, Jungingen, DEU
Littmann Classic II Stethoskop	3M, Saint Paul, MN, USA
Strain Gauge-Sensor (A2914-2545, 35 cm)	ELCAT GmbH, Wolfrathshausen, DEU
Tourniquet	Eigenherstellung
Transkutanes Sauerstoffpartialdruckmessgerät TCM400	Radiometer GmbH, Kopenhagen, DNK
Transmissionssensor (A2915-1211)	ELCAT GmbH, Wolfrathshausen, DEU
Wärmepad, Thermistor-kontrolliert	Panlab S.L.U., Cornellà, ESP
Zehen-Manschette (A2921-1121, B15xL100mm)	ELCAT GmbH, Wolfrathshausen, DEU
Zweischlauch-Manschette (A2921-1781, 37-73 cm)	ELCAT GmbH, Wolfrathshausen, DEU
2.1.2 Chemikalien	
Ketamin- Hydrochlorid	Sanofi-Ceva, Düsseldorf, DEU

Sauerstoff	Air Liquid Austria GmbH, Schwechhat, AUT
Xylazin	WDT, Garbsen, DEU
2.1.3 Verbrauchsmaterial	
Alkohol Pad (70% Ethanol)	3M, Saint Paul, MN, USA
Fixierungsringe (904-898)	Radiometer GmbH, Kopenhagen, DNK
Fixierungskleber	Sonotechnik Karl Klantschnig GmbH, Maria Rain, AUT
Heparin-Natrium-2500-ratiopharm	Ratiopharm GmbH, Ulm, DEU
Kontaktflüssigkeit (943-760)	Radiometer GmbH, Kopenhagen, DNK
Rettungsdecke / metallisiertes Polyethylenterephthalat	Franz Mensch, Buchloe, DEU
Rasierklingen	MÜHLE, Stützensgrün, DEU
Spritzen	B. Braun, Melsungen, DEU
Standardkanülen	
Sterican®	B. Braun, Melsungen, DEU
Ultraschallgel	Roeser Medical GmbH, Bochum, DEU

2.2 Methoden

2.2.1 Voruntersuchungen: Reproduzierbarkeit der Untersuchungsmethoden

Drei gesunde, männliche und freiwillige Probanden im Alter von 21 bis 43 Jahren wurden rekrutiert und an drei aufeinander folgenden Tagen zur selben Uhrzeit am Nachmittag in der Ambulanz der Klinik für Angiologie, Universitätsklinikum Essen, untersucht. Der T_{cp}O₂, die Venenverschlussplethysmographie (VVP), der LGT für fünf Minuten zur Kreislaufanregung sowie vor und nach dem LGT der ABI, der niedrigere Knöcheldruck- (Engl.: Lower ankle-pressure index; LAP) und der Zehen-Arm-Index (Engl.: Toe-brachial index; TBI) wurden von einem gleichbleibenden Untersucher gemessen. Die hier beschriebene Vorgehensweise

wurde jeweils auch so für die PaVK-Patienten verwendet, wenn nicht besonders vermerkt.

2.2.1.1 Transkutaner Sauerstoffpartialdruck

Zwei Sauerstoffpartialdrucksensoren E5250 wurden mittels TCM 400 kalibriert und bei dem liegenden Probanden jeweils auf der Dorsalseite der Füße zwischen erstem und zweitem Metatarsalknochen auf ein vorher mit einem Alkohol Pad gesäubertes und optisch gesundes Hautareal mit Hilfe eines Fixierungsringes und Kontaktflüssigkeit befestigt. Der Sauerstoffpartialdruck des lokalen Hautgewebes wird durch ein vom Hersteller vorgegebenes Programm gemessen und als $TcpO_2$ in mmHg ausgegeben (Huch et al., 1973; Yip, 2015). Der nach zehn Minuten gemessene $TcpO_2$ wurde verwendet.

2.2.1.2 Venenverschlussplethysmographie

Wie von Elford et al. beschrieben, werden die Beine des Probanden in liegender Position oberhalb des Herzniveaus durch Anpassung der verstellbaren Untersuchungsfläche in eine standardisierte, vom Hersteller empfohlene Untersuchungsposition mit leicht gebeugtem Kniegelenk und Unterschenkeln oberhalb des Herzniveaus gelagert (Elford et al., 2000). Zweis Schlauch-Manschetten wurden um das untere Drittel beider Oberschenkel und Strain Gauge (Dt.: Dehnungsmessstreifen)-Sensoren an der Stelle des größten Umfangs um die Waden beider Unterschenkel mit Hilfe von Fixierungsklebern angebracht und mit dem Plethysmographen Vasoquant VQ4000 verbunden. Aufgrund eines Hohlraumes unter den Waden lagen diese nicht auf, sodass eine Verfälschung der Messwerte durch Berührungen mit der Untersuchungsfläche verhindert wurde (Abb. 2.1). Der arterielle Einstrom als $\%/min$ ($ml / 100ml \times min$), die venöse Kapazität als $\%$ ($ml / 100ml$) und der venöse Abstrom ebenfalls als $\%/min$ wurden durch ein vom Hersteller vorgegebenes Programm aus den Volumenveränderungen der Wade während und nach dem venösen Verschluss (von 40 bis 80 mmHg) kalkuliert (Rosfors et al., 2014).

Zur Optimierung der Durchführung der Venenverschlussplethysmographie wurden zusätzlich vier gesunde, männliche Probanden im Alter von 22 bis 36 Jahren rekrutiert und an einem Nachmittag einbestellt. Das jeweilige Prozedere wurde von den teilnehmenden Probanden jeweils dreimal durchgeführt. Es wurde überprüft, ob keine Ruhephase ($n=2$) oder eine Ruhephase von drei Minuten ($n=4$) zwischen Erreichen der Untersuchungsposition und Beginn der Untersuchung eine bessere Reproduzierbarkeit der Messdaten ergibt. Anschließend wurden die Daten ausgewertet.

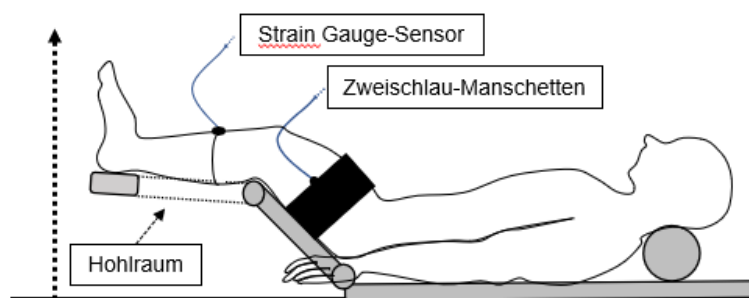


Abb. 2.1: Standardisierte Untersuchungsposition während Venenverschlussplethysmographie. Angewinkelte Knie und elevierte Unterschenkel mit Hohlraum unter der Wade.

2.2.1.3 Knöchel-Arm-, niedrigerer Knöcheldruck- und Zehen-Arm-Index

Wie von Aboyans et al. 2017, Tendera et al. respektive Aboyans et al. 2008 beschrieben, wurden zur Bestimmung des ABI und LAP sowie des TBI in liegender Position der systolische Blutdruck (SBD) der zwei Brachialarterien und der Arteriae dorsalis pedis und tibialis posterior vor und nach dem LGT mittels Blutdruckmanschette und Stethoskop respektive Doppler-Messgerät logidop®2 und der SBD der Großzehen mittels Photoplethysmographie gemessen. Bei Letzterem wurden Zehen-Manschetten um die proximale Phalanx und jeweils ein Transmissionssensor an den akralen Anteil der jeweiligen Großzehe angebracht. Die Zehen-Manschetten und Transmissionssensoren wurden mit dem Plethysmographen Vasoquant VQ4000 verbunden und die Messungen der SBD beider Großzehen durch ein vom Hersteller vorgegebenes Programm durchgeführt (Aboyans et al., 2008; Aboyans et al., 2018; European Stroke et al., 2011).

Der höchste SBD für jedes Sprunggelenk wurde dividiert durch den höchsten SBD beider Arme, um den jeweiligen ABI zu ermitteln (Aboyans et al., 2018). Zur Berechnung des LAP wurde der niedrigere der zwei SBDs für das jeweilige Sprunggelenk durch den höchsten Brachialis SBD dividiert, um Veränderungen zu detektieren, die nicht durch den ABI gezeigt werden (European Stroke et al., 2011). Der TBI entsprach dem Quotienten aus dem SBD der jeweiligen Zehe dividiert durch den höchsten Brachialis SBD. Der TBI erweitert die diagnostische Aussagekraft bei Diabetikern mit normalem oder erhöhtem ABI (Aboyans et al., 2008; Williams et al., 2005).

2.2.1.4 Laufbandgehtest

Der LGT wurde mit einer Geschwindigkeit von 3,0 km/h (Zeit von 0 auf 3,0 km/h in <5 Sekunden) bei einer Steigung von 12° für fünf Minuten zur Anregung des Kreislaufes der gesunden Probanden durchgeführt (Aboyans et al., 2018).

2.2.2 Probandenstudie I: Auswirkungen der ischämischen Konditionierung auf Distanz auf Durchblutungsparameter der unteren Extremität gesunder Probanden

2.2.2.1 Studiendesign

In einer doppelt-verblindeten, prospektiven, randomisierten und kontrollierten Crossover-Versuchsreihe wurden die Probanden untersucht (Abb. 2.2 A, B). Sie wurden zufällig in Gruppe A und Gruppe B mittels Computer-generiertem Plan eingeteilt, der Studienassistent führte die entsprechende Intervention durch (RIC oder Placebo). Der Studienassistent und die Probanden wurden gebeten keine Informationen mit dem Untersucher auszutauschen, welcher nicht über die Intervention informiert wurde. Die Studie wurde durch die zuständige Ethik-Kommission der Universität Duisburg-Essen (No. 14-5995-BO) bestätigt und entspricht dem Konzept der Deklaration von Helsinki. Die Untersuchungen fanden von Juni bis Juli 2015 statt.

2.2.2.2 Studienpopulation, Ein- und Ausschlusskriterien

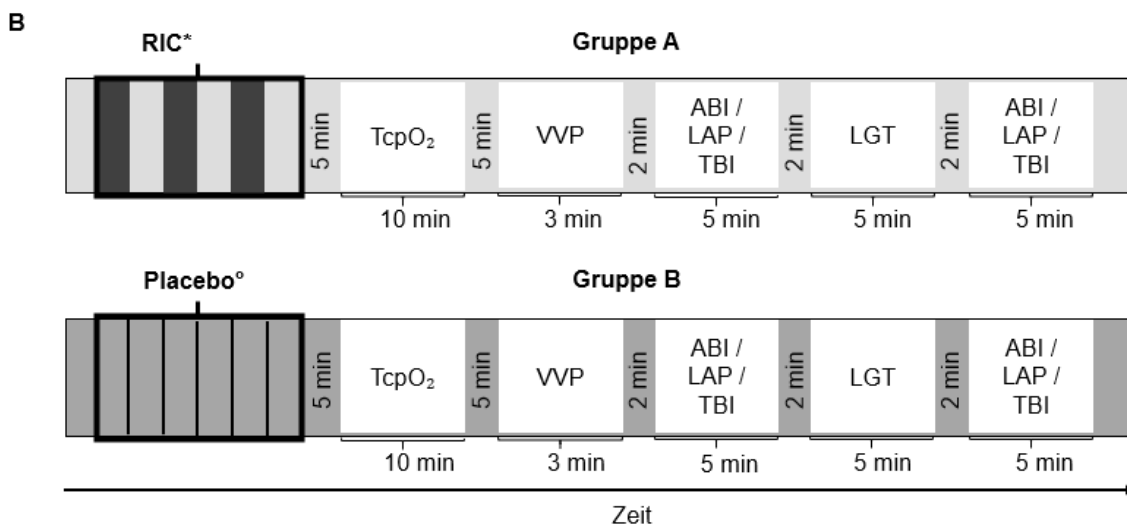
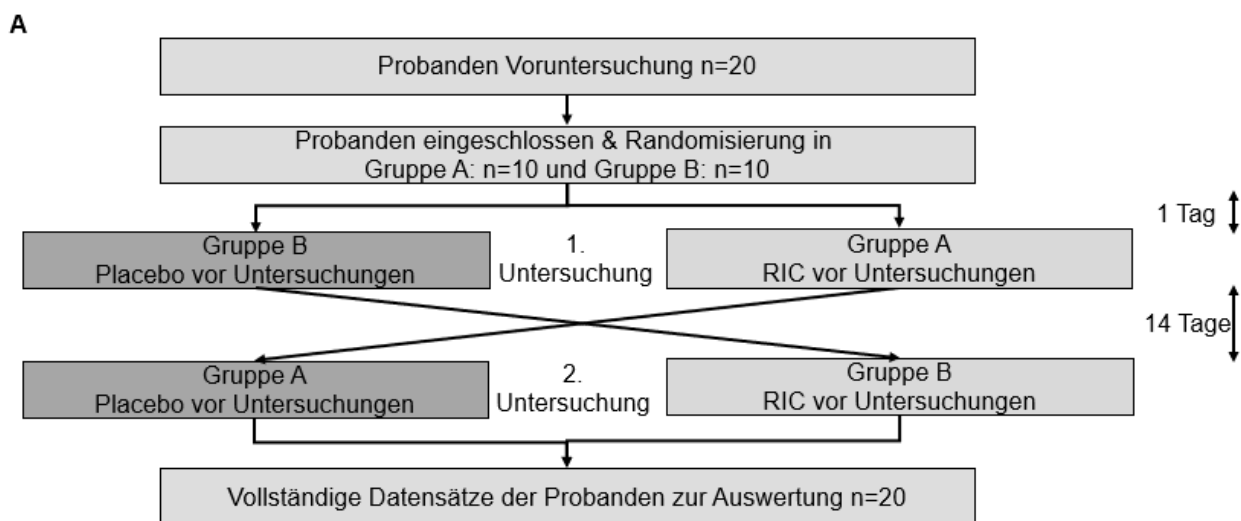
20 gesunde, freiwillige Probanden im Alter von 21 bis 31 Jahren wurden rekrutiert. Einschlusskriterium war ein Alter zwischen 18 und 36 Jahren. Ausschlusskriterien waren Rauchen, Alkoholkonsum, sportliche Tätigkeit (Krafttraining, Joggen, Schwimmen, etc.) bis zu 24 Stunden sowie ein neu aufgetretenes Krankheitsgeschehen innerhalb der letzten Woche vor dem Zeitpunkt der Untersuchungen. Die Ausschlusskriterien wurden vor Beginn jedes Untersuchungstages erneut erfragt. Jeder Proband durchlief am Tag seines Einschlusses die Voruntersuchung durch Messung des $TcpO_2$, VVP mit vorheriger Ruhephase von mindestens drei Minuten, den LGT für fünf Minuten zur Kreislaufanregung sowie vor und nach dem LGT Messungen des ABI, LAP und TBI zur Bestimmung des jeweiligen Status Quo und Ausschluss einer bislang unentdeckten Durchblutungsstörung (Abb. 2.2 A).

2.2.2.3 Studienablauf

Jeder Proband durchlief zwei separate Untersuchungen im Abstand von 14 Tagen. Jeder Proband erhielt vor Beginn entweder RIC oder Placebo entsprechend der Randomisierungsliste mit einem Crossover bei der zweiten Untersuchung. Jeder Untersuchungstag enthielt $TcpO_2$, VVP mit dreiminütiger Ruhephase, den LGT für fünf Minuten zur Kreislaufanregung sowie vor und nach dem LGT Messungen des ABI, LAP und TBI (Abb. 2.2 A, B). Der Untersuchungsbeginn fand jeweils zur gleichen Tageszeit um 16.00 Uhr und bei gleichbleibender Raumtemperatur von ca. 21°C statt.

2.2.2.4 Ischämische Konditionierung auf Distanz

RIC wurde durch den Studienassistenten durchgeführt. Eine Blutdruckmanschette wurde um den linken Arm des Patienten angelegt und bis auf 200 mmHg für fünf Minuten aufgepumpt. Anschließend wurde der Druck für fünf Minuten abgelassen. Dieser Zyklus wurde dreimal durchgeführt und dauerte insgesamt 30 Minuten. Das Prozedere des Placebos war identisch, die Blutdruckmanschette wurde lediglich bis auf 10 mmHg aufgepumpt (Abb. 2.2 B, C).



C

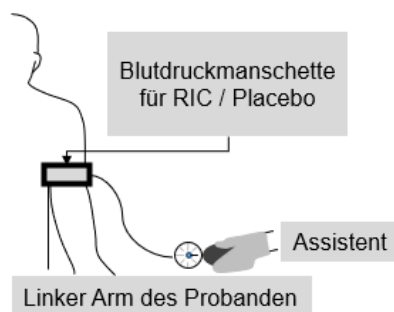


Abb. 2.2 A: Studienablauf-Diagramm Probandenstudie I. Nach Voruntersuchung zur Bestimmung des Status Quo zufällige Zuteilung der Probanden in Gruppe A oder B. Bei 1. Untersuchung Behandlung der Gruppe A mit ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC) und Gruppe B mit Placebo vor Beginn, mit Crossover bei der 2. Untersuchung zwei Wochen später. Alle Daten wurden analysiert und zwischen RIC und Placebo verglichen. **B: Exemplarischer Untersuchungsablauf der Probandenstudie I.** *3 Zyklen: 5 min 200 mmHg Aufpumpen / 5 min Abpumpen, °3 Zyklen: 5 min 10 mmHg Aufpumpen / 5 min Abpumpen. ABI/TBI: Knöchel-/Zehen-Arm-Index; LAP: niedrigerer Knöcheldruck-Index; LGT: Laufbandgehtest; TcpO₂: transkutaner Sauerstoffpartialdruck; VVP: Venenverschlussplethysmographie. **C: Interventions Model.**

2.2.3 Probandenstudie II: Auswirkungen der ischämischen Konditionierung auf Distanz auf den transkutanen Sauerstoffpartialdruck der unteren Extremitäten gesunder Probanden

2.2.3.1 Studiendesign

Das Studiendesign entspricht der Probandenstudie I (Kapitel 2.2.2.1), ein Crossover wurde nicht durchgeführt. Die Studie wurde durch die zuständige Ethik-Kommission der Universität Duisburg-Essen (No. 14-5995-BO) bestätigt und entspricht dem Konzept der Deklaration von Helsinki. Die Untersuchungen fanden von August bis September 2015 statt.

2.2.3.2 Studienpopulation, Ein- und Ausschlusskriterien

20 gesunde Probanden im Alter von 22 bis 36 Jahren wurden rekrutiert. Ein- und Ausschlusskriterien entsprechen der Probandenstudie I (Kapitel 2.2.2.2), eine Voruntersuchung fand nicht statt.

2.2.3.3 Studienablauf

Am Tag des Einschlusses in die Studie erhielt jeder Proband entweder RIC oder Placebo entsprechend der Randomisierungsliste durch den Studienassistenten (Abb. 2.3 A). Es fand zudem die $TcpO_2$ -Messung mit minütlicher Aufzeichnung der Messwerte ab 20 Minuten vor, während und bis 45 Minuten nach der jeweiligen Intervention statt (insgesamt 95 min; Abb. 2.3 B). Gewählte Tageszeit und Raumtemperatur entsprechen der Probandenstudie I (Kapitel 2.2.2.3).

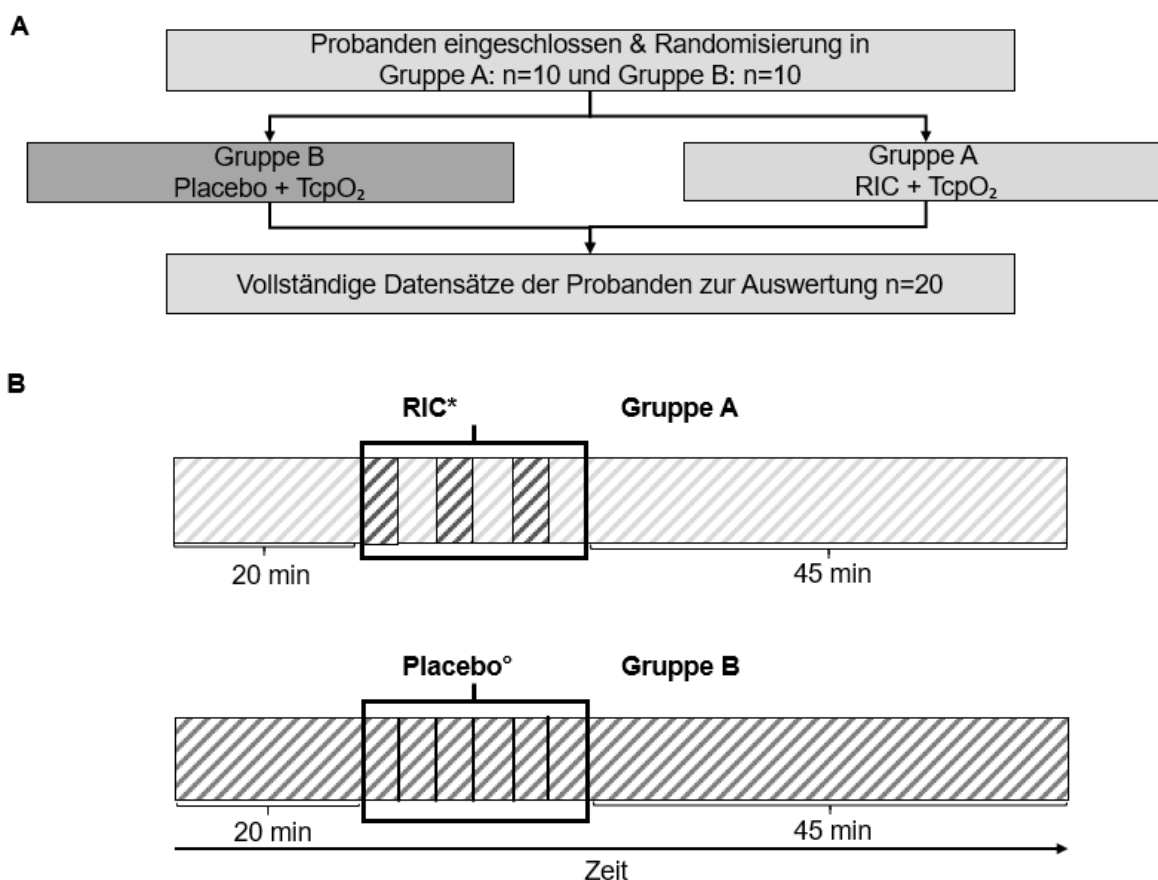


Abb. 2.3 A: Studienablauf-Diagramm Probandenstudie II. Nach Einschluss in die Studie zufällige Zuteilung der Probanden in Gruppe A oder B. Behandlung von Gruppe A wurde mit ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC) und Gruppe B mit Placebo und Bestimmung des transkutanen Sauerstoffpartialdrucks ($TcpO_2$) vor, während und nach der jeweiligen Intervention. Alle Daten wurden analysiert und zwischen RIC und Placebo verglichen. **B: Exemplarischer Untersuchungsablauf Probandenstudie II.** Ab 20 min vor Beginn bis 45 min nach Beendigung der jeweiligen Intervention Bestimmung des $TcpO_2$ (□/▨; insgesamt 95 min). *3 Zyklen: 5 min 200 mmHg Aufpumpen / 5 min Abpumpen, °3 Zyklen: 5 min 10 mmHg Aufpumpen / 5 min Abpumpen.

2.2.4 Auswirkungen der ischämischen Konditionierung auf Distanz auf den transkutanen Sauerstoffpartialdruck der Haut im Tiermodell

2.2.4.1 Akutversuche im Tiermodell

Die Genehmigung für die Durchführung der ischämischen Konditionierung auf Distanz im Tiermodell erfolgte durch das Bioethik-Komitee des Regierungsbezirks Düsseldorf (G1625/17, G1655/18) (Lieder et al., 2019) .

2.2.4.2 Experimentelle Präparation und abdominelle transkutane Sauerstoffpartialdruckmessung

Es wurden 12 Lewis Ratten (männlich, 200-380 g, 10-16 Wochen alt) vom lokalen Tierlaboratorium erworben. Jedes Tiermodell wurde mittels intraperitonealer Injektion von Ketamin/Xylazin (100 mg/10 mg pro kg Körpergewicht) narkotisiert. Spontan atmende Tiere erhielten Sauerstoff-angereicherte Luft, wurden auf einem Thermistor-kontrollierten Wärmepad gelagert und mit Rettungsfolie bedeckt, um Hypothermien zu vermeiden. Das Thermistor-kontrollierte Wärmepad wurde eingestellt, um die rektal gemessene Körpertemperatur zwischen 36,5 und 38,0°C zu stabilisieren. Die Tiefe der Narkose wurde regelmäßig durch Testung des Fuß-Zurückzieh-Reflexes sowie Überwachung der Atem- und Herzfrequenz kontrolliert. Bei stabiler Kreislauf- und Atemlage der Ratten wurde die abdominelle Behaarung mit einer Rasierklinge entfernt. Anschließend wurde am Ober- und Unterbauch jeweils ein Fixierungsring angebracht, mit Kontaktflüssigkeit gefüllt und mit dem Sauerstoffpartialdrucksensor E5250 des transkutanen Sauerstoffpartialdruckmessgeräts TCM 400 verknüpft. Die minütliche Feststellung des $TcpO_2$ erfolgte von 15 Minuten vor Beginn bis 25 Minuten nach Beendigung des RIC/Placebo für insgesamt 70 Minuten (Abb. 2.4 A, B, C). Die Versuche im Tiermodell wurden zusammen mit Frau Petra Gres durchgeführt.

2.2.4.3 Protokoll der ischämischen Konditionierung auf Distanz

Vor Beginn des RIC wurde ein Drittel der initialen Medikamentendosis von Ketamin/Xylazin intraperitoneal injiziert zum Erhalt der Narkosetiefe. Ein Tourniquet wurde um die linke hintere Extremität platziert (Abb. 2.4 C). RIC wurde eingeleitet durch die Straffung des Tourniquets. Eine dunkelblaue Hautfärbung wurde als Indikator für die Bein-Ischämie angesehen. Die Position des Tourniquets wurde markiert. Die Reperfusion wurde durch ein schnelles Entfernen des Tourniquets für jeweils 5 Minuten eingeleitet. Der Ischämie/Reperfusions-Zyklus wurde dreimal durchgeführt.

2.2.4.4 Placebo

Das Protokoll war identisch zu dem RIC-Protokoll; die Ausnahme war das Auslassen der Straffung des Tourniquets (Abb. 2.4 B, C).

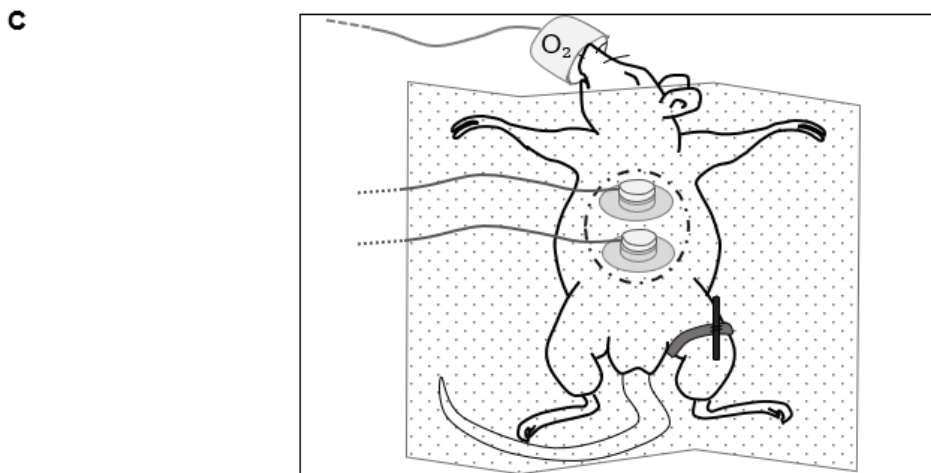
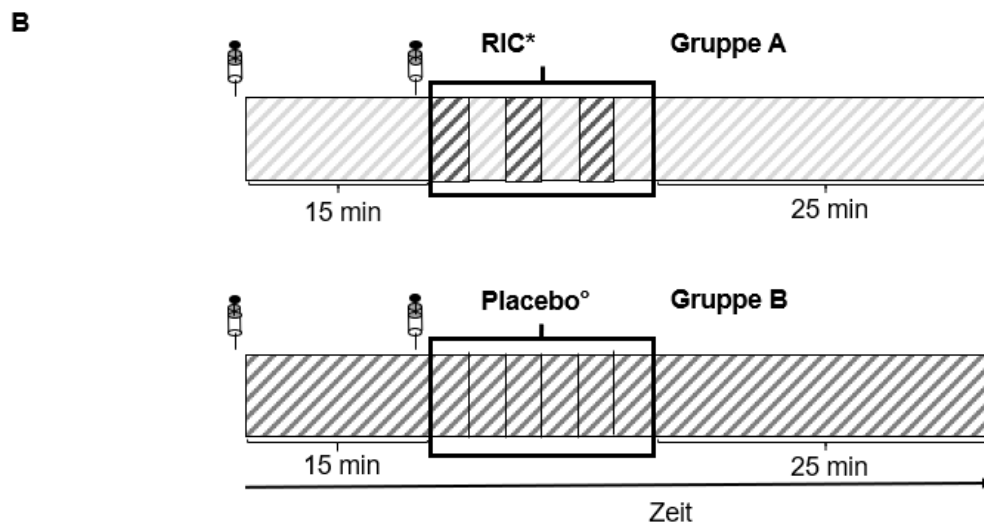
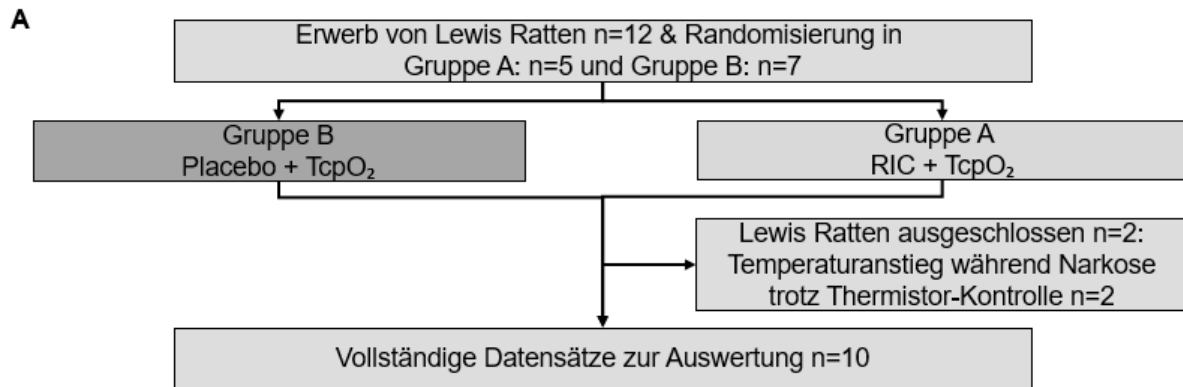


Abb. 2.4 A: Studienablauf-Diagramm des Tiermodells. Nach Erwerb der Lewis Ratten, Zuteilung in Gruppe A oder B. Behandlung von Gruppe A mit ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC) und die Gruppe B mit Placebo und Bestimmung des transkutanen Sauerstoffpartialdruck (T_{cp}O₂) vor, während und nach der jeweiligen Intervention. Alle Daten wurden analysiert und zwischen RIC und Placebo verglichen. **B, C: Exemplarischer Untersuchungsablauf des Tiermodells und Präparations- sowie Interventionsmodell für RIC bzw. Placebo.** Narkotisierung mittels intraperitonealer Injektion von Ketamin/Xylazin (100 mg/10 mg pro kg Körpergewicht; 1.Spritzensymbol) und Aufsättigung vor Beginn der jeweiligen Intervention mit einem Drittel der initialen Medikamentendosis (2.Spritzensymbol). Lagerung auf dem Thermistor-kontrollierten Wärmepad, Bedeckung mit Rettungsfolie (☐) sowie Versorgung mittels Nasensonde und einem Sauerstoff-Umgebungsluft-gemisch (O₂). Rasur des Abdomens im vorgegebenen Bereich (----), Anbringen von zwei Fixierungsringen und der Sauerstoffpartialdruck-Sensoren im oberen und unteren Abdomen. Bestimmung des T_{cp}O₂ ab 15 min vor Beginn bis 25 min nach Beendigung der jeweiligen Intervention (▨/▩, insgesamt 70 min). Platzierung eines Tourniquets um die linke hintere Extremität für die jeweilige Intervention. *3 Zyklen: 5 min Tourniquet-Straffung / 5 min Reperfusion, °3 Zyklen: 5 min Tourniquet anlegen ohne Straffung / 5 min kein Tourniquet.

2.2.5 Patientenstudie: Auswirkungen der ischämischen Konditionierung auf Distanz auf die Gehstrecke von Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit im Stadium II nach Fontaine

2.2.5.1 Studiendesign

Das Studiendesign entsprach der Probandenstudie I (Kapitel 2.2.2.1). Die Studie wurde durch die zuständige Ethik-Kommission der Universität Duisburg-Essen (No. 14-6035-BO) bestätigt und entspricht dem Konzept der Deklaration von Helsinki. Die Untersuchungen fanden von Juni 2015 bis März 2017 statt.

2.2.5.2 Studienpopulation, Ein- und Ausschlusskriterien

23 Patienten mit diagnostizierter PaVK im Stadium II nach Fontaine wurden in der Ambulanz der Klinik für Angiologie, Universitätsklinikum Essen, rekrutiert. Nach Einwilligung zur Studienteilnahme wurden die Patienten voruntersucht. LGT mit der RGS und MGS sowie ABI, LAP und TBI vor und nach dem LGT wurden zur Bestätigung ihres PaVK-Stadiums bestimmt (Abb. 2.5 A). Einschlusskriterien waren Claudicatio intermittens plus ABI<0,9 im symptomatischen Bein oder ABI-Abfall von 20% nach LGT oder ABI>0,9, jedoch TBI<0,7 nach LGT. Zu den Ausschlusskriterien gehörten der Zustand nach Amputation, akute Beinischämie, instabile Angina pectoris, Ruhedyspnoe, dekompensierte Herzinsuffizienz, chronisch

obstruktive Lungenerkrankung, systolischer Brachialis-Blutdruck in Ruhe >180 mmHg, Schwindel in Ruhe, unbehandelte tiefe Beinvenenthrombose, aktive Infektion oder eine andere akute Krankheit, die weiterführender Diagnostik oder Therapie bedarf. 20 von den 23 rekrutierten Patienten konnten in die Studie eingeschlossen werden (Abb. 2.5 A).

2.2.5.3 Studienablauf

Der Studienablauf entsprach der Probandenstudie I (Kapitel 2.2.2.3, Abb. 2.5 A). Zusätzlich wurden während den T_{cpO_2} -Messungen die Messwerte minütlich aufgezeichnet, die venöse Kapazität und venöser Abfluss nicht mitbestimmt und der LGT mit einer Geschwindigkeit von 2,5-3,0 km/h (je nach Gehfähigkeit des Patienten) sowie einer Steigung von 12° bis zur Bestimmung der RGS und der MGS durchgeführt (Abb. 2.5 B). Nach Beendigung der Untersuchungen wurden die Patienten in einem einmaligen Follow-up über den subjektiven Verlauf ihrer Symptome nach der Anwendung von RIC im Vergleich zu der Zeit vor Einschluss in die Studie sowie zu der Zeit nach Placebo befragt (Abb. 2.5 A). Sie wurden gebeten die Claudicatio intermittens-Intensität in der ersten Woche nach RIC sowie nach Placebo auf einer numerischen Rating-Skala von null (kein Schmerz) bis zehn (schlimmster vorstellbarer Schmerz) zu bewerten (Herr and Garand, 2001). Sie wurden gefragt, ob und wie sehr – leicht, mittel oder stark - sich ihre RGS subjektiv verändert habe. Zuletzt wurden sie befragt, ob sie es sich vorstellen könnten, RIC selbstständig und regelmäßig zu Hause anzuwenden.

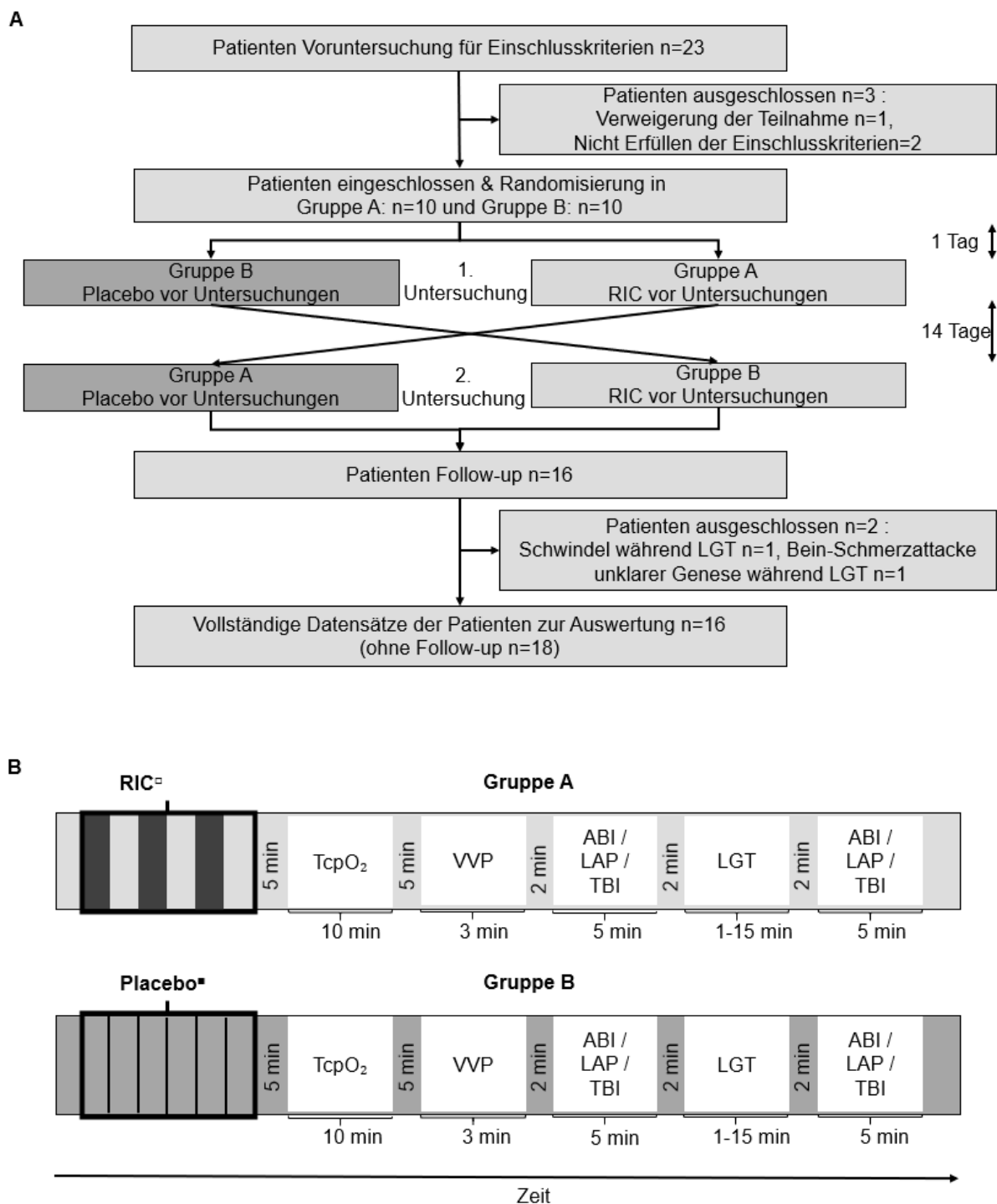


Abb. 2.5 A: Studienablauf-Diagramm der Patientenstudie. Nach Voruntersuchung und Erfüllen der Einschlusskriterien zufällige Zuteilung der Patienten in Gruppe A oder B. Bei 1. Untersuchung Behandlung der Gruppe A mit ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC) und Gruppe B mit Placebo vor Beginn, mit Crossover bei der 2. Untersuchung zwei Wochen später. Nach Beendigung der Untersuchungen Befragung der Patienten in einem Follow-up. Alle Daten wurden analysiert und

zwischen RIC und Placebo verglichen. LGT: Laufbandgehtest. **B: Exemplarischer Untersuchungsablauf der Patientenstudie.** □ 3 Zyklen: 5 min 200 mmHg Aufpumpen / 5 min Abpumpen; ■ 3 Zyklen: 5 min 10 mmHg Aufpumpen / 5 min Abpumpen. ABI/TBI: Knöchel-/Zehen-Arm-Index; LAP: niedrigerer Knöcheldruck-Index; T_{cpO₂}: transkutaner Sauerstoffpartialdruck; VVP: Venenverschlussplethysmographie.

2.3 Statistische Analyse

Kontinuierliche Daten sind als Mittelwerte ± Standardfehler, diskrete Daten als absolute Zahlen angegeben. Die Ergebnisse des ABI, LAP, TBI, arterieller Einstrom, venöse Kapazität, venöser Abstrom und T_{cpO₂} wurden bei den Voruntersuchungen, der Probandenstudie I und der Patientenstudie zwischen drei, respektive, zwei Untersuchungstagen nach RIC und Placebo mittels Zweifache Varianzanalyse (Engl.: analysis of variance; ANOVA) (Intervention, Beinseite) wiederholter Messungen verglichen. Zur Optimierung der VVP wurden für arteriellen Einstrom, venöse Kapazität und venösen Abstrom die Standardfehler der Mittelwerte aus drei Untersuchungstagen zwischen dem Vorgehen mit und ohne Ruhephase mittels Fisher LSD, Einfaktorieller ANOVA wiederholter Messungen verglichen. In der Probandenstudie II wurde der Mittelwert aus den T_{cpO₂}-Messwerten der 15. bis 20. Minute, in der Versuchstierstudie aus den T_{cpO₂}-Messwerten der 10. bis 15. Minute und in der Patientenstudie der T_{cpO₂}-Messwert der ersten Minute als Baseline festgelegt, die jeweils folgenden Messwerte auf die Baseline standardisiert und als Prozentzahl dargestellt. In der Probandenstudie II und der Versuchstierstudie wurde zwischen RIC und Placebo durch Bonferroni t-Test, Zweifache ANOVA (Intervention, Zeitpunkt) wiederholter Messungen verglichen, in der Patientenstudie durch Bonferri t-Test, Dreifache ANOVA (Intervention, Zeitpunkt, Beinseite). In der Patientenstudie wurde die MGS durch Einfaktorielle ANOVA wiederholter Messungen und die RGS durch Bonferri t-Test, Einfaktorielle ANOVA wiederholter Messungen nach RIC und Placebo verglichen. Die Claudicatio intermittens-Intensität wurde mittels Holm-Sidak Methode, Einfaktorieller ANOVA analysiert. Unterschiede zwischen den Messwerten wurden ab einem p-Wert <0,05 als signifikant eingestuft. Alle statistischen Analysen wurden mit Hilfe von SigmaStat 3.5 durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Reproduzierbare Messergebnisse und Verbesserung der VVP durch Ruhephase

TcpO₂, arterieller Einstrom, venöse Kapazität, venöser Abstrom, ABI, LAP und TBI ließen sich an drei aufeinander folgenden Untersuchungstagen ohne relevante Unterschiede reproduzieren (Tab. 3.1). Die VVP zeigte jedoch eine erhöhte Streuung, sodass weitere Untersuchungen zur Verringerung der Streubreite und Erhöhung der Reproduzierbarkeit eingeleitet wurden.

Tab. 3.1: Reproduzierbarkeit der Untersuchungsergebnisse an gesunden Probanden. Untersuchungsergebnisse an drei aufeinander folgenden Tagen bei gleichen Untersuchungsbedingungen. TcPO₂: transkutaner Sauerstoffpartialdruck. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte ± Standardfehler. Vergleich durch Zweifache ANOVA (Beinseite, Tag).

Untersuchungen (n=3)	1. Tag Untersuchung		2. Tag Untersuchung		3. Tag Untersuchung		p-Wert
	rechts	links	rechts	links	rechts	links	
TcpO ₂ [mmHg]	38±3,2	51±2,7	47±4,5	51±3,8	41±0,7	58±5,4	0,26
Arterieller Einstrom [%/min]	2,3±0,4	1,3±0,1	2,0±0,7	2,4±1,1	3,3±0,3	2,9±0,9	0,17
Venöse Kapazität [%]	3,2±0,7	2,4±0,3	3,0±0,7	3,4±0,6	4,0±0,6	3,4±0,6	0,22
Venöser Abstrom [%/min]	58±17,8	53±9,5	81±19,7	88±15,7	77±18,5	70±13,1	0,14
Vor dem Laufbandgehtest							
Knöchel-Arm-Index	1,2±0,0	1,2±0,1	1,3±0,0	1,2±0,0	1,3±0,0	1,3±0,0	0,61
Niedr. Knöcheldruck-Index	1,2±0,0	1,1±0,0	1,2±0,0	1,1±0,1	1,2±0,0	1,2±0,0	0,32
Zehen-Arm-Index	1,2±0,2	1,4±0,2	1,1±0,1	1,3±0,2	1,2±0,2	1,6±0,2	0,43
Nach dem Laufbandgehtest							
Knöchel-Arm-Index	1,2±0,1	1,2±0,0	1,2±0,1	1,2±0,1	1,2±0,1	1,3±0,1	0,75
Niedr. Knöcheldruck-Index	1,1±0,0	1,1±0,0	1,1±0,1	1,2±0,1	1,1±0,1	1,2±0,0	1,00
Zehen-Arm-Index	1,2±0,1	1,4±0,2	1,1±0,1	1,3±0,1	1,1±0,1	1,3±0,1	0,13

Bei der VVP wurden die Standardfehler der Mittelwerte der drei Untersuchungen ohne und mit Ruhephase verglichen. Für alle drei Messparameter (arterieller Einstrom, venöse Kapazität, venöser Abstrom) wurde eine bessere Reproduzierbarkeit nach der dreiminütigen Ruhephase festgestellt (Tab. 3.2). Aus diesem Grund wurde die Ruhephase auch in den folgenden Studien angewendet.

Tab. 3.2: Venenverschlussplethysmographie mit und ohne Ruhephase im Vergleich. Standardfehler (SEM) der Mittelwerte sind niedriger mit dreiminütiger Ruhephase als ohne Ruhephase. VVP: Venenverschlussplethysmographie. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte \pm Standardfehler. **p=0,043**. Vergleich durch Fisher LSD Einfaktorielle ANOVA.

	1. Untersuchung		2. Untersuchung		3. Untersuchung		SEM der Mittelwerte	
	Rechts	links	Rechts	Links	Rechts	Links	Rechts	Links
VVP ohne Ruhephase (n=2)								
Arterieller Einstrom [%/min]	3,3 \pm 0,8	3,5 \pm 0,3	2,6 \pm 0,0	2,2 \pm 0,3	2,0 \pm 1,0	2,9 \pm 0,8	0,38	0,36
Venöse Kapazität [%]	3,6 \pm 0,9	3,6 \pm 0,4	3,3 \pm 0,8	3,0 \pm 0,1	3,3 \pm 1,0	3,4 \pm 0,2	0,10	0,18
Venöser Abstrom [%/min]	69,0 \pm 15,0	70,4 \pm 1,55	62,9 \pm 12,0	67,4 \pm 7,4	63,0 \pm 21,0	73,4 \pm 10,5	2,02	1,50
VVP mit 3 min Ruhephase (n=4)								
Arterieller Einstrom [%/min]	2,3 \pm 0,4	2,2 \pm 0,5	2,3 \pm 0,6	2,3 \pm 0,5	2,3 \pm 0,3	2,4 \pm 0,4	0,01	0,06
Venöse Kapazität [%]	3,6 \pm 0,4	3,2 \pm 0,3	3,5 \pm 0,5	3,3 \pm 0,3	3,5 \pm 0,4	3,5 \pm 0,3	0,03	0,09
Venöser Abstrom [%/min]	61,5 \pm 8,6	61,5 \pm 10,1	56,2 \pm 9,6	59,9 \pm 11,4	56,9 \pm 9,1	61,5 \pm 10,8	1,66	0,53

3.2 Tendenzielle Erhöhung des TcPO₂ nach RIC an gesunden Probanden

Für 20 gesunde Probanden wurden der TcPO₂, arterieller Einstrom, venöse Kapazität, venöser Abfluss sowie ABI, LAP und TBI nach RIC und Placebo ermittelt. Die Untersuchungsergebnisse nach RIC und Placebo wurden miteinander verglichen.

Arterieller Einstrom, venöse Kapazität, venöser Abstrom, ABI, LAP und TBI zeigten keinen Unterschied (Tab. 3.3). Der TcPO₂ war leicht, jedoch nicht signifikant erhöht nach RIC im Vergleich zu Placebo (Abb. 3.1).

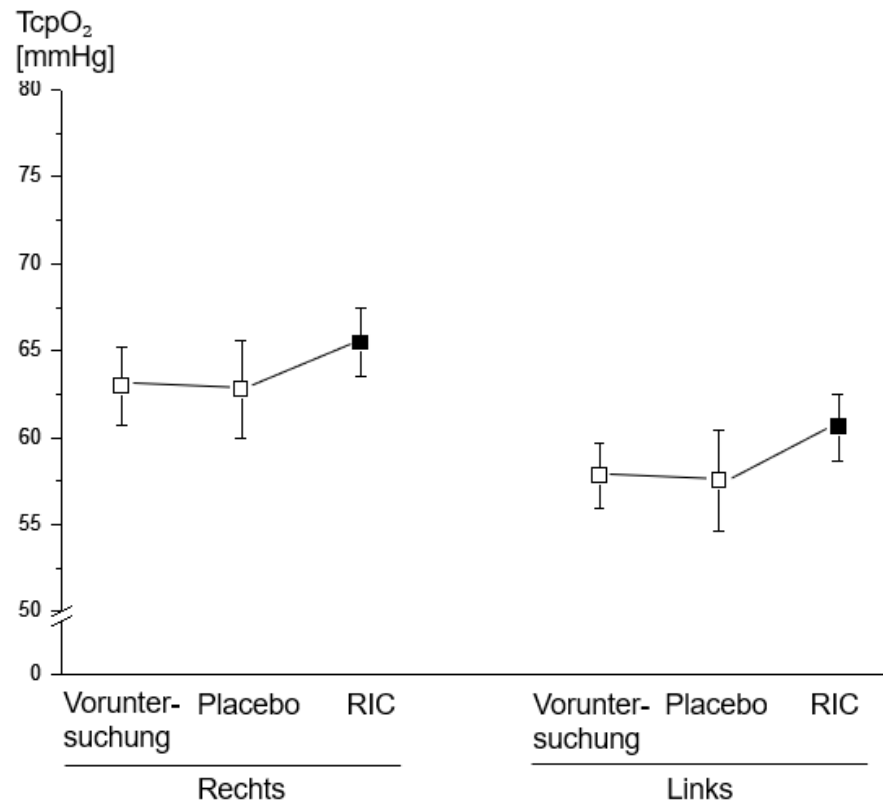


Abb. 3.1: TcpO₂ nach RIC im Vergleich zu Placebo in der Probandenstudie I. Keine signifikante Erhöhung des transkutanen Sauerstoffpartialdruckes (TcpO₂). TcpO₂ n=20: □ Voruntersuchung / Placebo, ■ RIC. RIC: ischämische Konditionierung auf Distanz. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte ± Standardfehler. Placebo vs. RIC p=0,252. Vergleich durch Zweifache ANOVA (Beinseite, Intervention).

Tab. 3.3: Untersuchungsergebnisse der Probandenstudie I. Keine relevanten Unterschiede im Vergleich zwischen ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC) und Placebo. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte \pm Standardfehler. Vergleich durch Zweifache ANOVA (Beinseite, Intervention).

Untersuchungen (n=20)	Voruntersuchung		Placebo		RIC	
	rechts	links	rechts	links	rechts	links
Arterieller Einstrom [%/min]	2,5 \pm 0,2	2,0 \pm 0,2	2,5 \pm 0,3	2,1 \pm 0,2	2,1 \pm 0,2	1,8 \pm 0,1
Venöse Kapazität [%]	3,3 \pm 0,2	3,1 \pm 0,2	3,4 \pm 0,3	3,2 \pm 0,2	3,3 \pm 0,2	3,0 \pm 0,2
Venöser Abstrom [%/min]	60,8 \pm 4,5	63,7 \pm 4,6	62,5 \pm 4,0	61,4 \pm 3,6	61,1 \pm 4,0	58,4 \pm 3,3
Vor dem Laufbandgehtest						
Knöchel-Arm-Index	1,1 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0	1,2 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0
Niedr. Knöcheldruck-Index	1,1 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0
Zehen-Arm-Index	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,1	1,1 \pm 0,0	1,1 \pm 0,1	1,0 \pm 0,0	1,1 \pm 0,1
Nach dem Laufbandgehtest						
Knöchel-Arm-Index	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,1 \pm 0,0
Niedr. Knöcheldruck-Index	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
Zehen-Arm-Index	0,9 \pm 0,0	1,0 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0

3.3 Erhöhung des prozentualen TcPO₂ nach RIC an gesunden Probanden

Für 20 Probanden wurde der prozentuale TcPO₂ nach RIC bzw. Placebo ermittelt. Die prozentualen TcPO₂-Werte nach RIC und Placebo wurden analysiert und miteinander verglichen. Der prozentuale TcPO₂ normiert auf die Baseline nach 15. bis 20. Minute war erhöht während und nach RIC im Vergleich zu Placebo (Abb. 3.2).

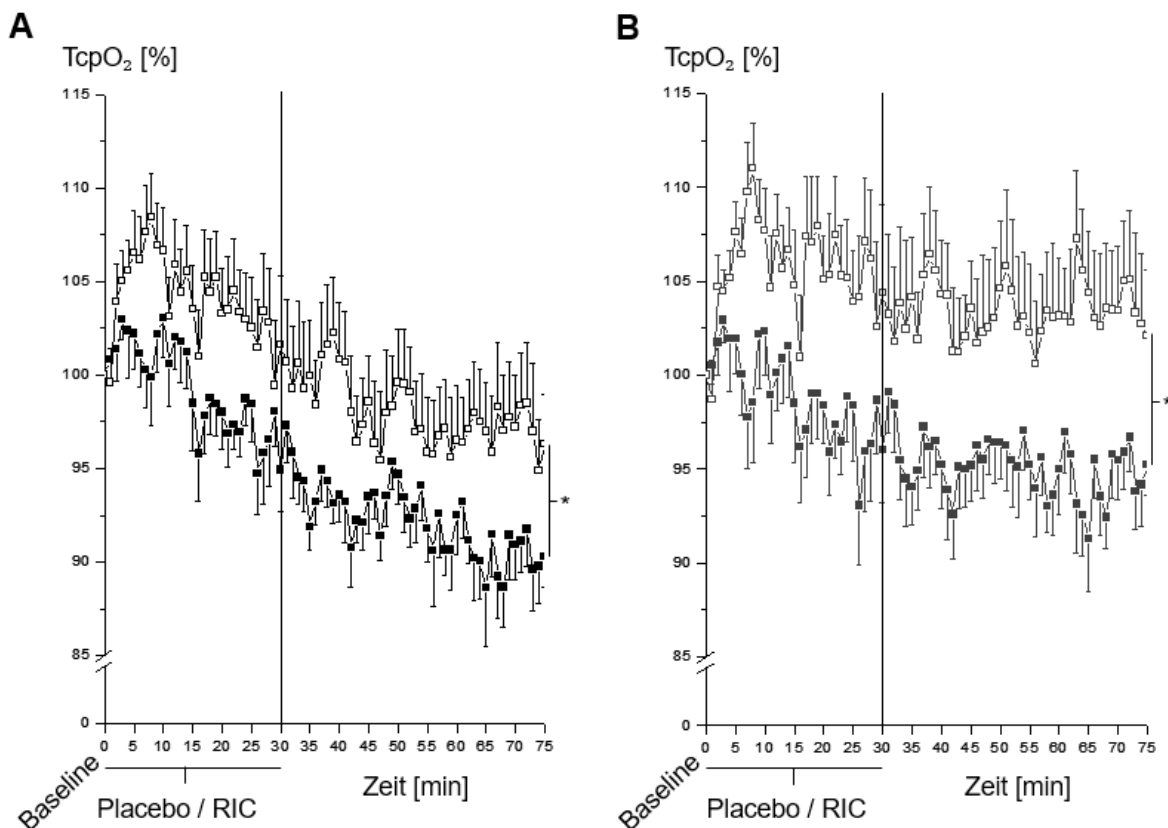


Abb. 3.2: Prozentualer TcPO₂ nach RIC im Vergleich zu Placebo in der Probandenstudie II. Signifikante Erhöhung des prozentualen transkutanen Sauerstoffpartialdruckes (TcPO₂) in beiden Beinen nach ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC). **A:** Rechtes Bein n=18: ■ Placebo, □ RIC, **B:** linkes Bein n=18: ■ Placebo, □ RIC. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte ± Standardfehler. ***p=0,026**. Vergleich durch Bonferri t-Test, Zweifache ANOVA (Intervention, Zeitpunkt).

3.4 Erhöhung des prozentualen TcPO₂ über der Bauchwand nach RIC im Tiermodell

Von den zwölf untersuchten Tiermodellen wurden zwei aus der Studie ausgeschlossen. Bei beiden wurde ein Temperaturanstieg während der Narkose trotz Thermistor-Kontrolle festgestellt. Es wurden die TcPO₂-Ergebnisse für zehn Tiermodelle nach RIC und Placebo ermittelt, analysiert und verglichen.

Die Baseline wurde aus dem Mittelwert der TcPO₂-Werte zwischen der 10. bis 15. Minute berechnet. Der Mittelwert der TcPO₂-Werte beider Sauerstoffpartialdruckensoren wurde auf die Baseline normiert und als prozentualer TcPO₂ dargestellt. Dieser war erhöht nach RIC im Vergleich zu Placebo (Abb. 3.3).

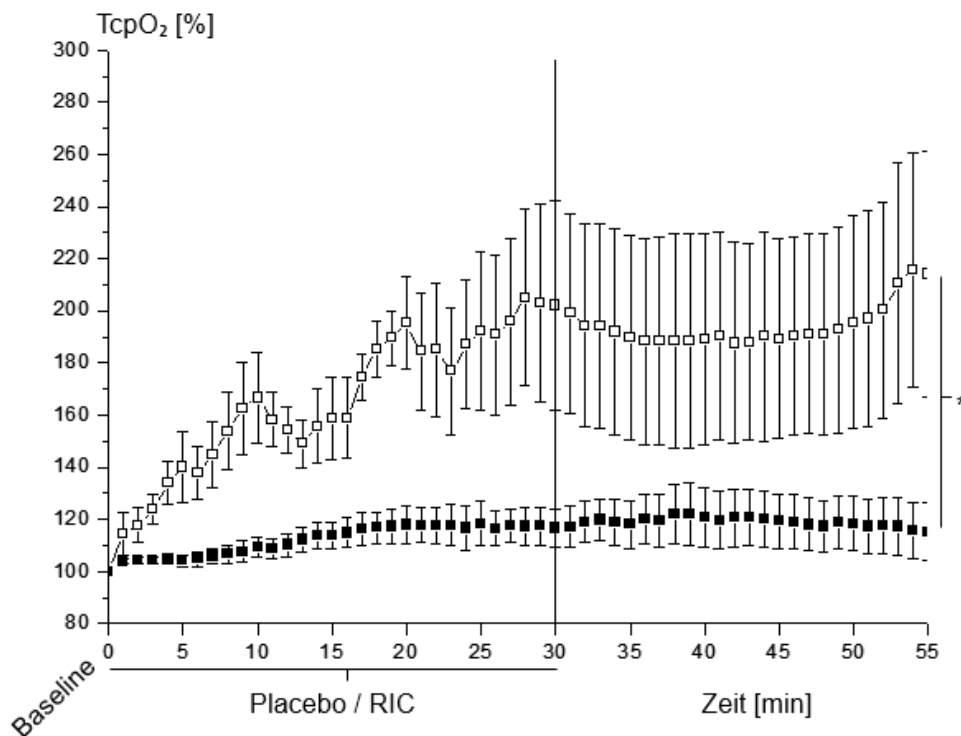


Abb. 3.3: Prozentualer TcpO₂ gemessen an der rasierten Bauchwand im Tiermodell während und nach RIC im Vergleich zu Placebo. Signifikante Erhöhung des prozentualen transkutanen Sauerstoffpartialdruckes (TcpO₂) im Vergleich zur Baseline ermittelt aus dem Mittelwert beider Sauerstoffpartialdruckensensoren nach ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC). Lewis-Ratten: ■ Placebo (n=6), □ RIC (n=4). Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte ± Standardfehler. ***p=0,023**. Vergleich durch Bonferri t-Test, Zweifache ANOVA (Intervention, Zeitpunkt).

3.5 Patientenstudie

3.5.1 Patientencharakteristika und PaVK-Status

Die Patientencharakteristika und der PaVK-Status wurden analysiert und aufgelistet (Tab. 3.4, Tab. 3.5). Zwei Patienten mussten aus der Studie ausgeschlossen werden: Ein Patient bemerkte Schwindel bei systolischem Blutdruck >210mmHg. Ein weiterer Patient bemerkte eine akute, ihm bisher unbekannte Schmerzattacke der unteren Extremität während des LGT.

Tab. 3.4: Patientencharakteristika. BMI: Body-Maß Index. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte \pm Standardfehler, diskrete Daten als absolute Zahlen.

Demographie	Anzahl	Medikation	Anzahl
Alter (Jahre)	66.3 \pm 2.1	Aspirin	18
Geschlecht (männlich / weiblich)	17 / 3	Clopidogrel	11
Kardiovaskuläre Risikofaktoren		Prasugrel	0
Arterieller Bluthochdruck	20	Ticagrelor	0
Adipositas (BMI > 29.9)	4	Cilostazol	3
Raucher (ja / Ex-)	11 / 5	Orale Antikoagulantien	0
Diabetes mellitus	10	Nitrate	1
Hypercholesterinämie	18	Angiotensin-Converting-Enzym-Hemmer	14
Positive Familienanamnese für Herzerkrankungen	14	Angiotensin-Rezeptor-Blocker	6
Vorerkrankungen / Komorbiditäten		Kalzium-Antagonist	5
Myokardinfarkt	4	Beta-Blocker	10
Koronare Herzkrankheit	12	Diuretika	11
Angina pectoris	0	Statine	18
Perkutane transluminale koronare Angioplastie	7	Orale Antidiabetika	8
Aortokoronarer Bypass	7	Insulin	3
Stenting der unteren Extremität	13		
Bypass der unteren Extremität	5		
Chronisch renale Insuffizienz	4		
Schlaganfall	0		
Karotisstenose	3		

Tab. 3.5: PaVK-Status der Patienten vor Studienbeginn. PaVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte \pm Standardfehler, diskrete Daten als absolute Zahlen.

Untersuchungen PaVK-Status	Rechts	Links
	Knöchel-Arm-Index	0.76 \pm 0.22
Niedrigerer Knöcheldruck-Index	0.69 \pm 0.22	0.65 \pm 0.21
Zehen-Arm-Index	0.60 \pm 0.17	0.72 \pm 0.26
Relative Gehstrecke [m]	84 \pm 51	
Maximale Gehstrecke [m]	155 \pm 75	
PaVK Stadium Fontaine II	20	

3.5.2 Kein Unterschied von arteriellem Einstrom, ABI, LAP und TBI nach RIC

Für 18 Patienten wurden T_{cp}O₂, arterieller Einstrom, ABI, LAP und TBI und RGS/MGS nach RIC und Placebo ermittelt, analysiert und verglichen. Es wurden keine Veränderungen festgestellt für arteriellen Einstrom, ABI, LAP und TBI (Tab. 3.6).

Tab. 3.6: Untersuchungsergebnisse arterieller Einstrom, Knöchel-Arm-, niedrigerer Knöcheldruck- und Zehen-Arm-Index bei PaVK-Patienten. Keine relevanten Unterschiede im Vergleich zwischen ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC) und Placebo. PaVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte ± Standardfehler. °p<0,05 vs. Beingegenseite. Vergleich durch Zweifache ANOVA (Intervention, Beinseite).

Ergebnisse Patientenstudie	Placebo		RIC	
	Rechts	Links	Rechts	Links
Arterieller Einstrom	2.20±0.32	1.99±0.19	2.16±0.18	2.19±0.21
Vor dem Laufbandgehtest				
Knöchel-Arm-Index	0.70±0.05	0.66±0.06	0.68±0.07	0.62±0.05
Niedr. Knöcheldruck-Index	0.56±0.06	0.50±0.05	0.52±0.05	0.48±0.04
Zehen-Arm-Index	0.73±0.05	0.66±0.03	0.66±0.04	0.67±0.05
Nach dem Laufbandgehtest				
Knöchel-Arm-Index	0.59±0.05	0.55±0.05	0.56±0.05	0.52±0.04
Niedr. Knöcheldruck-Index	0.54±0.06°	0.50±0.05	0.52±0.05°	0.48±0.04
Zehen-Arm-Index	0.51±0.04	0.47±0.04	0.54±0.03	0.55±0.05

3.5.3 Erhöhung des prozentualen T_{cp}O₂ und der RGS nach RIC; keine Veränderung der MGS

Der prozentuale T_{cp}O₂ nach zehn Minuten war erhöht nach RIC (Abb. 3.4). Zudem war die RGS länger nach RIC als nach Placebo (Abb. 3.5 A). Die MGS nach RIC blieb unverändert (Abb. 3.5 B).

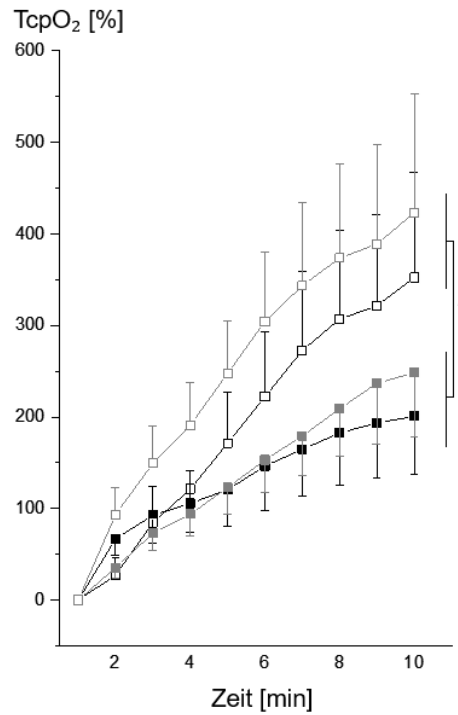


Abb. 3.4: Prozentualer $TcpO_2$ in beiden Beinen nach RIC im Vergleich zu Placebo bei PaVK-Patienten. Der prozentuale transkutane Sauerstoffpartialdruck ($TcpO_2$) war signifikant erhöht nach ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC) ($n=18$). Rechtes Bein $n=18$: ■ Placebo, □ RIC, linkes Bein $n=18$: ■ Placebo, □ RIC. PaVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte \pm Standardfehler. * $p=0,001$. Vergleich durch Bonferri t-Test, Dreiwegen ANOVA (Intervention, Zeitpunkt, Beinseite).

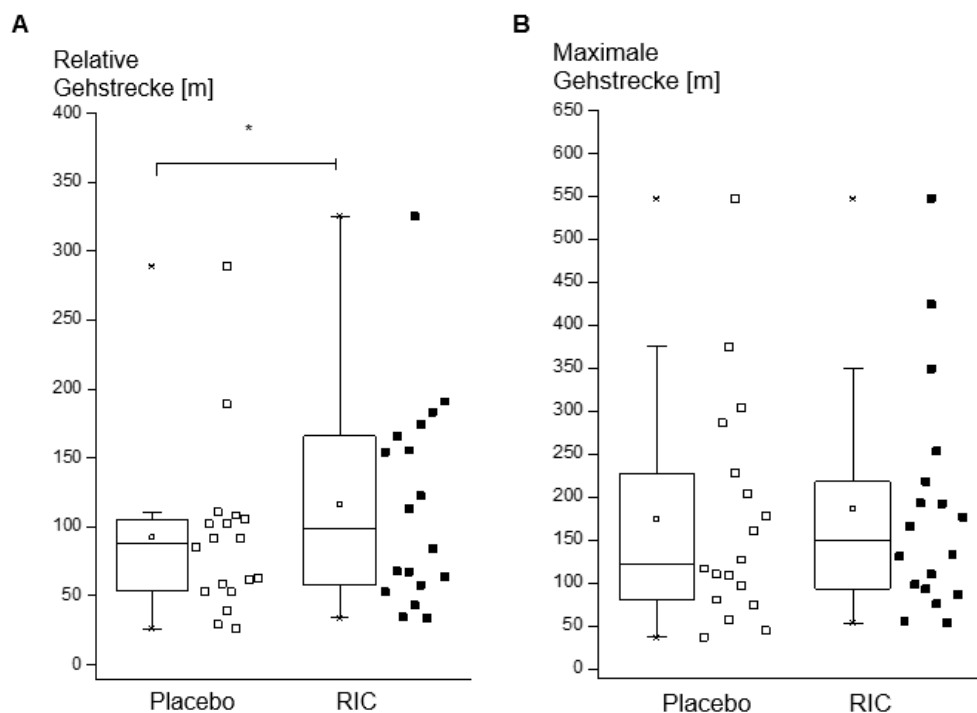


Abb. 3.5A: Relative Gehstrecke nach RIC im Vergleich zu Placebo bei PaVK-Patienten. Relative Gehstrecken dargestellt als Boxplots. Signifikante Erhöhung der relativen Gehstrecke nach ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC) im Vergleich zu Placebo (n=18). Relative Gehstrecke n=18: □ Placebo ■ RIC. * $p=0,024$. Vergleich durch Bonferri t-Test 1-Wege ANOVA. **B: Maximale Gehstrecke nach RIC und Placebo.** Maximale Gehstrecken dargestellt als Boxplots. Keine Veränderung der maximalen Gehstrecke nach RIC im Vergleich zu Placebo. Maximale Gehstrecke n=18: □ Placebo ■ RIC. PaVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit. Vergleich durch Einfaktorielle ANOVA.

3.5.4 Subjektive Verbesserung der RGS; Bereitschaft zur Fortführung RIC

Während des Follow-up beschreiben 11 von 16 teilnehmenden Patienten eine wahrnehmbare Verbesserung der RGS nach RIC. Zudem wurde von einer leichten Verminderung der Claudicatio intermittens-Intensität nach RIC im Vergleich zu Placebo berichtet. 8 von 16 Patienten gaben an, sie würden RIC in einer ambulanten Einrichtung als zusätzliche Therapie durchführen lassen (Tab. 3.7).

Tab. 3.7: Follow-up. Subjektive Verbesserung der relativen Gehstrecke und der Claudicatio intermittens-Intensität der Patienten nach ischämischer Konditionierung auf Distanz (RIC). NRS: numerische Ratingskala. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte \pm Standardfehler, diskrete Daten als absolute Zahlen. * $p < 0,05$ vs. vor der Studie/nach Placebo. Vergleich durch Holm-Sidak Methode, Einfaktorielle ANOVA.

Claudicatio intermittens-Intensität auf NRS von 0 bis 10	
Vor der Studie	5.37 \pm 0,39
Nach Placebo	5.18 \pm 0,38
Nach RIC	4.68 \pm 0.35*
Subjektive Claudicatio intermittens-freie Gehfähigkeit	
Verbesserung/-schlechterung/Unverändert nach RIC	11/0/5
Wenn Verbesserung: Leicht/moderat/deutlich	7/1/3
Würde RIC regelmäßig selbstständig anwenden wollen	
Ja/nein	8/8

4 Diskussion

RIC führt zu einer Verbesserung der RGS bei PaVK-Patienten. Mit der vorliegenden Arbeit können somit publizierte Studien bestätigt werden (Abb. 3.5A). Erstmals zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit a) eine robuste Verbesserung der Mikrozirkulation und Oxygenierung des Gewebes unabhängig ob krank oder gesund und b) eine Reduktion der Claudicatio intermittens-Symptomatik bei PaVK-Patienten durch RIC. Neu ist, dass die Verbesserung der RGS erstmalig in einer Studie mit Crossover-Design gezeigt werden konnte (Tab.4.1). Außerdem zeigt die Verbesserung des T_{cp}O₂ nach RIC eine Verbesserung der Mikrozirkulation an (Abb. 3.4) und dient somit als mögliche Erklärung für die Verbesserung der RGS (Abb. 3.5A) sowie der subjektiven Beschwerdebesserung (Tab. 3.7).

Tab. 4.1: Abgleich mit vorhandenen RIC / PaVK – Studien (Vergleich Tab. 1.1). ABI: Knöchel-Arm-Index; I/R: Ischämie / Reperfusion; MGS: maximale Gehstrecke; PaVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit; RGS: relative Gehstrecke; RIC: ischämische Konditionierung auf Distanz; T_{cp}O₂: Transkutaner Sauerstoffpartialdruck. *p<0,05 vs. Placebo.

Autor, Jahr	Konditionierung	Patientenanzahl (Placebo vs. RIC)	Endpoint (Placebo vs. RIC)	Kongruenz mit vorliegender Studie?
Saes et al., 2013	Arm: 3x 5/5 min I/R	n=18	Crossover nach 7 Tagen: RGS, 60 min nach RIC ↑* MGS, 60 min nach RIC ↔	✓ ✓
Delagarde et al., 2015	Beide Arme: 3x 5/5 min I/R	n=20	Crossover nach 7 Tagen: T _{cp} O ₂ direkt nach RIC ↔ MGS direkt nach RIC ↔	X ✓
Shahvazian et al., 2017	Beide Arme: 3x 5/5 min I/R	30 vs. 30	vorher vs. nachher: ABI direkt nach RIC ↑*	X
Ahmed et al., 2019	Arm: 4x 5/5 min I/R alle 3-4 Tage	10 vs. 10	vorher vs. nach 30 Tagen: RGS direkt nach RIC ↑* ABI direkt nach RIC ↑*	✓ X
Balin & Kivrak, 2019	Arm: 5x 5/5 min I/R täglich	32 vs. 31	vorher vs. nach 28 Tagen: RGS nach RIC ↑* MGS nach RIC ↑*	✓ X

4.1 Verbesserung der relativen Gehstrecke durch RIC im Crossover-Design

Die wichtigste Erkenntnis der vorliegenden Arbeit ist, dass erstmalig in einer Crossover-Studie die Verbesserung der RGS von PaVK-Patienten durch RIC gezeigt werden konnte (Abb. 3.5A). Das Crossover-Design dient der statistischen Detektion von Veränderungen auch in kleineren Kohorten beim Vergleich von Behandlungsmethoden. Bei korrekter Anwendung führt die Verwendung eines Crossover-Designs zu einer erhöhten Aussagekraft im Vergleich zu Studien mit anderem Design gleicher Patientenzahl. Zur korrekten Anwendung gehört die

Verwendung eines ausreichend langen Intervalls zwischen erster und zweiter Untersuchung, um einen möglichen Überhang des Therapieeffektes zu verhindern.

Somit wurden hier erstmals die Ergebnisse von Saes et al. mit Verbesserung der RGS durch RIC in einer Studie mit Crossover-Design bestätigt (Saes et al., 2013). Zwar war die Studie von Saes et al. in einem Crossover-Design angelegt, der Effekt des RIC wurde jedoch nur in einem Studienarm gezeigt. Im anderen Studienarm (gemessen nach 7 Tagen) wurde RIC vor dem ersten LGT durchgeführt und es wurde kein Unterschied der RGS zwischen den beiden Untersuchungen nachgewiesen. Möglicherweise ist hier der Zeitraum zwischen den beiden Interventionen zu kurz gewesen. In gesunden Probanden zirkulieren kardioprotektive Faktoren nach RIC über mehr als 5 Tage (Hildebrandt et al., 2016). Ob jedoch die Daten aus jungen gesunden Probanden auf PaVK-Patienten mit Komorbiditäten zu übertragen sind, ist völlig unklar (Kleinbongard et al., 2017). Möglicherweise hat in den Patienten der Zeitraum von 7 Tagen zwischen den beiden Interventionen nicht ausgereicht, um den RIC Effekt vollständig zu eliminieren. In der vorliegenden Arbeit wurde ein Abstand des Crossovers von 14 Tagen gewählt, sodass ein Unterschätzen des Effektes von RIC möglichst vermieden wurde. Das Patientenkollektiv von Saes et al. zeigte bei Studieneinschluss insgesamt weniger kardiovaskuläre Risikofaktoren und eine höhere Baseline-RGS im Vergleich zur vorliegenden Studie (Tab. 4.2) (Saes et al., 2013). Dies spricht für eine breite Anwendbarkeit von RIC möglicherweise unabhängig von der Baseline-RGS oder dem Vorliegen von Komorbiditäten bei Patienten mit PaVK Stadium II nach Fontaine.

Zwei Studien konnten durch repetitives RIC eine Verbesserung der RGS nachweisen (Ahmed et al., 2019; Balin et al., 2019). Ahmed et al. verwendeten 4 Zyklen RIC à 5 Minuten alle 3-4 Tage über einen Zeitraum von 28 Tagen und Balin et al. 5 Zyklen RIC à 5 Minuten täglich über 28 Tage. In der vorliegenden Arbeit zeigte sich die einmalige Anwendung bereits wirksam.

Das Patientenkollektiv von Ahmed et al. unterschied sich von der vorliegenden Arbeit durch eine geringere Anzahl an Risikofaktoren im Bereich der arteriellen Hypertonie, Diabetes Mellitus, der Hypercholesterinämie sowie der Diagnose einer koronaren Herzkrankheit jedoch einer höheren Anzahl an Ex-/Rauchern (Tab.4.2) (Ahmed et al., 2019). Die Baseline-RGS wurde nicht angegeben. Zusammenfassend zeigt die Studie von Ahmed et al. ein vergleichbares Patientenkollektiv und eine Verbesserung der RGS durch RIC, welche durch die vorliegende Studie bestätigt wurde.

Balin et al. untersuchten ein ca. drei Jahre jüngeres Patientenkollektiv mit geringerer Prävalenz von kardiovaskulären Risikofaktoren, Komorbiditäten und einer höheren Baseline-RGS im Vergleich zur vorliegenden Studie (Tab. 4.2) (Balin et al., 2019). Zusammenfassend zeigt die

Studie von Balin et al. ein jüngeres und gesünderes Patientenkollektiv mit einer Verbesserung der RGS durch RIC. Dies spricht ebenfalls für eine breite Anwendbarkeit von RIC möglicherweise unabhängig von der Baseline-RGS oder dem Vorliegen von Komorbiditäten bei Patienten mit PaVK Stadium II nach Fontaine. Die Ergebnisse von Balin et al. wurden ebenfalls in der vorliegenden Studie erstmalig in einem Crossover-Design bestätigt.

Tab. 4.2: RIC-PaVK-Studien: Patientencharakteristika im Vergleich. Vergleich der Patientencharakteristika der RIC-Studien mit nachgewiesener Verbesserung der relativen Gehstrecke. RGS: relative Gehstrecke. *: errechnet aus Mittelwerten von RIC-/Placebo-Gruppe. -: nicht eindeutig angegebene Informationen. Angegebene Werte wurde auf ganze Zahlen gerundet. Kontinuierliche Daten sind dargestellt als Mittelwerte \pm Standardfehler, diskrete Daten als absolute Zahlen.

Autor, Jahr, Patientenanzahl (n)	Saes et al. 2013 n= 18	Ahmed et al. 2019 n=20	Balin et al. 2019 n=63	Vorliegende Studie 2022 n=20
Alter (Jahre)	66	67*	63*	66
Geschlecht (männlich /weiblich)	13/5	15/5	46/17	17/3
Arterieller Bluthochdruck (%)	78	70*	61*	100
Raucheranamnese (aktiv und ex; %)	94	100*	$\geq 62^*$	80
Diabetes mellitus (%)	24	25*	35*	50
Hypercholesterinämie (%)	39	80*	37*	90
Koronare Herzkrankheit (%)	-	45*	-	60
Baseline-RGS (m; RIC vs. Placebo)	164 \pm 79	-	209 \pm 15 vs. 205 \pm 12	84 \pm 51

Die Frage ist, wie häufig RIC angewendet werden muss, um einerseits den maximal möglichen Effekt zu erzielen und um andererseits Patienten-freundlich zu sein und so wenig wie möglich angewendet werden zu müssen. Zum einen ist bekannt, dass durch RIC-ausgeschüttete dialysierbare humorale Faktoren bereits 5 Minuten nach RIC nachweisbar sind und somit ein RIC-Effekt entsteht (Hildebrandt et al., 2016). Dies erklärt, dass die einmalige Anwendung von RIC in der vorliegenden Arbeit bereits wirksam ist. Zum anderen zeigten Ahmed et al., dass die Anwendung von RIC alle 3 bis 4 Tage bereits zu einem annähernd maximalen

Therapieeffekt führt, da durch die Kombination mit der strukturierten Bewegungstherapie - dem aktuellen konservativ-therapeutischen Goldstandard - kein Benefit entsteht (Ahmed et al., 2019).

Um einen dauerhaften Effekt zu erzielen, scheint die Wiederholung bislang zumindest alle 3 bis 4 Tage ratsam. Weitere Studien zur Untersuchung des Therapieeffektes bei PaVK-Patienten mit ≥ 5 Tagen orientierend an der Dauer der Nachweisbarkeit von dialysierbaren humoralen Faktoren wie oben beschrieben, scheinen erfolgsversprechend und sind empfehlenswert (Hildebrandt et al., 2016). Es gilt das Wiederholungsintervall zu identifizieren, das so lang wie möglich und so kurz wie nötig ist.

Die optimale Anzahl und Dauer der RIC-Zyklen wurde bislang systematisch im Tiermodell untersucht (Johnsen et al., 2016): Die wichtigste Erkenntnis von Johnsen et al. war, dass die Anzahl und Dauer der RIC-Zyklen eine wichtige Rolle spielen. Durch eine Dauer von ca. 5 min pro Ischämie während RIC resultierte der größte positive Effekt, weshalb diese Dauer hier übernommen wurde. Hinsichtlich der Anzahl der Zyklen zeigte sich ein positiver Effekt ab >2 Zyklen, weshalb in der vorliegenden Arbeit 3 Zyklen verwendet wurden.

Insbesondere im Hinblick auf die eigenständige Anwendung von RIC durch Patienten ist die einfache Durchführbarkeit mit möglichst geringem Zeitaufwand ein relevanter Gesichtspunkt, da RIC keine Nebenwirkungen hat und die Patienten das RIC-Manöver nicht als störend empfinden.

Eine kausale Erklärung für die Verbesserung der RGS durch RIC stellen die durch RIC entstehenden erhöhten Blutflussraten und verminderten Gefäßwiderstände dar (Enko et al., 2011; Heusch et al., 2015; Kharbanda et al., 2002; Kleinbongard et al., 2017; Lambert et al., 2016; Shimizu et al., 2007). Da die Claudicatio intermittens durch den akuten ischämischen Zustand und somit insuffiziente O_2 -Versorgung der Beinmuskulatur zustande kommt (Aboyans et al., 2018), kann im Umkehrschluss eine Verbesserung der Durchblutung und des O_2 -Angebotes zur Verlängerung der RGS führen.

4.2 Verbesserung des $TcpO_2$ und der Gewebsoxygenierung durch RIC

Was liegt der Verbesserung der RGS durch RIC außerdem zugrunde? Im Rahmen dieser Arbeit konnte sowohl erstmalig bei PaVK-Patienten (Abb. 3.4), bei gesunden Probanden (Abb. 3.2) und im Tiermodell (Abb. 3.3) eine Verbesserung der Gewebsoxygenierung der kutanen Mikrozirkulation durch RIC festgestellt werden. Die verwendete $TcpO_2$ -Technik versorgt den Untersucher mit einer direkten Bestimmung der Mikrozirkulation im darunterliegenden Gewebe

(Bongard & Bounameaux, 1993; Zwicky et al., 2002). In diversen Studien wurde die Effektivität einer pharmazeutischen oder interventionellen Therapie auf die Durchblutung der unteren Extremität mit Hilfe der TcPO₂-Technik evaluiert (Heider et al., 2009; Lu et al., 2013; Powell et al., 2008; Stalc & Poredos, 2002; Wagner et al., 2003). Aus diesem Grund und dem Spezies-übergreifenden Nachweis der Veränderung wurde die hier gemessene Erhöhung des TcPO₂ nach RIC als Verbesserung der Mikrozirkulation und folglich der Sauerstoff-Versorgung des ischämischen Gewebes bei PaVK-Patienten bewertet.

Diese Erkenntnis wird gestützt durch die Studienergebnisse von Sogorski et al.: Sie zeigten eine Verbesserung der Mikrozirkulation und des Blutflusses nach RIC bei gesunden Probanden mittels ©O₂C (Sogorski et al., 2020). Trotzdem die Absolutwerte beider Methoden nicht direkt miteinander verglichen werden können, ist die Aussagekraft durch die Steigerung der jeweiligen Messwerte nach RIC gegeben.

Delagarde et al. zeigten keine Veränderung des TcPO₂ nach RIC, jedoch erfolgte das Crossover bereits nach 7 Tagen (Delagarde et al., 2015). Wie oben schon diskutiert, zeigten Hildebrandt et al. jedoch, dass humorale Faktoren ab fünf Minuten bis zu mehr als fünf Tagen nach RIC im Blutkreislauf gesunder Probanden zirkulieren (Hildebrandt et al., 2016). Möglicherweise ist hier der Zeitraum zwischen den beiden Interventionen zu kurz gewesen.

Eine weitere Erklärung für die Verbesserung der RGS könnte der protektive Einfluss des RICs auf die Mitochondrienfunktion der Skelettmuskulatur sein. In Herzmuskelzellen ist die Mitochondrienfunktion nach RIC verbessert (Gedik et al., 2017). Die PaVK führt zu einer Kaskade aus Hypoxie-induzierten, metabolischen Veränderungen in der Skelettmuskulatur der unteren Extremität. Diese führen zu mitochondrialen Schäden und somit zur Myopathie in der betroffenen Extremität (Barker et al., 2004; Bauer et al., 2007; Bauer et al., 1999; Baum et al., 2016; Brass & Hiatt, 2000; Criqui & Aboyans, 2015; Pipinos et al., 2007, 2008; Pipinos et al., 2006). Die Aufrechterhaltung der Adenosintriphosphat-Produktion durch die mitochondriale Atmungskette ist für die Skelettmuskel-Funktion essenziell (Bellanti et al., 2021; Pang et al., 2021). Die Abwesenheit von Adenosintriphosphat verhindert das Relaxieren der Skelettmuskulatur und schürt somit die Entstehung der Claudicatio intermittens (Makris et al., 2007; Pipinos et al., 2007, 2008). Bereits Park et al. zeigten in einer Crossover-Studie mit 11 PaVK-Patienten eine Verbesserung der RGS/MGS und endothelialen Funktion durch medikamentöse Verbesserung der Mitochondrienfunktion (Park et al., 2020). Die Verbesserung der Mitochondrienfunktion als Ziel einer (medikamentösen) Therapie der PaVK sollte somit als interessantes und vielversprechendes Ziel in Betracht gezogen werden (Gratl

et al., 2021; Kim et al., 2020).

In der hier vorliegenden Arbeit ist parallel zur Verbesserung der RGS die Claudicatio intermittens-Intensität verringert (Tab. 3.7). Alle teilnehmenden Patienten gaben an, dass sie eine Reduktion der Claudicatio intermittens-Intensität nach RIC wahrgenommen haben. Zudem haben ca. 68% eine subjektive Verbesserung ihrer Gehstrecke innerhalb der ersten Woche nach RIC bewusst registriert.

Ein Grund für die Verbesserung des $TcpO_2$ und der Gewebsoxygenierung durch RIC könnte die Verbesserung der endothelialen Funktion bei PaVK-Patienten sein: Die endotheliale Dysfunktion geht mit der Verschlechterung der Gehfähigkeit von PaVK-Patienten einher (Grenon et al., 2014). Die endotheliale Dysfunktion ist sowohl assoziiert mit einer verschlechterten Stickstoffmonoxid-vermittelten Fluss-medierten Vasodilatation (Verouhis et al., 2019) als auch einer Verringerung der zirkulierenden Marker für die Stickstoffmonoxid-Bioverfügbarkeit (Kleinbongard et al., 2006). Einzig die Studienergebnisse von da Silva et al. zeigen keine Verbindung zwischen der eingeschränkten Gehfähigkeit von PaVK-Patienten und der Gefäßfunktion (da Silva et al., 2021). Da Silva et al. verwendeten jedoch a) den 6-Minuten und b) 4-Meter Gehstest, welche einerseits möglicherweise das Einsetzen der Claudicatio intermittens verpassen und andererseits für gewöhnlich Anwendung in der kardiologischen/pulmologischen oder geriatrischen Diagnostik finden – und nicht in der Angiologie. Die Aussagekraft dieser Studie ist kritisch zu hinterfragen.

RIC verhindert in gesunden Probanden eine Verschlechterung der endothelialen Funktion und Fluss-medierten Vasodilatation nach iatrogenen Ischämie-Reperfusion (Verouhis et al., 2019). Der Krankheitsverlauf bei PaVK-Patienten könnte durch RIC somit womöglich abgeschwächt werden. Es scheint also, dass RIC direkt über die Verbesserung der endothelialen Funktion und Verbesserung der Stickstoff-Verfügbarkeit zu einer Verbesserung der RGS beiträgt (Rassaf et al., 2014). Möglicherweise hat RIC auch indirekt über eine Verbesserung der Mitochondrienfunktion - wie oben beschrieben - einen Einfluss auf die Verbesserung der Fluss-medierten Vasodilatation und somit Verbesserung der endothelialen Funktion (Kim et al., 2020; Park et al., 2020).

Es könnte ebenfalls eine neuronale Beteiligung an der Verbesserung der RGS durch RIC geben: Diverse Studien deuten auf eine lokale Aktivierung von afferenten Neuronen auf Stimulus-Ebene hin (Kleinbongard et al., 2017). Über eine RIC-vermittelte vagale Aktivierung wurde Glucagon-like Peptid-1 (GLP-1) ausgeschüttet und ein M3-muskarinerg-vermittelter

Effekt hervorgerufen (Basalay et al., 2016). Die M3-muskarinergen Rezeptoren finden sich ebenfalls im Endothel der Gefäße der Skelettmuskulatur der unteren Extremität und führen zur Aktivierung der Stickstoffmonoxid-Synthase mit Vasodilatation (Saternos et al., 2018). Verouhis et al. zeigten, dass RIC über die Aktivierung von GLP-1-Rezeptoren einen protektiven Mechanismus für die endotheliale Funktion der Gefäße der Skelettmuskulatur aktiviert. Sie demonstrierten, dass – einerseits - durch RIC die Fluss-medierte Dilatation der Arm-Gefäße nach prolongierter Ischämie/Reperfusion bei gesunden Probanden erhalten wurde im Vergleich zu Placebo. Andererseits verhinderte die Gabe des GLP-1 Antagonisten Exendin die Protektion durch RIC (Verouhis et al., 2019). Weitere Studien sind nötig, um eine neuronal- und GLP-1-vermittelte, protektive Wirkung für die untere Extremität nachzuweisen.

4.3 Crossover-Design sichert Aussagekraft trotz TcpO₂-Seitenunterschied

In den vorliegenden Untersuchungen wurde sowohl in Probanden als auch Patienten ein Seitenunterschied des TcpO₂ gemessen (Abb. 3.1, 3.2, 3.4). Im Rahmen der Patientenstudie (Abb. 3.4) kann durch inter- und intraindividuell Unterschiede des Ausmaßes der PaVK zwischen den Extremitäten ein solcher Seitenunterschied auftreten (Trinks et al., 2017). Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch die Seitenunterschiede möglichst auszuschließen, wurde für die vorliegende Studie das Crossover-Design gewählt.

Bei gesunden Probanden können inter- als auch intraindividuelle Unterschiede in der Muskelmasse auftreten (Rothwell et al., 2019): Durch entsprechend vermehrte Anzahl an Kapillaren in dem prominenten Bein kann eine nicht-symmetrische Blutvolumen-Verteilung stattfinden und ein entsprechend höherer TcpO₂ gemessen werden (Doermer & Schroeder, 1975). Ursachen hierfür können beispielsweise Sportarten oder Bewegungsverhalten mit verstärkt einseitiger Belastung sein.

4.4 Keine Veränderung des ABI nach RIC

Shahvazian et al. und Ahmed et al. beschreiben eine Verbesserung des ABI nach RIC bei PaVK-Patienten (Ahmed et al., 2019; Shahvazian et al., 2017), was den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit mit PaVK-Patienten als auch gesunden Probanden widerspricht (Tab. 3.3, Tab. 3.6). Die beiden schon publizierten Studien wurden nicht im Crossover-Design durchgeführt, weshalb deren Ergebnisse weniger robust sein können. RIC ist ein systemisches Phänomen (Kleinbongard et al., 2017): Man könnte somit annehmen, dass sich neben dem Blutdruck in der ischämischen Extremität eines PaVK-Patienten auch der systemische Blutdruck erhöhen sollte. Da der ABI der Quotient aus höchstem SBD des Sprunggelenks

dividiert durch den höchsten systemischen SBD am Oberarm ist, scheint eine Verbesserung durch RIC somit unwahrscheinlich. Gleiches gilt für den LAP als auch den TBI, welche ebenfalls Quotienten aus den SBDs der ischämischen Extremität geteilt durch den systemischen SBD darstellen (Tab. 3.3, Tab. 3.6) (Aboyans et al., 2018). Die Studienergebnisse von Ahmed et al. und Shahvazian et al. stehen somit im Gegensatz zu den vorliegenden Studienergebnissen (Ahmed et al., 2019; Shahvazian et al., 2017).

In der vorliegenden Arbeit war der LAP der linken Seite der PaVK-Patienten verschlechtert (Tab. 3.6). Im Rahmen des LGT kommt es zur akuten Aggravation des ischämischen Zustandes der Skelettmuskulatur, bei der die ABI-Messung, welche direkt nach Ende des LGT durchgeführt wird, eine im Ruhezustand maskierte PaVK enttarnen kann (Aboyans et al., 2018). Zur ABI-Messung wird der höchste gemessene Knöcheldruck verwendet. Da der ABI somit bei Durchgängigkeit eines der beiden arteriellen Gefäße des Patienten (A. dorsalis pedis oder A. tibialis posterior) weitestgehend unverändert bleiben kann, beschreibt dieser die bestmögliche Durchblutungssituation. Da zur zeitgleichen Berechnung des LAP im Gegensatz zum ABI der niedrigste gemessene Knöchelblutdruck verwendet wird, beschreibt dieser die schlechter-durchblutete Arterie und damit die schlechteste Durchblutungssituation. Durch den festgestellten Seitenunterschied des LAPs wird reflektiert, welche Extremität und gegebenenfalls Arterie des Patienten stärker betroffen ist. In der vorliegenden Arbeit zeigen somit die linken Beine der Patienten die schlechtere Durchblutungssituation (Tab. 3.6).

In der vorliegenden Arbeit waren arterieller Einstrom, venöse Kapazität und venöser Abfluss unverändert nach RIC im Vergleich zu Placebo bei gesunden Probanden. Zudem zeigt sich kein Einfluss von RIC auf den arteriellen Einstrom bei PaVK-Patienten im Stadium II nach Fontaine (Tab. 3.3, Tab. 3.6). Auf den ersten Blick stehen die Ergebnisse des arteriellen Einstroms im Gegensatz zu dem Wissen, dass RIC zur Verringerung des Gefäßwiderstandes und Erhöhung der Blutfluss-Raten führt (Enko et al., 2011; Heusch, 2015; Kharbanda et al., 2002; Kleinbongard et al., 2017; Lambert et al., 2016; Shimizu et al., 2007). Auf den zweiten Blick findet sich eine plausible Erklärung für das Ausbleiben eines Effektes: Die VVP wird durchgeführt unter der Annahme, dass der venöse Rückstrom zum Herzen isoliert ausgeschaltet wird, ohne dabei die arterielle Zufuhr zu unterbrechen. Allerdings findet bereits bei Verschlussdrücken von 40 mmHg durch die Zweischlauch-Manschetten eine Einschränkung der arteriellen Blutzufuhr statt (Hiatt et al., 1989). Dies kann insbesondere bei PaVK-Patienten dazu führen, dass die bereits eingeschränkte Durchblutung aufgrund der voranschreitenden endothelialen Dysfunktion mit Verminderung der Fluss-medierten

Vasodilatation in der betroffenen Extremität aggraviert wird (Widlansky et al., 2003). Somit wird der Benefit durch RIC verschleiert und daher keine Veränderungen des arteriellen Einstroms mit Hilfe dieser Methode registriert. Zudem schränkt die Komprimierung der arteriellen Gefäße die Beurteilbarkeit des arteriellen Einstroms nach RIC im Vergleich zu Placebo auch bei gesunden Probanden ein. Weitere Studien zum arteriellen Einstrom bei PaVK-Patienten gemessen durch VVP sind nicht bekannt.

Die venöse Kapazität entspricht nach einer dreiminütigen, automatisch applizierten Stauung durch die Zweischlauch-Manschetten im Rahmen der VVP annähernd der maximalen Venenfüllung (Alomari et al., 2004) und ist bei pathologischer Erweiterung der venösen Gefäße im Rahmen einer Varikosis oder chronisch venösen Insuffizienz erhöht (Hirai et al., 2002) bzw. im Rahmen einer Thrombose verringert (Persson et al., 2005). Proportional dazu verhält sich auch der venöse Abfluss, der bei vermehrt anfallendem Blutvolumen im Rahmen erweiterter Venen erhöht (Androulakis & Panoysis, 1989) und bei Abflussstörungen oder verringertem Füllvolumen durch eine Thrombose in der untersuchten Extremität erniedrigt ist (Persson et al., 2005). Unter der Bedingung, dass die untersuchten gesunden Probanden keine venösen Pathologika auswiesen, wurde eine Veränderung der venösen Kapazität und folglich des venösen Abflusses durch RIC nicht erwartet. Diese Erwartung wurde bestätigt, auch da die Entstehung einer supramaximalen venösen Kapazität durch RIC-typische Vasodilatation nicht möglich ist.

4.5 Limitationen

Das Studiendesign ist nicht doppelblind – die Probanden/Patienten konnten gegenüber der Applikation von RIC nicht verblindet werden, wurden aber angewiesen, keine Informationen diesbezüglich mit dem Untersucher auszutauschen. Die vorliegende Studie ist explorativ. Die Stichprobengrößen sind somit relativ klein und die berichteten Veränderungen können sowohl unter- als auch überschätzt worden sein. Die vorliegenden Daten müssen somit in einer prospektiven Studie mit entsprechender Power überprüft werden. Es wurden keine Veränderungen der endothelialen Funktion detektiert, die Fluss-induzierte Dilatations-Messung war nicht im Studiendesign angelegt. Die prozentuale Veränderung des $TcpO_2$ ist kein anerkannter und etablierter Marker für die Gewebsoxygenierung, da dieser in der klinischen Diagnostik nicht verwendet wird. In der vorliegenden Studie jedoch wurde der Verlauf des $TcpO_2$ betrachtet, weshalb der Baseline-Wert als 100% festgelegt und die folgenden Werte als prozentuale Veränderung dargestellt wurden. Hierdurch wurde die Vergleichbarkeit der interindividuellen Veränderungen des $TcpO_2$ verbessert.

Die Patientencharakteristika (Tab. 3.4) als auch der PaVK-Status der Patienten (Tab. 3.5) zeigen, dass es sich um eine repräsentative Kohorte an PaVK-Patienten mit typischen kardiovaskulären Risikofaktoren und Multimorbidität handelt. Gegebenenfalls wurde das Verhältnis von betroffenen Männern zu betroffenen Frauen insbesondere in Industrieländern überschätzt (Aboyans et al., 2018).

4.6 Schlussfolgerung

RIC verbessert die RGS und reduziert die Claudicatio intermittens-Intensität in PaVK Patienten im Stadium II nach Fontaine, indem es die Mikrozirkulation und die Sauerstoff-Aufnahme der Skelettmuskulatur der unteren Extremität verbessert. Aufgrund der sicheren, praktikablen und nicht-invasiven Durchführung des RIC sollte dieses Phänomen als zusätzliche konservative Therapieoption zu den bestehenden therapeutischen Möglichkeiten der PaVK in Betracht gezogen und weiter untersucht werden. Zudem ist es notwendig, zusätzlich zum ausführlich untersuchten Herzmuskel, Skelettmuskulatur-spezifische Mediatoren und Signalwege zu identifizieren, um das Phänomen RIC Stück für Stück besser zu charakterisieren.

Abschließend empfiehlt sich bereits in der jetzigen Phase der Forschung, eine tatsächliche praktische Anwendung von RIC insbesondere aufgrund der fehlenden Nebenwirkungen und des potenziellen Nutzens in Betracht zu ziehen.

5 Zusammenfassung

Die Behandlung der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (PaVK) und insbesondere der PaVK-Patienten im Stadium II nach Fontaine stellt häufig eine Herausforderung dar. Das zentrale Anliegen der vorliegenden Arbeit war die Suche nach einer nicht-invasiven und einfach durchführbaren Therapiealternative. Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit der Effekt und die Durchführbarkeit der ischämischen Konditionierung auf Distanz (Engl.: Remote ischemic conditioning; RIC) auf die Gehstrecke und die Claudicatio intermittens (CI) -Symptomatik in einer Kohorte bestehend aus PaVK-Patienten untersucht. Zudem wurde ermittelt, ob RIC Spezies-übergreifend einen Einfluss auf die Gewebsoxygenierung in gesunden Individuen hat. Im Rahmen einer doppelt-verblindeten, prospektiven, randomisierten und kontrollierten Crossover-Studie wurden PaVK-Patienten im Stadium II nach Fontaine (n=20, 17 männlich, $66,3 \pm 2,1$ Jahre) rekrutiert und in zwei Gruppen aufgeteilt. Die Patienten wurden am linken Oberarm behandelt mit RIC bestehend aus drei Zyklen Ischämie/Reperfusion von jeweils fünf Minuten oder mit Placebo. Anschließend wurden sie mit Hilfe der transkutanen Sauerstoffpartialdruck (T_{cpO₂})-Messung, Venenverschlussplethysmography (VVP), Knöchel-Arm- (Engl.: Ankle-brachial index; ABI) sowie niedrigerer Knöcheldruck- (Engl.: Lower ankle-pressure index; LAP) als auch der Zehen-Arm-Index (Engl.: Toe-brachial index; TBI) vor und nach dem Laufbandgehtest untersucht. Ein Crossover fand nach 14 Tagen statt. Im Anschluss wurden die Patienten in einem Follow-up nach Veränderungen Ihrer subjektiven schmerzfreen Gehfähigkeit und der CI-Intensität vor und nach RIC befragt. In einer Probandenstudie (n=20) ohne Crossover und einer Versuchstierstudie (n=10) wurde zudem der T_{cpO₂} nach RIC und Placebo bestimmt. In beiden Studien (Probanden, Versuchstiere) zeigte sich eine Verbesserung des prozentualen T_{cpO₂} nach RIC (p=0,026, respektive, p=0,023 vs. Placebo). In der Patientenstudie konnte gezeigt werden, dass RIC eine Verbesserung der relativen Gehstrecke (RGS) und des T_{cpO₂} bewirkt (p=0,024, respektive, p=0,001). Keine Veränderungen wurden im Rahmen der Bestimmung der maximalen Gehstrecke, der VVP, ABI, LAP und TBI festgestellt. Im Follow-up berichteten 11 von 16 (69%) teilnehmenden Patienten im Anschluss an die RIC-Behandlung von einer Verbesserung der subjektiven Gehfähigkeit und einer leichten Verminderung der CI-Intensität. Zudem würden 8/16 Patienten (50%) RIC in einem ambulanten Setting durchführen wollen. Zusammenfassend verbessert RIC die RGS und reduziert die CI-Intensität in PaVK Patienten im Stadium II nach Fontaine, wahrscheinlich indem es die Mikrozirkulation und die Sauerstoff-Aufnahme der Skelettmuskulatur der unteren Extremität auch bei gesunden Probanden optimiert.

6 Literaturverzeichnis

1. Aboyans, V., Ho, E., Denenberg, J. O., Ho, L. A., Natarajan, L., Criqui, M. H. (2008): The association between elevated ankle systolic pressures and peripheral occlusive arterial disease in diabetic and nondiabetic subjects. *J Vasc Surg* 48, 1197-1203.
2. Aboyans, V., Ricco, J. B., Bartelink, M. E. L., Bjorck, M., Brodmann, M., Cohnert, T., Collet, J. P., Czerny, M., De Carlo, M., Debus, S., Espinola-Klein, C., Kahan, T., Kownator, S., Mazzolai, L., Naylor, A. R., Roffi, M., Rother, J., Sprynger, M., Tendera, M., Tepe, G., Venermo, M., Vlachopoulos, C., Desormais, I., Group, E. S. C. S. D. (2018): 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur Heart J* 39, 763-816.
3. Ahmed, K. M. T., Hernon, S., Mohamed, S., Tubassum, M., Newell, M., Walsh, S. R. (2019): Remote Ischemic Pre-conditioning in the Management of Intermittent Claudication: A Pilot Randomized Controlled Trial. *Ann Vasc Surg* 55, 122-130.
4. Akkoca, M., Usanmaz, S. E., Tokgoz, S., Koksoy, C., Demirel-Yilmaz, E. (2018): The effects of different remote ischemic conditioning on ischemia-induced failure of microvascular circulation in humans. *Clin Hemorheol Microcirc* 70, 83-93.
5. Alfaras, I., Di Germanio, C., Bernier, M., Csiszar, A., Ungvari, Z., Lakatta, E. G., de Cabo, R. (2016): Pharmacological Strategies to Retard Cardiovascular Aging. *Circ Res* 118, 1626-1642.
6. Alomari, M. A., Solomito, A., Reyes, R., Khalil, S. M., Wood, R. H., Welsch, M. A. (2004): Measurements of vascular function using strain-gauge plethysmography: technical considerations, standardization, and physiological findings. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286, H99-H107.
7. Androulakis, G., Panoysis, P. A. (1989): Plethysmographic confirmation of the beneficial effect of calcium dobesilate in primary varicose veins. *Angiology* 40, 1-4.
8. Bailey, T. G., Birk, G. K., Cable, N. T., Atkinson, G., Green, D. J., Jones, H., Thijssen, D. H. (2012): Remote ischemic preconditioning prevents reduction in brachial artery flow-mediated dilation after strenuous exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 303, H533-538.
9. Balin, M., Kivrak, T. (2019): Effect of Repeated Remote Ischemic Preconditioning on Peripheral Arterial Disease in Patients Suffering from Intermittent Claudication. *Cardiovasc Ther* 2019, 9592378.
10. Barbosa, T. C., Machado, A. C., Braz, I. D., Fernandes, I. A., Vianna, L. C., Nobrega, A. C., Silva, B. M. (2015): Remote ischemic preconditioning delays fatigue development during handgrip exercise. *Scand J Med Sci Sports* 25, 356-364.

11. Barker, G. A., Green, S., Green, A. A., Walker, P. J. (2004): Walking performance, oxygen uptake kinetics and resting muscle pyruvate dehydrogenase complex activity in peripheral arterial disease. *Clin Sci (Lond)* 106, 241-249.
12. Basalay, M. V., Mastitskaya, S., Mrochek, A., Ackland, G. L., Del Arroyo, A. G., Sanchez, J., Sjoquist, P. O., Pernow, J., Gourine, A. V., Gourine, A. (2016): Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) mediates cardioprotection by remote ischaemic conditioning. *Cardiovasc Res* 112, 669-676.
13. Bauer, T. A., Brass, E. P., Barstow, T. J., Hiatt, W. R. (2007): Skeletal muscle StO₂ kinetics are slowed during low work rate calf exercise in peripheral arterial disease. *Eur J Appl Physiol* 100, 143-151.
14. Bauer, T. A., Regensteiner, J. G., Brass, E. P., Hiatt, W. R. (1999): Oxygen uptake kinetics during exercise are slowed in patients with peripheral arterial disease. *J Appl Physiol* (1985) 87, 809-816.
15. Baum, O., Torchetti, E., Malik, C., Hoier, B., Walker, M., Walker, P. J., Odriozola, A., Graber, F., Tschanz, S. A., Bangsbo, J., Hoppeler, H., Askew, C. D., Hellsten, Y. (2016): Capillary ultrastructure and mitochondrial volume density in skeletal muscle in relation to reduced exercise capacity of patients with intermittent claudication. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 310, R943-951.
16. Bellanti, F., Lo Buglio, A., Vendemiale, G. (2021): Mitochondrial Impairment in Sarcopenia. *Biology (Basel)* 10
17. Bonaca, M. P., Creager, M. A. (2015): Pharmacological treatment and current management of peripheral artery disease. *Circ Res* 116, 1579-1598.
18. Bongard, O., Bounameaux, H. (1993): Clinical investigation of skin microcirculation. *Dermatology* 186, 6-11.
19. Brass, E. P., Hiatt, W. R. (2000): Acquired skeletal muscle metabolic myopathy in atherosclerotic peripheral arterial disease. *Vasc Med* 5, 55-59.
20. Criqui, M. H., Aboyans, V. (2015): Epidemiology of peripheral artery disease. *Circ Res* 116, 1509-1526.
21. da Silva, G. O., Correia, M. A., de Oliveira, P. L. M., Farah, B. Q., Vianna, L. C., Puech-Leao, P., Wolosker, N., Cucato, G. G., Ritti-Dias, R. M. (2021): Are Vascular Parameters Associated with Walking Impairment in Patients with Claudication? *Ann Vasc Surg*
22. Delagarde, H., Ouadraougo, N., Grall, S., Macchi, L., Roy, P. M., Abraham, P., Prunier, F. (2015): Remote ischaemic preconditioning in intermittent claudication. *Arch Cardiovasc Dis* 108, 472-479.
23. Doermer, C., Schroeder, W. (1975): Blood flow and tissue -pO₂ in the trained and untrained gastrocnemius muscle of the anesthetized guinea pig. *Eur J Appl Physiol*

Occup Physiol 34, 33-42.

24. Donato, A. J., Morgan, R. G., Walker, A. E., Lesniewski, L. A. (2015): Cellular and molecular biology of aging endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol* 89, 122-135.
25. Donato, M., Buchholz, B., Rodriguez, M., Perez, V., Inserte, J., Garcia-Dorado, D., Gelpi, R. J. (2013): Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning. *Exp Physiol* 98, 425-434.
26. Elford, J., Wells, I., Cowie, J., Hurlock, C., Sanders, H. (2000): Computerized strain-gauge plethysmography - An alternative method for the detection of lower limb deep venous thrombosis? *Clin Radiol* 55, 36-39.
27. Enko, K., Nakamura, K., Yunoki, K., Miyoshi, T., Akagi, S., Yoshida, M., Toh, N., Sangawa, M., Nishii, N., Nagase, S., Kohno, K., Morita, H., Kusano, K. F., Ito, H. (2011): Intermittent arm ischemia induces vasodilatation of the contralateral upper limb. *J Physiol Sci* 61, 507-513.
28. European Stroke, O., Tendera, M., Aboyans, V., Bartelink, M. L., Baumgartner, I., Clement, D., Collet, J. P., Cremonesi, A., De Carlo, M., Erbel, R., Fowkes, F. G., Heras, M., Kownator, S., Minar, E., Ostergren, J., Poldermans, D., Riambau, V., Roffi, M., Rother, J., Sievert, H., van Sambeek, M., Zeller, T., Guidelines, E. S. C. C. f. P. (2011): ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases: Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries: the Task Force on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Artery Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 32, 2851-2906.
29. Falconer, D., Papageorgiou, N., Salem, K., Lim, W. Y., Katsargyris, A., Avgerinos, E., Tousoulis, D. (2018): Nitric oxide donors for peripheral artery disease. *Curr Opin Pharmacol* 39, 77-85.
30. Garcia-de-la-Asuncion, J., Bruno, L., Perez-Griera, J., Galan, G., Morcillo, A., Wins, R., Garcia-Del-Olmo, E., Guijarro, R., Sarria, B., Marti, F., Soro, M., Belda, F. J. (2017): Remote Ischemic Preconditioning Decreases Oxidative Lung Damage After Pulmonary Lobectomy: A Single-Center Randomized, Double-Blind, Controlled Trial. *Anesth Analg* 125, 499-506.
31. Gedik, N., Maciel, L., Schulte, C., Skyschally, A., Heusch, G., Kleinbongard, P. (2017): Cardiomyocyte mitochondria as targets of humoral factors released by remote ischemic preconditioning. *Arch Med Sci* 13, 448-458.
32. Gratl, A., Pesta, D., Gruber, L., Speichinger, F., Raude, B., Omran, S., Greiner, A., Frese, J. P. (2021): The effect of revascularization on recovery of mitochondrial respiration in peripheral artery disease: a case control study. *J Transl Med* 19, 244.
33. Grau, M., Kollikowski, A., Bloch, W. (2016): Remote ischemia preconditioning increases red blood cell deformability through red blood cell-nitric oxide synthase activation. *Clin Hemorheol Microcirc* 63, 185-197.

-
34. Grenon, S. M., Chong, K., Alley, H., Nosova, E., Gasper, W., Hiramoto, J., Boscardin, W. J., Owens, C. D. (2014): Walking disability in patients with peripheral artery disease is associated with arterial endothelial function. *J Vasc Surg* 59, 1025-1034.
 35. Heider, P., Wildgruber, M., Wolf, O., Schuster, T., Lutzenberger, W., Berger, H., Eckstein, H. H. (2009): Improvement of microcirculation after percutaneous transluminal angioplasty in the lower limb with prostaglandin E1. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 88, 23-30.
 36. Heusch, G. (2015): Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning. *Circ Res* 116, 674-699.
 37. Heusch, G. (2017): Remote Ischemic Conditioning in Cardiovascular Surgery. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 22, 297-301.
 38. Heusch, G. (2020): Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective. *Nat Rev Cardiol* 17, 773-789.
 39. Heusch, G., Boengler, K., Schulz, R. (2008): Cardioprotection: nitric oxide, protein kinases, and mitochondria. *Circulation* 118, 1915-1919.
 40. Heusch, G., Botker, H. E., Przyklenk, K., Redington, A., Yellon, D. (2015): Remote ischemic conditioning. *J Am Coll Cardiol* 65, 177-195.
 41. Hiatt, W. R., Huang, S. Y., Regensteiner, J. G., Micco, A. J., Ishimoto, G., Manco-Johnson, M., Drose, J., Reeves, J. T. (1989): Venous occlusion plethysmography reduces arterial diameter and flow velocity. *J Appl Physiol* (1985) 66, 2239-2244.
 42. Hildebrandt, H. A., Kreienkamp, V., Gent, S., Kahlert, P., Heusch, G., Kleinbongard, P. (2016): Kinetics and Signal Activation Properties of Circulating Factor(s) From Healthy Volunteers Undergoing Remote Ischemic Pre-Conditioning. *JACC Basic Transl Sci* 1, 3-13.
 43. Hirai, M., Iwata, H., Hayakawa, N. (2002): Effect of elastic compression stockings in patients with varicose veins and healthy controls measured by strain gauge plethysmography. *Skin Res Technol* 8, 236-239.
 44. Hong, F. F., Liang, X. Y., Liu, W., Lv, S., He, S. J., Kuang, H. B., Yang, S. L. (2019): Roles of eNOS in atherosclerosis treatment. *Inflamm Res* 68, 429-441.
 45. Huch, R., Huch, A., Lubbers, D. W. (1973): Transcutaneous measurement of blood Po₂ (tcPo₂) -- Method and application in perinatal medicine. *J Perinat Med* 1, 183-191.
 46. Jean-St-Michel, E., Manhiot, C., Li, J., Tropak, M., Michelsen, M. M., Schmidt, M. R., McCrindle, B. W., Wells, G. D., Redington, A. N. (2011): Remote preconditioning improves maximal performance in highly trained athletes. *Med Sci Sports Exerc* 43, 1280-1286.
 47. Johnsen, J., Pryds, K., Salman, R., Lofgren, B., Kristiansen, S. B., Botker, H. E. (2016): The remote ischemic preconditioning algorithm: effect of number of cycles, cycle

- duration and effector organ mass on efficacy of protection. *Basic Res Cardiol* 111, 10.
48. Kharbanda, R. K., Mortensen, U. M., White, P. A., Kristiansen, S. B., Schmidt, M. R., Hoschtitzky, J. A., Vogel, M., Sorensen, K., Redington, A. N., MacAllister, R. (2002): Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 106, 2881-2883.
49. Kim, K., Anderson, E. M., Scali, S. T., Ryan, T. E. (2020): Skeletal Muscle Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in Peripheral Arterial Disease: A Unifying Mechanism and Therapeutic Target. *Antioxidants (Basel)* 9
50. Kleinbongard, P., Dejam, A., Lauer, T., Jax, T., Kerber, S., Gharini, P., Balzer, J., Zotz, R. B., Scharf, R. E., Willers, R., Schechter, A. N., Feelisch, M., Kelm, M. (2006): Plasma nitrite concentrations reflect the degree of endothelial dysfunction in humans. *Free Radic Biol Med* 40, 295-302.
51. Kleinbongard, P., Gedik, N., Kirca, M., Stoian, L., Frey, U., Zandi, A., Thielmann, M., Jakob, H., Peters, J., Kamler, M., Heusch, G. (2018): Mitochondrial and Contractile Function of Human Right Atrial Tissue in Response to Remote Ischemic Conditioning. *J Am Heart Assoc* 7, e009540.
52. Kleinbongard, P., Heusch, G. (2015): Extracellular signalling molecules in the ischaemic/reperfused heart - druggable and translatable for cardioprotection? *Br J Pharmacol* 172, 2010-2025.
53. Kleinbongard, P., Skyschally, A., Heusch, G. (2017): Cardioprotection by remote ischemic conditioning and its signal transduction. *Pflugers Arch* 469, 159-181.
54. Lambert, E. A., Thomas, C. J., Hemmes, R., Eikelis, N., Pathak, A., Schlaich, M. P., Lambert, G. W. (2016): Sympathetic nervous response to ischemia-reperfusion injury in humans is altered with remote ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 311, H364-370.
55. Lawall, H., Huppert, P., Espinola-Klein, C., Zemmrich, C. S., Ruemenapf, G. (2017): German guideline on the diagnosis and treatment of peripheral artery disease - a comprehensive update 2016. *Vasa* 46, 79-86.
56. Leung, C. H., Caldarone, C. A., Wang, F., Venkateswaran, S., Ailenberg, M., Vadasz, B., Wen, X. Y., Rotstein, O. D. (2015): Remote Ischemic Conditioning Prevents Lung and Liver Injury After Hemorrhagic Shock/Resuscitation: Potential Role of a Humoral Plasma Factor. *Ann Surg* 261, 1215-1225.
57. Lieder, H. R., Irmert, A., Kamler, M., Heusch, G., Kleinbongard, P. (2019): Sex is no determinant of cardioprotection by ischemic preconditioning in rats, but ischemic/reperfused tissue mass is for remote ischemic preconditioning. *Physiol Rep* 7, e14146.
58. Lieder, H. R., Kleinbongard, P., Skyschally, A., Hagelschuer, H., Chilian, W. M., Heusch, G. (2018): Vago-Splenic Axis in Signal Transduction of Remote Ischemic Preconditioning in Pigs and Rats. *Circ Res* 123, 1152-1163.

-
59. Lu, Y. H., Liu, L., Qiu, X. H., Yu, Q., Yang, Y., Qiu, H. B. (2013): Effect of early goal directed therapy on tissue perfusion in patients with septic shock. *World J Emerg Med* 4, 117-122.
60. Makris, K. I., Nella, A. A., Zhu, Z., Swanson, S. A., Casale, G. P., Gutti, T. L., Judge, A. R., Pipinos, II. (2007): Mitochondriopathy of peripheral arterial disease. *Vascular* 15, 336-343.
61. Mansour, Z., Bouitbir, J., Charles, A. L., Talha, S., Kindo, M., Pottecher, J., Zoll, J., Geny, B. (2012): Remote and local ischemic preconditioning equivalently protects rat skeletal muscle mitochondrial function during experimental aortic cross-clamping. *J Vasc Surg* 55, 497-505 e491.
62. Murry, C. E., Jennings, R. B., Reimer, K. A. (1986): Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74, 1124-1136.
63. Pang, B. P. S., Chan, W. S., Chan, C. B. (2021): Mitochondria Homeostasis and Oxidant/Antioxidant Balance in Skeletal Muscle-Do Myokines Play a Role? *Antioxidants (Basel)* 10
64. Park, S. Y., Pekas, E. J., Headid, R. J., 3rd, Son, W. M., Wooden, T. K., Song, J., Layec, G., Yadav, S. K., Mishra, P. K., Pipinos, II. (2020): Acute mitochondrial antioxidant intake improves endothelial function, antioxidant enzyme activity, and exercise tolerance in patients with peripheral artery disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 319, H456-H467.
65. Patterson, S. D., Bezodis, N. E., Glaister, M., Pattison, J. R. (2015): The Effect of Ischemic Preconditioning on Repeated Sprint Cycling Performance. *Med Sci Sports Exerc* 47, 1652-1658.
66. Paull, E. J., Van Guilder, G. P. (2019): Remote ischemic preconditioning increases accumulated oxygen deficit in middle-distance runners. *J Appl Physiol (1985)* 126, 1193-1203.
67. Persson, L. M., Arnhjort, T., Haneby, C., Larfars, G., Rosfors, S. (2005): A methodological study of computerized venous strain-gauge plethysmography of the upper extremities. *Clin Physiol Funct Imaging* 25, 281-285.
68. Pipinos, II, Judge, A. R., Selsby, J. T., Zhu, Z., Swanson, S. A., Nella, A. A., Dodd, S. L. (2007): The myopathy of peripheral arterial occlusive disease: part 1. Functional and histomorphological changes and evidence for mitochondrial dysfunction. *Vasc Endovascular Surg* 41, 481-489.
69. Pipinos, II, Judge, A. R., Selsby, J. T., Zhu, Z., Swanson, S. A., Nella, A. A., Dodd, S. L. (2008): The myopathy of peripheral arterial occlusive disease: Part 2. Oxidative stress, neuropathy, and shift in muscle fiber type. *Vasc Endovascular Surg* 42, 101-112.
70. Pipinos, II, Judge, A. R., Zhu, Z., Selsby, J. T., Swanson, S. A., Johanning, J. M., Baxter,

- B. T., Lynch, T. G., Dodd, S. L. (2006): Mitochondrial defects and oxidative damage in patients with peripheral arterial disease. *Free Radic Biol Med* 41, 262-269.
71. Powell, R. J., Simons, M., Mendelsohn, F. O., Daniel, G., Henry, T. D., Koga, M., Morishita, R., Annex, B. H. (2008): Results of a double-blind, placebo-controlled study to assess the safety of intramuscular injection of hepatocyte growth factor plasmid to improve limb perfusion in patients with critical limb ischemia. *Circulation* 118, 58-65.
72. Premont, R. T., Reynolds, J. D., Zhang, R., Stamler, J. S. (2020): Role of Nitric Oxide Carried by Hemoglobin in Cardiovascular Physiology: Developments on a Three-Gas Respiratory Cycle. *Circ Res* 126, 129-158.
73. Rassaf, T., Totzeck, M., Hendgen-Cotta, U. B., Shiva, S., Heusch, G., Kelm, M. (2014): Circulating nitrite contributes to cardioprotection by remote ischemic preconditioning. *Circ Res* 114, 1601-1610.
74. Rosfors, S., Persson, L. M., Blomgren, L. (2014): Computerized venous strain-gauge plethysmography is a reliable method for measuring venous function. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 47, 81-86.
75. Rothwell, D. T., Williams, D. J., Furlong, L. M. (2019): Measuring muscle size and symmetry in healthy adult males using a time-efficient analysis of magnetic resonance images. *Physiol Meas* 40, 064005.
76. Saes, G. F., Zerati, A. E., Wolosker, N., Ragazzo, L., Rosoky, R. M., Ritti-Dias, R. M., Cucato, G. G., Chehuen, M., Farah, B. Q., Puech-Leao, P. (2013): Remote ischemic preconditioning in patients with intermittent claudication. *Clinics (Sao Paulo)* 68, 495-499.
77. Saternos, H. C., Almarghalani, D. A., Gibson, H. M., Meqdad, M. A., Antypas, R. B., Lingireddy, A., AbouAlaiwi, W. A. (2018): Distribution and function of the muscarinic receptor subtypes in the cardiovascular system. *Physiol Genomics* 50, 1-9.
78. Shahvazian, N., Rafiee, M., Rahmanian, M., Razavi-Ratki, S. K., Farahzadi, M. H. (2017): Repeated Remote Ischemic Conditioning Effect on Ankle-brachial Index in Diabetic Patients - A Randomized Control Trial. *Adv Biomed Res* 6, 28.
79. Shimizu, M., Konstantinov, I. E., Kharbanda, R. K., Cheung, M. H., Redington, A. N. (2007): Effects of intermittent lower limb ischaemia on coronary blood flow and coronary resistance in pigs. *Acta Physiol (Oxf)* 190, 103-109.
80. Skyschally, A., Gent, S., Amanakis, G., Schulte, C., Kleinbongard, P., Heusch, G. (2015): Across-Species Transfer of Protection by Remote Ischemic Preconditioning With Species-Specific Myocardial Signal Transduction by Reperfusion Injury Salvage Kinase and Survival Activating Factor Enhancement Pathways. *Circ Res* 117, 279-288.
81. Sogorski, A., Spindler, S., Wallner, C., Dadras, M., Wagner, J. M., Behr, B., Lehnhardt, M., Kolbenschlager, J. (2020): Optimizing remote ischemic conditioning (RIC) of cutaneous microcirculation in humans: Number of cycles and duration of acute effects.

J Plast Reconstr Aesthet Surg

82. Stalc, M., Poredos, P. (2002): The usefulness of transcutaneous oximetry in assessing the success of percutaneous transluminal angioplasty. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 24, 528-532.
83. Tengfei, L., Jiangning, W. (2015): Remote ischemic conditioning: a novel way to treat ischemia-related injury of limbs. *Med Hypotheses* 84, 504-505.
84. Thielmann, M., Kottenberg, E., Boengler, K., Raffelsieper, C., Neuhaeuser, M., Peters, J., Jakob, H., Heusch, G. (2010): Remote ischemic preconditioning reduces myocardial injury after coronary artery bypass surgery with crystalloid cardioplegic arrest. *Basic Res Cardiol* 105, 657-664.
85. Trinks, T. P., Blake, D. F., Young, D. A., Thistlethwaite, K., Vangaveti, V. N. (2017): Transcutaneous oximetry measurements of the leg: comparing different measuring equipment and establishing values in healthy young adults. *Diving Hyperb Med* 47, 82-87.
86. Ungvari, Z., Tarantini, S., Donato, A. J., Galvan, V., Csiszar, A. (2018): Mechanisms of Vascular Aging. *Circ Res* 123, 849-867.
87. Ungvari, Z., Tarantini, S., Sorond, F., Merkely, B., Csiszar, A. (2020): Mechanisms of Vascular Aging, A Geroscience Perspective: JACC Focus Seminar. *J Am Coll Cardiol* 75, 931-941.
88. Verouhis, D., Saleh, N., Settergren, M., Sorensson, P., Gourine, A., Pernow, J. (2019): Remote ischemic conditioning protects against endothelial ischemia-reperfusion injury via a glucagon-like peptide-1 receptor-mediated mechanism in humans. *Int J Cardiol* 274, 40-44.
89. Wagner, H. J., Schmitz, R., Alfke, H., Klose, K. J. (2003): Influence of percutaneous transluminal angioplasty on transcutaneous oxygen pressure in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Radiology* 226, 791-797.
90. Wang, L., Ren, C., Li, Y., Gao, C., Li, N., Li, H., Wu, D., He, X., Xia, C., Ji, X. (2021): Remote ischemic conditioning enhances oxygen supply to ischemic brain tissue in a mouse model of stroke: Role of elevated 2,3-biphosphoglycerate in erythrocytes. *J Cereb Blood Flow Metab* 41, 1277-1290.
91. Widlansky, M. E., Gokce, N., Keaney, J. F., Jr., Vita, J. A. (2003): The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 42, 1149-1160.
92. Williams, D. T., Harding, K. G., Price, P. (2005): An evaluation of the efficacy of methods used in screening for lower-limb arterial disease in diabetes. *Diabetes Care* 28, 2206-2210.
93. Yip, W. L. (2015): Evaluation of the clinimetrics of transcutaneous oxygen measurement and its application in wound care. *Int Wound J* 12, 625-629.

94. Zhao, W., Li, S., Ren, C., Meng, R., Jin, K., Ji, X. (2019): Remote ischemic conditioning for stroke: clinical data, challenges, and future directions. *Ann Clin Transl Neurol* 6, 186-196.
95. Zhao, Y., Li, J., Lin, A., Xiao, M., Xiao, B., Wan, C. (2011): Improving angiogenesis and muscle performance in the ischemic limb model by physiological ischemic training in rabbits. *Am J Phys Med Rehabil* 90, 1020-1029.
96. Zinner, C., Born, D. P., Sperlich, B. (2017): Ischemic Preconditioning Does Not Alter Performance in Multidirectional High-Intensity Intermittent Exercise. *Front Physiol* 8, 1029.
97. Zwicky, S., Mahler, F., Baumgartner, I. (2002): Evaluation of clinical tests to assess perfusion in chronic critical limb ischemia. *Vasa* 31, 173-178.

6.1 Abkürzungsverzeichnis

A	Abb.	Abbildung
	ABI	Knöchel-Arm-Index (<i>Ankle-brachial index</i>)
	ANOVA	Varianzanalyse (Analysis of variance)
B	BMI	Körpermasseindex (Body-mass-index)
	bzw.	Beziehungsweise
C	ca.	Circa
	CGRP	Calcitonin Gene-related Peptide
	CI	Claudicatio intermittens
D	Dt.	Deutsch
E	Engl.	Englisch
	EPO	Erythropoetin
	et al.	Und andere (<i>et alii</i>)
	etc.	Und die übrigen (<i>et cetera</i>)
G	GLP-1	Glucagon-like Peptide 1
H	h	Stunde(n)
I	I/R	Ischämie/Reperfusion
K	kg	Kilogramm
	km	Kilometer

L	LAP	Niedrigerer Knöcheldruck-Index (<i>Lower ankle-pressure index</i>)
	LGT	Laufbandgehtest
M	m	Meter
	M3	Muskarinernerger Acetylcholin M3-Rezeptor
	min	Minute(n)
	mg	Milligramm
	MGS	Maximale Gehstrecke
	ml	Milliliter
	mmHg	Millimeter Quecksilbersäule (Druckeinheit)
N	n	Anzahl der Individuen
	NRS	Numerisch e Rating-Skala
O	O ₂	Sauerstoff
P	P	Irrtumswahrscheinlichkeit
	PaVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
	PNS	Peripheres Nervensystem
R	RGS	Relative (bzw. schmerzfreie) Gehstrecke
	RIC	Ischämische Konditionierung auf Distanz (<i>Remote ischemic conditioning</i>)
S	SBD	Systolischer Blutdruck
	SEM	Standardfehler des Mittelwerts (<i>Standard error of the mean</i>)
T	Tab.	Tabelle
	TBI	Zehen-Arm Index (<i>Toe-brachial Index</i>)
	TcpO ₂	Transkutaner Sauerstoffpartialdruck
V	vs.	gegen, gegenübergestellt (<i>versus</i>)
	VVP	Venenverschlussplethysmographie
Z	ZNS	Zentrales Nervensystem

6.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung	Seite	Überschrift
1.1	11	Interaktionen zwischen humoralen und neuralen Reizweiterleitungen nach RIC (modifiziert aus Kleinbongard et al., 2017).
2.1	18	Standardisierte Untersuchungsposition während Venenverschluss-plethysmographie.
2.2		
A	20	Studienablauf-Diagramm Probandenstudie I
B	20	Exemplarischer Untersuchungsablauf der Probandenstudie I.
C	21	Interventions Model.
2.3		
A	22	Studienablauf-Diagramm Probandenstudie II.
B	22	Exemplarischer Untersuchungsablauf Probandenstudie II.
2.4		
A	24	Studienablauf-Diagramm des Tiermodells.
B, C	24	Exemplarischer Untersuchungsablauf des Tiermodells und Präparations- sowie Interventionsmodell für RIC bzw. Placebo.
2.5		
A	27	Studienablauf-Diagramm der Patientenstudie.
B	27	Exemplarischer Untersuchungsablauf der Patientenstudie.
3.1	31	TcpO ₂ nach RIC im Vergleich zu Placebo in der Probandenstudie I.
3.2 A, B	33	Prozentualer TcpO ₂ nach RIC im Vergleich zu Placebo in der Probandenstudie II. (A : Rechts Bein; B : Linkes Bein)
3.3	34	Prozentualer TcpO ₂ gemessen an der rasierten Bauchwand im Tiermodell während und nach RIC im Vergleich zu Placebo.
3.4	37	Prozentualer TcpO ₂ in beiden Beinen nach RIC im Vergleich zu Placebo bei PaVK-Patienten.
3.5		
A	38	Relative Gehstrecke nach RIC im Vergleich zu Placebo bei PaVK-Patienten.
B	38	Maximale Gehstrecke nach RIC und Placebo.

6.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle	Seite	Überschrift
1.1	13	RIC-Studien mit PaVK-Patienten Stadium II nach Fontaine.
3.1	29	Reproduzierbarkeit der Untersuchungsergebnisse an gesunden Probanden.
3.2	30	Venenverschlussplethysmographie mit und ohne Ruhephase im Vergleich.
3.3	32	Untersuchungsergebnisse der Probandenstudie I.
3.4	35	Patientencharakteristika
3.5	35	PaVK-Status der Patienten vor Studienbeginn.
3.6	36	Untersuchungsergebnisse arterieller Einstrom, Knöchel-Arm-, niedrigerer Knöcheldruck- und Zehen-Arm-Index bei PaVK-Patienten.
3.7	39	Follow-up.
4.1	40	Abgleich mit vorhandenen RIC / PaVK – Studien (Vergleich Tab. 1.1).
4.2	42	RIC-PaVK-Studien: Patientencharakteristika im Vergleich.

7 Danksagung

Im Verlauf des Erstellens einer Dissertation treten viele Personen in Erscheinung, die entscheidend zum Abschluss eines solchen Projektes beitragen. Einige von ihnen möchte ich hiermit besonders hervorheben:

Allen voran möchte ich mich sehr herzlich bei Frau Univ.- Prof. Dr. P. Kleinbongard für die Vergabe des spannenden Forschungsthemas und die Bereitstellung von Ressourcen des Instituts für Pathophysiologie der Universität Duisburg-Essen bedanken. Zudem möchte ich meine Bewunderung über Ihr Engagement, die positive Lebenseinstellung und Ihre Begeisterungsfähigkeit im Arbeitsalltag zum Ausdruck bringen sowie meinen Dank für die wertvolle und kompromisslose Unterstützung in wissenschaftlichen Anliegen aussprechen.

Sehr herzlich und freundschaftlich möchte ich Herrn Dr. V. Varnavas danken, der mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand, auch in schwierigen Momenten stets die Ruhe bewahrt und produktiv gehandelt hat.

Ebenfalls möchte ich Herrn Dr. T. Baars meinen Dank aussprechen für sein aufgeschlossenes Verhalten mir gegenüber, seine kompetente wissenschaftliche Beratung und die angenehme Zusammenarbeit.

Ich möchte darüber hinaus dem gesamten Team der Pathophysiologie danken, da ich sehr freundlich aufgenommen, bei Fragen immer gewissenhaft beraten wurde und stets eine sehr angenehme Arbeitsatmosphäre herrschte. Besonders hervorzuheben ist Frau J. Löblein aufgrund Ihrer unermüdlichen Unterstützung und Geduld mit mir sowie meinen Anliegen.

Darüber hinaus wurde ich ebenfalls in der Klinik für Angiologie des Universitätsklinikums Essen herzlichst aufgenommen und von Herrn Dr. med. F.-E. Brock (ehem. Kommiss. Leiter) & seinem Team stets unterstützt. Bedauerlicherweise verschied Herr Dr. Brock im Zeitraum der Studiendurchführung. Hiermit möchte ich mein tiefstes Beileid an die Angehörigen und das Klinik-Team aussprechen.

Für die Möglichkeit der Fortführung der Studie auch nach dem Klinik-Leitungswechsel möchte ich mich bei Herrn Univ.- Prof. Dr. T. Rassaf, dem nachfolgenden Direktor der Klinik für Kardiologie und Angiologie, bedanken.

Ein großes Dankeschön privater Natur gebührt meiner Familie und meinen Freunden, allen voran meinen Eltern und meinem Bruder, die mein Leben maßgeblich geprägt haben und immer für mich da sind.

Zuletzt danke ich meiner Partnerin und besten Freundin Luisa Knödler für Ihre Geduld, Ihr offenes Ohr und Ihre Liebe in allen Situationen unseres gemeinsamen Lebens.

8 Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Onlineversion aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.