

**Aus der Abteilung für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin
Universitätskliniken, Homburg/Saar**

**Einfluss von Sildenafil auf die kutane Mikrozirkulation bei Patienten mit
koronarer Herzerkrankung: monozentrische, prospektive, doppelblinde,
plazebokontrollierte, randomisierte Cross-Over-Studie**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät
Der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2006

vorgelegt von: DM Uwe Reichert
geb. am: 03.03.1959 in Dahme/Mark

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	3
2. Einleitung	5
3. Material und Methodik	7
4. Ergebnisse	19
5. Diskussion	24
6. Literaturverzeichnis	28
7. Dank	33
8. Lebenslauf	34

1. Zusammenfassung

Die endotheliale Dysfunktion präkapillärer Arteriolen führt zu einer Beeinflussung der nachgeschalteten Mikrozirkulation, insbesondere auch der postischämischen reaktiven Hyperämie. Im Rahmen dieser monozentrischen, prospektiven, doppelblinden, plazebokontrollierten, randomisierten Cross-Over-Studie wurde im Akutversuch geprüft, ob 50 mg Sildenafil zu einer Beeinflussung der postischämischen Kapillardurchblutung führt. Eingeschlossen wurden n=20 Patienten mit angiographisch gesicherter koronarer Herzerkrankung, die keine Nitrate oder NO-Donatoren einnahmen. Vor und nach der Einnahme von Sildenafil wurde intravitalmikroskopisch die mittlere Erythrozytengeschwindigkeit in Nagelfalzkapillaren der Finger - sowohl unter Ruhebedingungen als auch nach einem dreiminütigem, suprasystolischen Stau mittels Blutdruckmanschette am Oberarm - gemessen. Konfirmatorische Zielgröße war die Differenz der Amplituden während der reaktiven Hyperämie (peak velocity: v_{max}) vor minus nach Applikation von 50 mg Sildenafil im Vergleich zur gleichen Differenz der Plazebogruppe.

Die maximale, kapilläre Erythrozytengeschwindigkeit in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie betrug initial $0,58 \pm 0,18$ mm/s. Eine Stunde nach der Einnahme von 50 mg Sildenafil stieg sie signifikant auf $0,85 \pm 0,42$ mm/s um 46,6% an ($p=0,0023$). Eine Stunde nach der Einnahme eines Plazebopräparates änderte sie sich nicht ($p=0,5248$). Im Gruppenvergleich (Änderung der Amplitude nach Verum versus Plazebo) war der Anstieg nach Sildenafil signifikant ($p=0,0129$). Der Einfluss von Sildenafil auf die Amplitude der postischämischen reaktiven Hyperämie ist als biometrisch stark relevant anzusehen, der standardisierte Unterschied nach COHEN beträgt 0,81.

Auch die Zunahme der kapillären Erythrozytengeschwindigkeit unter Ruhebedingungen ist nach Sildenafil erheblich stärker als nach Plazebo. Dies obwohl es zu einer deutlichen Reduktion des systolischen und diastolischen Blutdrucks kam.

FAZIT: Sildenafil bewirkte bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung eine signifikant ($p=0,0129$) stärkere Zunahme (46,6%) der postischämischen Kapillardurchblutung als nach Plazebo (4,7%). Darüber hinaus ist diese Zunahme als biometrisch stark relevant anzusehen.

Influence of Sildenafil on cutaneous microcirculation in patients with coronary heart disease: a unicentral, prospective, double-blind, placebo-controlled, randomized, crossover study

1. Summary

Endothelial dysfunction of precapillary arteries has an impact on capillary level microcirculation, especially on postischemic reactive hyperemia. Within the framework of this unicentral, prospective, double-blind, placebo-controlled, randomised crossover study, we tested whether 50 mg Sildenafil influences postischemic capillary circulation. The study enrolled 20 patients (n=20) with angiographically established coronary heart disease, who were receiving neither nitrate nor NO-donors. Using in vivo microscopy, we measured average erythrocyte speed in capillaries on the nail fold of the finger both before and after intake of Sildenafil, under rest conditions as well as under three-minute suprasystolic blockage using a blood pressure tourniquet on the upper arm. The confirmatory endpoint was the difference in amplitude during reactive hyperemia (peak velocity: v_{max}) before minus after the application of 50 mg Sildenafil compared to the same difference in the placebo group.

The maximum capillary erythrocyte speed in the postischemic reactive hyperemia phase was initially 0.58 ± 0.18 mm/s. One hour after intake of 50 mg Sildenafil this speed rose significantly to 0.85 ± 0.42 mm/s by 46.6% ($p=0.0023$). Erythrocyte speed remained unaltered ($p=0.5248$) one hour following intake of the placebo preparation. In the group comparison (change in amplitude after verum versus placebo), the increase following Sildenafil intake was significant (0.0129). The impact of Sildenafil on the amplitude of postischemic reactive hyperemia is to be considered biometrically highly relevant, as the standardized difference according to COHEN amount to 0.81.

The increase in capillary erythrocyte speed under rest conditions is also significantly higher following intake of Sildenafil than after placebo. This was the case even though a clear decrease in the systolic and diastolic blood pressure was noted.

Conclusion: In patients with coronary heart disease, Sildenafil resulted in a significantly ($p = 0.0129$) higher increase (46.6%) in postischemic capillary circulation than placebo (4,7%). Moreover, the increase is considered biometrically highly relevant.

2. Einleitung

Das Endothel besitzt aufgrund seiner strategischen anatomischen Position zwischen den zirkulierenden Blutzellen und den Gefäßmuskelzellen der Media eine besondere Funktion. Außer Prostazyklin ist Stickstoffmonoxyd das wichtigste vom Endothel produzierte und parakrin wirkende Gewebehormon. Es induziert in der glatten Muskulatur eine cGMP-vermittelte Relaxation und entspricht einem endogen produzierten Nitrat [GRIFFITH, 1987]. Dem stehen vasokonstriktorisch wirkende Substanzen, die vom Endothel aktiviert oder produziert werden, gegenüber: Angiotensin II (AII) und Endothelin I. AII wird ergänzend zum systemischen Renin-Angiotensin-System lokal in den Gefäßwänden produziert und weist mit Endothelin-1 zusammen die potenteste vasokonstriktorische Wirkung auf. Normalerweise produzieren intakte gesunde Gefäße Endothelin I nur in geringen Mengen, und es überwiegen die relaxierenden (und antithrombotischen) Eigenschaften des NO [OEMAR, 1998]. In atherosklerotischen Gefäßen wird die Produktion von ENDOTHELIN I angeregt. Zusätzlich beeinträchtigt oxydiertes LDL-Cholesterin die Signaltransduktion (über Gi-Proteine), was zu einer Verminderung der Aktivierung der NO-Synthetase führt [BOULANGER, 1992]. Die vermehrte Bildung freier Sauerstoffradikale führt zum Abbau von NO und bewirkt weitere Schädigungen der Zellfunktion.

Dies zeigt, dass über mehrere Mechanismen - verminderte Freisetzung von relaxierend bei gleichzeitig vermehrter Freisetzung konstriktiv wirkender Substanzen - eine Störung der Mikrozirkulation bei Patienten mit atherosklerotischer Grunderkrankung zu erwarten ist. Diese Veränderungen, die als endotheliale Dysfunktion bezeichnet werden, treten sehr früh auf, bereits bevor atherosklerotische Läsionen nachweisbar sind, so dass sie als Frühmanifestation der Atherosklerose betrachtet wird [SCHIFFRIN, 1997].

Da die distalen Arterien häufig atherosklerosefrei sind [BOLLINGER, 1979], besteht hier die Möglichkeit, die endotheliale Funktion auch bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung in einem Gefäßbereich, der (noch) keine klinisch manifeste Makroangiopathie aufweist, nichtinvasiv zu überprüfen. Dies gelingt z.B. über die Messung der postischämischen Vasodilatation der A. brachialis, die bei endothelialer Dysfunktion eingeschränkt ist. Dabei bleibt jedoch unklar, ob auch die nachgeschaltete Mikrozirkulation pathologisch gestört ist. Dies lässt sich intravitalmikroskopisch völlig nichtinvasiv prüfen. Wir verwenden dazu die Messung der Erythrozytengeschwindigkeit in Kapillaren am Nagelfalz der Hand sowohl unter Ruhebedingungen als auch zusätzlich postischämisch zur Erfassung der reaktiven Hyperämie um die Regulation der Kapillardurchblutung beurteilen zu können [JUNG, 1991]. Untersuchungen mithilfe dieser Technik an Patienten mit koronarer Herzerkrankung im Vergleich zu Gesunden zeigen, dass in der Tat bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung eine kutane Mikrozirkulationsstörung nachgewiesen werden kann [JUNG, 1996].

Sildenafil hemmt hauptsächlich die Phosphodiesterase V. Diese wird außer in der glatten Muskulatur des Corpus cavernosum des Penis, auch an der glatten Muskulatur anderer Blutgefäße, unter anderem der Koronararterien, gefunden [BEAVO, 1995; BOOLELL, 1996]. Damit sind hämodynamische Effekte nicht nur in den Penisarterien zu erwarten. Daher wurde im Rahmen der vorliegenden Studie geprüft, ob sich ein Effekt von Sildenafil auch auf die kutane Mikrozirkulation nachweisen lässt.

3. Material und Methodik

3.1 Studien design

Die Untersuchung wurde als investigator-initiated, monozentrische, prospektive, doppelblinde, plazebokontrollierte, randomisierte Cross-Over-Studie durchgeführt.

Die Studie wurde nach den Prinzipien der Deklaration von Helsinki/Edinburgh 2000, den EU-GCP-Richtlinien, sowie den Anforderungen der Paragraphen 40 bis 42 des 2. Arzneimittelgesetzes (AMG) durchgeführt [GCP, 1991; DECLARATION OF HELSINKI, 2000].

Jeder Patient wurde informiert, dass die Teilnahme an dieser Studie freiwillig ist und dass er jederzeit ohne Angabe von Gründen aus der Studie ausscheiden kann.

Alle Patienten wurden außerdem über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie sowie möglichen Risiken aufgeklärt.

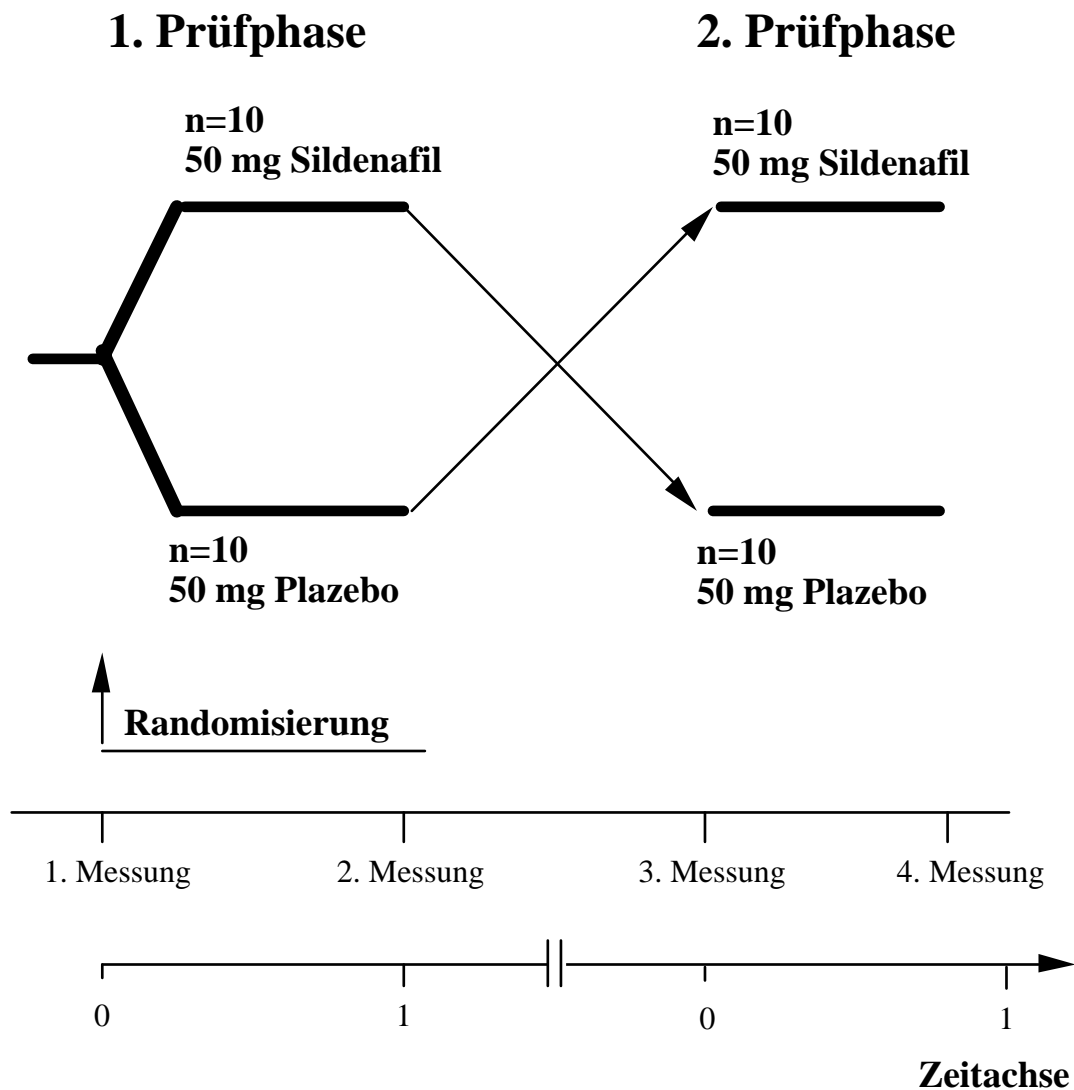
Es lag das positive Votum der Ethik-Kommission der Sächsischen Landesärztekammer vor.

Eingeschlossen wurden n=20 Patienten, von denen in der ersten Prüfphase n=10 50 mg Sildenafil (Sildenafil citrate, Viagra™, Pfizer Inc.), die n=10 anderen ein äußerlich und innerlich identisch präpariertes Plazebopräparat oral erhielten. Die Zuteilung der Präparate erfolgte randomisiert. Da die Patienten die Tabletten in Beisein des Prüfarztes einnahmen, war die Compliance gewährleistet. Die Präparate wurden von der Pfizer Inc. für die Durchführung der Studie zur Verfügung gestellt.

Nach einer Auswaschphase von 2 Wochen erhielten jetzt die Patienten, die zuerst Sildenafil erhielten, Plazebo und umgekehrt. Vor und 1 Stunde nach der Gabe von 50 mg Sildenafil/Plazebo wurde die Erythrozytengeschwindigkeit in Kapillaren am Nagelfalz des vierten Fingers der linken Hand unter Ruhebedingungen, dann im postischämischen Verlauf bis zu vier Minuten nach dreiminütigem, suprasystolischen Stau (mittels Blutdruckmanschette) am Oberarm gemessen.

Den genauen Ablaufplan der Untersuchung zeigt Abbildung 1.

Abbildung 1. Ablaufplan der Untersuchung



Eingeschlossen in die Untersuchung wurden n=20 Patienten mit angiographisch gesicherter koronarer Herzerkrankung, die älter als 18 Jahre und männlich waren.

Ausgeschlossen wurden Patienten, die Nitrate, andere Phosphodiesterasehemmer oder NO-Donatoren einnahmen, die eine instabile Angina pectoris, eine schwere Herz- oder Leberinsuffizienz, eine Hypotonie aufwiesen, kürzlich einen Schlaganfall erlitten hatten, eine degenerative Retinaerkrankung aufwiesen oder eine Überempfindlichkeit gegen den Wirkstoff oder einen der Inhaltsstoffe hatten.

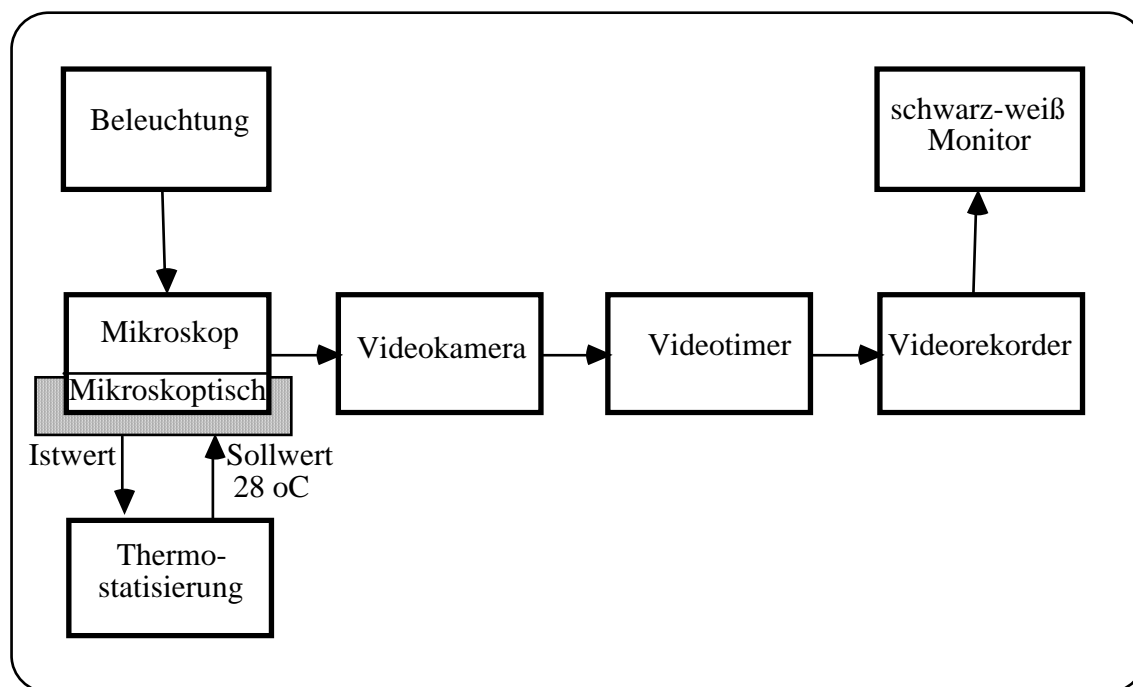
3.2 Intravitale Video-Kapillar-Mikroskopie

Meßmethode

Beschreibung des Meßsystems

Das verwendete Gesamtsystem besteht aus einem Auflichtmikroskop mit ACM-Stativ (Fa. C. Zeiss) mit Grob- und Feintrieb, einem Objektiv (Neofluar 6,3/0,20), einem Optovar 1,0-2,0 (zur schnellen Veränderung der Nachvergrößerung), einer Kaltlichtquelle (Schott KL 1500) mit Grünfilter (im Wellenlängenbereich der Hämoglobinabsorption bei ca. 560 nm, um einen guten Kontrast zwischen roten Blutzellen und Gewebe zu erzeugen) und Wärmefilter (um die Aufheizung des Fingers zu minimieren), einer Videokamera mit Newvicon-Röhre (Panasonic WV 1550/G), einem Videotimer (zum Einblenden von Datum und Zeitsignal mit 1/100 Sekundenanzeige), einem 3/4" Videorecorder, einem Monitor und einem Bildanalyse-System (IBAS I/II, Fa. C. Zeiss) (siehe Abbildung 2) [JUNG 1987].

Abbildung 2. Blockschaltbild des Aufnahmesystems zur Nagelfalz-Kapillarmikroskopie



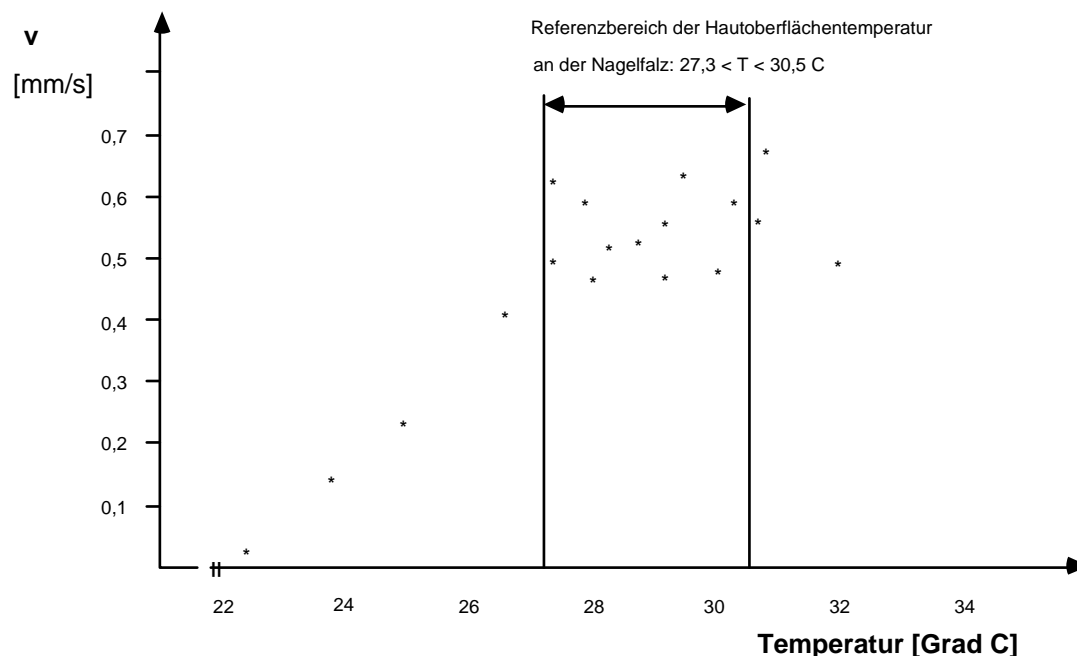
Die Beleuchtung der Nagelfalz wird mittels zwei flexiblen Lichtleitern vorgenommen (um Bewegungen zwischen Lichtquelle und Mikroskop zuzulassen); sie sind so am Objektiv befestigt, dass sie von zwei Seiten, unter einem Winkel von 45 Grad, das Untersuchungsgebiet möglichst gleichmäßig ausleuchten. Je nach Einstellung des Optovars beträgt die Endvergrößerung 285- bis 570-fach.

Standardisierte Durchführung der Nagelfalz-Kapillarmikroskopie

Eine Reihe von Faktoren beeinflussen die Kapillardurchblutung, so dass die kapillarmikroskopische Untersuchung in standardisiertem Ablauf erfolgen sollte [JUNG, 1990].

Wegen des ausgeprägten Einflusses der Thermoregulation auf die Kapillardurchblutung der Haut warten die Patienten vor der Untersuchung ca. 30 Minuten im beheizten Wartebereich (im Winter auf ca. 22 °C temperiert). Die starke Abhängigkeit der mittleren kapillären Erythrozytengeschwindigkeit von der Hauttemperatur sowie den Referenzbereich der Hautoberflächentemperatur an der Nagelfalz zeigt Abbildung 3.

Abbildung 3. Abhängigkeit der mittleren kapillären Erythrozytengeschwindigkeit von der Hauttemperatur



Zu Beginn der Untersuchung wird die Hauttemperatur an der Nagelfalz mit einem Kontaktthermometer kontrolliert. Erst bei Überschreiten einer Oberflächentemperatur von 27 °C wird mit der Durchführung der Kapillarmikroskopie begonnen.

Die Hand wird in Herzhöhe auf einem in x-y-Richtung verstellbaren Mikroskopisch, der auf 28 °C thermostatisiert ist, unter dem Mikroskopobjektiv positioniert.

Der Finger wird für die Dauer der Untersuchung mittels einer thermostatisierten Haltevorrichtung fixiert. Dabei wird die Fixierung des Fingers mit einer Klemmleiste in Höhe des vorderen Drittels des Nagelbettes von dorsal her vorgenommen, so dass die Perfusion der Nagelfalz nicht beeinträchtigt wird.

Durch Auftragen eines Tropfen Öls wird die Epidermis durchsichtig. Damit der Öltropfen für die Dauer der Untersuchung nicht abläuft, wird mit Ultraschallgel ein kleiner Wall um das Untersuchungsgebiet geformt. Nach Einstellen des ungefähren Arbeitsabstandes, wird unter Sichtkontrolle auf dem Bildschirm eine Fokussierung der oberflächlich liegenden Kapillaren vorgenommen. Untersucht wird jeweils der 4. Finger der rechten Hand, sofern Verletzungen der Nagelfalz in diesem Gefäßgebiet vorliegen, wird der 5. Finger untersucht.

Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, dass darüber hinaus auch Rauchen, Kaffee und Alkohol einen Einfluss auf die kutane Mikrozirkulation haben können. Darüber hinaus kann aus kreislaufphysiologischer Sicht, aber auch aus rheologischen Untersuchungen erwartet werden, dass körperliche Aktivität, die Hauttemperatur und auch Nahrungsaufnahme einen Einfluss auf die kutane Mikrozirkulation haben. Da dies für die Durchblutung der Kapillaren der Haut bisher nicht untersucht ist, wurden für diese Fragestellungen eigene Untersuchungen durchgeführt. Da einige der in der Therapie der arteriellen Verschlusskrankheit häufig eingesetzten Präparate auch einen Einfluss auf die kutane Mikrozirkulation haben, muss eine vorliegende Medikation rechtzeitig abgesetzt oder bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Die bisher erarbeiteten Ergebnisse führten zu dem im folgenden zusammengestellten Messablauf.

Vor Beginn der Untersuchung warten die Probanden ca. 30 Minuten in einem Wartezimmer (im Winter auf ca. 22 °C temperiert). Zu Beginn der Kapillarmikroskopie wird die Hauttemperatur an der Nagelfalz mit einem Kontaktthermometer kontrolliert. Erst bei Überschreiten einer Oberflächentemperatur von 27 °C wird mit der Durchführung der Kapillarmikroskopie begonnen. Vor der Untersuchung muss ausgeschlossen werden:

- Hautoberflächentemperatur unterhalb von 27 [°C]
- Rauchen (mindestens 2 Stunden vor der Untersuchung Nikotinkarenz).
- Trinken von Kaffee (bis zu einer Stunde vor der Untersuchung).
- Alkoholeinnahme (am Tage der Untersuchung sowie am Vortag).
- Körperliche Aktivität (mindestens 2 Stunden vor der Untersuchung).
- Nahrungsaufnahme (nüchtern oder mindestens fünf Stunden vor der Untersuchung kein fettreiches Essen).
- Medikation (falls keine Auswaschphase möglich ist, muss die aktuelle Medikation erfasst werden).

Vor und nach der Untersuchung werden Blutdruck und Herzfrequenz gemessen. Während der Kapillarmikroskopie sitzen die Patienten auf einem Stuhl, dabei liegt der Arm bequem auf dem Mikroskoptisch. Die Hand wird in Herzhöhe auf einem in x,y-Richtung verstellbaren Mikroskoptisch unter dem Mikroskopobjektiv positioniert.

Der Finger wird für die Dauer der Untersuchung mittels eines Papierklebestreifens über das proximale Interphalangealgelenk auf der Unterlage befestigt. Bei feinschlägigem Fingertremor wird der Finger mit einer auf 28 °C thermostatisierten Haltevorrichtung fixiert. Dabei wird die Fixierung des Fingers mit einer Klemmleiste in Höhe des vorderen Drittels des Nagelbettes von dorsal her vorgenommen, so dass die Perfusion der Nagelfalz nicht beeinträchtigt wird.

Durch Auftragen eines Tropfen Immersionöls wird die Epidermis durchsichtig; damit der Öltropfen für die Dauer der Untersuchung nicht verläuft, wird mit Ultraschallgel ein kleiner Wall um das Untersuchungsgebiet geformt. Nach grober Einstellen des Arbeitsabstandes (Abstand zwischen Objektiv und Hautoberfläche ca. 10 [mm] mittels Grobtrieb), kann unter Sichtkontrolle auf dem Bildschirm eine Fokussierung (mittels Feintrieb des Mikroskopes) der oberflächlich liegenden Kapillaren vorgenommen werden. Durch die parallele Lage zur Körperoberfläche sind die Nagelfalzkapillaren gut einsehbar.

Zunächst wird bei kleiner Vergrößerung (285-fach) der gesamte Nagelfalzrand betrachtet, um die Geometrie der Kapillaren beurteilen zu können. Anschließend wird mit Hilfe des Optovars eine Gesamtvergrößerung von 570-fach eingestellt. Mit dieser Vergrößerung wird ein Gefäßgebiet für ca. 3 Minuten beobachtet und die Aufnahmen zur Ermittlung der Perfusion unter Ruhebedingungen aufgezeichnet. Im Anschluss daran wird der gesamte Arm für 3 Minuten arteriell mit 300 [mm Hg] gestaut (dreiminütige Ischämie); der Stau wird mit einer Druckmanschette am Oberarm durchgeführt. Nach Lösen des Staus wird im gleichen Gefäßgebiet am Nagelfalz eine Zeitspanne von 4 Minuten zur Erfassung der reaktiven Hyperämie aufgezeichnet.

Zusätzlich werden die Blutdrücke in der A. brachialis, A. radialis und A. ulnaris gemessen. Die Messung der Handgelenkblutdrücke erfolgt unter Ruhebedingungen und nach einer Belastung der Unterarmmuskulatur mit einem Trainingsgerät.

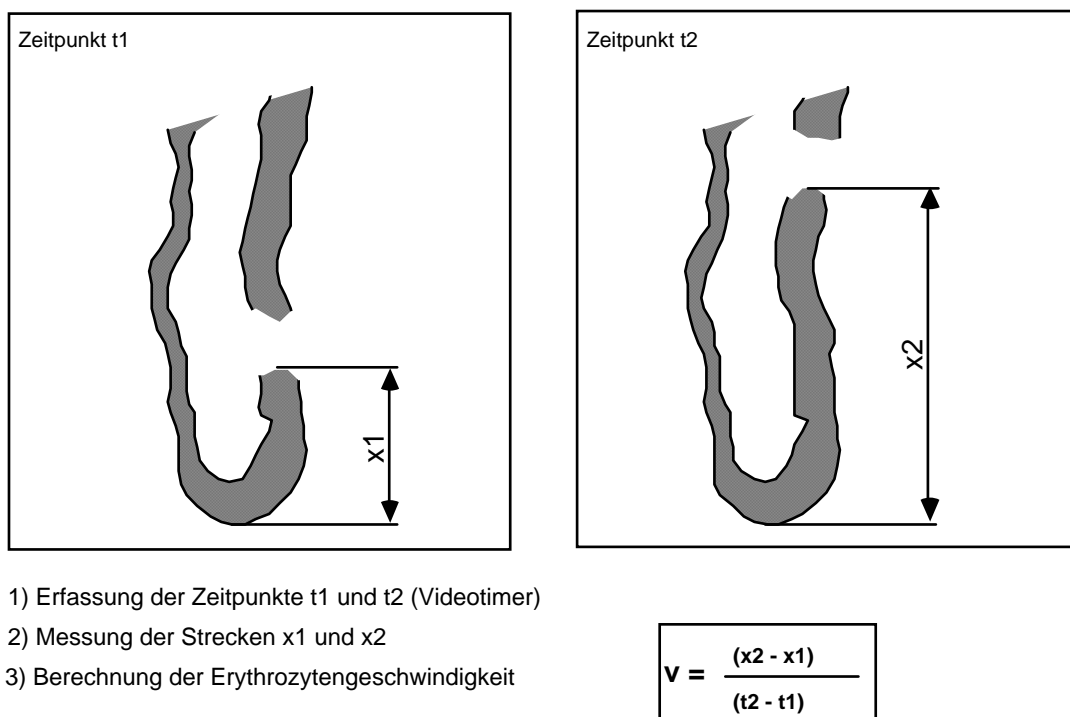
Liegt in den Handgelenkartern ein niedrigerer Blutdruck vor, als in der A. brachialis, muss - auch beim Fehlen klinischer Symptome - von einer Makroangiopathie ausgegangen werden. Da häufig Stenosen oder Verschlüsse der großen Arterien kollateralisiert sind, so dass es unter Ruhebedingungen zu einer ausreichenden Blutversorgung kommt, muss zusätzlich eine Blutdruckmessung nach einer Belastung der Unterarmmuskulatur vorgenommen werden. Im Falle einer Verschlusskrankheit kommt es dann zu einem Blutdruckabfall in den betroffenen Arterien.

Die Kenntnis einer eventuell bestehenden Makroangiopathie ist wesentlich, da nur dann entschieden werden kann, ob es sich um eine primäre Mikrozirkulationsstörung oder um eine poststenotische Durchblutungssituation, also um eine sekundäre Mikrozirkulationsstörung handelt.

Bestimmung der Messgröße

Zunächst wird bei kleiner Vergrößerung (1:285) der gesamte Nagelfalzrand abgescannt, um die Konkordanz der Kapillarperfusion beurteilen zu können. Bei konkordanter, kontinuierlicher Kapillarperfusion wird ein Gefäßgebiet bei einer Vergrößerung von 1:570 zur späteren Auswertung mittels Videorekorder aufgezeichnet. Die Geschwindigkeitsmessungen werden interaktiv mittels Bildanalysestystem "Cap-Image" (Ingenieurbüro Zeintl, Heidelberg, Deutschland) auf einem PC486 mit Bildverarbeitungskarte MVIP-8/AT/2MC durchgeführt. Dabei wird, wie in Abbildung 4 schematisch dargestellt, vorgegangen [KLYSCZ, 1997].

Abbildung 4. Messung der Erythrozytengeschwindigkeit in frame-to-frame Technik



Um die durch die Vasomotion, d.h. oszillatorische Kaliberschwankungen präkapillärer Arteriolen, verursachten rhythmischen Schwankungen der Erythrozytengeschwindigkeit mit einer Frequenz von 6 - 10 pro Minute auszugleichen, werden wiederholt Geschwindigkeitsmessungen durchgeführt. In jeder Kapillare werden zehn Messungen pro Minute durchgeführt. Da drei Minuten aufgezeichnet werden, erfolgen insgesamt 30 Geschwindigkeitsmessungen. Mit diesen Messungen lässt sich eine zeitliche Mittelung der Erythrozytengeschwindigkeit durchführen.

Bei normaler Kapillardichte (9 pro Millimeter Epidermisrand [JUNG, 1992]) sind auf dem Monitor - bei der Vergrößerung von 1:570, bei der die

Geschwindigkeitsmessungen durchgeführt werden - circa 2 - 4 Kapillaren erkennbar. Als Gefäßgebiet wird das zentrale Gebiet der Nagelfalz mit der kleinsten Oberflächenkrümmung gewählt, damit die Kapillaren im Tiefenschärfenbereich des Mikroskopes bleiben und möglichst alle scharf dargestellt sind. Ist dies der Fall, wird die oben beschriebene zeitliche Mittelung in den 2 - 4 Kapillaren durchgeführt.

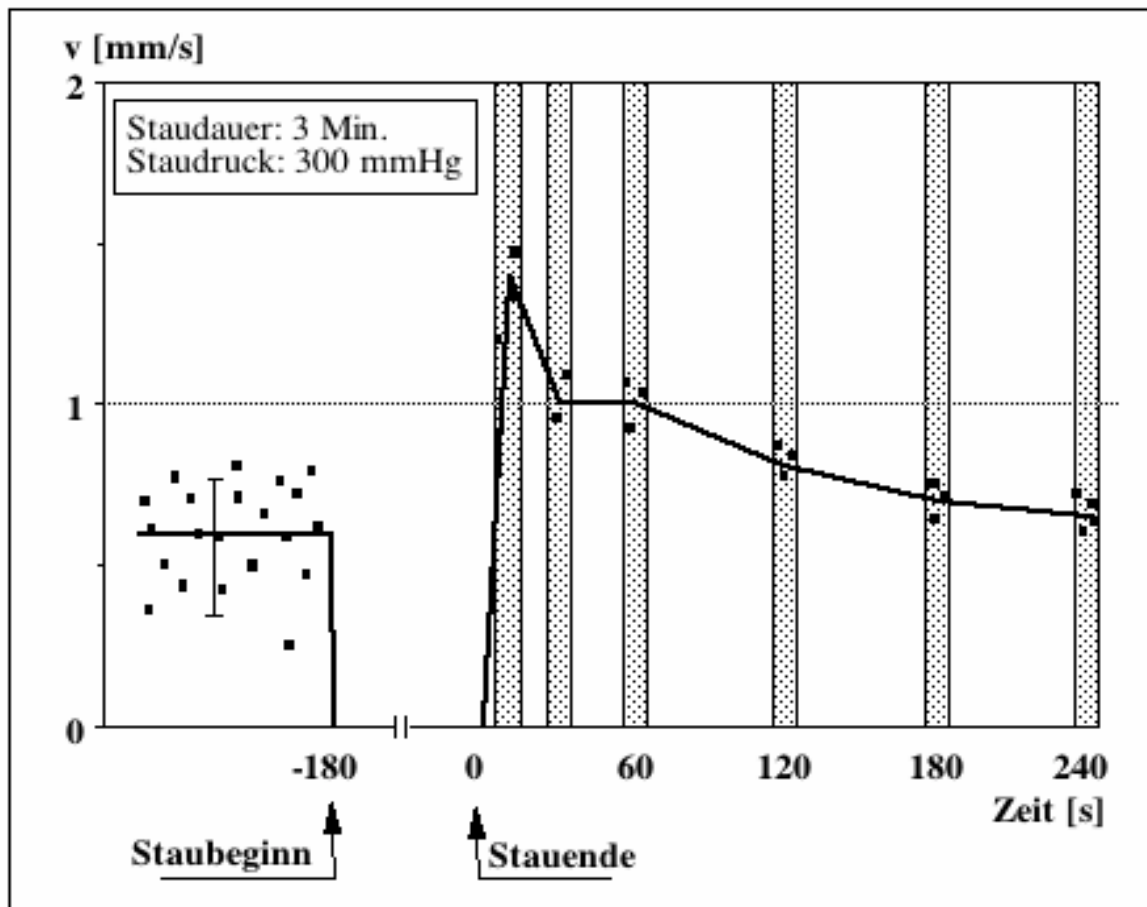
Die angegebenen mittleren Erythrozytengeschwindigkeiten werden als zeitliche (10 Messungen/Minute) und räumliche Mittelwerte (2 - 4 Kapillaren) gebildet. Die technische und biologischen Einflussfaktoren sowie die Varianz der periungualen Videokapillarmikroskopie sind von Jung [JUNG, 1991] beschrieben worden.

Reaktive Hyperämie

Neben der Beurteilung der kapillären Hautdurchblutung unter Ruhebedingungen ist es wichtig, die Regulation der Mikrozirkulation zu beurteilen. Eine mögliche Provokation einer physiologischen Regulation ist der Ischämietest mit einer nachfolgenden reaktiven Hyperämie zum Ausgleich der aufgetretenen Sauerstoffschuld.

Zur Provokation einer reaktiven Hyperämie wird eine Ischämie im Gefäßsystem des Armes (mit einer Blutdruckmanschette am Oberarm bei einem Staudruck von 300 mm Hg) distal der Manschette erzeugt. Nach Lösen des Staus wird für 5 Minuten dasselbe Kapillargebiet wie bei der Bestimmung der Erythrozytengeschwindigkeit unter Ruhebedingungen aufgezeichnet. Nach der Untersuchung werden Blutdruck, Puls sowie Hauttemperatur erneut kontrolliert. Zur Erfassung der reaktiven Hyperämie werden in zwei bis vier Kapillaren wiederholt Erythrozytengeschwindigkeiten gemessen, dies zu den Zeitpunkten vor dem Stau sowie 10, 30, 60, 120, 180 und 240 Sekunden nach Lösen des Staus. Da in der Phase der reaktiven Hyperämie eine Vasodilatation der vorgeschalteten Arteriolen/Arterien vorliegt, ist die Vasomotion in dieser Phase weitgehend ausgeschaltet und die Bestimmung der zeitlichen Mittelung der Erythrozytengeschwindigkeit kann über wesentlich kürzere Zeiträume vorgenommen werden. Um die definierten Messzeitpunkte wird in einem Zeitintervall von ± 5 Sekunden dreimal gemessen und ein Mittelwert gebildet. Die Interpolation dieser Mittelwerte ist in Abbildung 5 dargestellt.

Abbildung 5. Erfassung des Verlaufes der reaktiven Hyperämie



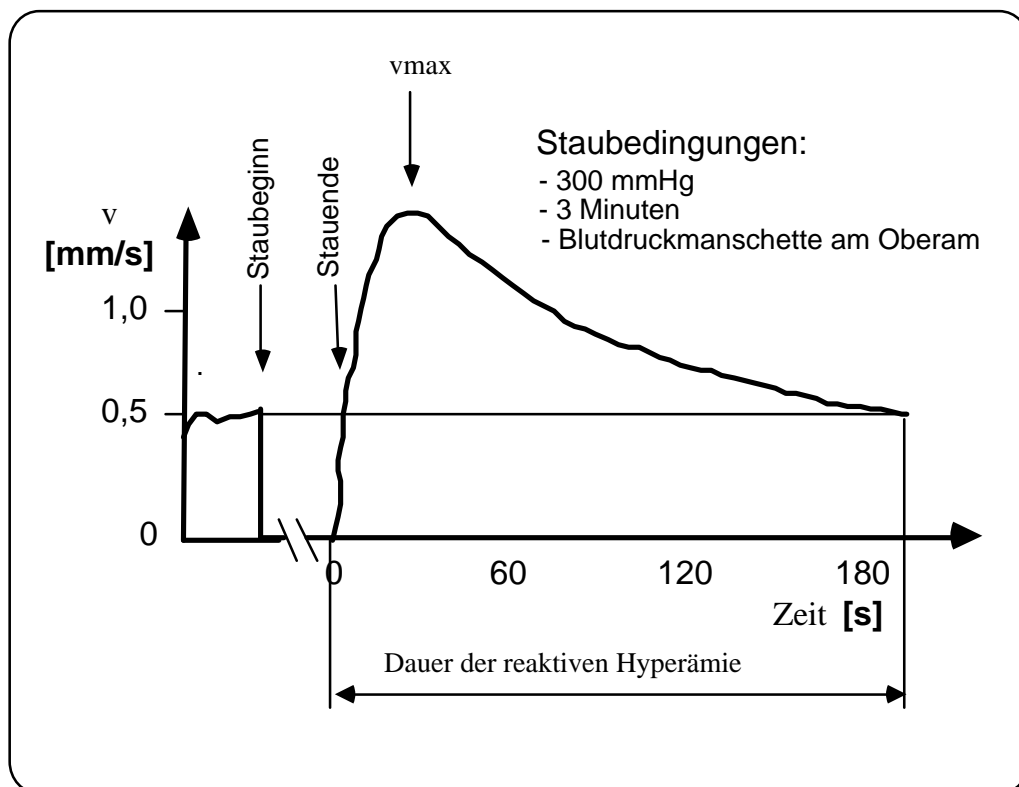
Dauer der reaktiven Hyperämie

Als Dauer der reaktiven Hyperämie (**DrH**) wird die Zeitspanne zwischen Lösen des Staus und Wiedererreichen der Erythrozytengeschwindigkeit (v_{Ruhe}) unter Ruhebedingungen bezeichnet (siehe Abbildung 6).

Maximale Erythrozytengeschwindigkeit

Die maximale Erythrozytengeschwindigkeit (v_{max}) entspricht der größten gemessenen Geschwindigkeit der Erythrozyten in der Phase der reaktiven Hyperämie (siehe Abbildung 6).

Abbildung 6. Schema zur Ermittlung von **DrH** und **v_{max}**



Die kapillarmikroskopische Untersuchung wurde unter standardisierten Bedingungen durchgeführt.

Tabelle 1: Untersuchungsstandard der Video-Kapillarmikroskopie nach [JUNG, 1991]

- 1.) Untersuchungsbedingungen:
 - Hand in Herzhöhe auf dem Mikroskoptisch
 - auf 28 °C thermostatisierter Mikroskoptisch
 - thermostatisierte Fingerhaltevorrichtung
 - Kaltlichtquelle
- 2.) Ausschluss verhaltensabhängiger Einflüsse:
 - Temperaturadaptation des Patienten an die Raumtemperatur (30 Minuten, Raumtemperatur 22 °C)
 - keine körperliche Aktivität (mindestens 2 Stunden vor der Untersuchung)
 - Nahrungsaufnahme (nüchtern oder mindestens 5 Stunden vor der Untersuchung kein fettreiches Essen)
 - keine Alkoholeinnahme (am Untersuchungstag sowie am Vortag)
 - kein Trinken von Kaffee (bis zu 1 Stunde vor der Untersuchung)
 - Nikotinkarenz (mindestens 2 Stunden vor der Untersuchung)
- 3.) Erfassen der Medikation (falls keine Auswaschphase möglich ist)
- 4.) Erfassen von Blutdruck und Herzfrequenz vor und nach der Untersuchung

Aufgrund der bekannten Temperaturabhängigkeit der kutanen Mikrozirkulation wurde die Adaptation des Patienten an die Raumtemperatur vor Beginn der Untersuchung abgewartet. Die Kapillarmikroskopie wurde nicht begonnen bevor die Hauttemperatur 27,4 °C überschritten hatte [JUNG, 1990].

Die Referenzwerte der mittleren kapillären Erythrozytengeschwindigkeit (vRBC), die maximale post-ischämische Erythrozytengeschwindigkeit (vmax) und die Dauer der reaktiven Hyperämie nach dreiminütiger suprasystolischer Kompression (DrH) einer Kohorte (n=100) offensichtlich gesunder Probanden im Alter zwischen 45 und 65 Jahren zeigt Tabelle 2 [JUNG, 1987].

Tabelle 2: Referenzwerte der mittleren kapillären Erythrozytengeschwindigkeit (vRBC), die maximale post-ischämische Erythrozytengeschwindigkeit (vmax) und die Dauer der reaktiven Hyperämie nach dreiminütiger suprasystolischer Kompression (DrH)

Variable	Dimension	Mittelwert	Referenzwert ± Standardabweichung
vRBC	[mm/s]	0.67 ± 0.28	0.11 – 1.28
vmax	[mm/s]	1.46 ± 0.52	0.42 – 2.50
DrH	[s]	208 ± 66	76 – 340

Die intraindividuelle Variabilität der vRBC unter Ruhebedingungen über einen Tag wurde an 8 offensichtlich Gesunden Probanden untersucht [JUNG, 1991]. vRBC wurde um 8^{oo}, 11^{oo}, 14^{oo} und 17^{oo} Uhr bestimmt. Der Variationskoeffizient CV der vRBC der Nagelfalzkapillaren unter Ruhebedingungen betrug CV=23,4%±7,8%. Es bestand keine signifikante Differenz zwischen den 4 Untersuchungszeitpunkten (p>0,05).

Die intraindividuelle Variabilität von vRBC in Ruhe von Tag zu Tag wurde an 9 offensichtlich Gesunden untersucht [JUNG, 1990].

vRBC wurde an 5 aufeinander folgenden Tagen einer Woche zur gleichen Zeit (8^{oo} Uhr) bestimmt. Der Variationskoeffizient CV der vRBC der Nagelfalzkapillaren unter Ruhebedingungen betrug CV=23,8%±9,5%. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den 5 Untersuchungszeitpunkten (p>0,05).

Die intraindividuelle Variabilität von vRBC unter Ruhebedingungen innerhalb eines Jahres wurde an 11 offensichtlich Gesunden untersucht [JUNG, 1990].

vRBC wurde monatlich, jeden ersten Montag, zur gleichen Zeit (8^{oo} Uhr) bestimmt. Der Variationskoeffizient CV der vRBC der Nagelfalzkapillaren unter

Ruhebedingungen betrug $CV=21,1\% \pm 7,9\%$. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den 12 Untersuchungszeitpunkten ($p > 0,05$).

Um einzuschätzen ob eine primäre Mikrozirkulationsstörung vorlag wurde sichergestellt, dass keine Makroangiopathie der Unterarmarterien bestand. Dafür wurde in Analogie zur Diagnostik der Makroangiopathie der Beinarterien [BONGARD, 1990] der Okklusionsdruck der handversorgenden Arterien (A. radialis und A. ulnaris) unter Benutzung eines bidirektionalen Ultraschall-Dopplers nach 15 Minuten Ruhe im Liegen bei stabilem Blutdruck und stabiler Herzfrequenz gemessen.

Eine Makroangiopathie war anzunehmen in Verbindung mit einem Hand-Arm-Index $< 0,9$ oder einer Blutdrucksenkung in der A. radialis/ulnaris von mehr als 20 mm Hg nach einer Belastung der Unterarmmuskulatur mit einem speziellen Trainingsgerät.

Eine Mönckeberg'sche Sklerose ist anzunehmen bei einer Blutdruckdifferenz von über 40 mm Hg im Vergleich beider Arm mit dem Blutdruck der Malleolararterien, gemessen mit der Ultraschall-Doppler-Methode, insofern kein „FRANK“ – Ödem vorliegt [BONGARD, 1990]. Patienten mit Mediasklerose wurden ausgeschlossen.

3.3 Statistik

Alle Stichproben werden mit Mittelwert und Standardabweichung beschrieben. Da alle Patienten zu beiden Prüfphasen erschienen und die Compliance gewährleistet war, sind Intention-to-treat und Completer-Analyse identisch. Konfirmatorische Zielgröße (Diff v_{max}) der Studie war die Differenz der Amplitude der Erythrozytengeschwindigkeit während der reaktiven Hyperämie (v_{max}) vor minus nach Applikation von 50 mg Sildenafil im Vergleich zur gleichen Differenz der Plazebogruppe:

$H_0: \mu \text{Diff}v_{max} \text{Verum} = \mu \text{Diff}v_{max} \text{Plazebo}$

mit: $\text{Diff}v_{max} = v_{max} \text{ vor} - v_{max} \text{ nach}$

Konfirmatorisch wurde geprüft, ob sich die Prüfgröße (Diff v_{max}) nach der Einnahme von Sildenafil im Vergleich zur Plazebogruppe veränderte. Für dieses Zweistichprobenproblem wurde, da es sich um eine Cross-Over-Studie handelte, der t-Test für verbundene Stichproben bei zweiseitiger Fragestellung eingesetzt.

Die Nullhypothese lautete: Es gibt keinen Unterschied zwischen der Änderung der Amplitude in der Phase der reaktiven Hyperämie unter Sildenafil im Vergleich zur Änderung der Amplitude unter Plazebo.

Ein signifikanter Unterschied wird angenommen, wenn ein p-Wert von 0,05 unterschritten wird. Alle anderen Messgrößen werden explorativ beschrieben. Auf eine Bonferroni-Adjustierung wird daher verzichtet.

4. Ergebnisse

4.1 Patienten

7 Patienten wiesen eine Eingefäßerkrankung, 4 eine Zweigefäßerkrankung und neun weitere eine koronare Dreigefäßerkrankung auf. Drei Patienten hatten bereits einen Myokardinfarkt durchlitten, ein Patient einen Hirninsult. Eine zusätzliche periphere arterielle Verschlusskrankheit lag bei 4 Patienten (Stadium II nach Fontaine), Carotis-Stenosen bei 5 Patienten vor.

Das mittlere Alter der Patienten betrug $63,5 \pm 6,345$ Jahre, die mittlere Größe $172,7 \pm 7,74$ cm und das mittlere Körpergewicht $88,7 \pm 18,253$ kg. Alle Teilnehmer waren männlich.

Der mittlere systolische Blutdruck lag bei $141 \pm 19,9$ mmHg, der diastolische Blutdruck bei $80,5 \pm 13,9$ mmHg und die Herzfrequenz bei $74,3 \pm 11,3$ beats/min.

Tabelle 2 zeigt die Häufigkeit kardiovaskulärer Risikofaktoren.

Tabelle 2: Kardiovaskuläre Risikofaktoren
(BMI: body-mass-index; FWS: Fettstoffwechselstörung)

PN	BMI [-]	Rauchen	Diabetes m.	FWS	Hypertonus
1	1,43	nein	nein	ja	ja
2	1,22	nein	nein	ja	ja
3	0,92	nein	nein	ja	ja
4	1,11	ja	nein	nein	ja
5	1,20	nein	ja	ja	ja
6	1,31	nein	nein	nein	ja
7	1,27	ex	ja	nein	ja
8	1,30	ex	ja	ja	ja
9	1,25	ex	ja	ja	ja
10	1,42	ex	ja	ja	ja
11	1,11	ex	nein	ja	ja
12	1,12	ex	ja	ja	ja
13	0,90	ja	nein	ja	ja
14	0,96	nein	nein	ja	nein
15	1,33	ex	nein	nein	ja
16	1,31	nein	nein	ja	ja
17	1,35	ex	nein	ja	ja
18	1,57	nein	nein	ja	ja
19	1,11	ex	ja	ja	ja
20	1,12	nein	nein	ja	nein

Akut rauchten lediglich 2 der 20 Patienten, 9 hatten das Rauchen bereits seit längerem eingestellt (zwischen 1 Jahr bis 20 Jahre), die übrigen 9 Patienten hatten nie geraucht.

Einen Diabetes mellitus wiesen 7 Patienten auf (Typ I: 1; Typ II: 6), 18 eine arterielle Hypertonie und 16 eine Fettstoffwechselstörung.

16 Patienten erhielten Azetylsalizylsäure (fünf zusätzlich Clopidogrel, einer erhielt nur Clopidogrel wegen einer ASS-Unverträglichkeit), 13 einen Betablocker, 5 einen Calciumantagonisten, zwei ein Fibrat und 10 ein Statin. Ein Diuretikum erhielten 4 Patienten.

4.2 Homogenität der Ausgangslage

Aus biometrischer Sicht müssen folgende Forderungen an eine klinische Studie erfüllt sein:

1. Beobachtungsgleichheit
2. randomisierte Zuordnung des Prüfpräparates
3. Strukturähnlichkeit der Prüfgruppen.

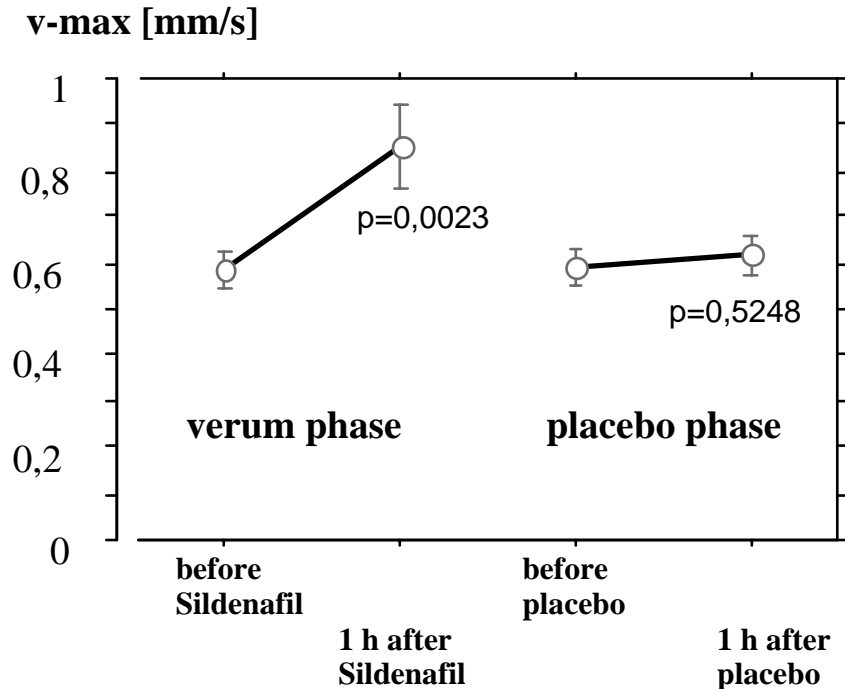
Punkt 1 und Punkt 2 waren - wegen der doppelblinden, randomisierten Versuchsdurchführung - erfüllt. Zu prüfen blieb, ob die beiden Versuchsgruppen zu Beginn der beiden Prüfphase vergleichbar waren. Zusätzlich wurde geprüft, ob keine Carry-Over-Effekt (Unterschied zwischen den Parametern zu Beginn der beiden Prüfphasen) auftraten. Die Homogenität der Ausgangsparameter für die stetigen Messgrößen wurden mittels Student t-Test bei nicht-normalverteilten Stichproben mittels Paardifferenz-Test nach Wilcoxon, für die klassifizierten Variablen mittels Chi-Quadrat-Homogenitätstest geprüft. In keiner der erfassten Prüfgrößen ergaben sich Unterschiede. Von einer Homogenität der Ausgangslage kann daher ausgegangen werden; Carry-Over-Effekte lagen nicht vor.

4.3 Konfirmatorische Zielgröße: Diff v_{\max} [mm/s]

Eine grafische Darstellung der konfirmatorischen Zielgröße zeigt Abbildung 7. Die mittlere, maximale, kapilläre Erythrozytengeschwindigkeit v_{\max} [mm/s] in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie betrug initial $0,582 \pm 0,18$ mm/s. Sie nahm eine Stunde nach der Einnahme von 50 mg Sildenafil auf $0,853 \pm 0,415$ mm/s um 46,6% zu ($p=0,0023$).

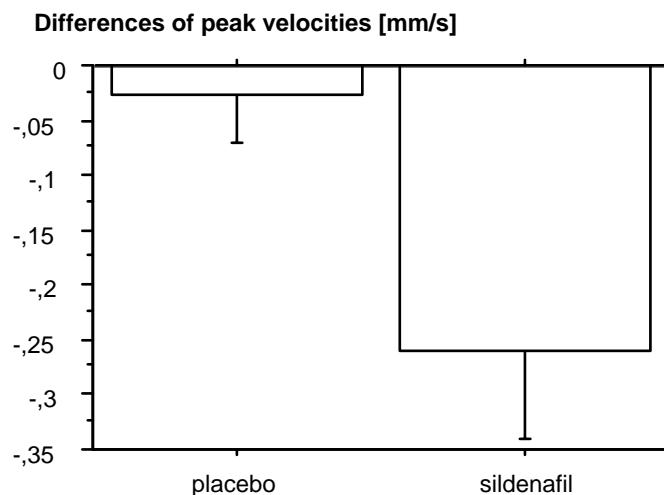
Die mittlere, maximale, kapilläre Erythrozytengeschwindigkeit v_{\max} in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie betrug in der Plazebophase initial $0,591 \pm 0,18$ mm/s. Sie änderte sich eine Stunde nach der Einnahme eines Plazebopräparates nicht ($p=0,5248$).

Abbildung 7: Maximale, kapilläre Erythrozytengeschwindigkeit v_{\max} [mm/s] während der postischämischen reaktiven Hyperämie vor und eine Stunde nach 50 mg Sildenafil im Vergleich zu Plazebo (Mittelwert \pm Standardabweichung)



Die Differenzen der mittleren, maximalen, kapillären Erythrozytengeschwindigkeit in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie für die Verum- und die Plazebophase zeigt Abbildung 8.

Abbildung 8: Differenzen der mittleren, maximalen, kapillären Erythrozytengeschwindigkeit in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie (Vorwert minus Nachwert) für die Verum- (V:Diff- v_{\max}) und die Plazebophase (P:Diff- v_{\max}) (Mittelwert \pm Standardabweichung)



Die Zunahme der mittleren, maximalen, kapillären Erythrozytengeschwindigkeit in der Phase der postischämischen reaktiven Hyperämie war nach 50 mg Sildenafil mit 46,6% signifikant größer als nach Plazebo mit 4,7% ($p=0,0129$).

Die biometrische Relevanz dieser Zunahme lässt sich mit Hilfe des standardisierten Unterschiedes (sU) abschätzen. Der standardisierte Unterschied nach COHEN [x] wurde berechnet als therapeutische Differenz (Ausgangswert minus Wert nach Therapie) dividiert durch die Standardabweichung der Grundgesamtheit.

Werte um 0,4 sind als schwach relevant, Werte bis 0,8 als von mittlerer Relevanz, Werte größer als 0,8 als von starker Relevanz anzusehen.

$$sU = 0,260 / 0,32$$

$$sU = 0,81$$

Damit ist der Einfluss von Sildenafil auf die Amplitude der postischämischen reaktiven Hyperämie als biometrisch stark relevant anzusehen.

Explorative Parameter

Die mittlere, kapilläre Erythrozytengeschwindigkeit unter Ruhebedingungen betrug vor der Verumphase $0,314 \pm 0,118$ mm/s, vor der Plazebophase $0,294 \pm 0,079$ mm/s. Sie nahm eine Stunde nach der Einnahme von 50 mg Sildenafil auf $0,42 \pm 0,188$ mm/s um 33,8% zu ($p=0,0048$), änderte sich hingegen eine Stunde nach der Einnahme des Plazebopräparates nicht ($p=0,4919$). Die Zunahme der mittleren, kapillären Erythrozytengeschwindigkeit unter Ruhebedingungen war nach 50 mg Sildenafil mit 33,8% erheblich größer als nach Plazebo mit 5,8 % ($p=0,0434$).

Die Dauer der reaktiven Hyperämie betrug vor der Verumphase $88,0 \pm 51,1$ [s], vor der Plazebophase $82,3 \pm 51,3$ [s]. Sie änderte sich eine Stunde nach der Einnahme von 50 mg Sildenafil ($p=0,2789$), bzw. Plazebo nicht ($p=0,0984$). Die Dauer der reaktiven Hyperämie wurde durch Sildenafil im Gruppenvergleich nicht beeinflusst ($p=0,5819$).

Der systolische Blutdruck betrug vor der Verumphase $139,5 \pm 20,1$, vor der Plazebophase $134,8 \pm 19,9$ mm/Hg. Er nahm eine Stunde nach der Einnahme von 50 mg Sildenafil auf $125,5 \pm 18,3$ mm/Hg um 10,0% ab ($p < 0,0001$), eine Stunde nach der Einnahme des Plazebopräparates war er unverändert ($p=0,6782$). Die Abnahme des systolischen Blutdrucks war nach 50 mg Sildenafil mit 10% erheblich größer als nach Plazebo ($p=0,0007$).

Der diastolische Blutdruck betrug vor der Verumphase $80,0 \pm 12,1$, vor der Plazebophase $78,0 \pm 12,8$ mm/Hg. Er nahm eine Stunde nach der Einnahme von 50 mg Sildenafil auf $71,0 \pm 11,7$ mm/Hg um 11,25% ab ($p < 0,0001$), nach der Einnahme eines Plazebopräparates änderte er sich nicht ($p=0,68833$). Die

Abnahme des diastolischen Blutdrucks war nach 50 mg Sildenafil mit 11,25% erheblich größer als nach Plazebo ($p=0,0003$).

Die Herzfrequenz betrug vor der Verumphase $72,2 \pm 11,7$, vor der Plazebophase $72,3 \pm 10,2$ Schläge pro Minute. Sie änderte sich eine Stunde nach der Einnahme von 50 mg Sildenafil ($p=0,6430$) bzw. Plazebo ($p=0,1227$) nicht. Die Herzfrequenz wurde durch die Einnahme von 50 mg Sildenafil im Gruppenvergleich nicht beeinflusst ($p=0,4847$).

5. Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen eine signifikante Zunahme der reaktiven Hyperämie der Hautkapillaren (nach einer dreiminütigen suprasystolischen Stauung des Oberarms) eine Stunde nach Einnahme von 50 mg Sildenafil.

Sildenafil bewirkte bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung eine signifikant ($p=0,0129$) stärkere Zunahme (46,6%) der postischämischen Kapillardurchblutung als nach Placebo (4,7%). Darüber hinaus war diese Zunahme auch als biometrisch stark relevant anzusehen. Dies erfolgte, obwohl eine deutliche Reduzierung des Blutdrucks um systolisch 10%, diastolisch um 11% auftrat.

Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass eine Inhibierung der Typ 5 Phosphodiesterase durch Sildenafil zu einer akuten Zunahme der kutanen Mikrozirkulation bei Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung führt.

Kutane Mikrozirkulationsstörungen bei koronarer Herzerkrankung

Frühere Studien zeigten eine beeinträchtigte vasodilatatorische Reaktion der Arterien bei Patienten mit bestehender Atherosklerose. [LIAO, 1991; CELERMAJER, 1992; ANDERSON, 1995; LAMPING, 1997]. In der vorliegenden Studie konnte jetzt nachgewiesen werden, dass auch die nachgeschaltete kutane Mikrozirkulation eine erhebliche Dysfunktion bei diesen Patienten aufweist. Gegenüber gesunden Probanden wiesen die in die Studie eingeschlossenen Patienten eine eingeschränkte postischämische Kapillardurchblutung auf, während unter Ruhebedingungen noch eine fast normale kapilläre Erythrozytengeschwindigkeit vorlag.

Eine nur leicht eingeschränkt-reduzierte Kapillardurchblutung unter Ruhebedingungen bei deutlich eingeschränkter postischämischer Hyperämie konnte auch bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit nachgewiesen werden [ÖSTERGREN, 1985; BONGARD, 1990].

Dies zeigt, dass Patienten mit atherosklerotischer Grunderkrankung auf eine Ischämie nicht mehr adäquat reagieren, also eine unter Belastung eingegangene Sauerstoffschuld nicht sofort durch eine mikrozirkulatorische Mehrdurchblutung ausgleichen können.

Wirkungsweise der Phosphodiesterase-Hemmer

Die bisherigen Phosphodiesterase-Hemmer wie Amrinon oder Milrinon hemmen selektiv die Phosphodiesterase 3, die insbesondere im Herzen lokalisiert ist. Sie verhindern den intrazellulären Abbau von Phosphodiestern, wie dem zyklischen Adenosinmonophosphat (cAMP). Die Akkumulation von cAMP führt - über die Aktivierung spezifischer Proteinkinasen und der Phosphorylierung kalziumabhängiger Kaliumkanäle [COHEN, 1969;

SCHLOSSMANN, 2000] - zur Relaxation der glatten Gefäßmuskelzellen in Arterien und Arteriolen [LINCOLN, 1989] und damit zu einem vermehrten Bluteinstrom in die Endstrombahn. Die Wirkung dieser PDE3-Hemmer lässt sich sowohl in der kutanen als auch in der Skelettmuskel-Mikrozirkulation in Form eines erheblichen Anstieges der Kapillardurchblutung und des Gewebesauerstoffpartialdruckes nachweisen [RETTIG, 1993].

Demgegenüber hemmt Sildenafil hauptsächlich das Phosphodiesterase-Isoenzym 5 (PDE5) und etwa 10-fach schwächer das PDE-Isoenzym 6, alle anderen PDE-Isoenzyme werden durch die nach Einnahme von Sildenafil erreichbaren Plasmaspiegel nicht beeinflusst [WALLIS, 1999]. Neben der cGMP-vermittelten Wirkung konnte Medina zeigen, dass Sildenafil auch noradrenergisch vermittelte Kontraktionen abschwächt [MEDINA, 2000].

PDE5 ist in der glatten Muskulatur von Arterien und Venen [WALLIS, 1999] auch der Koronarien [BEAVO, 1995], jedoch nicht in kardialen Myozyten des Vorhofs, des Ventrikels oder des Reizleitungssystems vorhanden. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass Sildenafil in guter Übereinstimmung mit diesen Befunden arteriell und venös leicht gefäßerweiternd wirkt, was die milde Blutdrucksenkung - die auch in anderen Studien an Hypertonikern gezeigt werden konnte [KLONER, 1999; NEDOGODA, 1999]- erklärt. Herzfrequenz und Herz-Minutenvolumen wurden jedoch nicht beeinflusst [HERRMANN, 2000].

Trotz der leichten Blutdrucksenkung führte Sildenafil nicht zu einer Abnahme der Kapillardurchblutung unter Ruhebedingungen. Hier wird offensichtlich die systemische Blutdruckabnahme durch die Zunahme des treibenden Drucks (durch die arterioläre Vasodilatation ist die Blutdruckabnahme zwischen Aorta und Arteriole geringer und damit der treibende Druck im präkapillären Bereich größer) kompensiert, möglicherweise nimmt auch die thermoregulative (Shunt-)Durchblutung im Bereich der Haut [BONGARD, 1990] zu.

Die postischämisch erhebliche Zunahme der Kapillardurchblutung könnte darauf zurückzuführen sein, dass Sildenafil die Wirkung von NO potenziert, indem es den Abbau des second messenger von NO, cGMP, hemmt [WALLACE, 2000]. Die reaktive Hyperämie wird in der zweiten Phase insbesondere durch die Freisetzung von NO und Prostazyklin - infolge der erhöhten Scherspannung auf das Endothel - unterhalten und verstärkt [SHEPHERD, 1964; LÜSCHER, 1990]. Eine verstärkte NO-Freisetzung durch Sildenafil in der reaktiven Hyperämie würde die Zunahme der Kapillardurchblutung in dieser Phase erklären können.

Grenzen der Studie

Aus ethischen Gründen sind intravitale Studien der mikrovaskulären myokardialen Perfusion nicht möglich. Daher wurde der Einfluss von Sildenafil auf die kutane kapilläre Perfusion der Haut an den Nagelfalzkapillaren untersucht.

Es ist anzunehmen, dass Sildenafil Einflüsse auf das terminale Gefäßbett wie z.B. der Haut und das Myokard ausübt, so dass die Bestimmung der Hautperfusion vielleicht als Surrogat der myokardialen Perfusion fungieren kann.

Diese Einflüsse sind möglicherweise aufgrund struktureller [ZETTER, 1981] und physiologischer Differenzen [GERRITSEN, 1987] in den Gefäßen verschiedener Organe unterschiedlich. Andererseits konnte Anderson et al. zeigen, dass eine enge Beziehung zwischen der endothelialen Funktion der koronaren und der peripheren Durchblutung bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung besteht [ANDERSON, 1995]. Die Relation war jedoch nicht so eng, dass die Messung der brachialen Vasodilatation Rückschlüsse auf die Koronargefäße zulassen würde.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie lassen also nur den Schluss zu, dass Sildenafil zu einer erheblichen Verbesserung der postischämischen Kapillardurchblutung im Bereich der Hautkapillaren führt.

Bisher gibt es keine Daten über die Dauer oder die Dosisabhängigkeit der Wirkung von Sildenafil auf die Mikrozirkulation. Tadalafil, ein Phosphodiesterase V Hemmer mit einer längeren Halbwertszeit (17,5 h) als Sildenafil (3,8 h), führte in äquipotenter Dosierung zu einer Verbesserung der Mikrozirkulation bei einem Sildenafil Non-Responder [BAUMHAECKEL, 2005].

Folgerungen für die Klinik

Die gestörte Reaktion von Gefäßen auf physiologische Stimuli wie eine Steigerung des Blutflusses oder Acetylcholin, die sich als verminderte Vasodilatation oder gar als paradoxe -konstriktion darstellen kann, wird bei atherosklerotischer Grunderkrankung auf eine verminderte bzw. limitierte NO-Freisetzung zurückgeführt [OEMAR, 1998].

Die vorliegende Untersuchung zeigt, dass die bei KHK-Patienten eingeschränkte postischämische reaktive Hyperämie zum Ausgleich einer Sauerstoffschuld durch die einmalige Einnahme von 50 mg akut Sildenafil erheblich um ca. 47% verbessert wird. Inwieweit dies nur für die kutane Mikrozirkulation gilt, muss derzeit offen bleiben. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass dies auch für andere Kompartimente gilt, in denen PDE5-Rezeptoren in vergleichbarer Dichte vorhanden sind. Ob dieser Effekt einer Ischämie - ausgelöst durch sexuelle Aktivität - entgegenwirkt, kann nur vermutet werden.

Die hervorragende Sicherheit von Sildenafil bei Patienten mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko [SHAKIR, 2000; FINK, 2002; WYSOWSKI, 2002] kann mit verschiedenen Mechanismen begründet werden.

Bei Patienten, die unter einer pulmonalen Hypertonie leiden, ist der positive Effekt von Sildenafil an den Lungengefäßen besonders ausgeprägt. Tierexperimentelle Befunde, Fallberichte und klinische Studien weisen auf eine Wirksamkeit von Sildenafil bei dieser Erkrankung hin [GHOFRANI, 2002].

Klinische Studien an verschiedenen Patientengruppen weisen darauf hin, dass Sildenafil die endotheliale Dysfunktion verbessert [GORI, 2005; HALCOX, 2000; KATZ, 2000; DESOUZA, 2002], die koronare Flussreserve signifikant erhöht [HERRMANN 2000], bei koronarer Herzerkrankung unter maximaler körperlicher Belastung eine signifikante Zunahme der Belastungsdauer eintritt [FOX, 2003] und bei Herzinsuffizienz die maximale Sauerstoffaufnahme ansteigt [BOCCHI, 2001]. Im Tiermodell konnte ferner gezeigt werden, dass der kardioprotektive Effekt von Sildenafil das Ausmaß einer ischämischen Herzmuskelschädigung signifikant reduziert [OCKAILI, 2002].

Die Ergebnisse können eine zusätzliche Erklärung geben warum die Einnahme von Sildenafil nicht mit einer Zunahme schwerer kardiovaskulärer Ereignisse oder Tod bei Patienten mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko führt.

Letztlich bleibt die Frage, welchen Einfluss eine dauerhafte Einnahme von Sildenafil auf die postischämische Hyperämie hat.

Schlussfolgerung

Sildenafil bewirkte bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung eine signifikant ($p=0,0129$) stärkere Zunahme (46,6%) der postischämischen Kapillardurchblutung als nach Plazebo (4,7%). Dies zeigt, dass Sildenafil nicht nur zu einer lokalen Relaxation des Corpus cavernosum sondern auch zu einer Verbesserung der kutanen Mikrozirkulation, also einem systemischen Effekt führt.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Anderson TJ, Uehara A, Gerhard MD, Meredith ID, Knab S, Delagrage D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung AC, Selwyn AP: Close Relation of Endothelial Function in the Human Coronary and Peripheral Circulations. *JACC* 1995; 26: 1235-1241.
- [2] Baumhaeckel M, Scheffler P, Boehm M. Use of tadalafil in a patient with secondary Raynaud's phenomenon not responding to sildenafil. *Microvascular Research*. 2005; 69: 178 – 179
- [3] Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995; 75: 725 - 748.
- [4] Bocchi et al. Beneficial effects of a phosphodiesterase type 5 inhibitor (sildenafil) on exercise, neurohumoral activation, and erectile dysfunction in patients with congestive heart failure - a double blind placebo-controlled cross-over randomized study. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37 (2 Suppl A): 163A.
- [5] Bollinger A. Funktionelle Angiologie. Thieme Verlag, Stuttgart - New York (1979).
- [6] Bongard O, Fagrell B. Discrepancies between total and nutritional skin microcirculation in patients with peripheral arterial occlusive disease. *VASA* 1990; 19: 105 - 111.
- [7] Boolell M, Allen MJ, Ballard SA, Cepi-Attee S, Muirhead GJ, Naylor AM, et al. Sildenafil: an orally active type 5 cyclic GMP-specific phosphodiesterase inhibitor for the treatment of penile erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 1996; 8: 47 – 52.
- [8] Boulanger ChM, Tanner FC, Béa ML, Hahn AWA, Werner A, Lüscher ThF: Oxidized Low Density Lipoproteins Induce mRNA Expression and Release of Endothelin From Human and Porcine Endothelium. *Circulation Research* 70: 1191-1197 (1992).
- [9] Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111 - 1115.
- [10] Cohen, J.: Statistical power analysis for the behavioral science. Academic press, New York (1969).

- [11] Cohen RA, Weisbrod RM, Gericke M, Yaghoubi M, Bierl C, Bolotina VM. Mechanism of nitric oxide-induced vasodilatation - Refilling of intracellular stores by sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase and inhibition of store-operated Ca²⁺-influx. *Circ Res* 1999; 84: 210 - 219.
- [12] Desouza C, Parulkar A, Lumpkin D, Akers D, Fonesca VA. Acute and prolonged effects of sildenafil on brachial artery flow-mediated dilation in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 1336-1339
- [13] Fink HA, MacDonald R, Rutks IR, Nelson DB, Wilt TJ. Sildenafil for male erectile dysfunction. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1349 - 1360.
- [14] Fox KM, Thadani U, Ma PT, Nash SD, Keating Z, Czorniak MA, Gillies H, Keltai M. Sildenafil citrate does not reduce exercise in men with erectile dysfunction and chronic stable angina. *Eur Heart J* 2003 Dec;24(24): 2206-2212.
- [15] Gerritsen ME. Functional heterogeneity of vascular endothelial cells. *Biochem Pharmacol* 1987; 36: 2701 - 2711.
- [16] Ghofrani HA, et al. Sildenafil zur Therapie der schweren pulmonalen Hypertonie und des beginnenden Rechtsherzversagens. *Pneumologie* 2002; 56: 665 - 672.
- [17] Gori T, Sicuro S, Dragoni S, Forconi S, Parker D. Sildenafil prevents endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion via opening of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Circulation*. 2005; 111: 742 – 746.
- [18] Griffith TM, Edwards DH, Davies RLI, Harrison TJ, Evans KT: EDRF coordinates the behaviour of vascular resistance vessels. *Nature* 1987; 329: 442-445.
- [19] Halcox et al. Sildenafil and human coronary vascular function. *Circulation* 2000; 102: II-254.
- [20] Herrmann et al. Hemodynamic effects of sildenafil in men with severe coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1622 - 1626.
- [21] Jung F. Entwicklung, Standardisierung und Evaluierung von Untersuchungsmethoden zur Diagnostik und Therapiekontrolle von Mikrozirkulationsstörungen. Habilitationsschrift, Universität des Saarlandes (1991).

- [22] Jung, F., Kiesewetter, H., Nüttgens, H.P., Toonen, H., Müller, G. (1992). Interactive image processing system for cutaneous video capillary microscopy: methodology and clinical application. *Biomedical Optonics* 1: 27-35.
- [23] Jung F, Kiesewetter H. Cutaneous microcirculation in patients with arterial occlusive disease. *Clin Hemorheol* 1996; 16: 207.
- [24] Jung F, Toonen H, Mrowietz C, Wolf S, Kiesewetter H, Wenzel E, Gersonde K, Müller G: Fehleranalyse, biologische Einflussfaktoren und Varianz der periungualen Videokapillarmikroskopie. *Biomed Technik* 1990; 35: 195-204.
- [25] Jung F, Wappler M, Nüttgens HP, Kiesewetter H, Wolf S, Müller G. Zur Methodik der Videokapillarmikroskopie: Bestimmung geometrischer und dynamischer Meßparameter. *Biomedizinische Technik* 1987; 9: 204 - 213.
- [26] Katz SD, Balidemaj K, Homma S, Wu H, Wang J, Maybaum S. Acute type 5 phosphodiesterase inhibition with sildenafil enhances flow-mediated vasodilation in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 845 – 851.
- [27] Klinische Arzneimittelprüfung in der EG: Grundsätze für Standards für Good Clinical Practice (GCP) bei der Durchführung von Studien mit Arzneimitteln am Menschen in der EG: EG - GCP - Note for Guidance. Aulendorf: Editio Cantor, 1991.
- [28] Kloner RA, Zusman RM. Cardiovascular effects of sildenafil citrate and recommendations for its use. *Am J Cardiol* 1999; 84: 11 - 17.
- [29] Klyscz, T.; Jünger, M.; Jung, F.; Zeintl, H.: Cap Image - ein neuartiges computerunterstütztes Videobildanalyse-system für die dynamische Kapillarmikroskopie. *Biomed. Technik* 42: 168 - 175 (1997).
- [30] Lamping KG. Hypercontractility of vascular muscle in atherosclerosis. *Circulation* 1997; 96: 4131 - 4132.
- [31] Liao JK, Bettmann MA, Sandor T, Tucker JL, Coleman SM, Creager MA. Differential impairment of vasodilator responsiveness of peripheral resistance and conduit vessels in humans with atherosclerosis. *Circ Res* 1991; 68: 10237 - 1034.
- [32] Lincoln TM. Cyclic GMP and mechanisms of vasodilation. *Pharmacol Ther* 1989; 41: 479 - 502.

- [33] Lüscher TF, Vanhoutte PM. The endothelium. Modulator of cardiovascular function. Critical Reviews Press, Boca Raton 1, 1990.
- [34] Medina et al. Effects of Sildenafil on human penile blood vessels. *Urology* 2000; 56: 539 - 543.
- [35] Nedogoda. The influence of sildenafil on 24 hour blood pressure control during antihypertensive treatment. *J Hypertension* 1999; 17 (Suppl. 3): 198.
- [36] Ockaili R, Salloum F, Hawkins J, Kukreja RC. Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening of mitochondrial KATP channels in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H1263-H1269.
- [37] Oemar BS, Tschudi MR, Godoy N, Brovkovich V, Malinski T, Lüscher TF: Reduced Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression and Production in Human Atherosclerosis. *Circulation* 97: 2494-2498 (1998).
- [38] Östergren J, Fagrell B. Skin capillary blood cell velocity in patients with arterial obliterative disease and polycythemia - A disturbed reactive hyperemia response. *Clin Physiol* 1985; 5: 35.
- [39] Rettig, G.; Sellier, A.; Heisel, A.; Jung, F.; Kiesewetter, H.: Wirkung von Amrinon auf Hämorheologie und Mikrozirkulation - Untersuchungen an Herzgesunden und Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz. *Perfusion* 1993; 5: 210 - 217.
- [40] Salerud EG, Tenland T, Nilsson GE, Öberg P.A. Rhythmical variations in human skin blood flow. *Int J Microcirc Clin Exp* 1983; 2: 91.
- [41] Schiffrin EL, Intengan HP, Thibault G, Touyz RhM: Clinical significance of endothelin in cardiovascular disease. *Current Opinion in Cardiology* 12: 354-367 (1997).
- [42] Schlossmann J, Ammendola A, Ashman K, Zong X, Huber A, Neubauer G, Wang GX, Allescher HD, Korth M, Wilm M, Hofmann F, Ruth P. Regulation of intracellular calcium by a signalling complex of IRAG, IP3 receptor and cGMP kinase I β . *Nature* 2000; 404: 197 - 201.
- [43] Shakir et al. Sildenafil-prescription-event monitoring study. No evidence of an increase in cardiovascular outcomes among 5.000 men prescribed sildenafil in general practice in England. *J Am Coll Cardiol* 2001; ?????

- [44] Shepherd JT. Reactive hyperemia in human extremities. *Circ. Res.* 14 (Suppl. I), 76 - 78, 1964.
- [45] The World Medical Association: Declaration of Helsinki. Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. Adopted by the 18th World Medical Assembly Helsinki, Finland 1964, 41st World Medical Assembly Hong Kong, September 1989, last amendment 48th General Assembly Somerset West, South Africa, October 1996, Edinburgh 2000.
- [46] Wallace, Tom. Interaction of L-arginine and phosphodiesterase inhibitors in vasodilation of the porcine internal mammary artery. *Anesth Anal* 2000; 90: 840 - 846.
- [47] Wallis RM, Corbin JD, Francis SH, Ellis P. Tissue distribution of phosphodiesterase families and the effects of sildenafil on tissue cyclic nucleotides, platelet function and the contractile responses of trabeculae carneae and aortic rings in vitro. *Am J Cardiol* 1999; 83: 3C - 12C.
- [48] Wysowski DK, Farinas E, Swartz L. Comparison of reported and expected deaths in sildenafil (Viagra) users. *Am J Cardiol* 2002; 89: 1331 – 1334.
- [49] Zetter BR. The endothelial cells of large and small blood vessels. *Diabetes* 1981; 30 (Suppl. 2): 24-28.

7. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. F. Jung für die hervorragende Betreuung der Dissertation und für sein persönliches Engagement mit dem er nicht unwesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beitrug.

Herzlich bedanke ich mich bei Herrn Prof. (ROK) Dr. med. J.-W. Park für die Überlassung der erhobenen Daten.

8. Lebenslauf

Uwe Reichert	geb.: 03.03.1959 in Dahme
1.9.1965 – 31.08.1973	Schulbesuch POS Reinsdorf
1.9.1973 – 31.08.1977	EOS – Jüterbog / Abitur
1.9.1977 – 21.10.1977	pfleg. Hilfskraft (Vorpraktikum) Kreiskrankenhaus Treuenbrietzen
11/1977 – 4/1979	Grundwehrdienst
5/1979 – 8/1979	Krankentransporteur, DRK Hoyerswerda
1.9.1979 – 31.08.1985	Medizinstudium, Humboldt-Universität zu Berlin
31.08.1985	Diplom - Mediziner
01.09.1985	Approbation als Arzt
1.9.1985 – 13.06.1990	Facharztausbildung Innere Medizin BKH Hoyerswerda
14.06.1990	Facharzt f. Innere Medizin
14.06.1990 – 31.07.1992	Stationsarzt in der 1. Medizinische Klinik am Klinikum Hoyerswerda
01.08.1992 -	Berufung zum Oberarzt
01.10.2001 – 02.01.2002	kommissarischer Chefarzt 1. Medizinische Klinik, Klinikum Hoyerswerda