

Aus dem
Institut für Klinische Diabetologie
Deutsches Diabetes-Zentrum
Leibniz-Zentrum für Diabetes-Forschung an der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. Michael Roden

**Akuteffekte von Sildenafil auf die flussabhängige Dilatation
und kardiovaskuläre autonome Nervenfunktion bei Männern
mit Typ 2 Diabetes mellitus**

Eine doppelblinde, randomisierte, placebokontrollierte Cross-Over-Studie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Vorgelegt von
Ovidiu Alin Stirban

2008

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

gez.: **Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf**, Dekan.

Referent: **Univ.-Prof. Dr. med. Dan Ziegler**

*Deutsche Diabetes-Klinik am Deutschen Diabetes- Zentrum.
Leibniz-Zentrum für Diabetes-Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.*

Korreferent: **Univ.-Prof. Dr. T. Hohlfeld**- Institut für
*Pharmakologie und Klinische Pharmakologie,
Universitätsklinikum Düsseldorf, Düsseldorf, Deutschland*

Tag der mündlichen Prüfung: 16.12.2008

<i>Abkürzungsverzeichnis:</i>	6
<i>Einleitung:</i>	8
<i>1. Theoretischer Hintergrund</i>	11
1.1 Endothel und Endothelfunktion	11
1.1.1 Rolle des Stickstoffmonoxids (NO)	12
1.1.2 Messmethoden zur Erfassung der Endothelfunktion	16
1.2 Autonome Neuropathie	26
1.2.1 Klinisches Bild	27
1.3 Therapeutische Rolle der PDE 5-Hemmer unter besonderer Berücksichtigung von Sildenafil	37
1.3.1. Wirkmechanismus und Interaktionsprofil	37
1.3.2 Wirksamkeit und Sicherheit bei erektiler Dysfunktion (ED)	38
1.3.3 Effekte der PDE-5 Hemmer auf die Gefäßfunktion	41
1.3.4 Effekte von Sildenafil auf die kardiovaskuläre autonome Funktion	43
<i>2. Fragestellung, Studiendesign und Methoden</i>	44
2.1 Fragestellung	44
2.2 Studiendesign	44
2.3 Studienpopulation	45
2.4 Ein- und Ausschlusskriterien	47
2.4.1 Einschlusskriterien	47
2.4.2 Ausschlusskriterien	47

3.	<i>Methoden</i>	48
3.1	Flussabhängige Dilatation	48
3.2.	Kardiovaskuläre autonome Nervenfunktion	51
3.2.1.	Kardiovaskuläre autonome Funktionstests	51
3.2.2	Orthostase-Test:	54
3.2.3.	Spontane Baroreflexsensitivität	55
3.3	International Index of Erectile Function-5 (IIEF-5)	56
3.4.	Laborparameter und Methoden	57
3.5.	Studienprotokoll	57
3.6.	Ethische Aspekte	59
4.	<i>Statistische Analysen</i>	60
5.	<i>Ergebnisse:</i>	62
5.1	Flussabhängige Dilatation (FAD)	62
5.2	Autonome Nervenfunktion:	65
5.2.1	Placebo	65
5.2.2	Sildenafil	66
5.2.3.	Vergleich der Änderungen der autonomen Funktion unter Sildenafil vs. Placebo	67
5.3	Orthostasetest	68
5.3.1	Placebo	68
5.3.2	Sildenafil	69
5.3.2	Vergleich der Blutdruckänderungen unter Sildenafil vs. Placebo	70
5.4	Baroreflexsensitivität	70
5.4.1	Placebo	71

5.4.2	Sildenafil	72
5.4.3.	Vergleich der Baroreflexsensitivität unter Sildenafil vs. Placebo	73
5.8	Korrelation zwischen Blutdruckverhalten und Parametern der sympathischen Aktivität	74
5.9.	Blutglukose:	74
6.	<i>Diskussion der Daten</i>	75
6.1	Flussabhängige Dilatation (FAD)	75
6.2	Effekte von Sildenafil auf den Blutdruck	83
6.3	Herzfrequenz	85
6.4.	Funktionstest des autonomen Nervensystems	86
6.4.1	Kardiovaskuläre autonome Nervenfunktion	86
6.4.2	Baroreflexsensitivität (BRS)	87
6.5	Neue Erkenntnisse dieser Studie	88
6.6	Limitierungen der Studie	88
	<i>Literatur</i>	91
	<i>Lebenslauf</i>	117
	<i>Zusammenfassung der Arbeit</i>	124

Abkürzungsverzeichnis:

ADMA	Asymmetrisches Dimethylarginin
AGE	Advanced glycation end products
AMG	Arzneittelgesetz
ANOVA	Analysis of variance
BH4	Tetrahydrobiopterin
BP	Blood pressure
BRS	Baroreflexsensitivität
Coh	Kohärenz (z.B. für die LF oder HF Bereiche)
cGMP	Zyklisches Guanosin-5-Monophosphat
ED	Erektile Dysfunktion
EDHF	Endothelium derived hyperpolarizing factor
EndD	Endotheliale Dysfunktion
E-Selektin	Endothelial-leukocyte adhesion molecule-1
ET ₁	Endothelin-1
FAD	Flussabhängige Dilatation (englischer Begriff: flow mediated dilatation - FMD)
Gain LF	Gain low frequency
Gain HF	Gain high frequency
HF	High frequency
HRV	Herzfrequenzvariabilität (heart rate variability)
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule 1
IIEF-5	International Index of Erectile Function-5
KADN	Kardiovaskuläre autonome diabetische Neuropathie
KHK	Koronare Herzerkrankung
LF	Low frequency
NO	Stickstoffmonoxid (nitric oxide)
NOS	NO-Synthetase
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor
PAF	Platelet activating factor
PAH	Pulmonalen arteriellen Hypertonie
PDE-5	Phosphodiesterase Typ 5

PGI ₂	Prostaglandin I ₂
PGH ₂	Prostaglandin H ₂
PI	Puls-Intervalle
R-Ri	RR-Intervalle
RMSSD	Root mean squared successive difference
SAP	Systolic arterial pressure
SEM	Standard error of the mean
T1DM	Typ 1 Diabetes mellitus
T2DM	Typ 2 Diabetes mellitus
TM	Thrombomodulin
TNF- α	Tumor necrosis factor- α
TxA ₂	Thromboxan A ₂
t-PA	Tissue-type plasminogen activator
u-PA	Urokinase-type plasminogen activator
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule 1
VK	Variationskoeffizient
vWF	Von Willebrand Faktor

Einleitung:

Die globale Bedeutung des Diabetes mellitus hat in den letzten Jahrzehnten deutlich zugenommen. Die Anzahl der Diabetiker stieg weltweit kontinuierlich an und wird derzeit auf über 171 Millionen geschätzt. Die Prävalenz wird voraussichtlich auch künftig zunehmen. Bis zum Jahr 2030 wird angenommen, dass etwa 366 Millionen Menschen weltweit an einem Diabetes erkranken werden (1). Eine Erklärung für die besorgniserregende Zunahme ist die Verbesserung des Lebensstandards, mit Verringerung der körperlichen Aktivität und inadäquat hoher Nahrungszufuhr mit resultierendem Übergewicht. Die Vorstufen des Diabetes (Prädiabetes), das metabolische Syndrom, sowie die Insulinresistenz, werden zukünftig erwartungsgemäß noch drastischer zunehmen (2).

In Deutschland leiden zurzeit mehr als 5 Millionen Menschen an einem Diabetes mellitus, bei denen in über 90 Prozent ein Typ 2 Diabetes vorliegt. Hinzukommen sollen noch mindestens 1,5 Millionen unerkannte Diabetiker, so dass sich die tatsächliche Zahl der Diabetiker auf etwa 7-8 Millionen erhöhen dürfte (3).

Der Diabetes stellt also ein endemisches Problem dar, nicht nur im Sinne eines bedeutenden Kostenfaktors, sondern in erster Linie weil er für viele Menschen eine Beeinträchtigung der Lebensqualität und eine Verkürzung der Lebenserwartung bedeutet. Eine multifaktorielle Risikointervention erscheint zwingend erforderlich, wobei insbesondere der Prävention der diabetespezifischen Komplikationen eine große Rolle zugeschrieben wird (4).

Kardiovaskuläre Komplikationen stellen die Haupttodesursache bei Personen mit Diabetes mellitus dar und weisen eine 2 bis 5-fach höhere Prävalenz als bei Nichtdiabetikern auf (5,6). In der Vorbeugung kardiovaskulärer Komplikationen wird dem Endothel in den letzten Jahren eine immer größere Rolle zugeschrieben. Die Endotheldysfunktion (EndD) wird als erster, entscheidender Schritt in der Entstehung der Atherosklerose angesehen (7) (8). Die Mechanismen des erhöhten Atherosklerose-Risiko bei Diabetikern werden

Einleitung

kontrovers diskutiert. Die sog. "response-to-injury" Hypothese schlägt das arterielle Endothelium als ersten Schauplatz für die Hyperglykämie- vermittelte Schädigung vor, die zunächst zur EndD und später zur Atherosklerose führt (7,9). Es wird postuliert, dass eine Verbesserung der Endothelfunktion langfristig zu einer Verringerung der kardiovaskulären Komplikationen führt (10).

Kardiovaskuläre Erkrankungen und erektile Dysfunktion

Etwa 75% der Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen haben sexuelle Störungen (erektile Dysfunktion – ED). Männer mit kardiovaskulären Erkrankungen weisen im Vergleich zu Gesunden ein vierfach erhöhtes Risiko für ED auf, während das Risiko bei Männern mit Diabetes bzw. arterieller Hypertonie dreifach bzw. zweifach erhöht ist (11). Es konnte gezeigt werden, dass die ED und kardiovaskuläre Erkrankungen verschiedene Risikofaktoren wie z.B.: Diabetes mellitus, Hypertonie, Hyperlipidämie, Rauchen und Adipositas gemeinsam haben (11). Darüber hinaus sind beide Erkrankungen durch einen verminderten Blutfluss infolge einer EndD gekennzeichnet. Von einigen Autoren wird angenommen, dass die ED eine frühe Manifestation der EndD darstellt (12) und dass durch medikamentöse und nichtmedikamentöse Therapien eine Reversibilität der ED, zumindest zum Teil durch eine Verbesserung der Endothelfunktion erreicht werden kann (11). Die EndD im Rahmen einer diabetesbedingten ED zeichnet sich durch einige Besonderheiten aus.(13).

Die Ätiologie der ED bei Diabetes mellitus ist multifaktoriell (14). Es handelt sich um die folgenden relevanten Mechanismen und Konsequenzen:

1. Die Hyperglykämie und das zunehmende Alter führen zu einer Glykierung des elastischen Gewebes des Penis (Bildung von advanced glycation end products – AGEs) und somit zu einer verminderten Relaxation des Corpus cavernosum (15).
2. Die Polypharmakotherapie bei Diabetes kann als Nebenwirkung eine ED zur Folge haben (z.B. Diuretika, β -Blocker).

Einleitung

3. Die Dyslipidämie kann eine EndD auslösen (16).
4. Eine Dysfunktion der sinusoidalen Endothelzellen führt zu einer verminderten Stickstoffmonoxid (NO)- Freisetzung und somit zu einer unzureichender Vasodilatation.
5. Die vermehrte Bildung von AGEs im Rahmen des Diabetes, führt zu einer erhöhten Generierung von Sauerstoff-Radikalen die das NO neutralisieren und somit die Bioverfügbarkeit von NO reduzieren (17) (18).
6. Eine ggf. zugrunde liegende periphere arterielle Verschlusskrankheit hat eine verminderte Perfusion zur Folge (19).
7. Eine fehlende neuronale Weiterleitung der zentralen Erregungsimpulse auf dem Boden einer diabetischen Neuropathie (20) haben eine herabgesetzte Aktivität der NO-Synthase (21) zu Folge. Dies bewirkt eine verminderte NO-Freisetzung zum Corpus cavernosum. Daraus resultieren eine geringere Vasodilatation und somit eine herabgesetzte Tumescenz.
8. Hypogonadotroper Hypogonadismus (22) (eine Unterfunktion der Keimdrüsen, die durch mangelnde Anregung von Seiten der glandotropen Hormone FSH und LH bedingt ist).

Die medikamentöse Therapie der Wahl bei ED stellen die Phosphodiesterase 5 (PDE-5)- Hemmer dar (23,24). Als erstes Präparat dieser Substanzklasse wurde Sildenafil (ViagraTM) eingeführt (25). Sildenafil (RevatioTM) wurde vor kurzem auch für die Behandlung der pulmonalen Hypertonie zugelassen (26,27). Es wurde jedoch auch berichtet, dass Sildenafil zur Verbesserung des Herzzeitvolumens während der Hypoxie (28) und zur Verbesserung der zerebralen Oxygenierung (29) führt. Manche Studien haben nach akuter Behandlung mit Sildenafil eine Verbesserung der Gefäßfunktion bei Rauchern(30), bei Patienten mit Herzinsuffizienz (31), koronarer Herzerkrankung (32) oder Typ 2 Diabetes mellitus (DM) (33) festgestellt. Für die weiteren zwei PDE5-Inhibitoren Tadalafil (34,35) und Vardenafil (36) wurden ähnliche vaskuläre Effekte beschrieben.

Diese Ergebnisse werden jedoch noch sehr kontrovers diskutiert, da manche Studien keine Effekte der PDE5- Hemmer auf die Endothelfunktion nachweisen konnten (37,38). Darüber hinaus wird Aufgrund des Wirkungsprofils dieser Substanzklasse angenommen, dass PDE5-Hemmer nicht die Endothelfunktion verbessern, sondern die Wirkung des sezernierten NO verstärken.

Ziel der vorliegenden Studie war es zu evaluieren, ob eine Einmalgabe von 100 mg Sildenafil die Gefäßfunktion bei Männern mit Typ 2 Diabetes mellitus (T2DM) verbessert. Darüber hinaus sollte das Sicherheitsprofil der Substanz im Hinblick auf die Hämodynamik und Funktion des autonomen Nervensystems untersucht werden.

1. Theoretischer Hintergrund

1.1 *Endothel und Endothelfunktion*

Das Endothel ist die Zellschicht, welche die Innenwand der Gefäße auskleidet und zahlreiche gefäßprotektive Eigenschaften aufweist. Durch das Endothel werden der Gefäßtonus, die antithrombotischen und antiadhäsiven Eigenschaften der Gefäßwand, sowie die Gefäßpermeabilität moduliert. Störungen der Endothelfunktion werden als endotheliale Dysfunktion (EndD) bezeichnet, die als früher Marker für Atherosklerose und kardiovaskuläre Erkrankungen angesehen wird (39).

Die EndD wird definiert als ein Ungleichgewicht zwischen vasodilatierenden und vasokonstriktischen Substanzen, produziert von (oder wirkend auf die) Endothelzellen (40). Die EndD begleitet verschiedene Erkrankungen und Zustände, die mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergehen, wie z.B. aktives (41) oder passives Rauchen (42), Hyperhomocysteinämie (43), koronare Herzerkrankung (44), Herzinsuffizienz (45), Dyslipidämie (46), Bluthochdruck (47) und Typ 1 Diabetes mellitus (48). Von einer EndD wird auch die klassische Sequenz von Übergewicht (49), Insulinresistenz (50) und Typ 2 Diabetes

Theoretischer Hintergrund

mellitus (51) begleitet, aber auch Erkrankungen, die mit einem erhöhten Diabetes-Risiko einhergehen, wie z.B.: das polyzystische Ovar (52), positive Eigenanamnese für Gestationsdiabetes (53) oder Familienanamnese für Typ 2 Diabetes mellitus (54).

Das Endothel ist ein sekretorisch äußerst aktives Organ. Die wichtigsten vom Endothel sezernierten Mediatoren sind:

- a) Mit vasodilatatorischem Effekt: Prostacyclin (PGI_2) (55), endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) und Stickstoffmonoxid (NO) (56).
- b) Mit vasokonstriktorischem Effekt: Thromboxan A₂ (TxA_2) und Endothelin-1 (ET_1) (57).
- c) Mit antiadhäsivem Effekt: NO.
- d) Mit antithrombotischer oder thrombolytischer Wirkung: tissue plasminogen activator (t-PA), Thrombomodulin (TM) (58).
- e) Mit prothrombotischer und proatherogener Wirkung: plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) (59), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), von Willebrand factor (vWF), E-Selektin (endothelial-leukocyte adhesion molecule-1) (60).

1.1.1 Rolle des Stickstoffmonoxids (NO)

Eine besonders wichtige Rolle in der Modulation der Effekte des Endothels wird dem NO zugeschrieben. NO wird hauptsächlich in den Endothelzellen aus dem Substrat L-Arginin mit Hilfe des Enzyms NO-Synthetase (NOS) produziert (Abb. 1). Auf diese Weise entstehen L-Citrullin und NO. Letzteres wirkt relaxierend auf die glatte Gefäßwandmuskulatur und bewirkt eine Vasodilatation, die durch Erhöhung der Konzentration des Enzyms Guanylat-Cyclase innerhalb der glatten Gefäßmuskelzellen vermittelt wird. Die Guanylat-Cyclase katalysiert die Produktion von zyklischem Guanosin-5-Monophosphat (cGMP). Dieses führt zu einer Verminderung der intrazellulären Calciumkonzentration und hat eine Vasodilatation zur Folge (32). Die Konzentration des cGMP wird unter anderem

Theoretischer Hintergrund

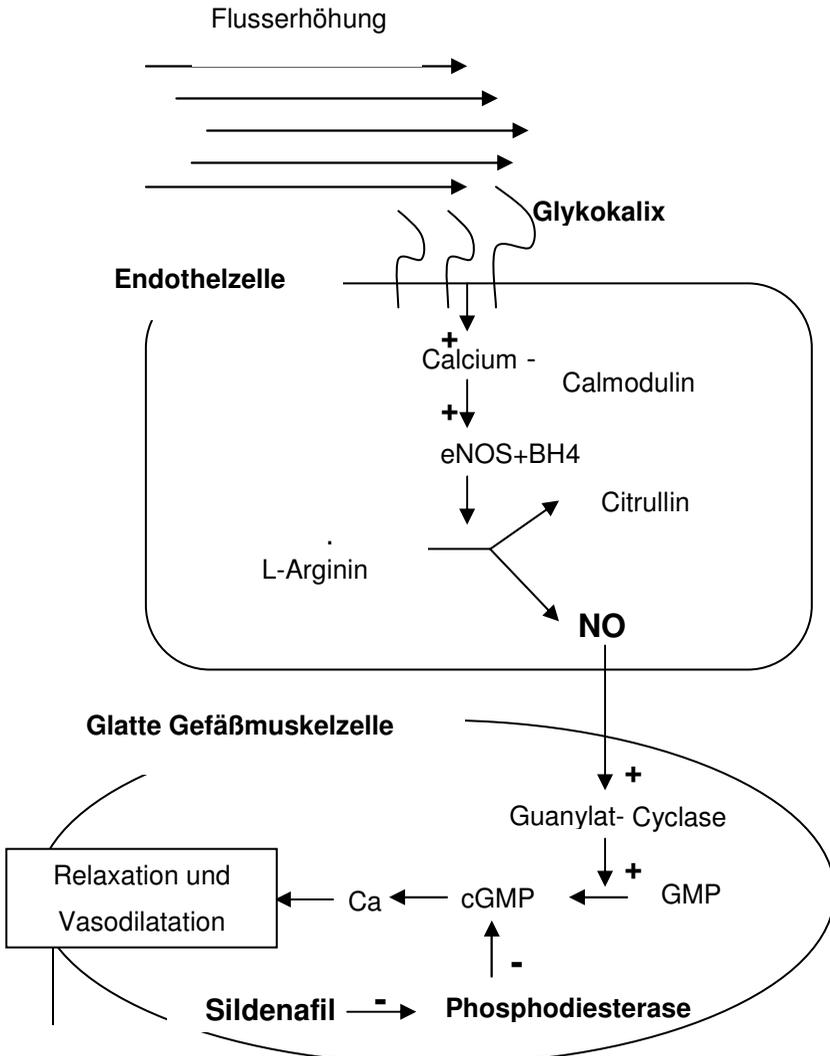
durch die Aktivität der Phosphodiesterase Typ 5 (PDE-5) reguliert, die für den Abbau des cGMP verantwortlich ist. Eine Blockierung dieses Enzyms (PDE5), z.B. durch die selektiven PDE5-Inhibitoren (Sildenafil, Vardenafil, Tadalafil) bewirkt eine Erhöhung der Konzentration des cGMP (61) und somit eine protrahierte Vasodilatation.

Neben der Vasodilatation und dem dadurch erzielten Effekt auf den Blutdruck, beeinflusst NO die Gefäßpermeabilität sowie die Adhäsion von Thrombozyten und Monozyten und trägt darüber hinaus auch zur Steuerung des sog. Gefäßwandremodelings bei (8,10). Ähnlich wie andere Radikale, besitzt NO eine sehr kurze Halbwertszeit und wird im Sekundenbereich zu Nitrit und Nitrat oxidiert, deren Ausscheidung über den Urin erfolgt. Insgesamt verfügt der Organismus über drei NO-Synthetase Isoenzyme: zwei konstitutive Synthetasen I und III, die vorwiegend im Nervengewebe (nNOS) bzw. im Endothel (eNOS) zu finden sind, sowie die induzierbare Synthetase (iNOS). Diese wird nur vorübergehend bei entzündlichen Prozessen z.B. in Makrophagen, Gefäßmonozyten oder Hepatozyten exprimiert.

Die eNOS benötigt im Gegensatz zur iNOS eine Aktivierung durch den Calcium-Calmodulin Komplex, ein Prozess der eine wichtige Rolle bei der flussvermittelten Vasodilatation spielt. Um NO zu produzieren, benötigt die NO-Synthetase als Kofaktor Tetrahydrobiopterin (BH₄) (62). Wenn BH₄ in unzureichender Menge vorhanden ist, verändert die NO-Synthetase ihre Funktion und anstatt L-Arginin zu Citrullin zu oxidieren, reduziert sie molekularen Sauerstoff zum Superoxidanion. Dies findet auch bei ausreichender L-Arginin Konzentration statt (63). Ein BH₄-Mangel geht also nicht nur mit einer gestörten NO-Produktion einher, sondern auch mit einer gesteigerten Bildung von Sauerstoffradikalen (63).

Theoretischer Hintergrund

Abb. 1 NO-vermittelte Vasodilatation sowie Relaxation des Corpus cavernosum
– Angriffspunkt für PDE 5-Hemmer (z.B. Sildenafil)



Vorkommen der Endotheldysfunktion

Die EndD ist also insbesondere durch eine gestörte NO-Produktion gekennzeichnet und kommt häufiger bei folgenden Erkrankungen vor:

Theoretischer Hintergrund

- Diabetes mellitus (51)
- Koronare Herzerkrankung (64)
- Hyperhomozysteinämie (65)
- Hypercholesterinämie mit erhöhtem LDL-Cholesterin (insbesondere oxidiertem LDL-Cholesterin) (66)
- Arterielle Hypertonie (67)
- Rauchen (66)

Die EndD bewirkt Lipideinlagerung, Zellproliferation und -migration, Vasokonstriktion, Zelladhäsion und -diapedese, sowie Thrombusbildung (68). Auf diese Weise trägt die Störung der Endothelfunktion wesentlich zur Entstehung der Atherosklerose und daraus resultierenden kardiovaskulären Komplikationen bei. Eine beeinträchtigte Endothelfunktion gilt daher als früher Marker der Atherosklerose mit prognostischem Wert für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse (69).

Es wird angenommen, dass die EndD, ED, Diabetes mellitus und das metabolische Syndrom Gemeinsamkeiten hinsichtlich ihrer Pathomechanismen und therapeutischen Ansätze aufweisen (70). Wie auch der Atherosklerose, liegt der ED eine EndD zugrunde (23). Eine Schlüsselrolle in der Regulation des Tonus der glatten Gefäßmuskulatur des Corpus cavernosum spielen die Intaktheit des Endothels, das von den Endothelzellen und Neuronzellen sezernierte NO, EDHF, Proteinkinase C und die PDE 5 (71).

Die Prävalenz der kardiovaskulären Erkrankungen und der ED steigen mit dem Alter, sowie bei Vorhandensein von Diabetes mellitus, arterieller Hypertonie, Hyperlipidämie, Rauchen und Adipositas. Gemeinsam haben diese Erkrankungen eine gestörte Regulation des Blutflusses, bedingt durch eine EndD. Es gibt Hinweise dafür, dass eine EndD bei Patienten mit ED frühzeitig nachgewiesen werden kann, bevor vaskuläre Veränderungen im Sinne der Atherosklerose auftreten (72). Auch kann die ED nicht nur mittels Inhibitoren der PD5 behandelt werden, sondern auch durch die Reduzierung der Risikofaktoren,

die bekannter weise eine Verbesserung der Endothelfunktion bewirken wie z.B. Nikotinkarenz, Gewichtsreduktion oder Normalisierung des Lipidprofils (11).

1.1.2 Messmethoden zur Erfassung der Endothelfunktion

Die Messung der Endothelfunktion (58) erlaubt einerseits eine frühe Entdeckung von Risikopatienten, andererseits eine kurzfristige Untersuchung der Effekte verschiedener Substanzen. Während man z.B. die Effekte der Statine auf die Intima-Media-Dicke erst nach etwa 6 Monaten beurteilen kann (73), können die Effekte auf die Endothelfunktion bereits nach 3 Tagen nachgewiesen werden (56). Dennoch hat sich die Messung der Endothelfunktion noch nicht in der klinischen Routine durchsetzen können, wofür es mehrere Gründe gibt.

Die Endothelfunktion ist ein Parameter mit einer hohen Tag-zu-Tag Variabilität (74) und zeigt auch deutliche zirkadiane Schwankungen (75,76). Verschiedene Faktoren wie z.B. der hormonelle Status (77), körperliche Aktivität (78) oder Schlafqualität (79) tragen dazu bei. Die wichtigste Rolle scheint jedoch dem postprandialen Status zuzukommen. Eine postprandiale EndD wurde nicht nur bei Patienten mit Herzerkrankungen (80) oder Diabetes (16) nachgewiesen, sondern auch bei gesunden Probanden (81). Es gibt zahlreiche Daten, die eigenständige, additive Effekte (16) der Hyperglykämie (82) und Hypertriglyzeridämie (83) auf die postprandiale EndD belegen. Unsere Studiengruppe hat vor kurzem nachweisen können, dass der postprandiale AGE-Anstieg die Endothelfunktion weiter beeinträchtigen kann (84).

Um reproduzierbare Daten zu generieren, ist es also wichtig, bei der Messung der Endothelfunktion vergleichbare Ausgangspositionen (z.B. Nüchternzustand, Euglykämie, Ruhebedingungen, etc.) zu generieren, was in der klinischen Routine nicht immer einfach ist.

Ein zweites Problem ist das Fehlen gut definierter Normwerte für die verschiedenen Untersuchungsmethoden der Endothelfunktion (s. auch Kapitel

Theoretischer Hintergrund

klinische Methoden zur Messung der Endothelfunktion) (85), sowie die Schwierigkeit, die Untersuchungen selbst zu standardisieren (86).

Das dritte Problem ist, dass es eine Vielzahl an Untersuchungen gibt, welche die Endothelfunktion in verschiedenen Gefäßsystemen erfassen. Diese Systeme unterliegen unterschiedlicher Regulation und sind in unterschiedlichem Ausmaß von Atherosklerose betroffen. Somit stellt sich die Frage, ob z.B. eine EndD gemessen am Unterarm die gleiche Prognoserelevanz hat, wie eine ED an den unteren Extremitäten, die deutlich früher atherosklerotische Veränderungen aufweisen als die oberen.

Nachstehend werden die uns z.Zt. zur Verfügung stehenden Methoden zur Messung der Endothelfunktion dargestellt. Grundsätzlich unterscheiden wir zwischen laborchemischen und klinischen Methoden.

1) Laborchemische Methoden zur Untersuchung der Endothelfunktion

Die wichtigsten Eigenschaften des Endothels, nämlich antithrombotische, adhäsionsregulierende, vasomodulatorische Eigenschaften können anhand laborchemischer Marker quantifiziert werden.

Ein prothrombotischer Status wird unter anderem durch eine verminderte Fibrinolyse hervorgerufen, wie z.B. bei erhöhter Inhibition fibrinolytischer Enzyme (wie t-PA) oder urokinase-type plasminogen activator (u-PA) durch den PAI-1. PAI-1 wird unter physiologischen Bedingungen von Leberzellen, glatten Gefäßmuskelzellen, Adipozyten oder Thrombozyten sezerniert. Unter pathologischen Bedingungen wird PAI-1 auch von Endothelzellen produziert, die durch inflammatorische Zytokine aktiviert wurden (59). In Studien an Menschen wurde nachgewiesen, dass die PAI-1-Konzentration im Plasma mit der Häufigkeit der atherosklerotischen Ereignisse und Mortalität korreliert und dass PAI-1 ein eigenständiger Risikofaktor für koronare Herzerkrankungen ist (87). Bei Patienten

Theoretischer Hintergrund

mit Diabetes werden erhöhte PAI-1 Konzentrationen für den prothrombotischen Status und für die erhöhte atherosklerotische Mortalität verantwortlich gemacht (88).

Der *von Willebrand Faktor (vWF)* vermittelt die Adhäsion der Thrombozyten an das Subendothelium, sowie die Interaktion *zwischen* Thrombozyten. Die Endothelzellen können den prothrombotischen und prokoagulanten vWF sezernieren, stimuliert durch Inflammation, Interleukin-1, tumor necrosis factor- α (TNF- α), Lipopolysaccharide oder oxidiertes LDL (89). Der vWF gilt als Parameter der EndD (90).

Der *platelet activating factor (PAF)* kann von den Endothelzellen produziert werden und begünstigt die Aktivierung und Aggregation der Thrombozyten, sowie eine Vasokonstriktion (91).

Die Adhäsion der Leukozyten an Endothelzellen und deren Transmigration in die Arterienwand ist eines der wichtigsten Faktoren in der Entstehung der Atherosklerose und wird durch Adhäsionsmoleküle wie z.B. ICAM-1, VCAM-1 und E-Selektin vermittelt. Erhöhte Plasma-Spiegel der Adhäsionsmoleküle gelten als Marker der EndD (60). Die Expression der CAMs wird von folgenden Substanzen erhöht: inflammatorische Zytokine (TNF- α , IL-6, CRP) (92), freie Fettsäuren, oxidiertes LDL-Cholesterin, reaktive Sauerstoffradikale oder AGE (84).

Die vasomodulatorische Aktivität des Endothels wird durch das Zusammenspiel zwischen vasodilatatorischen Substanzen (NO, PGI₂ und EDHF) und vasokonstriktiven Substanzen (ET-1, TXA₂ und Prostaglandin H₂: PGH₂) gewährleistet.

Während die Messung des PGI₂ (55) direkt erfolgen kann, stellt NO ein Radikal mit einer sehr kurzen Halbwertszeit dar. Die Quantifizierung des NO-Stoffwechsels ist nur indirekt anhand der Messung seiner Metabolite (Nitrit, Nitrat

Theoretischer Hintergrund

im Urin, Nitrotyrosin im Plasma) möglich (56). Nitrotyrosin entsteht durch die chemische Reaktion zwischen Peroxynitrit (ein Produkt der Reaktion zwischen Sauerstoffradikalen und NO) und der Aminosäure Tyrosin. Nitrotyrosin ist somit ein Marker, der sowohl die NO-Produktion, als auch den oxidativen Stress widerspiegelt.

Endothelin-ET-1) ist der stärkste Vasokonstriktor, der von Endothelzellen sezerniert wird (57). Seine Produktion wird unter normalen Bedingungen von der NO-Produktion antagonisiert und moduliert. Eine EndD geht mit einer erhöhten ET-1 Konzentration einher.

Erhöhte Blutspiegel des *asymmetrischen Dimethylarginins (ADMA)*, ein potenter Inhibitor der NO-Synthetase, kommen bei Menschen mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko vor (93). ADMA stellte in selektierten Populationen einen unabhängigen Prädiktor für die kardiovaskuläre und Gesamtmortalität dar. Mehrere Studien weisen darauf hin, dass ADMA ein zirkulierender Marker der subklinischen Atherosklerose darstellt (94).

Eine Korrelation zwischen der flußabhängigen Dilatation (FAD, s.u.) und Serummarkern der Endotheldysfunktion wurde beschrieben (54).

II) Klinische Methoden

A. Nicht-invasive Methoden

1. Die durch Celermajer et al. (95) beschriebene **flußabhängige Dilatation (FAD)** der Arteria brachialis ist die am häufigsten verwendete nicht-invasive Methode zur Erfassung der Endothelfunktion. Die nach 4,5 minütiger suprasystolischer Stauung des Unterarmes entstandene reaktive Hyperämie bewirkt eine Scherkraft-vermittelte NO-Freisetzung aus den Endothelzellen der A. brachialis (95). NO wirkt relaxierend auf die benachbarten glatten Gefäßmuskelzellen und führt somit zur Vasodilatation. Das Ausmaß der Vasodilatation (Abb. 2) spiegelt das Ausmaß der NO-Produktion wider. Die FAD-

Theoretischer Hintergrund

Messung wird im Detail im Methodenteil dieser Arbeit beschrieben.

Eine Korrelation zwischen der FAD und dem Schweregrad koronaren Herzerkrankung wurde nachgewiesen (96,97).

2. Die Laser-Doppler Methode ermöglicht eine nicht-invasive Messung der Mikrozirkulation der Haut. Üblicherweise werden die Geschwindigkeit und das Volumen des Blutflusses erfasst. Die Reaktion zur lokalen Anwendung von endothel-abhängigen oder endothel-unabhängigen Vasodilatoren (z.B. die Iontophorese von Acetylcholin bzw. Natrium-Nitroprussid) liefert wertvolle Informationen über die Endothelfunktion im mikrovaskulären Bereich. Bei Stromanwendung werden jedoch auch eine nichtspezifische stromvermittelte Vasodilatation, sowie eine neuronal bedingte Komponente angenommen (98).

Eine reproduzierbare Alternative wurde entwickelt, die, ähnlich der FAD, die Zunahme des Blutflusses an der Handoberfläche nach einer 4,5 minütigen Ischämie des Unterarmes erfasst (99). Dieser Wert wird in der Regel als Quotient des Blutflussanstiegs nach Stauung dargestellt.

Obwohl eine Korrelation mit der FAD der A. brachialis bereits beschrieben wurde (100), gibt es Hinweise dafür, dass die durch die zwei Methoden gemessenen Prozesse relativ unterschiedliche Aspekte der Endothelfunktion erfassen. Während die FAD überwiegend durch die NO-Freisetzung gesteuert wird, ist die Regulation der Mikrozirkulation eher von der Sekretion vasodilatierender Prostaglandine abhängig (101).

3. Die **computergestützte venöse Verschlussplethysmographie** misst die Permeabilität der Mikrozirkulation und wird in der Regel an den unteren Extremitäten angewandt (102). Dazu wird mittels zweier Staumanschetten an den Oberschenkeln des liegenden Probanden in 10 mmHg Schritten alle 4 Minuten langsam ein Stauungsdruck aufgebaut. Am Unterschenkel sind hochempfindliche quecksilberfreie Sensoren angebracht, die die Umfangsvermehrung durch die vaskuläre Dehnung und die folgende Flüssigkeitsfiltration kontinuierlich erfassen.

Der Stauungsdruck verursacht distal der Manschetten eine Erhöhung des

Theoretischer Hintergrund

venösen und kapillären Druckes, was im Endeffekt eine Zunahme der Filtration der intravasalen Flüssigkeit in das Gewebe bewirkt. Für jeden Drucksprung wird die Umfangsveränderung der Beine in ml/100 ml Gewebe gemessen und in einem Diagramm in Abhängigkeit von der Zeit in Minuten aufgetragen. Dabei wird eine charakteristische zweiphasige Volumenantwort registriert: eine schnelle initiale Phase, die einen exponentiellen Kurvenverlauf beschreibt und der vermehrten Venenfüllung entspricht. Der zweite Teil der Kurve ist eine lineare Funktion und wird durch Flüssigkeitsfiltration aus den Blutgefäßen in das umliegende Gewebe verursacht.

4. Blood oxygen level dependent (BOLD) magnetic resonance imaging. Die BOLD- Messung beruht auf dem Prinzip, dass desoxygeniertes Hämoglobin im Blut das Protonensignal verändert, so dass sich das Ausmaß der Oxygenation durch die Magnetresonanztomographie messen lässt. So kann z.B. anhand der Messung der geringen Zunahme der Oxygenierung nach Gabe von Adenosin oder Dipyridamol im venösen koronaren System ein Areal entdeckt werden, das von einer stenosierten Arterie versorgt wird (103).

Die Methode erlaubt die Messung in jedem beliebigen Gefäßareal. So z.B. kann die reaktive Hyperämie nach Stauung oder intraarterieller Gabe von Vasodilatoren (z.B. Acetylcholin) entweder am Unterarm (104) oder am Unterschenkel (105) gemessen werden. Die Methode ist relativ neu, eine Etablierung sowie systematische Vergleiche stehen noch aus.

5. Positronen-Emissions-Tomographie (PET). Die myokardiale Perfusion wird unter Ruhebedingungen mittels PET gemessen, als Tracer wird N(13)-Ammoniak benutzt (106). Nach Gabe von Adenosin wird die vasodilatatorische Kapazität der Koronargefäße anhand zweier Parameter gemessen: Erhöhung des koronaren Blutflusses und der „minimum coronary vascular resistance index“, berechnet als Quotient zwischen dem mittleren arteriellen Perfusionsdruck unter Adenosingabe von der dritten zur sechsten Minute der Perfusion. Der Adenosin-induzierte Blutflussanstieg spiegelt die Funktion der koronaren Endothelzellen wider (107).

6. Die Pulswellenamplitude (PWA) am Finger misst anhand eines plethysmographischen Verfahrens die Zunahme der Pulswellenamplitude im Rahmen der reaktiven Hyperämie nach Stauung (85).

B. Invasive Techniken

1. Die **intrakoronare Infusion von Acetylcholin** stellt den „Goldstandard“ zur direkten Erfassung der Endothelfunktion in den Koronararterien dar. Die Infusion induziert eine Veränderung des Koronararterien-Durchmessers, des Blutflusses und des Koronarwiderstandes (108). Bei intaktem Endothel führt das intrakoronare Acetylcholin zur Vasodilatation und Zunahme des Koronarblutflusses (109). Bei einer EndD führt die Infusion zu einer paradoxen Reaktion (Vasokonstriktion und Verminderung des Blutflusses). Die Wirkung von Acetylcholin dient somit als Marker für die Verfügbarkeit von NO, wobei eine pathologische Reaktion auf eine EndD hinweist.

2. Die **Verschlußplethysmographie** ist eine andere häufig verwendete Methode, die eine Erfassung der endothel-abhängigen Dilatation im Bereich der Mikrozirkulation des Unterarmes ermöglicht. Unter Lokalanästhesie wird ein Zugang in die A. brachialis gelegt, wodurch verschiedene Agonisten und Antagonisten der Endothelfunktion (Acetylcholin, aber auch Natriumnitroprusid, Phentolamin, N-Monomethyl-L-Arginin usw.) infundiert werden. Die Veränderungen des Unterarmblutflusses werden gleichzeitig mittels Venenverschluß- Plethysmographie erfasst (110-112). Der Unterarmblutfluss muss beidseits gemessen werden und die Ergebnisse als Verhältnis dargestellt werden, damit die möglichen blutdruckbedingten Veränderungen des Ruheblutflusses mitberücksichtigt werden können.

Es konnte gezeigt werden, dass die Messung der Acetylcholin-induzierten Vasodilatation des Unterarmes einen unabhängigen Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung darstellt (113).

Theoretischer Hintergrund

3. Die Thermodilutionsmethode (50) misst die endothelvermittelte Vasodilatation der unteren Extremitäten. In die Femoralvene wird ein Thermodilutionskatheter eingeführt, der den Blutfluss erfasst. In die A. femoralis wird ein doppellumiger Katheter eingeführt, wodurch invasiv der Blutdruck gemessen wird und vasodilatierende Substanzen (z.B. Metacholinchlorid) injiziert werden können. Anhand von Thermodilutionskurven wird der Anstieg des Blutflusses nach Injektion vasodilatierender Substanzen als prozentualer Anstieg zum Ausgangsblutfluss berechnet.

CAVE. Bei der Messung der endothelabhängigen Vasodilatation der unteren Extremitäten ist allerdings große Vorsicht geboten. Da die Unteren Extremitäten deutlich mehr von atherosklerotischen Veränderungen betroffen sind als die oberen Extremitäten, spiegelt jede Messung der reaktiven Hyperämie nicht nur die endothelabhängige Vasodilatation wider, sondern auch die eventuell vorgeschaltete(n) Obstruktion(en).

Als Regel gilt auch, dass je länger das Gefäßbett zwischen der Applikation des vasodilatatorischen Stimulus und des Messpunktes ist, umso mehr Variablen berücksichtigt werden müssen. So wird z.B. bei der Untersuchung der reaktiven Hyperämie nach Stauung des Unterschenkels im Bereich der A. Femoralis ein eher „endothelspezifischer“ Effekt erfasst, während mit der Thermodilutionsmethode oder der Venenverschlussplethysmographie das gesamte Arterien-, Arteriolen-, Kapillarsystem sowie Teile des venösen Systems zusätzlich erfasst werden, die atherosklerotischen Veränderungen und Mikrozirkulationsstörungen unterliegen.

Insgesamt stellt die Messung der Endothelfunktion eine valide Methodik zur Erfassung des kardiovaskulären Risikos bei asymptomatischen Menschen, wie auch eine empfindliche Methode zur Verlaufskontrolle nach Einleiten einer Therapie dar. Die Eigentümlichkeiten des gemessenen Gefäßsystems müssen berücksichtigt werden. Eine weitere Standardisierung der Untersuchungsmethoden und altersabhängige Normwerte werden dringend benötigt.

Theoretischer Hintergrund

Abbildung 2. Messung des Arterienradius mittels Ultraschall (manuell oder mittels computerunterstützter Erkennung der Arterienstrukturen)



Therapeutische Ansätze bei EndD

Da die EndD eine funktionelle, z.T. reversible Vorstufe der morphologischen Veränderungen der Arterienwand darstellt, könnte eine Verbesserung der Endothelfunktion eine therapeutische Option mit dem Ziel der Prävention der Atherosklerose darstellen.

Eine gestörte Gefäßfunktion beruht auf vier möglichen Mechanismen:

1. auf einer verminderten Produktion des NO durch herabgesetzte Aktivität der NO-Synthetase,
2. auf einer vermehrten Inaktivierung des bereits sezernierten NO z.B. durch Sauerstoffradikale oder AGEs,
3. seltener auf einer beeinträchtigten Empfindlichkeit der glatten Gefäßwandmuskulatur gegenüber NO, oder

Theoretischer Hintergrund

4. auf einer Gefäßsklerose, die physikalisch die Vasodilatation einschränkt.

Daraus resultieren mehrere therapeutische Ansätze zur Verbesserung der Endothelfunktion in vivo:

1. **Als erste Option** versuchte man eine Steigerung der NO-Produktion in den Endothelzellen zu bewirken:

a) Medikamentös durch Gabe von:

- Statinen (114)
- ACE- Hemmern (115)
- Vitaminen und Aminosäuren wie z.B. Tetrahydrobiopterin (116), Folsäure (65), L-Arginin (117)

b) Bei Diabetikern durch Verbesserung der Diabeteseinstellung (118)

c) Durch diätetische Maßnahmen, z.B. mittels einer AGE- armen Diät (119) (120)

2. **Eine zweite Option** mit dem Ziel der Verbesserung der Gefäßfunktion ist die Verminderung der intravaskulären NO-Inaktivierung z.B. durch Gabe von Sauerstoff-Radikalfängern wie Vitamin C und E (121). Dies ist jedoch im klinischen Alltag wenig realistisch, da z.B. die hierfür benötigten oralen Vitamin C-Mengen bei etwa 9g/Tag liegen würden.

Eine andere Möglichkeit, die NO-Inaktivierung zu reduzieren, ist die Senkung der AGE- Konzentration durch a) Reduktion der exogenen AGE-Zufuhr, z.B. durch eine AGE-arme Ernährung (119), oder b) Verminderung der endogenen AGE-Produktion (84).

3. **Als dritte Option** kann bei erniedrigter NO-Bioverfügbarkeit eine Optimierung der Wirkung des NO an Zielzellen (z.B. Thrombozyten oder glatten Gefäßmuskelzellen) durch Steigerung der intrazellulären Signalkette angestrebt werden. Dies könnte z.B. durch Gabe von PDE 5-Hemmern wie Sildenafil erreicht werden (33).

Theoretischer Hintergrund

Da die Therapie mit PDE 5-Hemmern bei Männern mit Diabetes und ED häufig eingesetzt wird und vor dem Hintergrund der o.g. möglichen positiven Effekte auf die Gefäßfunktion, sollte unsere Studie untersuchen, ob die Einmalgabe von 100 mg Sildenafil die Endothelfunktion bei Diabetikern verbessert. Zur Untersuchung der Endothelfunktion wurde die flussabhängige Dilatation der A. brachialis mittels Ultraschall gewählt (bezüglich Beschreibung der Methode s. Kapitel 3.1.).

Da die Datenlage zu PDE5-Hemmern und Endothelfunktion kontrovers ist und die vorliegenden Studien an kleinen Patientenzahlen durchgeführt wurden, sollte unserer Studie die o.g. Hypothese an einem größeren Patientenkollektiv von Diabetikern prüfen.

1.2 **Autonome Neuropathie**

Die diabetische Neuropathie lässt sich allgemein in zwei klinische Formen einteilen: die **periphere Neuropathie** (gekennzeichnet durch eine Schädigung der sensomotorischen Nerven) und die **autonome Neuropathie** (122) (charakterisiert durch eine Schädigung der vegetativen Nerven). Als Manifestationen der letzteren spielen die *kardiovaskuläre autonome diabetische Neuropathie* (KADN), die *autonome Neuropathie des Gastrointestinaltraktes* (z.B. Gastroparese) sowie die ED eine bedeutsame klinische Rolle.

Funktionsstörungen des autonomen Nervensystems (123) kommen insbesondere als sekundäre Manifestationen im Rahmen verschiedener Krankheitsbilder wie Diabetes mellitus, Niereninsuffizienz, Alkoholismus, Malignomen, Infektionen und Autoimmunerkrankungen vor. Während die autonome diabetische Neuropathie (ADN) seit 1945 als klinische Entität aufgefasst wird (124), wurde Ihre Bedeutung für die Morbidität und Mortalität des Diabetikers erst in letzter Zeit zunehmend erkannt. Prinzipiell kann jedes autonom innervierte Organ von einer Funktionsstörung des peripheren autonomen Nervensystems betroffen sein.

Als frühes Zeichen einer KADN gilt die Reduktion der Herzfrequenzvariabilität (HRV), die mittels autonomer Funktionstests (AFTs) oder im Langzeit-EKG bei

Theoretischer Hintergrund

ca. 20% aller Diabetiker nachweisbar ist. Eine Zunahme der Prävalenz der KADN wird mit zunehmendem Alter, mit längerer Diabetesdauer und unzureichender Diabeteseinstellung, bei Vorliegen einer distal-symmetrischen Polyneuropathie, sowie mikro- und makroangiopathischen Komplikationen beobachtet. Neuere Daten weisen auf eine Korrelation zwischen den Komponenten des metabolischen Syndroms und reduzierter HRV hin. In der MONICA/KORA-Kohorte konnte gezeigt werden, dass auf Bevölkerungsebene Alter, Diabetes, viszerale Adipositas und Rauchen als primäre Determinanten der herabgesetzten HRV anzusehen sind (125).

Eine KADN wurde bei mindestens 1/4 der Patienten mit Typ 1- und mindestens 1/3 der Patienten mit Typ 2-Diabetes beschrieben (126). Die Bedeutung der Diagnose einer KADN besteht darin, dass die Erkrankung mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko einhergeht (127). Diabetiker mit KADN weisen Mortalitätsraten von 25% gegenüber 4% bei Diabetikern ohne KADN auf (128-131).

In der populationsbasierten MONICA/KORA- Kohorte aus der Region Augsburg wurde nach 9 Jahren bei Diabetikern mit reduzierter Herzfrequenzvariabilität (HRV) als Marker der KADN eine mit 37,5% signifikant erhöhte Mortalitätsrate im Vergleich zu 23,9% bei Diabetikern mit normaler HRV festgestellt (Ziegler et al., Diabetes 2004; 53, Suppl. 2: A57). Als mögliche Ursache hierfür wird eine Prädisposition für maligne ventrikuläre Arrhythmien u.a. in Zusammenhang mit der bei KADN nachweisbaren Verlängerung der QT-Dauer diskutiert. Das relative Risiko (95% Konfidenzintervall) für das Auftreten einer KADN bei Diabetikern mit einer QTc-Verlängerung >440 ms ist mit 2,3 (1,9-2,7) erhöht (132).

1.2.1 Klinisches Bild

Die wichtigsten klinischen Befunde bei der KADN sind: eine *reduzierte Herzfrequenzvariabilität und Ruhetachykardie, orthostatische Hypotonie, nächtliche Blutdruckerhöhung, QT- Verlängerung, stumme Myokardischämie, Belastungsintoleranz, linksventrikuläre Dysfunktion und perioperative Instabilität* (126).

Theoretischer Hintergrund

A) reduzierte Herzfrequenzvariabilität

Als frühestes Zeichen einer vagalen KADN gilt eine Verminderung der HRV bzw. der respiratorischen Sinusarrhythmie. Sie kann im Verlauf zu einer nahezu kompletten Herzfrequenzstarre führen. Fortgeschrittene Stadien sind durch eine Erhöhung der Ruheherzfrequenz bzw. Ruhetachykardie (Vagusläsion) mit Frequenzanstieg bis zu 130 Schlägen/min und orthostatischer Hypotonie (Sympathikusläsion) gekennzeichnet. Vergleichstudien zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern zeigten einen Frequenzunterschied um durchschnittlich ca. 10 Schläge/min. Der Herzfrequenzanstieg ist jedoch kein zuverlässiges diagnostisches Kriterium, da beim Hinzutreten einer sympathischen Dysfunktion zusätzlich zur parasympathischen Schädigung die Frequenz wieder abnehmen kann. Selten gibt es Fälle mit fixierter Herzfrequenz, die sich unter Streß oder im Schlaf nicht ändert. Dies wird auf eine kardiale Denervierung zurückgeführt. In der Schlafphase liegt die Herzfrequenz bei Patienten mit KADN deutlich höher als bei Normalpersonen und die Tag-Nacht-Rhythmik kann aufgehoben sein (126).

B) Orthostatische Hypotonie

Die orthostatische Hypotonie ist ein wichtiger klinischer Befund einer sympathischen Beteiligung bei der KADN (123). Eine Reduktion des systolischen Blutdrucks um mehr als 27 mmHg und/oder des diastolischen Blutdrucks um mehr als 14 mmHg gilt als pathologisch (128). Vereinzelt kommt es zu systolischen Blutdruckabfällen bis zu 90 mm Hg. Typische Symptome umfassen Schwindel, Benommenheit, Schwächegefühl und manchmal Synkopen. Die oben genannten Symptome können als Nebenwirkungen von Pharmaka verkannt oder als Ausdruck einer Hypoglykämie fehlgedeutet werden. Manche Patienten werden symptombedingt arbeitsunfähig oder sogar bettlägerig. Eine häufig auftretende orthostatische Symptomatik wird bei gezieltem Befragen von 6,4% der Typ 1- und 10,6% der Typ 2 Diabetiker angegeben (133).

Die orthostatische Hypotonie wird auf eine Schädigung der sympathischen Neurone mit konsekutiver Reduktion von Plasmanoradrenalin im Liegen mit

Theoretischer Hintergrund

inadäquatem Anstieg nach dem Aufstehen zurückgeführt (*hypoadrenerge* Form). Gleichzeitig kann eine Denervierungshypersensitivität gegenüber Katecholaminen vorliegen. Bei manchen Patienten ist der Noradrenalin Spiegel im Liegen und nach dem Aufstehen jedoch erhöht (*hyperadrenerge* Form). In diesen Fällen kommen als pathophysiologische Mechanismen eine reduzierte Ansprechbarkeit der Gefäße gegenüber endogenem Noradrenalin und intravasale Volumenänderungen in Betracht (134).

C) Nächtliche Blutdruckerhöhung

Bei Gesunden ist der Blutdruck durch einen zirkadianen Rhythmus gekennzeichnet, der eine U-förmige Kurve mit den höchsten Werten während des Tages, den niedrigsten Werten während der ersten Hälfte der Schlafphase und einem Anstieg in den frühen Morgenstunden bildet (135). Bei Diabetikern mit KADN wurde eine Abschwächung oder Umkehr des normalen Blutdruckrhythmus mit nächtlichem Anstieg und einem Abfall am frühen Morgen gefunden (60,136) und mit einer erhöhten Mortalität in Verbindung gebracht (137).

Bei normotonen Typ 1 Diabetikern mit KADN wurde gegenüber denen ohne KADN neben einem geringer ausgeprägten nächtlichen Abfall des Blutdrucks und der Albuminausscheidung eine signifikante Korrelation zwischen der letzteren und dem systolischen Blutdruck festgestellt. Es ist somit denkbar, dass die autonome Denervierung zu Veränderungen der nächtlichen glomerulären Funktion und der renalen Hämodynamik beiträgt (138).

Es wird auch angenommen, dass bei Diabetikern mit fortgeschrittener Nephropathie eine gesteigerte Natriumretention zu der nächtlichen Blutdruckerhöhung beitragen könnte (60). Andererseits wurde eine Umkehr der zirkadianen Blutdruckrhythmik auch bei Nichtdiabetikern mit autonomer Dysfunktion und orthostatischer Hypotonie nachgewiesen (139).

D) QT-Verlängerung und QT-Dispersion

Eine Verlängerung der QT-Dauer steht in Beziehung zu Veränderungen der Aktivität des autonomen Nervensystems, sowie zu gehäuftem Auftreten von komplexen ventrikulären Arrhythmien und plötzlichem Herztod (132). Zahlreiche

Theoretischer Hintergrund

Studien weisen auf einen Zusammenhang zwischen KADN und Verlängerung des QTc-Intervalls (QT korrigiert um Herzfrequenz) bei Diabetikern hin (126). Eine epidemiologische Studie aus Piemonte, Italien, fand eine QTc-Verlängerung bei 31% der Typ 1 Diabetiker mit KADN im Vergleich mit 24% bei denen ohne KADN und 8% in der gesunden Population. Jedoch wiesen weniger als 50% der Patienten mit QTc-Verlängerung eine KADN auf (140), so dass eine Verlängerung der QT-Dauer nicht als sensitiver Marker für eine KADN anzusehen ist. Entsprechend einer Meta-Analyse ist bei Diabetikern mit QTc-Verlängerung (<440 ms) das Risiko für eine KADN um das 2,3-fache erhöht (141), wobei die Spezifität mit 86% zwar hinreichend, die Sensitivität jedoch mit 28% gering ist (122).

Die QT-Dispersion, definiert als die Differenz zwischen dem längsten und dem kürzesten QT-Intervall im Oberflächen-EKG, quantifiziert das Ausmaß der räumlichen Inhomogenität der Ventrikelrepolarisation. Inwieweit eine erhöhte QT-Dispersion bei kardialen Grunderkrankungen als Prädiktor für den plötzlichen Herztod oder erhöhte Mortalität benutzt werden kann, ist derzeit umstritten. Bei Typ 1 und Typ 2 Diabetikern besteht eine Korrelation zwischen KHK und gesteigerter QT-Dispersion. Bislang konnte jedoch keine eindeutige Beziehung zwischen Zunahme der QT-Dispersion und KADN nachgewiesen werden (142-144).

E) Stumme Myokardischämie

Die KHK hat bei Diabetikern eine erhöhte Prävalenz und schreitet oft symptomfrei weiter. Etwa 22% der asymptomatischen Patienten mit Diabetes weisen myokardiale Perfusionsstörungen auf (145). Diese sind auf atherosklerotische Veränderungen, Endotheldysfunktion aber auch pathologische nervengesteuerte Vasoregulation zurückzuführen. In der Framingham-Studie lagen die Raten unerkannter Myokardinfarkte bei Diabetikern bei 39% und bei Nicht-Diabetikern bei 22%, wobei dieser Unterschied jedoch statistisch nicht signifikant war (146). In einer Erhebung der National Registry of Myocardial Infarction 2 (NRMI-2) bei 434.877 Patienten mit Myokardinfarkt wiesen 33% keine Schmerzsymptomatik auf. Der Anteil von Diabetikern unter den Patienten

Theoretischer Hintergrund

ohne Angina pectoris lag mit 32.6% höher als in der Gruppe mit Angina pectoris mit 25.4% (147).

Asymptomatische Patienten mit Diabetes weisen myokardiale Perfusionsstörungen auf, die vergleichsweise ähnlich häufig auftreten wie bei symptomatischen (148). Somit wird klar, dass die typischen Symptome die eine KHK begleiten, in dieser Patientengruppe unzuverlässig sind.

Mehrere klinische Studien haben die vielfach vermutete, jedoch von einigen Autoren auch angezweifelte (149,150) Beziehung zwischen KADN und stummer Myokardischämie untersucht. Ambepityia et al. (151) haben bei Diabetikern mit koronarer Herzkrankheit im Vergleich zu Nicht-Diabetikern eine Verlängerung der Wahrnehmungsschwelle der Angina pectoris, d.h. der Zeitspanne vom Auftreten einer ST-Senkung von 0,1 mV bis zum Beginn der pectanginösen Symptomatik während der Ergometerbelastung, nachgewiesen. Diese Schwellenerhöhung stand mit der KADN, der Belastungskapazität und mit dem Grad der Ischämie unter maximaler Belastung in Beziehung. Die umgekehrte Assoziation zwischen dem Schweregrad der Ischämie und der Belastungsfähigkeit wie sie für Nicht-Diabetiker typisch ist, ging bei den Diabetikern jedoch komplett verloren (152). Mit anderen Worten, die erhöhte Schwelle führt dazu, dass der Patient trotz zunehmender Myokardischämie das Signal zur Beendigung der Belastung nicht wahrnimmt und die Belastung fortsetzt. Darüber hinaus ließ sich bei Diabetikern mit verlängerter Wahrnehmungsschwelle der Angina pectoris auch eine Erhöhung der somatischen Schmerzschwelle nachweisen, die mit verminderter autonomer Funktion assoziiert war (153,154). Nicht-invasive Untersuchungen zeigen ebenfalls eine Beziehung zwischen der KADN und asymptomatischer Ischämie (155-157). O'Sullivan und Mitarbeiter (157) fanden im 24-h-EKG eine deutlich höhere Prävalenz der stummen Ischämie bei Diabetikern mit KADN als bei denen ohne KADN, das morphologische Ausmaß der KHK war jedoch nicht bekannt. Ob die von Titus und Mitarbeiter (158) berichtete, unabhängige Beziehung zwischen Diabetes und schmerzloser Myokardischämie während der perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA) auf die KADN zurückgeführt werden kann, bleibt zu klären.

F) Belastungsintoleranz

Bei Diabetikern mit vagaler KADN ohne Hinweise für koronare Herzkrankheit sind die Belastungskapazität (maximal tolerable Arbeitsbelastung und maximale Sauerstoffaufnahme), sowie der belastungsabhängige physiologische Anstieg für Herzfrequenz, Blutdruck, Herzschlagvolumen und hepato-splanchnischen vaskulären Widerstand vermindert. Eine noch stärkere Abnahme der Belastungskapazität und Blutdruckreaktion ist bei Diabetikern mit orthostatischer Hypotonie im Rahmen der KADN nachweisbar (159,160). Der Schweregrad der KADN korreliert invers mit dem Herzfrequenzanstieg zu allen Zeitpunkten während der Belastung, sowie mit dem maximalen Frequenzanstieg. Das Kriterium der maximal erreichbaren Herzfrequenz während der Ergometrie ist daher bei Vorliegen einer KADN nicht anwendbar.

G) Linksventrikuläre Dysfunktion

Die KADN ist mit Störungen der linksventrikulären systolischen (161,162) und insbesondere der diastolischen Funktion (29,161,163) assoziiert, ohne gleichzeitiges Vorliegen einer KHK. Mit Hilfe der Radionuklidventrikulographie ließ sich eine Einschränkung der linksventrikulären diastolischen Füllung, d.h. Verlängerung der Zeit bis zum Eintritt der maximalen Füllungsrate, bei Patienten mit KADN und normaler linksventrikulärer Auswurffraktion nachweisen (163). Echokardiographische Untersuchungen einschließlich Doppler haben mit zunehmendem Schweregrad der KADN eine Reduktion der maximalen diastolischen Füllungsrate, sowie eine Steigerung des Vorhofbeitrags zur diastolischen Füllung gezeigt (29). Darüber hinaus wurde in einer prospektiven Studie über 15 Monate bei neu diagnostizierten Typ 2 Diabetikern eine inverse Beziehung der HRV zur linksventrikulären Wanddicke festgestellt, die nicht durch Alter, Blutdruck, Gewicht oder gleichzeitig vorliegende kardiovaskuläre Erkrankungen zu erklären war (161). Es ist jedoch derzeit schwierig zu beurteilen, ob die KADN einen unabhängigen Beitrag zu den genannten Befunden leistet, da andere Faktoren wie eine interstitielle Myokardfibrose sowie mögliche mikroangiopathische oder metabolische Veränderungen, die in der

Theoretischer Hintergrund

Pathogenese der diabetischen Herzmuskelerkrankung diskutiert werden, ebenso zur linksventrikulären Dysfunktion führen könnten (161). Allerdings unterstützt die Auslösung der o.g. systolischen und diastolischen Funktionsstörungen durch medikamentöse Blockade des autonomen Nervensystems bei gesunden Personen das Konzept, dass die KADN eigenständig zu Veränderungen der linksventrikulären Kontraktilität und Füllung beiträgt.

H) Perioperative Instabilität

Die perioperative kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität bei Diabetikern ist gegenüber Nicht-Diabetikern um das 2-3fache erhöht (164). Bei Diabetikern mit KADN können gehäuft Narkosezwischenfälle in Form von hypotonen und bradykarden Phasen auftreten (165). Die erhöhte Instabilität intraoperativ, sowie während der Intubation und Extubation erfordert eine häufigere Gabe von vasopressorisch wirksamen Substanzen. Darüber hinaus zeigen Diabetiker mit KADN eine deutlichere intraoperative Hypothermie als diejenigen ohne KADN und laufen daher in Gefahr, das physiologische Plateau der Körperkerntemperatur nicht zu erreichen (166). Durch ein präoperatives Screening von Risikopatienten, bei denen eine KADN gehäuft anzutreffen ist (Langzeitdiabetes mit Folgeschäden, insbesondere periphere Neuropathie), könnte die Diagnose einer KADN ein intensiveres perioperatives Monitoring nach sich ziehen.

I) Erektile Dysfunktion

Bei Männern mit Diabetes kann sich die autonome Neuropathie auch in Form einer **erektilen Dysfunktion** manifestieren. Diese wird definiert als „Unfähigkeit, eine Erektion zu erlangen und/oder aufrechtzuerhalten, die für einen befriedigenden Geschlechtsverkehr ausreichend ist“ (167). Es wird geschätzt, dass 20-52% der Patienten mit T1DM und 36-54% derer mit T2DM an einer ED leiden (168).

Die jährliche Inzidenz der ED ist bei Diabetikern im Vergleich zu Nicht-Diabetikern um das zwei- bis dreifache erhöht. Das Risiko für eine ED ist vor

Theoretischer Hintergrund

allem durch die zahlreichen Begleiterkrankungen und Komplikationen des Diabetes gesteigert.

Die ED wurde traditionell als häufige sekundäre Komplikation des Diabetes, der Hypertonie oder von kardiovaskulären Erkrankungen angesehen. Diese Sicht wird zunehmend in Frage gestellt und die ED stattdessen als frühe Manifestation der Atherosklerose und Vorbote von kardiovaskulären Erkrankungen aufgefasst. Eine wichtige Rolle wird dabei der EndD als ätiologischer Brücke zwischen ED und kardiovaskulären Erkrankungen bzw. Risikofaktoren zugeschrieben.

Mehrere Studien befassten sich mit den Wechselwirkungen zwischen **ED und kardiovaskulären Risikofaktoren bzw. Erkrankungen**. In der Prostate Cancer Prospective Study (169,170) wurden in der Placebo-Gruppe n=9457 Männer ≥ 55 Jahre von 1994-2003 alle 3 Monate bezüglich kardiovaskulärer Erkrankungen und der ED untersucht. Die Analyse erfolgte mittels proportionaler Hazard-Regressionsmodelle mit Adjustierung um Alter, BMI, Blutdruck, Lipide, Diabetes, Myokardinfarkt in der Familienanamnese, Rasse, Rauchen, körperliche Aktivität und Lebensqualität. Die ED ist als möglicher Prädiktor von kardiovaskulären Erkrankungen anzusehen und sollte daher zu einem Screening bzw. zu einer Intervention bezüglich kardiovaskulärer Risikofaktoren Anlass geben.

Neuere Studien legen nahe, dass die Prävalenz der ED bei Männern mit metabolischem Syndrom deutlich erhöht ist. Darüber hinaus weisen Männer mit ED auch in Abwesenheit eines Diabetes gehäuft eine Insulinresistenz auf. Allerdings sind diese Daten nicht bevölkerungsbezogen, so dass ein Selektionsbias nicht auszuschließen ist. Als Konsequenz für die Praxis ergibt sich, dass ein konsequentes Screening und Management hinsichtlich kardiovaskulärer Risikofaktoren bei Männern mit ED indiziert ist.

Bei Diabetikern liegen diesbezüglich relativ wenige Daten vor. Insbesondere auch die Rolle der asymptomatischen KHK in Bezug auf ED ist von Interesse, da die stumme Myokardischämie bei Diabetikern gehäuft vorkommt und als Prädiktor für kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität gilt.

Theoretischer Hintergrund

In einer Querschnittsstudie aus Pavia wurde die Prävalenz der ED bei fehlenden klinischen Hinweisen für KHK bei 133 Männern mit Typ 2 DM mit angiographisch verifizierter asymptomatischer KHK und bei 127 Männern mit Diabetes ohne Myokardischämie im Belastungs-EKG, 48-h Langzeit-EKG und Stress-Echokardiographie untersucht. Die Prävalenz der ED war bei Patienten mit stummer Ischämie signifikant höher als bei denen ohne stumme Ischämie (33,8% vs 4,7%). In der multiplen logistischen Regressionsanalyse waren die ED, Rauchen, Mikroalbuminurie sowie HDL- und LDL-Cholesterin signifikant mit asymptomatischer KHK assoziiert, wobei die Beziehung zur ED am stärksten war (Odds Ratio: 14,8, bei 95% Konfidenzintervall: (3,8-56,9) (171).

Somit besteht eine starke Korrelation zwischen ED und asymptomatischer KHK bei Männern mit Typ 2 Diabetes. Sollten diese Daten bestätigt werden, könnte die ED als Marker für ein KHK- Screening bei Diabetikern dienen. Aufgrund der relativ hohen Prävalenz der ED bei Diabetikern mit asymptomatischer KHK, ist vor Beginn einer Therapie der ED die Durchführung eines Belastungs- EKGs zu erwägen.

In einer weiteren Studie wurden 70 Patienten (14% mit Diabetes) mit ED vaskulärer Genese mit pathologischem Penis- Doppler und 73 Kontrollen (10% mit Diabetes) ohne KHK in der Anamnese und mit vergleichbaren koronaren Risikoscores untersucht (172). Patienten mit ED wiesen im Vergleich zu denen ohne ED ein signifikant erhöhtes CRP (2,62 vs. 1,03 mg/l), sowie eine signifikante Reduktion der flussabhängigen Vasodilatation der A. brachialis (2,36 vs. 3,92) auf. Die mittels Elektronenstrahl-Computertomographie quantifizierte koronare Kalzifizierung war bei Patienten mit ED gegenüber denen ohne ED signifikant häufiger nachweisbar (OR: 2,91 (1,30-6,52). Patienten mit ED wiesen ein 3,7-fach erhöhtes Risiko für einen Kalzium-Score über der 75. Percentile auf.

Die Prävalenz der koronaren Atherosklerose ist also bei Patienten mit ED vaskulärer Ursache erhöht. Diese Patienten wiesen auch eine EndD, sowie subklinische Inflammation auf. Somit könnte die ED allgemein als früher Marker

Theoretischer Hintergrund

einer generalisierten vaskulären Erkrankung aufgefasst werden. Allerdings sind diese Daten nicht direkt auf den Diabetes übertragbar, da nur ca. 12% der hier untersuchten Patienten Diabetiker waren.

Unter Berücksichtigung der neueren Literatur zur wichtigen Rolle der kardiovaskulären Risikofaktoren und Erkrankungen im Kontext der ED, sowie der Studien über die Effekte einer Lifestyle-Modifikation auf die ED, wurden kürzlich die Empfehlungen der zweiten Princeton-Konferenz über sexuelle Dysfunktion und das kardiale Risiko publiziert (173). Nach diesen Empfehlungen ist die ED ein frühes Symptom bzw. Vorbote kardiovaskulärer Erkrankungen infolge der bekannten Risikofaktoren und der ED als pathophysiologischer Komponente. Die Hauptbegleiterkrankungen umfassen Diabetes, Hypertonie, Hyperlipidämie und KHK. Jeder asymptomatische Mann mit ED, der keine offensichtliche Ursache (z.B. Trauma) zugrunde liegt, sollte hinsichtlich vaskulärer Erkrankungen gescreent werden, mit Messung des Blutzuckers, der Lipide und des Blutdrucks. Idealerweise sollte bei allen Risikopatienten ohne Symptome einer KHK ein Belastungs- EKG zur Risikostratifizierung durchgeführt werden. Die Erkenntnis der ED als Warnzeichen einer stummen vaskulären Erkrankung, hat zu dem Konzept geführt, dass ein Mann mit ED ohne kardiale Symptome solange als kardialer (oder vaskulärer) Patient anzusehen ist, bis das Gegenteil bewiesen wurde. Eine Lifestyle-Intervention bei Patienten mit ED und anderen kardiovaskulären Risikofaktoren (z.B. Adipositas) ist zu empfehlen.

J) Spontane Baroreflexsensitivität (BRS)

Durch die Einführung der Methode der Servoplethysmomanometrie zur Blutdruckmessung am Finger auf Beat-to-Beat-Basis (174), wurde das diagnostische Spektrum bei KADN erweitert. Diese als Finapres bekannte Methode ermöglicht die Messung der neuralen Modulation des Sinusknotens durch die arteriellen Barorezeptoren. Als Standardmethode ist seit längerem die Quantifizierung der BRS nach pharmakologisch induzierten Änderungen des Blutdrucks mit konsekutiven reflexbedingten Änderungen der R-R-Intervalle bekannt. In jüngerer Zeit wurde gezeigt, dass die Analyse der spontanen

Baroreflexsequenzen den pharmakologischen Methoden hinsichtlich der Aussagekraft ebenbürtig ist (175). Eine ausführliche Beschreibung der Methode erfolgt im Kapitel 3.2.3. Mehrere Untersuchungen weisen darauf hin, dass die Messung der spontanen BRS einen frühen Nachweis der KADN erlaubt (176). Weitere Studien mit Etablierung von altersabhängigen Normwerten, sowie prospektive Daten sind jedoch erforderlich, um die Validität und den prognostischen Wert der Methode bei Diabetikern abschließend zu beurteilen.

1.3 Therapeutische Rolle der PDE 5-Hemmer unter besonderer Berücksichtigung von Sildenafil

1.3.1. Wirkmechanismus und Interaktionsprofil

Unter den zur Verfügung stehenden Pharmakotherapeutika zur Behandlung der ED ist Sildenafil hinsichtlich der Wirksamkeit und Nebenwirkungen die am besten dokumentierte Substanz.

Sildenafil ist ein kompetitiver und selektiver Inhibitor der zyklischen Guanosin-Monophosphat (cGMP) Phosphodiesterase Typ 5 (PDE-5) und hemmt somit den Abbau von cGMP. Die GMP-spezifische PDE-5 kommt im Corpus cavernosum, in der glatten Gefäßwandmuskulatur und in den Thrombozyten vor. Sildenafil verstärkt die Wirkung verschiedener Faktoren, welche die Produktion von cGMP durch Aktivierung der Guanylatzyklase stimulieren. Die Relaxation des Corpus cavernosum wird über nicht-adrenerge und nicht-cholinerge Neurone gesteuert, deren Wirkung durch NO und cGMP vermittelt wird. Die häufigste im menschlichen Corpus cavernosum vorkommende PDE ist die vom Typ 5. Sildenafil bewirkt als selektiver Inhibitor der PDE-5 eine NO-vermittelte Relaxation im Corpus cavernosum und verstärkt dadurch die physiologische, durch sexuelle Reize vermittelte Erektion. Da die PDE-5 ebenfalls in den glatten Gefäßmuskelzellen des Organismus vorkommt und eine Vasodilatation vermittelt, weist Sildenafil auch systemisch gefäßaktive Wirkungen auf.

Theoretischer Hintergrund

Klinisch-pharmakologische Studien haben gezeigt, dass Sildenafil rasch absorbiert wird (C_{max} etwa 1 h im Nüchternzustand), während die Halbwertszeit bei ca. 4 Stunden liegt. Die Bioverfügbarkeit beim Menschen beträgt 41%.

PDE-5 Inhibitoren haben geringe nitrat-ähnliche hämodynamische Effekte (177) und vermindern den wedge-pressure, den pulmonalen arteriellen Druck, sowie den systolischen und diastolischen arteriellen Druck. Belastungsuntersuchungen bei Patienten mit bekannter Ischämie haben kein erhöhtes Risiko für Sildenafil, Vardenafil und Tadalafil nachweisen können (178).

Es ist bekannt, dass unterschiedliche Gewebe über eine PDE-5 verfügen und somit ist es von generalisierten hämodynamischen Effekten der PDE 5-Hemmern auszugehen. Unterschiede in der Reaktion auf Sildenafil können jedoch aus dem kardiovaskulären Status der Individuen, sowie aus der Begleitmedikation resultieren. Die Aktivität der PDE 5 kann im Rahmen eines vasokonstriktiven Prozesses bedingt durch Angiotensin II erhöht werden (z.B. bei arterieller Hypertonie bedingt hauptsächlich durch eine Erhöhung des peripheren Widerstandes der Gefäße). Deshalb kann eine PDE-5 Inhibition zusammen mit einer Therapie mit AT1-Blockern eine ausgeprägte Wirkung auf die Muskelrelaxation ausüben (177). Die Beobachtung, dass Valsartan so gut wie keine Nebenwirkungen und sogar ggf. eine positive Wirkung auf die sexuelle Funktion zeigte, verstärkt das Konzept des engen Zusammenspiels zwischen PDE 5 und Angiotensin II (179).

Interaktionsprofil von Sildenafil

Keine klinisch signifikanten Interaktionen konnten zwischen Sildenafil und Tolbutamid, Warfarin, Antacid, Aspirin oder Alkohol bei Gesunden nachgewiesen werden. Die gleichzeitige Gabe von Sildenafil und Cimetidin bzw. Erythromycin und Ritonavir verursacht jedoch eine signifikante Erhöhung des Serumspiegels von Sildenafil (Fachinformation Sildenafil).

1.3.2 Wirksamkeit und Sicherheit bei erektiler Dysfunktion (ED)

Die Inhibitoren der PDE 5 haben sich in den letzten Jahren als Therapie der Wahl

Theoretischer Hintergrund

bei der ED etabliert. Direkte Vergleichsstudien zur Wirksamkeit der drei PDE 5-Hemmer Sildenafil, Vardenafil und Tadalafil existieren nicht, so dass ein Vergleich dieser Substanzen bezüglich Wirksamkeit und Nebenwirkungen nur indirekt erfolgen kann.

Eine aktuelle Meta-Analyse verglich die publizierten Studien, bei denen die Dosis, Studiendauer, Populationen und Endpunkte vergleichbar waren (180). Die Studien mit Sildenafil waren klinisch und geographisch heterogener, während die Studien mit Tadalafil und Vardenafil häufiger ein sog. Enriched-Enrolment-Design verwendeten, d.h. Patienten, die zuvor nicht auf PDE 5-Hemmer ansprachen, wurden a priori ausgeschlossen, um die Ansprechraten zu erhöhen.

Unter Berücksichtigung von 50 randomisierten, doppelblinden Studien bei $n > 12.000$ Männern, war die Wirksamkeit der 3 Substanzen vergleichbar. Die Raten für erfolgreichen Geschlechtsverkehr mit Sildenafil, Tadalafil und Vardenafil betragen 65%, 62% und 59% im Vergleich zu Placebo mit 23-28%. Die Raten der verbesserten Erektion lagen bei 76%, 75% und 71% und unter Placebo bei 22-24%. Die Resultate bezüglich der Studienabbrüche waren heterogener und lagen für Sildenafil, Tadalafil und Vardenafil bei 8%, 13%, und 20%. Alle Substanzen wurden gut vertragen, mit nur wenigen schweren Nebenwirkungen und Kopfschmerzen als häufigster Nebenwirkung bei 13-17% der behandelten Männer.

Die Wirksamkeit und Sicherheit von Sildenafil wurde in 21 randomisierten, placebokontrollierten, klinischen Studien über Zeiträume von bis zu 6 Monaten bei über 3.000 Patienten mit ED im Alter von 19 bis 87 Jahren untersucht. In allen 21 Studien konnte für Sildenafil eine Wirksamkeit nachgewiesen werden, definiert als die Fähigkeit eine Erektion zu erlangen oder für einen Geschlechtsverkehr ausreichend aufrechtzuerhalten. Eine Verbesserung der Erektion wurde bei 62% (25 mg), 74% (50 mg) und 82% (100 mg) der Patienten im Vergleich zu 25% der mit Placebo behandelten Patienten erzielt. Bei Diabetikern lag diese Rate unter flexibler Bedarfsdosierung bei 62%. Sildenafil

Theoretischer Hintergrund

verbesserte darüber hinaus die Orgasmuszufriedenheit, Zufriedenheit beim Geschlechtsverkehr und die Gesamtzufriedenheit.

Die häufigsten therapiespezifischen Nebenwirkungen waren Kopfschmerzen, Gesichtsrötung und Dyspepsie, wobei die Beschwerden als leicht bis mäßig und vorübergehend eingestuft wurden. Die Inzidenz schwerer Nebenwirkungen bei Patienten die Sildenafil nicht häufiger als einmal pro Tag einnahmen, war gering (<2%). Ca. 5% der Studienpatienten mussten die Therapie mit Sildenafil aufgrund von Nebenwirkungen abbrechen.

Etwa 3% der Patienten die eine Dosis von 100 mg Sildenafil erhielten, klagten über vorübergehende Sehstörungen. Diese äußerten sich insbesondere als Lichtempfindlichkeit oder als blaue oder rosa Prägung der wahrgenommenen Bilder. Diese Beschwerden waren in den meisten Fällen vorübergehend und beeinträchtigten nicht die Sehschärfe.

In einer 12-wöchigen kontrollierten Multizenterstudie, wurden 219 Männer (durchschnittliches Alter: 59 Jahre) mit Typ 2 Diabetes und ED, randomisiert einer Therapie mit Sildenafil (n=110) in flexibler Dosierung (25-100 mg) oder Placebo (n=109) zugeordnet (25). Die Wirksamkeit wurde nach 12 Wochen anhand einer globalen Frage zur Wirksamkeit (GFW) evaluiert („Hat die Behandlung Ihre Erektionen verbessert?“). Die Patienten dokumentierten in einem Tagebuch, ob ein versuchter Geschlechtsverkehr erfolgreich war. Die mit Sildenafil bzw. mit Placebo behandelten Gruppen waren hinsichtlich der mittleren Diabetesdauer (9,8 vs. 9,4 Jahre) und Dauer der ED (4,6 vs. 3,7 Jahre) vergleichbar. In der mit Sildenafil bzw. Placebo behandelten Gruppen lag der Anteil der Patienten mit positiver Antwort auf die GFW bei 64,6 bzw. 10,5% ($p < 0,001$). Bei vergleichbarer Anzahl der Versuche des Geschlechtsverkehrs pro Woche, nahm die Anzahl der erfolgreichen Versuche pro Woche von 0,16 auf $1,21 \pm 0,22$ unter Sildenafil und von 0,16 auf $0,22 \pm 0,21$ unter Placebo zu ($p < 0,001$). Der Anteil der erfolgreichen Versuche des Geschlechtsverkehrs stieg von 14,4 auf 58,8% unter Sildenafil und von 13,2 auf 14,4% unter Placebo ($p < 0,001$). Als Nebenwirkungen traten gering oder mittelgradig ausgeprägte Kopfschmerzen in 20% und Gesichtsrötung in 15% der mit Sildenafil behandelten Patienten auf, von denen lediglich zwei wegen Nebenwirkungen die Studie

abgebrochen haben.

1.3.3 Effekte der PDE-5 Hemmer auf die Gefäßfunktion

Wie bereits erwähnt, konnte die PDE-5 in verschiedenen Geweben nachgewiesen werden, wie z.B. im Corpus cavernosum, glatten Gefäßmuskelzellen, Thrombozyten (61) und Lungengewebe (26). All diese Organe reagieren also spezifisch auf die Inhibition der lokalen PDE-5.

Sildenafil wird hauptsächlich in der Behandlung der erektilen Dysfunktion eingesetzt (181), obwohl auch andere Therapieansätze wie z.B. die Behandlung der sexuellen Dysfunktion der Frau, der diabetischen Gastropathie oder des Raynaud's Syndrom durchaus sinnvoll erscheinen (182). Das Präparat wurde unter dem Namen Revatio® vor kurzem für die Behandlung der pulmonalen arteriellen Hypertonie (PAH) zugelassen. Durch die Blockierung der PDE-5, kommt es in den glatten Gefäßmuskelzellen zu einem verminderten Abbau und somit zu einer Steigerung der Konzentration des cGMP. Auf diese Weise wird die NO-vermittelte Vasodilatation verstärkt (183).

Positive Effekte von Sildenafil auf die Gefäßfunktion wurden in mehreren Studien nachgewiesen. Die akute Gabe von Sildenafil führte in einer Gruppe von 48 Patienten mit Herzinsuffizienz zu einer Verbesserung der FAD (183). Es wurden drei verschiedene Dosierungen eingesetzt: 12,5 mg, 25 mg und 50 mg. Als wirksam erwiesen sich die Dosen von 25 und 50 mg, die gegenüber Placebo eine deutliche Zunahme der endothelabhängigen, flussvermittelten Vasodilatation bewirkten.

Eine weitere Studie von Halcox et al. (34), die bei Personen mit und ohne koronarer Herzerkrankung durchgeführt wurde, untersuchte die Wirkung von 100 mg Sildenafil auf die peripheren (A. brachialis) und koronaren Gefäße mit folgenden Ergebnissen:

a) Sildenafil verursachte eine Vasodilatation der epikardialen Gefäße sowie eine Verbesserung der mikrovaskulären Dilatation sowohl nach Gabe von Acetylcholin, als auch nach dem Cold-Pressure-Test (ein Test, der durch

Theoretischer Hintergrund

Sympathikusaktivierung zur koronaren Vasodilatation führt).

b) Sildenafil führte zu einer Verminderung der Plättchenaktivierung durch Potenzierung des NO-vermittelten, antithrombotischen Effektes.

c) Die Gabe von Sildenafil *führte nicht zu einer Verbesserung der FAD*, jedoch zu einem signifikant verlängerten Effekt.

Auch bei Rauchern (n=10) und Nichtrauchern (n=10) konnte die Gabe von 100 mg Sildenafil eine Verbesserung der Acetylcholin-induzierten Vasodilatation bewirken (30).

In einer kleinen Studie (33), ließ sich eine ausgeprägte Verbesserung der FAD (von 8% auf 15%) nach einer Einmalgabe von 25 mg Sildenafil sowie nach zweiwöchiger Gabe von 25mg Sildenafil/Tag bei Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus zeigen. Die Studie wurde jedoch an einer geringen Patientenzahl durchgeführt (n=14). Darüber hinaus wurde in einem Brief von Khaodhiar und Veves (184) die Kernaussage der Studie in Frage gestellt, nämlich dass Sildenafil die Endothelfunktion verbessert. Die fehlende Messung der endothelunabhängigen Dilatation nach Gabe von Glycerotrinitrat (zwar aus Sicherheitsgründen nicht durchgeführt) hatte auch das Potential der Studie Mechanismen zu erklären deutlich eingeschränkt.

Im Gegensatz zu diesen Studien konnten einige Arbeitsgruppen keine günstigen Einflüsse von Sildenafil auf die Gefäßfunktion nachweisen. In einer Studie von Dishy et al. (38) konnte keine Verbesserung der endothelabhängigen Vasodilatation nach Gabe von 50mg Sildenafil bei Rauchern dokumentiert werden.

Die Gabe von 50 mg Sildenafil bei n=11 gesunden Probanden konnte eine Erhöhung der Sensitivität gegenüber Nitroglycerin um das Vierfache erreichen, führte jedoch nicht zu einer Verbesserung der endothelabhängigen Dilatation sowohl im venösen, als auch im arteriellen Bereich (185).

Robinson (186) fand bei 16 Patienten mit KHK und 8 gesunden Probanden anhand der Messung des Blutflusses am Unterarm mittels Venenverschlussplethysmographie keine Beeinflussung der Gefäßfunktion nach intravenöser Gabe von Sildenafil.

Theoretischer Hintergrund/ Methoden

Bei Patienten mit Herzinsuffizienz führte die Gabe von Sildenafil zu einer Verbesserung der Hämodynamik und der Sauerstoffaufnahme unter Belastung (187). Dieser Effekt wurde insbesondere durch die Senkung des pulmonalen Widerstandes erklärt. Wie bereits erwähnt, ist Sildenafil zur Behandlung der pulmonalen Hypertonie bereits zugelassen (27,182).

Zusammenfassung

Insgesamt wurden die publizierten Daten bis auf die Studie von Katz et al. (183) bei einer geringen Anzahl von Probanden durchgeführt. Darüber hinaus waren die Ergebnisse uneinheitlich, manche Studien präsentierten deutliche Effekte, andere hingegen konnten keinen Effekt nachweisen. Bei Diabetikern ist die Datenlage sehr limitiert.

1.3.4 Effekte von Sildenafil auf die kardiovaskuläre autonome Funktion

Eine vieldiskutierte Studie berichtete, dass Sildenafil unter Ruhe- und Stressbedingungen eine Steigerung der sympathischen Aktivität bewirkt (188). In dieser Studie führte die Gabe von 100 mg Sildenafil bei *gesunden Probanden* zu einer signifikanten Steigerung der sympathischen Aktivität. Eine Stunde nach Einnahme der Studienmedikation, wurde eine Erhöhung sowohl der muskulären sympathischen Aktivität, als auch der Konzentration von Norepinephrin im Plasma festgestellt. Eine solche Aktivierung wurde als Erklärungsversuch für die im Zusammenhang mit der Einnahme von Sildenafil berichteten kardiovaskulären Zwischenfälle herangezogen.

Bei Patienten mit ED konnte die Gabe von 25 oder 50 mg Sildenafil eine signifikante Reduktion des mittleren Blutdrucks, begleitet von einer Erhöhung der Herzfrequenz induzieren. Weitere Parameter der autonomen Nervenfunktion wurden jedoch nicht beeinflusst (188). Inwieweit Sildenafil die kardiovaskuläre autonome Funktion bei Diabetikern modifiziert, ist nicht bekannt.

2. Fragestellung, Studiendesign und Methoden

2.1 Fragestellung

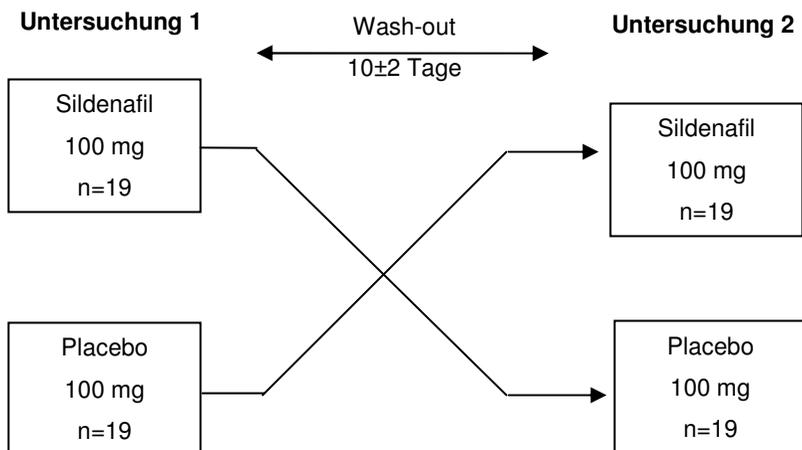
1. Als Hauptziel der Studie sollte beantwortet werden, ob die Einmalgabe von 100 mg Sildenafil p.o. im Vergleich zu Placebo bei Männern mit T2DM mit bzw. ohne ED eine akute Verbesserung der flussabhängigen Dilatation in der A. brachialis bewirkt.

2. Als zweites Ziel sollte im o.g. Kollektiv das Sicherheitsprofil von Sildenafil im Hinblick auf die kardiovaskuläre autonome Nervenfunktion untersucht werden. Dabei wurden folgende Parameter erfasst:

- Herzfrequenzvariabilität (autonome Funktionstests)
- Blutdruck und Herzfrequenz
- Orthostasetest (Blutdruckänderung nach Lagewechsel)
- Spontane Baroreflexsensitivität

2.2 Studiendesign

Es handelte sich um eine doppelblinde, randomisierte, placebokontrollierte Cross-Over-Studie (s. nachstehenden Flow-Chart).



Methoden

Nach Erhalt des positiven Ethikvotums seitens der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und der unterschriebenen Einverständniserklärung, wurden die Patienten in randomisierter Zuordnung an zwei verschiedenen Tagen nach Gabe von 100 mg Sildenafil (die Hälfte der Patienten am ersten Untersuchungstag, die andere Hälfte am zweiten Untersuchungstag) oder Placebo untersucht. Der Abstand zwischen den beiden Untersuchungstagen betrug 8-12 Tage (im Mittel 10 Tage).

2.3 Studienpopulation

Eingeschlossen wurden n=40 Männer mit Typ 2 Diabetes mellitus, von denen n=38 die Studie abgeschlossen haben. Von den 2 Drop-outs erlitt ein Patient einen Verkehrsunfall (keine Relation zur Einnahme der Studienmedikation) und ein Patient beendete die Studie ohne nähere Angaben zu den Gründen zu machen. Die demographischen Daten der Patienten zeigen die Tabellen 1 und 2.

Tabelle 1. Demographische und klinische Daten der Patienten

	Mittelwert	SEM	Minimum	Maximum
Alter (Jahre)	55,1	1,17	34	64
Diabetesdauer (Jahre)	6,4	0,8	0,10	20
Größe (cm)	177,4	1,1	163,0	190,0
Gewicht (kg)	96,9	2,7	71,0	152,0
BMI (kg/m ²)	30,8	0,8	24,3	46,6
HbA1c (%)	7,9	0,3	5,9	12,8
Herzfrequenz (Schläge/min)	67,7	1,7	48,0	87,0
RR systolisch (mmHg)	150,4	2,9	108,0	187,0
RR diastolisch (mmHg)	85,9	1,4	65,0	101,0
FMD (%) bei Studienbeginn	4,5	0,4	1,5	10,8

Tabelle 2. Weiter klinische Daten der Patienten

Parameter	n
Raucher/Nichtraucher	8/30
Periphere Neuropathie	12
Kardiale Autonome Neuropathie	6
Pathologischer Orthostasetest:	9
Erektile Dysfunktion (IIEF5 < 22),	32
Nephropathie	6
Retinopathie	5
Arterielle Hypertonie*	24
Diabetestherapie	
Diätetisch	4
Sulfonylharnstoffe	12
Biguanide (Metformin)	23
Glitazone	3
Insulin	11
Medikamentöse Therapie	
ACE-Hemmer oder AT1-Blocker	14
Calciumkanalblocker	2
β-Blocker	5
Diuretika	4
Aspirin	14
CSE-Hemmer	13

* 22 Patienten wurden medikamentös therapiert, jedoch hatten 29 Patienten systolische und diastolische Mittelwerte (3 Messungen) über 135/85 mmHg. Zwei Patienten haben die Studie abgebrochen, so dass die Parameter der autonomen Nervenfunktion bei 38 Patienten ausgewertet wurden. Wegen

Methoden

mangelhafter Bildqualität mussten weitere 3 Patienten bei der Auswertung der FAD-Daten ausgeschlossen werden, so dass diese Resultate bei 35 Patienten vorliegen.

2.4 *Ein- und Ausschlusskriterien*

2.4.1 **Einschlusskriterien**

- Typ 2 Diabetes mellitus seit mindestens 2 Jahren
- Alter 35-65 Jahre
- Nachweis einer Endotheldysfunktion ($FMD \leq 10\%$)

Rationale der Altersgrenzen: bei Patienten im Alter <35 Jahren ist die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer EndD sehr gering, bei Patienten >65 Jahren ist wiederum davon auszugehen, dass eine medikamentöse Beeinflussung der Endothelfunktion durch eine erhöhte Gefäßsklerose überdeckt werden kann.

2.4.2 **Ausschlusskriterien**

- Therapie mit Nitraten oder andere NO-Donatoren
- Normale Endothelfunktion: $FAD > 10\%$
- Fortgeschrittene kardiovaskuläre Erkrankung :
- Herzinsuffizienz NYHA-Klasse III und IV
Instabile Angina pectoris
Schwerwiegende Herzrhythmusstörungen während der letzten 6 Monate: Vorhofflimmern/ Flattern, ventrikuläre Tachykardien, AV- Blockierungen oder Patienten mit Herzschrittmacher
- Schlaganfall oder Herzinfarkt innerhalb der letzten 6 Monate
- Hämatologische Erkrankungen
- Niereninsuffizienz (Kreatininspiegel ≥ 2.2 mg/dl)
- Lebererkrankungen (Leberenzyme mehr als 2-fach oberhalb der Normgrenze erhöht)

Methoden

- ED anderer Ursache als Diabetes (Störungen der Libido, genitale anatomische Veränderungen, Erkrankungen des Rückenmarks, u.a.)
- $HbA1c \geq 12\%$
- Arterielle Hypotonie (Blutdruck in Ruhe $< 90/50$ mmHg) oder bekannte maligne Hypertonie und/oder Ruheblutdruck systolisch > 190 mmHg und/oder diastolisch > 110 mmHg
- Retinitis pigmentosa
- Teilnahme an einer anderen Studie innerhalb der letzten drei Monate

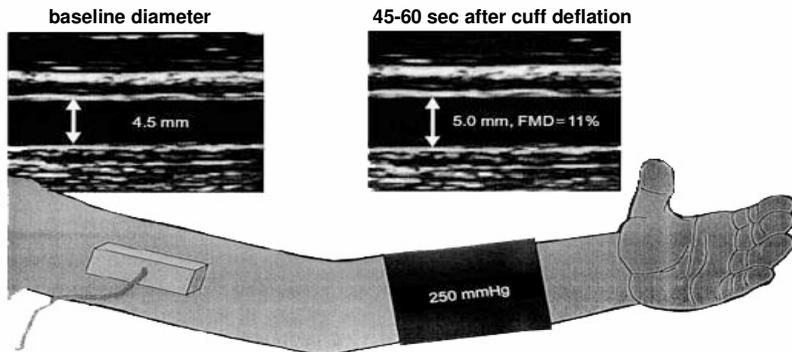
3. Methoden

3.1 Flussabhängige Dilatation

Die endothelabhängige Dilatation wurde nicht-invasiv sonographisch im Bereich der A. brachialis untersucht. Nach Aufhebung einer mittels Blutdruckmanschette erzeugten Ischämie des Unterarmes kommt es durch die reaktive Hyperämie zu einer Scherkraft-vermittelten Dilatation der vorgeschalteten Leitungsarterie, also zu einer flussabhängigen Dilatation (FAD, englischer Begriff: flow mediated dilatation FMD). Die FAD wird fast ausschließlich durch endotheliales Stickstoffsmonoxid (NO) vermittelt und gilt als nicht-invasiver, spezifischer Marker der Endothelfunktion (189). Der nach Stauung des Unterarmes in der A. brachialis erhöhte postischämische Bluteinstrom aktiviert die Glykokalix, welche an der Oberfläche der Endothelzellen lokalisiert ist (Abb.1). Auf diese Weise werden Ionenkanäle eröffnet, die einen Einstrom von Calciumionen in die Endothelzellen bewirken. Dadurch wird die Produktion von NO stimuliert und somit eine Vasodilatation ausgelöst (190).

Die Messung der FAD in der vorliegenden Studie entsprach dem von Celermajer et al. (190) beschriebenen Vorgehen (s. Abb. 3) und wurde an der A. brachialis mit einem Ultraschallgerät mit hoher Auflösung (Esaote Biomedica, Italien, AUP 5, Schallkopf 10-13 MHz) durchgeführt.

Abb. 3. Messung der flussabhängigen Dilatation der A. brachialis
Ultraschallbilder der A. brachialis, vor (links) und 45-60 Sekunden nach 4,5
minütiger Unterarmstauung (rechts).



Celermajer et al. 2000

Messprotokoll

Das Protokoll der Untersuchung setzte eine Ruhephase von mindestens 10 Minuten voraus. Der Patient lag in Rückenlage auf einer bequemen Liege bei einer Raumtemperatur von 20-21 °C in einem abgedunkelten, vom Lärm abgeschirmten Raum. Anschließend wurde der Patient an das EKG-Gerät angeschlossen und gebeten, seine rechte Hand auf einen Ständer zu legen um eine stabile Lage des Armes zu gewährleisten. Auf diese Weise ermöglicht man dem Patienten während der Untersuchung mit ausgestrecktem Arm in liegender Position zu bleiben. Gleichzeitig wird dem Untersucher ein optimaler Zugang zur rechten A. brachialis gewährleistet.

Die Messung des Durchmessers der rechten A. Brachialis (Abb. 2) erfolgte 2-10 cm oberhalb des Ellbogens, wo die Arterienstruktur am besten darzustellen ist. Eine möglichst kontinuierliche Darstellung der Intima, sowohl im proximalen, als auch im distalen Bereich wurde angestrebt. Die ausgewählte Stelle wurde mit

Methoden

einem Stift an der Hautoberfläche markiert, so dass alle weiteren Messungen möglichst am selben Messort erfolgen konnten.

Die erste Messung mit digitalisierter Aufzeichnung wurde nach einer Ruhephase von 10 min durchgeführt (R). Anschließend wurde der rechte Unterarm des Patienten mit einer Blutdruckmanschette für 4,5 Minuten bei einem Druck von 250 mmHg (suprasystolisch) gestaut. 45-60 Sek. nach Aufhebung der Stauung (S-1) wurde die zweite digitalisierte Aufnahme des B-Bildes gestartet und die Messung der Flussgeschwindigkeit durchgeführt. Innerhalb von 45-60 Sek. erreicht die postokklusive Dilatation der A. brachialis ihr Maximum (191).

Alle Untersuchungen wurden von einem Untersucher (Alin Stirban) durchgeführt. Während eines Untersuchungsgangs wurden alle Einstellungen des Ultraschallgerätes nicht mehr geändert.

Um die Reproduzierbarkeit der Daten mit akzeptabler Interobserver- Variabilität sicherzustellen, wurden alle Auswertungen der B-Bild- Aufnahmen zu einem späteren Zeitpunkt durch einen weiteren Untersucher vorgenommen (Denise Sander). Beide Untersucher waren in Bezug auf die Zuordnung des Patienten und der Aufnahmen verblindet.

Die Messung des Arterienradius erfolgte nach der von Wendelhag et al. (192) vorgeschlagenen Methode, die sieben Arterienstrukturen erfasst: *proximal*: 1. Adventitia, 2. Media, 3. Intima; 4. arterielles Lumen; *distal* : 5. Intima, 6. Media, 7. Adventitia. Der Durchmesser der Arterie wird als Distanz zwischen der proximalen Media-Intima-Grenze und der distalen Lumen-Intima-Linie definiert (s. auch Abb. 1).

Um die Schwankungen des Arterienradius während des Herzzyklus zu standardisieren, wurden die Messungen enddiastolisch durchgeführt. Auf der EKG-getriggerten Aufnahme bedeutet dies eine Synchronisierung des gemessenen Bildes mit der R-Zacke des EKGs. Um die atmungsabhängigen Variationen des Schlagvolumens des Herzens auszugleichen, erfolgten die

Methoden

Messungen jeder Phase über drei Herzzyklen, wobei bei jedem Herzzyklus 3 Messungen an verschiedenen Stellen durchgeführt wurden. Ein Mittelwert aller während einer Phase bestimmten Werte (9 Werte) wurde berechnet und als Arterien­durchmesser definiert.

Die FAD (d.h. die *endothelabhängige Dilatation* des Gefäßes) wurde als die maximale Erweiterung des Arterien­diameters 1 min nach Stauung (S-1) definiert und als prozentuale Änderung im Vergleich zum Wert der Ruhephase (R) berechnet (190).

3.2. *Kardiovaskuläre autonome Nervenfunktion*

Die autonome Nervenfunktion wurde durch kardiovaskuläre autonome Funktionstests erfasst, die auf der Messung der Herzfrequenzvariabilität (Kapitel 3.2.1), der Blutdruckregulation (Kapitel 3.2.2), sowie der Baroreflexsensitivität (Kapitel 3.2.3) beruhen.

3.2.1. *Kardiovaskuläre autonome Funktionstests*

Computergestützte Testbatterie (NeuroDiag II)

Die nachstehenden Parameter der Herzfrequenzvariabilität (heart rate variability: HRV) wurden mit Hilfe des computergestützten Neurodiag II-Systems (Dr. Vetter GmbH, Baden-Baden) gemessen.

Die EKG-Signale wurden mit einer Abtastfrequenz von 1 kHz und einer Auflösung von 10 Bit digitalisiert. Dieses Verfahren erfüllt hinreichend alle Anforderungen einer zuverlässigen Messung der R-R-Intervalle (193). Zur unmittelbaren visuellen Kontrolle der Aufzeichnungsqualität wurden die Signale kontinuierlich auf dem Computerbildschirm dargestellt. Eine einfache Schwelle oder Erkennung einer Zacke stellte sich als ungeeignet heraus, um den QRS-Komplex zuverlässig zu identifizieren. Dies betrifft insbesondere EKG-Aufzeichnungen beim Lagewechsel vom Liegen zum Stehen, die durch Artefakte oder hohe Amplituden der T-Welle überlagert sein können. Daher wurde ein

Methoden

schneller maschinenkodierter Algorithmus entwickelt, der die typische Form des QRS-Komplexes anhand der folgenden Parameter zur Charakterisierung des zeitlichen Verlaufs des Signals erkennt: Steilheit des aufsteigenden und absteigenden Schenkels, Anstiegszeit und Amplitude. Die optimale Einstellung dieser Parameter wird während einer Lernphase aus dem individuellen EKG berechnet und während der Messung kontinuierlich an die Änderungen der EKG-Kurve, wie sie z.B. unter tiefer Respiration auftreten, angepasst. Zur Überwachung der Zuverlässigkeit dieses Identifizierungsmodus werden die als QRS-Komplexe erkannten Zacken am Bildschirm gekennzeichnet. Die R-R-Intervalle wurden mit einer Genauigkeit von ± 1 ms gemessen (128).

HRV unter Ruhebedingungen: Nach einer Ruheperiode von 5 min wurde die HRV im Liegen unter normaler Atmung über jeweils 5 min gemessen. Aus 150 artefaktfreien R-R-Intervallen wurde die **Herzfrequenz**, der **Variationskoeffizient (VK)** der R-R-Intervalle und die Wurzel der mittleren quadrierten aufeinanderfolgenden Differenzen (**root mean squared successive difference = RMSSD**) zwischen benachbarten R-R-Intervallen berechnet.

Aus der während der 5-minütigen Messung aufgezeichneten Sequenz der R-R-Intervalle wurde mit Hilfe des von Berger et al. (194) vorgeschlagenen Algorithmus ein durch die mathematische Bearbeitungsfunktion gefiltertes Tachogramm-Signal (momentane Herzschlagrate versus Zeit) berechnet. Dieses Signal wurde mit einer Sammelfrequenz von 4 Hz aufgezeichnet. Dabei entstanden 8 Datensätze mit jeweils 256 Messpunkten, die sich in jeweils 128 Messpunkten überlappen. Daraus resultieren insgesamt 1152 Messpunkte. Bei einer Sammelfrequenz von 4 Hz ergibt sich daraus ein Beobachtungszeitraum von 288 Sekunden. Diese Datensätze wurden dem Hanning ($=\cos^2$) Fenster zugeführt und mit Hilfe der Spektralanalyse unter Verwendung der Fast Fourier Transformation analysiert. Aus dem resultierenden Power-Spektrum (Hz^2) mit der Auflösung von $1/64$ Hz wurden Integrale innerhalb der 3 Frequenzbänder berechnet:

Sehr niedriges Frequenzband (VLF: very low frequency):	0,003-0,04 Hz
Niederfrequenzband (LF: low frequency):	0,04-0,15 Hz

Methoden

Hochfrequenzband (**HF: high frequency**): 0,15-0,4 Hz

Das VLF-Band wird überwiegend sympathisch moduliert, während das HF-Band überwiegend parasympathischer Modulation unterliegt. Als Parameter der sympathovagalen Balance wurde der LF/HF-Quotient berechnet (195).

HRV unter tiefer Respiration: Der liegende Proband wurde instruiert, bei einer Atemfrequenz von 6 Zügen/min zu atmen. Bei dieser Frequenz wurde die maximale HRV bei gesunden Personen beobachtet (196). Die Dauer der Inspirations- bzw. Expirationsintervalle beträgt 6 bzw. 4 sec. Dieser Atemrhythmus wird vom Rechner durch eine am Bildschirm abgebildete Aufwärtsbewegung während der Inspiration und eine Abwärtsbewegung während der Expiration vorgegeben. Aus 100 artefaktfreien R-R-Intervallen wurde die **Herzfrequenz**, der **Variationskoeffizient (VK_R)** und die **root mean squared successive difference ($RMSSD_R$)** berechnet. In dem Atemzyklus mit der maximalen HRV wurde das längste R-R-Intervall während der Expiration (RRmax) und das kürzeste R-R-Intervall während der Inspiration (RRmin) ermittelt und die Differenz R-Rmax – R-Rmin (**E-I-Differenz**) sowie der Quotient R-Rmax/R-Rmin (**E/I-Quotient**) berechnet.

Der Mean Circular Resultant (MCR) wurde nach der von Weinberg und Pfeifer (197) beschriebenen Methode der Vektoranalyse bestimmt. Dabei werden die einzelnen Herzschläge (R-Zacken) als Ereignis über einer Zeitachse abgetragen, wobei der Abstand von Messpunkt zu Messpunkt dem R-R-Intervall entspricht. Ist nun, wie im Testablauf, der die HRV beeinflussende Atemzyklus fest vorgegeben, so kann die Betrachtung der R-Zacken über der Zeit mit Beginn eines neuen Atemzyklus immer wieder vom gleichen Punkt der Zeitachse starten, die dann auch graphisch als Umlauf auf einem Einheitskreis dargestellt werden kann, wobei eine Umdrehung der Länge eines Atemzyklus entspricht. Zur Bestimmung des MCR wurden pro Patient 8-10 Atemzyklen subsummiert und die resultierende Verteilung der R-Zacken nach der Vektoranalyse ausgewertet. Durch Summierung der Einzelvektoren wurde der Hauptvektor (MCR) berechnet (138).

Methoden

Max./Min. 30:15-Quotient: Während der EKG-Aufzeichnung wurde der ruhig liegende Untersuchte aufgefordert, sich zu erheben und sich neben die Untersuchungsfläche zu stellen. Im Augenblick des aktiven Aufstehens betätigte der Untersucher eine Taste, um den Test zu starten.

An einem zuvor untersuchten Kollektiv von 168 gesunden Personen im Alter von 5-88 Jahren konnte unter Verwendung des Neurocard-Analyser II (Argustron, Mettmann) gezeigt werden, dass das kürzeste R-R-Intervall um den 15. Herzschlag nach dem Aufstehen innerhalb der Schläge 6-24 verteilt ist, während das Auftreten des längsten R-R-Intervalls um den 30. Schlag innerhalb der Schläge 21-39 zu erwarten ist. In unserer Studie wurde daher der Max/Min. 30:15-Quotient berechnet, der als das längste R-R-Intervall zwischen Schlag 20-40, geteilt durch das kürzeste R-R-Intervall zwischen Schlag 5-25 nach dem Aufstehen definiert ist (138).

Jeder Test wurde erst dann gestartet, wenn die Herzfrequenz ein steady state erreicht hatte. Dies wurde anhand eines kontinuierlich in Echtzeit auf dem Bildschirm gezeigten Diagramms der aktuellen Herzfrequenz vs. Zeit beurteilt

3.2.2 Orthostase-Test:

Die Blutdruckreaktion nach aktivem Aufstehen wurde mit dem automatischen Blutdruckmessgerät Dinamap 1846 SX (Critikon, Norderstedt) gemessen. Der Messbereich des Gerätes liegt bei 30-245 mm Hg für den systolischen und bei 10-210 mm Hg für den diastolischen Blutdruck. Die Blutdruckmessung im Rahmen des Orthostase-Tests erfolgte dreimal über 1 min im Liegen und sechsmal über 2 min im Stehen. Die systolische und diastolische Blutdruckänderung wurde als die Differenz zwischen dem letzten Wert vor dem Aufstehen und dem niedrigsten Wert danach definiert. Ein abnormer Orthostasetest wurde als systolischer Blutdruckabfall um >27 mmHg nach dem Aufstehen definiert (128).

3.2.3. Spontane Baroreflexsensitivität

Der Blutdruck wurde nach einer Ruhephase von mindestens 10 min im Liegen kontinuierlich über 10 Minuten mit einem Finapres 2300-Monitor und einer 2300 Fingermanschette (Ohmeda, Englewood, CO, USA) am Mittelfinger der linken Hand gemessen. Der Blutdruck (BP) wurde mit Hilfe einer 200 Hz Fina-Pres 1.3 Software digitalisiert (ADS Software, Universität Leipzig). Die Puls-Intervalle (PI) wurden von den BP-Aufzeichnungen abgeleitet und als Surrogate für die **RR-Intervalle (R-Ri)** benutzt (157). Der systolische Blutdruck (**SAP: systolic arterial pressure**) und PI wurden für jeden Zyklus berechnet. Die Einheiten für SBP und PI sind mmHg² bzw. ms². Die Niederfrequenzkomponente (**LF: low frequency**) wurde durch das Integrieren von Werten aufeinanderfolgender Bandbreiten (0,049-0,137 Hz des SBP oder PI Spektrums) gewonnen, um den 10 Sekunden-Rhythmus (0,1 Hz) mit einzuschließen. Die Hochfrequenzkomponente (**HF: high frequency**) des SBP und PI wurde bei 0,2–0,5 Hz mit einer Bandbreite von 0,068 Hz definiert (176).

Cross-Spektralanalyse

Um die Korrelation zwischen den SBP- und PI-Oszillationen zu ermitteln, wurde eine Analyse mittels Transfer-Funktion durchgeführt (198-200). Dieses Verfahren erlaubt die Bestimmung der Kohärenz und des "Gain" im jeweiligen Frequenzbereich (z.B. **Gain LF und Gain HF**). Die Kohärenzfunktion (**Coh**) quantifiziert das Ausmaß der linearen Kopplung zwischen zwei Zeitreihen bei vorgegebener Frequenz und nimmt Werte zwischen 0 und 1 an. Die Gain-Funktion ist als Quotient zwischen dem Powerspektrum des PI und des SBD definiert und wird in msec/mmHg ausgedrückt. Die Kohärenz und der Gain wurden im LF- und HF-Bereich analysiert (176).

Sequenz-Methode

Die Sequenzmethode zur Berechnung der BRS wurde erstmalig von Bertinieri et al. (201) bei der Katze und später von Parati et al. (202) beim Menschen beschrieben. Dieses Verfahren erkennt „spontane“ Sequenzen von drei oder

Methoden

mehr nacheinander folgenden Herzschlägen, die einen progressiven Anstieg des SAP und eine Verlängerung des PI (Typ 1-Sequenzen) oder eine progressive Senkung des SAP und eine Verkürzung des PI (Typ 2-Sequenzen) zur Folge haben. Für jede Sequenz wurde der lineare Korrelationskoeffizient zwischen PI und SAP berechnet und die Sequenz validiert, wenn $r > 0,85$. Darüber hinaus wurde der Prozentsatz (**Percent of beats**) der an solchen BRS-Sequenzen beteiligten Herzschläge berechnet.

3.3 *International Index of Erectile Function-5 (IIEF-5)*

Die Klassifikation hinsichtlich des Vorliegens einer ED erfolgte anhand des IIEF-5 und der Definition der National Institute of Health (NIH) Consensus Development Conference (32). Der IIEF-5 erfasst die fünf wichtigsten Aspekte der männlichen Sexualfunktion: 1. erektile Funktion, 2. Orgasmusfähigkeit, 3. Libido, 4. Zufriedenheit mit dem Geschlechtsverkehr und 5. allgemeine Zufriedenheit (167). Jede der fünf Antworten wird mit einer Punktzahl zwischen 0 und 5 bewertet.

Die NIH Consensus Development Conference definierte die ED als „Unfähigkeit, eine Erektion zu erlangen und/oder aufrechtzuerhalten, die für einen befriedigenden Geschlechtsverkehr ausreichend ist“. Eine ED wurde bei Verneinung der Frage „Sind Sie in der Lage, eine Erektion zu erlangen und/oder aufrechtzuerhalten, die für einen befriedigenden Geschlechtsverkehr ausreichend ist?“ und gleichzeitiger Punktzahl < 22 im IIEF-5 angenommen (167).

3.4. Laborparameter und Methoden

Folgende Laborwerte wurden gemessen: Blutglukose (20µl Blut aus der Fingerkuppe mittels Hexokinase-Methode; Gluco-quant; Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland), HbA1c (High Performance Liquid Chromatography - DIAMAT, BioRad, München, Deutschland), LDL-, HDL-, Gesamtcholesterin, Triglyzeride (spektrophotometrische Methode, Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Deutschland), Kreatinin (Colorimetric-Assay, Diagnostic Kit, Sigma, St. Louis, MO, USA). Die Messungen erfolgten im Institut für Klinische Biochemie und Pathobiochemie des Deutschen Diabetes-Zentrums Düsseldorf.

3.5. Studienprotokoll

Die Untersuchungen erfolgten an drei verschiedenen Tagen, wobei der Abstand zwischen den Untersuchungen nicht länger als 12 Tage betragen durfte (mittlere Abstand zwischen den Untersuchungen betrug 10 Tage). Der erste Tag bestand aus einer Screeninguntersuchung, bei der alle Ein- und Ausschlusskriterien geprüft wurden. Sofern die Aufnahmekriterien in die Studie erfüllt waren, wurde ein Termin für die erste Untersuchung vereinbart. In randomisierter Reihenfolge wurde an einem Tag Sildenafil (100 mg p.o.) und am anderen Tag Placebo verabreicht.

Screeninguntersuchung:

Mindestens 24 Stunden vor der Untersuchung fand eine Aufklärung der Patienten statt, denen der Aufklärungsbogen und die Einverständniserklärung ausgehändigt wurden. Die Patienten wurden ausdrücklich gebeten, mindestens vier Stunden vor der Untersuchung nicht zu Rauchen und keinen Kaffee oder schwarzen Tee zu trinken und sich keiner größeren körperlichen Belastung auszusetzen. Am Tag der Untersuchung wurden die folgenden vasoaktiven Medikamente abgesetzt: ACE-Hemmer, AT-1 Rezeptorenblocker, Ca-Kanalblocker, Aspirin und Vitamine. Die Behandlung des Diabetes wurde wie üblich fortgeführt.

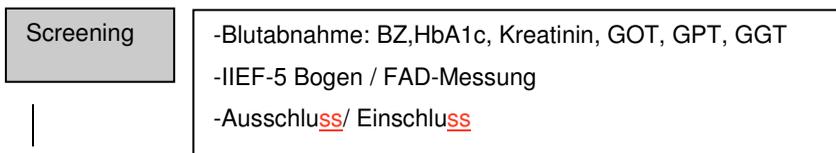
Methoden

Vor der ersten Untersuchung wurde eine Blutprobe zur Bestimmung der o.g. Laborparameter entnommen. Anschließend erfolgte die Messung der FAD. Waren die Einschlusskriterien erfüllt, wurden die Patienten zu den zwei weiteren Untersuchungen eingeladen.

1. Untersuchung: Die Untersuchung erfolgte im Nüchternzustand und begann zwischen 7:00-7:30 Uhr. Zunächst erfolgte eine Messung des kapillären Blutzuckers gefolgt von einer venösen Blutabnahme. Nach einer zehnminütigen Ruheperiode im Liegen wurde die FAD gemessen (Prä-Sildenafil/Placebo-Messung). Anschließend wurde nach erneuter Ruhephase von 10 min im Liegen, die kardiovaskuläre autonome Nervenfunktion mit Hilfe des Neurodiag II-Systems und die Baroreflexsensitivität am Mittelfinger unter Verwendung des Finapres-Systems untersucht. Der Orthostasetest wurde im Anschluss durchgeführt. Danach wurde dem Patienten die Studienmedikation verabreicht und nach 1 h die FAD erneut gemessen (Post-Sildenafil/Placebo-Messung), sowie die weiteren Tests in identischer Reihenfolge durchgeführt.

Die 2. Untersuchung durfte nicht in einem längeren Abstand als 12 Tage nach der ersten stattfinden. Die Reihenfolge aller durchgeführten Untersuchungen war mit derjenigen des ersten Termins identisch.

Schematische Darstellung der Untersuchungsabläufe:



Methoden

1. Untersuchung

- Blutabnahme: HDL-, LDL-, Gesamtcholesterin, Triglyzeride, Blutglukose
- FAD-Messung
- Neurodiag / Finapres / Orthostase
- Einnahme der Studienmedikation (Z=0 Min)
- 60 Min Pause
- Blutentnahme: Blutglukose
- FAD
- Neurodiag / Finapres / Orthostase

Durchschnittlicher Zeitabstand 10 Tage (Intervall 8-12 Tage)

2. Untersuchung

- Blutabnahme: HDL-, LDL-, Gesamtcholesterin, Triglyzeride, Blutglukose
- FAD-Messung
- Neurodiag / Finapres / Orthostase
- Einnahme der Studienmedikation (Z=0 Min)
- 60 Min Pause
- Blutentnahme: Blutglukose
- FAD
- Neurodiag / Finapres / Orthostase

3.6. *Ethische Aspekte*

Vor der Teilnahme an der Studie wurde im Einklang mit der aktuellen 'Declaration of Helsinki', der 'ICH guideline for Good Clinical Practice' und dem deutschen Arzneimittelgesetz (AMG) § 40, 41 nach ausführlicher Aufklärung ein schriftliches

Methoden

Einverständnis durch den Patienten datiert und unterschrieben. Die Teilnehmer konnten sich aus der Studie jederzeit zurückziehen, ohne ihre Entscheidung begründen zu müssen, was auf diese Weise in 1 Fall geschah (der zweite Patient der aus der Studie ausgeschieden ist hatte einen Verkehrsunfall).

Die Studie wurde nach den Grundsätzen für die ordnungsgemäße Durchführung der klinischen Prüfung von Arzneimitteln (Bundesanzeiger Nr. 243 vom 30.12.1987), den Bestimmungen des deutschen Arzneimittelgesetzes (AMG 1976, zuletzt geändert 1998) und den Arzneimittelprüfrichtlinien (1999) durchgeführt. Eine Genehmigung der Ethikkommission der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf zur Durchführung der Studie wurde erteilt, eine Probandenversicherung wurde abgeschlossen.

Die Entblindung der Studie fand nach endgültiger Auswertung statt und wurde in Anwesenheit einer an der Studie nicht beteiligten Person durchgeführt (Karsten Jungheim, Herz- und Diabeteszentrum NRW, Georgstr. 11, 32545 Bad Oeynhausen).

4. Statistische Analysen

Als Hauptzielkriterium der Studie wurde die Wirkung von Sildenafil auf die Endothelfunktion untersucht. Das Maß hierfür war die Änderung der FAD eine Stunde nach der Einnahme von Sildenafil oder Placebo gegenüber dem Ausgangswert. Für die Variable FAD wurde eine Normalverteilung angenommen.

Die Studie wurde als Cross-Over-Studie (203,204) mit einem Stichprobenumfang von insgesamt n=40 Probanden geplant, wobei die ursprünglich geplante Stratifizierung der Studie in zwei Gruppen von Diabetikern mit bzw. ohne ED nicht eingehalten werden konnte, da die Anzahl der Patienten ohne ED zu gering war, um eine statistische Auswertung zu ermöglichen (n=6). Die Fallzahlkalkulation beruhte auf bereits publizierten Daten (205), eine Mindestanzahl von 30 Probanden war ausreichend mit einer Power von 90% ein Effekt von 25% des Ausgangswertes (FAD) unter der Studienmedikation als signifikant zu erkennen.

Die Randomisierung erfolgte in 4er Blöcken innerhalb der Subgruppen. In jedem

Methoden

4er Block erhielten jeweils 2 Probanden zuerst Placebo, dann Verum, die anderen 2 in der umgekehrten Reihenfolge. Drop-Outs wurden nicht nachrekrutiert. Es wurde eine Drop-Out-Rate von 10% angenommen (2 Drop-Outs pro Gruppe), die tatsächliche Rate lag bei 5%.

Die Auswertung erfolgte auf der Grundlage folgender multipler Entscheidungsprozeduren: Zugrunde lag in jeder der beiden Gruppen ein multiples lineares Modell zur Schätzung des Behandlungseffektes bei Blockbildung nach Probanden und Adjustierung nach dem Periodeneffekt (74). Überhangseffekte wurden nicht angenommen, da die Halbwertszeit der Wirksubstanz nur 4h beträgt. Die intraindividuelle Varianz σ^2 wurde in beiden Gruppen als gleich angenommen. Die Nullhypothese besagte, dass Sildenafil keinen Einfluss auf die FAD hat.

Ein zweiseitiger analysis of variance (ANOVA) – Test wurde durchgeführt um die Variabilität der Parameter als Funktion der Zeit und der Therapie zu testen (4 Faktoren). War der Test signifikant, wurden die Absolutwerte für Verum und Placebo anhand eines gepaarten zweiseitigen t-Tests analysiert. Hierbei wurden die arithmetischen Differenzen nach-vor der Einnahme der jeweiligen Medikation für jeden einzelnen Parameter an den zwei Untersuchungstagen verglichen. Das Signifikanzniveau wurde einheitlich bei $\alpha=0.05$ festgelegt. Alle Korrelationsanalysen wurden auf zweiseitigem Niveau getestet (Pearsons' correlation coefficient). Die Werte wurden als Mittelwert \pm SEM (standard error of the mean) dargestellt.

5. Ergebnisse:

5.1 Flussabhängige Dilatation (FAD)

Die Auswertung der FAD-Daten erfolgte bei n= 35 Patienten. Die Ergebnisse sind in Tab. 3 als Mittelwert \pm SEM, sowie in der Abb. 4 dargestellt:

Tabelle 3. FAD und FAD-Änderung an den zwei Untersuchungstagen.

FAD vor Sildenafil	FAD nach Sildenafil	FAD vor Placebo	FAD nach Placebo
4,13 \pm 0,28%	3,67 \pm 0,29%	4,08 \pm 0,31%	4,42 \pm 0,31%
FAD Veränderung Sildenafil		FAD Veränderung Placebo	
-0,46 \pm 0,23%		+0,34 \pm 0,34%	

Nach Gabe von 100 mg Sildenafil wurde eine numerische Abnahme der FAD bei grenzwertiger Signifikanz festgestellt ($p=0,052$), während nach Gabe von Placebo die FAD numerisch, jedoch nicht signifikant anstieg ($p=0,329$). Der Vergleich der mittleren Änderungen der FAD um -0,46% nach Sildenafil und +0,34% nach Placebo war statistisch nicht signifikant ($p=0,064$).

Ergebnisse

Abb. 4. Einzel- und Mittelwerte der FAD

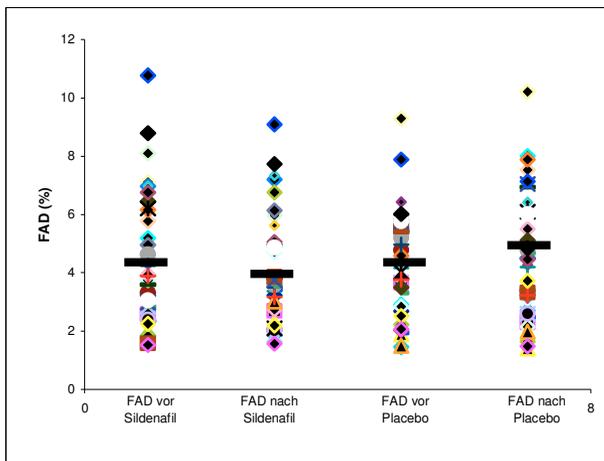


Tabelle 4 Der Berechnung der FAD zugrunde liegende Arterien Durchmesser

* $p < 0,05$ vs. Placebo

Diam. vor Sildenafil (mm)		Diam. nach Sildenafil (mm)		Diam. vor Placebo (mm)		Diam. nach Placebo (mm)	
Ruhe	Stauung	Ruhe	Stauung	Ruhe	Stauung	Ruhe	Stauung
4,22±0,1	4,39±0,1	4,26±0,1	4,41±0,1	4,24±0,1	4,41±0,1	4,21±0,1	4,39±0,1
Differenz Ruhe-Stauung							
0,19 mm		0,15mm		0,17mm		18mm*	

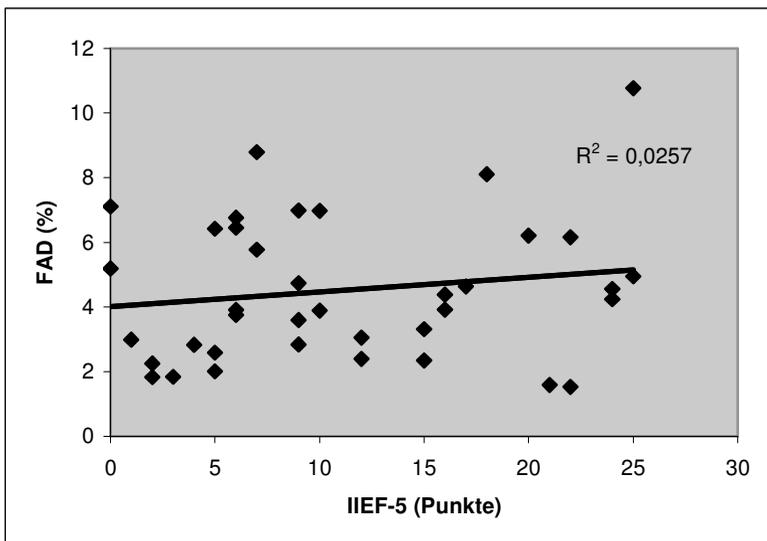
Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Absolutwerten der Ruhedurchmesser vor und nach Gabe von Placebo ($p=0,126$) bzw. Sildenafil ($p=0,064$). Die Änderung des Ruhedurchmessers der A. brachialis vor und nach Sildenafil ($+0,04 \pm 0,02$ mm) war jedoch im Vergleich mit der Änderung des Ruhedurchmessers vor und nach Placebo ($-0,03 \pm 0,02$ mm) statistisch signifikant ($p=0,037$). Sildenafil verursachte also eine signifikante Vasodilatation unter

Ergebnisse

Ruhebedingungen (vor Stauung).

Unter den klinischen Parametern wurde eine signifikante, inverse Korrelation zwischen FAD und dem BMI festgestellt: $r=-0,35$, $p=0,037$. Eine inverse Korrelation wurde auch zwischen dem Schweregrad der erektilen Dysfunktion (erfasst anhand des IIEF-5) und der Änderung der FAD nach Gabe von Sildenafil festgestellt ($r=-0,37$, $p=0,029$). Dies legt nahe, dass Patienten mit einer ausgeprägten ED einen geringeren Anstieg der FAD nach Gabe von Sildenafil aufwiesen als Patienten mit einer leichten ED. Ein direkter Vergleich zwischen dem Schweregrad der ED (IIEF-5) und FAD ergab keine signifikante Korrelation (Abb. 5).

Abb. 5. Beziehung zwischen IIEF-5 und FAD



5.2 **Autonome Nervenfunktion:**

5.2.1 **Placebo**

Tabelle 5. Parameter der autonomen Nervenfunktion unter Placebo

Parameter		Vor Placebo		Nach Placebo		p-Wert
		Mittelw.	SEM	Mittelw.	SEM	
R U H E	Herzfrequenz (S/min)	68,66	1,73	66,24	1,58	0,000
	Variationskoeffizient	3,84	0,30	4,32	0,36	0,022
	RMSSD (ms)	22,96	2,81	25,93	3,13	0,299
	VLF-Band (ms ²)	1113,09	298,54	923,09	115,48	0,415
	LF-Band (ms ²)	746,09	179,45	905,84	307,90	0,380
	HF-Band (ms ²)	296,63	111,29	241,19	89,86	0,821
	LF/HF-Quotient	6,84	1,00	6,57	1,00	0,760
R E S P I R.	Variationskoeff. (%)	5,69	0,53	6,97	0,74	0,003
	RMSSD (ms)	37,57	5,41	46,69	8,85	0,110
	E-I-Differenz (ms)	222,91	27,44	252,09	29,70	0,271
	E/I-Quotient	1,29	0,04	1,32	0,04	0,607
Orthostase	Max/Min 30:15-Quot.	1,37	0,05	1,41	0,06	0,294
Valsalva	Valsalva-Quotient	1,36	0,04	1,41	0,05	0,294

Ergebnisse

Nach der Gabe von Placebo ergaben sich folgende signifikante Veränderungen:

- eine Senkung der Herzfrequenz (HF)
- eine Erhöhung des Variationskoeffizienten in Ruhe
- eine Erhöhung des Variationskoeffizienten unter tiefer Respiration

5.2.2 Sildenafil

Tabelle 6. Parameter der autonomen Nervenfunktion unter Sildenafil

Parameter		Vor Sildenafil		Nach Sildenafil		p- Wert
		Mittelwert	SEM	Mittelwert	SEM	
R U H E	Herzfrequenz (S/min)	68,98	1,74	70,95	1,84	0,007
	Variationskoeffizient	3,71	0,24	3,77	0,28	0,817
	RMSSD (ms)	20,50	2,47	20,65	2,58	0,943
	VLF-Band (ms ²)	1018,46	134,11	1077,57	149,85	0,685
	LF-Band (ms ²)	535,49	85,07	721,20	127,97	0,096
	HF-Band (ms ²)	190,74	55,54	264,29	89,57	0,214
	LF/HF-Quotient	7,57	1,20	8,04	1,23	0,641
R E S P I R	Variationskoeff. (%)	6,47	0,67	6,21	0,68	0,424
	RMSSD (ms)	37,03	4,86	37,20	5,44	0,957
	E-I-Differenz (ms)	227,70	25,33	239,67	26,66	0,606
	E/I-Quotient	1,28	0,03	1,32	0,04	0,330
Orthostase	Max/Min 30:15-Quot.	1,37	0,05	1,38	0,06	0,702
Valsalva	Valsalva-Quotient	1,37	0,04	1,38	0,05	0,702

Nach Gabe von Sildenafil wurde eine signifikante Erhöhung der Herzfrequenz festgestellt. Alle weiteren Parameter blieben unverändert.

5.2.3. Vergleich der Änderungen der autonomen Funktion unter Sildenafil vs. Placebo

Tabelle 7. Veränderung der Parameter der autonomen Nervenfunktion

Parameter		Differenz vor-nach Placebo		Differenz vor-nach Sildenafil		p- Wert
		Mittelwert	SEM	Mittelwert	SEM	
R U H E	Herzfrequenz (S/min)	-2,42	0,59	1,98	0,69	p<0,001
	Variationskoeffizient	0,49	0,20	0,05	0,22	0,130
	RMSSD (ms)	2,97	2,82	0,15	2,10	0,408
	VLf-Band (ms ²)	-190,00	230,00	59,63	151,94	0,392
	LF-Band (ms ²)	159,75	179,34	220,16	114,81	0,771
	HF-Band (ms ²)	-28,44	124,67	79,94	63,44	0,403
	LF/HF-Quotient	0,27	0,89	-0,84	0,93	0,468
R E S P I R.	Variationskoeffizient (%)	1,16	0,40	-0,27	0,33	0,015
	RMSSD (ms)	4,80	3,60	0,17	3,16	0,382
	E-I-Differenz (ms)	26,88	27,34	12,00	22,98	0,689
	E/I-Quotient	0,02	0,05	0,04	0,04	0,769
Modif. Ewing-Test	Max/Min 30:15-Quot.	0,038	0,043	0,005	0,036	0,506,
Valsalva	Valsalva-Quotient	0,038	0,043	0,005	0,035	0,506

Die Veränderung folgender Parameter nach Sildenafilgabe verglichen mit dem

Ergebnisse

Verhalten nach Placebo war signifikant:

- Erhöhung der Herzfrequenz
- Abnahme des Variationskoeffizienten unter tiefer Atmung

5.3 Orthostasetest

Verglichen wurden die Werte:

- im Liegen vor und nach Gabe der Studienmedikation
- im Stehen vor und nach Gabe der Studienmedikation
- der Blutdruckänderung nach dem Aufstehen vor und nach Gabe der Studienmedikation

Die Ergebnisse sind als Mittelwert \pm SEM dargestellt (Tab. 8)

5.3.1 Placebo

Tabelle 8. *Veränderung des Blutdrucks unter Placebo*

Parameter	Vor Placebo		Nach Placebo		p-Wert
	Mittelw.	SEM	Mittelw.	SEM	
Liegen systolisch (mmHg)	149,76	2,84	150,30	2,77	0,754
Liegen diastolisch (mmHg)	85,65	1,25	86,54	1,10	0,350
Stehen systolisch (mmHg)	129,76	3,39	130,70	3,02	0,649
Stehen diastolisch (mmHg)	77,08	1,51	78,84	1,32	0,088
RR-Abfall systolisch (mmHg)	-20,00	1,95	-19,59	1,45	0,814
RR-Abfall diastolisch (mmHg)	-8,57	0,96	-7,70	0,89	0,469

RR-Abfall= Differenz des Blutdrucks im Liegen und im Stehen

Ergebnisse

Unter Gabe von Placebo wurden keine signifikanten Änderungen der Blutdruckparameter nachgewiesen. Das Blutdruckverhalten im Orthostatetest blieb ebenfalls unverändert.

5.3.2 Sildenafil

Tabelle 9. *Veränderung des Blutdrucks unter Sildenafil*

Parameter	Vor Sildenafil		Nach Sildenafil		p- Wert
	Mittelw.	SEM	Mittelw.	SEM	
Liegen systolisch (mmHg)	147,97	2,89	142,58	2,84	0,006
Liegen diastolisch (mmHg)	85,84	1,17	81,38	1,29	0,001
Stehen systolisch (mmHg)	128,73	3,53	121,32	3,35	0,003
Stehen diastolisch (mmHg)	77,46	1,53	71,81	1,73	<0,001
RR-Abfall systolisch (mmHg)	-19,24	2,33	-21,24	2,27	0,361
RR-Abfall diastolisch (mmHg)	-8,38	1,41	-9,57	1,36	0,510

RR-Abfall= Differenz des Blutdrucks im Liegen und im Stehen

Nach Gabe von 100 mg Sildenafil wurde ein signifikanter Abfall des systolischen und diastolischen Blutdrucks beobachtet (jeweils $p < 0,05$). Die Blutdruckregulation während des Orthostatetests blieb jedoch unverändert.

5.3.2 Vergleich der Blutdrucks: Sildenafil vs. Placebo

Tabelle 10. *Veränderungen des Blutdrucks (Placebo vs. Sildenafil)*

Parameter	Veränderung Placebo		Veränderung Sildenafil		p- Wert
	Mittelw.	SEM	Mittelw.	SEM	
Liegen systolisch (mmHg)	0,54	1,71	-5,41	1,87	0,008
Liegen diastolisch (mmHg)	0,89	0,94	-4,46	1,13	0,002
Stehen systolisch (mmHg)	0,94	2,06	-7,41	2,35	0,007
Stehen diastolisch (mmHg)	1,76	1,00	-5,65	1,45	<0,001
RR-Abfall systolisch (mmHg)	0,41	1,71	-2,00	2,16	0,328
RR-Abfall diastolisch (mmHg)	0,86	1,18	-1,19	1,79	0,365

Im Vergleich zu Placebo führte die Gabe von 100 mg Sildenafil zu einem signifikanten systolischen und diastolischen Blutdruckabfall. Die Blutdruckregulation während des Orthostasetests wurde jedoch durch Sildenafil nicht beeinflusst.

5.4 **Baroreflexsensitivität**

Verglichen wurden:

- die Werte im Liegen vor und nach Gabe der Studienmedikation
- die Werte im Stehen vor und nach Gabe der Studienmedikation

Die Werte werden als Mittelwert \pm SEM des Mittelwertes dargestellt.

Ergebnisse

5.4.1 Placebo

Tabelle 11. Veränderung der Parameter der Baroreflexsensitivität unter Placebo

Parameter	Vor Placebo				Nach Placebo			
	Liegen		Stehen		Liegen		Stehen	
	Mittelw	SEM	Mittelw	SEM	Mittelw	SEM	Mittelw	SEM
SAP mean(mmHg)	113,7	3,9	131,3	3,9	117,3	3,6	136,0	3,3
R-Ri mean (msec)	918,1	29,2	753,1	22,3	924,0	27,1	769,6	19,8
SAP LF (mmHg ²)	13,8	3,7	24,0	4,5	15,6	3,2	20,2	2,3
SAP HF (mmHg ²)	3,5	0,7	4,9	0,6	3,6	0,7	4,2	0,6
R-R LF (msec ²)	447,1	97,1	347,0	73,6	583,2	164,7	276,3	41,7
R-R HF (msec ²)	187,2	32,4	68,7	11,3	284,7	71,3	59,8	8,0
SAP LF/HF	5,8	1,7	6,0	0,9	5,8	1,1	6,2	0,8
R-R LF/HF	3,1	0,5	5,7	1,0	2,9	0,6	5,2	0,7
Coh LF	0,4	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0
Gain LF (msec/mmHg)	4,5	0,4	3,1	0,3	4,7	0,4	2,8	0,2
Coh HF	0,4	0,0	0,4	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0
Gain HF (msec/mmHg)	5,2	0,6	2,5	0,3	6,1	0,6	2,5	0,2
Percent of beats	17,8	1,9	23,5	2,1	20,8*	2,5	23,0	2,1
Mean slope (msec/mmHg)	7,6	0,6	4,7	0,3	8,9	0,6	4,7	0,3

* p < 0,05 vs. vor Placebo

Nach Placebo kam es zu keiner signifikanten Änderung der Parameter.

Ergebnisse

5.4.2 Sildenafil

Tabelle 12. Veränderung der Parameter der Baroreflexsensitivität unter Sildenafil

Parameter	Vor Sildenafil				Nach Sildenafil			
	Liegen		Stehen		Liegen		Stehen	
	Mittelw	SEM	Mittelw	SEM	Mittelw	SEM	Mittelw	SEM
SAP mean (mmHg)	122,0	3,5	141,4	3,9	113,9**	3,3	131,6**	3,9
R-Ri mean (msec)	933,3	25,3	765,7	20,9	900,1**	24,5	743,9	17,3
SAP LF (mmHg ²)	11,9	1,9	21,0	3,6	13,7	2,2	22,3	3,4
SAP HF (mmHg ²)	3,2	0,6	4,6	0,5	3,3	0,5	4,4	0,5
R-R LF (msec ²)	425,2	75,9	332,9	61,0	502,8	109,7	284,1	54,6
R-R HF (msec ²)	229,1	44,5	65,6	10,4	239,6	55,4	52,0	8,4
SAP LF/HF	5,4	0,8	6,2	1,3	6,2	1,2	8,2	1,7
R-R LF/HF	3,0	0,6	5,9	1,0	3,1	0,5	6,3	1,0
Coh LF	0,4	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0
Gain LF (msec/mmHg)	5,0	0,4	2,8	0,2	4,8	0,4	2,7	0,3
Coh HF	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,4	0,0
Gain HF (msec/mmHg)	5,8	0,6	2,6	0,3	5,4	0,6	2,4	0,3
Percent of beats	17,1	2,1	24,5	2,2	20,3	2,6	24,4	2,1
Mean slope (msec/mmHg)	8,4	0,7	5,0	0,3	8,3	0,6	4,8	0,3

** p < 0,01 vs. vor Sildenafil, * p < 0,05 vs. vor Sildenafil, § p = 0,06 vs. vor

Sildenafil.

Nach Sildenafil kam es zu einer Senkung des SAP mean sowohl im Liegen als auch im Stehen im Sinne eines systolischen Blutdruckabfalls. Der R-Ri mean sank nach Sildenafil im Sinne einer Zunahme der Herzfrequenz.

Ergebnisse

5.4.3. Vergleich der Baroreflexsensitivität unter Sildenafil vs. Placebo

Tabelle 13. Veränderung der Parameter der Baroreflexsensitivität: Sildenafil vs. Placebo

Parameter	Placebo				Sildenafil			
	Liegen: vor-nach		Stehen: vor-nach		Liegen: vor-nach		Stehen: vor-nach	
	Mittelw	SEM	Mittelw	SEM	Mittelw	SEM	Mittelw	SEM
SAP mean(mmHg)	-3,6	3,7	-4,2	3,4	8,6**	2,1	10,8**	2,8
R-Ri mean (ms)	-2,6	13,7	-15,4	16,5	43,6**	10,3	23,2**	15,2
SAP LF (mmHg ²)	-1,7	2,4	3,9	4,1	-1,7	1,6	-0,8	2,9
SAP HF (mmHg ²)	-0,09	0,41	0,70	0,79	-0,06	0,43	0,38	0,37
R-R LF (msec ²)	-131,3	149,8	67,3	56,0	-56,5	94,7	50,7	56,9
R-R HF (ms ²)	-97,4	61,8	8,5	9,9	-5,4	48,6	13,9	9,5
SAP LF/HF	0,04	0,99	-0,23	0,72	-0,68	0,89	-2,11	1,59
R-R LF/HF	0,11	0,47	0,45	0,79	-0,10	0,36	-0,33	0,91
Coh LF	-0,064	0,028	-0,016	0,025	-0,019	0,029	0,006	0,032
Gain LF (ms/mmHg)	-0,15	0,44	0,21	0,28	0,40*	0,45	0,10	0,23
Coh HF	-0,083	0,037	-0,003	0,028	0,003	0,027	0,030	0,032
Gain HF (msec/mmHg)	-0,92	0,60	-0,05	0,23	0,59	0,65	0,17	0,25
Percent of beats(%)	-2,93	1,38	0,08	1,43	-3,12	1,33	0,12	1,4
Mean slope (ms/mmHg)	-1,36	0,53	0,00	0,23	0,12*	0,63	0,11	0,30

** p < 0,01 vs. Placebo; * p < 0,05 vs. Placebo

Vergleicht man die Veränderung der Parameter unter Placebo und unter

Ergebnisse

Sildenafil, so kann man feststellen, dass Sildenafil eine Verminderung folgender Parameter hervorgerufen hat:

- des SAP mean (Blutdrucksenkung) und R-Ri mean (Frequenzzunahme) im Liegen und im Stehen ($p < 0,01$)
- des Gain HF sowie des „mean slope“ ($p < 0,05$) im Liegen.

5.8 Korrelation zwischen Blutdruckverhalten und Parametern der sympathischen Aktivität

Eine Analyse zwischen 1.) den Parametern der BRS (SAP mean, R-Ri mean), 2.) der Blutdruckmessung an der A. brachialis (systolisch und diastolisch im Liegen und im Stehen) und 3. dem Neurodiag (Herzfrequenz) ergab keine signifikanten Korrelationen.

5.9. Blutglukose:

Tabelle 14. Veränderung der Blutglukose an den zwei Untersuchungstagen

Placebo		Sildenafil	
Glukose vor (mg/dl)	Glukose nach (mg/dl)	Glukose vor (mg/dl)	Glukose nach (mg/dl)
144,0±8,0	129,3±6,6*	147,8±8,7	142,2±8,3 [‡]
Differenz	-14,7	Differenz	-5,6

* $p < 0,05$ vs. vor Studienmedikationeinnahme

[‡] $p < 0,05$ vs. Placebo

Nach Placebo kam es zu einer signifikanten Senkung der Blutglukose ($p < 0,05$), nach Gabe von Sildenafil blieb dieser Parameter jedoch unverändert. Vergleicht man die Blutglukoseänderungen nach Gabe von Sildenafil und Placebo, so ergibt sich ein signifikant stärkerer Abfall unter Placebo ($p = 0,04$).

Diskussion

Signifikante Korrelationen zwischen FAD und Blutglukose wurden zu keinem Zeitpunkt der Studie beobachtet. Auch die Änderungen der FAD vor und nach der Gabe der Studienmedikation korrelierten nicht mit den Änderungen der Blutglukose.

6. Diskussion der Daten

6.1 Flussabhängige Dilatation (FAD)

Die Resultate dieser placebo-kontrollierten Cross-Over-Studie legen nahe, dass die Einmalgabe von 100 mg Sildenafil bei Männern mit Typ 2 Diabetes mit bzw. ohne ED zu keiner Verbesserung der an der A. brachialis untersuchten Gefäßfunktion führt. Nach Gabe von Placebo kam es zu einem nicht signifikanten Anstieg der FAD von 4,08% auf 4,42%. Die Gabe von Sildenafil führte zu einer nicht-signifikanten Verminderung der FAD von 4,13 auf 3,67%. Dieser Abfall war im Vergleich zur FAD- Zunahme nach Placebo ebenfalls nicht signifikant.

Obwohl keine statistisch signifikanten Unterschiede in der FAD zwischen Placebo und Sildenafil bestanden, sollte der numerische Anstieg bzw. Abfall der FMD unter Placebo bzw. Sildenafil unter Berücksichtigung der entsprechenden Arterien Durchmesser betrachtet werden. Ein Vergleich des basalen Arterien Durchmessers (in Ruhe vor der Stauung) vor und 1 h nach Sildenafilgabe zeigte eine grenzwertig signifikante Vasodilatation ($p=0,064$). Eine Stunde nach Gabe von Placebo wurde eine numerische Verringerung des Arterien Durchmessers von $4,24\pm 0,9$ $4,21\pm 0,8$ mm beobachtet, die keine statistische Signifikanz erreichte ($p=0,126$). Vergleicht man jedoch die Vergrößerung des Arterien Durchmessers (in Ruhe, vor der Stauung) vor und nach Gabe von Sildenafil mit der Verringerung des Arterien Durchmessers vor und nach Gabe von Placebo, ist ein statistisch signifikanter Unterschied festzustellen ($p<0,05$). Die Gabe von 100 mg Sildenafil verursachte also im Vergleich zu Placebo eine signifikante Vasodilatation.

Nehmen wir das Beispiel der FAD vor und nach Sildenafilgabe (Abb 6), so berechnet sich diese wie folgt: die FAD vor Sildenafilgabe ergibt sich aus der

Diskussion

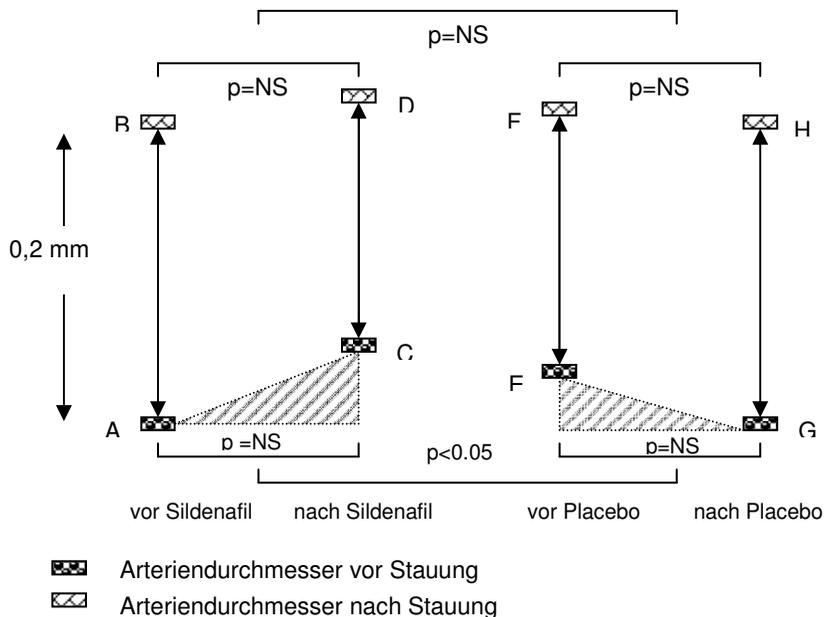
prozentualen Differenz des Arterien­durchmessers vor der Stauung (A) und nach der Stauung (B). Die FAD nach Sildenafilgabe stellt die prozentuale Differenz zwischen dem Arterien­durchmesser vor der zweiten (C) und nach der zweiten Stauung (D) dar. Abb. 6 zeigt, dass zu jedem der vier Zeitpunkte der maximale Arterien­durchmesser nach Stauung vergleichbar ist (vor Sildenafil, nach Sildenafil, vor Placebo und nach Placebo waren die entsprechenden Werte: 4,39; 4,41; 4,41 und 4,39 mm; $p = \text{NS}$ (nicht signifikant)). Wir nehmen an, dass ein „Maximum“ der Vasodilatationskapazität somit jedes Mal erreicht wurde. Der Ruhedurchmesser nach Sildenafil war jedoch größer als der Ruhedurchmesser nach Placebo (4,26 bzw. 4,21 mm). Somit muss die Hypothese aufgestellt werden, dass die FAD nach Sildenafil einen „ungünstigeren“ Ausgangswert (bei größerem Durchmesser) aufwies und dann bei konstant bleibender postischämischen Vasodilatation (die bereits vor Sildenafil ein Maximum erreicht hatte und durch Sildenafil nicht weiter stimuliert wurde) einen niedrigeren Wert der FAD ergab. Es ist bekannt, dass ein größerer Ausgangsdiameter mit einer geringeren postokklusiven Dilatation einhergeht (206).

Die Reproduzierbarkeit der Basalwerte der FAD an beiden Untersuchungstagen war sehr gut (vor Sildenafil: $4,13 \pm 0,28\%$), vor Placebo: $4,08 \pm 0,31\%$). Somit befinden sich unsere Daten auch im Hinblick auf die intraindividuelle Reproduzierbarkeit des Wertes in dem in der Literatur beschriebenen Bereich (207).

Diskussion

Abb. 6. Arteridurchmesser zu den unterschiedlichen Zeitpunkten der Untersuchung

Diskussion



Zusammenfassend war die Änderung der FAD nach Sildenafil im Vergleich zu Placebo nicht signifikant. Daher schlussfolgern wir, dass Sildenafil bei Patienten mit Typ 2 DM die FAD akut nicht verbessert. Unsere Daten sind in Übereinstimmung mit verschiedenen Studien, die ebenfalls keine positive Wirkung von Sildenafil auf die Gefäßfunktion feststellen konnten (Tab. 15).

Diskussion

Tabelle 15. Studien, die keinen Einfluss der Therapie mit Sildenafil auf die Gefäßfunktion zeigen konnten

Autor (Referenz)	Patienten	Dosis	Methode	Messort
Robinson (186)	16 mit KHK 8 Gesunde	i.v. equivalent zu 100mg oral/ Placebo	Venöse Verschluss- plethysmographie	Unterarm
Dishy (185)	13 Gesunde	50 mg/Placebo oral	1.(FAD) Ultraschall 2.reaktive Hyperämie Plethysmographie	A brachialis Unterarm
Dishy (38)	9 Raucher	50 mg oral	1.(FAD) Ultraschall 2.reaktive Hyperämie Plethysmographie	A brachialis Unterarm
Dietz (37)	21 Diabetiker +ED	50 mg	koronare Flussreserve (transthorak. Doppler)	Koronarien

Keine dieser Studien ist jedoch mit unserer Studie direkt vergleichbar, da entweder das Patientenkollektiv, die Untersuchungsmethode oder die Sildenafildosis unterschiedlich waren.

Jedoch stehen unsere Daten im Gegensatz zu Studien, die einen positiven Effekt von Sildenafil auf die Gefäßfunktion zeigen konnten (Tabelle 16).

Diskussion

Tabelle 16. Studien, die einen positiven Einfluss der Therapie mit Sildenafil auf die Gefäßfunktion zeigen konnten

Autor (Referenz)	Patienten	Dosis	Methode	Messort
Vlachopoulos (208)	14 gesunde Raucher	50mg/Placebo oral	FAD - Ultraschall	A. brachialis
Hryniewicz (31)	64 Pat. mit Herzinsuffizienz	50 mg oral	FAD - Ultraschall	A. brachialis
Kimura (30)	10 Raucher 10 Nichtraucher	100 mg / Placebo oral	Plethysmographie nach Acetylcholin	Unterarm
Gori (209)	10 gesunde Probanden	50 mg / Placebo	FAD – Ultraschall nach Ischämie	A. radialis
Katz (183)	48 Pat. mit Herzinsuffizienz	12,5/25/50mg/ Placebo- oral	FAD - Ultraschall	A. brachialis
Desouza (33)	16 Patienten mit T2DM	25 mg/Placebo, oral	FAD - Ultraschall	A. brachialis

Jedoch wurden in diesen Studien entweder nicht ausschließlich Patienten mit Diabetes mellitus untersucht (34,35,210-216) oder es handelte sich nicht um Placebo-kontrollierte Studien (210,211,217).

Unter allen Studien in Tab. 16 ist unsere Studie somit lediglich mit der von Desouza et al. (33) im Hinblick auf das Patientenkollektiv und die Untersuchungsmethode vergleichbar, jedoch nicht hinsichtlich der Dosis von Sildenafil, die in jener Studie geringer war. Unsere Daten kontrastieren mit der dort festgestellten massiven Verbesserung der flussabhängigen Dilatation von 8% auf 15% nach Gabe von 25 mg Sildenafil. Diese Diskrepanz ist schwierig zu erklären. Desouza et al. stellten keine Vasodilatation nach Sildenafil fest, was möglicherweise auf die viermal niedrigere Dosis von Sildenafil zurückzuführen ist. Somit wies die FAD nach Sildenafilgabe dort möglicherweise einen „günstigeren“ Ausgangswert als in unserer Studie. Dennoch ist die Verdoppelung der FAD in jener Studie von dem Hintergrund unserer Befunde nicht hinreichend nachvollziehbar.

Diskussion

In Zusammenhang mit der oben genannten Studie sind bereits Kritikpunkte geäußert worden (184). So wurde gerade die Kernaussage der Studie – nämlich dass Sildenafil die Endothelfunktion verbessert – in Frage gestellt. Die FAD ist von vier Faktoren abhängig: 1.) von der NO-Produktion durch die Endothelzellen, 2.) von der Bioverfügbarkeit des NOs, was auch davon abhängt wie viel NO (z.B. durch Sauerstoffradikale oder AGE) inaktiviert wird 3.) von der Empfindlichkeit der glatten Gefäßmuskelzellen NO gegenüber und 4.) von der Elastizität des Gefäßes. Die letzteren werden üblicherweise durch eine exogene Gabe von Glyceroltrinitrat und Messung der Gefäßreaktivität (endothelunabhängige Dilatation) untersucht. Lediglich der erste Faktor kann als endothelabhängig bezeichnet werden, während die Faktoren 3 und 4 die klassischen nicht-endothelabhängigen darstellen. Wenn eine Verbesserung der FAD festzustellen ist, kann dies von der Änderung eines oder mehrerer der o.g. 4 Parameter abhängen. Stellt man eine Verbesserung der FAD fest, ohne zumindest die endothelunabhängige Dilatation gemessen zu haben (wie z.B. in dieser Studie, da die gleichzeitige Gabe eines Nitrats und Sildenafil kontraindiziert ist) lässt sich nicht behaupten, dass eine Verbesserung der Endothelfunktion zustande gekommen ist, da nicht bekannt ist, ob die Mechanismen unter 2 und 3 auch ins Gewicht fallen.

Darüber hinaus liegt ein Ausgangswert für die FAD von 8% - wie in der Studie von Desouza – deutlich über dem Durchschnitt der in der Literatur bei Typ 2 Diabetikern publizierten Daten (<6,5%) (84,218,219), so dass man in jener Studie von einer relativ „gefäßgesunden“ Gruppe von Diabetikern ausgehen muss.

Wie bereits erwähnt, hat die Gabe von 100 mg Sildenafil in unserer Studie zu einer deutlichen Vasodilatation bereits vor der Stauung geführt, so dass potentiell „ungünstigere“ Ausgangsbedingungen für die FAD vorlagen. Dieser Effekt wurde in der Studie von Desouza bei einer deutlich geringeren Sildenafil-Dosis (25 mg) nicht festgestellt. Es ist also denkbar, dass die Gabe der Sildenafil-Maximaldosis teilweise die positiven Effekte durch eine ausgeprägte Vasodilatation maskiert.

Diskussion

Wir konnten in unserer Studie keine signifikante Korrelation zwischen der FAD und der Nüchtern-Blutglukose ($r=-0,21$, $p=0,9$) nachweisen. Auch konnte keine Korrelation zwischen der Änderung der FAD und der Änderung der Blutglukose nach Sildenafil oder nach Placebo dokumentiert werden. Es gibt jedoch Daten, die einen Zusammenhang sowohl der Absolutwerte als auch der Änderungen des Blutzuckers der FAD nahelegen (16,220,221). In diesen Studien wurde jedoch gezielt eine ausgeprägte Hyperglykämie induziert und hierunter eine große Auslenkung der FAD gesehen. Die Blutzuckeränderungen während unserer Studie waren hingegen eher zufällig und gering.

Eine Verbesserung der FAD bei Abfall der Nüchtern-Blutglukose wurde jedoch nach unserem Kenntnisstand nicht beschrieben. Aus unbekanntem Gründen beobachteten wir einen Abfall der Nüchtern-Blutglukose nach Placebogabe, jedoch nicht nach Sildenafil. Obwohl der Abfall von 14,7 mg/dl Blutglukose unter Placebo relativ gering war, ist nicht gänzlich auszuschließen, dass er sich positiv auf die FAD ausgewirkt hat. Dennoch erscheint uns ein Einfluss der Glukose auf die FAD als wenig wahrscheinlich, da sich die FAD unter Placebo nur nicht-signifikant verbessert hat und unter Sildenafil der Blutzucker nahezu unverändert blieb.

Insgesamt ist die Aussage unserer Studie, nämlich dass eine Einmalgabe von Sildenafil die Gefäßfunktion bei Männern mit Diabetes mellitus nicht verbessert nicht überraschend, da diese Patientengruppe im Vergleich zur ED anderer Ätiologie weniger auf die Therapie mit PDE-5 Hemmer anspricht (70). Eine mögliche Erklärung ist die ausgeprägte Gefäßdysfunktion, die unter einer Einmalgabe von Sildenafil nicht reversibel ist. Andererseits unterliegt die Ansprechbarkeit auf PDE 5-Hemmer großen individuellen Schwankungen, welche eine Prädiktion hinsichtlich Responder oder Non-Responder erschweren. Der Schweregrad der Beeinträchtigung der FAD war in einer diesbezüglichen Studie für die Ansprechraten unter Sildenafil nicht prädiktiv (222). Es konnte auch gezeigt werden, dass es zwischen der FAD und der Dilatation des Corpus cavernosum keine Korrelation gibt (223). Dies bestätigt nochmals, dass auch

Diskussion

wenn ähnliche Zelllinien (z.B. Endothelzellen) und Mechanismen (z.B. PDE-5-vermittelt) der Vasoregulation in verschiedenen Organen wirksam sind, Besonderheiten in unterschiedlichen Organen zu erwarten sind.

Wie bereits erwähnt, spiegelt die Messung der FAD nicht nur die Endothelfunktion wider, sondern auch die Bioverfügbarkeit und Wirkung des NO. Obwohl ursprünglich davon ausgegangen wurde, dass Sildenafil lediglich die Wirkung von NO verstärkt (184), wurden in der letzten Zeit mehrere Studien publiziert, die positive Einflüsse der PDE 5-Hemmer auf die Endothelfunktion nachweisen konnten. Als Zielparameter wurden die Anzahl der endothelialen Progenitorzellen (z.B. nach Vardenafil (224,225) oder Tadalafil (35)), die Nitrit/Nitrat Konzentration (34) oder Endothelin-1 (34,226) eingesetzt.

Unserer Meinung nach ist die Messung der FAD nicht die empfindlichste Methode, um die Wirkung der PDE 5-Inhibitoren auf die Endothelfunktion zu erfassen. Insbesondere wenn man höhere Dosen der Substanz untersucht, ist die daraus resultierende Vasodilatation ein Störfaktor, der die Messung des Effektes beeinträchtigen kann. Darüber hinaus ist möglich, dass eine Einzelgabe nicht genügt, um eine stark beeinträchtigte Gefäßfunktion auch nur kurzfristig wiederherzustellen und dass eine längerfristige Therapie mit einem PDE 5-Hemmer notwendig ist, um dieses Ziel zu erreichen (34,35,227,228).

Es wird spekuliert, dass eine Dauertherapie der ED mit PDE-5 Hemmern die Endotheldysfunktion dauerhaft verbessern und damit die ED „heilen“ könnte (34). Obwohl die vorliegende Studie nur die Einmalgabe untersuchte, sprechen unsere Daten zumindest bei Typ 2 DM dagegen. Darüber hinaus wurden in einer kürzlich publizierten Übersichtsarbeit zwar die zahlreichen positiven Daten hervorgehoben, jedoch auch klargestellt, dass es z.Zt. keine Daten gibt, die belegen, dass eine langfristige Therapie mit PDE 5-Hemmern eine dauerhafte Verbesserung der Endothelfunktion bewirkt (229). Als potenzielle Pharmakotherapie der Endotheldysfunktion, befindet sich diese Substanzklasse im Wettstreit mit anderen Substanzen wie z.B. Folsäure (65), Benfotiamin (84),

Diskussion

Vitamin C (230), Tetrahydrobiopterin (231), Statinen (16), ACE-Hemmern oder AT 1-Blockern (232).

6.2 Effekte von Sildenafil auf den Blutdruck

In der untersuchten Patientengruppe von Diabetikern mit einem im Mittel unzureichend eingestellten Blutdruck (148/86 mmHg), führte Sildenafil im Vergleich zu Placebo zu einem signifikanten Abfall des systolischen und diastolischen Blutdrucks, sowohl im Liegen (systolisch/diastolisch: -5,4/-4,5 mmHg) als auch im Stehen (systolisch/diastolisch: -7,4/-5,7 mmHg) (s. Kapitel 5.3). Sildenafil besitzt einen schwachen vasodilatierenden Effekt, der zur Abnahme des arteriellen Widerstands und Zunahme der venösen Compliance führt. Die Wirkung kommt wahrscheinlich über eine Verstärkung des NO-cGMP-Mechanismus zustande. Eine Präferenz für das venöse System verstärkt die Gemeinsamkeiten mit den organischen Nitraten, die ebenfalls über den cGMP-Mechanismus ihre Wirkung entfalten (177). Die maximale blutdrucksenkende Wirkung von Sildenafil ist offenbar mit einer Dosis von 50 mg bereits erreicht, eine weitere Steigerung der Dosis bewirkt nur eine geringe zusätzliche Abnahme (37).

Unsere Daten sind in Übereinstimmung mit den in Tab. 17 genannten Studien zu sehen, die eine Senkung des Blutdrucks festgestellt haben. Andererseits widersprechen sie den wenigen Studien, die keine solchen Effekte dokumentiert haben (Tabelle 18).

Diskussion

Tabelle 17. Studien, die eine Senkung des Blutdrucks nach Gabe von Sildenafil zeigen konnten

Autor (Referenz)	Patienten	Dosis	RR Senkung
Webb (233)	Gesunde	100 mg oral	10 mmHg
Zusman (234)	608 Patienten mit ED	25-200 mg oral	Syst.: -3,6 Diast.: -1,9 mmHg
Pomara (235)	35 Patienten mit ED	50 mg oral	Syst.: -5,1 diast. -4,4 mmHg
Dietz (37)	12 Patienten mit DM und ED	50 mg oral	systolisch: -10 mmHg
Herrmann (236)	14 Patienten mit KHK	100 mg oral	Syst.: -9,5 diast.: -4,5 mmHg;
Halcox (32)	24 Pat. mit KHK 12 Gesunde	100 mg oral.	Mittl. RR (mmHg) -10 KHK -4 Gesunde
Mahmud (237)	8 Patienten mit a. Hypertonie	50 mg oral	Syst.: -9 mmHg
Agelink (188)	21 Pat. mit ED	25/50 mg oral	Syst.: -11,4 mmHg

Tabelle 18. Studien, die keine Senkung des Blutdrucks nach Gabe von Sildenafil zeigen konnten

Autor (Referenz)	Patienten	Dosis
Schalcher (238)	40 Gesunde	50 mg (RR stieg sogar an)
Kimura (30)	10 Nichtraucher 10 Raucher	100 mg oral
Dishy (38, 185)	Raucher/Nichtraucher	50 mg

Unsere Daten belegen, dass Sildenafil bei Männern mit Typ 2 Diabetes eine signifikante, jedoch nicht ausgeprägte Senkung des Blutdrucks verursacht. Trotz der Blutdrucksenkung unter Ruhebedingungen war die orthostatische Blutdruckregulation nach aktivem Aufstehen durch Gabe von Sildenafil nicht beeinflusst. Unsere Daten stimmen diesbezüglich mit denen von Agelink et al. Überein (188).

Obwohl frühere Studien nach Gabe von PD-5 Hemmer eine Senkung des systolischen und diastolischen Blutdrucks (4,234,238,239) oder eine Erhöhung der Herzfrequenz gezeigt haben (240), wurden diese entweder bei Nichtdiabetikern (238,241) oder an heterogenen Populationen (234,235,239) durchgeführt, wiesen kein doppelblinded, Placebo-kontrolliertes Studiendesign auf (210,238,240,241) oder benutzten eine niedrigere Sildenafilosis (238). Unseres Wissens ist diese Studie die einzige, die in einem doppelblinden, randomisierten, Placebo-kontrollierten, Cross-Over-Design das Blutdruckverhalten nach Gabe der Maximaldosis von Sildenafil (100 mg) bei Männern mit Diabetes untersucht hat.

6.3 Herzfrequenz

Nach Gabe von Sildenafil konnten wir eine statistisch signifikante, jedoch relativ geringe Zunahme der Herzfrequenz feststellen (Erhöhung um 2,9% von 69 auf 71 Schläge/Minute). Dieser Effekt ist im Einklang mit den publizierten Daten bei Nicht-Diabetikern (240).

6.4. Funktionstest des autonomen Nervensystems

6.4.1 Kardiovaskuläre autonome Nervenfunktion

Tabelle 18. Studien zum Effekt von Sildenafil auf die kardiovaskuläre autonome Funktion.

Autor (Referenz)	Patienten	Dosis	Methode	Ergebnis
Piccirillo. (240)	10 Gesunde 10 Pat. mit dilatativer Kardiomyopathie	50 mg oral	HRV Finapress Atemfrequenz	↓ high frequency ↑ low frequency ↑ LF/HF
Phillips (242)	14 Gesunde	100 mg/ Placebo oral	Blutdruck, HR. Gefäßwiderstand Katecholamine sympath. Muskelaktivität	Steigerung der Sympathikusaktivität in Ruhe und beim Stress
Angelink (188)	21 Pat. mit ED (4 Diabetiker)	25 und 50 mg oral	HRV Orthostase	Kein Einfluss

Systematische Untersuchungen zum Effekt von Sildenafil auf die kardiovaskuläre autonome Funktion einschließlich BRS bei Diabetikern liegen nicht vor. Auch die bei Nichtdiabetikern publizierten Studien weisen heterogene Resultate auf und sind nur begrenzt vergleichbar.

Unter den autonomen Funktionstests zeigte sich ein Anstieg des VK und der RMSSD unter tiefer Respiration nach Gabe von Placebo, jedoch nicht nach Gabe von Sildenafil. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte in der natürlichen zirkadianen Rhythmik der sympathischen und parasympathischen Aktivität im Laufe des Vormittags liegen, mit Abnahme der am frühen Morgen erhöhten

Diskussion

Sympathikusaktivität und Zunahme der vagalen Aktivität (243,244). Diese Tendenz zur Zunahme der vagalen Aktivität am Vormittag könnte durch den von Sildenafil bewirkten Blutdruckabfall und Zunahme der Herzfrequenz maskiert worden sein. Gegen diese Interpretation spricht allerdings die Tatsache, dass mehrere Parameter der parasympathischen Aktivität wie HF-Power-Spektrum, E/I-Quotient oder Max/Min 30:15-Quotient unter Placebo unverändert blieben. Mit Sicherheit ließ sich jedoch eine Steigerung der sympathischen Aktivität unter Sildenafil ausschließen, da kein Effekt auf die entsprechenden Parameter wie LF- und VLF-Power-Spektrum, LF/HF-Quotient und Valsalva-Quotient zu beobachten war.

6.4.2 Baroreflexsensitivität (BRS)

Im Bereich der barorezeptorenvermittelten Regulation zeigte sich unter Placebo ebenfalls eine Tendenz zur Zunahme der vagal modulierten Parameter wie Gain HF und Mean slope im Liegen. Im Stehen waren diese Veränderungen nicht statistisch signifikant, da sich hier offenbar die physiologische Verminderung der parasympathischen Aktivität auswirkt. Jedoch ergab die Messung der BRS ebenfalls keine Hinweise für eine Sympathikusaktivierung nach Sildenafilgabe.

Wie bereits erwähnt, wurde kürzlich von der Arbeitsgruppe um Phillips berichtet, dass Sildenafil unter Ruhe- und Stressbedingungen eine Steigerung der sympathischen Aktivität bewirkt (242). Dem erhöhten Sympathikotonus wird ein erhöhtes arrhythmogenes Potential zugeschrieben (132). Eine solche Aktivierung des Sympathikus wurde als Erklärungsversuch für die im Zusammenhang mit der Einnahme von Sildenafil berichteten kardiovaskulären Zwischenfälle herangezogen.

Wir konnten jedoch auch bei maximal dosierter Einmalgabe von Sildenafil keine Zunahme des Sympathikotonus nachweisen. Der Unterschied zu der Studie von Phillips besteht in den unterschiedlichen Studiengruppen: gesunde Probanden dort und Patienten mit Diabetes mellitus in unserer Studie. Die diskrepanten Ergebnisse führen wir u.a. auf eine unterschiedliche Regulationsempfindlichkeit des autonomen Nervensystems in den zwei Patientengruppen zurück.

Diskussion

Unsere Studie zeigt zum ersten Mal bei Männern mit Diabetes mellitus, dass die Maximaldosis von Sildenafil (100 mg) keine Sympathikusaktivierung induziert. Unsere Daten befinden sich im Einklang mit den Daten von Agelink et al.(188), die keine Effekte nach Sildenafilgabe auf Parameter des autonomen Nervensystems bei Patienten mit erektiler Dysfunktion und weiteren Komorbiditäten feststellen konnten. Jedoch hatten in jener Studie unter 21 Probanden lediglich 4 einen Diabetes, die Maximaldosis Sildenafil betrug 50 mg und die Studie war nicht Placebo-kontrolliert.

Unsere Ergebnisse sprechen für die Sicherheit der Bedarfstherapie mit Sildenafil insbesondere bei hypertensiven Patienten mit T2DM und ED. Das untersuchte Kollektiv ist repräsentativ für die Mehrzahl der Männer mit Diabetes, die sich einer Sildenafiltherapie unterziehen.

6.5 Neue Erkenntnisse dieser Studie

Die Gabe von 100 mg Sildenafil p.o. bei Männern mit Typ 2 Diabetes führt zu:

- einer Erhöhung der Herzfrequenz
- einer Senkung des Blutdrucks
- keiner Verbesserung der Gefäßfunktion
- keiner Sympathikusaktivierung

6.6 Limitierungen der Studie

In Anbetracht der Kontraindikation der gleichzeitigen Gabe von Sildenafil und Nitrate wurde keine Testung der endothelunabhängigen Vasodilatation mittels Glycerotrinitrat durchgeführt. Die letztere Substanz wird als maximaler Stimulus der Vasodilatation betrachtet und ermöglicht eine genauere Aussage über die tatsächliche maximale Vasodilatation, die an ihre strukturellen Grenzen stößt. Aufgrund der vergleichbaren Arterien Durchmesser nach jeder Stauung, können wir nur mutmaßen, dass die „maximale Dilatation“, die nach einem submaximalen Stimulus (Stauung) erreicht werden kann, tatsächlich auch jedes Mal erreicht

Diskussion

wurde. Diese technisch bedingte Einschränkung ändert jedoch nicht die Kernaussage dieser Studie.

Die Messung des Arterien­durchmessers nach Aufheben der Stauung erfolgte aus technischen Gründen ausschließlich nach 45-60 Sekunden. Die Studie von Halcox et al. (32) zeigte jedoch, dass die Gabe von Sildenafil zwar keine Veränderung der maximalen Dilatation bewirkt, jedoch eine Verlängerung des dilatatorischen Effektes. Dieser Aspekt konnte im Rahmen der vorliegenden Studie nicht überprüft werden.

Danksagung

Danksagung

Als erstes bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dan Ziegler für die Ermöglichung dieser Arbeit, die intensive wissenschaftliche Betreuung und ständige Unterstützung.

Einen besonderen Dank gebührt meiner Kollegin Denise Sander die mit vielem Einsatz eine Parallelauswertung der FAD durchgeführt hat, die uns erlaubte die Interobserver-Variabilität zu berechnen.

Vielen Dank möchte ich Herrn Burkhard Haastert aus der Abteilung für Biometrie und Epidemiologie des Deutschen Diabetes Zentrums aussprechen, der die Grundlagen der statistischen Auswertung der von mir erhobenen Daten definiert hat.

Ebenso bedanke ich mich sehr herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. T. Koschinsky und Herrn Dr. med. Karsten Jungheim für die interessanten Diskussionen, sowie wertvollen Anregungen die zur Verfeinerung dieser Arbeit wesentlich beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. med. W.A. Scherbaum gebührt ebenfalls meine Dankbarkeit für seine Unterstützung.

Viele der Mitarbeiter der Klinischen Abteilung des Deutschen Diabetes Zentrums haben mit ihrer engagierten Mitarbeit diese Arbeit ermöglicht und insbesondere möchte ich hier Frau M. Teuber und M. Behler erwähnen.

Allen, die sich als Probanden für die Durchführung dieser Studie zur Verfügung gestellt haben, danke ich herzlich.

Literatur

Reference List

1. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27:1047-1053, 2004
2. Shaw DI, Hall WL, Williams CM: Metabolic syndrome: what is it and what are the implications? *Proc Nutr Soc* 64:349-357, 2005
3. Rathmann W, Haastert B, Icks A, Lowel H, Meisinger C, Holle R, Giani G: High prevalence of undiagnosed diabetes mellitus in Southern Germany: target populations for efficient screening. The KORA survey 2000. *Diabetologia* 46:182-189, 2003
4. Varughese GI, Tomson J, Lip GY: Type 2 diabetes mellitus: a cardiovascular perspective. *Int J Clin Pract* 59:798-816, 2005
5. Kannel WB, McGee DL: Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA* 241:2035-2038, 1979
6. Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D: Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care* 16:434-444, 1993
7. Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 362:801-809, 1993
8. Celermajer DS: Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol* 30:325-333, 1997
9. Kawano H, Motoyama T, Hirashima O, Hirai N, Miyao Y, Sakamoto T, Kugiyama K, Ogawa H, Yasue H: Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 34:146-154, 1999
10. Taddei S, Ghiadoni L, Virdis A, Versari D, Salvetti A: Mechanisms of endothelial dysfunction: clinical significance and preventive non-pharmacological therapeutic strategies. *Curr Pharm Des* 9:2385-2402, 2003
11. Guay AT: Relation of endothelial cell function to erectile

dysfunction: implications for treatment. *Am J Cardiol* 96:52M-56M, 2005

12. Kaiser DR, Billups K, Mason C, Wetterling R, Lundberg JL, Bank AJ: Impaired brachial artery endothelium-dependent and -independent vasodilation in men with erectile dysfunction and no other clinical cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 43:179-184, 2004
13. Musicki B, Burnett AL: Endothelial dysfunction in diabetic erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 2006
14. Richardson D, Vinik A: Etiology and treatment of erectile failure in diabetes mellitus. *Curr Diab Rep* 2:501-509, 2002
15. Jiaan DB, Seftel AD, Fogarty J, Hampel N, Cruz W, Pomerantz J, Zuik M, Monnier VM: Age-related increase in an advanced glycation end product in penile tissue. *World J Urol* 13:369-375, 1995
16. Ceriello A, Taboga C, Tonutti L, Quagliaro L, Piconi L, Bais B, Da RR, Motz E: Evidence for an independent and cumulative effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on endothelial dysfunction and oxidative stress generation: effects of short- and long-term simvastatin treatment. *Circulation* 106:1211-1218, 2002
17. Burchardt T, Burchardt M, Karden J, Buttyan R, Shabsigh A, de la TA, Ng PY, Anastasiadis AG, Shabsigh R: Reduction of endothelial and smooth muscle density in the corpora cavernosa of the streptozotocin induced diabetic rat. *J Urol* 164:1807-1811, 2000
18. Seftel AD, Vaziri ND, Ni Z, Razmjouei K, Fogarty J, Hampel N, Polak J, Wang RZ, Ferguson K, Block C, Haas C: Advanced glycation end products in human penis: elevation in diabetic tissue, site of deposition, and possible effect through iNOS or eNOS. *Urology* 50:1016-1026, 1997
19. Jevtich MJ, Edson M, Jarman WD, Herrera HH: Vascular factor in erectile failure among diabetics. *Urology* 19:163-168, 1982
20. Bemelmans BL, Meuleman EJ, Doesburg WH, Notermans SL, Debruyne FM: Erectile dysfunction in diabetic men: the neurological factor revisited. *J Urol* 151:884-889, 1994

-
21. Vernet D, Cai L, Garban H, Babbitt ML, Murray FT, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF: Reduction of penile nitric oxide synthase in diabetic BB/WORdp (type I) and BBZ/WORdp (type II) rats with erectile dysfunction. *Endocrinology* 136:5709-5717, 1995
 22. Spark RF, White RA, Connolly PB: Impotence is not always psychogenic. Newer insights into hypothalamic-pituitary-gonadal dysfunction. *JAMA* 243:750-755, 1980
 23. Hellstrom WJ, Kendirci M: Type 5 phosphodiesterase inhibitors: curing erectile dysfunction. *Eur Urol* 49:942-945, 2006
 24. Ziegler D, Merfort F, van AH, Yassin A, Reblin T, Neureither M: Efficacy and safety of flexible-dose vardenafil in men with type 1 diabetes and erectile dysfunction. *J Sex Med* 3:883-891, 2006
 25. Boulton AJ, Selam JL, Sweeney M, Ziegler D: Sildenafil citrate for the treatment of erectile dysfunction in men with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 44:1296-1301, 2001
 26. Zhao L, Mason NA, Morrell NW, Kojonazarov B, Sadykov A, Maripova A, Mirrakhimov MM, Aldashev A, Wilkins MR: Sildenafil inhibits hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation* 104:424-428, 2001
 27. Ghofrani HA, Osterloh IH, Grimminger F: Sildenafil: from angina to erectile dysfunction to pulmonary hypertension and beyond. *Nat Rev Drug Discov* 5:689-702, 2006
 28. Hsu AR, Barnholt KE, Grundmann NK, Lin JH, McCallum SW, Friedlander AL: Sildenafil improves cardiac output and exercise performance during acute hypoxia, but not normoxia. *J Appl Physiol* 100:2031-2040, 2006
 29. Mustonen J, Uusitupa M, Lansimies E, Vainio P, Laakso M, Pyorala K: Autonomic nervous function and its relationship to cardiac performance in middle-aged diabetic patients without clinically evident cardiovascular disease. *J Intern Med* 232:65-72, 1992
 30. Kimura M, Higashi Y, Hara K, Noma K, Sasaki S, Nakagawa K, Goto C, Oshima T, Yoshizumi M, Chayama K: PDE5 inhibitor sildenafil citrate augments endothelium-dependent vasodilation in smokers. *Hypertension* 41:1106-1110, 2003

-
31. Hryniewicz K, Dimayuga C, Hudaihed A, Androne AS, Zheng H, Jankowski K, Katz SD: Inhibition of angiotensin-converting enzyme and phosphodiesterase type 5 improves endothelial function in heart failure. *Clin Sci (Lond)* 108:331-338, 2005
 32. Halcox JP, Nour KR, Zalos G, Mincemoyer RA, Waclawiw M, Rivera CE, Willie G, Ellahham S, Quyyumi AA: The effect of sildenafil on human vascular function, platelet activation, and myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 40:1232-1240, 2002
 33. Desouza C, Parulkar A, Lumpkin D, Akers D, Fonseca VA: Acute and prolonged effects of sildenafil on brachial artery flow-mediated dilatation in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 25:1336-1339, 2002
 34. Rosano GM, Aversa A, Vitale C, Fabbri A, Fini M, Spera G: Chronic treatment with tadalafil improves endothelial function in men with increased cardiovascular risk. *Eur Urol* 47:214-220, 2005
 35. Foresta C, Ferlin A, De TL, Lana A, Vinanzi C, Galan A, Caretta N: Circulating endothelial progenitor cells and endothelial function after chronic Tadalafil treatment in subjects with erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 2006
 36. Mazo E, Gamidov S, Iremashvili V: The effect of vardenafil on endothelial function of brachial and cavernous arteries. *Int J Impot Res* 2006
 37. Dietz U, Tries HP, Merkle W, Jaurisch-Hancke C, Lambertz H: [Sildenafil does not change coronary flow reserve in diabetics with erectile dysfunction]. *Dtsch Med Wochenschr* 128:190-195, 2003
 38. Dishy V, Harris PA, Pierce R, Prasad HC, Sofowora G, Bonar HL, Wood AJ, Stein CM: Sildenafil does not improve nitric oxide-mediated endothelium-dependent vascular responses in smokers. *Br J Clin Pharmacol* 57:209-212, 2004
 39. Schachinger V, Zeiher AM: Quantitative assessment of coronary vasoreactivity in humans in vivo. Importance of baseline vasomotor tone in atherosclerosis. *Circulation* 92:2087-2094, 1995
 40. Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, Lerman A, Mancina G, Oliver JJ, Pessina AC,

Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Schiffrin EL, Taddei S, Webb DJ: Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* 23:7-17, 2005

41. Adams MR, Jessup W, Celermajer DS: Cigarette smoking is associated with increased human monocyte adhesion to endothelial cells: reversibility with oral L-arginine but not vitamin C. *J Am Coll Cardiol* 29:491-497, 1997
42. Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P, Robinson J, McCredie R, Donald A, Deanfield JE: Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. *N Engl J Med* 334:150-154, 1996
43. Coppola A, Astarita C, Oliviero M, Fontana D, Picardi G, Esposito K, Marfella R, Coppola L, Giugliano D: Impairment of coronary circulation by acute hyperhomocysteinemia in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 27:2055-2056, 2004
44. Tousoulis D, Charakida M, Stefanadis C: Endothelial function and inflammation in coronary artery disease. *Heart* 2005
45. Zelis R, Mason DT, Braunwald E: A comparison of the effects of vasodilator stimuli on peripheral resistance vessels in normal subjects and in patients with congestive heart failure. *J Clin Invest* 47:960-970, 1968
46. Sorensen KE, Celermajer DS, Georgakopoulos D, Hatcher G, Betteridge DJ, Deanfield JE: Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level. *J Clin Invest* 93:50-55, 1994
47. Panza JA: Endothelium-dependent vasodilatation and essential hypertension. *N Engl J Med* 331:951, 1994
48. Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE, Sampson M, Sorensen KE, Adams M, Yue DK, Betteridge DJ, Deanfield JE: Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Am Coll Cardiol* 28:573-579, 1996
49. Tack CJ, Ong MK, Lutterman JA, Smits P: Insulin-induced

-
- vasodilatation and endothelial function in obesity/insulin resistance. Effects of troglitazone. *Diabetologia* 41:569-576, 1998
50. Murdie P: Link between insulin resistance, ethnicity and endothelial dysfunction. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2:498, 2005
 51. Tooke JE, Goh KL: Vascular function in Type 2 diabetes mellitus and pre-diabetes: the case for intrinsic endotheliopathy. *Diabet Med* 16:710-715, 1999
 52. Paradisi G, Steinberg HO, Hempfling A, Cronin J, Hook G, Shepard MK, Baron AD: Polycystic ovary syndrome is associated with endothelial dysfunction. *Circulation* 103:1410-1415, 2001
 53. Anastasiou E, Lekakis JP, Alevizaki M, Papamichael CM, Megas J, Souvatzoglou A, Stamatelopoulos SF: Impaired endothelium-dependent vasodilatation in women with previous gestational diabetes. *Diabetes Care* 21:2111-2115, 1998
 54. Caballero AE, Arora S, Saouaf R, Lim SC, Smakowski P, Park JY, King GL, LoGerfo FW, Horton ES, Veves A: Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes* 48:1856-1862, 1999
 55. Klumpp G, Schildknecht S, Nastainczyk W, Ullrich V, Bachschmid M: Prostacyclin in the cardiovascular system: new aspects and open questions. *Pharmacol Rep* 57 Suppl:120-126, 2005
 56. Ceriello A, Assaloni R, Da RR, Maier A, Piconi L, Quagliaro L, Esposito K, Giugliano D: Effect of atorvastatin and irbesartan, alone and in combination, on postprandial endothelial dysfunction, oxidative stress, and inflammation in type 2 diabetic patients. *Circulation* 111:2518-2524, 2005
 57. Shimokawa H: Primary endothelial dysfunction: atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol* 31:23-37, 1999
 58. Stirban A and Negrean M. Endotheldysfunktion: Verbindung von Insulinresistenz, Diabetes und Atherosklerose? *Diabetes, Stoffwechsel und Herz* 2, 41-52. 1-2-2006.
 59. Binder BR, Christ G, Gruber F, Grubic N, Hufnagl P, Krebs M,

Mihaly J, Prager GW: Plasminogen activator inhibitor 1: physiological and pathophysiological roles. *News Physiol Sci* 17:56-61, 2002

60. Nakano S, Uchida K, Kigoshi T, Azukizawa S, Iwasaki R, Kaneko M, Morimoto S: Circadian rhythm of blood pressure in normotensive NIDDM subjects. Its relationship to microvascular complications. *Diabetes Care* 14:707-711, 1991
61. 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* 83:3C-12C, 1999
62. Heitzer T, Krohn K, Albers S, Meinertz T: Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation by increasing nitric oxide activity in patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 43:1435-1438, 2000
63. Wever RM, Luscher TF, Cosentino F, Rabelink TJ: Atherosclerosis and the two faces of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 97:108-112, 1998
64. Cox DA, Vita JA, Treasure CB, Fish RD, Alexander RW, Ganz P, Selwyn AP: Atherosclerosis impairs flow-mediated dilation of coronary arteries in humans. *Circulation* 80:458-465, 1989
65. Woo KS, Chook P, Lolin YI, Sanderson JE, Metreweli C, Celermajer DS: Folic acid improves arterial endothelial function in adults with hyperhomocystinemia. *J Am Coll Cardiol* 34:2002-2006, 1999
66. Heitzer T, Yla-Herttuala S, Luoma J, Kurz S, Munzel T, Just H, Olschewski M, Drexler H: Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia. Role of oxidized LDL. *Circulation* 93:1346-1353, 1996
67. Thuillez C, Richard V: Targeting endothelial dysfunction in hypertensive subjects. *J Hum Hypertens* 19 Suppl 1:S21-S25, 2005
68. Kelm M, Strauer BE: [Endothelial dysfunction. Therapeutic and prognostic issues]. *Internist (Berl)* 40:1300-1307, 1999

-
69. Witte DR, Westerink J, de Koning EJ, van der GY, Grobbee DE, Bots ML: Is the association between flow-mediated dilation and cardiovascular risk limited to low-risk populations? *J Am Coll Cardiol* 45:1987-1993, 2005
 70. Fonseca V, Jawa A: Endothelial and erectile dysfunction, diabetes mellitus, and the metabolic syndrome: common pathways and treatments? *Am J Cardiol* 96:13M-18M, 2005
 71. Saenz dT, I, Angulo J, Celtek S, Gonzalez-Cadavid N, Heaton J, Pickard R, Simonsen U: Physiology of erectile function. *J Sex Med* 1:254-265, 2004
 72. Bocchio M, Desideri G, Scarpelli P, Necozone S, Properzi G, Spartera C, Francavilla F, Ferri C, Francavilla S: Endothelial cell activation in men with erectile dysfunction without cardiovascular risk factors and overt vascular damage. *J Urol* 171:1601-1604, 2004
 73. Reid JA, Wolsley C, Lau LL, Hannon RJ, Lee B, Young IS, Soong CV: The effect of pravastatin on intima media thickness of the carotid artery in patients with normal cholesterol. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 30:464-468, 2005
 74. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, Deanfield JE: Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J* 74:247-253, 1995
 75. Etsuda H, Takase B, Uehata A, Kusano H, Hamabe A, Kuhara R, Akima T, Matsushima Y, Arakawa K, Satomura K, Kurita A, Ohsuzu F: Morning attenuation of endothelium-dependent, flow-mediated dilation in healthy young men: possible connection to morning peak of cardiac events? *Clin Cardiol* 22:417-421, 1999
 76. Otto ME, Svatikova A, Barretto RB, Santos S, Hoffmann M, Khandheria B, Somers V: Early morning attenuation of endothelial function in healthy humans. *Circulation* 109:2507-2510, 2004
 77. Williams MR, Westerman RA, Kingwell BA, Paige J, Blombery PA, Sudhir K, Komesaroff PA: Variations in endothelial function and arterial compliance during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5389-5395, 2001

-
78. Maiorana A, O'Driscoll G, Cheetham C, Dembo L, Stanton K, Goodman C, Taylor R, Green D: The effect of combined aerobic and resistance exercise training on vascular function in type 2 diabetes. *J Am Coll Cardiol* 38:860-866, 2001
 79. Takase B, Akima T, Uehata A, Ohsuzu F, Kurita A: Effect of chronic stress and sleep deprivation on both flow-mediated dilation in the brachial artery and the intracellular magnesium level in humans. *Clin Cardiol* 27:223-227, 2004
 80. Ling L, Zhao SP, Gao M, Zhou QC, Li YL, Xia B: Vitamin C preserves endothelial function in patients with coronary heart disease after a high-fat meal. *Clin Cardiol* 25:219-224, 2002
 81. Schinkovitz A, Dittrich P, Wascher TC: Effects of a high-fat meal on resistance vessel reactivity and on indicators of oxidative stress in healthy volunteers. *Clin Physiol* 21:404-410, 2001
 82. Akbari CM, Saouaf R, Barnhill DF, Newman PA, LoGerfo FW, Veves A: Endothelium-dependent vasodilatation is impaired in both microcirculation and macrocirculation during acute hyperglycemia. *J Vasc Surg* 28:687-694, 1998
 83. Lee IK, Kim HS, Bae JH: Endothelial dysfunction: its relationship with acute hyperglycaemia and hyperlipidemia. *Int J Clin Pract Suppl* 59-64, 2002
 84. Stirban A, Negrean M, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Gotting C, Kleesiek K, Mueller-Roesel M, Koschinsky T, Uribarri J, Vlassara H, Tschoepe D: Benfotiamine prevents macro- and microvascular endothelial dysfunction and oxidative stress following a meal rich in advanced glycation end products in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 29:2064-2071, 2006
 85. Kuvin JT, Mammen A, Mooney P, sheikh-Ali AA, Karas RH: Assessment of peripheral vascular endothelial function in the ambulatory setting. *Vasc Med* 12:13-16, 2007
 86. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R: Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force.

87. Scarabin PY, Aillaud MF, Amouyel P, Evans A, Luc G, Ferrieres J, Arveiler D, Juhan-Vague I: Associations of fibrinogen, factor VII and PAI-1 with baseline findings among 10,500 male participants in a prospective study of myocardial infarction--the PRIME Study. Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction. *Thromb Haemost* 80:749-756, 1998
88. Juhan-Vague I, Alessi MC, Vague P: Thrombogenic and fibrinolytic factors and cardiovascular risk in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Med* 28:371-380, 1996
89. Stehouwer CD, Lambert J, Donker AJ, van H, V: Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy. *Cardiovasc Res* 34:55-68, 1997
90. Krakoff J, Funahashi T, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Tanaka S, Matsuzawa Y, Kobes S, Tataranni PA, Hanson RL, Knowler WC, Lindsay RS: Inflammatory markers, adiponectin, and risk of type 2 diabetes in the Pima Indian. *Diabetes Care* 26:1745-1751, 2003
91. Guerci B, Kearney-Schwartz A, Bohme P, Zannad F, Drouin P: Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. Part 1: physiology and methods for exploring the endothelial function. *Diabetes Metab* 27:425-434, 2001
92. Bernot D, Peiretti F, Canault M, Juhan-Vague I, Nalbone G: Upregulation of TNF-alpha-induced ICAM-1 surface expression by adenylate cyclase-dependent pathway in human endothelial cells. *J Cell Physiol* 202:434-441, 2005
93. Kielstein JT, Tsikas D, Fliser D: Effects of asymmetric dimethylarginine (ADMA) infusion in humans. *Eur J Clin Pharmacol* 6, 2005
94. Paiva H, Laakso J, Laine H, Laaksonen R, Knuuti J, Raitakari OT: Plasma asymmetric dimethylarginine and hyperemic myocardial blood flow in young subjects with borderline hypertension or familial hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 40(7):1241-1247, 2002
95. Davies PF, Tripathi SC: Mechanical stress mechanisms and the cell. An endothelial paradigm. *Circ Res* 72:239-245, 1993

-
96. Neunteufl T, Katzenschlager R, Hassan A, Klaar U, Schwarzacher S, Glogar D, Bauer P, Weidinger F: Systemic endothelial dysfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 129:111-118, 1997
 97. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrange D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung AC, .: Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 26:1235-1241, 1995
 98. Hamdy O, bou-Elenin K, LoGerfo FW, Horton ES, Veves A: Contribution of nerve-axon reflex-related vasodilation to the total skin vasodilation in diabetic patients with and without neuropathy. *Diabetes Care* 24:344-349, 2001
 99. Tee GB, Rasool AH, Halim AS, Rahman AR: Dependence of human forearm skin postocclusive reactive hyperemia on occlusion time. *J Pharmacol Toxicol Methods* Jul-Aug:73-78, 2004
 100. Park JB, Charbonneau F, Schiffrin EL: Correlation of endothelial function in large and small arteries in human essential hypertension. *J Hypertens* 19:415-420, 2001
 101. Holowatz LA, Thompson CS, Minson CT, Kenney WL: Mechanisms of acetylcholine-mediated vasodilatation in young and aged human skin. *J Physiol* 563:965-973, 2005
 102. Christ F, Bauer A, Brugger D, Niklas M, Gartside IB, Gamble J: Description and validation of a novel liquid metal-free device for venous congestion plethysmography. *J Appl Physiol* 89:1577-1583, 2000
 103. Klocke FJ, Li D: Testing coronary flow reserve without a provocative stress. A "BOLD" approach. *J Am Coll Cardiol* 41:841-842, 2003
 104. Utz W, Jordan J, Niendorf T, Stoffels M, Luft FC, Dietz R, Friedrich MG: Blood oxygen level-dependent MRI of tissue oxygenation: relation to endothelium-dependent and endothelium-independent blood flow changes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25:1408-1413, 2005
 105. Meyer RA, Towse TF, Reid RW, Jayaraman RC, Wiseman RW, McCully KK: BOLD MRI mapping of transient hyperemia in

-
- skeletal muscle after single contractions. *NMR Biomed* 17:392-398, 2004
106. Wielepp P, Baller D, Gleichmann U, Pulawski E, Horstkotte D, Burchert W: Beneficial effects of atorvastatin on myocardial regions with initially low vasodilatory capacity at various stages of coronary artery disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 32:1371-1377, 2005
 107. Buus NH, Bottcher M, Hermansen F, Sander M, Nielsen TT, Mulvany MJ: Influence of nitric oxide synthase and adrenergic inhibition on adenosine-induced myocardial hyperemia. *Circulation* 104:2305-2310, 2001
 108. Hasdai D, Lerman A: The assessment of endothelial function in the cardiac catheterization laboratory in patients with risk factors for atherosclerotic coronary artery disease. *Herz* 24:544-547, 1999
 109. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A: Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:168-175, 2003
 110. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Jr., Epstein SE: Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 323:22-27, 1990
 111. Linder L, Kiowski W, Buhler FR, Luscher TF: Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo. Blunted response in essential hypertension. *Circulation* 81:1762-1767, 1990
 112. John S, Schmieder RE: Impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia: potential mechanisms and differences. *J Hypertens* 18:363-374, 2000
 113. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T: Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 104:2673-2678, 2001
 114. Tan KC, Chow WS, Tam SC, Ai VH, Lam CH, Lam KS: Atorvastatin lowers C-reactive protein and improves endothelium-dependent vasodilation in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 87:563-568, 2002

-
115. Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Ueda T, Yoshimizu A, Kurisu S, Matsuura H, Kajiyama G, Oshima T: A comparison of angiotensin-converting enzyme inhibitors, calcium antagonists, beta-blockers and diuretic agents on reactive hyperemia in patients with essential hypertension: a multicenter study. *J Am Coll Cardiol* 35:284-291, 2000
 116. Ueda S, Matsuoka H, Miyazaki H, Usui M, Okuda S, Imaizumi T: Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in long-term smokers. *J Am Coll Cardiol* 35:71-75, 2000
 117. Regensteiner JG, Popylisen S, Bauer TA, Lindenfeld J, Gill E, Smith S, Oliver-Pickett CK, Reusch JE, Weil JV: Oral L-arginine and vitamins E and C improve endothelial function in women with type 2 diabetes. *Vasc Med* 8:169-175, 2003
 118. Forst T, Lubben G, Hohberg C, Kann P, Sachara C, Gottschall V, Friedrich C, Roszkopf R, Pfutzner A: Influence of glucose control and improvement of insulin resistance on microvascular blood flow and endothelial function in patients with diabetes mellitus type 2. *Microcirculation* 12:543-550, 2005
 119. Vlassara H, Cai W, Crandall J, Goldberg T, Oberstein R, Dardaine V, Peppia M, Rayfield EJ: Inflammatory mediators are induced by dietary glycotoxins, a major risk factor for diabetic angiopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:15596-15601, 2002
 120. Negrean M, Stirban A, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Gotting C, Kleesiek K, Mueller-Roesel M, Koschinsky T, Uribarri J, Vlassara H, Tschöpe D: Effects of low- and high-advanced glycation endproduct meals on macro- and microvascular endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 85:1236-1243, 2007
 121. Beckman JA, Goldfine AB, Gordon MB, Garrett LA, Keaney JF, Jr., Creager MA: Oral antioxidant therapy improves endothelial function in Type 1 but not Type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285:H2392-H2398, 2003
 122. Meinertz T., Rösen P., Schömig A., Tschöpe D., Ziegler D.: *Diabetes und Herz*. Steinkopff Verlag Darmstadt, 2005
 123. Vinik AI, Ziegler D: Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Circulation* 115:387-397, 2007

-
124. Rundles RW. Diabetic neuropathy. General report with review of 125 cases. *Medicine (Baltimore)* 24, 111-160. 1945.
 125. Ziegler, D. and et al. *J Peripheral Nervous System* 8, 175-176. 1-9-2003.
 126. Ziegler D: Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy: prognosis, diagnosis and treatment. *Diabetes Metab Rev* 10:339-383, 1994
 127. Rathmann W, Ziegler D, Jahnke M, Haastert B, Gries FA: Mortality in diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy. *Diabet Med* 10:820-824, 1993
 128. Ziegler D, Laux G, Dannehl K, Spuler M, Muhlen H, Mayer P, Gries FA: Assessment of cardiovascular autonomic function: age-related normal ranges and reproducibility of spectral analysis, vector analysis, and standard tests of heart rate variation and blood pressure responses. *Diabet Med* 9:166-175, 1992
 129. Ewing DJ, Clarke BF: Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J (Clin Res Ed)* 285:916-918, 1982
 130. Kahn R: Proceedings of a consensus development conference on standardized measures in diabetic neuropathy. Autonomic nervous system testing. *Diabetes Care* 15:1095-1103, 1992
 131. Ziegler D, Dannehl K, Muhlen H, Spuler M, Gries FA: Prevalence of cardiovascular autonomic dysfunction assessed by spectral analysis, vector analysis, and standard tests of heart rate variation and blood pressure responses at various stages of diabetic neuropathy. *Diabet Med* 9:806-814, 1992
 132. Esler M: The autonomic nervous system and cardiac arrhythmias. *Clin Auton Res* 2:133-135, 1992
 133. Ziegler D, Gries FA, Muhlen H, Rathmann W, Spuler M, Lessmann F: Prevalence and clinical correlates of cardiovascular autonomic and peripheral diabetic neuropathy in patients attending diabetes centers. The Diacan Multicenter Study Group. *Diabete Metab* 19:143-151, 1993
 134. Cryer PE, Silverberg AB, Santiago JV, Shah SD: Plasma catecholamines in diabetes. The syndromes of hypoadrenergic

-
- and hyperadrenergic postural hypotension. *Am J Med* 64:407-416, 1978
135. Millar-Craig MW, Bishop CN, Raftery EB: Circadian variation of blood-pressure. *Lancet* 1:795-797, 1978
 136. Liniger C, Favre L, Assal JP: Twenty-four hour blood pressure and heart rate profiles of diabetic patients with abnormal cardiovascular reflexes. *Diabet Med* 8:420-427, 1991
 137. Liniger C, Favre L, Assal JP: Twenty-four hour blood pressure and heart rate profiles of diabetic patients with abnormal cardiovascular reflexes. *Diabet Med* 8:420-427, 1991
 138. Gries FA, Cameron NE Low PA Ziegler D. Textbook of Diabetic Neuropathy. Georg Thieme Verlag . 2003.
 139. Mann S, Altman DG, Raftery EB, Bannister R: Circadian variation of blood pressure in autonomic failure. *Circulation* 68:477-483, 1983
 140. Sivieri R, Veglio M, Chinaglia A, Scaglione P, Cavallo-Perin P: Prevalence of QT prolongation in a type 1 diabetic population and its association with autonomic neuropathy. The Neuropathy Study Group of the Italian Society for the Study of Diabetes. *Diabet Med* 10:920-924, 1993
 141. Whitsel EA, Boyko EJ, Siscovick DS: Reassessing the role of QTc in the diagnosis of autonomic failure among patients with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* 23:241-247, 2000
 142. Veglio M, Bruno G, Borra M, Macchia G, Bargerò G, D'Errico N, Pagano GF, Cavallo-Perin P: Prevalence of increased QT interval duration and dispersion in type 2 diabetic patients and its relationship with coronary heart disease: a population-based cohort. *J Intern Med* 251:317-324, 2002
 143. Veglio M, Giunti S, Stevens LK, Fuller JH, Perin PC: Prevalence of Q-T interval dispersion in type 1 diabetes and its relation with cardiac ischemia : the EURODIAB IDDM Complications Study Group. *Diabetes Care* 25:702-707, 2002
 144. Sivieri R, Veglio M, Chinaglia A, Scaglione P, Cavallo-Perin P: Prevalence of QT prolongation in a type 1 diabetic population and its association with autonomic neuropathy. The Neuropathy Study Group of the Italian Society for the Study of Diabetes.

145. Wackers FJ, Young LH, Inzucchi SE, Chyun DA, Davey JA, Barrett EJ, Taillefer R, Wittlin SD, Heller GV, Filipchuk N, Engel S, Ratner RE, Iskandrian AE: Detection of silent myocardial ischemia in asymptomatic diabetic subjects: the DIAD study. *Diabetes Care* 27:1954-1961, 2004
146. Margolis JR, Kannel WS, Feinleib M, Dawber TR, McNamara PM: Clinical features of unrecognized myocardial infarction--silent and symptomatic. Eighteen year follow-up: the Framingham study. *Am J Cardiol* 32:1-7, 1973
147. Canto JG, Shlipak MG, Rogers WJ, Malmgren JA, Frederick PD, Lambrew CT, Ornato JP, Barron HV, Kiefe CI: Prevalence, clinical characteristics, and mortality among patients with myocardial infarction presenting without chest pain. *JAMA* 283:3223-3229, 2000
148. Miller TD, Rajagopalan N, Hodge DO, Frye RL, Gibbons RJ: Yield of stress single-photon emission computed tomography in asymptomatic patients with diabetes. *Am Heart J* 147:890-896, 2004
149. Airaksinen KE, Koistinen MJ: Association between silent coronary artery disease, diabetes, and autonomic neuropathy. Fact of fallacy? *Diabetes Care* 15:288-292, 1992
150. Airaksinen KE: Silent coronary artery disease in diabetes--a feature of autonomic neuropathy or accelerated atherosclerosis? *Diabetologia* 44:259-266, 2001
151. Ambepityia G, Kopelman PG, Ingram D, Swash M, Mills PG, Timmis AD: Exertional myocardial ischemia in diabetes: a quantitative analysis of anginal perceptual threshold and the influence of autonomic function. *J Am Coll Cardiol* 15:72-77, 1990
152. Ranjadayalan K, Umachandran V, Ambepityia G, Kopelman PG, Mills PG, Timmis AD: Prolonged anginal perceptual threshold in diabetes: effects on exercise capacity and myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 16:1120-1124, 1990
153. Hikita H, Kurita A, Takase B, Nagayoshi H, Uehata A, Nishioka T, Mitani H, Mizuno K, Nakamura H: Usefulness of plasma beta-endorphin level, pain threshold and autonomic function in

-
- assessing silent myocardial ischemia in patients with and without diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 72:140-143, 1993
154. Umachandran V, Ranjadayalan K, Ambepitya G, Marchant B, Kopelman PG, Timmis AD: The perception of angina in diabetes: relation to somatic pain threshold and autonomic function. *Am Heart J* 121:1649-1654, 1991
 155. Hume L, Oakley GD, Boulton AJ, Hardisty C, Ward JD: Asymptomatic myocardial ischemia in diabetes and its relationship to diabetic neuropathy: an exercise electrocardiography study in middle-aged diabetic men. *Diabetes Care* 9:384-388, 1986
 156. Murray DP, O'Brien T, Mulrooney R, O'Sullivan DJ: Autonomic dysfunction and silent myocardial ischaemia on exercise testing in diabetes mellitus. *Diabet Med* 7:580-584, 1990
 157. O'Sullivan JJ, Conroy RM, MacDonald K, McKenna TJ, Maurer BJ: Silent ischaemia in diabetic men with autonomic neuropathy. *Br Heart J* 66:313-315, 1991
 158. Titus BG, Sherman CT: Asymptomatic myocardial ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty and importance of prior Q-wave infarction and diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 68:735-739, 1991
 159. Hilsted J, Galbo H, Christensen NJ: Impaired cardiovascular responses to graded exercise in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* 28:313-319, 1979
 160. Kahn JK, Sisson JC, Vinik AI: Prediction of sudden cardiac death in diabetic autonomic neuropathy. *J Nucl Med* 29:1605-1606, 1988
 161. Uusitupa MI, Mustonen JN, Airaksinen KE: Diabetic heart muscle disease. *Ann Med* 22:377-386, 1990
 162. Zola B, Kahn JK, Juni JE, Vinik AI: Abnormal cardiac function in diabetic patients with autonomic neuropathy in the absence of ischemic heart disease. *J Clin Endocrinol Metab* 63:208-214, 1986
 163. Kahn JK, Zola B, Juni JE, Vinik AI: Radionuclide assessment of left ventricular diastolic filling in diabetes mellitus with and without cardiac autonomic neuropathy. *J Am Coll Cardiol*

164. Milaskiewicz RM, Hall GM: Diabetes and anaesthesia: the past decade. *Br J Anaesth* 68:198-206, 1992
165. Burgos LG, Ebert TJ, Asiddao C, Turner LA, Pattison CZ, Wang-Cheng R, Kampine JP: Increased intraoperative cardiovascular morbidity in diabetics with autonomic neuropathy. *Anesthesiology* 70:591-597, 1989
166. Kitamura A, Hoshino T, Kon T, Ogawa R: Patients with diabetic neuropathy are at risk of a greater intraoperative reduction in core temperature. *Anesthesiology* 92:1311-1318, 2000
167. Rosen RC, Riley A, Wagner G, Osterloh IH, Kirkpatrick J, Mishra A: The international index of erectile function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. *Urology* 49:822-830, 1997
168. NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence. *JAMA* 270:83-90, 1993
169. Goodman PJ, Tangen CM, Crowley JJ, Carlin SM, Ryan A, Coltman CA, Jr., Ford LG, Thompson IM: Implementation of the Prostate Cancer Prevention Trial (PCPT). *Control Clin Trials* 25:203-222, 2004
170. Thompson IM, Tangen CM, Goodman PJ, Probstfield JL, Moinpour CM, Coltman CA: Erectile dysfunction and subsequent cardiovascular disease. *JAMA* 294:2996-3002, 2005
171. Gazzaruso C, Giordanetti S, De AE, Bertone G, Falcone C, Geroldi D, Fratino P, Solerte SB, Garzaniti A: Relationship between erectile dysfunction and silent myocardial ischemia in apparently uncomplicated type 2 diabetic patients. *Circulation* 110:22-26, 2004
172. Chiurlia E, D'Amico R, Ratti C, Granata AR, Romagnoli R, Modena MG: Subclinical coronary artery atherosclerosis in patients with erectile dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 46:1503-1506, 2005
173. Jackson G, Rosen RC, Kloner RA, Kostis JB: The second Princeton consensus on sexual dysfunction and cardiac risk: new guidelines for sexual medicine. *J Sex Med* 3:28-36, 2006

-
174. Penaz J, Voigt A, Teichmann W: [Contribution to the continuous indirect blood pressure measurement]. *Z Gesamte Inn Med* 31:1030-1033, 1976
 175. James MA, Panerai RB, Potter JF: Applicability of new techniques in the assessment of arterial baroreflex sensitivity in the elderly: a comparison with established pharmacological methods. *Clin Sci (Lond)* 94:245-253, 1998
 176. Ziegler D, Laude D, Akila F, Elghozi JL: Time- and frequency-domain estimation of early diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. *Clin Auton Res* 11:369-376, 2001
 177. Katz SD: Potential role of type 5 phosphodiesterase inhibition in the treatment of congestive heart failure. *Congest Heart Fail* 9:9-15, 2003
 178. Jackson G: Hemodynamic and exercise effects of phosphodiesterase 5 inhibitors. *Am J Cardiol* 96:32M-36M, 2005
 179. Fogari R, Zoppi A, Poletti L, Marasi G, Mugellini A, Corradi L: Sexual activity in hypertensive men treated with valsartan or carvedilol: a crossover study. *Am J Hypertens* 14:27-31, 2001
 180. Moore RA, Derry S, McQuay HJ: Indirect comparison of interventions using published randomised trials: systematic review of PDE-5 inhibitors for erectile dysfunction. *BMC Urol* 5:18, 2005
 181. Rendell MS, Rajfer J, Wicker PA, Smith MD: Sildenafil for treatment of erectile dysfunction in men with diabetes: a randomized controlled trial. Sildenafil Diabetes Study Group. *JAMA* 281:421-426, 1999
 182. Cremers B, Bohm M: Non erectile dysfunction application of sildenafil. *Herz* 28:325-333, 2003
 183. 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* 36:845-851, 2000
 184. Khaodhiar L, Veves A: Acute and prolonged effects of sildenafil on brachial artery flow-mediated dilatation in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 26:962-963, 2003

-
185. Dishy V, Sofowora G, Harris PA, Kandcer M, Zhan F, Wood AJ, Stein CM: The effect of sildenafil on nitric oxide-mediated vasodilation in healthy men. *Clin Pharmacol Ther* 70:270-279, 2001
 186. Robinson SD, Ludlam CA, Boon NA, Newby DE: Phosphodiesterase type 5 inhibition does not reverse endothelial dysfunction in patients with coronary heart disease. *Heart* 92:170-176, 2005
 187. Lewis GD, Lachmann J, Camuso J, Lepore JJ, Shin J, Martinovic ME, Systrom DM, Bloch KD, Semigran MJ: Sildenafil improves exercise hemodynamics and oxygen uptake in patients with systolic heart failure. *Circulation* 115:59-66, 2007
 188. Agelink MW, Schmitz T, Rembrink K, Beckerling D, Muck-Weymann M, Mercik D, Brockmeyer NH: Cardiovascular effects of sildenafil citrate (Viagra): a naturalistic cross-over study. *Eur J Med Res* 6:459-464, 2001
 189. Bots ML, Westerink J, Rabelink TJ, de Koning EJ: Assessment of flow-mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurement on the FMD response. *Eur Heart J* 26:363-368, 2005
 190. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 340:1111-1115, 1992
 191. Berry KL, Skyrme-Jones RA, Meredith IT: Occlusion cuff position is an important determinant of the time course and magnitude of human brachial artery flow-mediated dilation. *Clin Sci (Lond)* 99:261-267, 2000
 192. Wendelhag I, Gustavsson T, Suurkula M, Berglund G, Wikstrand J: Ultrasound measurement of wall thickness in the carotid artery: fundamental principles and description of a computerized analysing system. *Clin Physiol* 11:565-577, 1991
 193. Merri M, Farden DC, Mottley JG, Titlebaum EL: Sampling frequency of the electrocardiogram for spectral analysis of the heart rate variability. *IEEE Trans Biomed Eng* 37:99-106, 1990
 194. Berger RD, Akselrod S, Gordon D, Cohen RJ: An efficient algorithm for spectral analysis of heart rate variability. *IEEE*

195. Agelink MW, Malessa R, Baumann B, Majewski T, Akila F, Zeit T, Ziegler D: Standardized tests of heart rate variability: normal ranges obtained from 309 healthy humans, and effects of age, gender, and heart rate. *Clin Auton Res* 11:99-108, 2001
196. Mackay JD: Respiratory sinus arrhythmia in diabetic neuropathy. *Diabetologia* 24:253-256, 1983
197. Weinberg CR, Pfeifer MA: An improved method for measuring heart-rate variability: assessment of cardiac autonomic function. *Biometrics* 40:855-861, 1984
198. Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, Sandrone G, Malfatto G, Dell'Orto S, Piccaluga E, ..: Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ Res* 59:178-193, 1986
199. Robbe HW, Mulder LJ, Ruddel H, Langewitz WA, Veldman JB, Mulder G: Assessment of baroreceptor reflex sensitivity by means of spectral analysis. *Hypertension* 10:538-543, 1987
200. Weise F, Laude D, Girard A, Zitoun P, Siche JP, Elghozi JL: Effects of the cold pressor test on short-term fluctuations of finger arterial blood pressure and heart rate in normal subjects. *Clin Auton Res* 3:303-310, 1993
201. Bertinieri G, Di RM, Cavallazzi A, Ferrari AU, Pedotti A, Mancia G: Evaluation of baroreceptor reflex by blood pressure monitoring in unanesthetized cats. *Am J Physiol* 254:H377-H383, 1988
202. Parati G, Frattola A, Di RM, Castiglioni P, Pedotti A, Mancia G: Effects of aging on 24-h dynamic baroreceptor control of heart rate in ambulant subjects. *Am J Physiol* 268:H1606-H1612, 1995
203. GRIZZLE JE: THE TWO-PERIOD CHANGE-OVER DESIGN AN ITS USE IN CLINICAL TRIALS. *Biometrics* 21:467-480, 1965
204. Lehmacher W: Analysis of the crossover design in the presence of residual effects. *Stat Med* 10:891-899, 1991

-
205. West SG, Wagner P, Schoemer SL, Hecker KD, Hurston KL, Likos KA, Boseska L, Ulbrecht J, Hinderliter AL: Biological correlates of day-to-day variation in flow-mediated dilation in individuals with Type 2 diabetes: a study of test-retest reliability. *Diabetologia* 47:1625-1631, 2004
 206. Saka B, Oflaz H, Erten N, Bahat G, Dursun M, Pamukcu B, Mercanoglu F, Meric M, Karan MA: Non-invasive evaluation of endothelial function in hypertensive elderly patients. *Arch Gerontol Geriatr* 40:61-71, 2005
 207. Beishuizen ED, Tamsma JT, Jukema JW, van de Ree MA, van d, V, Meinders AE, Huisman MV: The effect of statin therapy on endothelial function in type 2 diabetes without manifest cardiovascular disease. *Diabetes Care* 28:1668-1674, 2005
 208. Vlachopoulos C, Tsekoura D, Alexopoulos N, Panagiotakos D, Aznaouridis K, Stefanadis C: Type 5 phosphodiesterase inhibition by sildenafil abrogates acute smoking-induced endothelial dysfunction. *Am J Hypertens* 17:1040-1044, 2004
 209. Gori T, Sicuro S, Dragoni S, Donati G, Forconi S, Parker JD: Sildenafil prevents endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion via opening of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels: a human in vivo study. *Circulation* 111:742-746, 2005
 210. Aversa A, Greco E, Bruzziches R, Pili M, Rosano G, Spera G: Relationship between chronic tadalafil administration and improvement of endothelial function in men with erectile dysfunction: a pilot study. *Int J Impot Res* 19:200-207, 2007
 211. Mazo EB, Gamidov SI, Iremashvili VV: Does the clinical efficacy of vardenafil correlate with its effect on the endothelial function of cavernosal arteries? A pilot study. *BJU Int* 98:1054-1058, 2006
 212. Vlachopoulos C, Tsekoura D, Alexopoulos N, Panagiotakos D, Aznaouridis K, Stefanadis C: Type 5 phosphodiesterase inhibition by sildenafil abrogates acute smoking-induced endothelial dysfunction. *Am J Hypertens* 17:1040-1044, 2004
 213. Kimura M, Higashi Y, Hara K, Noma K, Sasaki S, Nakagawa K, Goto C, Oshima T, Yoshizumi M, Chayama K: PDE5 inhibitor sildenafil citrate augments endothelium-dependent vasodilation in smokers. *Hypertension* 41:1106-1110, 2003

-
214. 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* 36:845-851, 2000
 215. Hryniewicz K, Dimayuga C, Hudaihed A, Androne AS, Zheng H, Jankowski K, Katz SD: Inhibition of angiotensin-converting enzyme and phosphodiesterase type 5 improves endothelial function in heart failure. *Clin Sci (Lond)* 108:331-338, 2005
 216. Halcox JP, Nour KR, Zalos G, Mincemoyer RA, Waclawiw M, Rivera CE, Willie G, Ellahham S, Quyyumi AA: The effect of sildenafil on human vascular function, platelet activation, and myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 40:1232-1240, 2002
 217. Kimura M, Higashi Y, Hara K, Noma K, Sasaki S, Nakagawa K, Goto C, Oshima T, Yoshizumi M, Chayama K: PDE5 inhibitor sildenafil citrate augments endothelium-dependent vasodilation in smokers. *Hypertension* 41:1106-1110, 2003
 218. Dogra G, Rich L, Stanton K, Watts GF: Endothelium-dependent and independent vasodilation studies at normoglycaemia in type I diabetes mellitus with and without microalbuminuria. *Diabetologia* 44:593-601, 2001
 219. Anderson RA, Evans LM, Ellis GR, Khan N, Morris K, Jackson SK, Rees A, Lewis MJ, Frenneaux MP: Prolonged deterioration of endothelial dysfunction in response to postprandial lipaemia is attenuated by vitamin C in Type 2 diabetes. *Diabet Med* 23:258-264, 2006
 220. Wascher TC, Schmoelzer I, Wiegratz A, Stuehlinger M, Mueller-Wieland D, Kotzka J, Enderle M: Reduction of postchallenge hyperglycaemia prevents acute endothelial dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance. *Eur J Clin Invest* 35:551-557, 2005
 221. Thomas GN, Chook P, Qiao M, Huang XS, Leong HC, Celermajor DS, Woo KS: Deleterious impact of "high normal" glucose levels and other metabolic syndrome components on arterial endothelial function and intima-media thickness in apparently healthy Chinese subjects: the CATHAY study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24:739-743, 2004
 222. Pegge NC, Twomey AM, Vaughton K, Gravenor MB, Ramsey MW, Price DE: The role of endothelial dysfunction in the

-
- pathophysiology of erectile dysfunction in diabetes and in determining response to treatment. *Diabet Med* 23:873-878, 2006
223. Mazo E, Gamidov S, Anranovich S, Iremashvili V: Testing endothelial function of brachial and cavernous arteries in patients with erectile dysfunction. *J Sex Med* 3:323-330, 2006
224. Foresta C, Lana A, Cabrelle A, Ferigo M, Caretta N, Garolla A, Palu G, Ferlin A: PDE-5 inhibitor, Vardenafil, increases circulating progenitor cells in humans. *Int J Impot Res* 17:377-380, 2005
225. Foresta C, Caretta N, Lana A, De TL, Biagioli A, Vinanzi C, Ferlin A: Relationship Between Vascular Damage Degrees and Endothelial Progenitor Cells in Patients with Erectile Dysfunction: Effect of Vardenafil Administration and PDE5 Expression in the Bone Marrow. *Eur Urol* 2006
226. Dai ZK, Tan MS, Chai CY, Chou SH, Lin PC, Yeh JL, Jeng AY, Chang CI, Chen IJ, Wu JR: Effects of sildenafil on pulmonary hypertension and levels of ET-1, eNOS, and cGMP in aorta-banded rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 231:942-947, 2006
227. Morano S, Mandosi E, Fallarino M, Gatti A, Tiberti C, Sensi M, Gandini L, Buchetti B, Lenti L, Jannini EA, Lenzi A: Antioxidant Treatment Associated with Sildenafil Reduces Monocyte Activation and Markers of Endothelial Damage in Patients with Diabetic Erectile Dysfunction: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Eur Urol* 2007
228. Aversa A, Vitale C, Volterrani M, Fabbri A, Spera G, Fini M, Rosano GM: Chronic administration of Sildenafil improves markers of endothelial function in men with Type 2 diabetes. *Diabet Med* 25:37-44, 2008
229. Montorsi F, Briganti A, Salonia A, Rigatti P, Burnett AL: Can phosphodiesterase type 5 inhibitors cure erectile dysfunction? *Eur Urol* 49:979-986, 2006
230. Ling L, Zhao SP, Gao M, Zhou QC, Li YL, Xia B: Vitamin C preserves endothelial function in patients with coronary heart disease after a high-fat meal. *Clin Cardiol* 25:219-224, 2002
231. Maier W, Cosentino F, Lutolf RB, Fleisch M, Seiler C, Hess OM, Meier B, Luscher TF: Tetrahydrobiopterin improves endothelial

-
- function in patients with coronary artery disease. *J Cardiovasc Pharmacol* 35:173-178, 2000
232. O'Driscoll G, Green D, Maiorana A, Stanton K, Colreavy F, Taylor R: Improvement in endothelial function by angiotensin-converting enzyme inhibition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 33:1506-1511, 1999
233. Webb DJ, Boolell M, Muirhead G. Cardiovascular effects of phosphodiesterase type 5 inhibition with concomitant nitrate therapy. *Circulation* 98 (Suppl 17), I-637. 1998.
234. Zusman RM, Prisant LM, Brown MJ: Effect of sildenafil citrate on blood pressure and heart rate in men with erectile dysfunction taking concomitant antihypertensive medication. Sildenafil Study Group. *J Hypertens* 18:1865-1869, 2000
235. Pomara G, Morelli G, Pomara S, Taddei S, Ghiadoni L, Dinelli N, Travaglini F, Dicuio M, Mondaini N, Salvetti A, Selli C: Cardiovascular parameter changes in patients with erectile dysfunction using pde-5 inhibitors: a study with sildenafil and vardenafil. *J Androl* 25:625-629, 2004
236. Herrmann HC, Chang G, Klugherz BD, Mahoney PD: Hemodynamic effects of sildenafil in men with severe coronary artery disease. *N Engl J Med* 342:1622-1626, 2000
237. Mahmud A, Hennessy M, Feely J: Effect of sildenafil on blood pressure and arterial wave reflection in treated hypertensive men. *J Hum Hypertens* 15:707-713, 2001
238. Schalcher C, Schad K, Brunner-La Rocca HP, Schindler R, Oechslin E, Scharf C, Suetsch G, Bertel O, Kiowski W: Interaction of sildenafil with cAMP-mediated vasodilation in vivo. *Hypertension* 40:763-767, 2002
239. Mahmud A, Hennessy M, Feely J: Effect of sildenafil on blood pressure and arterial wave reflection in treated hypertensive men. *J Hum Hypertens* 15:707-713, 2001
240. Piccirillo G, Nocco M, Lionetti M, Mois E A, Naso C, Marigliano V, Cacciafesta M: Effects of sildenafil citrate (viagra) on cardiac repolarization and on autonomic control in subjects with chronic heart failure. *Am Heart J* 143:703-710, 2002
241. Vardi Y, Klein L, Nassar S, Sprecher E, Gruenwald I: Effects of

sildenafil citrate (viagra) on blood pressure in normotensive and hypertensive men. *Urology* 59:747-752, 2002

242. Phillips BG, Kato M, Pesek CA, Winnicki M, Narkiewicz K, Davison D, Somers VK: Sympathetic activation by sildenafil. *Circulation* 102:3068-3073, 2000
243. Perciaccante A, Fiorentini A, Paris A, Serra P, Tubani L: Circadian rhythm of the autonomic nervous system in insulin resistant subjects with normoglycemia, impaired fasting glycemia, impaired glucose tolerance, type 2 diabetes mellitus. *BMC Cardiovasc Disord* 6:19, 2006
244. Molgaard H, Sorensen KE, Bjerregaard P: Circadian variation and influence of risk factors on heart rate variability in healthy subjects. *Am J Cardiol* 68:777-784, 1991

Lebenslauf

Name: Ovidiu Alin Știrban

Geburtsdatum und Ort: 04.05.1974
Cluj-Napoca (Klausenburg)
Rumänien

Familienstand: verheiratet mit Maryna Kravchenko

Aktuelle Position: Assistenzarzt

Adresse (dienstlich): Herz- und Diabeteszentrum NRW
Georgstr. 11
32545 Bad Oeynhausen
Tel: 05731 973724
Email: astirban@hdz-nrw.de

Konfession: griechisch-katholisch

Ausbildung und Werdegang

- 1981-1989** *Deutsche Schule „George Cosbuc“ Cluj-Napoca*
- 1989-1993** *Lyzeum für Informatik, Cluj-Napoca*
- 1993-1999** *Studium der Humanmedizin an der Hochschule „Iuliu Hatieganu“ Cluj-Napoca*
- 1999-2003** *Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Deutschen
Diabeteszentrum Düsseldorf, Koordinator für
Gefäßforschung*
- Seit 2003** *Assistenzarzt und Koordinator für Gefäßforschung der
Diabetesklinik des Herz- und Diabeteszentrums NRW,
Bad Oeynhausen*
- 07.01-
31.12.2006** *Rotation in die Kardiologieklinik des Herz- und
Diabeteszentrums NRW,
davon 6 Monate in die Abteilung für Intensivtherapie*
- Seit dem
01.01.2006** *Präsident des Deutsch-Rumänischen Vereins für die
Erforschung der Komplikationen des Diabetes mellitus*
- Seit
August 2007** *Herausgeber des deutsch-rumänischen Internetportals:
www.drdrv.de mit Fachinformationen für Diabetologen*
- Seit August
2007** *Vorstandsmitglied der Föderation der Internationalen
Donau-Symposia über Diabetes mellitus (FID)*
- Seit Januar
2009** *Chefredakteur der Zeitschrift: Jurnalul de diabet (Diabetes
Journal), eine Zeitschrift für Diabetespatienten in
rumänischer Sprache*
- Seit Januar
2009** *Chefredakteur der Zeitschrift: Diabet, Nutritie si Risc
Cardiometabolic (rumänische Zeitschrift für Ärzte)*

Preise und Forschungsfinanzierung:

1. **1999:** Erasmus Forschungsstipendium am Deutschen Diabetes Zentrum Düsseldorf
2. **1999-2000:** Sechsmonatiges Doktoranden- Forschungsstipendium des rumänischen Gesundheitsministeriums am Deutschen Diabetes Zentrum Düsseldorf
3. **2000:** Forschungsstipendium der Hanns-Seidel Stiftung am Deutschen Diabetes Zentrum Düsseldorf
4. **2007:** Stipendium Forschungspreis „Rotationstelle“ der Ruhr-Universität Bochum zur Freistellung zu Forschungszwecken 01.01.- 31.12.2008.
5. **2008:** Projektförderung (FoRUM) durch die Ruhr-Universität Bochum.

Publikationsliste:

1. Originalarbeiten (ohne Kongress-Abstracts):

- **Stirban A**, Negrean M, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Gotting C, Kleesiek K, Mueller-Roesel M, Koschinsky T, Uribarri J, Vlassara H, **Tschoepe D**: Benfotiamine prevents macro- and microvascular endothelial dysfunction and oxidative stress following a meal rich in advanced glycation end products in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Care* **2006**, 29:2064-2071.
- Negrean M, **Stirban A**, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Götting C, Kleesiek K, Mueller-Roesel M, Koschinsky T, Uribarri J, Vlassara H, **Tschoepe D**. Effects of low- and high-AGE (Advanced Glycation Endproducts) meals on macro- and microvascular endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2007 May;85:1236-43.
- Kirana S, Stratmann B, Lammers D, Negrean M, **Stirban A**, Minartz P, Koerperich H, Gastens MH, Götting C, Prohaska W, Kleesiek K,

Tschoepe D. Wound therapy with autologous bone marrow stem cells in diabetic patients with ischaemia-induced tissue ulcers affecting the lower limbs. *Int J Clin Pract.* 2007;61:690-692.

- **Stirban A**, Negrean M, Stratmann B, Götting C, Salomon J, Kleesiek K, Tschoepe D. Adiponectin decreases postprandially following a heat processed meal in people with type 2 diabetes mellitus - an effect prevented by benfotiamine and cooking method. **Diabetes Care**, 2007 Oct; 30(10):2514-6.

- Uribarri J, **Stirban A**, Sander D, Cai W, Negrean M, Buenting CE, Koschinsky T, Vlassara H: Single oral challenge by advanced glycation end products acutely impairs endothelial function in diabetic and nondiabetic subjects. **Diabetes Care** 2007;30(10):2579-82.

- Gawlowski T, Stratmann B, **Stirban A**, Negrean M, Tschoepe D: AGEs and methylglyoxal induce apoptosis and expression of Mac-1 on neutrophils resulting in platelet-neutrophil aggregation. *Thromb Res* 2007;121(1):117-26.

- **Stirban A**, Negrean M, Götting A, Gawlowski T, Stratmann B, Kleesiek K, Tschöpe D. Dietary advanced glycation end products: in vivo effects on endothelial function and adipokines. **Ann N Y Acad Sci.** 2008 Apr;1126:276-9.

- **Stirban A**, Tschoepe D. Should we be more aggressive in the therapy against cardiovascular risk factors? Should we prescribe statin and aspirin for every diabetic patient? Is it time for polypill? **Diabetes Care**, 2008; 31 (Supplement 2): S215- S221.

- **Stirban A**, Petrule S, Negrean M, Koschinsky T, Tschoepe D. Skin autofluorescence increases postprandially in human subjects. *Diabetes, Technology and Therapeutics* (**Accepted**, in press).

- **Stirban A**, Negrean M, Götting C, Uribarri J, Stratmann B, Gawlowski T, Mueller-Roesel M, Kleesiek K, Koschinsky T, Vlassara H, Tschoepe D. Leptin Decreases Postprandially in People with Type 2 Diabetes – An Effect Reduced by the Cooking Method. **Horm Metab Res.** 2008 Sep 15; 40: 896-900.

-
- **Stirban A**, Laude D, Elghozi JL, Sander D, Agelink M, Hilz MJ, **Ziegler D**. Effects of Sildenafil on Flow Mediated Dilatation and Cardiovascular Autonomic Nerve Function in Type 2 Diabetic Patients. ***Diabetes Metabolism Research and Reviews***. December 2008, Epub ahead of print.

2. Übersichtsarbeiten:

- **Stirban A**, Negrean M. Endotheldysfunktion: Verbindung von Insulinresistenz, Diabetes und Atherosklerose? ***Diabetes, Stoffwechsel und Herz, 2006***, 2: 41-52.
- **Stirban A**, Tschoepe D. Cardiovascular complications in diabetes -Targets and interventions - ***Diabetes Care***, 2008; 31 (supplement 2): S226- S228.
- **Stirban A**, Rösen P, Tschoepe D. Complications of type 1 diabetes – new molecular findings. ***Mt Sinai J Med***. 2008 Aug;75(4):328-51.
- **Stirban A**. Zycose: a new drug for the treatment of diabetes complications ? Drugs of Today (Invited review), ***Drugs Today (Barc)***. 2008 Oct;44(10):783-96.

3. Buchbeiträge:

- ***Pschyrembel Wörterbuch Diabetologie***. Erste Auflage. Herausgeber W.A. Scherbaum. De Gruyter Verlag 2003. **Koautor**.
- ***Pschyrembel Wörterbuch Diabetologie***. Zweite Auflage. Herausgeber W.A. Scherbaum. De Gruyter Verlag 2006. **Koautor**.
- ***Modern therapies for diabetes mellitus***. Publishing house of the Iuliu Hatieganu University, Cluj-Napoca, Romania. Editor: Nicolae Hancu. 2008. **Koautor**.

Eingeladene Vorträge (ohne Kongressvorträge nach eingereichten Abstracts):

-
1. ***Endothelial Dysfunction: Cause or Consequence of Diabetes Mellitus?*** Jahreskongress der Rumänischen Diabetes-Föderation, Cluj-Napoca, Rumänien, November 2005.
 2. ***Die richtige Küchenpraxis zur Reduzierung krankheitsauslösender Nahrungs - AGEs und somit Vorbeugung von z.B. Diabeteskomplikationen oder Atherosklerose.*** GDV Fortbildungsveranstaltung, Bad Sassendorf, März 2006.
 3. ***From diabetes to new drugs for cardiovascular prevention?*** Kongress der Rumänischen Kardiologie-Gesellschaft. Sinaia, Mai 2006.
 4. ***Klinische Bedeutung und Wirkung von PUFA auf die Endothelfunktion beim Hochrisikopatienten.*** Kongress der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Mannheim, April 2007.
 5. ***Bedeutung von AGE- induzierten mikro- und makrovaskulären Veränderungen für die Prophylaxe diabetischer Begleiterkrankungen - Rolle des Benfotiamins*** – Firmensymposium, Frankfurt, April 2007.
 6. ***Nahrungs Advanced Glycation Endproducts: Wirkung auf Endothelzellen und Adipozyten.*** Jahreskongress der Deutschen Diabetes Gesellschaft. Hamburg, Mai 2007.
 7. ***Dietary advanced glycation end products: in vivo effects on endothelial function and adipokines.*** 9th International Symposium on the Maillard Reaction. München, September 2006.
 8. ***In vivo Effects of Advanced Glycation End Products.*** Grand Rounds, Mount Sinai School of Medicine, New York, September 2007.
 9. ***Benfotiamine in the treatment of diabetes complications.*** National scientific meeting of the Romanian Diabetes Federation. Cluj-Napoca, Romania, November 2007.
 10. ***Effects of dietary AGE-products in humans.*** Else Kröner-Fresenius-Zentrum für Ernährungsmedizin, Technische Universität München, 17 Januar 2008.
 11. ***Wirkung der Nahrungs- Advanced Glycation end Products***

(AGE) bei Menschen. Diabetes- Messe Münster, Februar 2008.

12. **Advanced glycation end products: in vivo effects and therapeutical approaches.** Meeting of the Catalan Diabetes Society. Barcelona, Spain, March 2008.
13. **AGE-Produkte in der Nahrung und ihre Effekte bei Diabetespatienten.** Jahreskongress der DDG, München, Mai 2008.
14. **Benfotiamine and diabetes: therapeutical approaches.** 23. Internationales Donausymposium / Zentraleuropäischer Diabeteskongress. Plovdiv, Bulgarien. Juni 2008.
15. **Prevention of postprandial vascular dysfunction.** Expert Symposium on „Pathophysiology and pathogenetically based treatment options of diabetic complications“- Rome 11th September 2008.
16. **Benfotiamine in the prevention of diabetes and cardiovascular complications.** Woerweg Symposium, Kiev, Ukraine, November 2008.

Vorsitz:

1. Vorsitz Poster-Veranstaltung am 18.05.2007. Jahreskongress der Deutschen Diabetes Gesellschaft. Hamburg, Mai 2007.
2. Vorsitz Freie Vorträge: Folgeerkrankungen/ Mikroangiopathie am 02.05.2008. Jahreskongress der Deutschen Diabetes Gesellschaft. München, Mai 2008.

Gutachter von:

- “Diabetic Medicine”
- “Diabetologia” (EASD)
- “Hormone and Metabolic Research”
- “Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes”
- “Molecular Nutrition and Food Research“
- “Diabetes, Technology and Therapeutics”
- “European Journal of Nutrition”

Zusammenfassung der Arbeit

Hintergrund: Sildenafil wird häufig als „on demand“ Medikation zur Therapie der erektilen Dysfunktion eingesetzt. In den letzten Jahren wurde suggeriert, dass Sildenafil die Endothelfunktion verbessert, jedoch den Blutdruck senkt und reaktiv eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems verursacht. Bei Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus, eine Patientengruppe mit erhöhtem kardiovaskulären Risiko, wurde bislang das Sicherheitsprofil und die Wirkung auf die Endothelfunktion der Maximaldosis Sildenafil (100mg) nicht untersucht und stellte deshalb das Ziel unserer Studie dar.

Methoden: Eine doppel-blinde, randomisierte, Placebo-kontrollierte, cross-over Studie zur Untersuchung der Akuteffekte einer Einmalgabe von 100 mg Sildenafil wurde bei 40 Männern mit Diabetes mellitus ohne bekannte kardiovaskuläre Erkrankungen durchgeführt. Hämodynamische Parameter und die flussabhängige Dilatation der A. brachialis (FAD) wurden gemessen, sowie Tests zur Untersuchung der autonomen Nervenfunktion und spontanen Baroreflexsensitivität (BRS) wurden durchgeführt.

Ergebnisse: Sechzig Minuten nach Gabe von Sildenafil, aber nicht nach Gabe von Placebo, kam es zu einem Abfall des systolischen (-5.41 ± 1.87 vs. $+0.54 \pm 1.71$ mmHg) und diastolischen (-4.46 ± 1.13 vs. $+0.89 \pm 0.94$ mmHg) Blutdrucks im Liegen, sowie des systolischen (-7.41 ± 2.35 vs. $+0.94 \pm 2.06$ mmHg) und diastolischen (-5.65 ± 1.45 vs. $+1.76 \pm 1.00$ mmHg) Blutdrucks nach plötzlichem Aufstehen (Orthostase-Test), begleitet von einer Erhöhung der Herzfrequenz ($+1.98 \pm 0.69$ vs. -2.42 ± 0.59 beats/min) ($p < 0.01$ vs. Placebo für alle). Der orthostatische Blutdruckabfall, die FAD, die Parameter der Herzfrequenzvariabilität und der BRS als Ausdruck der autonomen Nervenfunktion, veränderten sich vergleichbar nach Sildenafil und Placebo.

Schlussfolgerung: Eine Einmalgabe der Sildenafil Maximaldosis (100 mg) verursacht bei Männern mit Typ 2 Diabetes mellitus eine moderate Senkung des Blutdrucks und Erhöhung der Herzfrequenz, verbessert nicht die Endothelfunktion, hat aber auch keine negativen Effekte auf die orthostatische Blutdruckregulation, Herzfrequenzvariabilität und BRS und verursacht somit keine Aktivierung des sympathischen Nervensystems.