

Aus der Abteilung für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie der
Universitätskliniken Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. B.E. Strauer

**Eine doppel-blind, Placebo kontrollierte, monozentrische Studie
zur Untersuchung der Sicherheit und Verträglichkeit des
Endothelin-Rezeptorantagonisten VML 588 bei Patienten mit
koronarer Herzkrankheit**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von

André Knust

2004

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

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Wolfgang H.-M. Raab
Dekan

Referent: Prof. Dr. med. Bodo Schwartzkopff

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. med. Bernhard Korbmacher

... meinen Eltern in Liebe gewidmet...

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz besonders bei

Prof. Dr. med. Bodo Schwartzkopff

und

Dr. med. Markus Mundhenke

für die hervorragende Betreuung während des gesamten Zeitraums der
Anfertigung dieser Dissertation bedanken!

1 Einleitung

1.1 Aufbau, Biosynthese und Isoformen von Endothelin	3
1.2 Endothelin Konversionsenzym (ECE)	4
1.3 Funktion und Wirkung von Endothelin-1	6
1.4 Endothelin-Rezeptoren	6
1.5 Endothelin als diagnostischer und prognostischer Faktor	7
1.6 Therapieoptionen mittels Endothelinrezeptorantagonisten und ECE-Hemmer	7
1.7 Theoretische Grundlagen unserer Studie	8
1.8 Testsubstanz VML 588	9
1.9 Bekannte Risiken und Nebenwirkungen von Endothelinrezeptorantagonisten	9
1.10 Ziele der vorliegenden Arbeit	10

2 Material und Methoden

2.1 Studienaufbau	11
2.1.1 Patienten	11
2.2 Messung der Laborwerte und verwendete Nachweisverfahren	20
2.3 Statistische Auswertung	21
2.4 Einverständniserklärungen und Genehmigung der Studie	22

3 Ergebnisse

3.1 Studienkollektiv	23
3.2 Blutdruck- und Herzfrequenzwerte	25
3.3 Lävokardiographie	28
3.3.1 Koronarangiographie	29
3.4 Echokardiographie	30
3.5 VML588-, ET-1- und Big-ET-Konzentrationen	32
3.6 Verträglichkeit und Nebenwirkungen von VML 588	35

4 Diskussion

4.1 Wertung der Ergebnisse der Studienziele	37
4.2 Möglichkeiten der klinischen Nutzung von Endothelinwerten als prognostischer Faktor bei KHK	42
4.3 Klinische Anwendbarkeit der Blockierung des Endothelinsystems und Ausblicke	42
4.4 ECE-Hemmer	47
4.5 Zusammenfassung zu VML 588	48

5 Inhaltsverzeichnis aller Tabellen und Abbildungen	50
--	-----------

6 Literaturverzeichnis	52
-------------------------------	-----------

7 Anhang

7.1 Lebenslauf	63
7.2 Zusammenfassung (Abstract)	64

1 Einleitung

1.1 Aufbau, Biosynthese und Isoformen der Familie der Endothelin-Peptide

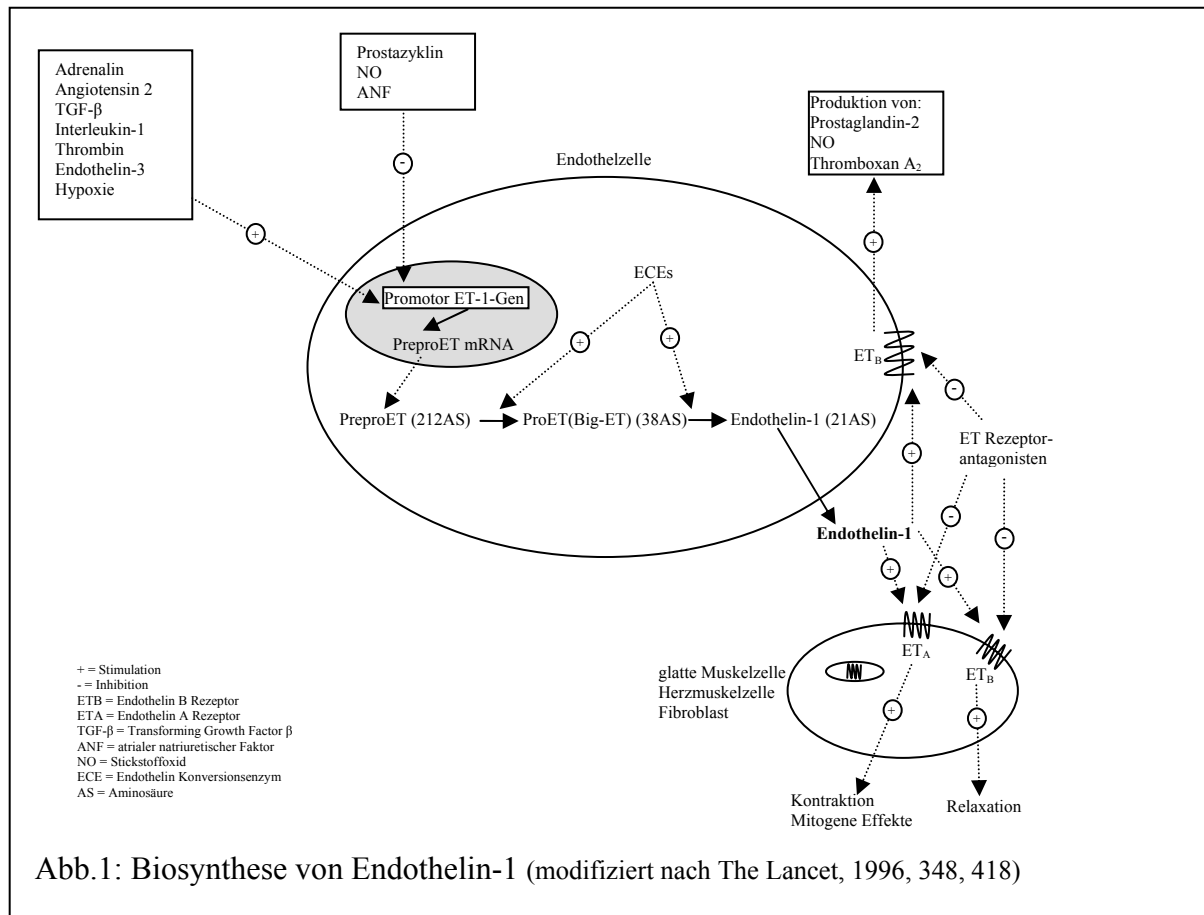
Endothelin (ET-1) ist ein stark vasokonstriktorisches wirksames Peptid, welches erstmals 1988 von Yanagisawa et al. aus dem Kulturüberstand von Schweineendothelzellen isoliert wurde (¹⁹³). Seitdem wurden drei weitere Endothelin-Isomere, ET-2, ET-3 und ET-4, isoliert. Alle vier Peptide bestehen aus 21 Aminosäuren und werden durch zwei intermolekulare Disulfidbrücken zu einer Ringstruktur geformt, wobei sich ET-1 und ET-2 durch zwei Aminosäuren, ET-1 und ET-3 durch sechs Aminosäuren voneinander unterscheiden (^{71;143}). Endothelin wurde in unterschiedlichen Geweben wie Lunge, Niere, Gehirn, Schleimhaut und Plazenta gefunden (^{61;159}). ET-1 wird dabei im Gegensatz zu ET-2, ET-3 und ET-4 auch in Endothelzellen produziert. Dabei sind Endothelzellen der Gefäße die wichtigsten Quellen für Endothelin im lebenden Organismus (¹⁹³), wobei eine verstärkte ET-1 Konzentration in arteriosklerotischen Plaques nachgewiesen wurde (^{93;108;196}). Quantitativ und qualitativ am bedeutendsten ist beim Menschen das Endothelin-1, welches eine starke Ähnlichkeit mit dem Schlangengift der Atractaspis-Gattung hat (^{81;102}).

Während ET-1 in erster Linie von Endothelzellen gebildet wird, werden ET-2 und ET-4 beide von Epidermalzellen der Magenschleimhaut, Lunge und Leber produziert und unterscheiden sich in nur einer einzigen Aminosäure (²⁷). ET-3 wird ausschließlich in intestinalen Zellen gebildet (¹⁴³). Alle vier Endothelinformen werden im Genom von Mensch, Schwein und Ratte codiert (⁷¹) und entstehen durch proteolytischen Abbau des 203 Aminosäuren langen Preproendothelins, von welchem es verschiedene Unterformen gibt (Abb.2). Die Transkription des Preproendothelins wird unter anderem durch einen phorbol-ester-sensitiven c-fos und c-jun Komplex (⁹²), einige Akute Phase Proteine (⁷²), vasoaktiven Substanzen [Abb.1] und Bindungsstellen für AP-1 und GATA-2 (^{34;111}) reguliert. Als letzte Zwischenstufe entsteht schließlich das aus 38 Aminosäuren bestehende Big-Endothelin (Big-ET). Nach der Big-ET-Synthese im Zytoplasma, wird dieses von einer membrangebundenen Metalloendopeptidase, dem „Endothelin Converting Enzyme-1“ (ECE-1) von welchem vier verschiedene Isoformen (a, b, c, d) existieren (^{151;152;154;171;172;191}), zum physiologisch aktivem Endothelin (bestehend aus den Aminosäuren 1-21; Spaltung zwischen Trp₂₁-Val₂₂) und C-terminalen Fragment (bestehend aus den Aminosäuren 22-38) gespalten (^{40;191}).

Die Biosynthese von Endothelin-1 ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

Dieser Vorgang findet sowohl im Zytoplasma als auch im zirkulierenden Blut statt, allerdings scheint der Hauptanteil dieser Konversion im Zytoplasma vorgenommen zu werden (¹⁸⁵).

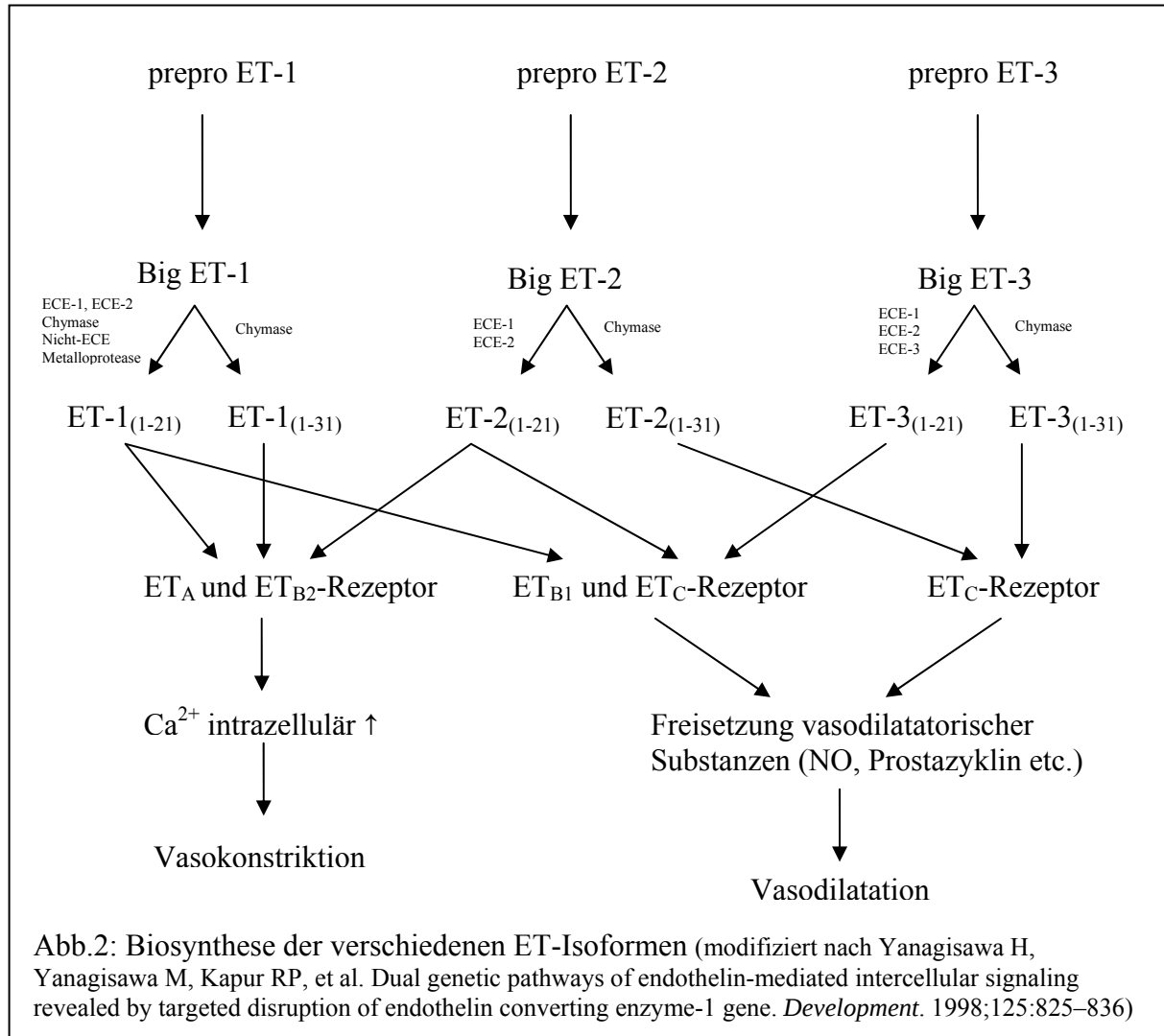
Außerdem kann diese Spaltung durch das Enzym Chymase (¹⁹⁰) sowie dem ECE-2 (⁴⁰) erfolgen. Chymase kann weiterhin die Spaltung zwischen Tyr₃₁-Gly₃₂ katalysieren, wodurch eine 31 Aminosäure lange Form des ET-1 entsteht (¹¹⁷). ECE-3 konvertiert Big-ET3 zu ET-3 (⁵⁷).



1.2 Endothelin Konversionsenzym (ECE)

ECEs sind in den Membranen von Endothelzellen (^{152;191}), glatten Muskelzellen (^{98;108;139}), Kardiomyozyten (^{47;82}) sowie Makrophagen (^{47;108}) lokalisiert. Die ECE-1 Expression wird durch einen Protein-C-Kinase abhängigen Mechanismus reguliert (¹⁷⁰) ebenso wie durch ET_B-Rezeptoren (¹¹⁸), dem Transkriptionsfaktor ets-1 (¹²⁸) sowie Zytokinen (¹⁹⁵). In Mäusen, bei denen ECE-1 vollständig blockiert wurde, gingen die ET-1 Konzentrationen lediglich um etwa ein Drittel zurück, woraus sich schließen lässt, dass ECE unabhängige Mechanismen ebenfalls zur Endothelinproduktion beitragen (^{107;192}). Eine dem ECE vergleichbare Aktivität wurde im Serum der menschlichen Lipoproteinfraktion gezeigt (¹²³). Außerdem wurden neben dem Enzym Chymase weitere ET-1 produzierende nicht-ECE-Metalloproteinasen entdeckt.

Chymase aus menschlichen Mastzellen ist hierbei in der Lage, Big ET in eine 31 aminosäurelange Endothelinform zu konvertieren, welche zwar die selben Wirkungen wie die 21 aminosäurelange Endothelinform aufweist, diese allerdings in einer abgeschwächten Stärke hervorruft (^{78;117;121}).



Ein weiterer wichtiger Faktor zur Regulierung der ET-1 Konzentration im Blut ist die pulmonale Clearance. Diese wird fast ausschließlich durch ET_B-Rezeptoren vermittelt und ist z.B. bei chronischer Herzinsuffizienz durch eine Downregulation der ET_B-Rezeptoren in der Lunge stark eingeschränkt (^{38;83}).

Die physiologische Bedeutung der Spaltung von Big-ET zu ET-1 zeigt sich an der 140fach stärkeren vasokonstriktorischen Wirkung von Endothelin im Vergleich zu seinem Vorgänger Big-Endothelin (⁷⁹). Die biologische Halbwertszeit von Endothelin im Plasma hingegen liegt

unter einer Minute, während Big-Endothelin wesentlich langsamer abgebaut wird, seine Halbwertszeit beträgt etwa eine Stunde (³¹).

1.3 Funktion und Wirkung von Endothelin-1

Neben der Regulation des Gefäßtonus wirkt Endothelin auch als Regulator des Zellwachstums, beeinflusst die DNA-Synthese und die Expression von Protoonkogenen, wobei Endothelin sowohl autokrin als auch parakrin (^{56;73;155;179}) über spezifische Rezeptoren wirksam ist. Dies wurde an glatter Muskulatur (⁵⁶), Kardiomyozyten (^{46;73}) und Mesangiumzellen (^{48;116}) untersucht. Weiterhin wirkt Endothelin synergistisch mit einer Vielzahl von anderen Regulationsfaktoren wie EGF, PDGF, bFGF, TGF's und Insulin. Endothelin hat weiterhin einen mitogenen Effekt (^{3;84}), stimuliert die Produktion von diversen Zytokinen und Wachstumsfaktoren (^{1;67;104}), induziert die Biosynthese von extrazellulären Matrixproteinen (⁵⁴) und potenziert die Effekte des transforming growth factor- β (¹⁸⁸) und trägt zur Aktivierung von Leukozyten z.B. nach Schock oder Ischämie bei (^{12;18;27}).

1.4 Endothelin-Rezeptoren

Endothelin-1 bindet an vier verschiedene Rezeptorsubtypen, ET_A-, ET_{B1}-, ET_{B2}- und ET_C-Rezeptoren (^{101;126}). ET_A- und ET_{B2}-Rezeptoren wirken in vitro und in vivo in erster Linie vasokonstriktorisch; in vitro vermitteln sie zusätzlich positiv inotrope und mitogene Eigenschaften am Herzen (¹⁵⁵). Dabei wird durch die Bindung des Endothelin an den ET_A Rezeptor Phospholipase C aktiviert, was zu einer Akkumulation von Inositol Triphosphat und intrazellulärem Calcium und dadurch zu einer lang anhaltenden Vasokonstriktion führt (^{4;6;53;95;194}). ET_{B1} Rezeptoren besitzen über eine NO und Prostazyklin vermittelte, endothelabhängige Wirkung vasodilatierende Eigenschaften, weiterhin können sie auf den glatten Muskelzellen der Gefäße G-Proteinabhängig vasokonstringierende Eigenschaften besitzen und ebenfalls in vitro eine positive Inotropie aufweisen (^{65;146;147;184}). Außerdem wird die ECE-1 Expression auf Endothelzellen durch aktivierte ET_{B2} Rezeptoren inhibiert (¹¹⁸). Schließlich vermitteln ET_{B2} Rezeptoren die pulmonale Clearance des zirkulierenden ET-1 sowie dessen Re-Uptake durch Endothelzellen (^{38;49;74;129}). So stiegen bei Patienten, die mit non-selektiven ET-Antagonisten behandelt wurden, die ET-1 Konzentrationen im Plasma an, da hierdurch auch die ET_{B2} Rezeptor vermittelte pulmonale Clearance reduziert war (⁸⁰). Sowohl ET_A- als auch ET_B Rezeptoren konnten in Gefäßen als auch am Herzen nachgewiesen werden. Während ET_A Rezeptoren eine mehr als hundertfach höhere Affinität zu ET-1 und

ET-2 als zu ET-3 haben, ist die Affinität der verschiedenen Isoformen von Endothelin zu den ET_B Rezeptoren in etwa gleich (^{101;135}).

1.5 Endothelin als diagnostischer und prognostischer Faktor

Die Endothelin und Endothelin Konversionsenzym Biosynthese wird unter anderem von kardiovaskulären Risikofaktoren wie Hypercholesterinämie, erhöhten Glukosekonzentrationen bei Diabetes Mellitus Typ 2, Östrogen-Defizit, Kokain Gebrauch, erhöhtem Alter, Zytokinen, Hypoxie und Koagulationsmediatoren wie Thrombin stimuliert (^{2;5;8;9;19;21;62;99;138}). Unterschiedlich sind die Ergebnisse im Hinblick auf den Einfluss von oxidierten Lipoproteinen auf die Endothelinkonzentration. Erhöhte LDL und VLDL Werte korrelieren im allgemeinen mit erhöhten Endothelinwerten, was vermuten lässt, dass hierbei Endothelin zur Arteriosklerose beiträgt, daneben ist Endothelin auch als prognostischer Faktor der Arteriosklerose nutzbar (^{22;69;99}). Allerdings gibt es auch Hinweise auf die Inhibition der Endothelinsekretion von höhergradig oxidiertem LDL (⁶⁰). Inhibiert wird die Endothelinbiosynthese unter anderem von NO, Prostacyclin, ANP und Östrogenen (^{21;46;58;111;157;197}).

Erhöhte Plasmawerte von Endothelin und Big-Endothelin können als Prognosefaktoren bei Herzinsuffizienz und bei akutem Herzinfarkt dienen (^{125;130}). Außerdem wurde Endothelin als Marker für eine frühe Reokklusion nach PTCA bei Arteriosklerose, Dysfunktion des koronaren Endothels (⁹⁴), Leberschädigungen und progressive Niereninsuffizienz (¹³²) beschrieben. Hohe Endothelinwerte wurden in unterschiedlichen Stadien von Ischämie (¹⁹⁷) und manifestem Hypertonus beobachtet (⁴²). Außerdem findet man erhöhte ET-Werte bei Patienten während Herz-, Leber-, Nieren- und Knochenmarkstransplantationen (¹⁸⁶).

Bei chronischer Herzinsuffizienz konnte gezeigt werden, dass mit abnehmender kardialer Belastbarkeit ein Anstieg der zirkulierenden Endothelin-Plasmakonzentrationen beim Menschen auftritt (⁶⁶). Dabei konnte sowohl in vivo als auch in vitro nachgewiesen werden, dass Endothelinkonzentrationen in Größenordnungen der gemessenen, zirkulierenden Endothelin-Plasmakonzentrationen vasomotorische Wirkungen entfalten (¹³³).

1.6 Therapieoptionen mittels Endothelinrezeptorantagonisten und ECE-Hemmer

Mittlerweile gibt es Endothelin Rezeptorantagonisten, die sowohl selektiv ET_A oder ET_B Rezeptoren als auch unspezifisch beide gleichzeitig blockieren können. Eine Blockade des ET_B Rezeptors beeinträchtigt die pulmonale Clearance von ET-1 und reduziert die NO vermittelte Vasodilatation (^{49;174}). Beim Menschen führt die systemische selektive Blockade

der ET_B-Rezeptoren zu einer Erhöhung des peripheren Widerstands (¹⁶⁰). Außerdem ist ein ET_B Rezeptordefizit bei Mäusen mit einer Hypertension und chronischer Herzinsuffizienz assoziiert (^{83;122}). Daraus lässt sich schließen, dass eine erhöhte ET_B Rezeptor Expression und eine ET_B vermittelte NO vermittelte Vasodilatation weitere vasodilatative Kapazitäten schaffen könnte.

In den meisten klinischen Studien verbesserten kombinierte ET_A und ET_B Antagonisten die kardiovaskulären Funktionen und Strukturen (^{50;75;80;80;112;161;180;189}), was vermuten lässt, dass, trotz einer zusätzlichen ET_B-Blockade, durch eine ET_A-Blockade therapeutische Effekte erzielt werden können.

Auch eine Blockade des Endothelin Converting Enzyme ist inzwischen möglich, was die ET-1 Produktion drosseln würde. Nachdem allerdings inzwischen auch ECE unabhängige Wege, wie durch Chymase oder nicht ECE-Metalloproteinasen, zur Produktion von ET-1 aufgedeckt wurden, zeigt sich vielleicht direkt die Limitierung der Wirksamkeit dieses Weges. Die Endothelinproduktion kann indirekt durch Inhibitoren des Renin-Angiotensin-Systems oder durch Statine, die unabhängig von ihren lipidsenkenden Eigenschaften die Expression der preproET-1 mRNA reduzieren, vermindert werden (^{25;27;28;64;115;142;153}).

1.7 Theoretische Grundlagen unserer Studie

Neuere experimentelle Studien weisen darauf hin, dass ebenfalls die Koronarzirkulation in Ruhe durch den vasokonstriktorischen Einfluss des Endothelinsystems negativ beeinflusst wird, und die pharmakologische Blockade des Systems zu einer signifikanten Steigerung des kardialen Ruheblutflusses beiträgt (^{51;181}). Messungen der Endothelin-Plasmakonzentration bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie bei simultaner aortaler und coronarvenöser Abnahme ergaben, dass in Abhängigkeit der Beschwerdesymptomatik, erhoben anhand der Klassifikation der New York Heart Association, eine erhöhte aorto-coronarvenöse ET-1/Big-ET Differenz vorliegt (¹¹³). Da eine in vitro Steigerung der myokardialen Kontraktilität durch ET-1 bekannt ist, ist zu vermuten, dass eine Hemmung des Endothelinsystems akut die Kontraktilität verschlechtert (¹⁶). Es könnte allerdings durch eine gezielte Blockade der ET_A Rezeptoren eine Vasodilatation über den ET_B Rezeptor auftreten, so dass ein erhöhtes Substratangebot für das Herz geschaffen wird, welches zu einer verbesserten koronaren Regulationsbreite beitragen kann. Klinische Studien fehlen, welche die Bedeutung klären, die die ET_A Rezeptorblockade auf die myokardiale Kontraktilität bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit hat. Ungeklärt ist somit, ob es unter akuter ET_A Rezeptorblockade zu einer Veränderung der LV-Funktion kommt.

1.8 Testsubstanz VML 588

VML 588 (früher Ro 61-1790) ist ein von der Firma Hoffmann-La Roche entwickelter, nicht peptidischer Endothelin-Rezeptorantagonist, der eine etwa 1000fach höhere Affinität zu den ET_A Rezeptoren als zu den ET_B Rezeptoren hat, Seine Halbwertszeit liegt bei knapp einer Stunde (¹⁴⁰).

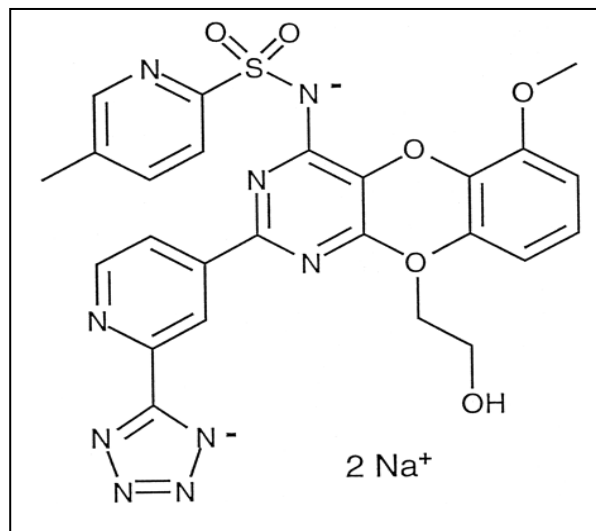


Abb.3: Die chemische Struktur von VML 588 [5-methyl-pyridin-2-sulfat 6-(2-hydroxy-ethoxy)-5-(2-methoxy-phenoxy)-2-(2-1H-tetrazol-5-yl-pyridin-4-yl)-pyrimidin-4-ylamide dinatriumsalz]

In verschiedenen tierexperimentellen Studien zeigte sich, dass VML 588 bzw. Ro 61-1790 ein effektiver ET_A-Rezeptorblocker ist. Dabei wurde seine Wirkung und Effektivität in Bezug auf Gefäßkontraktilität, Blutfluß und Reduktion von Ischämieschäden an der Niere, im Gehirn, am Herzen und auch am Uterus nachgewiesen (^{29;52;105;109;131;140;141;148}).

1.9 Bekannte Risiken und Nebenwirkungen von Endothelinrezeptorantagonisten

Da ET-Rezeptorantagonisten teratogene Effekte haben, die zu kraniofazialen und organischen Malformationen führen können, sind sie während einer Schwangerschaft sowie bei Frauen im gebärfähigen Alter kontraindiziert (^{89;91;156;167}). In anderen klinischen Studien wurde nach Gabe von Endothelinantagonisten eine erhöhte Herzfrequenz, Flush und Ödeme im Gesichtsbereich beschrieben, was wahrscheinlich auf die Vasodilatation zurückzuführen ist. Des weiteren wurde über nitratähnliche Kopfschmerzen bei gesunden Probanden berichtet, welche allerdings bei Patienten weniger stark ausgeprägt waren (^{24;33;88;166;173}). Als weitere mögliche Risiken und Nebenwirkungen gelten bei Endothelinantagonisten gastrointestinale

Störungen wie Übelkeit, Verstopfungen oder Erbrechen sowie Interaktionen mit Antikoagulantien wie Marcumar (¹⁸⁷).

1.10 Ziele der vorliegenden Arbeit

Das primäre Ziel dieser Phase II-Studie war zu klären, ob und in welchem Ausmaß die akute i.v. Gabe von VML 588 einen Einfluss auf die LV-Funktion der Patienten hat. Des Weiteren wollten wir die Pharmakokinetik von VML 588 sowie die durch dessen ET_A-Antagonismus hervorgerufenen Einflüsse auf die Plasmakonzentration von ET-1 (1-21) und Big-ET (1-38) untersuchen. Außerdem sollten Erkenntnisse über die Effekte von VML 588 auf hämodynamische Parameter bei den Studienteilnehmern gewonnen werden.

Sekundäres Ziel im Rahmen der Phase II-Studie war die Überprüfung der Sicherheit und Verträglichkeit von VML 588.

VML 588 soll zur Vorbeugung von Nierenversagen bei Patienten, die sich einer Operation am Herzen oder den großen Blutgefäßen unterziehen müssen, eingesetzt werden.

2 Material und Methoden

2.1 Studienaufbau

Das Studienprotokoll der durchgeführten Studie war doppelt-blind, randomisiert und Placebo kontrolliert. Es wurden insgesamt 20 Patienten eingeschlossen, bei denen eine routinemäßig geplante Kontroll-Koronarangiographie durchgeführt wurde. VML 588 wurde dabei über einen Zeitraum von insgesamt sechs Stunden intravenös mittels eines Perfusors verabreicht. Beginn der Infusion war zwei Stunden vor Beginn der Koronarangiographie. Die Patientengruppe wurde in zwei Kohorten unterteilt. Die erste Gruppe erhielt eine Infusionsmenge von 0,1mg/kg/h VML 588. Nach Abschluss dieser ersten Kohorte wurden die dabei gesammelten Daten auf Sicherheit und Verträglichkeit von VML 588 hin überprüft und daraufhin eine Dosis von 0,2mg/kg/h für die zweite Kohorte festgelegt. In beiden Kohorten betrug das Verhältnis von Placebo zu Verum 1:4, das heißt von 10 Patienten erhielten 8 Patienten Verum und 2 Patienten Placebo.

2.1.1 Patienten

Tabelle 2.1 gibt eine Übersicht der 20 Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden.

Einschlusskriterien für die Patienten waren:

- männlich oder weiblich, im Alter zwischen 18 und 70 Jahren
- Patienten hatten die Indikation zur Koronarangiographie und waren deshalb in die Klinik gekommen
- Patienten mussten nach folgenden Definitionen eine bekannte oder wahrscheinliche koronare Herzkrankheit haben:
 - o Patienten mit bekannter koronarer Herzkrankheit waren diejenigen, die einen nachgewiesenen Herzinfarkt nach den Kriterien der World Health Organisation (WHO) hatten oder diejenigen, deren koronare Herzkrankheit durch eine frühere Koronarangiographie bestimmt wurde
 - o Patienten mit wahrscheinlicher koronarer Herzkrankheit waren diejenigen, die eine Belastungs- oder Ruheangina mit einen positiven Belastungsstresstest wie z.B. einem Belastungs-EKG oder einer Stress-Echokardiographie oder einer Stress-Perfusionsszintigraphie aufwiesen

Nr.	Geb.Datum	Vorerkrankungen / Diagnosen	Vormedikation	Ergebnis der Koronarangiographie		
				vorbekannter Gefäßstatus	Gefäßstatus (klinisch relevante Stenose >50%)	Stenose
1	21.06.1941	KHK, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus TYP II	Enalapril, Glibenclamid, ASS, Isosorbid dinitrat	1-Gefäß-KHK	keine relevante KHK	RIVA – R.diag – 30%
2	08.04.1956	Z.n. Hinterwandinfarkt, KHK, Hyperlipidämie, Hämorrhoiden, Migräne	ASS, Metoprolol, Enalapril, Diltiazem, Atorvastatin, Ranitidin	1-Gefäß-KHK	1-Gefäß-KHK	RCA prox. – 100%
3	14.01.1951	Z.n. Anteroseptalinfarkt, KHK, Hypercholesterinämie, leichter C ₂ -Abusus	ASS, Betaxolol, Simvastatin	1-Gefäß-KHK	keine relevante KHK	RIVA prox. – 30%
4	10.05.1934	Z.n. Vorderwandinfarkt, KHK, Ulcera ventriculi et duodeni, Z.n. selektiver prox. Vagotomie, Hyperlipidämie, Z.n. Hamblasen-Ca-Resektion	Isosorbid dinitrat, Ticlopidin, Clopamid, Reserpin, Verapamil, Baldrian	1-Gefäß-KHK	1-Gefäß-KHK	RIVA prox. – 70% RIVA – R.diag. – 80%
5	25.02.1944	Z.n. Vorderwandinfarkt, Z.n. 3-fach ACVB, KHK, arterielle Hypertension, Z.n. Laminektomie, Analfistel	ASS, Metoprolol, Captopril	3-Gefäß-KHK	3-Gefäß-KHK	LCA – 50% RIVA prox. – 100% RCX – 100% {ACVB – offen (0%)}
6	28.07.1941	KHK, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus Typ II, Hyperurikämie, Bandscheibenprolaps	Isosorbid, dinitrat, Fluvastatin, ASS, Glibenclamid	3-Gefäß-KHK	2-Gefäß-KHK	RIVA prox. – 40% RCX – R.marginalis – 80% RCA prox. – 40% RCA mitte – 40% RCA dist. – 80%

7	06.06.1938	Z.n. Posterolateralinfarkt, KHK, Hypercholesterinämie, Frozen shoulder, benigne Prostatahyperplasie, Tinnitus, Hypakusis	ASS, Captopril, Metoprolol, Isosorbid dinitrat, Lovastatin	1-Gefäß-KHK	Keine relevante KHK	RIVA prox. – 30%
8	09.01.1933	Z.n. Hinterwandinfarkt, KHK, arterielle Hypertension, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus Typ II	Metoprolol, Glibenclamid, Clopidogrel	2-Gefäß-KHK	1-Gefäß-KHK	RIVA prox. – 60% RCA mitte – 20%
9	02.06.1940	Z.n. Vorderwandinfarkt, KHK, Hypercholesterinämie	Metoprolol, ASS, Simvastatin	2-Gefäß-KHK	1-Gefäß-KHK	RIVA prox. – 60% RCA mitte – 20%
10	03.01.1925	KHK, 1-fach ACVB, arterielle Hypertension, Hypercholesterinämie, Aortenklappensklerose, Z.n. Cholezystektomie	Metoprolol, Isosorbid dinitrat, ASS, Captopril, Lormetazepam, Molsidomin, Lovastatin	3-Gefäß-KHK	2-Gefäß-KHK	RIVA prox. – 100% RCX prox. – 40% RCA prox. – 50% {ACVB – offen (0%)}
11	14.11.1931	KHK, arterielle Hypertension, Hämorrhoiden	ASS, Metoprolol, Nadroparin	1-Gefäß-KHK	1-Gefäß-KHK	RIVA prox. – 80%
12	31.10.1949	KHK, Hyperlipidämie, Coronarvasospasmus, Tinnitus	ASS, Clopidogrel, Isosorbid dinitrat, Molsidomin, Diltiazem, Ginkgo, Magnesium	2-Gefäß-KHK	1-Gefäß-KHK	RCX – R.marginalis – 30% RCA prox. – 60% RCA mitte – 70%
13	08.07.1944	Z.n. Vorderwandinfarkt, KHK, Hyperlipidämie	ASS, Molsidomin, Metoprolol, Lovastatin	1-Gefäß-KHK	Keine relevante KHK	RIVA prox. – 30%
14	14.04.1928	KHK mit RIVA-Stentimplantation, ventrikuläre Arrhythmie, COPD, Prostatahypertrophie, Hypothyreose, Hyperurikämie	L-Thyroxin, Prednisolon, Acetylcystein, Budenosid, Formoterol, ASS, Quinapril, Hydrochlorothiazid	1-Gefäß-KHK	Keine relevante KHK	RIVA prox. – 20% RCX prox. – 35%

15	18.11.1934	V.a. KHK, arterielle Hypertension, Hyperlipidämie, chron. Bronchitis, PNP, Hyperurikämie	ASS, Metoprolol, Lovastatin, Allopurinol, Fenoterol, α -Liponsäure	Patient gab thorakale Beschwerden nach Randomisation an und wurde deshalb vor der Verabreichung der Studienmedikation aufgrund instabiler Angina Pectoris ausgeschlossen.		
16	18.01.1930	Z.n. Hinterwandinfarkt, KHK, arterielle Hypertonie, Z.n. Cholezystektomie, Hypercholesterinämie, latente Hyperthyreose, Steatosis hepatis, Spinalkanalstenose	ASS, Enalapril, Atenolol, Amlodipin, Fluvastatin, Thiamazol, Natriumperchlorat, Nadroparin	2-Gefäß-KHK	2-Gefäß-KHK	RCA prox. – 40% RIVA mitte – 60% RCX- R.marginalis – 80%
17	13.08.1940	KHK, arterielle Hypertension, Hyperlipidämie	Molsidomin, ASS, Fluvastatin, Verapamil	1-Gefäß-KHK	keine relevante KHK	RCA prox. – 30%
18	05.11.1937	KHK, Herzinsuffizienz, Z.n. Thyreodektomie, Hypoparathyreodismus	L-Thyroxin, Digitoxin, Enalapril, Xipamid, ASS	1-Gefäß-KHK	1-Gefäß-KHK	RCA prox. – 50%
19	16.03.1932	Z.n. Vorderwandinfarkt, KHK, arterielle Hypertonie, Stenose der A.renalis bds., Hyperlipidämie, chron. Diarrhoe	ASS, Metoprolol, Isosorbid dinitrat, Bezafibrat, Nadroparin	1-Gefäß-KHK	1-Gefäß-KHK	RIVA prox. – 80%
20	18.09.1959	V.a. KHK, arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie	-	keine KHK	keine KHK	keine
21	17.08.1929	KHK, COPD, VVI-Schrittmacher bei bifaszikulärem Block, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie, latenter Diabetes mellitus Typ II	Isosorbid dinitrat, Diltiazem, ASS, Fenoterol, Ipratropiumbromid	1-Gefäß-KHK	1-Gefäß-KHK	RCA prox. – 80%

LCA – A.coronaria sinistra; RIVA – R.interventricularis anterior; RCX – R.circumflexus; RCA – A.coronaria dextra

Tabelle 2.1: Patientenübersicht

Ausschlusskriterien für die Patienten waren:

- schwangere Frauen oder Frauen im schwangerschaftsfähigen Alter. Weibliche Patienten durften nur postmenopausal (definiert durch ein Nicht-Auftreten der Monatsblutung von mindestens 12 Monaten vor dem Screening) oder nach erfolgter Sterilisation an der Studie teilnehmen. Weibliche Patienten mussten sich zusätzlich vor Beginn der Studie einem Schwangerschaftstest unterziehen, der negativ ausfallen musste.
- Patienten, mit schwerer Herzschwäche definiert nach der New York Heart Association (NYHA) Klasse IV
- Patienten mit Herzinfarkt oder instabiler Angina Pectoris 30 Tage vor Screening.
- Patienten, die nicht wegen einer Koronarangiographie katheterisiert wurden.
- Patienten mit einer linksventrikulären Ausflussbehinderung (LVOT) wie bei der hypertrophen obstruktiven Kardiomyopathie (HOCM) oder einer Aortenstenose mit einem LVOT-Gradienten von mindestens 30 mmHg
- Hypotension mit einem Blutdruck von weniger als 90 mmHg systolisch oder 50 mmHg diastolisch beim Screening
- Hypertension mit einem Blutdruck von mehr als 180 mmHg systolisch oder 120 mmHg diastolisch beim Screening
- Einnahme von Phenprocoumon, welches nicht 14 Tage vor der Koronarangiographie abgesetzt werden kann
- Leberinsuffizienz, definiert durch einen beim Screening auf mehr als das Doppelte des Normalwertes angestiegene Wert der Serum Alaninaminotransferase (ALT) oder der Aspartataminotransferase (AST)
- Niereninsuffizienz, definiert durch einen Kreatininwert, der mehr als das 1,5fache des Normalwertes beim Screening beträgt
- bekannte klinisch signifikante Allergien oder bekannte Hypersensibilität gegenüber Medikamenten
- Einnahme von neuen zusätzlichen Medikamenten 30 Tage vor der Koronarangiographie
- Patienten, die bereits an vorangegangenen Studien teilgenommen hatten

Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Verum/Placebo	P	V	V	V	V	V	V	V	P	V	V	V	P	V	V	V	P	V	V	V

Tabelle 2.2: Randomisierung

In der Einschlussuntersuchung wurden die Patienten, nachdem sie Ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme abgegeben hatten, internistisch untersucht, dies beinhaltete das Messen von Körpergröße und –gewicht, ein Urin- und (bei Frauen) Schwangerschaftstest wurde durchgeführt, Puls und Blutdruck wurden gemessen, es wurde Blut für die Ermittlung der erforderlichen Laborwerte (Tabelle 2.3) abgenommen, ein 12-Kanal-EKG wurde geschrieben und es wurde abgeklärt, ob etwaige Medikamente eingenommen wurden, die mit der Studie interferieren könnten.

Laborwerte, die bei der Eingangs- und Ausgangsuntersuchung bestimmt wurden:
Biochemie:
Na, K, Ca, Gesamteiweiß, Albumin, Harnstoff, Kreatinin, Bilirubin, AP, GGT, GOT, GPT, LDH, Glucose
Hämatologie:
Hämatokrit, Hämoglobin, Differentialblutbild, MCH, MCV, MCHC

Tabelle 2.3: Im Labor bestimmte Blutwerte

Infusionsbeginn bzw. Studienbeginn des zweiten Studientags, dem Tag, an dem die Studienmedikation gegeben wurde, war jeweils um 8:00 Uhr (siehe Tabelle 2.4). Zuvor wurde am selbigen Tag die Infusion der Studienmedikation durch die Apotheke der Heinrich-Heine-Universität hergestellt. Um die Doppelblindheit der Studie zu gewährleisten, erfolgte auch die Randomisierung durch die Apotheke, so dass weder der Studienleiter, der die Infusion entgegennahm, noch der Studienteilnehmer wusste, ob er zur Placebo- oder zur Verum-Gruppe gehörte. Zu Beginn sowie 1½ Stunden nach Beginn der Infusion wurde eine echokardiographische Untersuchung durchgeführt (siehe Tabelle 2.5). Hierzu wurde ein Ultraschallsystem der Firma Toshiba, das PowerVision 6000 Modell SSA-370 A, verwendet. Die zweidimensionale Dopplerechokardiographie ist nachgewiesenermaßen eine ausreichend akkurate und genaue Methode hämodynamische Parameter des Herzens nicht invasiv zu bestimmen und wurde auch in anderen Studien mit ähnlichem Aufbau und Zielen erfolgreich

eingesetzt (^{114;164;166;178}). Um die Ergebnisse dieser Untersuchung zu standardisieren, wurden alle Patienten von derselben Untersucherin durchgeführt und für spätere Auswertungen und Analysen auf Videoband dokumentiert. Des Weiteren wurde ein 12-Kanal-EKG geschrieben und es wurde eine Blutprobe zur Bestimmung der ET-1 Konzentration abgenommen. Sämtliche Blutabnahmen, die zur Bestimmung von VML 588, ET-1 oder Big-ET Konzentrationen verwendet werden sollten, wurden in EDTA-Röhrchen abgenommen, sofort auf Eis gelegt, innerhalb von 30min mit 3000 U/min bei 4°C 10min lang zentrifugiert und das abpipettierte Plasma bei -70°C bis zur endgültigen Enzymbestimmung gelagert. Mit dem Beginn der Infusion (t=0min) wurden alle 30min Herzfrequenz und Blutdruck gemessen und eine kontinuierliche EKG-Überwachung gestartet. Um auch die Messung von Herzfrequenz und Blutdruck zu objektivieren, wurden diese Parameter mit dem Dinamap 200 der Firma Critikon gemessen. Die weiteren Zeitpunkte für die restlichen Blutabnahmen und EKG-Dokumentationen sind in Tabelle 2.4 dargestellt.

Die Studie endete für die einzelnen Patienten am Tag nach der Infusion. Hier wurde dann erneut eine körperliche Untersuchung durchgeführt, Puls und Blutdruck wurden gemessen, ein 12-Kanal-EKG wurde geschrieben und es wurde Blut für die Ermittlung der erforderlichen Laborwerte abgenommen.

Typischer Studienablauf beim einzelnen Patienten	
Ereignis	Uhrzeit
1. Studientag	
Urin-, Schwangerschaftstest (bei Frauen)	9:00
2. Studientag	
Studienbeginn (=Infusionsstart)	8:00
Beginn der kontinuierlichen EKG-Überwachung	8:00
Beginn der halbstündlichen Messung der Vitalparameter	8:00
1. Echokardiographische Untersuchung	8:00
12-Kanal-EKG	8:00
*2. Blutentnahme	8:00
2. Echokardiographische Untersuchung	9:30
2./*3. Blutentnahme	9:30
Koronarangiographie	10:00
12-Kanal-EKG	10:00
12-Kanal-EKG	11:00
3./*4. Blutentnahme	14:00
Infusionsende	14:00
*5. Blutentnahme	14:30
*6. Blutentnahme	15:00
12-Kanal-EKG	16:00
*7. Blutentnahme	16:00
Ende der kontinuierlichen EKG-Überwachung	16:00
Ende der halbstündlichen Messung der Vitalparameter	16:00
*8. Blutentnahme	18:00

Tabelle 2.4: Zeitplan des 1.+2. Studientags (* = 2.Kohorte)

Echokardiographische Parameter

Patienteninitialien: _____ Patientennummer: _____
 Größe in cm: _____ Datum: _____
 Gewicht in kg: _____ BSA: m^2 HF: _____ / min

Pre-Infusionsdaten (t=0min) Datum: _____
M-Mode Parameter Zeit der Datenerhebung: _____ HF: _____ / min

Linksatriale Diameter [mm]	Endsystol. LV Diameter [mm]	Enddiastol. LV Diameter [mm]	Endsystol. Wanddicke PW [mm]	Enddiastol. Wanddicke PW [mm]
mm	mm	mm	mm	mm
Endsystol. Wanddicke IVS [mm]	Enddiastol. Wanddicke IVS [mm]	Fractional Shortening [%]	EDV [ml]	ESV [ml]
mm	mm	%	ml	ml

Kardiale Volumina

Cardiac Output = HF*SV [L/min]	Cardiac Index [L/min/ m^2]	Ejektionsfraktion [%]	Schlagvolumenindex [ml/beat/ m^2]	Schlagvolumen [ml/beat]	PA syst. [mmHg]
L / min	L / min / m^2	%	ml / beat / m^2	ml / beat	mmHg

Diastolische LV-Parameter

VE _{max} . (frühdiaistol. Einstromgeschw.) [m/s]	VA _{max} . (spätdiaistol. Einstromgeschw.) [m/s]	VE/VA	DT (Dezelerationszeit) [ms]	AT (Akzelerationszeit) [ms]
m / s	m / s		ms	ms
IVRT (Isovolumetrische Relaxationszeit) [ms]	PVsyst. (Syst. Pulmonalvenenfluß) [m/s]	PVdiast. (Diast. Pulmonalvenen-fluß) [m/s]	PVatrial (Atrialer Pulmonalvenenfluß) [m/s]	
ms	m / s	m / s	m / s	

Infusionsdaten (t=90min) Datum: _____
M-Mode Parameter Zeit der Datenerhebung: _____ HF: _____ / min

Linksatriale Diameter [mm]	Endsystol. LV Diameter [mm]	Enddiastol. LV Diameter [mm]	Endsystol. Wanddicke PW [mm]	Enddiastol. Wanddicke PW [mm]
mm	mm	mm	mm	mm
Endsystol. Wanddicke IVS [mm]	Enddiastol. Wanddicke IVS [mm]	Fractional Shortening [%]	EDV [ml]	ESV [ml]
mm	mm	%	ml	ml

Kardiale Volumina

Cardiac Output = HF*SV [L/min]	Cardiac Index [L/min/ m^2]	Ejektionsfraktion [%]	Schlagvolumenindex [ml/beat/ m^2]	Schlagvolumen [ml/beat]	PA syst. [mmHg]
L / min	L / min / m^2	%	ml / beat / m^2	ml / beat	mmHg

Diastolische LV-Parameter

VE _{max} . (frühdiaistol. Einstromgeschw.) [m/s]	VA _{max} . (spätdiaistol. Einstromgeschw.) [m/s]	VE/VA	DT (Dezelerationszeit) [ms]	AT (Akzelerationszeit) [ms]
m / s	m / s		ms	ms
IVRT (Isovolumetrische Relaxationszeit) [ms]	PVsyst. (Syst. Pulmonalvenenfluß) [m/s]	PVdiast. (Diast. Pulmonalvenen-fluß) [m/s]	PVatrial (Atrialer Pulmonalvenenfluß) [m/s]	
ms	m / s	m / s	m / s	

Tabelle 2.5: Parameter der echokardiographischen Untersuchung anhand des Untersuchungsblattes zusammengefasst

Studienmaßnahmen	Screening	Studientag 1	Studientag 2 (Zeiten relativ zum Infusionsstart; Minuten)	Studientag 3
Einverständniserklärung	✓			
Medizinische Anamnese	✓			
Körperliche Untersuchung ¹	✓			✓
Urin- Schwangerschaftstest ²		✓		
Vitalparameter ³	✓		t=0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360, 390, 420, 450, 480	✓
Biochemie & Hämatologie	✓			✓
Urinanalyse	✓			✓
12-Kanal EKG	✓		t=0, 120, 180, 480	✓
Begleitende Medikation	✓	✓	von t=0 bis Entlassung	✓
Kontinuierliche EKG-Überwachung			von t=0 bis t=480 (kontinuierlich)	
Infusion von VML 588/Placebo			von t=0 bis t=360 (kontinuierlich)	
Koronarangiographie			t=120	
Echocardiographie			t=0, 90	
Blutproben (Entnahme) für Plasmakonzentrationen von VML 588			Kohorte 1: t=90, 360 Kohorte 2: t=90, 180, 360, 390, 420, 480, 500	
Blutproben (Entnahme) für Plasmakonzentration von Big-ET			t = 0, 90	
Blutproben (Entnahme) für Plasmakonzentration von ET-1			t = 0, 90	
Adverse events	✓	✓	von t=0 bis Entlassung	✓
Krankenhausentlassung				✓

¹Inklusive von Gewichts- und Größenmessung; ²bei allen weiblichen Patienten; ³Aufgezeichnet nach mind. 15min Ruhe
Zeitangaben: Infusionsbeginn (t=0), Ende der Infusion (t=360), alle weiteren Zeitangaben beziehen sich auf den Abstand zum Infusionsbeginn und sind in Minuten angegeben

Tabelle 2.6: Studiendiagramm

2.2 Messung der Laborwerte und verwendete Nachweisverfahren

Die Blutwerte der Eingangs- und Ausgangsuntersuchung wurden vom Zentrallabor der MNR-Klinik der Heinrich Heine Universität Düsseldorf bestimmt. Dieses Labor ist sowohl durch die Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie e.V. als auch durch das Institut für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium e.V. zertifiziert. Für die Bestimmung der ET-1 und Big-ET (1-38) Konzentrationen wurden Enzymimmunoassays der Firma BIOMEDICA verwendet. Es hat sich gezeigt, dass Enzymimmunoassays genauer und sensitiver bei der Bestimmung von ET-1 und Big-ET Konzentrationen sind und so werden sie in neueren Studien fast ausschließlich anstelle von Radioimmunoassays, die verwendet wurden bevor Enzymimmunoassays zur Verfügung standen, verwendet (^{103;120;124;162;163}). Beim Enzymimmunoassay wird ET-1 bzw. Big-ET direkt im EDTA-Plasma bestimmt. Der jeweils dafür spezifische Sandwich-ELISA verwendet einen auf Mikrotiterplatten beschichteten immunaffinitäts-chromatographisch gereinigten polyklonalen Erstantikörper. Ein monoklonaler Zweitantikörper bildet mit dem in der Probe vorhandenen ET-1 / Big-ET und dem gebundenen Erstantikörper einen Sandwich. Nach einem Waschschrift, der alle nicht spezifisch gebundenen Substanzen entfernt, wird die Menge an gebundenem monoklonalen Antikörper bestimmt. Sie entspricht der Menge an in der Probe vorhandenem ET-1 / Big-ET. Zur Detektion wird ein mit Peroxidase konjugierter anti-Maus Antikörper eingesetzt. Nach abermaligem Waschen wird Tetramethylbenzidin (TMB) als Substrat zugegeben. Die einsetzende Farbentwicklung, die mit einem Photometer der Firma Dynatech (Modell MR 4000) bei 450nm gemessen wurde, ist direkt proportional der Konzentration an ET-1 / Big-ET in der Probe.

Testmerkmale des ET-1 ELISAs:

- Normalwerte: 0,2 bis 0,7 fmol/ml
- Standardbereich: 0 bis 10 fmol/ml
- Kreuzreaktionen:
 - o ET-1: 100%
 - o ET-2: 100%
 - o ET-3: <5%
 - o Big-ET (1-38): <1%
 - o Big-ET (22-38): <1%
- Nachweisgrenze: 0,05 fmol/ml

Testmerkmale des Big-ET (1-38) ELISAs:

- Normalwerte: bis 0,7 fmol/ml

- Messbereich: 0,05 bis 15,6 fmol/ml
- Kreuzreaktionen:
 - o ET-1: <1%
 - o ET-2: <1%
 - o ET-3: <1%
 - o Big-ET (1-38): 100%
 - o Big-ET (22-38): <1%
- Nachweisgrenze: 0,05 fmol/ml

Die Plasmaproben für die Bestimmung der VML 588-Konzentrationen wurden bei -70°C in folgendes beauftragtes Labor nach New York verschickt:

Advanced BioAnalytical Services Inc (ABS)
 15 Catherwood Road
 Ithaca
 New York 14850
 USA

Dort wurden die Plasmaproben anhand einer von ABS entwickelten spezifischen und validierten LC/MS/MS – Methode (liquid chromatography / turboion spray tandem mass spectrometry) analysiert. Die untere Nachweisgrenze für VML 588 im Plasma lag dabei bei 2 ng/mL. Die Präzision dieses VML 588 Assays lag, bestimmt an Hand der Analyse von Kontrollproben, bei $\leq 10.4\%$ und, bestimmt an Hand der Analyse von kalibrierten Proben, bei $\leq 7.5\%$.

2.3 Statistische Auswertung

Die Erfassung der Daten erfolgte mit dem Programm Microsoft Excel® 2002. Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm SPSS® für Windows (Version 9.0) vorgenommen.

Zur Analyse auf signifikante Unterschiede wurden die Patienten in drei Gruppen aufgeteilt. Es wurden zwei Verumgruppen (Dosis 0,1 und 0,2 mg/kg/h) und eine Placebogruppe gebildet, die miteinander verglichen wurden.

Um die Untersuchung der Wirkung von VML 588 bei signifikanter KHK (Stenose >50%) genauer analysieren zu können, wurde eine Subgruppenanalyse vorgenommen. Dabei wurden alle Patienten der Verumgruppen nach dem Vorhandensein bzw. Nicht-Vorhandensein einer relevanten KHK aufgeteilt und miteinander verglichen. Die Angaben hierzu erfolgen als Mittelwert +/- Standardabweichung.

Zur Feststellung signifikanter Veränderungen eines Merkmals oder Messwertes innerhalb einer Gruppe wurde der Wilcoxon-Test verwendet.

Durch den Wilcoxon-Test werden die Mittelwerte zweier verbundener Stichproben auf Unterschiedlichkeit getestet, wobei die zu testende Variable nur ordinalskaliert sein muss, da nicht die Messwerte selbst, sondern ihre Rangplätze verwendet werden. Ordinalskaliert bedeutet, dass die Daten Wertungen darstellen, wobei die Linearität der Skala nicht gesichert ist. Eine bestimmte Verteilungsform der Variable wird nicht vorausgesetzt.

Zur Feststellung signifikanter Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen innerhalb eines Merkmals oder Messwertes wurde der Mann-Whitney-Test verwendet.

Bei diesem Test werden die Rangplätze zweier unabhängiger Stichproben miteinander verglichen. Wie beim Wilcoxon-Test muss die zu testende Variable nur ordinalskaliert sein und es wird keine bestimmte Verteilungsform vorausgesetzt.

Bei beiden Tests wurde als Zeichen eines signifikanten Unterschieds ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ vorausgesetzt.

2.4 Einverständniserklärungen und Genehmigung der Studie

Alle Patienten wurden über die Studie vollständig aufgeklärt und gaben vor Studienbeginn ihr schriftliches Einverständnis zu ihrer Teilnahme. Die Studie wurde nach GCP-Richtlinien durchgeführt und stimmte mit der Deklaration von Helsinki überein.

Das der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Heinrich Heine Universität Düsseldorf vorgelegte Studienprotokoll dieser Studie (Studien-Nr. 1436) wurde im Umlaufverfahren geprüft und beurteilt, wobei von Seiten der Kommission keine ethischen oder berufsrechtlichen Bedenken gegen die Durchführung dieser Studie bestanden.

3 Ergebnisse

3.1 Studienkollektiv

Zwanzig von 21 randomisierten Patienten erhielten das Studienmedikament und schlossen die Studie ab (Tabelle 3.1).

Studienmedikation Dosierung (mg/kg/h)	VML 588 0.1	VML 588 0.2	Placebo	Gesamt
Screened				21
Randomisiert	8	9	4	21
Behandlung bekommen	8	8*	4	20
Behandlung abgeschlossen	8	8	4	20
Zurückgezogen	-	1*	-	1

Patient 15 erhielt keine Studienberechtigung nach Randomisation und wurde ausgeschlossen.

Tabelle 3.1: Studienkollektiv

Patient Nr.15 gab thorakale Beschwerden nach Randomisation an und wurde deshalb vor der Verabreichung der Studienmedikation aufgrund instabiler Angina Pectoris ausgeschlossen. Bei der bei diesem Patienten durchgeführten Koronarangiographie konnte jedoch keine Koronarveränderung nachgewiesen werden. Die restlichen 20 Patienten schlossen die Studie ab.

Alle zwanzig an dieser Studie teilnehmenden Patienten hatten einen Krankheitsgrad der NYHA Klasse I (n=3) oder II (n=17). Von den zwanzig in die Studie eingeschlossenen Patienten hatten 19 eine bekannte Koronare Herzkrankheit, lediglich bei einem Patienten in der VML 588 0.2ml/kg/h Kohorte bestand nur der Verdacht auf eine KHK. In der VML 588 Kohorte mit 0,1mg/kg/h hatten sechs Patienten bereits einen Myokardinfarkt gehabt, in der VML 588 Kohorte mit 0,2 mg/kg/h und der Placebogruppe waren es jeweils zwei Patienten. Vier der acht Patienten der VML 588 Gruppe mit 0,1mg/kg/h hatten in ihrer Vormedikation einen ACE-Hemmer und sechs Patienten erhielten einen Beta-Blocker, in der VML 588 Gruppe mit 0,2mg/kg/h waren dies zwei bzw. vier Patienten und in der Placebogruppe jeweils zwei Patienten (Tabelle 2.1).

Mit Ausnahme eines Patienten der Placebogruppe waren alle im Versuch aufgenommenen Patienten männliche Weiße mit einem mittleren Alter ähnlich dessen der Patienten in den Dosisgruppen (58.5 [Placebo] gegenüber 58.8 [VML 588 0,1] und 60.9 Jahre [VML 588 0,2]). Verglichen mit Patienten in der Placebogruppe hatten die Patienten in der Gruppe mit

VML 588 0.1 mg/kg/h und 0.2 mg/kg/h ein höheres mittleres Gewicht (77.75 gegenüber 84.18 und 84.40 kg). Es gab zwischen den einzelnen Kohorten weder vor Studienbeginn noch bei Entlassung signifikante Unterschiede der kontrollierten Blutwerte und auch innerhalb der einzelnen Gruppen waren bei Entlassung keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zu den Ausgangswerten festzustellen.

Mit Ausnahme eines Patienten der VML 588 0.2 mg/kg/h Dosisgruppe hatten alle Patienten eine bekannte KHK bei Studienantritt (Tabelle 3.2).

Studienmedikament Dosis (mg/kg/h)		VML 588 0.1 (n=8)	VML 588 0.2 (n=8)	Placebo (n=4)
Demographische Daten				
Geschlecht	Männlich: Weiblich (N)	8:0	8:0	3:1
Alter	Jahre	58.8 +/- 10.1	60.9 +/- 11.0	58.5 +/- 2.9
Größe	cm	176.3 +/- 7.2	172.4 +/- 9.2	171.8 +/- 11.1
Gewicht	kg	84.18 +/- 13.94	84.40 +/- 8.51	77.75 +/- 8.93
KHK	Bekannt (N)	8	7	4
	Wahrscheinlich (N)	-	1	-
Parameter vor Studienbeginn				
Na	mmol/L	138,5 +/- 3,59	142,25 +/- 1,70	139,75 +/- 1,26
K	mmol/L	4,29 +/- 0,50	4,35 +/- 0,40	4,28 +/- 0,22
Ca	mmol/L	2,44 +/- 0,09	2,46 +/- 0,09	2,38 +/- 0,21
Albumin	g/dL	4,9 +/- 0,16	4,95 +/- 0,4	4,93 +/- 0,10
Protein (total)	g/dL	7,59 +/- 0,18	7,43 +/- 0,47	7,45 +/- 0,36
Harnstoff	mg/dL	15,25 +/- 4,89	17,13 +/- 3,91	18,5 +/- 5,45
Kreatinin	mg/dL	0,91 +/- 0,16	1,1 +/- 0,15	1,03 +/- 0,10
Bilirubin (ges.)	mg/dL	0,51 +/- 0,17	0,61 +/- 0,13	0,63 +/- 0,24
AP	U/L	103,88 +/- 15,07	102,75 +/- 31,46	118,5 +/- 36,41
GGT	U/L	36,38 +/- 34,26	16 +/- 7,82	21,25 +/- 8,66
GPT	U/L	16,13 +/- 5,41	18,63 +/- 13,03	12 +/- 2,94
GOT	U/L	12,38 +/- 5,15	12,38 +/- 5,26	10,5 +/- 2,89
LDH	U/L	157,88 +/- 31,49	174,88 +/- 28,35	177 +/- 17,34
Glucose	mg/dL	124,38 +/- 87,53	103,25 +/- 16,94	96 +/- 17,11
Hämatokrit	%	43,98 +/- 2,47	44,88 +/- 1,89	44,5 +/- 2,52
Hämoglobin	g/dL	14,84 +/- 0,82	15,03 +/- 0,77	14,9 +/- 0,53
Erythrozyten	10 ¹² /L	4,64 +/- 0,29	4,88 +/- 0,19	4,93 +/- 0,47
MCH	pg	32,15 +/- 1,54	30,95 +/- 1,57	30,5 +/- 2,38
MCHC	g/dL	33,84 +/- 0,85	33,65 +/- 0,44	33,75 +/- 1,26
MCV	fl	95,41 +/- 5,53	92,06 +/- 4,68	90,75 +/- 3,95
Leukozyten	10 ⁹ /L	6,79 +/- 1,07	6,26 +/- 3,00	7,48 +/- 3,30
Neutrophile	%	56,44 +/- 8,37	57,61 +/- 9,15	59,6 +/- 8,03
Lymphozyten	%	29,78 +/- 4,16	30,14 +/- 8,04	27,25 +/- 10,01
Monozyten	%	9,28 +/- 5,09	9,54 +/- 2,60	7,6 +/- 1,63
Eosinophile	%	4,18 +/- 2,93	2,39 +/- 1,14	4,95 +/- 4,17
Basophile	%	0,41 +/- 0,17	0,48 +/- 0,15	0,8 +/- 0,50
Thrombozyten	10 ⁹ /L	203,5 +/- 37,33	200 +/- 35,73	283,25 +/- 54,51

Parameter bei Entlassung				
Na	mmol/L	137,75 +/- 2,39	140,5 +/- 3,16	138,5 +/- 1,73
K	mmol/L	4,34 +/- 0,53	4,15 +/- 0,28	4,25 +/- 0,27
Ca	mmol/L	2,45 +/- 0,05	2,46 +/- 0,05	2,35 +/- 0,24
Albumin	g/dL	4,73 +/- 0,28	4,71 +/- 0,26	4,83 +/- 0,25
Protein (total)	g/dL	7,33 +/- 0,47	7,08 +/- 0,38	7,38 +/- 0,28
Harnstoff	mg/dL	14,63 +/- 3,82	16 +/- 2,88	18,5 +/- 4,66
Kreatinin	mg/dL	0,96 +/- 0,12	1,13 +/- 0,10	1,05 +/- 0,13
Bilirubin (ges.)	mg/dL	0,6 +/- 0,19	0,83 +/- 0,37	0,7 +/- 0,26
AP	U/L	97,38 +/- 9,65	97,13 +/- 25,89	104,75 +/- 20,26
GGT	U/L	31,25 +/- 29,36	30,5 +/- 49,10	20 +/- 6,98
GPT	U/L	15,25 +/- 8,05	15,5 +/- 9,67	11,25 +/- 1,89
GOT	U/L	8 +/- 3,12	9,88 +/- 2,42	10,5 +/- 1,29
LDH	U/L	138,38 +/- 22,17	153 +/- 13,59	163,25 +/- 24,57
Glucose	mg/dL	123,5 +/- 39,91	123,75 +/- 35,91	146 +/- 63,34
Hämatokrit	%	42,63 +/- 2,26	43,38 +/- 3,07	43,75 +/- 2,63
Hämoglobin	g/dL	14,44 +/- 0,55	14,53 +/- 0,78	14,78 +/- 1,01
Erythrozyten	10 ¹² /L	4,5 +/- 0,15	4,59 +/- 0,33	4,85 +/- 0,42
MCH	pg	32,29 +/- 1,61	31,01 +/- 1,61	30,5 +/- 1,73
MCHC	g/dL	33,78 +/- 0,90	33,74 +/- 0,68	33,75 +/- 1,26
MCV	fl	92,76 +/- 10,83	91,73 +/- 4,92	90 +/- 3,37
Leukozyten	10 ⁹ /L	7,2 +/- 0,85	7,83 +/- 2,04	9,13 +/- 2,70
Neutrophile	%	60,99 +/- 7,73	63,89 +/- 10,43	64,25 +/- 2,22
Lymphozyten	%	26,6 +/- 5,18	24,74 +/- 9,47	23,75 +/- 4,03
Monozyten	%	9,23 +/- 2,80	9,23 +/- 2,97	6,65 +/- 1,26
Eosinophile	%	3,11 +/- 1,63	2,2 +/- 1,05	4,93 +/- 2,41
Basophile	%	0,28 +/- 0,18	0,39 +/- 0,29	0,5 +/- 0,32
Thrombozyten	10 ⁹ /L	202,25 +/- 34,90	198,13 +/- 38,38	276 +/- 42,54

Tabelle 3.2: Demographische Daten des Studentenkollektivs und Safety-Parameter

3.2 Blutdruck- und Herzfrequenzwerte

Unter Placeboinfusion konnten keine signifikanten Änderungen hinsichtlich Herzfrequenz oder Blutdruck gemessen werden, wohingegen sowohl bei 0,1mg/kg/h als auch bei 0,2mg/kg/h VML 588 ein signifikanter Abfall des systolischen und diastolischen Drucks sowie des mittleren arteriellen Drucks zu verzeichnen war. Die Herzfrequenz stieg dabei gleichzeitig minimal, aber nicht signifikant an. Der Blutdruckabfall deutet auf eine dilatatorische Wirkung von VML 588 (Tabelle 3.2 und 3.3).

Studienmedikament	N	SBD	DBD	MAD	HF
Placebo vor Infusion – nach Infusion	4	136 +/- 22mmHg – 134 +/- 24mmHg p=0,715	82 +/- 18mmHg – 79 +/- 11mmHg p=0,593	102 +/- 18mmHg – 102 +/- 16mmHg p=1,000	67 +/- 16 min ⁻¹ – 63 +/- 16 min ⁻¹ p=0,194
VML 588 0.1 mg/kg/h vor Infusion – nach Infusion	8	139 +/- 20mmHg – 122 +/- 11 mmHg p=0,018	78 +/- 7mmHg – 72 +/- 6 mmHg p=0,050	100 +/- 11mmHg – 89 +/- 8mmHg p=0,051	57 +/- 5 min ⁻¹ – 60 +/- 6 min ⁻¹ p=0,225
VML 588 0.2 mg/kg/h vor Infusion – nach Infusion	8	136 +/- 18mmHg – 121 +/- 15mmHg p=0,021	81 +/- 9mmHg – 72 +/- 8mmHg p=0,028	104 +/- 12mmHg – 92 +/- 12mmHg p=0,035	69 +/- 15 min ⁻¹ – 71 +/- 13 min ⁻¹ p=0,291

DBD: diastolischer Blutdruck; SBD: systolischer Blutdruck; MAD: mittlerer arterieller Blutdruck; HF: Herzfrequenz;
p = asymptotische Signifikanz (Wilcoxon-Test)

Tabelle 3.3: Vergleich der Blutdruck- und Herzfrequenzwerte bei Verum- und Placebopatienten zu Beginn und am Ende der Infusion (0min – 360min)

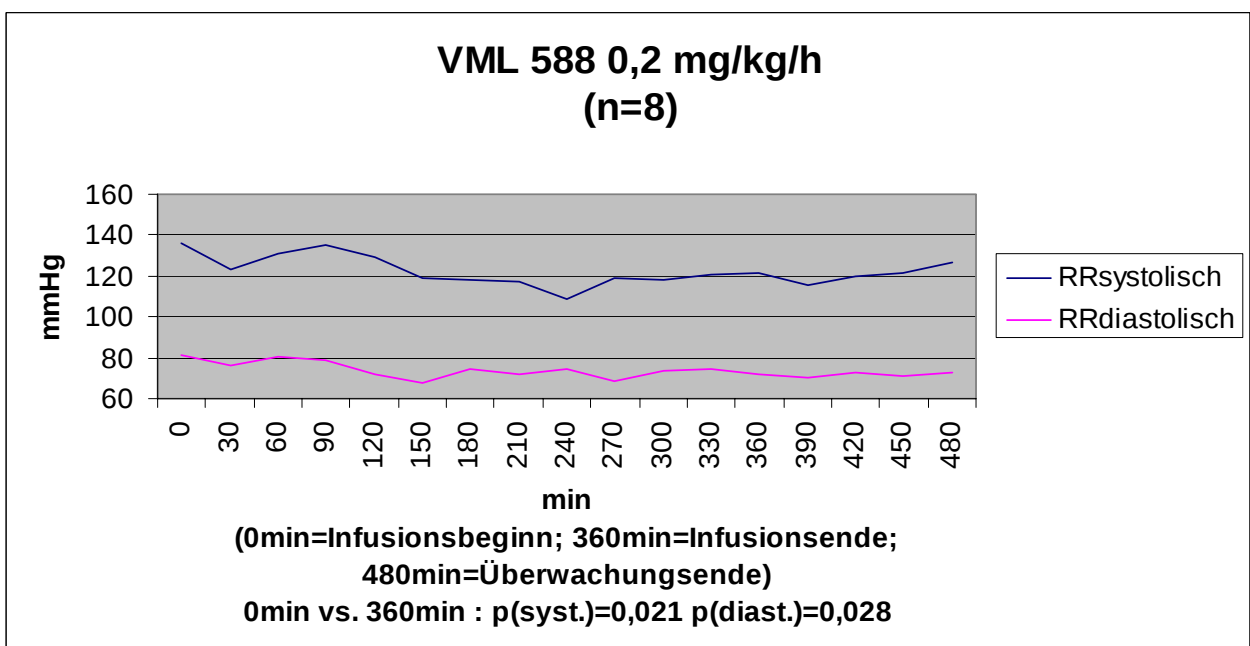
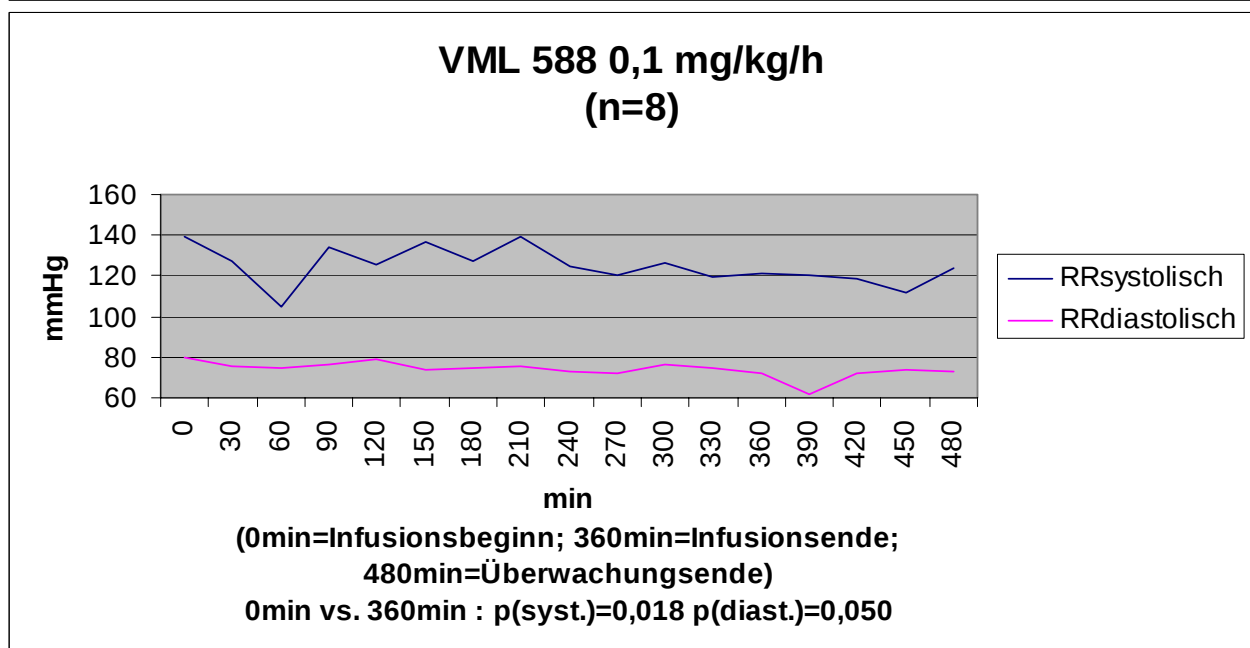
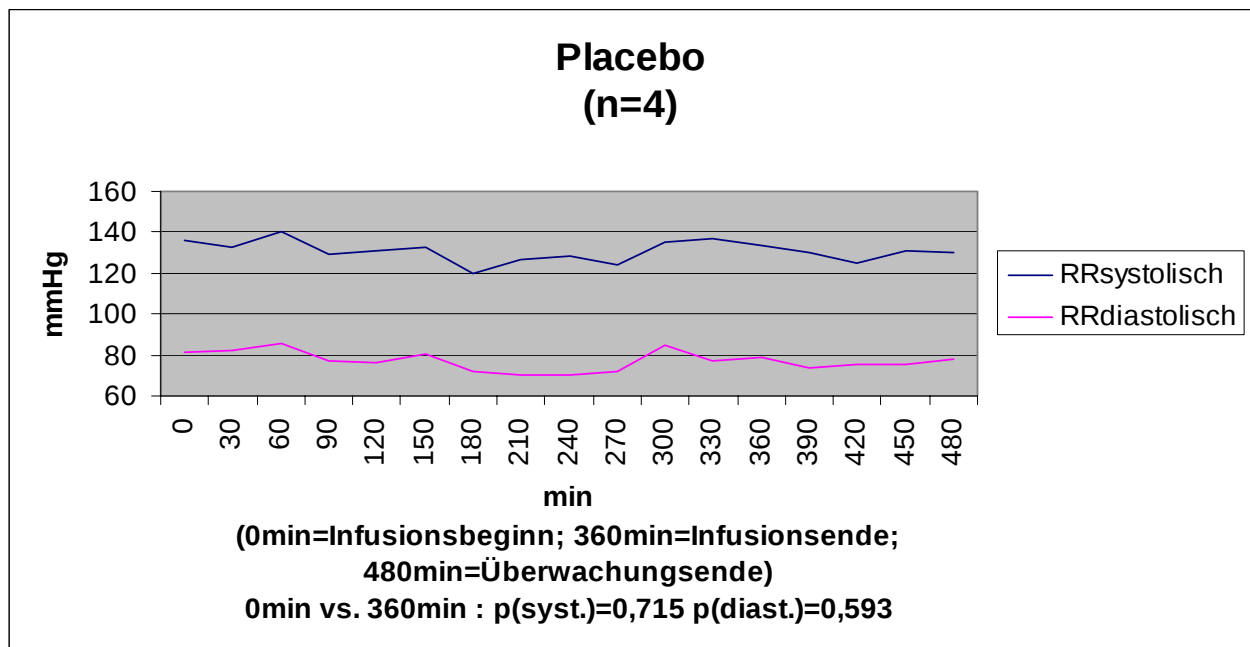


Diagramm 1: Verlauf des Blutdrucks der einzelnen Patientengruppen von Infusionsstart (0min) bis 2 Stunden nach Infusionsende (480min)

Interessant hierbei ist, dass bei Betrachtung der Patienten, die VML 588 bekamen, nur diejenigen mit einer klinisch relevanten KHK (Stenose >50%), welche unmittelbar nach der Studie eine klinische Intervention in Form einer PTCA oder ACVB-Operation erforderte, einen signifikanten Blutdruckabfall aufwiesen, während dies bei den anderen Patienten nur in der Tendenz, aber nicht signifikant, der Fall war (Tabelle 3.4).

klinisch relevante KHK		HF	SBD	DBP	MAD
Nein (N=11)	0min	64+/- 11 min ⁻¹	139+/- 18 mmHg	80+/- 6 mmHg	100+/- 11 mmHg
	- 360min	- 66+/- 14 min ⁻¹ p=0,581	- 129+/- 12 mmHg p=0,104	- 78+/- 4 mmHg p=1,000	- 98+/- 10 mmHg p=0,893
Ja (N=5)	0min	62+/- 14 min ⁻¹	137+/- 20 mmHg	80+/- 9 mmHg	103+/- 12 mmHg
	- 360min	- 65+/- 11 min ⁻¹ p=0,155	- 118+/- 12 mmHg p=0,005	- 69+/- 6 mmHg p=0,003	- 88+/- 8 mmHg p=0,005

DBD: diastolischer Blutdruck; SBD: systolischer Blutdruck; MAD: mittlerer arterieller Blutdruck; HF: Herzfrequenz;
p = asymptotische Signifikanz (Wilcoxon-Test)

Tabelle 3.4: Vergleich der Blutdruck- und Herzfrequenzwerte bei Verumpatienten mit/ohne relevante KHK

3.3 Lävokardiographie

Bei der Lävokardiographie ergaben sich folgende Ergebnisse:

Die meisten Patienten hatten eine normokinetische Apex (18 [90%] Patienten), normokinetisches Septum (15 [75%] Patienten), normokinetische Hinterwand (15 [75%] Patienten), normokinetische Vorderwand (16 [80%] Patienten) und normokinetische Seitenwand (18 [90%] Patienten). Zwei Patienten hatten eine hypokinetische Spitze, 5 Patienten hatten jeweils ein hypokinetisches Septum und/oder Hinterwand, 4 Patienten hatten eine hypokinetische Vorderwand und 2 Patienten hatten eine hypokinetische Seitenwand (Tabelle 3.5). Kein Patient hatte eine Akinesie oder Dyskinesie von Apex, Septum, Vorderwand, Hinterwand oder Seitenwand.

Studienmedikament	VML 588	VML 588	Placebo
Dosis (mg/kg/h)	0.1	0.2	
Anzahl auswertbarer Patienten	8	8	4
Apex	1 (13)	1 (13)	0 (-)
Septum	2 (25)	2 (25)	1 (25)
Vorderwand	2 (25)	1 (13)	1 (25)
Hinterwand	3 (38)	2 (25)	0 (-)
Seitenwand	0 (-)	2 (25)	0 (-)

Tabelle 3.5: Prävalenz (Anzahl [%]) von Patienten mit Hypokinesien

Linksventrikulärer systolischer und diastolischer Druck und aortaler systolischer und diastolischer Druck waren während der Lävokardiographie in den VML 588-Gruppen niedriger als in der Placebogruppe.

Der linksventrikuläre systolische Druck war im Mittel in der VML 588 Kohorte mit 0.2 mg/kg/h geringer als in der 0.1 mg/kg/h Dosisgruppe welche wiederum geringere Werte als die Placebogruppe aufwiesen (132.5 und 146.3mmHg gegenüber 163.8mmHg in der Placebogruppe). Das gleiche Bild zeigt sich auch beim linksventrikulären enddiastolischen Druck (11.6 und 13.0mmHg gegenüber 18.0mmHg in der Placebogruppe) und dem aortalen systolischen Druck (132.5 und 142.5mmHg gegenüber 163.8mmHg in der Placebogruppe).

In keiner der Gruppen gab es einen LV/Ao Druckgradienten (systolischer Druckunterschied zwischen linkem Ventrikel und aortalem Druck während der Systole).

Die Auswurfraction des linken Ventrikels war in allen Gruppen im Normbereich (>60%). Sie war in den VML 588-Gruppen niedriger als in der Placebogruppe und lag im Mittel in der VML 588 Kohorte mit 0.1mg/kg/h bei 65.28%, bei der VML 588 Kohorte mit 0.2mg/kg/h bei 67.63% und in der Placebogruppe bei 73.89%. Die Unterschiede zwischen den Verumgruppen und der Placebogruppe waren nicht signifikant (Placebo vs. VML 588 0,1mg/kg/h p=0,336, Placebo vs. VML 588 0,2mg/kg/h p=0,268).

3.3.1 Koronarangiographie

Die rechte Koronararterie war bei 2/8 Patienten in der VML 588 0.2 mg/kg/h Dosisgruppe und keinem der anderen Gruppen dominierend. Das Vorkommen einer wenigstens 50% Stenose einer Koronararterie ist in Tabelle 3.6 zusammengefasst. In den VML 588 Dosisgruppen waren die am häufigsten stenosierte Gefäße der RIVA und die rechte Koronararterien.

Studienmedikament Dosis (mg/kg/h)	VML 588 0.1	VML 588 0.2	Placebo
Anzahl auswertbarer Patienten	8	8	4
Rechte Koronararterie	3 (38)	2 (25)	1 (25)
Linker Hauptstamm	1 (13)	0 (-)	0 (-)
RIVA	4 (50)	3 (38)	0 (-)
RCX	2 (25)	1 (13)	0 (-)

Tabelle 3.6: Prävalenz (Anzahl [%]) von Gefäßsegmenten mit einer Koronararterienstenose von mindestens 50%

In den VML 588 Dosisgruppen hatten die meisten Patienten entweder eine Ein- oder Zweigefäß KHK (5/8 Patienten in der 0.1 mg/kg/h Dosisgruppe [ein Patient hatte eine Stenose des linken Hauptstamms] und 5/8 Patienten in der 0.2 mg/kg/h Dosisgruppe) wohingegen in der Placebogruppe nur einer von 4 Patienten eine Eingefäß KHK und kein Patient eine Zwei- oder Dreigefäß KHK hatte. Acht Patienten, 2 in der VML 588 0.1 mg/kg/h Dosisgruppe, 3 in der VML 588 0.2mg/kg/h Dosisgruppe und 3 in der Placebogruppe, hatten keinen Nachweis einer relevanten koronaren Herzkrankheit mit einer Stenosierung >50% (Tabelle 3.7).

Studienmedikament Dosis (mg/kg/h)	VML 588 0.1	VML 588 0.2	Placebo
Anzahl auswertbarer Patienten	8	8	4
Keine relevante KHK	2 (25)	3 (38)	3 (75)
Eingefäß KHK	3 (38)	4 (50)	1 (25)
Zweigefäß KHK	2 (25)	1 (13)	0 (-)
Dreigefäß KHK	1 (13)	0 (-)	0 (-)

Tabelle 3.7: Prävalenz (Anzahl [%] von Patienten) einer Gefäßkrankheit mit einer Stenose >50%

3.4 Echokardiographie

In den echokardiographischen Untersuchungen konnten sowohl in den systolischen als auch in den diastolischen Parametern keine signifikanten Unterschiede zwischen der Placebo und der VML 588 Gruppen gezeigt werden. (Tabelle 3.8)

Auch beim Vergleich der Patienten mit und ohne relevanter Koronarer Herzkrankheit konnten im Gegensatz zur Auswertung der Vitalparameter keine signifikanten Unterschiede herausgestellt werden.

B-/M-Mode Parameter				
Studienmedikament	N	FS [%]	EDV [ml]	ESV [ml]
Normbereich	-	>25	100 - 160	40 - 80
Placebo	4	37,00 +/- 5,23	117,28 +/- 39,45	41,68 +/- 21,70
		—	—	—
		37,5 +/- 5,92 p=0,317	120,5 +/- 37,11 p=0,180	41,68 +/- 21,70 p=1,000
VML 588 0.1 mg/kg/h	8	35,63 +/- 5,83	158,65 +/- 28,51	58,54 +/- 22,08
		—	—	—
		35,75 +/- 5,99 p=0,317	159,43 +/- 29,04 p=0,197	58,38 +/- 22,42 p=1,000
VML 588 0.2 mg/kg/h	8	34,75 +/- 11,20	151,8 +/- 36,14	61,4 +/- 36,91
		—	—	—
		34,38 +/- 11,07 p=0,083	152,35 +/- 37,78 p=0,285	61,89 +/- 37,72 p=0,715

Kardiale Volumina				
Studienmedikament	N	EF [%]	SV [ml/Schlag]	CO [L/min]
Normbereich	-	>60	60 - 90	5 - 9
Placebo	4	66,50 +/- 7,05	75,60 +/- 18,18	5,66 +/- 2,48
		–	–	–
		67,25 +/- 7,93 p=0,180	78,8 +/- 17,01 p=0,180	5,19 +/- 2,24 p=0,144
VML 588 0.1 mg/kg/h	8	63,75 +/- 8,17	100 +/- 16,33	6,40 +/- 1,40
		–	–	–
		64,25 +/- 8,26 p=0,102	100,06 +/- 16,07 p=0,144	6,36 +/- 1,22 p=0,866
VML 588 0.2 mg/kg/h	8	61,88 +/- 14,74	90,4 +/- 12,61	6,86 +/- 1,50
		–	–	–
		61,63 +/- 14,57 p=0,480	90,19 +/- 12,85 p=0,500	6,72 +/- 1,69 p=0,400

Diastolische LV-Parameter				
Studienmedikament	N	VEmax [m/s]	VAmx [m/s]	VE/VA
Normbereich	-	0,6 – 1,0	0,4 – 0,8	≥0,9
Placebo	4	0,62 +/- 0,12	0,64 +/- 0,19	1,02 +/- 0,28
		–	–	–
		0,61 +/- 0,10 p=1,000	0,64 +/- 0,14 p=1,000	1,00 +/- 0,35 p=1,000
VML 588 0.1 mg/kg/h	8	0,65 +/- 0,05	0,62 +/- 0,08	1,07 +/- 0,21
		–	–	–
		0,66 +/- 0,06 p=0,622	0,62 +/- 0,08 p=0,236	1,09 +/- 0,22 p=0,401
VML 588 0.2 mg/kg/h	8	0,61 +/- 0,17	0,69 +/- 0,18	0,92 +/- 0,32
		–	–	–
		0,60 +/- 0,12 p=0,528	0,71 +/- 0,17 p=0,889	0,88 +/- 0,23 p=0,401
Studienmedikament	N	AT [ms]	DT [ms]	IVRT [ms]
Normbereich	-	<100	<240	<105
Placebo	4	93,25 +/- 4,57	229,25 +/- 22,77	126,50 +/- 14,73
		–	–	–
		91,50 +/- 6,61 p=0,273	234,25 +/- 30,02 p=0,273	130,75 +/- 20,16 p=0,144
VML 588 0.1 mg/kg/h	8	87,38 +/- 4,87	214,00 +/- 17,57	122,88 +/- 15,03
		–	–	–
		87,75 +/- 3,37 p=0,478	212,63 +/- 20,49 p=0,575	120,13 +/- 19,75 p=0,889
VML 588 0.2 mg/kg/h	8	87,63 +/- 8,91	233,00 +/- 12,75	134,75 +/- 30,01
		–	–	–
		86,63 +/- 5,40 p=0,777	228,88 +/- 7,42 p=0,263	126,38 +/- 28,10 p=0,263

FS: Fractional Shortening; EDV: Enddiastolisches Volumen; ESV: Endsystolisches Volumen;
CO: Cardiac Output; EF: Ejektionsfraktion; SV: Schlagvolumen; p = asymptotische Signifikanz (Wilcoxon-Test)

Tabelle 3.8: Echokardiographische Parameter (0min – 90min)

3.5 VML588-, ET-1- und Big-ET-Konzentrationen

ET-1- und Big-ET-Konzentrationen, wurden vor und 1,5 Std nach Infusionsbeginn gemessen. Es konnte gezeigt werden, dass ein Anstieg der Plasma ET-1-Konzentrationen während VML 588-Infusion stattfand, wohingegen nur geringe Änderungen während der Placeboinfusion stattfanden. Dies wird auch dadurch deutlich gezeigt, dass vor Infusionsbeginn der Unterschied der Plasma-ET-1-Konzentration zwischen den Verumgruppen und der Placebogruppe nicht signifikant ($p=0,337$) war, wohingegen nach 90min ein signifikanter Unterschied nachzuweisen war ($p=0,047$). Während der Infusion konnte bei 6/8 Patienten in der VML 588 0.1 mg/kg/h-Gruppe und allen 8 Patienten in der VML 588 0.2 mg/kg/h-Gruppe eine Zunahmen der Plasma ET-1-Konzentrationen nachgewiesen werden, was durch die Blockade des ET_A Rezeptors durch VML 588 erklärt ist, wohingegen in allem außer einem Patienten (Nr.09) in der Placebogruppe die Plasma-ET-1-Konzentrationen unter der Nachweisgrenze blieben. Bei den Big-ET-Werten konnte keine einheitliche Konzentrationserhöhung oder –reduzierung in einer der Dosisgruppen nachgewiesen werden. (Tabelle 3.9)

Studienmedikament	N	ET-1 [fmol/ml] (0 min)	ET-1 [fmol/ml] (90 min)	Big-ET [fmol/ml] (0 min)	Big-ET [fmol/ml] (90 min)
Placebo	4	0,07 +/- 0,15	0,17 +/- 0,32	0,72 +/- 0,23	0,68 +/- 0,18
		p=0,180		p=0,715	
VML 588 0.1 mg/kg/h	8	0,33 +/- 0,41	0,47 +/- 0,58	0,77 +/- 0,26	0,80 +/- 0,26
		p=0,327		p=0,484	
VML 588 0.2 mg/kg/h	8	0,15 +/- 0,29	0,50 +/- 0,47	0,82 +/- 0,27	0,87 +/- 0,34
		p=0,018		p=0,263	

Tabelle 3.9: Mittelwerte der ET-1 und Big-ET Plasmakonzentrationen (fmol/ml);
p = asymptotische Signifikanz (Wilcoxon-Test)

Unterteilt man die Patienten, die VML 588 erhielten, in Patienten mit bzw. ohne eine klinisch relevante Stenose, welche unmittelbar nach der Studie eine klinische Intervention in Form einer PTCA oder ACVB-Operation erforderte, so fällt auf, dass nur die Patienten mit einer in der Koronarangiographie nachgewiesenen klinisch relevanten Stenose einen signifikanten Anstieg der Endothelin-Plasmakonzentration unter der VML 588 Infusion hatten (Tabelle 3.10).

Klinisch relevante Stenose (>50%)	N	ET-1 [fmol/ml] (0 min)	ET-1 [fmol/ml] (90 min)
JA	5	0,22 +/- 0,36	0,59 +/- 0,52
		p=0,043	
NEIN	11	0,26 +/- 0,37	0,44 +/- 0,52
		p=0,139	

Tabelle 3.10: Mittelwerte der ET-1 Plasmakonzentrationen (fmol/ml) der Verumpatienten mit bzw. ohne eine klinisch relevanten Stenose;
p = asymptotische Signifikanz (Wilcoxon-Test)

Es gab keine Korrelation zwischen dem in der Koronarangiographie nachgewiesenen Gefäßstatus und den Endothelin-Plasmakonzentrationen ($r = -0,212$). Es zeigt sich zwar eine Steigerung der Ausgangswerte von den Patienten ohne klinisch relevante KHK zu den Patienten mit einer 2-Gefäß-KHK (da es nur einen Patienten mit einer 3-Gefäß-KHK in der Studie gab, wird diese hierbei nicht berücksichtigt), diese ist allerdings nicht signifikant (keine KHK vs. 2-Gefäß-KHK $p=0,341$). Auch bei der Überprüfung des Konzentrationsanstiegs nach 90min konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden (Tabelle 3.11).

Allerdings bleibt festzuhalten, dass mit höherem Schweregrad der KHK die ET-1 Plasmakonzentration unter Gabe von VML 588 signifikant steigt (Tabelle 3.10) und dass auch ein signifikanter Unterschied zwischen Placebogruppe und Patienten mit klinisch relevanter KHK nach 90 minütiger VML 588 Infusion besteht (Diagramm 2; $p=0,049$).

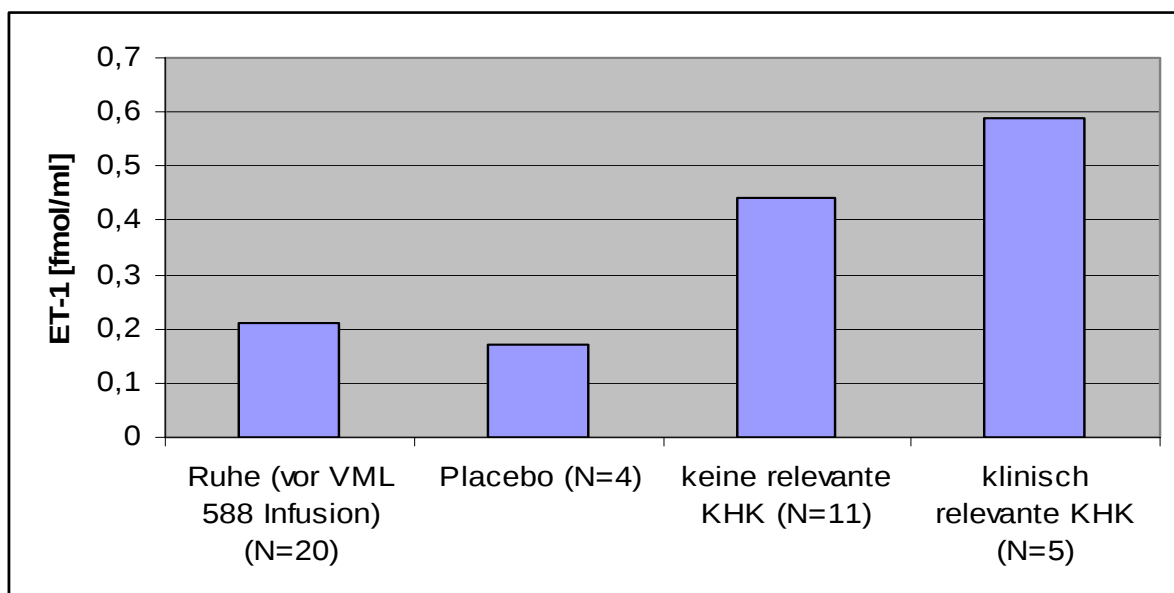


Diagramm 2: Vergleich der ET-1 Plasmakonzentrationen vor Infusionsbeginn (alle Patienten) und nach 90min Infusion mit VML 588 bzw. Placebo

Gefäßstatus	N	ET-1 [fmol/ml] (0 min)	ET-1 [fmol/ml] (90 min)	Big-ET [fmol/ml] (0 min)	Big-ET [fmol/ml] (90 min)
keine klinisch relevante KHK	5 (8)	0,15 +/- 0,28 (0,10 +/- 0,22)	0,43 +/- 0,53 (0,22 +/- 0,44)	0,67 +/- 0,27 (0,68 +/- 0,24)	0,73 +/- 0,29 (0,70 +/- 0,25)
		p=0,078		P=0,225	
1-Gefäß-KHK	7 (8)	0,20 +/- 0,30 (0,22 +/- 0,28)	0,39 +/- 0,47 (0,42 +/- 0,45)	0,94 +/- 0,17 (0,91 +/- 0,17)	0,95 +/- 0,12 (0,93 +/- 0,12)
		p=0,091		p=0,866	
2-Gefäß-KHK	3 (3)	0,54 +/- 0,60	0,56 +/- 0,30	0,72 +/- 0,39	0,76 +/- 0,59
		p=1,000		p=1,000	
3-Gefäß-KHK	1 (1)	0,06	0,20	0,68	0,83

Tabelle 3.11: Mittelwerte der ET-1 und Big-ET Plasmakonzentrationen (fmol/ml) in Korrelation zum Gefäßstatus der Patienten [ohne Placebo-Patienten (mit Placebo-Patienten)];
p = asymptotische Signifikanz (Wilcoxon-Test)

Betrachtet man den absoluten Anstieg der Endothelin-Plasmakonzentration nach 90min Infusionsdauer im Verhältnis zum Gefäßstatus der Patienten, so sind keine signifikanten Unterschiede zu sehen (Tabelle 3.12).

Gefäßstatus	N	absoluter ET-1 Anstieg [fmol/ml]	absoluter Big-ET Anstieg [fmol/ml]
keine klinisch relevante KHK	5	0,48 +/- 0,48	0,07 +/- 0,10
1-Gefäß-KHK	7	0,18 +/- 0,24	0,01 +/- 0,11
2-Gefäß-KHK	3	0,17 +/- 0,88	0,04 +/- 0,23
3-Gefäß-KHK	1	0,14	0,15

Tabelle 3.12: absoluter Anstieg der ET-1 und Big-ET Plasmakonzentrationen (fmol/ml) nach 90min in Korrelation zum Gefäßstatus der Patienten

In Kohorte 1 waren die bei 90 und 360 min nach Infusionsstart gemessenen VML 588-Konzentrationen annähernd gleich (209 ng/mL +/- 38 bei 90 min und 214 ng/mL +/- 80 bei 360 min), was ein Hinweis auf einen schnell erreichten Steady State von VML 588 (innerhalb von 90 min nach Infusionsstart) ist.

Wie in Kohorte 1 waren die während der Infusion gemessenen VML 588-Werte in Kohorte 2 annähernd gleich (601 +/- 180 ng/mL bei 90 min, 637 +/- 219 ng/mL bei 180 min, und 674 +/- 255 ng/mL bei 360 min), was auch hier ein Hinweis auf einen schnell erreichten Steady State nach Infusionsstart ist. Plasma VML 588-Konzentrationen nahmen nach dem Ende der Infusion schnell ab: 30 min nach Infusionsende lag die mittlere Plasma VML 588-

Konzentration bei 173 +/- 64 ng/mL und 4 Stunden nach dem Ende der Infusion bei 20.2 +/- 16 ng/mL.

Es gab eine dosisbezogene Zunahme der Steady-State-Plasma VML 588 Konzentrationen mit erhöhter VML 588-Dosis.

Zusammenfassung der hämodynamischen Ergebnisse:

Die Infusion mit VML 588 bewirkte eine signifikante Abnahme von systolischem und diastolischem Druck sowie des mittlerem arteriellen Druck, zusammen mit einer geringen allerdings nicht signifikanten Erhöhung der Herzfrequenz im Vergleich zu den Ausgangswerten. Dies war am stärksten bei Patienten mit einer klinisch relevanten KHK (Stenose > 50%) ausgeprägt.

Unter der Infusion mit VML 588 oder Placebo konnten keine Veränderungen der von uns gemessenen echokardiographischen Parameter registriert werden. Alle Patientengruppen zeigten eine normale systolische Funktion (Auswurfraction > 60%), was in der Lävokardiographie bestätigt wurde.

Plasma-ET-1-Konzentrationen nahmen während der VML 588-Infusion dosisabhängig zu, was auf eine Blockierung des Rezeptors des endogenen ET-1 deutet. Auch diese Tatsache war vor allem bei Patienten mit einer klinisch relevanten KHK (Stenose > 50%) nachzuweisen.

3.6 Verträglichkeit und Nebenwirkungen von VML 588

VML 588 wurde von den Patienten gut vertragen. Lediglich bei einem Patienten in der ersten Kohorte musste die Infusion aufgrund von Übelkeit und starker Hypotonie kurzzeitig unterbrochen werden. Die Inzidenz von unerwünschten Nebenwirkungen war in der höheren VML 588 Dosisgruppe etwas höher (13 berichtete unerwünschte Nebenwirkungen in der 0.1 mg/kg/h Dosisgruppe bei 5 von 8 Patienten, und 12 berichtete unerwünschte Nebenwirkungen in der 0.2 mg/kg/h Dosisgruppe bei 7 von 8 Patienten) und höher als in der Placebogruppe (eine berichtete unerwünschte Nebenwirkung bei einem von 4 Patienten). Die am häufigsten berichtete unerwünschte Nebenwirkung während der VML 588-Infusion war Kopfschmerzen (3 von 8 Patienten in der 0.1 mg/kg/h Dosisgruppe und 4 von 8 Patienten in der 0.2 mg/kg/h Dosisgruppe).

Studienmedikament Dosis (mg/kg/h)	VML 588 0.1	VML 588 0.2	Placebo
Anzahl der Patienten	8	8	4
Neurologische Beschwerden	3 (38)	4 (50)	1 (25)
Kopfschmerzen	3 (38)	4 (50)	0 (-)
Schwindel (exklusive Gleichgewichtsstörungen)	0 (-)	0 (-)	1 (25)
Vasovagale Synkope	1 (13)	0 (-)	0 (-)
Dermatologische Beschwerden	1 (13)	2 (25)	0 (-)
Bläschen	0 (-)	1 (13)	0 (-)
Ekchymose	1 (13)	1 (13)	0 (-)
Störungen des allgemeinen Wohlbefindens	0 (-)	1 (13)	0 (-)
Hitzegefühl	0 (-)	1 (13)	0 (-)
Hepatobiliäre Beschwerden	0 (-)	1 (13)	0 (-)
Hyperbilirubinämie	0 (-)	1 (13)	0 (-)
Urologische Beschwerden	1 (13)	1 (13)	0 (-)
Miktionsschwierigkeiten	0 (-)	1 (13)	0 (-)
Urinretention	1 (13)	0 (-)	0 (-)
Beschwerden des Kreislaufsystems	1 (13)	1 (13)	0 (-)
Hypotension	1 (13)	1 (13)	0 (-)
Ophtalmologische Beschwerden	1 (13)	0 (-)	0 (-)
Verschwommenes Sehen	1 (13)	0 (-)	0 (-)
Gastrointestinal Beschwerden	1 (13)	0 (-)	0 (-)
Übelkeit	1 (13)	0 (-)	0 (-)
Erbrechen	1 (13)	0 (-)	0 (-)
Muskuloskeletale Beschwerden	1 (13)	0 (-)	0 (-)
Rückenschmerzen	1 (13)	0 (-)	0 (-)
Sonstige Beschwerden	4 (50)	2(25)	0(-)

Tabelle 3.13: Inzidenz (Anzahl [%] von Patienten) von Nebenwirkungen

4 Diskussion

4.1 Wertung der Ergebnisse der Studienziele

Das Ziel dieser monozentrischen, doppelt-blinden, placebokontrollierten Studie war die Klärung der Frage, ob die akute i.v. Gabe von VML 588 einen Einfluss auf die LV-Funktion bei Patienten der NYHA Klassen I und II hat. Des Weiteren sollten die Pharmakokinetik von VML 588 sowie die durch dessen ET_A-Antagonismus hervorgerufenen Einflüsse auf die Plasmakonzentration von ET-1 (1-21) und Big-ET (1-38) untersucht werden. Schließlich wollten wir Erkenntnisse über die Effekte von VML 588 auf hämodynamische Parameter bei den Studienteilnehmern gewinnen.

Sekundäres Ziel im Rahmen der Phase II-Studie war für uns die Überprüfung der Sicherheit und Verträglichkeit von VML 588 bei den Studienpatienten.

Zwanzig randomisierte Patienten der NYHA Klasse I+II mit nachgewiesener oder vermuteter KHK erhielten die Studienmedikation (VML 588: Placebo (4:1)) und schlossen die Studie ab. Unter der Infusion von VML 588 konnten Zeichen der Vasodilatation in Form eines signifikanten Blutdruckabfalls beobachtet werden.

Es fanden sich keine Änderungen funktioneller echokardiographischer Parameter während laufender Infusion. Die systolische Funktion war bei allen Patienten normal (Auswurfraction > 60%) und verschlechterte sich nicht.

In der Dosisgruppe 0,2 ml/kg/h zeigte sich eine signifikante Erhöhung der ET-1 Plasmakonzentration unter der Gabe von VML 588. Bei den Verumpatienten mit einer in der Koronarangiographie diagnostizierten klinisch relevanten Stenose, welche unmittelbar nach der Studie eine klinische Intervention in Form einer PTCA oder ACVB-Operation erforderte, zeigte sich zusätzlich ein signifikanter Blutdruckabfall.

Eine Steady-State-Plasmakonzentration von VML 588 wurde nach 90min erreicht.

Klinische relevante Ereignisse im Sinne von Nebenwirkungen ergaben sich nicht, was die hohe Sicherheit und gute Verträglichkeit von VML 588 widerspiegelt.

Eine vergleichbare Studie wurde von Kiowski et al (⁸⁰) mit dem unselektiven ET-Rezeptorantagonisten Bosentan durchgeführt, bei der nur Patienten der NYHA Klasse III eingeschlossen wurden. Außerdem wurde im Vergleich zu unserer Studie eine deutlich höhere Dosierung des ET-Rezeptorantagonisten gewählt, ohne einen direkten Dosisvergleich zwischen den beiden Rezeptorantagonisten machen zu können. Bei dieser Studie wurden die

hämodynamischen Parameter mittels Thermodilutionskatheter gemessen. Den Patienten wurde über jeweils 15min zunächst 100mg und 60min später weitere 200mg Bosentan infundiert. In dieser Studie stiegen die Plasma ET-1- und Big-ET-Konzentrationen signifikant an, was damit erklärt wurde, dass die ET_B-Blockade die pulmonale Clearance von Endothelin verhinderte. Wie bei unserer Studie sank der Blutdruck signifikant. Der Cardiac Index stieg in dieser Studie signifikant an.

Guillermo Torre-Amione et al (¹⁶⁶) benutzten für ihre Studien den ET_A-/ET_B-Rezeptorblocker Tezosentan und gaben ihn in Dosen zu 20mg/h bzw. 50 mg/h über einen Zeitraum von insgesamt 48 Stunden. Auch hier wurden nur Patienten der NYHA-Klassen III und IV eingeschlossen. Auch dieser gemischte ET-Rezeptorblocker zeigte in punkto Sicherheit und Verträglichkeit vergleichbare Ergebnisse wie VML 588 in unserer Studie. Eine in dieser Studie nach den 48 Stunden durchgeführte echokardiographische Untersuchung zeigte im Vergleich zur Eingangsuntersuchung einen verbesserten Cardiac Index, ein erhöhtes Schlagvolumen und eine allgemein verbesserte diastolische Funktion des Herzen.

Gleiche Ergebnisse konnten in weiteren vergleichbaren Studien mit Tezosentan gezeigt werden, bei denen die hämodynamischen Parameter mit einem Swan-Ganz-Katheter gemessen wurden (^{150;165}), wobei die Verbesserung der gemessenen Parameter abhängig von der Dosishöhe Tezosentans war.

Der Grund für die ausgebliebenen Änderungen der Parameter in unserer Studie könnte zum einen in dem unterschiedlichen Patientenkollektiv dieser Studie begründet sein. Während in den zitierten Studien das Patientenkollektiv aus Patienten mit Herzinsuffizienz der NYHA Klasse III und IV bestand, waren es in dieser Studie Patienten der NYHA Klassen I und II. Alle Patientengruppen in unserer Studie wiesen eine Auswurffraktion von >60% auf, während in den zitierten Studien die Patienten eine Auswurffraktion von weniger als 35% (^{150;165;166}) bzw. <30% (⁸⁰) hatten. Weiterhin bestand unser Patientenkollektiv aus Patienten mit einer nachgewiesenen Koronaren Herzkrankheit, wohingegen die vergleichbaren Studien Patienten mit einer bestehenden Herzinsuffizienz untersuchten. Schließlich könnte es daran liegen, dass bei den in unsere Studie eingeschlossenen Patienten noch keine genügend ausgeprägte Aktivierung des Endothelinsystems vorlag. Die obere Grenze der Normalwerte für die Plasmakonzentration von ET-1 und Big-ET ist 0,7fmol/ml, welche, wie in Tabelle 3.9 zu sehen ist, von den verschiedenen Patientengruppen unserer Studie bei den Endothelin-

Plasmakonzentrationen nicht und bei den Big-ET-Plasmakonzentrationen um maximal 17% überschritten wurde. In den zitierten Studien wurden die Normalwerte deutlich überschritten. So lagen zum Beispiel die Ausgangswerte der ET-1 und Big-ET-Plasmakonzentration der einzelnen Patientengruppen der Studie von Kiowski et al (⁸⁰) um 96 bis 164% über der oberen Grenze des angegebenen Normbereichs.

Des Weiteren handelt es sich bei VML 588 um einen selektiven ET_A-Antagonisten, wohingegen die Studiensubstanzen Tezosentan und Bosentan unselektive ET_A/ET_B-Antagonisten sind. Es stellt sich also die Frage, ob eine kombinierte ET_A/ET_B-Blockade oder eine selektive ET_A-Blockade die bessere Wahl zur Antagonisierung des Endothelinsystems darstellt oder ob es vielleicht letztlich durch zum Teil unterschiedliche Effekte der beiden Möglichkeiten, welche dann noch detaillierter untersucht werden müssten, auch unterschiedliche Anwendungsgebiete beider Präparateklassen geben könnte.

Ein weiterer Grund für die ausgebliebenen Änderungen der Parameter in unserer Studie könnten die Infusionsdauer bzw. der Zeitpunkt der zweiten echokardiographischen Untersuchung nach Infusionsstart sein und die Dosishöhe. So ist es sehr gut denkbar, dass, obwohl bereits 90min nach Infusionsbeginn sowohl die Steady-State-Plasmakonzentration von VML 588 erreicht als auch ein signifikanter Anstieg der Plasma-ET-1-Konzentration zu verzeichnen war, VML 588 noch nicht seine volle Wirkung entfalten konnte und eine weitere echokardiographische Untersuchung zu einem späteren Zeitpunkt sehr wohl Veränderungen in Bezug auf die Ausgangswerte vor Infusionsstart gezeigt hätte.

Außerdem wurden in unserer Studie geringe Dosierungen verwendet, wohingegen bei den zitierten Studien deutlich höhere Dosen appliziert wurden. Auch hierbei ist es allerdings nicht unwahrscheinlich, dass bei entsprechend höherer Dosierung von VML 588 ebenfalls signifikante Veränderungen bestimmter LV-Parameter nachzuweisen sein könnten.

Nichts desto trotz zeigte sich in unserer Studie ein signifikanter Blutdruckabfall unter der Infusion mit VML 588 bei Patienten mit einer klinisch relevanten KHK (Stenose > 50%), was die Demaskierung einer latenten kardialen Dysfunktion durch VML 588 andeuten könnte. Durchaus denkbar wäre, dass eine Arteriosklerose mit einer lokalen ET-1 Erhöhung einhergeht, was dann einen erhöhten Vasomotorentonus und relativ höhere Blutdruckwerte zur Folge haben kann. Wird in dieser Situation das Endothelinsystem blockiert, könnte dies folglich auch den Blutdruck stärker senken. Ein Hinweis kann die Tatsache sein, dass auch die ET1-Spiegel bei Patienten mit einer Stenose > 50% stärker anstiegen.

Davon ausgehend, dass diese Patienten aufgrund ihrer klinisch relevanten KHK eine hohe relevante Plaquelast mit daraus resultierenden großen Endothelin-Reservoirs besitzen, ist eine

mögliche Hypothese zur Erklärung unserer Ergebnisse, dass es zunächst durch die Blockade der ET_A-Rezeptoren mit VML 588 zu einem Anstieg der Endothelin-Plasmakonzentration kommt. Ursache hierfür könnte zum einen eine erhöhte ET1-Liberation aus intrazellulären Speichern oder den vorhandenen Plaques sein, des weiteren könnten aufgrund der Rezeptorblockierung der periphere Verbrauch und Umsatz gemindert sein. Gleichzeitig besteht eine konstante Konversion von Big-Endothelin zu ET-1, denn die Plasmakonzentrationen von Big-ET nahmen in keiner der Patientengruppen signifikant zu oder ab, so dass davon auszugehen ist, dass die Endothelinkonversion unter VML 588 unbeeinflusst bleibt. Da die ET_A-Rezeptoren blockiert sind entfaltet ET-1 seine Wirkung nur über die ET_B-Rezeptoren, was schließlich eine Vasodilatation mit Blutdruckabfall zur Folge hat (Abb.4).

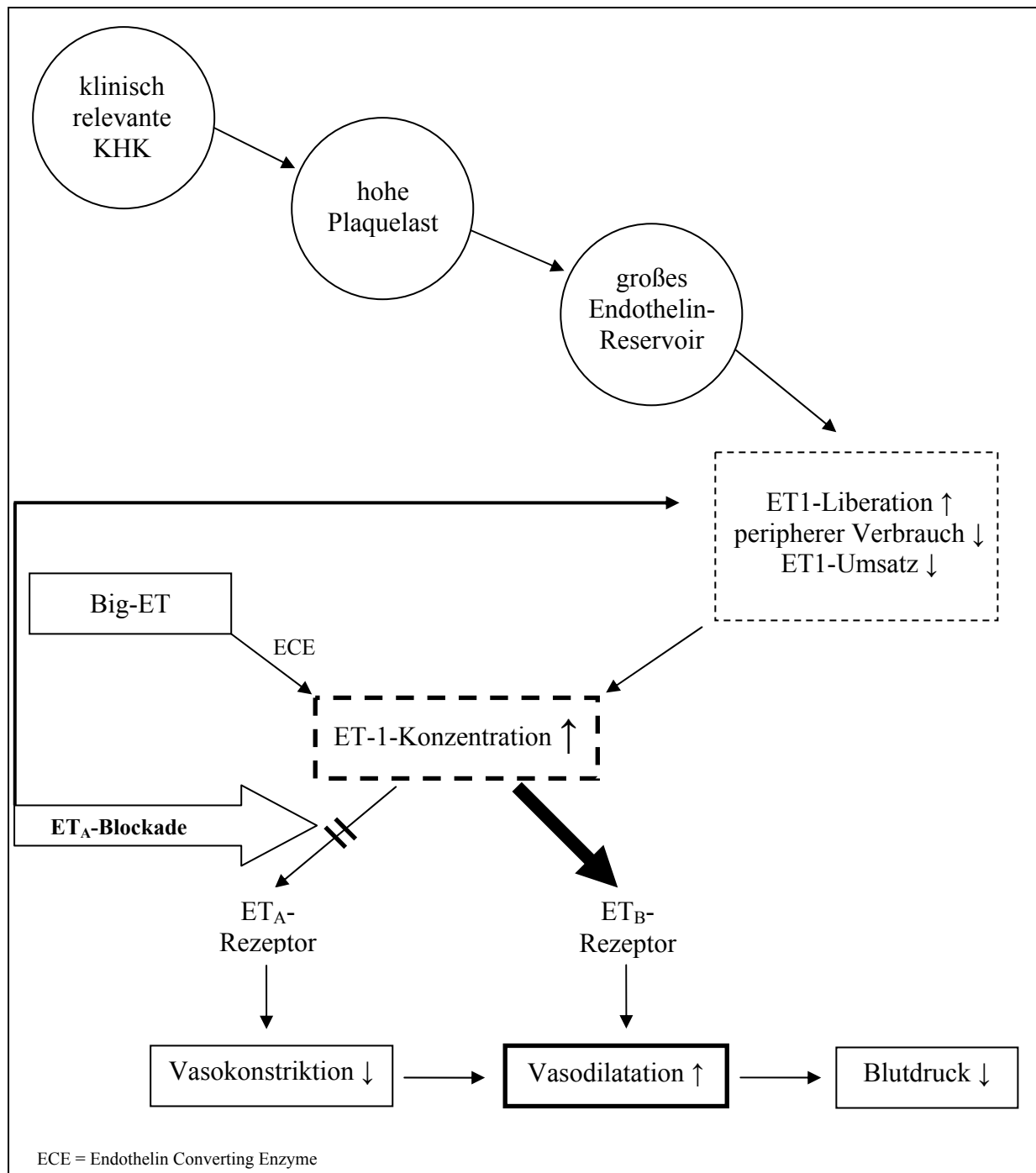


Abb.4: Möglicher Mechanismus bei ET_A-Blockade bei Patienten mit klinisch relevanter KHK und Blutdruckreaktion

Diese Überlegung könnte darauf hindeuten, dass trotz ET_A-Rezeptorblockade erst ab einer gewissen Schwellendosis von ET-1, eine messbare vasodilatatorische Wirkung eintritt. Da diese allerdings erst bzw. früher bei Patienten mit entsprechend stark ausgeprägter KHK überschritten wird, zeigt sich nur bei diesem Patientenkollektiv der signifikante Blutdruckabfall, was auch als eine Demaskierung einer bestehenden kardialen Dysfunktion gedeutet werden könnte.

Hierbei wäre es weiterhin interessant herauszufinden, ob sich die zusätzliche Erhöhung der Endothelin-Plasmakonzentration vornehmlich auf eine verminderte Aufnahme von Endothelin in die Zellen zurückzuführen ist, oder ob und wie stark es sich hierbei auch um eine vermehrte Entleerung intrazellulärer Speicher handelt, was dann natürlich auch die Konzentration des zirkulierenden Endothelins erhöhen würde. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass bereits in anderen Studien gezeigt wurde, dass in arteriosklerotischer Plaquebildung eine erhöhte Biosynthese von Endothelin-1 in den glatten Muskelzellen stattfindet, dadurch das Zellwachstum und das Voranschreiten der Plaquebildung und damit der Schweregrad der Arteriosklerose beeinflusst wird (^{59;70}).

Man sollte weiterhin berücksichtigen, dass eine Aktivierung des Endothelinsystems bei fortgeschrittenen Herzkreislauferkrankungen eine Downregulation der Endothelin-Rezeptoren induziert. Dies könnte limitierend für die mögliche Ansprechbarkeit auf selektive und/oder gemischte Endothelinantagonisten sein.

4.2 Möglichkeiten der klinischen Nutzung von Endothelinwerten als prognostischer Faktor bei KHK

Bisher konnte gezeigt werden, dass erhöhte ET-1 Plasmakonzentrationen z.B. bei Arteriosklerose und Myokardinfarkt auftreten (^{93;108;158;196}).

Vor dem Hintergrund der Aktivierung des Endothelinsystems bei verschiedenen Schweregraden der Herzinsuffizienz ist mit fortschreitender Schwere der Erkrankung die Aktivierung dieses Systems gesteigert. Somit ist es durchaus denkbar, dass Endothelin als Marker für den Schweregrad der Erkrankung bzw. als prognostischen Faktor für den Verlauf der Erkrankung eine wichtige Rolle spielen könnte. Faktoren, die dabei eine ET-1-Ausschüttung hervorrufen sind neben der Ischämie (^{23;43}) auch mechanisch hervorgerufene Gefäßverletzungen, wie sie bei der PTCA auftreten (^{35;182;196}).

4.3 Klinische Anwendbarkeit der Blockierung des Endothelinsystems und Ausblicke

Es gibt inzwischen eine ganze Reihe sowohl von kombinierten ET_A-/ET_B-Rezeptorblockern als auch von spezifischen Rezeptorblockern. In Tabelle 4.1 ist eine Übersicht über Endothelin-Rezeptorantagonisten, die zur Zeit in klinischen bzw. präklinischen Studien evaluiert werden. Sofern verfügbar sind weiterhin die angestrebten klinischen Verwendungen der Substanzen mit angegeben.

Substanz	Ziel	Hersteller	Indikation / Kommentar / Name
12m	ET _A	Rhone-Poulenc Rorer	Kardiovaskuläre Erkrankungen
A-127772	ET _A	Abbott	
A-182086	ET _A /ET _B	Abbott	
ABT-627	ET _A	Abbott	HI; Prostatakrebs; (Atrasentan)
BE-18572A/B	ET _A	Banyu	
BMS-20794	ET _A	Bristol Myers Squibb	
BMS-182874	ET _A	Bristol Myers Squibb	HI
BMS-193884	ET _A	Bristol Myers Squibb	
BQ-123	ET _A	Banyu	nur intravenös applizierbar
BQ-153	ET _A	Banyu	nur intravenös applizierbar
BQ-162	ET _A	Banyu	nur intravenös applizierbar
BQ-485	ET _A	Banyu	nur intravenös applizierbar
BQ-610	ET _A	Banyu	nur intravenös applizierbar
CGS-27830	ET _A /ET _B	Novartis	
EMD-122946	ET _A	Merck	HI; Hypertension
EMD-94246	ET _A	Merck	HI; Hypertension
FR-139317	ET _A	Fujisawa Pharm. Co.	
IRL-3630	ET _A /ET _B	Novartis	
J-104121	ET _A	Merck/Banyu	
J-104132	ET _A	Merck/Banyu	Hypertension
L-744453	ET _A	Merck	Kardiovaskuläre Erkrankungen
L-749329	ET _A	Merck	
L-753037	ET _A /ET _B	Merck	
L-754142	ET _A	Merck	
LU127043	ET _A	Knoll	
LU135252	ET _A	Knoll	HI; Hypertension; (Darusentan) – z.Zt. in klinischer Evaluation in der EARTH-Studie
LU208075	ET _A	Knoll	HI; Hypertension
LU302146	ET _A	Knoll	Okklusive Gefäßkrankheiten
LU224332	ET _A /ET _B	Knoll	
LU302872	ET _A /ET _B	Knoll	
PD-142893	ET _A /ET _B	Parke-Davis	Kardiovaskuläre Erkrankungen
PD-145065	ET _A /ET _B	Parke-Davis	Kardiovaskuläre Erkrankungen
PD-147953	ET _A	Parke-Davis	Kardiovaskuläre Erkrankungen
PD-151242	ET _A	Parke-Davis	Kardiovaskuläre Erkrankungen
PD-155080	ET _A	Parke-Davis	Kardiovaskuläre Erkrankungen
PD-156707	ET _A	Parke-Davis	Kardiovaskuläre Erkrankungen
RO 46-2005	ET _A /ET _B	Hoffmann-La Roche	
RO 47-0203	ET _A /ET _B	Hoffmann-La Roche	HI; Hypertension; (Bosentan – Handelsname: Tracleer®)
RO 48-5695	ET _A /ET _B	Hoffmann-La Roche	Zulassung zur Therapie der Pulmonalen Hypertonie (Juni 2002)
RO 61-1790	ET _A	Hoffmann-La Roche	SAB; nur intravenös applizierbar
RO 61-0612	ET _A /ET _B	Hoffmann-La Roche	HI; nur intravenös applizierbar; (Tezosentan – Handelsname: Veletri®); z.Zt. Evaluation in 2 Phase III-Studien (VERITAS-1 und VERITAS-2)
S-0139	ET _A	Shionogi	Kardiovaskuläre Erkrankungen
SB-209670	ET _A /ET _B	SmithKline Beecham	Kardiovaskuläre Indikationen; Radiokontrast Nephropathie
SB-217242	ET _A /ET _B	SmithKline Beecham	HI; (Enrasentan) – z.Zt. in klinischer Evaluation in der ENCOR-Studie
SB-234551	ET _A	SmithKline Beecham	
SB-247083	ET _A	SmithKline Beecham	
TA-0115	ETA	Tanabe Seiyaku Co., Ltd Heart failure	
TA-0201	ETA	Tanabe Seiyaku Co., Ltd Heart failure	
TAK-044	ET _A /ET _B	Parke-Davis	KHK; SAB; renale Transplantatabstoßung; nur intravenös applizierbar
TBC11251	ET _A	Texas Biotechnology Company	HI; Primäre pulmonale Hypertension; (Sitaxsentan)
WS-7338B	ET _A	Fujisawa	
ZD 1611	ET _A	Zeneca	Obstruktive Lungenerkrankung; Primäre pulmonale Hypertension

Tabelle 4.1: Endothelinantagonisten (Einige der Substanzen sind aufgrund ihrer Peptidstruktur nur intravenös applizierbar. HI = Herzinsuffizienz; KHK = Koronare Herzkrankheit; SAB = Subarachnoidalblutung)

VML 588 als spezifischer ET_A-Rezeptorblocker wurde von uns bei Patienten mit einer Koronaren Herzkrankheit untersucht.

Gefäßverschlusskrankheiten wie z.B. die KHK könnten eine gute Indikation für die Blockierung des Endothelinsystems darstellen.

Hypercholesterinämie führt zu einer endothelialen Dysfunktion und wird ebenfalls von erhöhten ET-1 Plasmakonzentrationen begleitet (^{26;55}). Oxidiertes LDL induziert dabei die Expression der ET-1-Genen in Endothelzellen sowie die Proliferation von glatten Muskelzellen via ET_A-Rezeptoren (²²). Hinzu kommt, dass Endothelin die Synthese verschiedener Zytokine und Wachstumsfaktoren induziert, die eine Arteriosklerose fördern. In Tierstudien konnte gezeigt werden, dass eine ET_A-Blockade die Endothelfunktion deutlich verbessert und vor Schäden einen Schutz bietet (^{10;15;85}). Eine ET-Rezeptorblockade ist eine Möglichkeit, ischämische Hirnschäden und Gefäßspasmen zu reduzieren (^{7;17}), welche Hauptfaktoren für das Ausmaß eines Hirninfarkts und dessen Folgen darstellen.

Dieselben Überlegungen lassen sich auch auf die Koronare Herzkrankheit übertragen. Sowohl bei Patienten mit Angina Pectoris und unauffälligem Angiogramm als auch bei Patienten mit einer nachgewiesenen KHK sowie bei Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt sind die ET-1 Plasmakonzentrationen erhöht (^{76;93;158}). In unserer Studie konnte keine signifikante Korrelation zwischen Schweregrad der KHK und der Endothelin-Plasmakonzentration gezeigt werden, jedoch kam es nur bei Patienten mit einer in der Koronarangiographie nachgewiesenen klinisch relevanten Stenose, welche unmittelbar nach der Studie eine klinische Intervention in Form einer PTCA oder ACVB-Operation erforderte, zu einem signifikanten Anstieg der Endothelin-Plasmakonzentration unter der VML 588 Infusion sowie zu einem signifikanten Blutdruckabfall. Dies könnte ein Ausdruck dafür sein, dass bei diesen Patienten aufgrund der Ausprägung ihrer KHK eine Aktivierung des Endothelinsystems vorliegt und sie deshalb besonders gut auf dessen Antagonisierung ansprechen.

Es konnte gezeigt werden, dass bereits in frühen Stadien arteriosklerotischer Plaquebildung eine erhöhte Biosynthese von Endothelin-1 in den glatten Muskelzellen dieser Plaques stattfindet, welche das Zellwachstum und Voranschreiten der Plaquebildung und damit des Schweregrades der Arteriosklerose maßgeblich vorantreibt (^{59;70}). Hierzu passt die unserer Studie gezeigte Blutdrucksenkung durch VML 588, die gerade bei Patienten mit einer klinisch relevanten Koronaren Herzkrankheit signifikant ausgeprägt ist.

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass während einer durchgeführten PTCA die Endothelinkonzentration im Plasma vor allem lokal z.B. im Koronarsinus deutlich ansteigt.

Dies wird darauf zurückgeführt, dass durch die lokal provozierten Endothelschäden eine erhöhte Freisetzung von Endothelin aus arteriosklerotischen Plaques stattfindet (^{45;68;87;134}). In diesem Zusammenhang konnte weiterhin gezeigt werden, dass solche Endothelschäden eine deutlich höhere Freisetzung von Endothelin nach sich ziehen, als eine Myokardischämie alleine bewirkt (⁸⁷). Hinzu kommt, dass bei der Aufdehnung der Koronararterien kleinste Partikel aus den Plaques bzw. dem Endothel in die Blutbahn gelangen, die wiederum Mikroembolien verursachen können. Durch ein Missverhältnis zwischen Perfusion und Kontraktion aufgrund der Wirkung des im Rahmen einer allgemeinen neurohormonellen Aktivierung durch die induzierten Gefäßschäden vermehrt freigesetzten Endothelins auch bei unkomplizierten PTCA in Kombination mit den ins Blut gelangten Mikropartikeln steigt das Risiko von Mikroinfarkten bei einer PTCA an (^{41;86;149}). Gerade hierbei könnte sehr gut möglich sein, dass die akute Blockierung des Endothelinsystems während einer durchgeführten PTCA durch die erzielte Vasodilatation dieses Risiko verringert.

Die Restenose ist eine der Hauptlimitationen der PTCA. Wie bereits erwähnt wird durch die bei der PTCA auftretenden Gefäßverletzungen das ET-System für mehrere Wochen aktiviert (¹⁸²). Experimentell konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß der Restenose durch eine zusätzliche ET-1 Infusion vergrößert werden kann (³⁶). Nach dieser Feststellung konnte bei Nagetieren und Schweinen gezeigt werden, dass eine ET-Rezeptorblockade die Proliferation und Hyperplasie der Neointima nach PTCA deutlich reduziert werden kann (^{37;106;168}).

Es ist ungeklärt, in wie weit die Blockierung der Endothelinfreisetzung während einer PTCA beim Menschen mit den darauf folgenden vasokonstriktorisches Effekten dieses Enzyms eine bessere Prognose und verbesserte Langzeiterfolge erbringen kann. So wäre es interessant zu untersuchen, in wie weit eine solche Blockierung z.B. EKG-Veränderungen oder Laborparameter der so genannten Herzenzyme wie CKMB oder auch Troponin T in Folge einer PTCA zum positiven hin beeinflusst, und eventuell mögliche Mikroinfarkte im Zuge der durch das Endothelin hervorgerufenen Vasokonstriktion zu verhindern oder zumindest reduzieren vermag. Gerade hierbei erschiene dann ein schnell wirksamer und gut verträglicher ET_A-Rezeptorantagonist wie das VML 588 eine Möglichkeit zu sein, um gezielt während der PTCA die vasokonstriktorisches Wirkungen des Endothelins zu unterbinden.

Generell könnte die klinische Anwendbarkeit von Endothelinantagonisten in der blutdrucksenkenden Wirkung dieser Substanzklasse liegen. So konnte z.B. gezeigt werden, dass die Gabe des kombinierten ET_A/ET_B-Rezeptorantagonisten Bosentan bei Patienten mit

essentieller Hypertonie eine vergleichbar effektive Wirkung zeigt, wie der ACE-Hemmer Enalapril⁽⁸⁸⁾.

Als erster Endothelin-Rezeptorantagonist erhielt Bosentan (Handelsname: Tracleer[®]) im Juni 2002 in Deutschland die Zulassung zur Therapie der Pulmonalen Hypertonie.

Eine weitere Indikation für Endothelinantagonisten könnte die Herzinsuffizienz sein. Auch in diesem Patientenkollektiv sind die ET-Werte erhöht. Hierbei stellen sich jedoch die Fragen, zu welchem Zeitpunkt eine Blockierung des Endothelinsystems erfolgen sollte und ob man eine selektive ET_A-Blockade einer kombinierten ET_A-/ET_B-Blockade vorziehen sollte. In Tierversuchen mit chronischer Herzinsuffizienz verbesserte eine langfristige Endothelinblockade die kardialen hämodynamischen Parameter, reduzierte die ventrikuläre Dilatation und verlängerte die Überlebenszeit^(20;110;144;198). Da jedoch Endothelin durch seine vielfältigen Funktionen auch zur Informationsweiterleitung im geschädigten Myokard beiträgt und auch dessen Kontraktilität steigert, was durch eine Blockade verhindert würde,^(119;145) bleibt zu überlegen, zu welchem Zeitpunkt diese Blockade erfolgen sollte. Auch die Frage nach der Art der Blockade ist weiterhin unklar. Sowohl unter ET_A-Blockade als auch unter kombinierter ET_A-/ET_B-Blockade konnte eine verbesserte Hämodynamik beobachtet werden, wobei bei der kombinierten Blockade eine starke Erhöhung der ET-Plasmawerte zu verzeichnen ist, was bei selektiver ET_A-Blockade nicht der Fall ist. Ob dieser Faktor letztlich klinisch relevant ist, kann bislang nicht beantwortet werden. Sicher scheint hierbei bislang nur zu sein, dass zumindest der ET_A-Rezeptor auf jeden Fall geblockt werden muss, um therapeutische Effekte zu erzielen⁽¹⁷⁶⁾.

Nicht nur Endothelin-1 sondern auch die Anzahl der ET_A-Rezeptoren sind im menschlichen Herzen bei Herzinsuffizienz erhöht⁽¹³⁶⁾ während die ET_B-Rezeptoren offenbar verringert sind⁽¹⁹⁸⁾. Der Mechanismus, der letztlich zur Erhöhung der ET-Konzentration führt ist bislang noch nicht komplett entschlüsselt. Bei der Herzinsuffizienz scheint der Lungenkreislauf die größte Endothelinquelle darzustellen⁽¹⁶⁹⁾, so dass die bei der Herzinsuffizienz ebenfalls zu verzeichnende Reduzierung der pulmonalen ET_B-Rezeptoren, welche ja mit verantwortlich für Clearance von Endothelin sind, ein weiterer Faktor für die Konzentrationserhöhung von ET-1 darzustellen scheint^(39;83).

Obwohl bei Patienten mit Herzinsuffizienz eine ET_A-vermittelte Vasokonstriktion gezeigt werden konnte⁽²⁰⁾, könnte es sein, dass die positiven Effekte einer ET_A-Blockade auf die Hämodynamik am Herzen durch die ET_B-Blockade geschwächt oder gar aufgehoben werden^(97;176). Bei Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz verbesserte eine Infusion mit dem ET_A-/ET_B-Antagonisten Bosentan akut den Cardiac Output und senkte sowohl den pulmonalen als

auch den systemischen Widerstand, was auch unter 14-tägiger Blockade anhielt, wobei sich eine Verbesserung des Cardiac Index in dieser Zeit sogar noch verstärkte (^{80;161}). Schließlich gilt es noch zu überprüfen, in wie fern die Kombination der Blockierung des Endothelinsystems z.B. mit ACE-Hemmern einen zusätzlichen positiven Effekt bewirken kann. Erste Studien lassen hierbei vermuten, dass eine Blockierung des Endothelinsystems nicht nur vergleichbar gute therapeutische Effekte wie die Blockierung des Renin-Angiotensin-Systems aufweisen kann sondern darüber hinaus eine Kombination dieser beiden Therapievarianten einen positiven synergistischen Effekt hat (^{97;161}). Es wird vermutet, dass durch die Blockierung des Endothelinsystems dessen trophische Langzeitstimulation auf die Zellen längerfristig gesehen einen wichtigeren Faktor darstellt als die dadurch erzielte Vasodilatation, was die im Tierexperiment gezeigte verbesserte Überlebensrate von herzinsuffizienten Ratten nach Myokardinfarkt mit erklären könnte (^{112;144}).

Ein weiterer Anwendungspunkt könnten Nierenerkrankungen darstellen. Die Wirkung von ET-1 in der Niere sind neben der Vasokonstriktion die Induktion von Zellwachstum und in experimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass eine längerfristige ET-Rezeptorblockade Gefäßverletzungen verhindert und eine nephroprotektive Wirkung zeigt und insgesamt die Überlebenszeit verlängert (^{11;13;14;17;44;63;77;127;137;175}). Allerdings weiß man leider bis heute nur sehr wenig über den therapeutischen Nutzen von Endothelin-Rezeptorantagonisten bei Nierenversagen beim Menschen. Aufgrund der dabei sehr komplexen und vielfältigen Wirkung von Endothelin dürfte auf diesem Gebiet jedoch mit nur sehr langsamen Fortschritten zu rechnen sein.

Neben der genaueren Ermittlung von Norm- bzw. Durchschnittswerten von Endothelinkonzentrationen bei Gesunden sowie an bestimmten Krankheiten leidende Patienten in verschiedenen Krankheitsstadien sind vor allem auch einfachere Meßmethoden wichtig. Ein Schritt in diese Richtung könnte die Möglichkeit der Messung von ET-Konzentrationen im Speichel zu sein, denn es konnte gezeigt werden, dass auch hier Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz erhöhte Endothelinwerte im Vergleich zu Gesunden haben und dass eine Krankheitsverschlechterung mit steigenden Werten einhergeht (³²).

4.4 ECE-Hemmer

Ein weiterer Ansatzpunkt zur Blockade der Rezeptoren ist, ähnlich wie die beim Renin-Angiotensin-System, die Blockierung des Endothelin-Converting-Enzyms. Das Endothelin-Converting-Enzyme ist eine Metalloprotease, für die es mittlerweile spezifische Hemmer gibt, nachdem es anfangs nur Substanzen gab, die ECE in Kombination mit der Neutralen

Endopeptidase hemmten (³⁰). Theoretisch müsste man dabei davon ausgehen, dass sämtliche Wirkungen und Effekte von Endothelin inhibiert werden, was einer kombinierten ET_A/ET_B-Rezeptorblockade annähernd gleichzusetzen sein müsste. In der Tat zeigen auch die ersten tierexperimentellen Studien mit ECE-Hemmern vergleichbare Ergebnisse z.B. in Bezug auf vasodilatatorische Wirkungen (⁹⁷), das Verhindern zerebraler Vasospasmen (⁹⁰), die Inhibition vaskulärer Umbauprozesse bei Herzinsuffizienz (¹⁸³) oder auch Myokardveränderungen nach Herzinfarkt (¹⁰⁰) wie sie die Studien mit Endothelin-Rezeptorantagonisten lieferten.

Wada et al (¹⁷⁷) verglichen bei Hunden mit induzierter Herzinsuffizienz die Wirkung eines ET_A-Rezeptorantagonisten mit denen eines ECE-Hemmers. Dabei konnte gezeigt werden, dass der ET_A-Rezeptorantagonist eine stärkere blutdrucksenkende Wirkung hat, während der ECE-Hemmer die Plasmakonzentrationen von Renin, Angiotensin II und Aldosteron senkt. Ansonsten unterschieden sich die beiden Substanzen nicht signifikant in ihrer Wirkung. Ersteres könnte dadurch erklärt werden, dass durch die spezielle ET_A-Blockade zum einen die vasokonstriktorische Wirkung dieses Rezeptors vielleicht stärker blockiert wird als durch die ECE-Hemmung und zum anderen durch die dadurch wahrscheinlich gleichzeitig verstärkte vasodilatatorische Wirkung der ET_B-Rezeptoren, welche durch die ECE-Hemmung ja sogar ebenfalls blockiert werden.

Da bei Herzkreislauferkrankungen wie z.B. der Herzinsuffizienz eine Downregulation der Endothelin-Rezeptoren gezeigt werden konnte (⁹⁶) und aufgrund der Einflüsse, die ECE-Hemmer auf das Renin-Angiotensin-System sowie das Aldosteron zu haben scheinen, könnten auch diese Substanzen sinnvolle Therapiemöglichkeiten oder –ergänzungen zur Behandlung von Herzkreislauferkrankungen darstellen, was in weiteren längerfristigen Studien untersucht werden sollte.

4.5 Zusammenfassung zu VML 588

VML 588 wurde in Dosen von 0.1 und 0.2 mg/kg/h, die intravenös über 6 Std. verabreicht wurden, gut toleriert. Basierend auf der kleinen Patientenzahl in dieser Studie schien die Verträglichkeit von VML 588 nicht mit dem Ausmaß der Gefäßkrankheit, aber ihrem Schweregrad in Zusammenhang zu stehen. Das Profil der in dieser Studie berichteten unerwünschten Nebenwirkungen stimmte mit dem in anderen Studien mit Endothelinantagonisten beobachteten Nebenwirkungen mit Kopfschmerzen (als der am häufigsten berichteten unerwünschten Nebenwirkung) überein. Aber im Gegensatz zu anderen Studien gab es keinen Beweis dosisabhängiger Kopfschmerzen. Die Vasodilatation ist die wahrscheinlichste Ursache für das Auftreten der Kopfschmerzen.

Trotz der vasodilatatorischen Wirkung von VML 588 und obwohl bereits nach 90min der Steady State erreicht wurde und eine gleichzeitige signifikante Erhöhung der ET-1-Plasmakonzentration zu verzeichnen war, konnten bei allen Analysen keinerlei signifikante Veränderung echokardiographisch gemessener kardialer Funktionsparameter bei unseren Patienten (NYHA Klasse I+II) unabhängig von Dosishöhe, Schweregrad der Koronaren Herzkrankheit oder der Höhe der linksventrikulären Auswurfraction nachgewiesen werden. Als Ausdruck eines verstärkten oder besseren Ansprechens auf die ET_A-Rezeptorblockade bei Patienten mit einem stärker ausgeprägten oder aktivierten Krankheitsbild könnte die Tatsache gewertet werden, dass die Patienten mit einer klinisch relevanten KHK (Stenose > 50%) im Vergleich zu denen ohne eine klinisch relevante KHK einen signifikanten Blutdruckabfall sowie einen signifikanten Anstieg der ET-1-Plasmakonzentration unter der Infusion mit VML 588 aufwiesen. Es war bei ähnlich konzipierten Studien mit Endothelin-Rezeptorantagonisten gezeigt worden, dass, bei Patienten der NYHA Klasse III + IV, eine langfristige Verbesserung der LV-Funktionen erzielt wird (^{80;150;165;166}).

Steady State Plasma VML 588 Konzentrationen wurden schnell nach dem Anfang der Infusion erreicht und fielen nach dem Ende von Infusion schnell wieder ab. Bereits 90min nach Beginn der Infusion waren die maximalen Plasmakonzentrationen / Steady-State-Konzentrationen erreicht und 4 Stunden nach Infusionsende waren die Plasmakonzentrationen bereits wieder auf etwa ein zehntel dieser Konzentrationen abgesunken. Dies würde für den möglichen klinischen Einsatz von VML 588 als akute, kurzzeitige ET_A-Blockade z.B. während der Durchführung einer PTCA sprechen, wo es, wie oben diskutiert, die direkten negativen Folgen einer während der PTCA erhöhten Freisetzung von Endothelin entgegenwirken könnte. Bei VML 588 handelt es sich um eine Substanz, die aufgrund des schnellen Erreichens von Steady State Bedingungen zur akuten Hemmung eines aktivierten Endothelinsystems beitragen kann. Am ehesten aus Gründen der Parameterwahl und des Studienablaufs ergaben sich bei unseren Patienten mit normaler systolischer und diastolischer Funktion keine Änderung der echokardiographischen Parameter. Damit kam es auch nicht zu einer messbaren Verschlechterung der Herzfunktion. Die Änderung des Blutdrucks sowie der ET-1-Plasmakonzentration war bei Patienten mit klinisch relevanter KHK signifikant höher als bei denen ohne eine klinisch relevante KHK. Obschon kein primäres oder sekundäres Ziel der Studie, könnte dieses Phänomen eine vaskuläre, Endothelin abhängige verstärkte Kreislaufantwort zugrunde liegen.

Da VML 588 insgesamt gut verträglich war, erscheinen Folgestudien zur Akuthemmung des Endothelinsystems, insbesondere auch während einer PTCA, möglich.

5 Inhaltsverzeichnis aller Tabellen und Abbildungen

Diagramm 1: Verlauf des Blutdrucks der einzelnen Patientengruppen von Infusionsstart (0min) bis 2 Stunden nach Infusionsende (480min)

Diagramm 2: Vergleich der ET-1 Plasmakonzentrationen vor Infusionsbeginn (alle Patienten) und nach 90min Infusion mit VML 588 bzw. Placebo

Abb.1: Biosynthese von Endothelin-1

Abb.2: Biosynthese der verschiedenen ET-Isoformen

Abb.3: Die chemische Struktur von VML 588

Abb.4: Möglicher Mechanismus bei ET_A-Blockade bei Patienten mit klinisch relevanter KHK und Blutdruckreaktion

Tabelle 2.1 Patientenübersicht

Tabelle 2.2 Randomisierung

Tabelle 2.3 Im Labor bestimmte Blutwerte

Tabelle 2.4 Zeitplan des 2. Studientags

Tabelle 2.5 Parameter der echokardiographischen Untersuchung anhand des Untersuchungsblattes zusammengefasst

Tabelle 2.6 Studiendiagramm

Tabelle 3.1 Studienkollektiv

Tabelle 3.2 Demographische Daten des Studentenkollektivs und Safety-Parameter

Tabelle 3.3 Vergleich der Blutdruck- und Herzfrequenzwerte bei Verum- und Placebopatienten zu Beginn und am Ende der Infusion (0min – 360min)

Tabelle 3.4 Vergleich der Blutdruck- und Herzfrequenzwerte bei Verumpatienten mit/ohne relevante KHK

Tabelle 3.5 Prävalenz (Anzahl [%]) von Patienten mit Hypokinesien

Tabelle 3.6 Prävalenz (Anzahl [%]) von Gefäßsegmenten mit einer Koronararterienstenose von mindestens 50%

Tabelle 3.7 Prävalenz (Anzahl [%]) von Patienten einer Gefäßkrankheit mit einer Stenose >50%

Tabelle 3.8 Echokardiographische Parameter (0min – 90min)

Tabelle 3.9	Mittelwerte der ET-1 und Big-ET Plasmakonzentrationen (fmol/ml)
Tabelle 3.10	Mittelwerte der ET-1 Plasmakonzentrationen (fmol/ml) der Verumpatienten mit bzw. ohne eine klinisch relevanten Stenose
Tabelle 3.11	Mittelwerte der ET-1 und Big-ET Plasmakonzentrationen (fmol/ml) in Korrelation zum Gefäßstatus der Patienten [ohne Placebo-Patienten (mit Placebo-Patienten)]
Tabelle 3.12	absoluter Anstieg der ET-1 und Big-ET Plasmakonzentrationen (fmol/ml) nach 90min in Korrelation zum Gefäßstatus der Patienten
Tabelle 3.13	Inzidenz (Anzahl [%] von Patienten) von Nebenwirkungen
Tabelle 4.1	Endothelinantagonisten

6 Literaturverzeichnis

1. Agui T, Xin X, Cai Y et al. Stimulation of interleukin-6 production by endothelin in rat bone marrow-derived stromal cells. *Blood*. 1994;84:2531-2538.
2. Akishita M, Ouchi Y, Miyoshi H et al. Estrogen inhibits endothelin-1 production and c-fos gene expression in rat aorta. *Atherosclerosis*. 1996;125:27-38.
3. Alberts GF, Peifley KA, Johns A et al. Constitutive endothelin-1 overexpression promotes smooth muscle cell proliferation via an external autocrine loop. *J Biol Chem*. 1994;269:10112-10118.
4. Ambar I, Sokolovsky M. Endothelin receptors stimulate both phospholipase C and phospholipase D activities in different cell lines. *Eur J Pharmacol*. 1993;245:31-41.
5. Anwaar I, Gottsater A, Eriksson K et al. Increased plasma endothelin-1 and intraplatelet cyclic guanosine monophosphate in men with disturbed glucose metabolism. *Diabetes Res Clin Pract*. 2000;50:127-136.
6. Arai H, Hori S, Aramori I et al. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature*. 1990;348:730-732.
7. Barone FC, White RF, Elliott JD et al. The endothelin receptor antagonist SB 217242 reduces cerebral focal ischemic brain injury. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1995;26:S404-S407.
8. Barton M, Carmona R, Morawietz H et al. Obesity is associated with tissue-specific activation of renal angiotensin-converting enzyme in vivo: evidence for a regulatory role of endothelin. *Hypertension*. 2000;35:329-336.
9. Barton M, Cosentino F, Brandes RP et al. Anatomic heterogeneity of vascular aging: role of nitric oxide and endothelin. *Hypertension*. 1997;30:817-824.
10. Barton M, Haudenschild CC, d'Uscio LV et al. Endothelin ETA receptor blockade restores NO-mediated endothelial function and inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95:14367-14372.
11. Barton M, Vos I, Shaw S et al. Dysfunctional renal nitric oxide synthase as a determinant of salt-sensitive hypertension: mechanisms of renal artery endothelial dysfunction and role of endothelin for vascular hypertrophy and glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol*. 2000;11:835-845.
12. Battistini B, Chailier P, D'Orleans-Juste P et al. Growth regulatory properties of endothelins. *Peptides*. 1993;14:385-399.
13. Benigni A, Zoja C, Corna D et al. A specific endothelin subtype A receptor antagonist protects against injury in renal disease progression. *Kidney Int*. 1993;44:440-444.
14. Benigni A, Zola C, Corna D et al. Blocking both type A and B endothelin receptors in the kidney attenuates renal injury and prolongs survival in rats with remnant kidney. *Am J Kidney Dis*. 1996;27:416-423.
15. Best PJ, McKenna CJ, Hasdai D et al. Chronic endothelin receptor antagonism preserves coronary endothelial function in experimental hypercholesterolemia. *Circulation*. 1999;99:1747-1752.
16. Beyer ME, Slesak G, Hovelborn T et al. Inotropic effects of endothelin-1: interaction with molsidomine and with BQ 610. *Hypertension*. 1999;33:145-152.

17. Blezer EL, Nicolay K, Goldschmeding R et al. Early-onset but not late-onset endothelin-A-receptor blockade can modulate hypertension, cerebral edema, and proteinuria in stroke-prone hypertensive rats. *Hypertension*. 1999;33:137-144.
18. Bobik A, Grooms A, Millar JA et al. Growth factor activity of endothelin on vascular smooth muscle. *Am J Physiol*. 1990;258:C408-C415.
19. Bodin P, Milner P, Marshall J et al. Cytokines suppress the shear stress-stimulated release of vasoactive peptides from human endothelial cells. *Peptides*. 1995;16:1433-1438.
20. Borgeson DD, Grantham JA, Williamson EE et al. Chronic oral endothelin type A receptor antagonism in experimental heart failure. *Hypertension*. 1998;31:766-770.
21. Boulanger C, Luscher TF. Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J Clin Invest*. 1990;85:587-590.
22. Boulanger CM, Tanner F-C, Bea M-L et al. Oxidized low density lipoproteins induce mRNA expression and release of endothelin from human and porcine endothelium. *Circ-Res*. 1992;70:1191-1197.
23. Brunner F. Tissue endothelin-1 levels in perfused rat heart following stimulation with agonists and in ischaemia and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol*. 1995;27:1953-1963.
24. Carducci MA, Nelson JB, Kathy Bowling M et al. Atrasentan, an endothelin-receptor antagonist for refractory adenocarcinomas: safety and pharmacokinetics. *J Clin Oncol*. 2002;20:2171-2180.
25. Clavell AL, Mattingly MT, Stevens TL et al. Angiotensin converting enzyme inhibition modulates endogenous endothelin in chronic canine thoracic inferior vena caval constriction. *J Clin Invest*. 1996;97:1286-1292.
26. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest*. 1990;86:228-234.
27. Cunningham ME, Huribal M, Bala RJ et al. Endothelin-1 and endothelin-4 stimulate monocyte production of cytokines. *Crit Care Med*. 1997;25:958-964.
28. d'Uscio LV, Shaw S, Barton M et al. Losartan but not verapamil inhibits angiotensin II-induced tissue endothelin-1 increase: role of blood pressure and endothelial function. *Hypertension*. 1998;31:1305-1310.
29. Dawson DA, Sugano H, McCarron RM et al. Endothelin receptor antagonist preserves microvascular perfusion and reduces ischemic brain damage following permanent focal ischemia. *Neurochem Res*. 1999;24:1499-1505.
30. De Lombaert S, Blanchard L, Stamford LB et al. Potent and selective non-peptidic inhibitors of endothelin-converting enzyme-1 with sustained duration of action. *J Med Chem*. 2000;43:488-504.
31. de Nucci G, Thomas R, D'Orleans Juste P et al. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85:9797-9800.
32. Denver R, Tzanidis A, Martin P et al. Salivary endothelin concentrations in the assessment of chronic heart failure. *Lancet*. 2000;355:468-469.
33. Dingemans J, Clozel M, van Giersbergen PL. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tezosentan, an intravenous dual endothelin receptor antagonist, following chronic infusion in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2002;53:355-362.
34. Dorfman DM, Wilson DB, Bruns GA et al. Human transcription factor GATA-2. Evidence for regulation of preproendothelin-1 gene expression in endothelial cells. *J Biol Chem*. 1992;267:1279-1285.

35. Douglas SA, Loudon C, Vickery Clark LM et al. A role for endogenous endothelin-1 in neointimal formation after rat carotid artery balloon angioplasty. Protective effects of the novel nonpeptide endothelin receptor antagonist SB 209670. *Circ Res*. 1994;75:190-197.
36. Douglas SA, Ohlstein EH. Endothelin-1 promotes neointima formation after balloon angioplasty in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1993;22:S371-S373.
37. Douglas SA, Vickery Clark LM, Loudon C et al. Selective ETA receptor antagonism with BQ-123 is insufficient to inhibit angioplasty induced neointima formation in the rat. *Cardiovasc Res*. 1995;29:641-646.
38. Dupuis J, Goresky CA, Fournier A. Pulmonary clearance of circulating endothelin-1 in dogs in vivo: exclusive role of ETB receptors. *J Appl Physiol*. 1996;81:1510-1515.
39. Dupuis J, Rouleau JL, Cernacek P. Reduced pulmonary clearance of endothelin-1 contributes to the increase of circulating levels in heart failure secondary to myocardial infarction. *Circulation*. 1998;98:1684-1687.
40. Emoto N, Yanagisawa M. Endothelin-converting enzyme-2 is a membrane-bound, phosphoramidon-sensitive metalloprotease with acidic pH optimum. *J Biol Chem*. 1995;270:15262-15268.
41. Erbel R, Heusch G. Coronary microembolization--its role in acute coronary syndromes and interventions. *Herz*. 1999;24:558-575.
42. Ergul S, Parish DC, Puett D et al. Racial differences in plasma endothelin-1 concentrations in individuals with essential hypertension. *Hypertension*. 1996;28:652-655.
43. Firth JD, Ratcliffe PJ. Organ distribution of the three rat endothelin messenger RNAs and the effects of ischemia on renal gene expression. *J Clin Invest*. 1992;90:1023-1031.
44. Forbes JM, Leaker B, Hewitson TD et al. Macrophage and myofibroblast involvement in ischemic acute renal failure is attenuated by endothelin receptor antagonists. *Kidney Int*. 1999;55:198-208.
45. Franco Cereceda A, Grip LG, Moor E et al. Influence of percutaneous transluminal coronary angioplasty on cardiac release of endothelin, neuropeptide Y and noradrenaline. *Int J Cardiol*. 1995;48:231-233.
46. Fujisaki H, Ito H, Hirata Y et al. Natriuretic peptides inhibit angiotensin II-induced proliferation of rat cardiac fibroblasts by blocking endothelin-1 gene expression. *J Clin Invest*. 1995;96:1059-1065.
47. Fukuchi M, Giaid A. Expression of endothelin-1 and endothelin-converting enzyme-1 mRNAs and proteins in failing human hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31:S421-S423.
48. Fukunaga M, Fujiwara Y, Ochi S et al. Stimulatory effect of thrombin on endothelin-1 production in isolated glomeruli and cultured mesangial cells of rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1991;17:S411-S413.
49. Fukuroda T, Fujikawa T, Ozaki S et al. Clearance of circulating endothelin-1 by ETB receptors in rats. *Biochem-Biophys-Res-Commun*. 1994;199:1461-1465.
50. Gardiner SM, Kemp PA, March JE et al. Effects of the non-peptide, non-selective endothelin antagonist, bosentan, on regional haemodynamic responses to NG-monomethyl-L-arginine in conscious rats. *Br J Pharmacol*. 1996;118:352-354.
51. Goodwin AT, Amrani M, Gray CC et al. Role of endogenous endothelin in the regulation of basal coronary tone in the rat. *J Physiol*. 1998;511:549-557.
52. Gorlach C, Hortobagyi T, Hortobagyi S et al. Inhibition of endothelin-1 by the competitive ET(A) receptor antagonist Ro 61-1790 reduces lesion volume after cold injury in the rat. *Pflugers Arch*. 2001;441:844-849.

53. Goto K, Kasuya Y, Matsuki N et al. Endothelin activates the dihydropyridine-sensitive, voltage-dependent Ca^{2+} channel in vascular smooth muscle. *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A*. 1989;86:3915-3918.
54. Guidry C, Hook M. Endothelins produced by endothelial cells promote collagen gel contraction by fibroblasts. *J-Cell-Biol*. 1991;115:873-880.
55. Haak T, Marz W, Jungmann E et al. Elevated endothelin levels in patients with hyperlipoproteinemia. *Clin Investig*. 1994;72:580-584.
56. Hahn AW, Resink TJ, Scott Burden T et al. Stimulation of endothelin mRNA and secretion in rat vascular smooth muscle cells: a novel autocrine function. *Cell Regul*. 1990;1:649-659.
57. Hasegawa H, Hiki K, Sawamura T et al. Purification of a novel endothelin-converting enzyme specific for big endothelin-3. *FEBS Lett*. 1998;428:304-308.
58. Haug C, Schmid-Kotsas A, Zorn U et al. Endothelin-1 synthesis and endothelin B receptor expression in human coronary artery smooth muscle cells and monocyte-derived macrophages is up-regulated by low density lipoproteins. *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33:1701-1712.
59. Haug C, Voisard R, Lenich A et al. Increased endothelin release by cultured human smooth muscle cells from atherosclerotic coronary arteries. *Cardiovasc Res*. 1996;31:807-813.
60. He Y, Kwan WC, Steinbrecher UP. Effects of oxidized low density lipoprotein on endothelin secretion by cultured endothelial cells and macrophages. *Atherosclerosis*. 1996;119:107-118.
61. Hensen A. Biochemical and functional characterization of endothelin peptides with special reference to vascular effects. *Acta Physiol Scand Suppl*. 1991;602:1-61.
62. Hendricks Munoz KD, Gerrets RP, Higgins RD et al. Cocaine-stimulated endothelin-1 release is decreased by angiotensin-converting enzyme inhibitors in cultured endothelial cells. *Cardiovasc Res*. 1996;31:117-123.
63. Herizi A, Jover B, Bouriquet N et al. Prevention of the cardiovascular and renal effects of angiotensin II by endothelin blockade. *Hypertension*. 1998;31:10-14.
64. Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Navarro-Antolin J et al. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest*. 1998;101:2711-2719.
65. Hirata Y, Emori T, Eguchi S et al. Endothelin receptor subtype B mediates synthesis of nitric oxide by cultured bovine endothelial cells. *J-Clin-Invest*. 1993;91:1367-1373.
66. Hiroe M, Hirata Y, Fujita N et al. Plasma endothelin-1 levels in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 1991;68:1114-1115.
67. Hofman FM, Chen P, Jeyaseelan R et al. Endothelin-1 induces production of the neutrophil chemotactic factor interleukin-8 by human brain-derived endothelial cells. *Blood*. 1998;92:3064-3072.
68. Hojo Y, Ikeda U, Katsuki T et al. Release of endothelin 1 and angiotensin II induced by percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2000;51:42-49.
69. Horio T, Kohno M, Yasunari K et al. Stimulation of endothelin-1 release by low density and very low density lipoproteins in cultured human endothelial cells. *Atherosclerosis*. 1993;101:185-190.
70. Ihling C, Szombathy T, Bohrmann B et al. Coexpression of endothelin-converting enzyme-1 and endothelin-1 in different stages of human atherosclerosis. *Circulation*. 2001;104:864-869.
71. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S et al. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes Conversion of big endothelin-1 to 21-residue endothelin-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity: structure-activity relationships of big endothelin-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86:2863-2867.

72. Inoue A, Yanagisawa M, Takawa Y et al. The human preproendothelin-1 gene. Complete nucleotide sequence and regulation of expression. *J Biol Chem*. 1989;264:14954-14959.
73. Ito H, Hirata Y, Adachi S et al. Endothelin-1 is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin II-induced hypertrophy in cultured rat cardiomyocytes. *J Clin Invest*. 1993;92:398-403.
74. Jouneaux C, Mallat A, Serradeil-Le Gal C et al. Coupling of endothelin B receptors to the calcium pump and phospholipase C via Gs and Gq in rat liver. *J Biol Chem*. 1994;269:1845-1851.
75. Kaddoura S, Firth JD, Boheler KR et al. Endothelin-1 is involved in norepinephrine-induced ventricular hypertrophy in vivo. Acute effects of bosentan, an orally active, mixed endothelin ETA and ETB receptor antagonist. *Circulation*. 1996;93:2068-2079.
76. Kaski JC, Elliott PM, Salomone O et al. Concentration of circulating plasma endothelin in patients with angina and normal coronary angiograms. *Br Heart J*. 1995;74:620-624.
77. Kassab S, Miller MT, Novak J et al. Endothelin-A receptor antagonism attenuates the hypertension and renal injury in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension*. 1998;31:397-402.
78. Kido H, Nakano A, Okishima N et al. Human chymase, an enzyme forming novel bioactive 31-amino acid length endothelins. *Biol Chem*. 1998;379:885-891.
79. Kimura S, Kasuya Y, Sawamura T et al. Conversion of big endothelin-1 to 21-residue endothelin-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity: structure-activity relationships of big endothelin-1. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1989;13:S5-S7.
80. Kiowski W, Sutsch G, Hunziker P et al. Evidence for endothelin-1-mediated vasoconstriction in severe chronic heart failure. *Lancet*. 1995;346:732-736.
81. Kloog Y, Ambar I, Sokolovsky M et al. Sarafotoxin, a novel vasoconstrictor peptide: phosphoinositide hydrolysis in rat heart and brain. *Science*. 1988;242:268-270.
82. Kobayashi T, Miyauchi T, Sakai S et al. Endothelin-converting enzyme and angiotensin-converting enzyme in failing hearts of rats with myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31:S417-S420.
83. Kobayashi T, Miyauchi T, Sakai S et al. Down-regulation of ET(B) receptor, but not ET(A) receptor, in congestive lung secondary to heart failure. Are marked increases in circulating endothelin-1 partly attributable to decreases in lung ET(B) receptor-mediated clearance of endothelin-1? *Life Sci*. 1998;62:185-193.
84. Komuro I, Kurihara H, Sugiyama T et al. Endothelin stimulates c-fos and c-myc expression and proliferation of vascular smooth muscle cells. *FEBS-Lett*. 1988;238:249-252.
85. Kowala MC, Rose PM, Stein PD et al. Selective blockade of the endothelin subtype A receptor decreases early atherosclerosis in hamsters fed cholesterol. *Am J Pathol*. 1995;146:819-826.
86. Kruger D, Giannitsis E, Sheikhzadeh A et al. Cardiac release and kinetics of endothelin after uncomplicated percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Am J Cardiol*. 1998;81:1421-1426.
87. Kruger D, Stierle U, Schmucker G et al. Untersuchungen zur kardialen Endothelin-Freisetzung in den Koronarsinus bei Myokardischämie und koronarem Endotheltrauma. [Cardiac endothelin release into the coronary sinus in myocardial ischemia and coronary endothelial injury]. *Z Kardiol*. 1999;88:591-600.
88. Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y et al. The effect of an endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. Bosentan Hypertension Investigators. *N Engl J Med*. 1998;338:784-790.
89. Kurihara Y, Kurihara H, Suzuki H et al. Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin-1. *Nature*. 1994;368:703-710.

90. Kwan AL, Lin CL, Chang CZ et al. Continuous intravenous infusion of CGS 26303, an endothelin-converting enzyme inhibitor, prevents and reverses cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2001;49:422-427.
91. Lahav R, Heffner G, Patterson PH. An endothelin receptor B antagonist inhibits growth and induces cell death in human melanoma cells in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:11496-11500.
92. Lee ME, Bloch KD, Clifford JA et al. Functional analysis of the endothelin-1 gene promoter. Evidence for an endothelial cell-specific cis-acting sequence. *J Biol Chem*. 1990;265:10446-10450.
93. Lerman A, Edwards BS, Hallett JW et al. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. *N Engl J Med*. 1991;325:997-1001.
94. Lerman A, Holmes DR, Bell MR et al. Endothelin in coronary endothelial dysfunction and early atherosclerosis in humans. *Circulation*. 1995;92:2426-2431.
95. Lin HY, Kaji E-H, Winkel G-K et al. Cloning and functional expression of a vascular smooth muscle endothelin 1 receptor. *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A*. 1991;88:3185-3189.
96. Loffler BM, Roux S, Kalina B et al. Influence of congestive heart failure on endothelin levels and receptors in rabbits. *J Mol Cell Cardiol*. 1993;25:407-416.
97. Love MP, Haynes WG, Gray GA et al. Vasodilator effects of endothelin-converting enzyme inhibition and endothelin ETA receptor blockade in chronic heart failure patients treated with ACE inhibitors. *Circulation*. 1996;94:2131-2137.
98. Maguire JJ, Johnson CM, Mockridge JW et al. Endothelin converting enzyme (ECE) activity in human vascular smooth muscle. *Br J Pharmacol*. 1997;122:1647-1654.
99. Mangiafico RA, Malatino LS, Santonocito M et al. Raised plasma endothelin-1 concentrations in patients with primary hypercholesterolemia without evidence of atherosclerosis. *Int Angiol*. 1996;15:240-244.
100. Martin P, Tzanidis A, Stein Oakley A et al. Effect of a highly selective endothelin-converting enzyme inhibitor on cardiac remodeling in rats after myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2000;36:S367-S370.
101. Masaki T, Vane JR, Vanhoutte PM. International Union of Pharmacology nomenclature of endothelin receptors. *Pharmacol Rev*. 1994;46:137-142.
102. Masaki T. The discovery of endothelins. *Cardiovasc-Res*. 1998;39:530-533.
103. Mathew V, Lerman A. Clinical implications of a sandwich enzyme immunoassay for big endothelin-1. *Clin Chem*. 1997;43:9-10.
104. Matsuura A, Yamochi W, Hirata K et al. Stimulatory interaction between vascular endothelial growth factor and endothelin-1 on each gene expression. *Hypertension*. 1998;32:89-95.
105. McElvy S, Greenberg S, Baker RS et al. Effect of Ro 61-1790, a selective endothelin-A receptor antagonist, on systemic and uterine hemodynamics and fetal oxygenation in sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;186:55-60.
106. McKenna CJ, Burke SE, Opgenorth TJ et al. Selective ET(A) receptor antagonism reduces neointimal hyperplasia in a porcine coronary stent model. *Circulation*. 1998;97:2551-2556.
107. McMahon EG, Palomo MA, Moore WM. Phosphoramidon blocks the pressor activity of big endothelin[1-39] and lowers blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1991;17:S29-S33.

108. Minamino T, Kurihara H, Takahashi M et al. Endothelin-converting enzyme expression in the rat vascular injury model and human coronary atherosclerosis. *Circulation*. 1997;95:221-230.
109. Ming Z, Parent R, Thorin E et al. Endothelin-dependent tone limits acetylcholine-induced dilation of resistance coronary vessels after blockade of NO formation in conscious dogs. *Hypertension*. 1998;32:844-848.
110. Moe GW, Albernaz A, Naik GO et al. Beneficial effects of long-term selective endothelin type A receptor blockade in canine experimental heart failure. *Cardiovasc Res*. 1998;39:571-579.
111. Morey AK, Razandi M, Pedram A et al. Oestrogen and progesterone inhibit the stimulated production of endothelin-1. *Biochem J*. 1998;330:1097-1105.
112. Mulder P, Richard V, Derumeaux G et al. Role of endogenous endothelin in chronic heart failure: effect of long-term treatment with an endothelin antagonist on survival, hemodynamics, and cardiac remodeling. *Circulation*. 1997;96:1976-1982.
113. Mundhenke M, Schwartzkopff B, Kosterling M et al. Endogenous plasma endothelin concentrations and coronary circulation in patients with mild dilated cardiomyopathy. *Heart*. 1999;81:278-284.
114. Nagueh SF. Noninvasive evaluation of hemodynamics by Doppler echocardiography. *Curr Opin Cardiol*. 1999;14:217-224.
115. Nakamura T, Ushiyama C, Hirokawa K et al. Effect of cerivastatin on urinary albumin excretion and plasma endothelin-1 concentrations in type 2 diabetes patients with microalbuminuria and dyslipidemia. *Am J Nephrol*. 2001;21:449-454.
116. Nakamura T, Ebihara I, Fukui M et al. Renal expression of mRNAs for endothelin-1, endothelin-3 and endothelin receptors in NZB/W F1 mice. *Ren Physiol Biochem*. 1993;16:233-243.
117. Nakano A, Kishi F, Minami K et al. Selective conversion of big endothelins to tracheal smooth muscle-constricting 31-amino acid-length endothelins by chymase from human mast cells. *J Immunol*. 1997;159:1987-1992.
118. Naomi S, Iwaoka T, Disashi T et al. Endothelin-1 inhibits endothelin-converting enzyme-1 expression in cultured rat pulmonary endothelial cells. *Circulation*. 1998;97:234-236.
119. Nguyen QT, Cernacek P, Calderoni A et al. Endothelin A Receptor Blockade Causes Adverse Left Ventricular Remodeling but Improves Pulmonary Artery Pressure After Infarction in the Rat . *Circulation*. 1998;98:2323-2330.
120. Ninomiya H, Uchida Y, Ishii Y et al. Endotoxin stimulates endothelin release from cultured epithelial cells of guinea-pig trachea. *Eur J Pharmacol*. 1991;203:299-302.
121. Niwa Y, Nagata N, Oka M et al. Production of nitric oxide from endothelial cells by 31-amino-acid-length endothelin-1, a novel vasoconstrictive product by human chymase. *Life Sci*. 2000;67:1103-1109.
122. Ohuchi T, Kuwaki T, Ling GY et al. Elevation of blood pressure by genetic and pharmacological disruption of the ETB receptor in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;276:R1071-R1077.
123. Ohwaki T, Sakai H, Hirata Y. Partial characterization of endothelin-converting enzyme activity in human serum lipoproteins. *Atherosclerosis*. 1994;108:175-181.
124. Okishima N, Yoshizumi M, Tsuchiya K et al. Determination of the levels of novel 31-amino acid endothelins and endothelins in human lungs. *Life Sci*. 2001;68:2073-2080.
125. Omland T, Lie RT, Aakvaag A et al. Plasma endothelin determination as a prognostic indicator of 1-year mortality after acute myocardial infarction. *Circulation*. 1994;89:1573-1579.
126. Ortega Mateo A, de Artinano AA. Highlights on endothelins: a review. *Pharmacol Res*. 1997;36:339-351.

127. Orth SR, Esslinger JP, Amann K et al. Nephroprotection of an ET(A)-receptor blocker (LU 135252) in salt-loaded uninephrectomized stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1998;31:995-1001.
128. Orzechowski HD, Gunther A, Menzel S et al. Endothelial expression of endothelin-converting enzyme-1 beta mRNA is regulated by the transcription factor Ets-1. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31:S55-S57.
129. Ozaki S, Ohwaki K, Ihara M et al. ETB-mediated regulation of extracellular levels of endothelin-1 in cultured human endothelial cells. *Biochem-Biophys-Res-Commun*. 1995;209:483-489.
130. Pacher R, Stanek B, Hulsman M et al. Prognostic impact of big endothelin-1 plasma concentrations compared with invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1996;27:633-641.
131. Parent R, Lavallee M. Endothelin-dependent effects limit flow-induced dilation of conductance coronary vessels after blockade of nitric oxide formation in conscious dogs. *Cardiovasc Res*. 2000;45:470-477.
132. Perico N, Remuzzi G. Role of endothelin in glomerular injury. *Kidney Int Suppl*. 1993;39:S76-S80.
133. Pernow J, Ahlborg G, Lundberg JM et al. Long-lasting coronary vasoconstrictor effects and myocardial uptake of endothelin-1 in humans. *Acta Physiol Scand*. 1997;159:147-153.
134. Petronio AS, Amoroso G, Limbruno U et al. Endothelin-1 release from atherosclerotic plaque after percutaneous transluminal coronary angioplasty in stable angina pectoris and single-vessel coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1999;84:1085-8, A9.
135. Pierre LN, Davenport AP. Endothelin receptor subtypes and their functional relevance in human small coronary arteries. *Br J Pharmacol*. 1998;124:499-506.
136. Ponicke K, Vogelsang M, Heinroth M et al. Endothelin receptors in the failing and nonfailing human heart. *Circulation*. 1998;97:744-751.
137. Rabelink TJ, Koomans HA. Endothelial function and the kidney. An emerging target for cardiovascular therapy. *Drugs*. 1997;53:11-19.
138. Rakugi H, Tabuchi Y, Nakamaru M et al. Evidence for endothelin-1 release from resistance vessels of rats in response to hypoxia. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990;169:973-977.
139. Rossi GP, Colonna S, Pavan E et al. Endothelin-1 and its mRNA in the wall layers of human arteries ex vivo. *Circulation*. 1999;99:1147-1155.
140. Roux S, Breu V, Giller T et al. Ro 61-1790, a new hydrosoluble endothelin antagonist: general pharmacology and effects on experimental cerebral vasospasm. *J Pharmacol Exp Ther*. 1997;283:1110-1118.
141. Roux S, Qiu C, Sprecher U et al. Protective effects of endothelin receptor antagonists in dogs with aortic cross-clamping. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999;34:199-205.
142. Ruiz-Ortega M, Gomez-Garre D, Liu XH et al. Quinapril decreases renal endothelin-1 expression and synthesis in a normotensive model of immune-complex nephritis. *J Am Soc Nephrol*. 1997;8:756-768.
143. Saida K, Mitsui Y, Ishida N. A novel peptide, vasoactive intestinal contractor, of a new (endothelin) peptide family. Molecular cloning, expression, and biological activity. *J Biol Chem*. 1989;264:14613-14616.
144. Sakai S, Miyauchi T, Kobayashi M et al. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure. *Nature*. 1996;384:353-355.

145. Sakai S, Miyauchi T, Sakurai T et al. Endogenous endothelin-1 participates in the maintenance of cardiac function in rats with congestive heart failure. Marked increase in endothelin-1 production in the failing heart. *Circulation*. 1996;93:1214-1222.
146. Sakamoto A, Yanagisawa M, Sakurai T et al. Cloning and functional expression of human cDNA for the ETB endothelin receptor. *Biochem-Biophys-Res-Commun*. 1991;178:656-663.
147. Sakurai T, Yanagisawa M, Takawa Y et al. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature*. 1990;348:732-735.
148. Sato M, Noble LJ. Involvement of the endothelin receptor subtype A in neuronal pathogenesis after traumatic brain injury. *Brain Res*. 1998;809:39-49.
149. Schafer U, Kurz T, Jain D et al. Impaired coronary flow and left ventricular dysfunction after mechanical recanalization in acute myocardial infarction: role of neurohumoral activation? *Basic Res Cardiol*. 2002;97:399-408.
150. Schalcher C, Cotter G, Reisin L et al. The dual endothelin receptor antagonist tezosentan acutely improves hemodynamic parameters in patients with advanced heart failure. *Am Heart J*. 2001;142:340-349.
151. Schmidt M, Kroger B, Jacob E et al. Molecular characterization of human and bovine endothelin converting enzyme (ECE-1). *FEBS Lett*. 1994;356:238-243.
152. Schweizer A, Valdenaire O, Nelbock P et al. Human endothelin-converting enzyme (ECE-1): three isoforms with distinct subcellular localizations. *Biochem J*. 1997;328:871-877.
153. Seeger H, Mueck AO, Lippert TH. Fluvastatin increases prostacyclin and decreases endothelin production by human umbilical vein endothelial cells. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2000;38:270-272.
154. Shimada K, Matsushita Y, Wakabayashi K et al. Cloning and functional expression of human endothelin-converting enzyme cDNA. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;207:807-812.
155. Shubeita HE, McDonough PM, Harris AN et al. Endothelin induction of inositol phospholipid hydrolysis, sarcomere assembly, and cardiac gene expression in ventricular myocytes. A paracrine mechanism for myocardial cell hypertrophy. *J Biol Chem*. 1990;265:20555-20562.
156. Spence S, Anderson C, Cukierski M et al. Teratogenic effects of the endothelin receptor antagonist L-753,037 in the rat. *Reprod Toxicol*. 1999;13:15-29.
157. Stewart DJ, Cernacek P, Mohamed F et al. Role of cyclic nucleotides in the regulation of endothelin-1 production by human endothelial cells. *Am-J-Physiol*. 1994;266:H944-H951.
158. Stewart DJ, Kubac G, Costello KB et al. Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1991;18:38-43.
159. Stojilkovic SS, Catt KJ. Neuroendocrine actions of endothelins. *Trends Pharmacol Sci*. 1992;13:385-391.
160. Strachan FE, Spratt JC, Wilkinson IB et al. Systemic blockade of the endothelin-B receptor increases peripheral vascular resistance in healthy men. *Hypertension*. 1999;33:581-585.
161. Sutsch G, Kiowski W, Yan X-W et al. Short-term oral endothelin-receptor antagonist therapy in conventionally treated patients with symptomatic severe chronic heart failure. *Circulation*. 1998;98:2262-2268.
162. Suzuki N, Matsumoto H, Kitada C et al. Immunoreactive endothelin-1 in plasma detected by a sandwich-type enzyme immunoassay. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1989;13:S151-S152.
163. Takeda Y, Miyamori I, Yoneda T et al. Endothelin-1 release from the mesenteric arteries of cyclosporine-treated rats. *Eur J Pharmacol*. 1992;213:445-447.

164. Taylor R, Waggoner AD. Doppler assessment of left ventricular diastolic function: a review. *J Am Soc Echocardiogr*. 1992;5:603-612.
165. Torre Amione G, Young JB, Durand J et al. Hemodynamic effects of tezosentan, an intravenous dual endothelin receptor antagonist, in patients with class III to IV congestive heart failure. *Circulation*. 2001;103:973-980.
166. Torre-Amione G, Durand JB, Nagueh S et al. A pilot safety trial of prolonged (48 h) infusion of the dual endothelin-receptor antagonist tezosentan in patients with advanced heart failure. *Chest*. 2001;120:460-466.
167. Treinen KA, Loudon C, Dennis MJ et al. Developmental toxicity and toxicokinetics of two endothelin receptor antagonists in rats and rabbits. *Teratology*. 1999;59:51-59.
168. Tsujino M, Motoyoshi, Hirata Y et al. Nonselective receptor antagonist blocks proliferation of rat vascular smooth muscle cells after balloon angioplasty. *Life Sci*. 1995;56:PL449-PL454.
169. Tsutamoto T, Wada A, Maeda Y et al. Relation between endothelin-1 spillover in the lungs and pulmonary vascular resistance in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1994;23:1427-1433.
170. Uchida K, Uchida S, Nitta K et al. Regulated expression of endothelin converting enzymes in glomerular endothelial cells. *J Am Soc Nephrol*. 1997;8:580-585.
171. Valdenaire O, Lepailleur Enouf D, Egidy G et al. A fourth isoform of endothelin-converting enzyme (ECE-1) is generated from an additional promoter molecular cloning and characterization. *Cell*. 1999;264:341-349.
172. Valdenaire O, Rohrbacher E, Mattei MG. Organization of the gene encoding the human endothelin-converting enzyme (ECE-1). *J Biol Chem*. 1995;270:29794-29798.
173. Verhaar MC, Grahn AY, Van Weerd AW et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of ABT-627, an oral ETA selective endothelin antagonist, in humans. *Br J Clin Pharmacol*. 2000;49:562-573.
174. Verhaar MC, Strachan FE, Newby DE et al. Endothelin-A receptor antagonist-mediated vasodilatation is attenuated by inhibition of nitric oxide synthesis and by endothelin-B receptor blockade. *Circulation*. 1998;97:752-756.
175. Verhagen AM, Rabelink TJ, Braam B et al. Endothelin A receptor blockade alleviates hypertension and renal lesions associated with chronic nitric oxide synthase inhibition. *J Am Soc Nephrol*. 1998;9:755-762.
176. Wada A, Tsutamoto T, Fukai D et al. Comparison of the effects of selective endothelin ETA and ETB receptor antagonists in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30:1385-1392.
177. Wada A, Tsutamoto T, Ohnishi M et al. Effects of a specific endothelin-converting enzyme inhibitor on cardiac, renal, and neurohumoral functions in congestive heart failure: comparison of effects with those of endothelin A receptor antagonism. *Circulation*. 1999;99:570-577.
178. Waggoner AD. Congestive heart failure and the role of two-dimensional Doppler echocardiography: a primer for cardiac sonographers. *J Am Soc Echocardiogr*. 2000;13:157-163.
179. Wagner OF, Christ G, Wojta J et al. Polar secretion of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *J Biol Chem*. 1992;267:16066-16068.
180. Wang QD, Li XS, Lundberg JM et al. Protective effects of non-peptide endothelin receptor antagonist bosentan on myocardial ischaemic and reperfusion injury in the pig. *Cardiovasc Res*. 1995;29:805-812.

181. Wang QD, Gonon A, Shimizu M et al. Contribution of endothelin to the coronary vasoconstriction in the isolated rat heart induced by nitric oxide synthase inhibition. *Acta Physiol Scand*. 1998;163:325-330.
182. Wang X, Douglas SA, Loudon C et al. Expression of endothelin-1, endothelin-3, endothelin-converting enzyme-1, and endothelin-A and endothelin-B receptor mRNA after angioplasty-induced neointimal formation in the rat. *Circ Res*. 1996;78:322-328.
183. Wang X, Ohnishi M, Wada A et al. Endothelin-1 promotes vascular structural remodeling during the progression of heart failure prevention of vascular remodeling using a specific endothelin-converting enzyme inhibitor. *Life Sci*. 2001;69:2477-2488.
184. Warner TD, Mitchell J-A, de-Nucci G et al. Endothelin-1 and endothelin-3 release EDRF from isolated perfused arterial vessels of the rat and rabbit. *J-Cardiovasc-Pharmacol*. 1989;13:S85-S88 discussion S102.
185. Watanabe Y, Naruse M, Monzen C et al. Is big endothelin converted to endothelin-1 in circulating blood? *J Cardiovasc Pharmacol*. 1991;17:S503-S505.
186. Watschinger B, Sayegh MH. Endothelin in organ transplantation. *Am J Kidney Dis*. 1996;27:151-161.
187. Weber C, Banken L, Birnboeck H et al. Effect of the endothelin-receptor antagonist bosentan on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin. *J Clin Pharmacol*. 1999;39:847-854.
188. Weissberg PL, Witchell C, Davenport A-P et al. The endothelin peptides ET-1, ET-2, ET-3 and sarafotoxin S6b are co-mitogenic with platelet-derived growth factor for vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*. 1990;85:257-262.
189. Wenzel RR, Fleisch M, Shaw S et al. Hemodynamic and coronary effects of the endothelin antagonist bosentan in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1998;98:2235-2240.
190. Wypij DM, Nichols JS, Novak PJ et al. Role of mast cell chymase in the extracellular processing of big-endothelin-1 to endothelin-1 in the perfused rat lung. *Biochem Pharmacol*. 1992;43:845-853.
191. Xu D, Emoto N, Giaid A et al. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell*. 1994;78:473-485.
192. Yanagisawa H, Yanagisawa M, Kapur RP et al. Dual genetic pathways of endothelin-mediated intercellular signaling revealed by targeted disruption of endothelin converting enzyme-1 gene. *Development*. 1998;125:825-836.
193. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332:411-415.
194. Yang Z, Bauer E, von-Segesser L et al. Different mobilization of calcium in endothelin-1-induced contractions in human arteries and veins: effects of calcium antagonists. *J-Cardiovasc-Pharmacol*. 1990;16:654-660.
195. Yoshioka S, Fujiwara H, Yamada S et al. Endothelin-converting enzyme-1 is expressed on human ovarian follicles and corpora lutea of menstrual cycle and early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:3943-3950.
196. Zeiher AM, Goebel H, Schachinger V et al. Tissue endothelin-1 immunoreactivity in the active coronary atherosclerotic plaque. A clue to the mechanism of increased vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation*. 1995;91:941-947.
197. Ziv I, Fleminger G, Djaldetti R et al. Increased plasma endothelin-1 in acute ischemic stroke. *Stroke*. 1992;23:1014-1016.
198. Zolk O, Quatteck J, Sitzler G et al. Expression of endothelin-1, endothelin-converting enzyme, and endothelin receptors in chronic heart failure. *Circulation*. 1999;99:2118-2123.

7 Anhang

7.1 Lebenslauf

Name: André Knust

Anschrift: Salemstr. 26,
42853 Remscheid
Tel.: 0 21 91 / 28 90 4

Geburtsdatum: 14. März 1975

Geburtsort: Bielefeld

Konfession: evangelisch

Schulbildung: 1981-1985 Besuch der städtischen Gemeinschafts-Grundschule am Stadtpark in Remscheid

1985-1995 Besuch des städtischen Gertrud-Bäumer-Gymnasiums in Remscheid
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

07/1991 - 07/1992 einjähriger Aufenthalt in den USA als Gastschüler mit dem Erwerb des High-School-Abschlusses der Wauseon High School in Wauseon, Ohio

Zivildienst: 09/1995 – 09/1996 bei der Johanniter-Unfall-Hilfe in Remscheid mit Ausbildung zum Rettungssanitäter bei der Johanniter-Unfall-Hilfe e.V.

Studium: 10/1996 – 05/2003 Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf

03/1999 Physikum
03/2000 1. Staatsexamen
03/2002 2. Staatsexamen
05/2003 3. Staatsexamen

Berufserfahrung: 04/2002 – 04/2003 Praktisches Jahr in den Kliniken St. Antonius in Wuppertal (Chirurgie, Innere Medizin, Orthopädie)

seit 06/2003 AiP in der orthopädischen Abteilung der Fabricius Klinik in Remscheid

Sonstige Kenntnisse: Ausbildungen beim Deutschen Sportstudio Verband e.V. zum:
Lizenziierter Studioleiter
Lizenziierter Fitness-Lehrer

7.1 Zusammenfassung (Abstract)

Die Sicherheit und Verträglichkeit des ET_A-Rezeptorantagonisten VML 588 wurde bei 20 Patienten mit bekannter (19) oder wahrscheinlicher (1) KHK, die sich einer elektiv geplanten Kontroll-Koronarangiographie unterzogen, getestet. Zu diesem Zweck erhielten die Patienten eine sechsstündige Infusion mit VML 588, welche 3 Stunden vor Beginn der Koronarangiographie gestartet wurde. Vor Infusionsbeginn sowie 90min danach wurde eine echokardiographische Untersuchung durchgeführt. Die Patienten wurden in 3 Kohorten aufgeteilt (Placebo (4), VML 588 0,1mg/kg/h (8), VML 588 0,2mg/kg/h (8)).

Bereits nach 90min war ein Steady State der VML 588 Plasmakonzentration erreicht, welche nach Infusionsende rasch wieder abnahm. Unter VML 588 sanken im Gegensatz zur Placebogruppe der systolische und diastolische Blutdruck signifikant ($p_{\text{sys.}}=0,018$ bzw. $0,021$ und $p_{\text{dias.}}=0,050$ bzw. $0,028$) was besonders bei Patienten mit einer klinisch relevanten KHK (Stenose $\geq 50\%$) ausgeprägt war ($p_{\text{sys.}}=0,005$ und $p_{\text{dias.}}=0,003$). Gleichzeitig konnten in der 0,2mg/kg/h Kohorte sowie bei den Patienten mit klinisch relevanter KHK ein signifikanter Anstieg der ET-1 Plasmakonzentration gemessen werden ($p=0,018$ bzw. $0,043$). VML 588 wurde insgesamt gut vertragen, die am häufigsten berichtete Nebenwirkung (N=7) waren Kopfschmerzen. Auf das EKG oder die vor und während der Infusion gemessenen echokardiographischen Parameter hatte VML 588 keinen Effekt.

Diese Ergebnisse zeigen zum einen, dass VML 588 klinisch sicher anwendbar, leicht steuerbar und gut verträglich ist, und zum anderen, dass es schnell in den Wirkungsmechanismus des Endothelinsystems eingreift und es durch die Blockierung der ET_A-Rezeptoren effektiv den Blutdruck senkt, ohne dabei unerwünschte Auswirkungen auf das Herzkreislaufsystem zu zeigen. Eine spätere Anwendung zur Akuthemmung des Endothelinsystems z.B. während einer PTCA erscheint nach diesen Ergebnissen möglich.