

Nelli Krieger  
Dr. med.

## **In vivo und in vitro Effekte von Vardenafil auf die Myokard- und Endothelfunktion im EKZ-Hundemodell**

Promotionsfach: Chirurgie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Gábor Szabó, PhD

In der Herzchirurgie ist der Myokard- und Endothelschaden mit der damit einhergehenden kardialen Dysfunktion ein sehr gut beschriebenes Phänomen. Während herzchirurgischer Eingriffe wie der koronaren Bypass-Operation, die in der Regel einen kardiopulmonalen Bypass (CPB) mit Herzstillstand erfordern, durchläuft das Myokard Episoden von globaler Ischämie und Reperfusion, was trotz Einsatz von kardioprotektiver Kardioplegie und weiteren Strategien zur myokardialen Protektion zum Endothelschaden sowie zu morphologischen Schäden mit einhergehender Kontraktionsdysfunktion führt. Die Entstehung von toxischen Metaboliten, die mitochondriale Energieerschöpfung und die damit verbundene Kalziumüberladung im Zytosol, die ihrerseits für das myokardiale „Stunning“ verantwortlich gemacht wird, tragen maßgeblich zum Ischämieschaden bei. Zudem fallen infolge der Leukozytenaktivierung im extrakorporalen Kreislauf und während der Reperfusion hohe Level an Sauerstoffradikalen sowie weiteren Oxidantien an, den zentralen Mediatoren des Reperfusionsschadens. Obwohl über eine gesteigerte Bildung der reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) sowohl in Kardiomyozyten als auch in Endothelzellen berichtet wurde, ist das Endothel in mehrfachem Sinne betroffen: Einerseits von der vermehrten Ausschüttung der ROS aus den Leukozyten, die durch Lipidperoxidationen von Membranen zum Endothelschaden führen, andererseits von den erhöhten Leukozyten-Endothel-Zell-Interaktionen und den damit einhergehenden Mikroembolisationen, welche die Zirkulation behindern (No-reflow-Phänomen). Das geschädigte, in seiner Funktion beeinträchtigte Koronarendothel ist verantwortlich für die Störung der endothelialen Vasodilatation der Koronararterien, was den koronaren Blutfluss einschränkt. Ein wichtiger Ansatz zur Reduktion des Endothel- und damit auch des Ischämie/Reperfusionsschadens (I/R-Schadens) liegt somit in der Aufrechterhaltung der Vasodilatation.

Zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP), ein intrazellulärer Botenstoff, nimmt eine Schlüsselposition in der kardiovaskulären Signalkaskade bei der Dilatation der Blutgefäße ein. Er wird von der löslichen Guanylatzyklase nach Aktivierung durch Stickstoffmonoxid (NO) synthetisiert und führt letztendlich über eine Zellmembranhyperpolarisation zur Relaxation der glatten Muskulatur. Phosphodiesterasen (PDEs) sind Enzyme, die für den Abbau der Second Messenger cGMP und cAMP zuständig sind. Bei der Metabolisierung von cGMP spielt vor allem PDE5 eine vorherrschende Rolle – sie ist nachgewiesenermaßen auch in den für diese Arbeit relevanten Zielstrukturen, den Endothel- und Myokardzellen vorhanden. Durch die Inhibierung des cGMP-Abbaus verstärken PDE5-Inhibitoren die Vasodilatation. Daneben vermittelt cGMP auch zytoprotektive und antithrombotische Effekte, die sich ebenfalls positiv auf die Myokard- und Endothelfunktion auswirken.

Ziel dieser Arbeit war es, die Wirksamkeit der systemischen Applikation von Vardenafil, einem hochselektiven und potenten PDE5-Blocker, auf die myokardiale und endotheliale Funktion in einem klinisch relevanten EKZ-Großtiermodell mit Kardioplegie und Hypothermie zu untersuchen.

Zwei Behandlungsgruppen mit jeweils acht Versuchstieren der Rasse Foxhound erhielten vor dem Start der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) 30µg/kg KG bzw. 300µg/kg KG Vardenafil als i.v.-Bolus. Als Kontrolle dienten acht Hunde, die ebenfalls der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) unterzogen und mit der wirkstofffreien Trägersubstanz Natriumchlorid behandelt wurden. Mit Hilfe der Konduktanz-Katheter-Technik wurde die links- sowie rechtsventrikuläre Kontraktionsfunktion vor und nach CPB evaluiert. Als Marker für die in vivo Endothelfunktion erfolgte die Bestimmung des koronaren Blutflusses vor und nach CPB mit Hilfe eines Ultraschallflussmesskopfes, der um den freipräparierten Ramus interventricularis anterior (RIVA) platziert wurde.

Für die Messung der in vitro Endothelfunktion wurden nach Abschluss der in vivo Messungen isolierte Koronararterienringe im Gefäßbad montiert, um die Acetylcholin-vermittelte, Endothel-abhängige und die Natrium-Nitroprussid-vermittelte, Endothel-unabhängige Vasodilatation zu untersuchen. Hierfür war zusätzlich eine Gruppe von Versuchstieren ausgewertet worden, die keiner EKZ unterzogen wurde. Weiterhin sind biochemische Messungen durchgeführt worden mit Bestimmung der Plasma-Nitrat/Nitrit- und Myeloperoxidase-Spiegel vor und nach CPB sowie der Bestimmung von ATP, ADP und AMP aus schockgefrorenem Herzmuskelgewebe nach der extrakorporalen Zirkulation.

Mit dieser Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die Vorbehandlung mit Vardenafil in der 30 µg/kg KG-Dosierung die Wiederherstellung der biventrikulären und endothelialen Funktion nach extrakorporaler Zirkulation gegenüber der Kontrollgruppe signifikant verbessert. Auch fanden sich in der Vardenafil 30-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höhere myokardiale ATP-Spiegel und damit ein besserer Energiestatus des Myokards nach I/R. In der höheren Dosierung von 300 µg/kg KG führte der Wirkstoff zu keiner eindeutig signifikanten Verbesserung dieser Parameter. Die biochemischen Messungen zeigten in Bezug auf die Plasma-Myeloperoxidase-Spiegel eine starke Tendenz hin zu niedrigeren Werten in den Vardenafil-behandelten Gruppen nach CPB und damit einen tendenziellen Rückgang der Leukozytenaktivierung. Die Plasma-Nitrat/Nitrit-Werte, die die totale NO-Produktion widerspiegeln, haben sich nach CPB als nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Kontroll- und Vardenafil-Gruppen erwiesen.

Die vorliegenden Ergebnisse demonstrieren einerseits die Verbesserung sowohl des myokardialen Energiestatus als auch der links- und rechtsventrikulären kardialen und endothelialen Funktion nach Vardenafil-Anwendung, zeigen aber auch die Dosisabhängigkeit dieser Wirkung. Basierend auf diesen Daten ist eine klinische Anwendung von Vardenafil zur Reduktion des myokardialen und endothelialen Gewebeschadens während herzchirurgischer Eingriffe ein sehr vielversprechender Ansatz, jedoch gilt es in weiteren kontrollierten Dosierungsstudien das pharmakologische Wirkfenster der PDE5-Inhibitoren genau zu bestimmen, um den Einsatz dieser Wirkstoffgruppe in der Herzchirurgie weiter zu forcieren.