

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

Zentrum der Inneren Medizin
Medizinische Klinik IV
Direktor Professor Dr. med. A.M. Zeiher

**Ist die Aktivierung organischer Nitrate bei Menschen
von Cytochrom P-450 abhängig?**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

vorgelegt von Stefan Beck

aus Wiesbaden

Frankfurt am Main, 2001

Dekan:
Referent:
Koreferent:

Prof. Dr. J. Pfeilschifter
Prof. Dr. W. Schneider
Prof. Dr. S. Harder

Tag der mündlichen Prüfung:

16.01.2003

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Nitrate	1
1.2	Cimetidin.....	4
1.3	Die Rolle von Cytochrom P-450 bei der Denitrierung von GTN.....	6
1.4	Ziel der Arbeit.....	9
2	Probanden und Methoden	10
2.1	Probanden	10
2.2	Versuchsablauf.....	10
2.3	Untersuchungen	12
2.3.1	Sonografische Messung des Pfortaderdurchmessers.....	12
2.3.2	Fingerpulsplethysmografie	14
2.3.2.1	Messverfahren	14
2.3.2.2	Erläuterungen zum Messverfahren.....	15
2.3.3	Blutdruck	18
2.3.4	Herzfrequenz	18
2.4	Datenaufbereitung.....	18
2.4.1	Statistisches Verfahren	18
2.4.2	Beurteilung der Signifikanz.....	18
3	Ergebnisse	19
3.1	Sonografische Messung des Pfortaderdurchmessers	19
3.1.1	Statistische Bewertung	20
3.2	Fingerpulsplethysmografie	23
3.2.1	Statistische Bewertung	24
3.3	Blutdruck.....	27
3.3.1	Statistische Bewertung	27
3.4	Herzfrequenz.....	29
3.4.1	Statistische Bewertung	29
4	Diskussion	31
4.1	Sonografische Messung des Pfortaderdurchmessers	31
4.2	Fingerpulsplethysmografie	33
4.3	Blutdruck.....	33
4.4	Pulsfrequenz.....	34
4.5	Gesamtbetrachtung	34
5	Zusammenfassung.....	38
6	Summary	40
7	Messwertetabellen.....	42
8	Literaturverzeichnis	52
9	Ehrenwörtliche Erklärung.....	58
10	Lebenslauf.....	59

Danksagung

Allen, die mich während der Anfertigung dieser Doktorarbeit tatkräftig unterstützt haben, möchte ich herzlichen Dank aussprechen.

Insbesondere gilt dieser meinem Schwiegervater Heinz Walbersdorf, der durch seinen viel zu frühen Tod die Fertigstellung dieser Arbeit nicht mehr miterleben konnte, meiner lieben Frau Karen für unendliche Geduld, nützliche Anregungen und Diskussionen, meinen Eltern und meiner Schwiegermutter für unerschöpfliche Motivation und meinem Freund Axel Jacobowsky und seiner Frau Cordula für die akribische Mitarbeit bei der Textverarbeitung.

1 Einleitung

1.1 Nitrate

Vor mehr als hundert Jahren wurde im „Lancet“ erstmals die günstige Wirkung von organischen Nitraten beschrieben [72]. Mittlerweile ist Glyceroltrinitrat (GTN) ein unersetzliches Therapeutikum zur Behandlung des akuten Angina-pectoris-Anfalls. Ebenso sind Isosorbiddinitrat (ISDN) und Isosorbidmononitrat (ISMN) lange etablierte Medikamente, die weltweit zur Therapie der Angina pectoris bei ischämischer Herzkrankheit verwendet werden.

Glyceroltrinitrat muss als „Prodrug“ angesehen werden. Erst durch Denitrierung entsteht die eigentliche Wirkform, das Stickstoffmonoxid (NO) [33, 40]. Die Wirkung organischer Nitrate beruht in erster Linie auf der Verminderung des venösen Rückstroms zum Herzen durch Dilatation venöser Kapazitätsgefäße, man spricht von „venösem Pooling“ [39, 44]. Die damit erreichte Reduzierung der Vorlast hat eine Verminderung der Herzarbeit und damit eine Senkung des myokardialen Sauerstoffbedarfs zur Folge. Durch die verminderte diastolische Füllung kommt es zu einer Verringerung des enddiastolischen Ventrikeldrucks. Zuvor durch erhöhte Wandspannung verschlossene intramurale Koronaranastomosen werden wieder perfundiert und Sauerstoff wird wieder zur besonders ischämiegefährdeten Innenschicht transportiert [72]. Des Weiteren bewirkt die (geringer ausgeprägte) Gefäßdilatation der großen Arterienstämme eine Senkung des intraaortalen Drucks und somit eine Abnahme des peripheren Widerstands und der systolischen kardialen Wandspannung (Nachlastsenkung) [39].

Glyceroltrinitrat, die Trisalpetersäure des Glycerins, ist der bekannteste Vertreter der herzwirksamen Nitratverbindungen (Abbildung 1) [8, 45]. GTN ist ein potentes Relaxans für glatte Muskulatur, ebenso sind Effekte auf die Bronchiolen, den Gastrointestinaltrakt (z. B. Gallenwege), Ureter und Uterus beschrieben worden [65].

Die pharmakodynamische Wirkung der verschiedenen Nitrovasodilatoren ist gleich. Unterschiede bestehen lediglich in der Pharmakokinetik [39]: GTN zeichnet sich insbesondere durch eine hohe Lipidlöslichkeit aus [43].

Im akuten Angina-pectoris-Anfall beträgt die empfohlene Dosis 0,8 bis 2,4 mg GTN [8]. Bei sublingualer Applikation von ein bis zwei Kapseln zu je 0,8 mg GTN werden bereits nach fünf bis zehn Minuten maximale Plasmakonzentrationen gemessen. Die Resorptionshalbwertszeit beträgt ca. 20 Sekunden. Eine Senkung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers kann bereits nach drei bis fünf Minuten beobachtet werden [39].

Transkutane Applikationssysteme sind auch etabliert, es findet eine dosisabhängige Absorption statt. Stabile Plasmakonzentrationen sind jedoch schwer zu erzielen [65].

Aus der hohen Affinität zur denitrierenden Glutathion-S-Transferase resultiert die kurze Eliminationshalbwertszeit von nur zwei bis sechs Minuten [43]. Eine orale Verabreichung von GTN ist wegen eines ausgeprägten hepatischen „first pass Metabolismus“ nicht zu empfehlen [9].

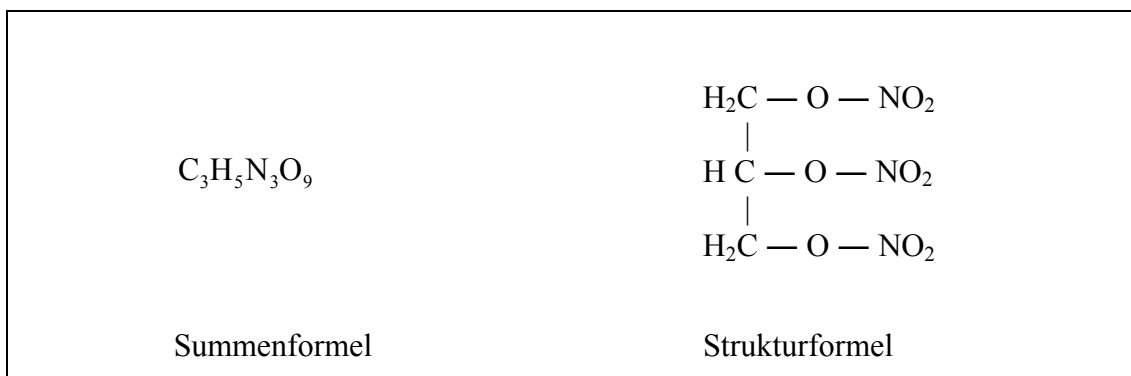


Abbildung 1: Glyceroltrinitrat

Die zellulären Wirkungsmechanismen organischer Nitrate und deren Metabolisierung waren bis in die 70er Jahre weitgehend unbekannt [56] und werden erst seit wenigen Jahren zunehmend aufgeklärt.

Zu den inzwischen etablierten Fakten zählt die Existenz eines „endothelium-derived relaxing factor (EDRF)“. Die genaue Identität von EDRF ist noch nicht abschließend geklärt. Einige Untersuchungen ergaben Hinweise, dass es sich bei EDRF um aus L-Arginin freigesetztes endogenes Stickstoffmonoxid (NO) handelt [52, 71]. Andere Untersuchungen legten nahe, dass EDRF wahrscheinlich eine nitrosylierte Verbindung ähnlich dem S-Nitrosothiol ist, welche als Vorstufe des NO fungiert [46]. Auch das aus S-Nitrosothiol freigesetzte NO wird als EDRF diskutiert. Vergleiche

chende Laboruntersuchungen unter anderem zu biologischer Halbwertszeit und Hemmbarkeit durch Oxyhämoglobin konnten diese Hypothese unterstützen [12].

Aus L-Arginin freigesetztes NO stellt einen bedeutenden Faktor zur Aktivitätsregulierung der intrazellulären Guanylatzyklase in LLC-PK₁-Nierenepithelzellen dar, eine maßgebliche Beteiligung an der Gefäßrelaxation wurde jedoch bislang nicht nachgewiesen [52].

EDRF und NO führen gleichermaßen zu einer Aktivierung der zellulären Guanylatzyklase [13, 39, 52]. Diese setzt Guanosyltriphosphat (GTP) zu zyklischem 3',5'-Guanosylmonophosphat (cGMP) um [1, 2, 14]. Eine messbare intrazelluläre Akkumulation von cGMP wurde dokumentiert [2, 5, 6, 7, 15, 33, 37, 44, 50-56, 58]; cGMP aktiviert als „second messenger“ eine Proteinkinase, was wahrscheinlich zu Abnahme der intrazellulären Kalziumkonzentration und infolgedessen zur Erschlaffung der glatten Gefäßmuskulatur führt [44, 56]. Die geringe intrazelluläre Konzentration von Kalziumionen ist ein empfindliches regulatorisches System der elektro-mechanischen Koppelung, gleichermaßen in der gestreiften und glatten Muskulatur [47]. Kalzium hat einen wichtigen Stellenwert bei dem Kontraktions- und Relaxationsverhalten der Muskelzellen [47].

In der Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen wie z.B. Hypertonie, Atherosklerose, Gefäßspasmus und Herzinfarkt spielen vor allem funktionelle Veränderungen des Gefäßendothels eine entscheidende Rolle (sog. Widerstandshochdruck) [69]. Bei der arteriellen Hypertonie ist die endothelabhängige Relaxation vermindert. Eine defekte rezeptorgesteuerte Freisetzung und/oder Produktion von EDRF kann als Grund hierfür angenommen werden [71]. Bei Endothelschäden, die beispielsweise durch atheromatöse Plaques herbeigeführt wurden, sind organische Nitrate in der Lage, körpereigenen EDRF zu substituieren und somit eine Gefäßrelaxation zu induzieren [41].

Die Wirksamkeit organischer Nitrate unterliegt allerdings bei chronischer Verabreichung oder Verwendung von Retardpräparaten einer Toleranzentwicklung [33, 39, 57]. In Zellkulturen von Makrophagen der Maus, die eine Toleranz gegen organische Nitrate entwickelt haben (vorherige Langzeitbehandlung mit GTN) wurde nach GTN-Applikation signifikant weniger NO gefunden als in entsprechenden nichttoleranten Zellkulturen [48]. Bei bestehender GTN-Toleranz war der Grad der Vasodilatation, der cGMP-Anstieg und die Aktivierung der Guanylatzyklase in kultivierten

glatten Muskelzellen aus Kaninchenaorta gegenüber der Kontrolle signifikant vermindert [37]. Die Nitrattoleranz wird wahrscheinlich einerseits auf enzymatischer Ebene in einer herabgesetzten Biotransformation von GTN zu NO [37, 48, 57] und andererseits durch neurohumorale Gegenregulation verursacht [48, 57]. Eine Desensitivierung der Guanylatzyklase liegt, wie zunächst angenommen [50], nicht vor [37, 48]. Nitrovasodilatoren wie Natriumnitroprussid (NNP) und Molsidomin (bzw. dessen aktiver Metabolit Sydnomin (SIN-1)) setzen NO spontan frei [56, 57, 58]. Eine verminderte Aktivierung der Guanylatzyklase wurde an GTN-tolerantem Gewebe nach Applikation von NNP oder SIN-1 nicht dokumentiert [37, 50, 55, 56, 57, 58]. Aus der klinischen Anwendung ist bekannt, dass Patienten mit manifester Nitrat-toleranz auf Molsidomin ansprechen [62].

Diese Untersuchungsergebnisse geben Hinweise darauf, dass die Bioaktivierung von GTN eine zentrale Rolle bei der nitratinduzierten Gefäßrelaxation spielt und dass dieser Mechanismus möglicherweise auch an der Toleranzentwicklung beteiligt ist. Beweise für diese Zusammenhänge konnten jedoch bisher nicht erbracht werden [6].

Cimetidin

Der Histamin-H₂-Rezeptorantagonist Cimetidin wurde — angeregt durch die Erfolge mit Betarezeptorenblockern — Anfang der 70er Jahre in den Vereinigten Staaten für die Therapie peptischer Ulzera des Gastrointestinaltrakts entwickelt: Durch die Blockade von Histamin-H₂-Rezeptoren wird die Säureproduktion in den Parietalzellen des Magens gehemmt [21].

Cimetidin wurde zur Therapie von Ulzera ventriculi, Ulzera duodeni oder der peptischen Refluxösophagitis in Tagesdosen von 800 bis 1000 mg verabreicht, beim Zollinger-Ellison-Syndrom sogar bis zu 2000 mg [61]. Seit Einführung der Protonenpumpeninhibitoren (z.B. Omeprazol) spielen H₂-Rezeptorantagonisten hier nur noch eine untergeordnete Rolle [70].

Die Bioverfügbarkeit von Cimetidin beträgt nach rascher Resorption aus dem Magen-Darm-Trakt ca. 60%, die Plasmahalbwertszeit zwei Stunden. Maximalwerte der Cimetidinblutspiegel treten 60-90 Minuten nach Tabletteneinnahme auf [39].

Chemisch handelt es sich bei Cimetidin um eine stickstoff- und schwefelhaltige Verbindung mit einem Imidazolring (Abbildung 2).

Bei der Untersuchung von Interaktionen mit anderen Pharmaka fiel auf, dass Cimetidin entscheidend in den Metabolismus der Leber eingreift: Einerseits durch Reduzierung des hepatischen Blutflusses, andererseits durch Bildung eines stabilen Komplexes mit Cytochrom P-450, welcher die Bindung anderer Moleküle an dieses Enzymsystem verhindert [38, 60].

Cimetidin weist eine höhere Affinität zu Cytochrom P-450 auf als andere H₂-Rezeptorenblocker wie Ranitidin und Famotidin. Cimetidin inhibiert sowohl die Monooxygenasefunktion als auch die Oxidasefunktion von Cytochrom P-450. Die Peroxidaseaktivität wird dagegen kaum beeinflusst [3].

Die besondere Fähigkeit des Cimetidins zur Hemmung des hepatischen Metabolismus anderer Pharmaka erklärt sich wahrscheinlich durch die Struktur des Imidazolrings, ein Merkmal, über das Ranitidin und Famotidin nicht verfügen [18]. Eine Interaktion mit dem Hämanteil von Cytochrom P-450 (siehe Abschnitt 1.3.) ist wahrscheinlich.

Nach Einnahme von Cimetidin ist folglich damit zu rechnen, dass Stoffe, die in der Leber durch das Cytochrom P-450-System eliminiert werden, verzögert abgebaut und ausgeschieden werden und daher zur Verhinderung einer Kumulation in der Dosis angepasst werden müssen. Cimetidin erhöht zum Beispiel die Eliminationshalbwertszeit von Diazepam, Chlordiazepoxid, Phenytoin, Lidocain, Metoprolol, Warfarin und Theophyllin [60].

Hingegen wurde beim Glyceroltrinitrat, das möglicherweise durch Cytochrom P-450 erst in seine aktive Form NO überführt wird, eine abgeschwächte oder sogar völlig unterdrückte Wirkung erwartet. Cimetidin wurde bereits in mehreren Studien als Modellsubstanz zur Blockierung von Cytochrom P-450 verwendet [53].

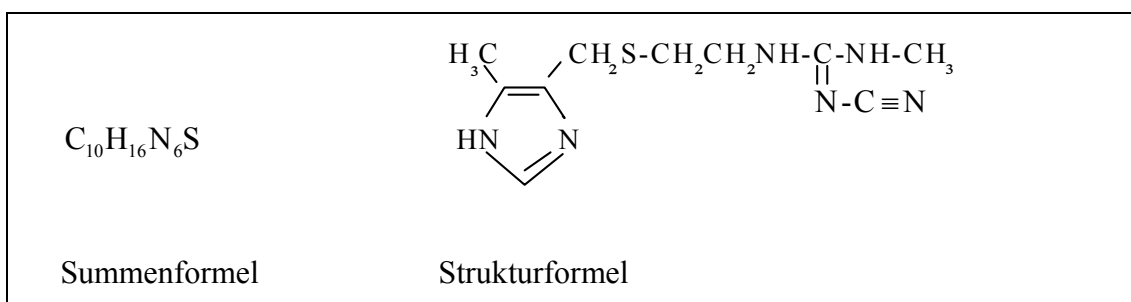


Abbildung 2: Cimetidin

1.2 Die Rolle von Cytochrom P-450 bei der Denitrierung von GTN

Nitrate sind Substanzen, aus denen durch enzymatische, NADPH-abhängige Denitrierung [10, 29, 34, 35, 56, 67] unter anderem Stickstoffmonoxid (NO) als biologisch aktiver Metabolit freigesetzt wird [1, 31, 33, 40, 56]. Weitere Spaltprodukte sind das pharmakologisch inerte Nitrit (NO₂) und bei GTN als Ausgangssubstanz die „übrigbleibenden“ Dinitrate 1,2-GDN oder 1,3-GDN [4, 6, 7, 31, 34, 35].

Der Mechanismus der NO-Freisetzung aus GTN ist bisher, wie bereits angedeutet, noch nicht eindeutig identifiziert worden. GTN erhöht den cGMP-Spiegel in der glatten Muskelzelle, nicht aber im zellfreien Präparat von glatten Gefäßmuskeln [56]. Diese Erkenntnis lässt den Schluss zu, dass es sich bei der Umsetzung von GTN zu NO um einen enzymatischen Stoffwechselprozess handelt, der bei der Homogenisierung des Gewebes verloren geht [56].

Bezüglich der Metabolisierung von GTN wurden in den letzten Jahren hauptsächlich drei Hypothesen formuliert:

- 1.) Einige Untersuchungen legten eine Abhängigkeit von Thiolgruppen nahe [1, 22]. Nach Zusatz von Cystein, welches als Sulfhydrylgruppen-(SH-)Donator fungiert, konnte eine Freisetzung von NO aus GTN und eine Aktivierung der Guanylatzyklase im zellfreien Hydrolysat von Gefäßendothelien beobachtet werden. Es handelt sich hierbei um eine nichtenzymatische, chemische Reaktion. Daraus schloss man, dass freie Thiolgruppen notwendige Kofaktoren darstellen, um NO auf dem Weg über S-Nitrosothiole als Intermediärprodukte zu bilden [1, 22, 56]. Allerdings zeigte eine andere Studie an bovinen Koronararterien, dass keine Korrelation zwischen Cystein- oder Glutathionkonzentration und dem Ausmaß der erreichten Gefäßrelaxation besteht [15].
- 2.) Glutathion-S-Transferase (GST) bewirkt eine Denitrierung von organischen Nitraten im Zytosol von Leberzellen der Ratte [56]. Es konnte sowohl eine Abnahme der GTN-Konzentration in den Zellen beobachtet werden, als auch in geringem Maße ein Auftreten der Metaboliten Nitrit (NO₂) und Stickoxid (NO) in einem Verhältnis von 150:1 [30, 56]. Dieses Mengenverhältnis der Produkte aus der GST-vermittelten Denitrierung wurde als nicht effizient bezeichnet, besonders im Vergleich zur untersuchten Cytochrom P-450-vermittelten Denitrierung,

in der ein Mengenverhältnis von $\text{NO}_2:\text{NO}$ von 15:1 gemessen wurde [56]. Eine GST-abhängige Vasodilatation wurde nicht nachgewiesen [6]. Es konnte außerdem gezeigt werden, dass die GST-abhängige Biotransformation von Glyceroltrinitrat nicht mit einer Aktivierung der gelösten Guanylatzyklase in den Leberzellen der Ratte einhergeht [56].

- 3.) In anderen Untersuchungen wurde die Beteiligung von Cytochrom P-450 an der Bioaktivierung organischer Nitrate nahegelegt. Dabei wurde die Entstehung eines Cytochrom P-450-Fe(II)-NO Komplexes formuliert, der während der mikrosomalen Denitrierung von GTN in Präparaten von Leberzellen der Ratte zustande kam (Abbildung 3) [11, 56, 59]. Cytochrom P-450 ist ein Hämoprotein ähnlich dem Hämoglobin und Myoglobin [31]. Es sind mehrere Isoenzymformen bekannt [6, 10, 31, 34, 35].

Angenommene Reaktionsgleichung:

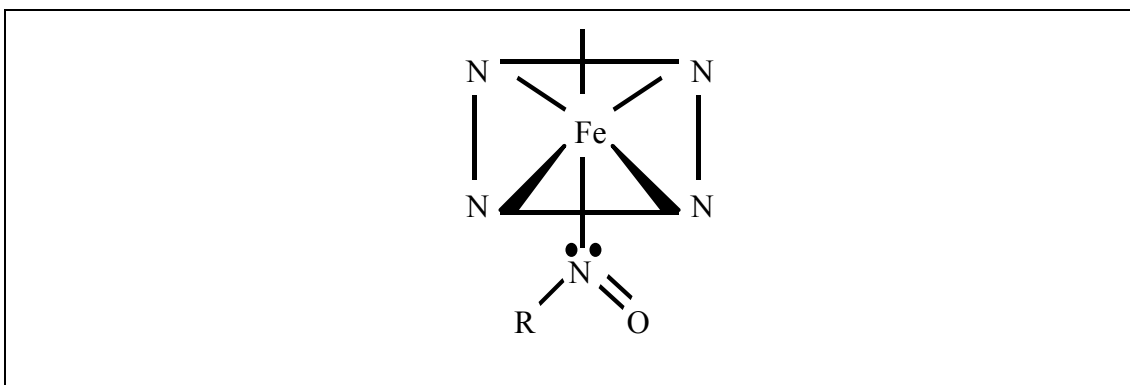
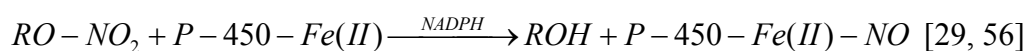


Abbildung 3: Wahrscheinlicher Nitroso-Häm-Komplex [29]

Cytochrome enthalten ein kompliziertes Porphyrinsystem, das mit dem Häm des Hämoglobin identisch (z.B. bei Cytochrom P-450) oder nahe verwandt ist. Sie wirken als Oxidoreduktasen, indem sie Elektronen übertragen. Am Elektronentransport ist das Häm-Eisen beteiligt, und zwar durch Wertigkeitswechsel zwischen Fe^{2+} und Fe^{3+} [26]. Der Bezeichnung P-450 bezieht sich auf die photometrische Hauptabsorptionsbande bei einer Wellenlänge von 450 nm [26]. Die organischen Nitrate scheinen als Elektronenakzeptoren für Cytochrom P-450 zu wirken und konkurrieren direkt mit Sauerstoff oder Kohlenmonoxid um dessen Hämgruppe [56].

Zahlreiche Untersuchungen zeigten, dass Cytochrom P-450 offenbar eine bedeutende Rolle bei der Biotransformation organischer Nitrate spielt. Inhibitoren des mikrosomalen Cytochroms P-450 (z.B. Kohlenmonoxid) konnten die NADPH-abhängige, enzymatische Denitrierung von GTN erheblich beeinträchtigen [56]. In weiteren Laborversuchen konnte an verschiedenen Zellpräparaten die NO-Freisetzung verringert [3] oder die Aktivierung der Guanylatzyklase unterbunden werden [5, 6, 7, 31, 34, 53, 54]. Cytochrom P-450-Induktoren waren in der Lage, die GTN-Metabolisierung zu steigern [35, 54].

Sowohl Glutathion-S-Transferase (GST) als auch Cytochrom P-450 ist in aortalen glatten Muskelzellen der Ratte nachgewiesen worden [5, 6]. In einer Untersuchung wurde, wie bereits erwähnt, herausgefunden, dass die enzymatische Denitrierung durch GST fast nur pharmakologisch unbedeutendes NO₂ produziert. Der „Ertrag“ an wirksamem NO war zu gering, um eine Aktivierung der Guanylatzyklase zu bewerkstelligen [56]. Die GST-katalysierte Denitrierung organischer Nitrate spielt offenbar eher eine Rolle bei deren Elimination als bei der Bioaktivierung. Einige Autoren prägten den Begriff der „*clearance-based biotransformation*“ im Gegensatz zur „*mechanism-based biotransformation*“, die mit einer signifikanten Aktivierung der Guanylatzyklase und damit einer Akkumulation von cGMP einhergeht (Abbildung 4). Außerdem gibt es Hinweise auf eine Beteiligung von GST an der Toleranzentwicklung gegenüber GTN [30]. In einer weiteren Studie waren weder GST noch Cystein in der Lage, an nitratolerantem Gewebe (zuvor zweistündige kontinuierliche Behandlung mit GTN) einen signifikanten Wiederanstieg der cGMP Konzentration zu erwirken [15].

Diese Ergebnisse unterstützen die Annahme einer maßgeblichen Beteiligung von GST und Cystein an der GTN-induzierten Aktivierung der Guanylatzyklase nicht.

Vieles deutet darauf hin, dass Cytochrom P-450 über die Ausbildung eines inaktiven transienten Komplexes [11] eine zentrale Rolle bei der Bioaktivierung organischer Nitrate spielt [6, 55, 56]. In einer fotometrischen Untersuchung konnte NO-Synthase (NOS), welche NADPH-abhängig NO aus L-Arginin freisetzt, als Hämoprotein vom Cytochrom P-450-Typ identifiziert werden [67].

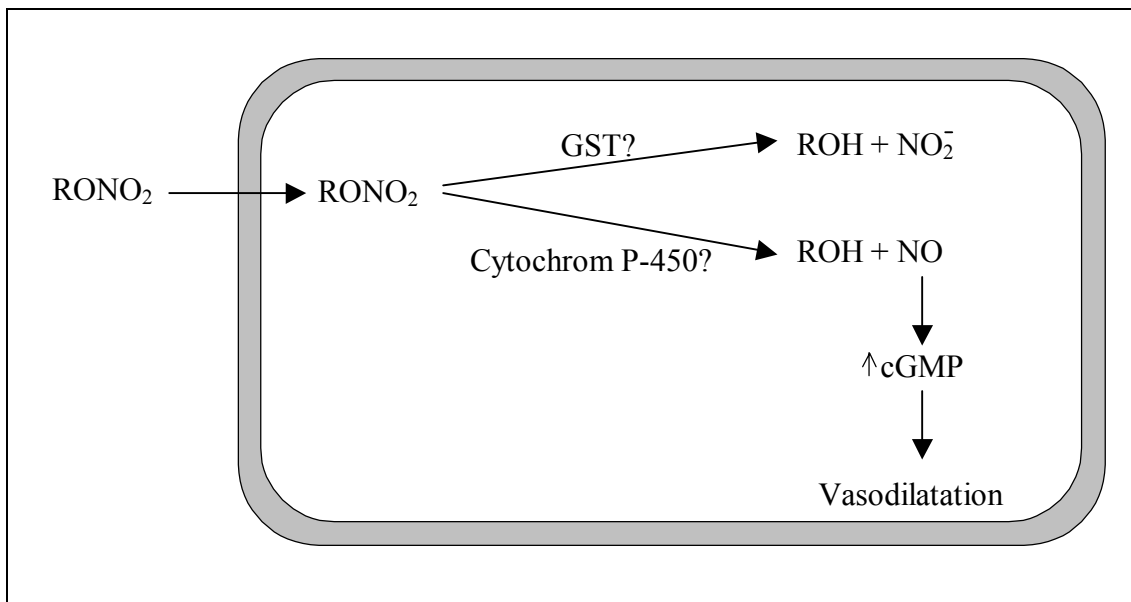


Abbildung 4: Vereinfachtes Schema: Mögliche Wege der enzymatischen Nitratspaltung [6]

1.3 Ziel der Arbeit

Die vorliegende Untersuchung soll den Einblick in die noch nicht vollständig bekannte Biotransformation der Vasodilatoren vom Nitrattyp vertiefen. In verschiedenen Studien an Zellpräparaten wurden Hinweise darauf gefunden, dass das Enzymsystem Cytochrom P-450 die NO-Freisetzung aus GTN katalysiert. Mit der vorliegenden Untersuchung soll überprüft werden, ob die in vitro erlangten Erkenntnisse sich auf den menschlichen Gesamtorganismus übertragen lassen. Anhand eines Parallelgruppenvergleichs mit Hilfe gesunder männlicher Probanden wurde untersucht, ob sich die vaskuläre Wirkung von GTN durch vorherige mehrtägige Cimetidingabe beeinflussen lässt.

Folgende Frage soll in dieser Arbeit in erster Linie beantwortet werden:

Ist es möglich, durch pharmakologische Blockierung des Enzyms Cytochrom P-450 eine signifikant verminderte Vasodilatation nach Applikation von Glyceroltrinitrat beim Menschen zu bewirken?

2 Probanden und Methoden

2.1 Probanden

An der Studie nahmen zwölf gesunde männliche Probanden im Alter zwischen 23 und 29 Jahren, im Mittel 25,7 Jahre, teil.

Das Körpergewicht der Probanden lag zwischen 72 und 90 kg, im Mittel bei 80,6 kg, das Normalgewicht (Broca-Index) wurde bei keinem Probanden wesentlich über- oder unterschritten. Die Körpergröße betrug zwischen 175 cm und 186 cm, im Mittel 181,8 cm. Zwei der zwölf Versuchspersonen sind Zigarettenraucher, zehn sind Nichtraucher. Eine Woche vor und nach der Untersuchung erfolgte außer der Studienmedikation keine weitere Medikamenteneinnahme.

Die Probanden waren vor Studienbeginn ausführlich über den Versuchsablauf und eventuelle Nebenwirkungen der verabreichten Medikamente informiert worden.

Die schriftliche Zustimmung jedes einzelnen Probanden lag bei Beginn der Untersuchungen vor.

2.2 Versuchsablauf

Der Studie lag ein Einfachblindprotokoll mit zwei Behandlungsphasen von je vier Tagen mit intraindivuellem Crossover (Placebo ↔ Verum) zugrunde. Zwischen den beiden Behandlungsphasen lag ein medikamentenfreies Auswaschintervall von sieben Tagen (Abbildung 5).

Die Zuteilung der Probanden zu den beiden Gruppen (Beginn mit Verum (Cimetidin) oder Beginn mit Placebo) erfolgte randomisiert.

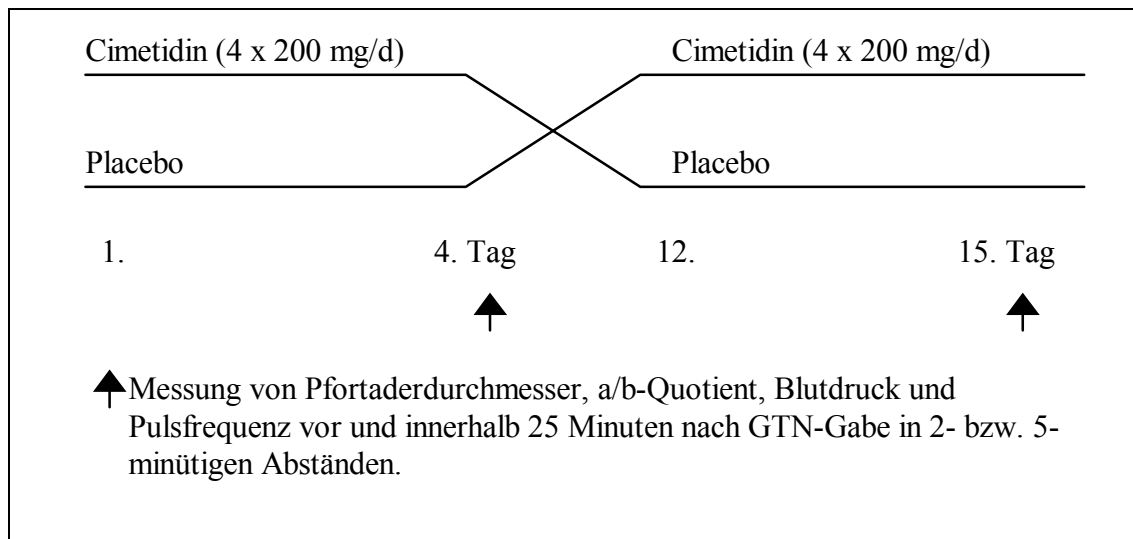


Abbildung 5: Untersuchungsprotokoll: Jeweils viertägige Behandlungsphasen mit dazwischenliegender siebentägiger Auswaschphase.

Die Verabreichung der Medikamente erfolgte in der Verumphase in Form von Cimetidin (Tagamet[®] 200, SKD, Göttingen, Deutschland) als Tablette per os alle vier Stunden (jeweils um 10.00, 14.00, 18.00 und 22.00 Uhr), entsprechend einer Tagesdosis von 800 mg, eine bei der Behandlung gastroduodenaler peptischer Ulzera übliche Dosierung. Nach dem Auswaschintervall folgte in der nächsten Behandlungsphase die Gabe eines Placebopräparates nach dem gleichen Einnahmeschema („Crossover“).

Am jeweils vierten Behandlungstag erfolgte die Messung der Untersuchungsparameter in der Zeit zwischen 15.00 und 16.00 Uhr, ein bis zwei Stunden nach Einnahme der zweiten Einzeldosis Cimetidin bzw. Placebo. Die Messungen wurden jeweils unmittelbar vor und in zwei- bis fünfminütigen Abständen nach sublingualer Gabe von 1,6 mg Glyceroltrinitrat (2 Kapseln Nitrolingual[®], G. Pohl-Boskamp, Hohenlockstedt, Deutschland) über einen Zeitraum von 25 Minuten durchgeführt.

2.3 Untersuchungen

Die Untersuchungen erfolgten nach vierstündiger Nahrungskarenz und einer fünfzehnminütigen Ruhepause am flach auf dem Rücken liegenden Probanden.

2.3.1 Sonografische Messung des Pfortaderdurchmessers

Die Sonografie ist zur Erfassung des dilatierenden Effekts von GTN auf die Venen des Splanchnikusgebiets gut geeignet [64].

Die Vena portae wurde mit Hilfe eines konventionellen, für die Abdominalsonografie ausgerüsteten Ultraschallgerätes (Acuson 128, 3,5 MHz Schallkopf, Acuson Inc., USA) im Gefäßlängsschnitt aufgesucht. Die Darstellung der Pfortader erfolgte standardisiert durch Aufsetzen des Schallkopfes etwa in der rechten Medioklavikularlinie in Höhe des Rippenbogenrandes. Die Messung erfolgte in Atemmittellage und bei Ruhepulsfrequenz des Probanden jeweils durch den gleichen Untersucher. Eine Orientierung ermöglichten die topographisch benachbarten Strukturen. Die Weite des Pfortaderlumens wurde durch Distanzmessung zwischen der anterioren inneren und der posterioren inneren Gefäßwand bestimmt (Abbildung 6) [63].

Es wurde bei jedem Probanden jeweils zum Zeitpunkt unmittelbar vor Gabe von GTN sowie 5, 10, 15, 20 und 25 Minuten danach eine Messung des Gefäßdurchmessers durchgeführt.

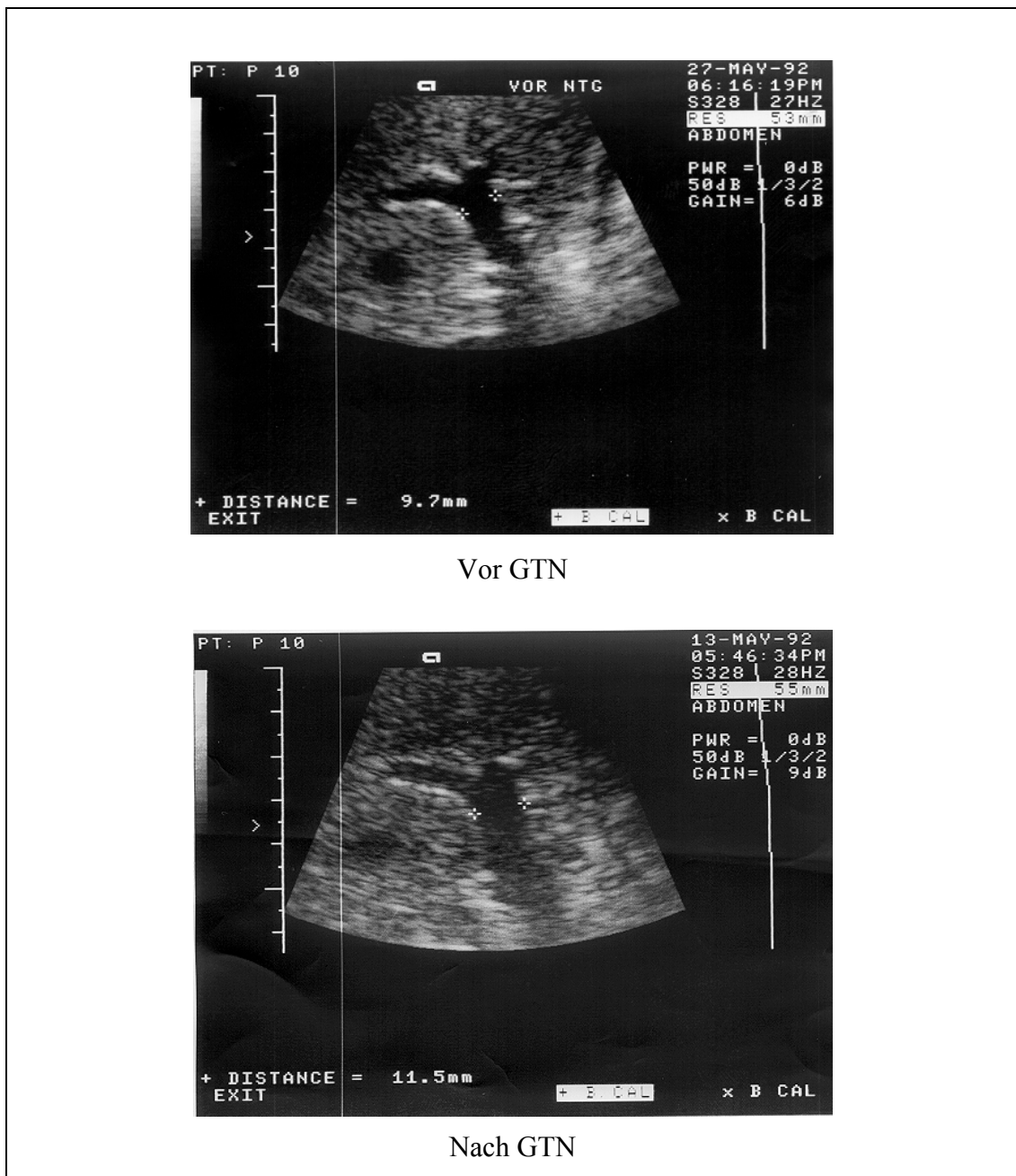


Abbildung 6: Sonografische Darstellung der Vena portae mit Durchmesserbestimmung

2.3.2 Fingerpulsplethysmografie

2.3.2.1 Messverfahren

Zur Registrierung der ermittelten Fingerpulskurve wurde ein fotoelektrischer Pulsabnehmer gewählt, der nach dem Reflexionsprinzip arbeitet (Fingerpulsabnehmer 21712906, Hellige GmbH, Freiburg im Breisgau, Deutschland).

Hierbei erfolgt die Signalumformung mittels im Gewebeinneren reflektierten Lichtes: Durch eine Fotodiode wird wärmefrei infrarotes Licht ausgesendet, welches von den Erythrozyten reflektiert und von einer Fotozelle in elektrische Impulse umgesetzt wird [48]. Diese Pulsabnehmer sind klein und leicht sowie relativ unempfindlich gegenüber Bewegungsartefakten (Abbildung 7) [20].

Nach elektrischer Verstärkung (Pulsverstärker SMS 302, Hellige GmbH, Freiburg im Breisgau, Deutschland) wurde die Pulskurve durch ein angeschlossenes EKG-Gerät (Cardiotest EK 53, Hellige GmbH, Freiburg im Breisgau, Deutschland) über einen Thermodrucker ausgegeben (Aufzeichnungsgeschwindigkeit: 25 mm/sec.).

Der Fingerpulsabnehmer wurde ohne Anpressdruck mit einem 2,5 cm breiten Klebestreifen (Leukosilk[®], Beiersdorf AG, Hamburg, Deutschland) an der Fingerbeere des Mittelfingers der linken Hand der einzelnen Probanden befestigt. Der Anlegedruck des Sensors hat Einfluss auf die Amplituden der Pulskurven. Da jedoch der Quotient ermittelt und ausgewertet wird, spielen Unterschiede in der Amplitudenhöhe infolge leichter Anlegedruckschwankungen keine Rolle [68].

Die Hand wurde in leichter Supinationsstellung etwa auf Höhe des Herzens neben dem Körper abgelegt.

Die Messungen erfolgten über einen Zeitraum von 24 Minuten jeweils im Abstand von 2 Minuten.

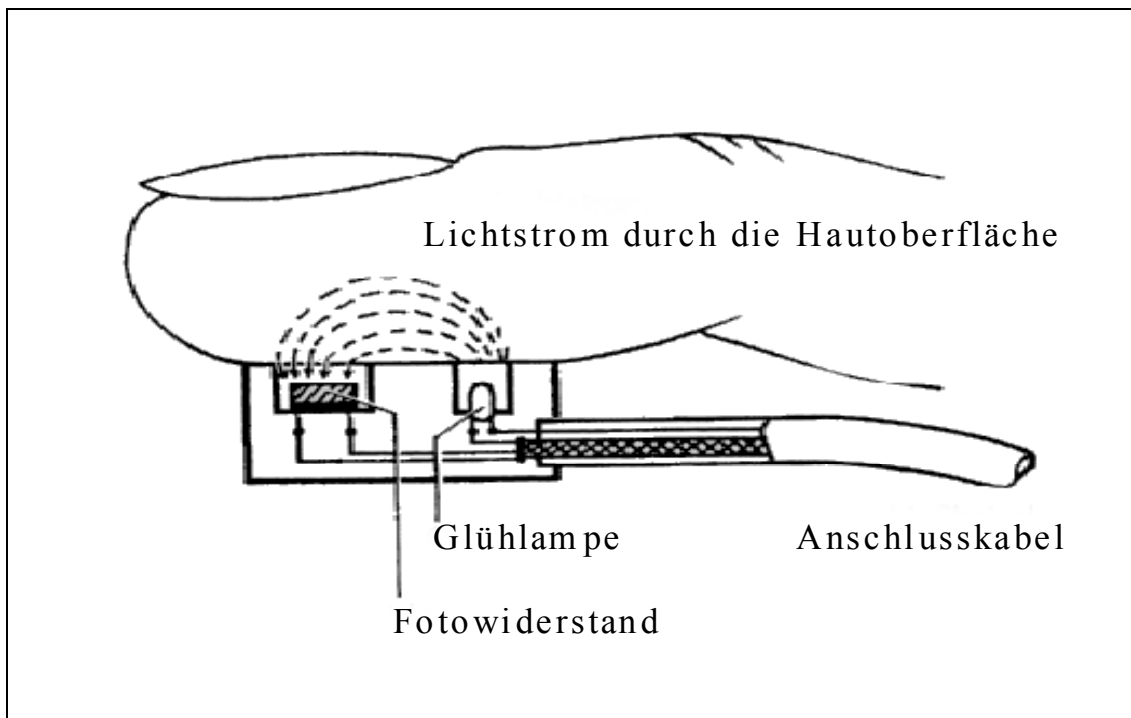


Abbildung 7: Fotoelektrischer Pulsabnehmer [14]

2.3.2.2 Erläuterungen zum Messverfahren

Die Fingerpulsplethysmografie hat als einfache, nichtinvasive Methode zur Registrierung physikalischer Kreislaufgrößen in den letzten vierzig Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen [20]. Man erhält Kurven, die weitgehend plethysmografisch ermittelten Volumenpulsationen entsprechen.

Besonders zur Untersuchung des Effekts von GTN und anderer Nitrate auf periphere Arterien des präkapillären Strombetts wird diese Methode bevorzugt herangezogen [32].

Das Erscheinungsbild der Fingerpulskurve junger, gesunder Probanden zeichnet sich durch eine ausgeprägte Dikrotie aus: Sie besteht aus einer hohen systolischen Welle, gefolgt von einer zweiten Welle mit geringerem Maximum. Dieser spezielle Kurvenverlauf kommt durch Reflexion des systolisch ausgeworfenen Blutvolumens in der arteriellen Peripherie zustande. Zuerst erscheint eine hohe systolische Welle, welche dem primären systolischen Auswurf in das arterielle System entspricht. Diese sinusförmige Welle pflanzt sich über alle Verzweigungen in die Peripherie fort, die peripheren Arterien und Arteriolen verhalten sich wie ein geschlossenes Schlauchende [27, 68], die Pulswellen werden zurückgeworfen. Es kommt nun zu Überlage-

rungsphänomenen mit gegenseitiger Amplitudenminderung, der „Inzisur“ [68]. Anschließend folgt die zweite positive, phasenverschobene Schwingung durch erneute Reflexion an der Aortenklappe, die dikrote Welle [27, 68]. Das Erscheinungsbild der Fingerpulscurve wird von mehreren Faktoren, unter anderem Blutdruck und Herzfrequenz beeinflusst. Bedeutend für die Gestalt der Fingerpulscurve ist die Gefäßelastizität („Compliance“). Durch Vasokonstriktion kommt es zu einer Verstärkung der positiven Reflexionen und somit zu einem stärkeren Anstieg der dikroten gegenüber der systolischen Welle. Umgekehrt führt Vasodilatation, wie sie beispielsweise durch Gabe organischer Nitrate hervorgerufen wird, zu einer Zunahme des systolischen Wellenmaximums infolge der größeren Wandelastizität. Die dikrote Welle wird hingegen etwas vermindert [1, 23, 68].

Bei älteren Probanden konnte als Ausdruck zunehmender Rigidität der Blutgefäße eine Verminderung, teilweise ein völliger Verlust der Dikrotie der Fingerpulscurve beobachtet werden [32].

Zur Analyse der Fingerpulscurve misst man die Amplitude der systolischen Welle (a) ausgehend von der Basislinie (Verbindungsline zwischen zwei Pulsationen) und die Amplitude der dikroten Welle (b). Anschließend errechnet man den a/b-Quotienten und erhält damit einen Index für Reflexion und Dämpfung beziehungsweise für die Gefäßwandelastizität (Abbildung 8). Vasokonstriktion spiegelt sich durch Annäherung des a/b-Quotienten an den Wert 1 wider, bei Vasodilatation kommt es zu einem Anstieg des a/b-Quotienten aufgrund der Verkleinerung der dikroten Welle gegenüber der systolischen.

Von zehn hintereinander aufgezeichneten Pulscurven wurden für die Berechnung jeweils fünf in Folge ausgewertet und gemittelt.

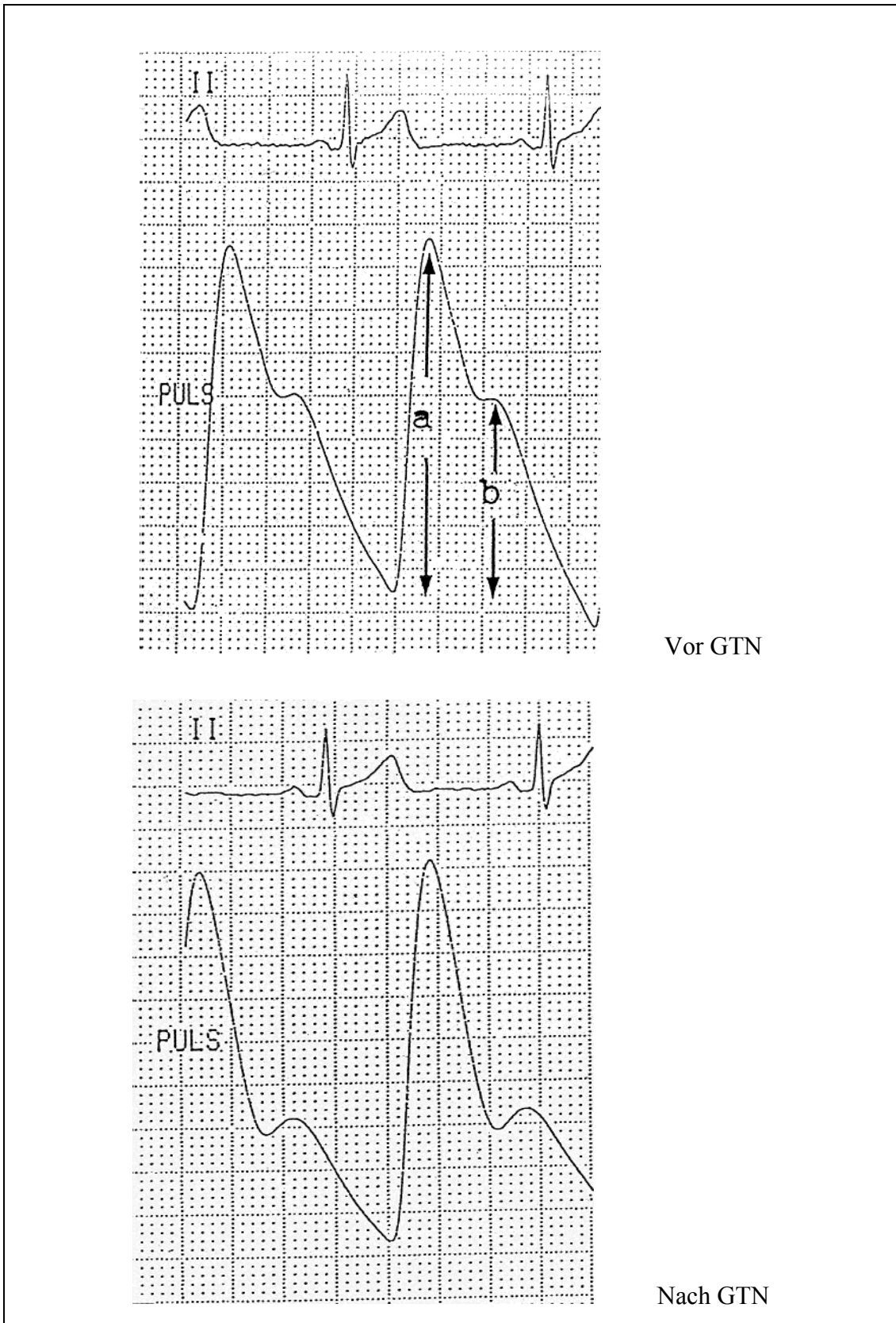


Abbildung 8: Fingerpulskurven

2.3.3 Blutdruck

Der Blutdruck wurde parallel zur sonografischen Messung unblutig mit Hilfe eines Sphygmomanometers (Speidel + Keller, Jungingen, Deutschland) und eines Stethoskops nach der von Riva-Rocci beschriebenen Methode registriert.

2.3.4 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz wurde ebenfalls parallel zur sonografischen Messung durch Palpation der Arteria radialis des linken Arms des Probanden ermittelt.

2.4 Datenaufbereitung

2.4.1 Statistisches Verfahren

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine Längsschnitterhebung an 12 freiwilligen Probanden über 25 Minuten mit intraindividuellem Crossover (Parallelgruppenvergleich). Die Reihenfolge der Vorbehandlung (Placebo/Cimetidin) wurde den Probanden randomisiert zugeteilt, die Untersuchung fand im Einfachblindverfahren statt. Bei den erhobenen Messwerten handelt es sich um verbundene Stichproben durch Behandlung derselben Probanden mit „Medikament A“ (= Placebo) und „Medikament B“ (= Cimetidin) [19, 66].

Bei der statistischen Auswertung fand der „Differenzen t-Test zur objektiven Beurteilung von Mittelwerten aus zusammengehörenden Datenpaaren“ Anwendung [18, 19].

2.4.2 Beurteilung der Signifikanz

Es galt die Frage zu beantworten, ob ein signifikanter Unterschied in den Messwerten der beiden Behandlungsgruppen im Sinne einer Herabsetzung der Nitratwirkung nach Vorbehandlung mit Cimetidin festzustellen ist (einseitige Fragestellung).

Bei 11 Freiheitsgraden ($f = n - 1$; $n = 12$) ergaben sich aus der Tabelle für t-Werte: $t(95) = 2,20$; $t(99) = 3,11$; $t(99,9) = 4,44$ [19]. Als (schwach) signifikant betrachtet wurden Irrtumswahrscheinlichkeiten von $\alpha = 0,05$ oder weniger (Vertrauensbereich: 95%).

3 Ergebnisse

Die Studie wurde von allen 12 Probanden komplikationslos durchlaufen. Keiner der Probanden berichtete über medikamentenbedingte Nebenwirkungen während der Behandlungsphasen oder bei den Messungen.

3.1 Sonografische Messung des Pfortaderdurchmessers

Die Ausgangswerte der Pfortaderdurchmesser zeigten recht deutliche interindividuelle Unterschiede: Sie lagen in der Placebogruppe zwischen 7,4 mm und 12,3 mm (im Mittel $9,6 \text{ mm} \pm 1,5 \text{ mm}$, Tabelle 1), in der Cimetidingruppe zwischen 7,5 mm und 13,8 mm (im Mittel $10,2 \pm 2,3 \text{ mm}$, Tabelle 2). Die intraindividuellen Unterschiede bei Vergleich beider Behandlungsphasen jedes einzelnen Probanden waren gering, sie betragen im Mittel 1,1 mm.

Aus Anschaulichkeits- und Vergleichbarkeitsgründen wurden die Ausgangswerte als 100% zugrunde gelegt, Änderungen des Gefäßdurchmessers ebenfalls in Prozent (in Bezug auf den Ausgangswert) angegeben (Tabellen 3 und 4).

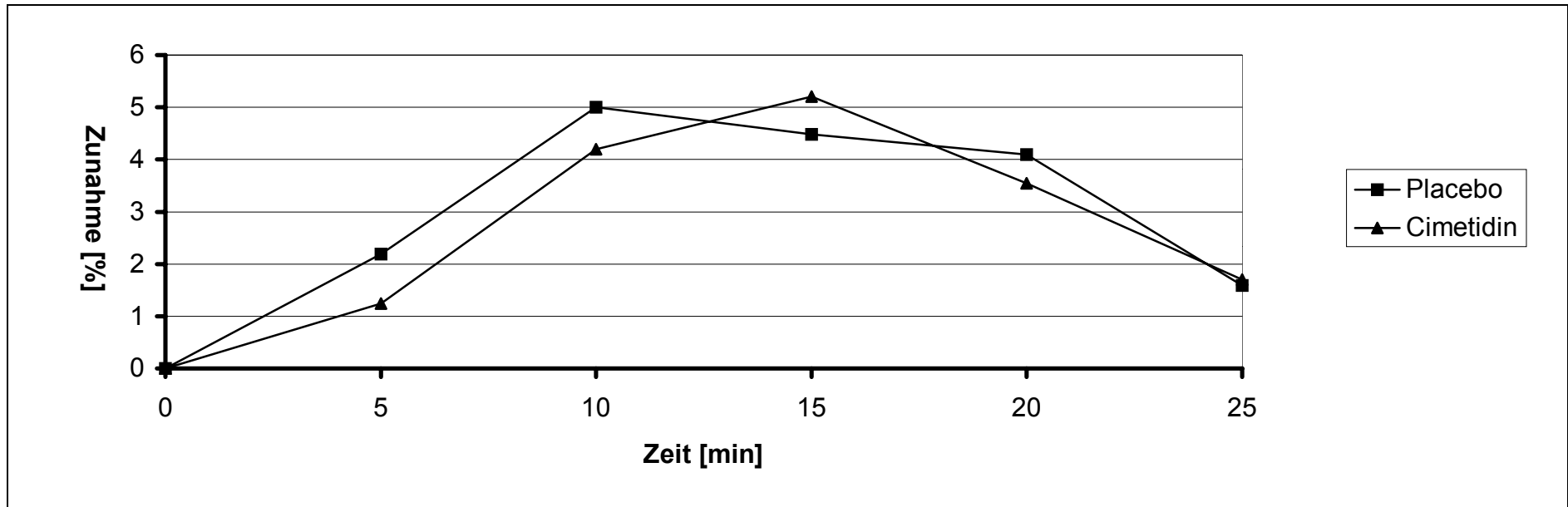
Fünf Minuten nach GTN-Applikation zeigte sich im Mittel eine Zunahme des Gefäßdurchmessers in der Placebogruppe um $2,19\% \pm 2,34\%$ (Tabelle 3), in der Cimetidingruppe um $1,24\% \pm 1,97\%$ (Tabelle 4). Die maximale nitratinduzierte Gefäßerweiterung wurde nach zehn Minuten (Placebovorbehandlung: $5,0\% \pm 2,58\%$,) bzw. nach 15 Minuten (Cimetidinvorbehandlung: $5,21\% \pm 4,2\%$) erreicht (Grafik 1). Nach 25 Minuten bestand immer noch eine durchschnittliche Gefäßerweiterung von $1,59\% \pm 2,24\%$ (Placebogruppe) bzw. $1,70\% \pm 3,76\%$ (Cimetidingruppe).

Sowohl unter Placebo- wie auch unter Cimetidinvorbehandlung erreichten am Ende der Untersuchungen bei drei Probanden die gemessenen Pfortaderdurchmesser wieder ihren ursprünglichen Wert (vor GTN-Gabe), bei einem bzw. zwei Probanden (Placebo- bzw. Cimetidingruppe) wurde dieser sogar unterschritten.

Bei der Hälfte der Probanden konnte eine maximale nitratinduzierte Pfortadererweiterung nach Placebovorbehandlung, bei der anderen Hälfte nach Prämedikation mit Cimetidin beobachtet werden (Grafik 2).

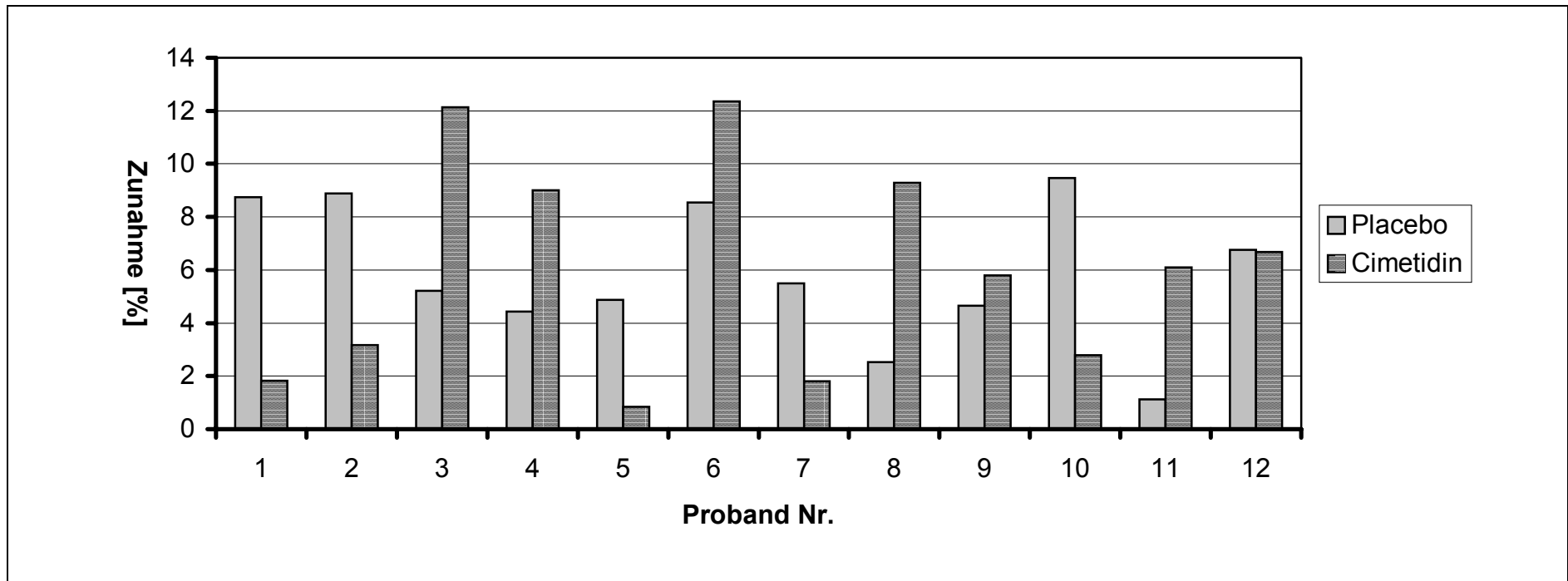
3.1.1 Statistische Bewertung

Während des gesamten Zeitraums ergaben sich keine signifikanten Differenzen zwischen beiden Behandlungsphasen. Die beobachteten Unterschiede sind auf zufällige Streuung zurückzuführen.



Zeit [min]	vorher	5	10	15	20	25
Mittelwerte (Placebo) [%]	0	2,19	5,00	4,48	4,09	1,59
Mittelwerte (Cimetidin) [%]	0	1,24	4,20	5,21	3,55	1,70

Grafik 1: Mittlere Zunahme des Durchmessers der Vena portae im Vergleich Placebo – Cimetidin während des Beobachtungszeitraumes von 25 Minuten nach Nitratapplikation (in Prozent, bezogen auf den Ausgangswert). Zugrunde liegende Messwerte in Tabelle 3 und 4.



Proband Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Maximalwerte (Placebo) [%]	8,74	8,89	5,22	4,44	4,88	8,54	5,49	2,52	4,65	9,47	1,12	6,76
Maximalwerte (Cimetidin) [%]	1,83	3,16	12,14	9,00	0,85	12,35	1,80	9,28	5,80	2,78	6,10	6,67

Grafik 2: Maximale nitratinduzierte Gefäßerweiterung der Vena portae im Vergleich Placebo — Cimetidin in Prozent, bezogen auf den Ausgangswert. Betrachtung der einzelnen Probanden. Zugrunde liegende Messwerte in Tabelle 3 und 4.

3.2 Fingerpulsplethysmografie

Zur Auswertung der Fingerpulskurven wurde aus fünf hintereinander vermessenen Pulsationen ein Mittelwert gebildet.

Die mittleren Ausgangswerte der a/b-Quotienten lagen in beiden Behandlungsphasen recht nahe beieinander: Placebogruppe $1,69 \pm 0,45$, Cimetidingruppe $1,51 \pm 0,25$.

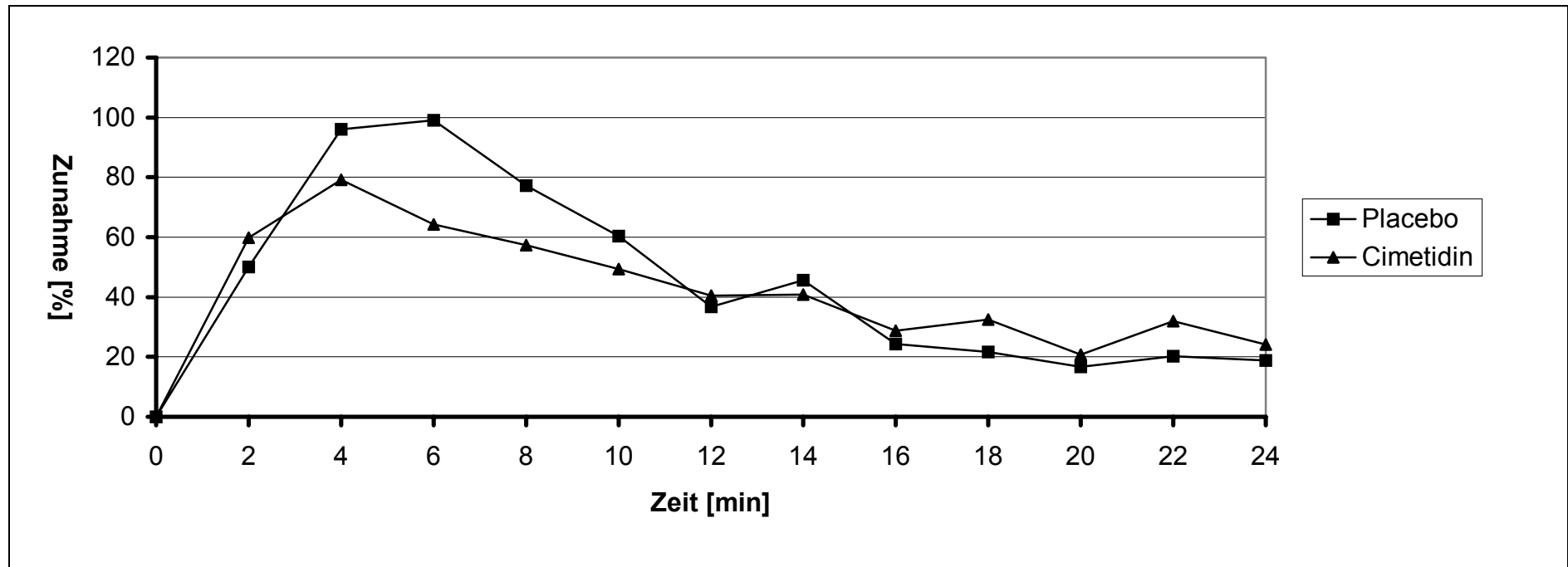
Im Ausmaß der maximalen Zunahme des Quotienten waren hingegen große interindividuelle Unterschiede zu beobachten. Die geringste Reaktion war in der Placebogruppe eine Zunahme von 43,4%, die größte Zunahme betrug 292,8%; in der Cimetidingruppe betrug die kleinste Zunahme 43,1%, die größte 189,1%. Diese deutlichen Unterschiede finden im Ausmaß der Standardabweichung ihren Ausdruck (Tabellen 5 und 6). Ausgeprägte interindividuelle Unterschiede dieser Art sind bereits in vorausgegangenen Studien beschrieben worden [16, 68].

Hinsichtlich des Zeitpunkts der maximalen Änderungen der Fingerpulskurven lassen sich keine deutlichen Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen feststellen. In den ersten acht Minuten zeigten sich die stärksten Reaktionen. Nach zwei Minuten verzeichneten beide Gruppen schon einen deutlichen Anstieg des Quotienten (Placebogruppe: $+ 50,0\% \pm 30,9\%$, Cimetidingruppe: $+ 59,8\% \pm 37,4\%$), die Maxima waren im Mittel nach vier bzw. sechs Minuten (Cimetidin vor Placebo) erreicht: Placebogruppe: $+ 99,0\% \pm 53,8\%$, Cimetidingruppe: $+ 79,2\% \pm 44,7\%$.

Bei der Betrachtung der Grafik 3 fällt auf, dass sich die beiden Kurven im Bereich von der zweiten bis zehnten Minute tendenziell — statistisch jedoch nur schwach signifikant (s.u.) — voneinander unterscheiden. Bei neun der zwölf Probanden konnte unter Placebovorbehandlung eine stärkere maximale Zunahme der a/b-Quotienten im Vergleich beider Behandlungsphasen beobachtet werden (Grafik 4). Nach Ablauf der zehnten Minute nach GTN-Gabe ist kaum noch zwischen beiden Gruppen zu differenzieren. 24 Minuten nach GTN-Gabe unterschritten in der Placebogruppe drei Probanden ihren Ausgangswert, in der Cimetidingruppe zwei. Die überwiegende Mehrheit der gemessenen a/b-Quotienten befand sich noch nicht wieder auf dem Anfangsniveau (Placebo: $+ 18,9\% \pm 27,4\%$, Cimetidin: $+ 24,1\% \pm 25,9\%$).

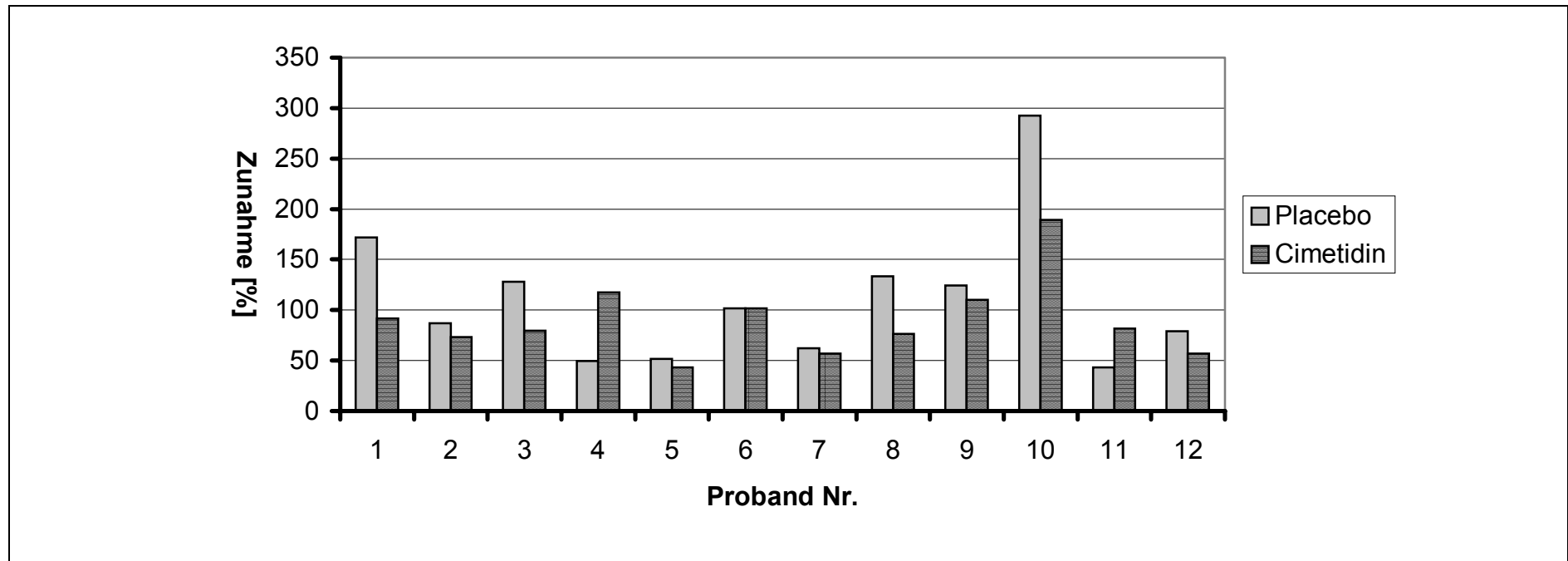
3.2.1 Statistische Bewertung

Insgesamt zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Einzige Ausnahmen stellten die 6-Minuten-Werte des a/b-Quotienten dar: Bei einem Mittelwert von 98,98 (Placebo) bzw. 64,14 (Cimetidin) errechnete sich ein TAU-Wert von $\tau = 2,61$ und damit ein schwach signifikanter Unterschied.



Zeit [Min]	vorher	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Mittelwerte (Placebo) [%]	0	50,0	96,0	99,0	77,2	60,3	36,8	45,6	24,3	21,6	16,6	20,3	18,9
Mittelwerte (Cimetidin) [%]	0	59,8	79,2	64,2	57,4	49,3	40,5	40,8	28,8	32,5	20,7	32,0	24,1

Grafik 3: Mittlere Zunahme des a/b-Quotienten im Vergleich Placebo – Cimetidin während des Beobachtungszeitraumes von 24 Minuten nach Nitratapplikation (in Prozent, bezogen auf den Ausgangswert). Zugrunde liegende Messwerte in Tabelle 5 und 6.



Proband Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Maximalwerte (Placebo) [%]	172,0	86,8	127,9	49,4	51,5	101,6	62,2	133,6	124,3	292,8	43,4	78,9
Maximalwerte (Cimetidin) [%]	91,7	73,3	79,6	117,3	43,1	101,7	56,9	76,4	110,4	189,1	81,5	56,8

Grafik 4: Maximale nitratinduzierte Zunahme der a/b-Quotienten im Vergleich Placebo – Cimetidin in Prozent, bezogen auf den Ausgangswert. Betrachtung der einzelnen Probanden. Zugrunde liegende Messwerte in Tabelle 5 und 6

3.3 Blutdruck

Nach einer Ruhephase von 15 Minuten wurden vor Verabreichung von GTN die Ausgangswerte des Blutdrucks am liegenden Probanden gemessen.

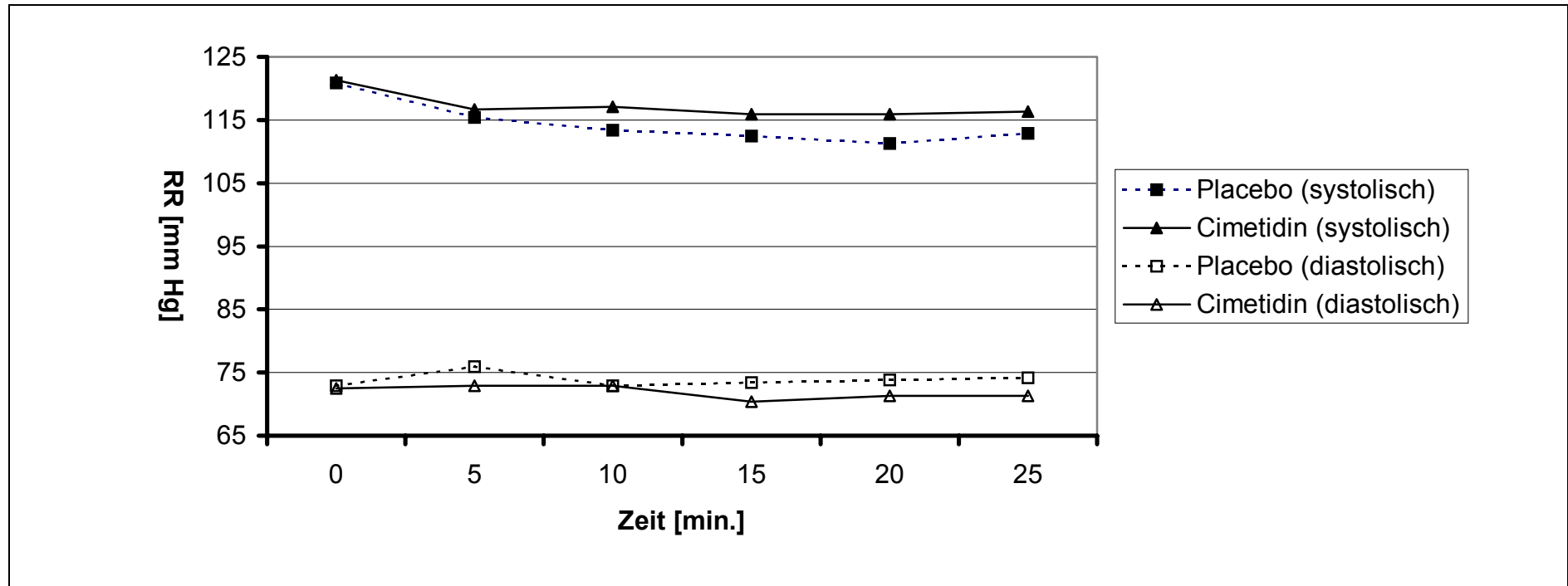
Es fanden sich im Mittel nur geringe Unterschiede zwischen den Probanden: Placebo: $121 \pm 7 / 73 \pm 8$ mm Hg, Cimetidin: $121 \pm 10 / 73 \pm 9$ mm Hg.

Nach GTN-Gabe fielen die systolischen Werte innerhalb der ersten fünf Minuten geringfügig ab (Placebo: - 5,5 mm Hg, Cimetidin: - 4,6 mm Hg). Im weiteren Verlauf der Untersuchung war in der Placebogruppe nur noch ein minimaler Rückgang der systolischen Blutdruckwerte zu verzeichnen, die 25-Minuten-Werte lagen bereits wieder etwas über den 20-Minuten-Werten. In der Cimetidingruppe konnte ab der fünften Minute keine gerichtete Veränderung der systolischen Blutdruckwerte mehr beobachtet werden.

Die diastolischen Werte zeigten in beiden Gruppen keine gerichtete Veränderung (Tabellen 7 und 8, sowie Grafik 5).

3.3.1 Statistische Bewertung

Insgesamt waren keine signifikanten Unterschiede zu beobachten. Allerdings errechnete sich für die 15-Minuten-Werte des diastolischen Blutdrucks bei Mittelwerten von 73,3 mm Hg (Placebo) und 70,4 mm Hg (Cimetidin) ein TAU-Wert von $\tau = 3,02$ und damit eine schwache Signifikanz, jedoch in der „falschen“, d.h. den Erwartungen entgegengesetzten Richtung: der Blutdruck hätte — wenn überhaupt — nach Placebovorbehandlung stärker abfallen müssen als unter Cimetidin.



Zeit [min]	vorher	5	10	15	20	25
Mittelwerte (Placebo) [mm Hg]	120,9 / 72,9	115,4 / 75,9	113,4 / 72,9	112,5 / 73,4	111,3 / 73,8	112,9 / 74,2
Mittelwerte (Cimetidin) [mm Hg]	121,3 / 72,5	116,7 / 72,9	117,1 / 72,9	115,9 / 70,4	115,9 / 71,3	116,3 / 71,3

Grafik 5: Mittlere Blutdruckwerte im Vergleich Placebo – Cimetidin während des Beobachtungszeitraumes von 25 Minuten nach Nitratapplikation. Zugrunde liegende Messwerte in Tabelle 7 und 8.

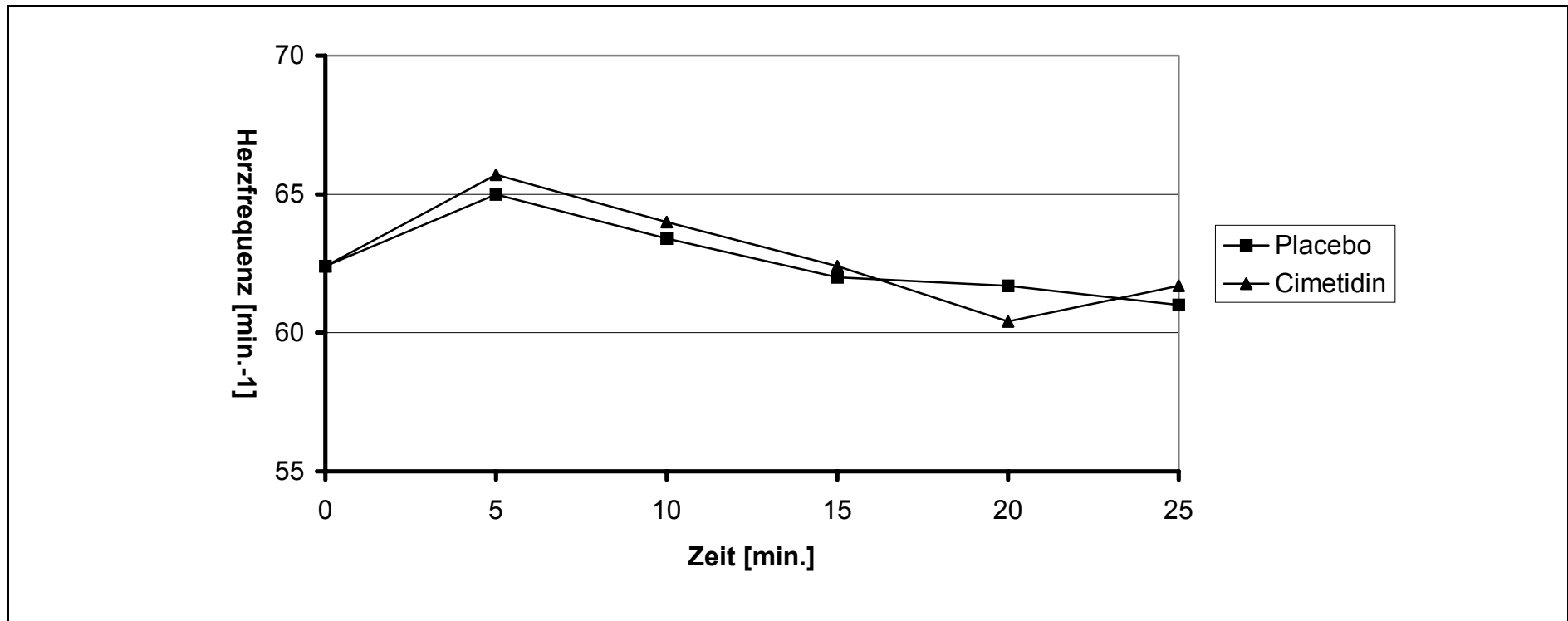
3.4 Herzfrequenz

Nach Ablauf von 15 Minuten Ruhepause wurden die Ausgangswerte der Herzfrequenz gemessen. Auch hier wurden nur geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Probanden dokumentiert: Placebo: $62,4 \pm 0,1$ Schläge/min, Cimetidin: $62,4 \pm 0,6$ Schläge/min.

In den ersten fünf Minuten zeigte sich analog zum geringfügigen Blutdruckabfall eine leichte Herzfrequenzsteigerung (Placebo: $65,0 \pm 5,7$ Schläge/min, Cimetidin: $65,7 \pm 5,0$ Schläge/min), die aber nach weiteren fünf Minuten wieder rückläufig war. Nach 25 Minuten befanden sich die Messwerte in beiden Gruppen leicht unterhalb des Anfangsniveaus (Placebo: $61,0 \pm 5,7$ Schläge/min, Cimetidin: $61,7 \pm 6,3$ Schläge/min) (Tabellen 9 und 10, sowie Grafik 6).

3.4.1 Statistische Bewertung

Es zeigten sich während des gesamten Zeitraums keine signifikanten Differenzen zwischen beiden Behandlungsgruppen.



Zeit [min]	vorher	5	10	15	20	25
Mittelwerte (Placebo) [min. ⁻¹]	62,4	65,0	63,4	62,0	61,7	61,0
Mittelwerte (Cimetidin) [min. ⁻¹]	62,4	65,7	64,0	62,4	60,4	61,7

Grafik 6: Mittlere Herzfrequenzen im Vergleich Placebo – Cimetidin während des Beobachtungszeitraumes von 25 Minuten nach Nitratapplikation. Zugrunde liegende Messwerte in Tabelle 9 und 10.

4 Diskussion

In der durchgeführten Untersuchung sollte der Einblick in die noch nicht vollständig bekannte Biotransformation organischer Nitrate vertieft werden. Es wurden zum Nachweis durch Verabreichung von GTN ausgelöster vaskulärer Effekte vier verschiedene nichtinvasive Untersuchungsmethoden ausgewählt.

4.1 Sonografische Messung des Pfortaderdurchmessers

Die Sonografie bietet sich als zuverlässiges Untersuchungsverfahren zur Beurteilung von Anatomie und funktionellem Status kleiner abdomineller Hohlsysteme an [64]. In vorausgegangenen Studien konnte eine positive Korrelation zwischen sonografisch gemessenem Durchmesser der Vena cava inferior und der Pfortader mit dem Druck im rechten Vorhof demonstriert werden [64].

Repräsentativ für den venösen Schenkel im Splanchnikusgebiet wurde die Vena portae im Längsschnitt aufgesucht. Dort konnte direkt der vasodilatierende Effekt auf die glattmuskulären Gefäßabschnitte beobachtet werden, welcher sowohl nach Cimetidin- als auch nach Placeboprämedikation durch sublinguale Gabe von 1,6 mg GTN ausgelöst wurde.

Zahlreiche kontrollierte Studien zeigten eine signifikante Zunahme des Gefäßdurchmessers abdomineller Venen nach Nitratgabe als Hinweis darauf, dass die Venen im Splanchnikusgebiet maßgeblich am venösen Poolingeffekt beteiligt sind [49, 64].

Die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse unter konstanten Bedingungen bei wiederholten Messungen wird als gut bezeichnet, so dass vergleichende Messungen möglich sind (52).

Das Ausmaß der Gefäßrelaxation ist im venösen und arteriellen Stromgebiet unterschiedlich: Die Erweiterung venöser Kapazitätsgefäße erreicht bereits bei niedrigen Nitrat-Plasmaspiegeln (0,2 ng/ml) ihr Maximum, während eine arterielle Widerstandsabnahme erst bei wesentlich höheren Dosierungen zu verzeichnen ist [23]. Venöse Gefäße sind offenbar wesentlich empfindlicher gegenüber der GTN-Wirkung als Arterien. Besonders die Pfortader zeigte in vorangegangenen Studien ausgeprägte

Veränderungen von bis zu 23% Durchmesserzunahme nach akuter Nitratgabe bei männlichen Koronarpatienten [49].

Eine mögliche Erklärung für die unterschiedliche Ansprechbarkeit von Arterien und Venen auf organische Nitrate liefern Beobachtungen, dass der Sauerstoffgehalt des untersuchten Mediums deutlichen Einfluss auf die GTN-Biotransformation nimmt. Unter hypoxischen Bedingungen war eine zweifach gesteigerte NO-Produktion an Aortenstreifen [7] oder Lebermikrosomen [11] der Ratte zu verzeichnen. Der Zusatz reinen Sauerstoffs zum Untersuchungsmedium unterdrückte die GTN-Biotransformation vollständig [34, 35]. Oxyhämoglobin war in der Lage die NO-induzierte Relaxation von Kaninchen-Aortenstreifen signifikant zu hemmen [12].

Weitere Erklärungsmöglichkeiten ergeben sich durch die Beobachtung, dass der Gehalt an Cytochrom P-450 in aortalem Gewebe sehr niedrig ist (100-fach geringer als in hepatischen Mikrosomen) [34].

In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich in beiden Gruppen eine maximale Zunahme des Pfortaderdurchmessers von nur etwa 5%. Die im Vergleich zu der oben beschriebenen Studie geringe Vasodilatation geht möglicherweise auf eine kürzere Nahrungskarenz (vier statt acht Stunden) und infolgedessen eine noch anhaltende postprandiale Weitstellung der Gefäße im Splanchnikusgebiet zurück. Andererseits wurde die vorliegende Untersuchungen an jungen gesunden Probanden und nicht an älteren Koronarpatienten durchgeführt, das Kollektiv der Versuchspersonen beider Studien ist somit nicht vergleichbar.

Die vor GTN-Applikation dokumentierten intraindividuellen Unterschiede des Pfortaderdurchmessers an den beiden Untersuchungstagen lassen sich am ehesten mit einem unterschiedlichen Vagotonus erklären.

Es ergaben sich für beide Behandlungsgruppen fast identische Kurven für die Durchmesserzunahme der Pfortader. Der Kurvenverlauf zeichnet sich durch einen Anstieg bis zehn Minuten (Placebo) beziehungsweise fünfzehn Minuten (Cimetidin) aus mit anschließendem flachen Abfall. Dies stellt im Vergleich zu den unten beschriebenen Veränderungen des a/b-Quotienten eine eher „träge“ Reaktion dar.

4.2 Fingerpulsplethysmografie

Die Fingerpulsplethysmografie ist ein technisch einfaches, nichtinvasives, empfindliches Messverfahren zur Beobachtung von Nitraterffekten auf periphere Arterien. Erste Pulsschreiber wurden bereits vor etwa 150 Jahren entwickelt.

In der Peripherie (bevorzugt Fingerbeere und Ohrläppchen [28]) angebrachte Pulsabnehmer registrieren eine Volumenpulskurve, die weitgehend plethysmografisch ermittelten Kurven entsprechen. Auch quantitative Untersuchungen wurden durchgeführt, in denen eine klare Abhängigkeit der Abnahme des peripher-arteriellen Gefäßwiderstands von der Plasmakonzentration organischer Nitrate anhand von Veränderungen der Fingerpulskurve gezeigt werden konnte [23]. Ebenso erwies sich die Fingerpulsplethysmografie als hilfreiche Meßmethode zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit vasoaktiver Substanzen [17].

In der vorliegenden Untersuchung fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der mit Cimetidin vorbehandelten Gruppe und der Placebokontrollgruppe bezüglich des mit der Fingerpulskurve analysierten Nitraterffekts auf den untersuchten peripheren arteriellen Gefäßabschnitt.

Geringfügige Differenzen im Kurvenverlauf zugunsten der Placebogruppe zeichneten sich im Zeitintervall zwischen zwei und zehn Minuten ab, diese sind jedoch nicht statistisch signifikant. Danach fand sich ein fast identischer Verlauf der Fingerpulskurven.

Die grafische Darstellung der jeweils fünf ausgewerteten a/b-Quotienten zeigte einen charakteristischen Kurvenverlauf für beide Untersuchungsgruppen, welcher auffällig der Pharmakokinetik organischer Nitrate gleicht: Dieser Kurvenverlauf mit steilem Anstieg innerhalb von vier bis sechs Minuten und flachem Abfall im weiteren Verlauf entspricht weitgehend der grafischen Darstellung von GTN-Plasmakonzentrationen in früheren Untersuchungen nach sublingualer GTN-Applikation [42]. Die fingerpulsplethysmografisch dokumentierten biologischen Effekte spiegeln offenbar gut die Pharmakokinetik vasoaktiver Substanzen wider [17].

4.3 Blutdruck

Die Aufzeichnung der hämodynamischen Parameter zeigte ebenfalls nahezu identische Reaktionen auf Nitratapplikation in beiden Behandlungsgruppen.

Bei der Betrachtung der Blutdruckkurven (Grafik 5) ist zu bemerken, dass es in beiden Gruppen innerhalb der ersten fünf Minuten nach Nitratgabe zu einer Reduktion des systolischen Blutdruckwertes durch Nachlastsenkung um durchschnittlich 5 mm Hg kam und danach während des weiteren Beobachtungszeitraums recht konstante Blutdruckverhältnisse herrschten: Es zeigten sich in den folgenden 20 Minuten nur noch unbedeutende Schwankungen von maximal 4,1 mm Hg systolisch und 3,0 mm Hg diastolisch. Leistungsfähige gegenregulatorische Mechanismen des gesunden Menschen wie kompensatorischer Herzfrequenzanstieg sind offenbar für die weitgehende Konstanthaltung des Blutdrucks im Liegen auch unter Einwirkung vasoaktiver Pharmaka verantwortlich.

4.4 Pulsfrequenz

Die Pulsfrequenzkurven beider Behandlungsgruppen zeigten eine Herzfrequenzsteigerung innerhalb der ersten fünf Minuten nach Nitratapplikation. Im Vergleich der Placebo- mit der Verumgruppe fand sich ein fast identischer Kurvenverlauf. Eine differente Reaktion nach Nitratapplikation lässt sich anhand der vorliegenden Daten nicht dokumentieren.

Deutlich erkennbar ist ein Maximum in beiden Gruppen nach fünf Minuten. Hier stimmen alle Grafiken der vorliegenden Untersuchung überein, es besteht eine enge Korrelation zur Plasmakonzentration von GTN [42]. Auch die Erfahrungen des klinischen Alltags werden bestätigt: GTN erreicht sein Wirkungsmaximum nach etwa drei bis fünf Minuten.

4.5 Gesamtbetrachtung

Die Hypothese einer maßgeblichen Beteiligung eines durch Cimetidin hemmbaren Cytochrom P-450 an der Bioaktivierung von Glyceroltrinitrat, welche zahlreiche vorausgegangene Laborstudien an verschiedenen Zellpräparaten nahe legten, konnte in den eigenen Beobachtungen an gesunden Probanden nicht bestätigt werden.

Besonders die Untersuchungen an Lebermikrosomen [56] und Lungenfibroblasten [55] der Ratte sowie LLC-PK₁ Nierenepithelzellen [54] von Schweinen zeigten, dass die Denitrierung von GTN durch die Cytochrom P-450-Inhibitoren Kohlenmonoxid, Metyrapon und Miconazol signifikant herabgesetzt werden kann [56]. Ebenso konnte

eine verminderte GTN-induzierte cGMP-Stimulation an Lungenfibroblasten der Ratte (RFL 6 cells) [55] und LLC-PK₁ Nierenepithelien vom Schwein [54] durch Zusatz der Cytochrom P-450 Inhibitoren Proadifen [55] bzw. Cimetidin [54] beobachtet werden. Nach Präinkubation mit Methylcholantren, einer Substanz, welche die Aktivität von Cytochrom P-450 zu steigern vermag, verzeichnete man eine signifikante Zunahme der cGMP-Konzentration [54].

Diese Ergebnisse legen eine Cytochrom P-450 vermittelte Bioaktivierung von GTN nahe.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse, welche an gesunden Probanden gewonnen wurden, können diese Annahme nicht unterstützen.

Cytochrom P-450 stellt ein Enzymsystem dar, welches sich aus zahlreichen Isoenzymen zusammensetzt [6, 10, 31, 34, 35]. Möglicherweise sind differente Isoenzyme für die konträren Beobachtungen verantwortlich. Hepatisches Cytochrom P-450 unterscheidet sich offenbar funktionell von vaskulärem. Eine Studie zeigte *in vitro*, dass aortale Mikrosomen 200-fach schwächer in der Lage waren, GTN zu denitrieren als hepatische Mikrosomen. Dies kann als Hinweis darauf gelten, dass die Reaktion von Gefäßendothelien auf GTN nur ungenügend vergleichbar ist mit Leberzellen, Nierenepithelien oder Lungenfibroblasten [7]. An bovinen Aortenendothelzellen und bovinen aortalen glatten Muskelzellen konnte nach Applikation von GTN eine Denitrierung, jedoch keine Aktivierung der Guanylatzyklase und cGMP-Akkumulation beobachtet werden. Auch Natriumnitroprussid war dazu nicht in der Lage [4]. Eventuell ist vaskuläres Cytochrom P-450 nicht in die Bioaktivierung von GTN involviert [7]. Eine mangelnde Aktivierbarkeit der aortalen Guanylatzyklase kommt ebenfalls in Betracht [4]. Mehrere Studien halten die Rolle von Cytochrom P-450 bei der Bioaktivierung von GTN für fraglich [4, 16, 31].

Die hohe Sensibilität der venösen Gefäße gegenüber GTN könnte in Verbindung mit einer unvollständigen Inaktivierung des Cytochrom P-450 durch Cimetidin eine Ursache für die geringe Differenz zwischen beiden Behandlungsgruppen in der vorliegenden Untersuchung sein. Es wurden Hinweise gefunden, dass nur bestimmte Isoenzyme von Cytochrom P-450 eine GTN-induzierte Aktivierung der Guanylatzyklase katalysieren [10, 35, 36]. Seit diese Isoenzyme näher untersucht wurden, fanden sich auch vielfache Nachweise, dass die klassischen Inhibitoren des Cytochrom P-450-Systems wie SKF 525A, Metyrapon, Cimetidin oder Kohlenmonoxid

nicht in der Lage waren, eine vollständige Unterdrückung der GTN-Biotransformation oder GTN-induzierten Gefäßrelaxation herbeizuführen [6, 10, 31].

So gelang es in verschiedenen Laborversuchen nicht, eine Relaxation von isolierten Gefäßpräparaten durch klassische Cytochrom P-450-Inhibitoren wie SKF 525A oder Cimetidin zu hemmen [5].

Eine mangelnde Sensitivität von vaskulärem Cytochrom P-450 bezüglich Hemmbarkeit durch Cimetidin kommt als Ursache für diese Beobachtungen in Betracht [7].

Die „Regioselektivität“ der Denitrierung von GTN, das heißt, die Frage, ob neben Stickstoffoxid 1,2-Glyceroldinitrat (GDN) oder 1,3-GDN produziert wird, erlangt zunehmende Aufmerksamkeit. Es wurden Untersuchungsergebnisse veröffentlicht, die zeigten, dass nur die Denitrierung von GTN in der Position 3 mit dem Produkt 1,2-GDN mit einer Aktivierung der Guanylatzyklase und einer Relaxation der Gefäßzellpräparate einhergeht [4, 6]. Es gibt Hinweise, dass die 1,3-GDN-selektive Denitrierung durch Glutathion-S-Transferase vermittelt wird und die selektive 1,2-GDN-Produktion durch Cytochrom P-450 [6]. Die Cytochrom P-450 Isoformen CYP 3A1 und CYP 2C11 sind möglicherweise die Schlüsselenzyme, die eine Biotransformation von GTN zu 1,2-GDN und NO mit Aktivierung der Guanylatzyklase katalysieren [35].

Die selektive 1,2-GDN-Produktion wurde nur bei sehr geringen GTN-Konzentrationen im Untersuchungsmedium gefunden, bei höheren Konzentrationen verschwand diese Selektivität [4]. In einer pharmakokinetisch-pharmakodynamischen Untersuchung fand man nach systemischer Applikation von GTN eine arterio-venöse Differenz der GTN-Plasmakonzentrationen, im venösen Schenkel wurden geringere GTN-Konzentrationen gemessen als im arteriellen Stromgebiet [65]. Dieses Erkenntnis ist eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die vorwiegend venöse nitratinduzierte Gefäßrelaxation.

Für eine vollständige Blockierung von Cytochrom P-450 durch Cimetidin fand sich auch in der vorliegenden Untersuchung kein Anhalt. Eine Restaktivität des Enzyms beziehungsweise unblockierter Isoformen bewerkstelligen offenbar eine uneinträchtige Metabolisierung von GTN. Mit den gewählten Meßmethoden ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen dokumentieren.

Ergänzend sei noch erwähnt, dass durch hohe Dosen von H₂-Rezeptorantagonisten selbst ein gefäßrelaxierender Effekt beschrieben wurde [7]. Als Ursache hierfür kommen Untersuchungsergebnisse in Frage, die zeigten, dass chronische Gabe hoher Dosen Cimetidin sogar eine Induktion von Cytochrom P-450 bewirken [10]. Der Mechanismus ist unklar.

Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung an gesunden Probanden, einschließlich der Berücksichtigung hämodynamischer Parameter (Blutdruck, Herzfrequenz), erscheint eine maßgebliche Beteiligung eines durch Cimetidin hemmbaren Cytochrom P-450 an der Bioaktivierung von Glyceroltrinitrat wenig wahrscheinlich.

5 Zusammenfassung

Zahlreiche Hypothesen zur Bioaktivierung organischer Nitrate, welche nach etablierter Meinung als „Prodrug“ anzusehen sind, wurden in den letzten Jahren formuliert.

Nach Laboruntersuchungen an LLC-PK₁ Nierenepithelzellen von Schweinen deutete vieles auf eine Cytochrom P-450-vermittelte Metabolisierung zu Stickstoffmonoxid als aktives Spaltprodukt hin.

In der vorliegenden Studie wurden zwölf gesunde männliche Probanden im Alter zwischen 23 und 29 Jahren randomisiert zwei Gruppen zugeteilt, welche jeweils vier Tage mit täglich 800 mg Cimetidin Cytochrom P-450-Hemmstoff bzw. mit Placebo behandelt wurden. Die Untersuchungen fanden im Einfachblindverfahren statt, es handelt sich um einen Parallelgruppenvergleich mit intraindividuellem Crossover. Zwischen beiden Behandlungsphasen wurde eine siebentägige Auswaschphase festgelegt.

Es sollte anschließend untersucht werden, ob die gefäßdilatorische Wirkung nach sublingualer Applikation von 1,6 mg Glyceroltrinitrat in der Cimetidingruppe abgeschwächt nachweisbar ist. Zu diesem Zweck wurden am vierten Tag beider Behandlungsphasen verschiedene hämodynamische Parameter vor und während eines Zeitraums von 25 Minuten nach Verabreichung von 1,6 mg GTN bestimmt: Es wurde sonografisch der Durchmesser der Vena portae, fingerpulsplethysmografisch der a/b-Quotient, der Blutdruck nach Riva-Rocci und palpatorisch die Pulsfrequenz ermittelt und dokumentiert.

Cimetidin hatte in dieser Untersuchung keinen Einfluss auf die vaskuläre Wirkung von Glyceroltrinitrat.

Die ermittelte prozentuale Zunahme des Durchmessers der Pfortader betrug $+5,0\% \pm 2,58\%$ (Placebo) bzw. $+5,21\% \pm 4,2\%$ (Cimetidin). Bei der Analyse der a/b-Quotienten beobachteten wir bei beiden Gruppen eine deutliche Steigerung gegenüber den Ausgangswerten: Placebo: $+99,0\% \pm 53,8\%$, Cimetidin: $+79,2\% \pm 44,7\%$. Die hämodynamischen Parameter Blutdruck und Herzfrequenz zeigten im Vergleich beider Behandlungsphasen einen nahezu identischen Kurvenverlauf mit nur gerin-

gem initialen Blutdruckabfall und Herzfrequenzsteigerung innerhalb der ersten fünf Minuten.

Bezüglich aller erhobenen Parameter war zwischen beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied erkennbar.

Die Hypothese einer durch Cimetidin hemmbaren, Cytochrom P-450 abhängigen Metabolisierung von Glyceroltrinitrat kann mit den gewählten Meßmethoden an gesunden Probanden nicht unterstützt werden.

6 Summary

Numerous hypotheses of the bioactivation of organic nitrates, generally considered to be "prodrugs", have come up during the last years.

Studies of porcine LLC-PK1 nephritic epithelial cells have indicated a cytochrome P-450 induced metabolism to nitrous oxide as an active decay product.

In this study twelve healthy male probands, aged between 23 and 29, were randomly divided into two groups, each treated with 800 mg cimetidine per day as a cytochrome P-450 inhibitor and with placebos, respectively, during a period of four days. The investigation was performed as a simple blind study, comparing parallel groups with intra-individual cross-over. Between two treatments a wash-out period of seven days was imposed on the probands.

Subsequently the probands treated with cimetidine were examined for a reduced effect in vessel dilatation after sublingual administration of 1.6 mg glyceryl trinitrate (GTN). Therefore, on the fourth day of both treatments the following hemodynamic quantities were determined prior to the administration of 1.6 mg GTN and during a period of 25 minutes following the administration: the diameter of the vena portae by sonography, the finger-pulse a/b ratio by plethysmography, the blood-pressure after Riva-Rocci, and the palpated pulse frequency were measured and documented.

In this study, cimetidine did not influence the vascular effect of glyceryl trinitrate.

The increase of the portal vein's diameter was determined to be $+5.0 \% \pm 2.58 \%$ (placebo), and $+5.2 \% \pm 4.2 \%$ (cimetidine), respectively. In the analysis of the a/b ratios, a clear increase was observed in both groups: $+99 \% \pm 54 \%$ (placebo), and $+79 \% \pm 45 \%$ (cimetidine). The hemodynamic quantities, blood-pressure and pulse frequency, showed an almost identical development in both treatments, with only a small blood-pressure decrease and pulse frequency increase within the first five minutes.

With regard to the measured quantities there was no significant difference perceptible between the two groups.

The hypothesis of a cytochrome P-450 dependent glyceryl trinitrate metabolism, which is able to be inhibited by cimetidine, cannot be supported with these methods of measurement chosen in case of healthy probands.

7 Messwertetabellen

Tabelle 1: Durchmesser der Vena Portae [mm] unter Placebo

Proband Nummer	Zeit [min]					
	vorher	5	10	15	20	25
1	10,30	10,80	11,10	11,20	11,00	10,60
2	9,00	9,60	9,80	9,50	9,40	9,30
3	11,50	11,80	11,90	11,90	12,10	11,50
4	9,00	9,00	9,40	9,40	9,30	8,90
5	12,30	12,30	12,50	12,90	12,50	12,40
6	8,20	8,40	8,60	8,60	8,90	8,80
7	9,10	9,30	9,60	9,50	9,40	9,20
8	11,90	12,20	12,20	12,20	12,00	12,00
9	8,60	8,90	9,00	8,70	8,70	8,70
10	9,50	9,60	10,30	10,40	10,30	9,50
11	8,90	8,70	9,00	8,80	8,90	8,90
12	7,40	7,60	7,90	7,80	7,80	7,60

**Tabelle 2: Durchmesser der Vena Portae [mm] unter
Cimetidin**

Proband Nummer	Zeit [min]					
	vorher	5	10	15	20	25
1	10,90	10,90	11,10	11,00	10,80	10,90
2	9,50	9,50	9,80	9,80	9,10	9,10
3	14,00	14,80	15,70	15,70	14,00	14,00
4	10,00	10,10	10,40	10,50	10,90	10,20
5	11,80	11,80	11,80	11,70	11,90	11,80
6	8,10	8,40	9,00	9,10	9,00	8,90
7	11,10	11,10	11,30	11,30	11,30	11,30
8	9,70	9,90	10,20	10,60	10,30	9,80
9	13,80	13,80	14,30	14,60	14,60	14,20
10	7,20	7,10	7,20	7,40	7,30	7,40
11	8,20	8,40	8,60	8,70	8,60	8,00
12	7,50	7,60	7,70	7,80	8,00	8,00

Tabelle 3: Zunahme des Durchmessers der Vena Portae [%] unter Placebo

Anmerkung zu den Tabellen, die Messwerte in % enthalten: Der individuelle Ausgangswert eines jeden Probanden wird als 100% angenommen, das heißt, eine Änderung von 2 auf 3 zum Beispiel entspricht einer Zunahme um 50%. Diese Darstellung wurde gewählt, um die Messergebnisse anschaulicher und besser vergleichbar gegenüberzustellen.

Proband Nummer	Zeit [min]				
	5	10	15	20	25
1	4,85	7,77	8,74	6,80	2,91
2	6,67	8,89	5,56	4,44	3,33
3	2,61	3,48	3,48	5,22	0,00
4	0,00	4,44	4,44	3,33	-1,11
5	0,00	1,63	4,88	1,63	0,81
6	2,44	4,88	4,88	8,54	7,32
7	2,20	5,49	4,40	3,30	1,10
8	2,52	2,52	2,52	0,84	0,84
9	3,49	4,65	1,16	1,16	1,16
10	1,05	8,42	9,47	8,42	0,00
11	-2,25	1,12	-1,12	0,00	0,00
12	2,70	6,76	5,41	5,41	2,70
Mittelwerte	2,19	5,00	4,48	4,09	1,59
Standardabweichung	2,34	2,58	2,90	2,89	2,24

Tabelle 4: Zunahme des Durchmessers der Vena Portae [%] unter Cimetidin

Proband Nummer	Zeit [min]				
	5	10	15	20	25
1	0,00	1,83	0,92	-0,92	0,00
2	0,00	3,16	3,16	-4,21	-4,21
3	5,71	12,14	12,14	0,00	0,00
4	1,00	4,00	5,00	9,00	2,00
5	0,00	0,00	-0,85	0,85	0,00
6	3,70	11,11	12,35	11,11	9,88
7	0,00	1,80	1,80	1,80	1,80
8	2,06	5,15	9,28	6,19	1,03
9	0,00	3,62	5,80	5,80	2,90
10	-1,39	0,00	2,78	1,39	2,78
11	2,44	4,88	6,10	4,88	-2,44
12	1,33	2,67	4,00	6,67	6,67
Mittelwerte	1,24	4,20	5,21	3,55	1,70
Standard- abweichung	1,97	3,84	4,21	4,45	3,76

Tabelle 5: Zunahme des a/b-Quotienten [%] unter Placebo

Proband Nummer	Zeit [Min]											
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
1	44,8	121,6	172,0	142,7	77,6	51,3	5,2	-5,2	-10,8	-3,9	-9,1	-10,8
2	32,0	86,8	66,5	74,6	71,1	23,9	33,0	21,8	16,8	17,8	26,4	12,7
3	92,8	127,9	125,2	98,2	109,0	82,0	75,7	69,4	78,4	70,3	69,5	45,9
4	34,7	49,4	48,9	44,9	38,1	15,9	29,0	30,7	1,1	-9,7	5,7	-4,5
5	6,1	41,4	51,5	3,5	33,3	7,1	13,6	17,7	12,1	15,7	1,5	-16,2
6	53,7	101,6	98,4	40,7	68,3	40,7	163	17,1	15,4	4,9	16,3	19,5
7	23,3	40,9	58,0	62,2	39,4	43,0	24,4	17,6	8,8	-14,5	7,3	8,8
8	52,9	133,6	126,9	130,3	99,2	63,9	48,7	52,9	31,9	28,6	61,3	77,3
9	107,2	87,4	124,3	70,7	9,5	-1,8	44,1	-10,8	-12,2	14,9	1,4	5,4
10	87,1	292,8	207,2	145,3	110,8	73,4	68,4	57,6	78,4	52,5	29,5	51,8
11	22,7	32,0	30,0	43,4	1,0	3,9	-5,9	10,8	12,3	-1,0	3,9	12,8
12	43,1	36,7	78,9	69,7	66,1	38,5	47,7	11,9	27,5	23,1	30,3	23,9
Mittelwerte	50,0	96,0	99,0	77,2	60,3	36,8	45,6	24,3	21,6	16,6	20,3	18,9
Standard- abweichung	30,9	72,5	53,8	44,2	36,6	27,7	44,1	24,5	29,6	25,0	24,4	27,4

Tabelle 6: Zunahme des a/b-Quotienten [%] unter Cimetidin

Proband Nummer	Zeit [Min]											
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
1	91,7	67,5	67,5	61,7	-1,5	5,8	3,8	-21,8	-15,1	-17,0	-20,9	-20,4
2	17,0	64,4	41,5	73,3	35,6	26,7	31,2	18,5	36,3	29,6	21,5	16,3
3	34,4	58,6	79,6	54,1	50,9	25,5	42,0	17,2	38,9	38,2	35,7	19,7
4	68,4	115,1	95,7	117,3	65,5	58,3	80,6	56,1	37,4	37,4	63,3	43,9
5	32,2	28,7	33,4	43,1	41,9	17,2	21,3	29,3	1,7	1,2	6,3	16,7
6	49,6	101,7	60,7	33,4	30,8	25,6	13,7	7,7	5,9	-1,7	28,2	0,8
7	29,9	56,9	42,4	9,0	18,1	52,8	17,4	6,3	34,7	-2,1	35,4	45,1
8	58,4	76,4	41,6	16,8	53,4	32,9	20,5	35,4	41,6	21,7	39,1	-14,9
9	99,2	110,4	41,6	64,8	77,6	60,0	60,8	88,0	86,4	52,8	56,8	52,8
10	138,2	189,1	141,8	111,5	137,6	124,9	114,6	64,2	84,9	55,2	57,0	58,8
11	81,5	53,1	67,3	71,6	43,2	36,4	40,7	32,7	23,5	34,0	29,0	29,6
12	16,8	28,0	56,8	32,0	38,4	22,4	43,2	12,0	16,0	-0,8	32,8	40,8
Mittelwerte	59,8	79,2	64,2	57,4	49,3	40,7	40,8	28,8	32,7	20,7	32,0	24,1
Standard- abweichung	37,4	44,7	30,6	33,7	34,6	31,3	31,6	29,5	30,3	24,0	23,1	25,9

Tabelle 7: Veränderungen des Blutdrucks [mm Hg] unter Placebo

Proband Nummer	Zeit [min]					
	vorher	5	10	15	20	25
1	120/65	110/70	100/65	105/70	100/65	110/75
2	120/65	110/80	110/75	110/80	115/75	115/75
3	115/70	110/75	110/75	110/70	110/75	110/75
4	120/80	115/80	110/75	110/75	110/80	110/80
5	130/60	120/60	110/55	110/60	110/60	115/60
6	130/85	120/80	120/80	120/80	110/80	115/80
7	115/70	110/60	110/60	110/60	105/50	105/60
8	130/70	125/80	125/80	130/80	120/80	120/80
9	115/70	120/70	120/75	115/75	115/75	120/75
10	115/80	110/90	110/80	105/75	110/90	110/75
11	130/85	125/85	125/80	120/80	125/80	120/80
12	110/75	110/80	110/75	105/75	105/75	105/75
Mittelwerte	120,9/72,9	115,4/75,9	113,4/72,9	112,5/73,4	111,3/73,8	112,9/74,2
Standardabweichung	7,4/8,1	6,2/9,3	7,5/8,4	7,5/7,2	6,8/10,7	5,4/7,0

Tabelle 8: Veränderungen des Blutdrucks [mm Hg] unter Cimetidin

Proband Nummer	Zeit [min]					
	vorher	5	10	15	20	25
1	115/70	115/80	115/70	110/70	120/75	120/70
2	110/70	105/75	110/70	110/75	110/75	110/75
3	115/65	110/75	110/70	115/70	110/75	110/75
4	105/65	105/60	105/65	100/65	105/65	100/65
5	125/65	125/65	125/65	125/60	120/60	120/60
6	140/95	130/80	130/80	125/75	130/80	125/85
7	125/70	120/65	125/65	120/60	120/60	120/60
8	140/80	130/75	130/85	140/75	120/70	130/75
9	120/70	120/70	115/75	110/70	120/70	120/70
10	120/75	110/85	110/80	110/75	110/80	110/75
11	125/80	120/80	120/80	115/80	115/75	120/80
12	115/65	110/65	110/70	110/70	110/70	110/65
Mittelwerte	121,3/72,5	116,7/72,9	117,1/72,9	115,9/70,4	115,9/71,3	116,3/71,3
Standard- abweichung	10,7/8,9	8,9/7,8	8,6/6,9	10,4/6,2	7,0/6,8	8,3/7,7

Tabelle 9: Veränderungen der Herzfrequenz [min^{-1}] unter Placebo

Proband Nummer	Zeit [min]					
	vorher	5	10	15	20	25
1	60	64	60	60	56	56
2	68	72	72	68	68	68
3	60	64	60	60	64	60
4	52	52	52	48	52	52
5	68	64	64	60	60	64
6	56	60	60	56	56	56
7	60	64	64	64	60	60
8	60	68	64	60	60	60
9	76	72	76	76	72	72
10	60	72	72	68	68	64
11	72	64	60	64	64	64
12	56	64	60	60	60	56
Mittelwerte	62,4	65,0	63,7	62,0	61,7	61,0
Standard- abweichung	7,1	5,7	6,7	6,9	5,8	5,7

Tabelle 10: Veränderungen der Herzfrequenz [min^{-1}] unter Cimetidin

Proband Nummer	Zeit [min]					
	vorher	5	10	15	20	25
1	64	64	60	56	56	60
2	64	64	64	60	64	64
3	68	72	72	72	68	64
4	60	60	60	56	56	56
5	60	64	60	64	60	64
6	56	64	60	56	52	52
7	60	64	64	60	56	56
8	60	60	64	60	60	64
9	68	72	72	68	64	72
10	64	72	72	76	72	72
11	64	72	64	64	60	60
12	60	60	56	56	56	56
Mittelwerte	62,4	65,7	64,0	62,3	60,4	61,7
Standard-abweichung	3,6	5,0	5,4	6,7	5,8	6,3

8 Literaturverzeichnis

- 1 Abrams, J.: Interaction between organic nitrates and thiol groups. *Am J Med* 91 (Suppl. 3C),106S-112S, 1991
- 2 Arnold, W.P., Mittal, C.K., Katsuki, S., Murad, F.: Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3'-5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 3203-3207, 1977
- 3 Bast, A., Smid, K., Timmerman, H.: The effects of cimetidine, ranitidine and famotidine on rat hepatic microsomal cytochrome P-450 activities. *Agents and Actions*, 27 (1/2): 189-191, 1989
- 4 Bennett, B.M., Leitman, D.C., Schröder, H., Kawamoto, J.H., Nakatsu, K., Murad, F.: Relationship between biotransformation of glyceryl trinitrate and cyclic GMP accumulation in various cultured cell lines. *J Pharmacol Exp Ther* 250 (1): 316-323, 1989
- 5 Bennett, B.M., McDonald, B.J., Nigam, R., Long, P.G., Simon, W.C.: Inhibition of nitrovasodilator- and acetylcholin-induced relaxation and cyclic GMP accumulation by the cytochrome P-450 substrate, 7-ethoxyresorufin. *Can J Physiol Pharmacol* 70: 1297-1303, 1992
- 6 Bennett, B.M., McDonald, B.J., Nigam, R., Simon, W.C.: Biotransformation of organic nitrates and vascular smooth muscle function. *Trends Pharmacol Sci* 15: 245-249, 1994
- 7 Bennett, B.M., McDonald, B.J., St. James, M.J.: Hepatic Cytochrome P-450-mediated activation of rat aortic guanylyl cyclase by glyceryl trinitrate. *J Pharmacol Exp Ther* 261 (2): 716-722, 1992
- 8 Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie: Rote Liste 1999 Editio Cantor Verlag für Medizin und Naturwissenschaften, Aulendorf
- 9 Carlin, A.S., Simmons, J.E., Shiu, G.K., Sager, A.O., Prasad, V.K., Skelly, J.P.: Capillary gas chromatographic (GC) analysis of nitroglycerin and its denitration products in plasma. *Pharm Res* 5 (2): 99-102, 1988
- 10 Chang, T., Levine, M., Bandiera, S.M., Bellward, G.D.: Selective inhibition of rat hepatic microsomal cytochrome P-450. Effect of the in vivo administration of cimetidine. *J Pharmacol Exp Ther* 260 (3): 1441-1449, 1991
- 11 Delaforge, M., Piffeteau, A., Boucher, J., Viger, A.: Nitric oxide formation during the cytochrome P-450-dependent reductive metabolism of 18-nitro-oxyandrostenedione. *J Pharmacol Exp Ther* 274: 634-640, 1995
- 12 Feelisch, M., te Poel, M., Zamora, R., Deusen, A., Moncada, S.: Understanding the controversy over the identity of EDRF. *Nature* 368: 62-65, 1994

- 13 Fung, H.L., Chung, S.J., Bauer, J.A., Chong, S., Kowaluk, E.A.: Biochemical mechanism of organic nitrate action. *Am J Cardiol* 70: 4B-10B, 1992
- 14 Gruetter, C.A., Barry, B.K., McNamara, D.B., Gruetter, D.Y., Kadowitz, P.J., Ignarro, L.J.: Relaxation of bovine coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosamine. *J Cyclic Nucleotide Res* 5: 211-224, 1979
- 15 Gruetter, C.A., Lemke, S.M.: Dissociation of cystein and glutathion levels from nitroglycerin-induced relaxation. *Eur J Pharmacol* 111: 85-95, 1985
- 16 Haefeli, W.E. et al.: Gluthathione S-transferase μ -polymorphism does not explain variation in nitroglycerin response. *Clin Pharmacol Ther* 53: 463-468, 1993
- 17 Hannemann, R.E., Erb, R.J., Stoltman, W.P., Bronson, E.C., Williams, E.J., Long, R.A., Hull, J.H., Starbuck, R.R.: Digital plethysmography for assessing erythrityl tetranitrate bioavailability. *Clin Pharmacol Ther* 29 (1): 35-39, 1981
- 18 Hansten, P.D., Drug interactions with antisecretory agents. *Aliment Pharmacol Ther* 5 (Suppl. 1): 121-128, 1991.
- 19 Harms, V.: Biomathematik, Statistik und Dokumentation. 6. Aufl., Harms Verlag, Kiel, 1992
- 20 Hellige GmbH: Sphygmographie Apexkardiographie, 1976
- 21 Hoffmann, P.: Cimetidin - von der Idee zum Nobelpreis. In: *Gastro-Entero-Hepatology (Suppl. 3)*: 1-9, 1989
- 22 Ignarro, L.J., Gruetter, C.A.: Requirement of thiols for activation of coronary arterial guanylate cyclase by glyceryl trinitrate and sodium nitrite; Possible involvement of S-nitrosothiols. *Biochem Biophys Acta* 631: 221-231, 1980
- 23 Imhof, P.R., Ott, B., Frankhauser, P., Chu, L.-C., Hodler, J.: Difference in nitroglycerin dose-reponse in the venous and arterial beds. *Eur J Clin Pharmacol* 18: 455-460, 1980
- 24 Kaiser, R., Gottschalk, G.: Elementare Tests zur Beurteilung von Meßdaten. Soforthilfe für statistische Tests mit wenigen Meßdaten. *BI Hochschultaschenbücher* 774: 37-40
- 25 Kaiser, R.: Statistischer Soforthelfer für Chemiker, 2. Aufl.: 21-23, 1971
- 26 Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1994
- 27 Kenner, T., Ronninger, R.: Untersuchung über die Entstehung der normalen Pulsformen. *Arch Kreislaufforsch* 32: 141-173, 1960
- 28 Kresse, H.: Kompendium Elektromedizin: Grundlagen, Anwendungen. Siemens Aktiengesellschaft. 2. Aufl.: 73-75, 1978

-
- 29 Lalka, D., Griffith, R.K., Cronenberger, C.L.: The hepatic first-pass metabolism of problematic drugs. *J Clin Pharmacol* 33 (7): 657-669, 1993
 - 30 Leibold, E., Werringloer, J.: Metabolism of GTN: Suicide inhibition of the microsomal glutathion S-transferase. *Naunyn Schmiedeberger's Arch Pharmacol* 343, Suppl: R 69
 - 31 Liu, Z., Brien, J.F., Marks, G.S., McLaughlin, B.E., Nakatsu, K.: Lack of evidence for the involvement of cytochrome P-450 or other hemoproteins in metabolic activation of glyceryl trinitrat in rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 264 (3): 1432-1439, 1993
 - 32 Lund, F.: Digital pulse plethymography (DPG) in studies of the hemodynamic response to nitrates - A survey of recording methods and principles of analysis. *Acta Pharmacol Toxicol* 59 (Suppl. 6): 79-96, 1986
 - 33 Marks, G.S., Nakatsu, K., McLaughlin, B., Kawamoto, J., Slack, C., Brien, J.F.: The role of nitric oxide formation in organic nitrate-induced vasodilation and organic nitrate tolerance. *Z Kardiol* 78 (Suppl. 2): 18-21, 1989
 - 34 McDonald, B.J., Bennett, B.M.: Biotransformation of glyceryl trinitrate by rat aortic cytochrome P-450. *Biochem Pharmacol* 45 (1): 268-270, 1993
 - 35 McDonald, B.J., Monkewich, G.J., Long, P.G., Anderson, D.J., Thomas, P.E., Bennett, B.M.: Effect of dexamethasone treatment on the biotransformation of glyceryl trinitrate: cytochrome P-450 3A1 mediated activation of rat aortic guanylyl cyclase by glyceryl trinitrate. *Can J Physiol* 72: 1513-1520, 1994
 - 36 Müller, C.M. et al.: Nitric oxide mediates hepatic cytochrome P-450 dysfunction induced by endotoxin. *Anesthesiology* 84 (6): 1435-1442, 1996
 - 37 Mülsch, A., Busse, R., Bassenge, R.: Clinical tolerance to nitroglycerin is due to impaired biotransformation of nitroglycerin and biological counterregulation, not to desensitization of guanylat cyclase. *Z Kardiol* 78 (Suppl. 2): 22-25, 1989
 - 38 Müntefering, G: Einfluß von Cimetidin auf die Pharmakokinetik von Nitrazepam. Inauguraldissertation der Hohen Medizinischen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn, 1985
 - 39 Mutschler, E.: Arzneimittelwirkungen. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 7. Aufl, Wissenschaftliche Verlagsges. Stuttgart, 1996
 - 40 Noack, E., Feelisch, M.: Molecular mechanism of nitrovasodilator bioactivation. *Bas Res Cardiol* 86 (Suppl. 2): 37-50, 1991
 - 41 Noack, E., Feelisch, M.: Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus organischer Nitroverbindungen und zur Identität von EDRF. In: Nitrattherapie Standortbestimmung, Internationales Symposium Frankfurt am Main, 1988

-
- 42 Noonan, P. K., Benet, L.Z.: Variable glyceryl dinitrate formation as a function of route of nitroglycerin administration. *Clin Pharmacol Ther* 42: 273-277, 1987
 - 43 Rietbrock, N., Harder, S.: Behandlung der akuten und chronischen Herzinsuffizienz. In: Rietbrock, N., Staib, A.H., Loew, D.: *Klinische Pharmakologie*, Steinkopff Verl. Darmstadt: 15-29, 1990
 - 44 Rietbrock, N., Keller-Stanislawski, B.: Medikamentöse Therapie der koronaren Herzkrankheit. In: Rietbrock, N., Staib, A.H., Loew, D.: *Klinische Pharmakologie*, Steinkopff Verl. Darmstadt: 30-42, 1990
 - 45 Römpp Chemielexikon Bd. 2, 9. erw. und neubearb. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1990
 - 46 Rubanyi, G.M., Johns, A., Wilcox, D., Bates, F.N., Harrison, D.: Evidence that a S-Nitrosothiol, but not nitric oxide, may be identical with endothelium derived relaxing factor. *J Cardiovasc Pharmacol* 17 (Suppl. 3): 41-45, 1991
 - 47 Rüegg, J.C.: Muskel. In: Schmidt, R.F., Thews, G.: *Physiologie des Menschen*: 66-86, Springer Verlag, 1987
 - 48 Salvemini, D., Pistelli, A., Mollace, V., Änggard, E., Vanes, J.: The metabolism of glyceryltrinitrat to nitric oxide in the macrophage cell line J774 and its induction by Escherichia coli lipopolysaccharide. *Biochem Pharmacol* 44 (1): 17-24, 1992
 - 49 Schneider, W., Tessmer, G., Strohm, W.D., Kaltenbach, M., Kober, G.: Die Weite von arteriellen und venösen Abdominalgefäßen unter akuter und chronischer Gabe von Nitraten. Eine sonographische Untersuchung. *Z Kardiol* 75: 296-302, 1986
 - 50 Schröder, H., Leitman, D.C., Bennett, B.M., Waldman, S.A., Murad, F.: Glyceryl trinitrate-induced desensitization of guanylate cyclase in cultured rat lung fibroblasts. *J Pharmacol Exp Ther* 245 (2): 413-418, 1988
 - 51 Schröder, H., Leitman, D.C., Hayward, L.D., Bennett, B.M., Murad, F.: Cultured rat lung fibroblasts as a model for organic nitrate-induced cyclic GMP accumulation and activation of guanylate cyclase. *J Appl Cardiol* 2: 301-311, 1987
 - 52 Schröder, H., Schrör, K.: Cyclic GMP stimulation by vasopressin in LLC-PK₁ kidney epithelial cells is L-arginine-dependent. *Naunyn-Schmiedeberger's Arch Pharmacol* 340: 475-477, 1989
 - 53 Schröder, H., Schrör, K.: Inhibitors of cytochrome P-450 reduce cyclic GMP stimulation by glyceryl trinitrate in LLC-PK₁ kidney epithelial cells. *Naunyn Schmiedeberger's Arch Pharmacol* 342: 616-618, 1990
 - 54 Schröder, H.: Cytochrome P-450 may mediate cyclic GMP stimulation by glyceryl trinitrate in cultured cells. *Naunyn-Schmiedeberger's Arch Pharmacol* 343, Suppl.: R 68

-
- 55 Schröder, H.: Cytochrome P-450 Mediates Bioactivation of Organic Nitrates. *J Pharmacol Exp Ther* 262 (1): 298-302, 1992
- 56 Schröder, H.: Molecular mode of action of organic nitrates and their bioactivation via cytochrome p 450. *Frontiers in Biotransformation* 8: 234-245, 1991
- 57 Schröder, H.: Nitrattoleranz-neurohumorale Gegenregulation oder verminderte Bioaktivierung? *Dtsch Med Wschr* 119: 571, 1994
- 58 Schrör, K., Förster, S., Woditsch, I., Schröder, H.: Generation of NO from molsidomine (SIN-1) in vitro and its relationship to changes in coronary vessel tone. *J Cardiovasc Pharmacol* 14 (Suppl. 11): S29-S34, 1989
- 59 Servent, D. et al.: Nitric oxide formation during microsomal hepatic denitration of glyceryl trinitrate; Involvement of cytochrome P-450. *Biochem Biophys Res Commun* 163: 1210-1216, 1989
- 60 Shinn, A.F.: Clinical Relevance of Cimetidin Drug Interactions. *Drug safety* 7 (Suppl. 4): 245-267, 1992
- 61 SmithKline Beecham Pharma München: Fachinformation Tagamet 200/400/800 Stand: März 1998
- 62 Störk, T. et al.: Hämodynamische Wirkung von Molsidomin bei herzinsuffizienten Koronarkranken mit klinisch manifester Nitrattoleranz. *Z Kardiol* 82: 293-301, 1993
- 63 Strohm, W.D., Kober, G.: Schätzung des mittleren Drucks im rechten Vorhof aus Pfortader- und Cavadurchmesser im Sonogramm. In Kratochwil, A., Reinold, E. (Hrsg.): *Ultraschalldiagnostik*: 424-425, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1977
- 64 Strohm, W.D., Rahn, R., Cordes, H.-J., Kurtz, W., Kober G.: Diameters of abdominal veins and arteries during nitrate therapy. *Z Kardiol* 72 (Suppl. 3): 56-61, 1983
- 65 Thadani, U., Whitsett, T.: Relationship of pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of the organic nitrates. *Clin Pharmacokin* 15: 32-43, 1988
- 66 Weber, W.J., Weltner, K.: *Mathematischer Vorkurs für Mediziner*. 5. Druck, Universität Frankfurt, Juni 1987
- 67 White, K.A., Marletta, M.A.: Nitric oxide synthase is a cytochrome P-450 type hemoprotein. *Biochemistry* 31 (29): 6627-6631, 1992
- 68 Wiegand, A.: Untersuchungen zur Wirkstofffreisetzung, Pharmakokinetik und Pharmakodynamik unterschiedlich aufgebauter Transdermaler Therapeutischer Systeme mit Glyceroltrinitrat. Inauguraldissertation der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Breisgau, 1991

-
- 69 Witzleb, E.: Kreislaufgrößen unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen. In Schmidt, R.F., Thews, G.: Physiologie des Menschen: 554-563, Springer Verlag, 1987
 - 70 Wolff, H.P., Weihrauch, T.R.: Internistische Therapie 98/99. Urban und Schwarzenberg Verlag, München: 512-521, 1998
 - 71 Yang, Z.: Endothelium-Derived Relaxing Factor: Ein endogenes Nitrat als Regulator im Kreislauf. Perfusion 3: 78-82, 1989
 - 72 Zedlitz, C. Frhr. von: Nitrate aktuell, Sonderausgabe 1990, Pharma Verlags GmbH, Ruhpolding, 1990

9 Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

Ist die Aktivierung organischer Nitrate beim Menschen von Cytochrom P-450 abhängig?

im Zentrum der Inneren Medizin des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main

unter der Leitung von Herrn Professor Dr. med. W. Schneider

mit Unterstützung durch Herrn Dr. med. C. Teupe

ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt, den 4. Oktober 2001

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Stefan Beck
Geburtsdatum	31.01.1966
Geburtsort	Wiesbaden
Familienstand	verheiratet

Ausbildung

Grundschule	1972 - 1976	Max von Gagern Schule, Kelkheim
Gymnasium	1976 - 1985	Taunusschule, Königstein
	1985 - 1986	Ableistung der Wehrpflicht im Sanitätsdienst
Studium	1987 - 1994	Studium der Humanmedizin an der Johann Wolfgang Goethe - Universität, Frankfurt am Main
	25.04.1994	Ärztliche Prüfung
Berufsausbildung	01.02.1995 - 31.07.1996	Arzt im Praktikum in der Medizinischen Klinik I, Kliniken des Main - Taunus - Kreises, Bad Soden
	15.08.1996 - 31.08.1998	Assistenzarzt in der Medizinischen Klinik, Hospital zum Heiligen Geist, Frankfurt am Main
	seit 01.12.1998	Assistenzarzt in der Inneren Abteilung, Kliniken des Hochtaunuskreises, Kreiskrankenhaus Usingen