

Aus der Medizinischen Klinik für Kardiologie und Angiologie  
am Campus Mitte  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

***Einfluss von Ivabradin auf die Endothelfunktion von  
Patienten mit einer stabilen koronaren Herzerkrankung***

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Franziska Reshetnik (geb. Schröter)

aus *Berlin*

Datum der Promotion: 14. Februar 2014

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG/ABSTRACT</b>	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>8</b>
3.1	BEDEUTUNG DER HERZFREQUENZ ALS KARDIOVASKULÄRER RISIKOMARKER	8
3.2	BEDEUTUNG DER ENDOTHELFUNKTION	8
3.3	ERFASSUNG DER ENDOTHELFUNKTION	9
3.4	PATHOLOGISCHE ENDOTHELFUNKTION – ENDOTHELDYSFUNKTION	9
3.5	ENDOTHELFUNKTION UND KORONARE HERZERKRANKUNG	10
3.6	EINFLUSS DER HERZFREQUENZ AUF DIE ENDOTHELFUNKTION	10
3.7	IF-KANAL-HEMMUNG DURCH IVABRADIN	11
3.8	OXIDATIVER STATUS UNTER IVABRADINTHERAPIE	11
3.9	ZIELSETZUNG DER VORLIEGENDEN ARBEIT	11
<b>4</b>	<b>METHODEN</b>	<b>13</b>
4.1	STUDIENKOLLEKTIV	13
4.2	ZEITLICHER ABLAUF DER ENDOTHELFUNKTIONSMESSUNG	14
4.3	QUALITÄT DER MESSUNGEN	16
4.4	MESSUNG DER ENDOTHELFUNKTION	17
4.5	AUSWERTUNG DER AUFGEZEICHNETEN ENDOTHELFUNKTION	21
4.6	BESTIMMUNG DES OXIDATIVEN STATUS	22
4.7	STATISTISCHE AUSWERTUNG	23
<b>5</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>24</b>
5.1	DIE STUDIENPOPULATION	24
5.2	IVABRADIN UND HERZFREQUENZ	28
5.3	IVABRADIN UND FMD	30
5.4	KORRELATION VON HERZFREQUENZ UND FMD	35
5.5	INTRAOBSERVER-VARIABILITÄT	38
5.6	IVABRADIN UND NMD	38
5.7	IVABRADIN UND OXIDATIVER STATUS	39
5.8	ZUSÄTZLICHE EINFLÜSSE VON IVABRADIN	41
<b>6</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>43</b>
6.1	DISKUSSION DES STUDIENDESIGNS	43

6.2	DISKUSSION DER METHODE .....	43
6.3	DISKUSSION DER STUDIENPOPULATION .....	45
6.3.1	<i>Thrombozytenaggregationshemmung in der Studienpopulation</i> .....	45
6.3.2	<i>Statintherapie bei Diabetes mellitus Typ II in der Studienpopulation</i> .....	45
6.4	DISKUSSION DER ERGEBNISSE .....	46
6.4.1	<i>Hauptaussage der vorliegenden Daten</i> .....	46
6.4.2	<i>Ivabradin und Herzfrequenz</i> .....	46
6.4.3	<i>Ivabradin und FMD</i> .....	47
6.4.4	<i>Patienten mit akuter Herzfrequenzreduktion <math>\geq 8/\text{min}</math></i> .....	50
6.4.5	<i>Patienten mit chronischer Herzfrequenzreduktion <math>\geq 10/\text{min}</math></i> .....	50
6.4.6	<i>Ivabradin und NMD</i> .....	50
6.4.7	<i>Korrelation von Herzfrequenz und FMD</i> .....	51
6.5	LIMITATIONEN .....	52
6.6	AUSBLICK .....	53
6.7	SCHLUSSFOLGERUNG .....	53
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>54</b>
<b>8</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>60</b>
<b>9</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>62</b>
<b>10</b>	<b>EIDESSTATLICHE VERSICHERUNG .....</b>	<b>65</b>
<b>11</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>67</b>
<b>12</b>	<b>KONGRESSBEITRÄGE UND PUBLIKATIONEN ZU DIESER ARBEIT .....</b>	<b>69</b>
<b>13</b>	<b>ETHIKANTRAG .....</b>	<b>70</b>
<b>14</b>	<b>AUFKLÄRUNG UND EINWILLIGUNG ZUR STUDIE .....</b>	<b>71</b>
<b>15</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>77</b>

## 1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
ACE-Hemmer	<i>Angiotensin Converting Enzyme</i> -Hemmer
ACS	Akutes Koronarsyndrom
ACVB	Aorto-Koronarer-Venen-Bypass
A. brachialis	Arteria brachialis
AICD	Automatischer implantierbarer Cardioverter Defibrillator
ApoE-/-	Apolipoprotein-E-defizient
ASS	Acetylsalicylsäure
AT-1-Antagonist	Angiotensin-1-Antagonist
BMI	Body-Mass-Index
CABG	<i>coronary artery bypass graft</i>
CI	Konfidenzintervall
CT	Computertomografie
CRP	C-reaktives Protein
COPD	<i>chronic obstructive pulmonary disease</i>
DES	<i>drug eluting stent</i>
EKG	Elektrokardiogramm
ESC	<i>European Society of Cardiology</i>
ET-1	Endothelin-1
F. cubitalis	Fossa cubitalis
FMD	<i>flow-mediated dilation</i>
Hb	Hämoglobin
HCN-Kanäle	<i>hyperpolarization-activated and cyclic nucleotide gated channels</i>
HDL	<i>high density-lipoprotein</i>
Hf	Herzfrequenz
IKK	Inter-Klassen-Koeffizient
KHK	Koronare Herzerkrankung
IQR	<i>Interquartile range</i>
Iva	Ivabradin
LDL	<i>low density lipoprotein</i>
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
M	Median (50. Perzentile)

NMD	<i>nitro-mediated dilation</i>
NO	Stickstoffmonoxid
PCI	<i>percutan coronary intervention</i>
PGI2	Prostglandin I2 = Prostacyclin
Q1	Interquartilsabstand 1 (25. Perzentile)
Q3	Interquartilsabstand 3 (75. Perzentile)
RR syst.	systolischer Blutdruck
RR diast.	diastolischer Blutdruck
TIA	Transiente ischämische Attacke
tPA	gewebsspezifischer Plasminogenaktivator
TSH	Tyroidea-stimulierendes Hormon
vWF	von-Willebrand-Faktor

## 2 ZUSAMMENFASSUNG/ABSTRACT

### Hintergrund

Tierexperimentelle Daten suggerieren, dass eine reine Herzfrequenzreduktion mittels des If-Kanalhemmers Ivabradin mit einer Verbesserung der Endothelfunktion assoziiert ist. Aktuell ist es unklar, inwieweit dies auf den Menschen übertragbar ist. Daher war es das Ziel dieser Pilotstudie zu untersuchen, ob die Senkung der Herzfrequenz mit Ivabradin die Endothelfunktion bei Menschen mit etablierter koronarer Herzerkrankung beeinflusst.

### Methoden

Unter Benutzung von hochfrequentem Ultraschall (13MHz) analysierten wir die *flow-mediated* (FMD) und *nitro-mediated* (NMD) *dilation* der A. brachialis bei 25 Patienten ( $62,3 \pm 8,6$  Jahre) mit stabiler KHK und einer Ruheherzfrequenz über 70 Schlägen pro Minute. Zur Untersuchung der akuten Effekte von Ivabradin fanden die Endothelfunktionsmessungen vor und vier Stunden nach erstmaliger Einnahme von Ivabradin 7,5 mg statt. Chronische Effekte einer Ivabradintherapie (5 bis 7,5 mg zweimal täglich) wurden nach vierwöchiger Einnahme untersucht.

### Ergebnisse

Wir fanden eine signifikante Reduktion der Hf, sowohl vier Stunden nach Einnahme von 7,5 mg Ivabradin (Median -8 [IQR -14 – (-4)]/min) als auch nach vier Wochen zweimal täglicher Einnahme (-10 [-17 – (-5)]/min) ( $p \leq 0,05$ ). Dennoch veränderte sich die FMD nicht signifikant, weder nach erstmaliger Einnahme noch nach vierwöchiger Therapie von Ivabradin (Baseline FMD: 5,0 [2,4 – 7,9] %; FMD vier Stunden nach 7,5 mg Ivabradin: 4,9 [2,7 – 9,8] % und FMD nach vier Wochen Ivabradin zweimal täglich: 6,1 [IQR 4,3 – 8,2] %). Es wurden keine signifikanten Unterschiede in der NMD beobachtet. In der Regressionsanalyse korrelierten Hf und FMD unabhängig von der Ivabradineinnahme negativ miteinander ( $r^2 = -0,079$ ,  $p = 0,004$ ).

### Schlussfolgerung

Abschließend zeigt unsere Studie, dass die akute und chronische Herzfrequenzreduktion durch Ivabradin die Endothelfunktion, gemessen als flußvermittelte Vasodilatation, bei Patienten mit stabiler KHK nicht verbessert.

## **Background**

Experimental data suggests that exclusive heart rate reduction with ivabradine is associated with the amelioration of the endothelial function. Since it is presently unknown whether this also applies to humans, the aim of this pilot study was to investigate whether heart rate reduction with ivabradine modulates the endothelial function in humans with an established coronary heart disease.

## **Methods**

Using high-sensitivity ultrasound, we analysed the flow-mediated (FMD) and nitro-mediated dilation (NMD) of the brachial artery in 25 patients ( $62.9 \pm 8.4$  years) with a stable coronary heart disease and a resting heart rate of  $\geq 70$  beats per minute (bpm). To assess acute effects, measurements were performed before and 4 hours after the first intake of ivabradine 7.5 mg. Sustained effects of an ivabradine therapy (5 mg to 7.5 mg twice daily) were investigated after 4 weeks.

## **Results**

We found a significant decrease in heart rate, both 4 hours after the intake of 7.5 mg of ivabradine (median -8 [interquartile range (IQR) -14 to -4] bpm) and after 4 weeks of twice daily intake (median -10 [IQR -17 to -5] bpm) ( $p < 0.05$ ). However, the FMD did not change significantly: neither after first dose of ivabradine nor after sustained therapy (baseline FMD: median 5.0 [IQR 2.4 to 7.9] %; FMD 4 hours after 7.5 mg of ivabradine: median 4.9 [IQR 2.7 to 9.8] %; FMD after 4 weeks of ivabradine therapy: median 6.1 [IQR 4.3 to 8.2] %). No significant changes of the NMD were observed. In regression analysis, the heart rate and FMD did negative correlated, irrespective of the ivabradine intake ( $r^2 = -0,079$ ,  $p = 0,004$ ).

## **Conclusion**

In conclusion, in our study heart rate reduction through ivabradine does not improve the endothelial function in patients with a stable coronary heart disease.

### 3 EINLEITUNG

#### 3.1 Bedeutung der Herzfrequenz als kardiovaskulärer Risikomarker

Seit über 30 Jahren wird die Wirkung der Herzfrequenz (Hf) auf den Menschen beobachtet. Mittlerweile konnten zahlreiche epidemiologische Studien zeigen, dass eine erhöhte Ruheherzfrequenz sowohl mit einer vermehrten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität als auch mit einer gesteigerten Gesamtsterblichkeit assoziiert ist<sup>1-5</sup>. Diese negativen Auswirkungen einer erhöhten Hf unter Ruhebedingungen scheinen unabhängig von traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren wie arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie, Nikotinabusus und familiärer Prädisposition zu sein, sodass die Hf als eigenständiger Risikomarker angesehen werden sollte<sup>1, 6, 7</sup>. Vor diesem Hintergrund wurde in den aktuellen Leitlinien der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC) im Rahmen der Therapie kardiovaskulärer Krankheiten die Hf als Risikomarker berücksichtigt<sup>8</sup>. Bisher konnten in den oben erwähnten Studien negative Auswirkungen einer erhöhten Herzfrequenz gezeigt werden; nur eine Studie belegt die positiven Wirkungen einer Reduktion der Herzfrequenz: Bei Patienten mit eingeschränkter linksventrikulärer Auswurfleistung, und einer Herzfrequenz  $\geq 70$ /min, konnte eine reine Herzfrequenzreduktion einen klinischen Benefit zeigen<sup>9, 10</sup>. Aufgrund der bis dato durchgeführten Studien konnte für Patienten mit einer stabilen KHK noch keine Zielherzfrequenz festgelegt werden, die gegebenenfalls auch medikamentös erreicht werden sollte<sup>8</sup>.

#### 3.2 Bedeutung der Endothelfunktion

Das Gefäßendothel ist eine einlagige kontinuierliche Zellschicht, welches alle Blutgefäße auskleidet. Das Endothel stellt im Gegensatz zur langjährigen Annahme ein hochspezialisiertes endokrines, parakrines und autokrines Organ dar. Die Endothelzellen bilden eine einzigartige antithrombogene Schicht zwischen dem Blut und dem potenziell thrombogenen subendothelialen Gewebe. Weiterhin modulieren diese Zellen den Gefäßtonus mittels der vasokativen Substanzen Stickstoffmonoxid (NO), Endothelin-1 (ET-1) und Prostacyclin, das Zellwachstum, die Hämostase und Entzündungsprozesse im gesamten Gefäßsystem. Das intakte Endothel sichert das antithrombotische und antikoagulatorische Gleichgewicht im Gefäß durch die modulierenden Substanzen Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>), Thrombomodulin, den gewebspezifischen Plasminogenaktivator (tPA), den von-Willebrand-Faktor (vWF) und



das Fibrinogen. Es verhindert weiterhin die Leukozytenadhäsion, es wirkt antiinflammatorisch, vasodilatorisch und verringert den oxidativen Stress an der Gefäßwand<sup>11</sup>.

### 3.3 Erfassung der Endothelfunktion

Unter physiologischen Bedingungen werden die Blutgefäße durch das Endothel in einem relativ dilatierten Zustand gehalten. Das Endothel selbst kann auf eine Vielzahl von physikalischen Reizen, zum Beispiel auf Scherkräfte (*shear stress*) reagieren. Als Antwort auf diese Scherkräfte erweitern sich die Blutgefäße, dieser Vorgang wird als *flow-mediated vasodilation* (FMD) bezeichnet. Die Messung der endothelabhängigen FMD erfolgt während reaktiver Hyperämie mittels hochfrequenten Ultraschalls (13MHz) an der Arteria brachialis (A. brachialis). Durch die einwirkenden Scherkräfte in der Phase des erhöhten Blutflusses wird hauptsächlich Stickstoffmonoxid (NO) aus den Endothelzellen ausgeschüttet<sup>12</sup>. NO wirkt anschließend auf die glatten Muskelzellen der Gefäßmedia, sodass diese relaxieren und eine Gefäßdilataion erfolgt. Mithilfe dieser flussvermittelten Vasodilatation kann die vasomotorische Funktion quantifiziert werden und somit stellt die FMD eine klinische Methode zur Evaluierung der Endothelfunktion dar. Die FMD dient als Surrogatmarker einer Makroangiopathie.

### 3.4 Pathologische Endothelfunktion – Endotheldysfunktion

Mit steigendem Lebensalter altert auch das Endothel. Diese endotheliale Alterung zeigt sich zuerst in Form einer reduzierten FMD. Die Assoziation zwischen zunehmendem Alter der Patienten und endothelialer Dysfunktion konnte in mehreren großen und kleinen Studien belegt werden<sup>13-15</sup>. Diese Dysfunktion entsteht aufgrund einer verringerten NO-Produktion und -Freisetzung aus den Endothelzellen als Antwort auf Scherstress. Die Endotheldysfunktion geht mit einer Vielzahl pathologischer Zustände wie Hypercholesterinämie<sup>16, 17</sup>, Diabetes mellitus<sup>16</sup>, arterieller Hypertonie<sup>13, 18</sup>, Herzinsuffizienz, Fettleibigkeit<sup>19, 20</sup> und Rauchen<sup>13, 14</sup> einher. Eine Dysfunktion steigert die Permeabilität des Endothels für Lipoproteine; es werden endotheliale Adhäsionsmoleküle exprimiert und es kommt zur Leukozytenadhäsion an die Zelloberfläche und zur anschließenden Leukozytenmigration in die Intima des Gefäßes. Aufgrund einer längeren Verweildauer der Lipide und deren Modifikation durch oxidativen Stress (Bildung freier Sauerstoffradikale) werden diese zu oxidiertem LDL (oxLDL) umgewandelt. Diese oxLDL werden durch eingewanderte Makrophagen über

Scavenger-Rezeptoren aufgenommen, welche dadurch zu Schaumzellen degenerieren und Lipidablagerungen in der Intima verursachen. Die durch eine Dyslipidämie verursachte Endotheldysfunktion ist somit der initiale Schritt zur Entwicklung einer Atherosklerose<sup>21</sup>.

### 3.5 Endothelfunktion und koronare Herzerkrankung

Die Hauptmanifestation der Atherosklerose in Industrieländern ist an den Koronarien zu verzeichnen und die damit einhergehende Erkrankung ist die koronare Herzerkrankung (KHK). Diese stellt die häufigste Todesursache in entwickelten Ländern dar<sup>22</sup>. Eine eingeschränkte Endothelfunktion, gemessen mittels FMD an der A. brachialis, kann ein Prädiktor für eine drohende KHK sein, selbst wenn der Patient asymptomatisch ist, jedoch kardiovaskuläre Risikofaktoren wie positive Familienanamnese<sup>23</sup>, Hyperlipidämie<sup>17</sup>, Übergewicht und Rauchen<sup>20</sup> aufweist. So konnte zum Beispiel in einer Studie an Patienten, die jünger als 40 Jahre waren und eine bestehende KHK aufwiesen, gezeigt werden, dass die Endothelfunktion auch an kleinen, peripheren Gefäßen (A. brachialis) eingeschränkt war. Diese Tatsache lässt den Schluss zu, dass die endotheliale Dysfunktion ein überregionaler Prozess ist, welcher nicht nur die atherosklerotisch veränderten Gefäßabschnitte betrifft<sup>24</sup>. Da die Endotheldysfunktion sowohl Ursache als auch Folge der Atherosklerose ist, sollte versucht werden jeglichen negativen Einfluss auf die Endothelfunktion zu minimieren.

### 3.6 Einfluss der Herzfrequenz auf die Endothelfunktion

Tierexperimentelle Arbeiten und klinische Daten konnten in der Vergangenheit zeigen, dass eine gesteigerte Hf eine nicht zu unterschätzende Rolle bei der Entwicklung der Atherosklerose durch die Endotheldysfunktion spielt. Es wird davon ausgegangen, dass als zugrundeliegende Mechanismen oxidativer Stress, häufigere und kurze Phasen von Scherstress und erhöhte mechanische Belastung das Gefäßendothel schädigen<sup>25-27</sup>. Durch eine Schädigung des Endothels wird eine Entzündungskaskade in Gang gebracht, welche eine Endotheldysfunktion zur Folge hat. Diese bildet die Grundlage zur Entwicklung und Ausbreitung einer Atherosklerose (siehe Abschnitt 1.4). Die bestehende Evidenz liefert widersprüchliche Daten zum Einfluss der Hf auf die Endothelfunktion. Sowohl positive als auch negative Korrelationen zwischen Hf und FMD, welche als Surrogatmarker der Makroangiopathie dient, wurden beschrieben<sup>13, 28-</sup>

30

### 3.7 If-Kanal-Hemmung durch Ivabradin

Seit 2006 ist ein neuer Wirkstoff zur Senkung der Hf zugelassen: Ivabradin ist ein selektiver If-Kanalinhibitor, der sowohl die Ruhe- als auch die Belastungsherzfrequenz adäquat senkt<sup>31</sup>. Ivabradin wirkt selektiv an den sogenannten *funny channels* des Sinusknotens, welche erstmals 1979 von Brown beschrieben wurden<sup>32</sup>. Ivabradin führt zu einer Frequenzmodulation und Reduktion der Schlagaktivität der Schrittmacherzellen ohne jedoch die Dauer oder die Morphologie des Aktionspotenzials zu verändern<sup>33</sup>. Ivabradin hat keine Auswirkungen auf die kardiale Kontraktilität, den arteriellen Blutdruck, die intrakardiale Erregungsweiterleitung oder die ventrikuläre Repolarisation, sodass wir von einer selektiven Herzfrequenzsenkung sprechen können<sup>34, 35</sup>. Daher bietet dieser neuartige Wirkstoff die Möglichkeit, Effekte einer reinen Herzfrequenzreduktion zu untersuchen<sup>5</sup>.

### 3.8 Oxidativer Status unter Ivabradintherapie

Der oxidative Status eines Individuums beschreibt die Möglichkeiten des menschlichen oder tierischen Organismus den durch freie Sauerstoffradikale bedingten oxidativen Stress abzuwehren. In diesen laborparametrisch erfassbaren Status fallen sowohl Marker des oxidativen Stress wie oxidiertes LDL (Hauptverursacher der Atherosklerose) als auch Marker des antioxidativen Systems wie die antioxidative Kapazität. Wie unter Absatz 1.4 bereits erwähnt, spielen die freien Sauerstoffradikale eine Rolle bei der Entstehung der endothelialen Dysfunktion. Aufgrund dessen wurden in tierexperimentellen Studien mit Mäusen unter Ivabradintherapie auch die Marker des oxidativen Systems bestimmt. Dabei konnte festgestellt werden, dass sich in allen Studien sowohl eine signifikante Steigerung der antioxidativen Marker als auch eine signifikante Reduktion der Parameter des oxidativen Stresses zeigten<sup>25, 27, 36</sup>. In unserem Studiendesign beachteten wir diese Evidenz und erhoben den oxidativen Status unserer Teilnehmer.

### 3.9 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Nach jetzigem wissenschaftlichen Kenntnisstand ist nicht klar, welchen Einfluss Veränderungen der Hf auf die Endothelfunktion des Menschen ausüben. In einer tierexperimentellen Studie aus dem Jahr 2008 konnte an Apolipoprotein-E-defizienten (ApoE<sup>-/-</sup>) Mäusen gezeigt werden, dass mittels einer Ivabradin-Therapie und der damit einhergehenden reinen Herzfrequenzreduktion der oxidative Stress reduziert, die

endotheliale Dysfunktion verbessert und die atherosklerotische Plaquebildung gesenkt werden konnte<sup>25</sup>.

Auf Grundlage dieser Arbeit war es das Ziel unserer Studie zu untersuchen, welche Effekte eine reine Herzfrequenzsenkung durch Ivabradin auf die Endothelfunktion bei Menschen mit bekannter KHK hat.

## 4 METHODEN

### 4.1 Studienkollektiv

Die vorliegende Arbeit ist eine klinische Interventionsstudie und wurde im Zeitraum von Januar 2010 bis September 2011 in der Medizinischen Klinik für Kardiologie und Angiologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin am Campus Mitte durchgeführt. Dabei screeneten wir alle Patienten, die wegen einer in den letzten drei Monaten stabilen KHK stationär behandelt wurden. Von den gescreeenten Patienten erfüllten 35 unsere Einschluss- und keines unserer Ausschlusskriterien (siehe Tabelle 1) und wurden in die Studie eingeschlossen. Die eingeschlossenen Patienten hatten entweder eine Betablockerunverträglichkeit bei Asthma bronchiale, Psoriasis vulgaris, chronisch obstruktiver Lungenerkrankung, Hypotension oder Raynaud-Syndrom oder eine Hf über 70/min unter laufender Betablockertherapie. Eine KHK wurde bei allen Patienten mittels invasiver koronarer Diagnostik nachgewiesen. Diese 35 Patienten wurden zur Voruntersuchung eingeladen und es erfolgte eine schriftliche Erfassung der medizinischen Vorgeschichte und der aktuellen Medikation, die Ableitung eines Zwölf-Kanal-EKGs, die Messung des systolischen und diastolischen Blutdruckes und die Registrierung von Gewicht und Größe. Im Blut unserer Patienten wurden folgende Parameter laborchemisch erfasst: Natrium, Kalium, Glucose, Kreatinin, C-reaktives Protein (CRP), Cholesterin, *high density lipoprotein* (HDL), *low density lipoprotein* (LDL,) Triglyceride, Alanin-Amino-Transferase (ALT) Gamma-Glutamyl-Transferase ( $\gamma$ GT,) Thyroidea-stimulierendes Hormon (TSH,) Hämoglobin (Hb), Hämatokrit, Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten. Nach der Voruntersuchung gaben 25 Probanden ihr Einverständnis zur weiteren Studienteilnahme. Unsere Studie wurde von der Ethik-Kommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin unter der Antragsnummer EA1/087/08 zugelassen. Alle Probanden wurden sowohl mündlich als auch schriftlich über den Studienzweck und -ablauf aufgeklärt und gaben anschließend ihre schriftliche Einwilligung zur Studienteilnahme (siehe Abschnitt 14.).

**Tabelle 1:** Einschluss- und Ausschlusskriterien bei Probandenrekrutierung. KHK = Koronare Herzerkrankung; EKG = Elektrokardiogramm; BMI = Body Mass Index; AV-Block = Atrio-Ventrikulärer Block; LDL = *low-density lipoprotein*; HDL = *high-density lipoprotein*.

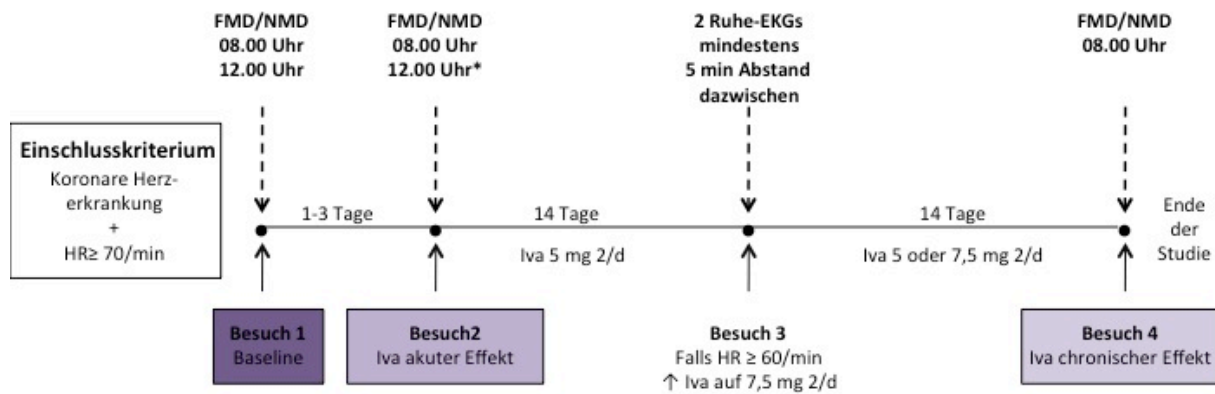
<p><u>Einschlusskriterien</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- stabile KHK (innerhalb von 3 Monaten vor Studieneinschluss keine Intervention)</li> <li>- Herzfrequenz &gt;70/min in zwei 12-Kanal-Ruhe EKGs innerhalb von zwei Wochen vor Studieneinschluss (mit oder ohne Betablocker)</li> <li>- Alter 50-80 Jahre</li> <li>- BMI &lt;35 kg/m<sup>2</sup></li> <li>- stabile Medikation seit 4 Wochen</li> <li>- stabile klinische Symptomatik seit 4 Wochen</li> <li>- linksventrikuläre Ejektionsfraktion &gt;35%</li> </ul>
<p><u>Ausschlusskriterien</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Myokardinfarkt oder koronare Intervention/Bypass/Klappenintervention innerhalb von drei Monaten vor Studieneinschluss</li> <li>- permanentes oder persistierendes Vorhofflimmern</li> <li>- Sick-Sinus-Syndrom</li> <li>- angeborenes Long-QT-Syndrom</li> <li>- AV-Block II° oder III°</li> <li>- Schrittmacher mit &gt;40% Stimulation im 24-Stunden EKG</li> <li>- höhergradige Klappenfehler</li> <li>- Stroke oder transiente ischämische Attacke 3 Monate vor Studieneinschluss</li> <li>- schwere Leber- und/oder Nierenerkrankungen</li> <li>- Alkoholabusus</li> <li>- Lebenserwartung &lt;1 Jahr</li> <li>- Prämenopausale Frauen</li> <li>- Phosphene</li> <li>- Allergien gegen Nitrotriglycerat oder Ivabradin</li> <li>- systolischer Blutdruck ≥180 mmHg</li> <li>- diastolischer Blutdruck ≥110 mmHg</li> <li>- Nüchtern-glucose &gt;150 mg/dl</li> <li>- Triglyceride &gt;250 mg/dl</li> <li>- LDL &gt;180 mg/dl</li> <li>- HDL &lt;35 mg/dl</li> </ul>

#### 4.2 Zeitlicher Ablauf der Endothelfunktionsmessung

Die Messungen der Endothelfunktion erstreckten sich über einen Zeitraum von circa vier Wochen (siehe Abb. 1). In dieser Zeit erschienen die Patienten zu jeweils vier Besuchen in der Klinik. Beim ersten, zweiten und vierten Studienbesuch wurden Endothelfunktionsmessungen vorgenommen. Die Messungen erfolgten wie unter Punkt 2.3 aufgeführt jeweils morgens 08:00 Uhr und mittags 12:00 Uhr. Alle Patienten mussten eine zwölfstündige Nahrungskarenz vor der Messung einhalten und es war ihnen untersagt, sowohl am Tag vor der Messung als auch am Morgen der Untersuchung und zwischen den einzelnen Aufnahmen eines Tages zu rauchen, Alkohol, Vitamin- oder Mineralstoffpräparate zu sich zu nehmen oder Sport zu treiben. Die Einnahme ihrer bisherigen Medikation, ausgeschlossen nitrathaltige Präparate, erfolgte bei allen Patienten morgens vor der ersten Aufzeichnung der Endothelfunktion.

Beim ersten Besuch erfolgte morgens und mittags die Messung der Endothelfunktion ohne medikamentöse Intervention (Baseline). Am zweiten Besuchstag wurde den Patienten nach der morgendlichen Endothelfunktionsmessung 7,5 mg Ivabradin (Procoralan<sup>®</sup>, Servier, Neuilly-sur-Seine, Frankreich) oral verabreicht und vier Stunden später der akute Effekt von Ivabradin auf die Endothelfunktion erfasst (Ivabradin akuter Effekt). Nach Abschluss der Akutmessung erfolgte bei allen Probanden der Beginn einer Therapie mit Ivabradin 5 mg zweimal täglich morgens und abends. Nach zweiwöchiger Einnahme erfolgte zum dritten Besuchszeitpunkt die Dokumentation der Hf mittels Zwölf-Kanal-Ruhe-EKG nach zehnminütiger liegender Ruhephase. Bei einer Hf über 60/min erfolgte eine Dosissteigerung auf zweimal 7,5 mg täglich. Am letzten Studientermin dokumentierten wir morgens den chronischen Effekt des Wirkstoffes Ivabradin nach vierwöchiger Einnahme auf die Endothelfunktion (Ivabradin chronischer Effekt).

Am Morgen des ersten und vierten Besuches wurde den Patienten am linken Arm Blut für das Routinelabor, bestehend aus den Parametern Glucose, CRP, Cholesterin, HDL, LDL, Triglyceride, Hb, Hämatokrit, Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten abgenommen. Vor allen Messungen der Endothelfunktion erfolgte die Ableitung eines Zwölf-Kanal-EKGs nach fünfminütiger liegender Ruhephase des Studienteilnehmers. Anschließend folgte eine zehnminütige liegende Ruhephase und eine Messung der Endothelfunktion (siehe Punkt 2.3). Nach der morgendlichen Messung erhielten alle Patienten jeweils ein standardisiertes Frühstück, bestehend aus zwei Weizenbrötchen, 150 g fettreduziertem Frischkäse (1,5% Fett pro 100 g; Philadelphia Natur, Kraft Foods) und 500 ml stillem Wasser. Zwischen den Einzelmessungen eines Studientages hielten sich die Patienten in einem ruhigen Raum unserer Klinik auf.



\* Iva 7,5 mg nach 08.00 Uhr Messung von FMD/NMD

**Abbildung 1:** Fließdiagramm des Studiendesigns. Hf = Herzfrequenz; Iva = Ivabradin; FMD = *flow-mediated Dilation*; NMD = *nitro-mediated Dilation*.

### 4.3 Qualität der Messungen

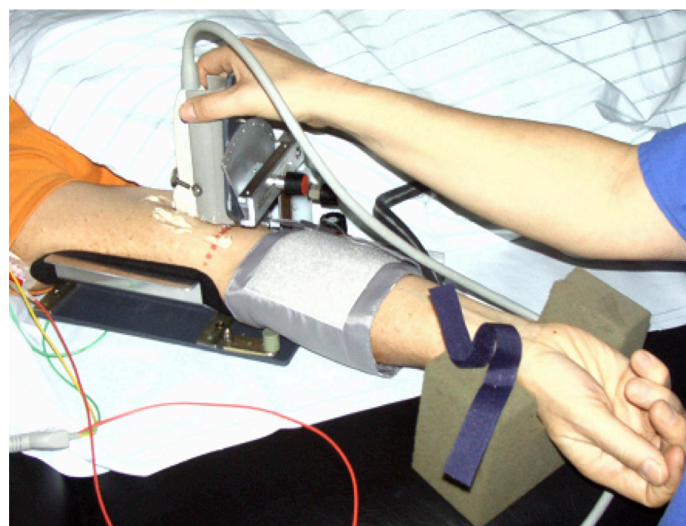
Die sonografischen Messungen der Endothelfunktion, die im nächsten Abschnitt detaillierter beschrieben werden, wurden von mir selbstständig bei allen Probanden durchgeführt. Vor Beginn der Studie habe ich mich mehrere Monate theoretisch und praktisch in die Methode der nicht-invasiven FMD-Messung eingearbeitet. In dieser Zeit absolvierte ich circa 90 Messungen an gesunden Personen, die sich freiwillig zum Üben zur Verfügung gestellt haben. Alle Messungen erfolgten unter Supervision eines in dieser Methode erfahrenden Untersuchers. Erst nach Abschluss dieser 90 Messungen und einer kontinuierlichen Qualität meiner Darstellung der A. brachialis und Aufzeichnungen der FMD und NMD begann ich mit der Untersuchung der in die Studie eingeschlossenen Probanden.



#### 4.4 Messung der Endothelfunktion

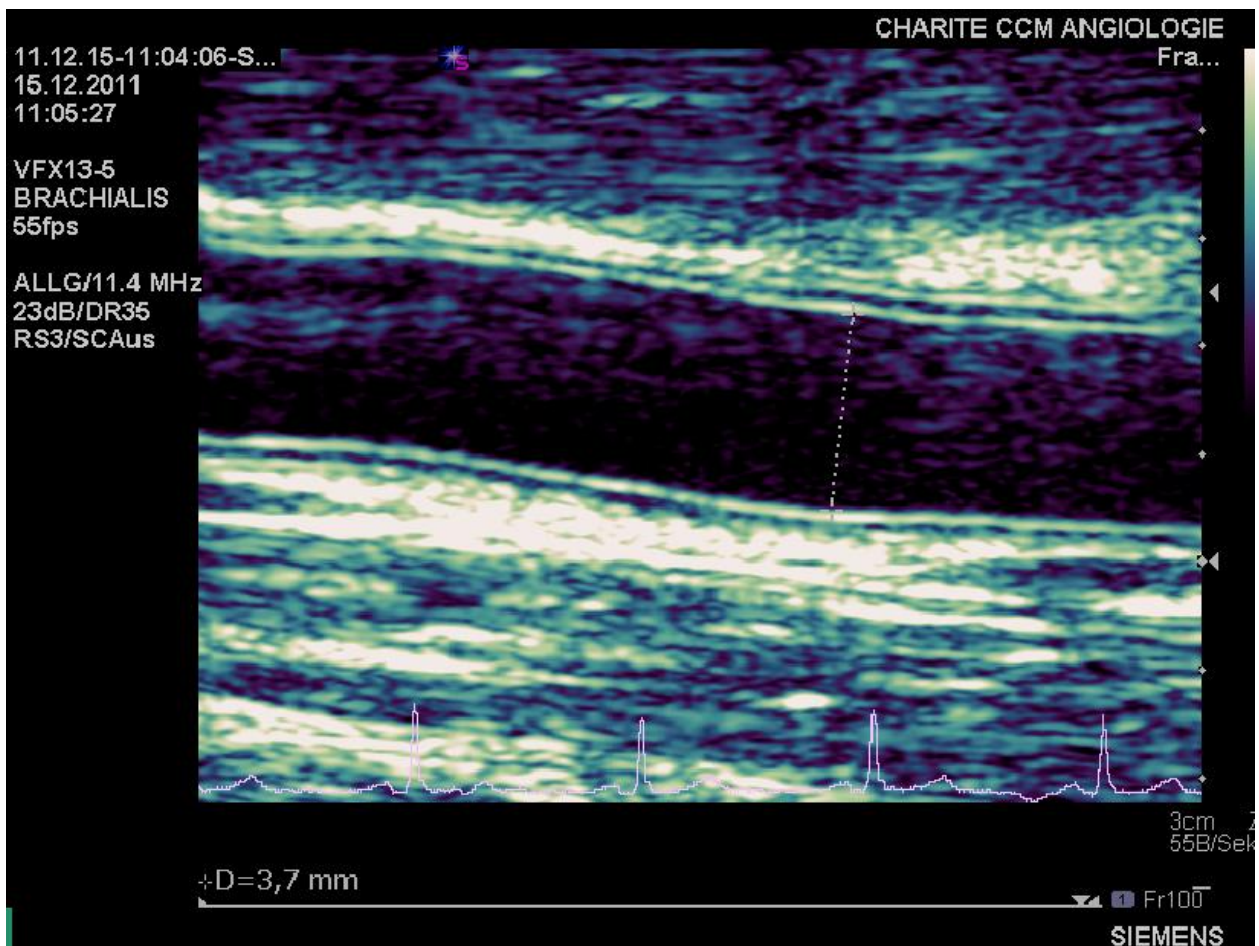
Die Erfassung der FMD erfolgte entsprechend der aktuellen Leitlinien<sup>12</sup> mittels hochfrequenten Ultraschalls unter Benutzung eines 13MHz Linearschallkopfes (Siemens Sonoline Antares, Erlangen, Deutschland) an der rechten Arteria brachialis oberhalb der Fossa cubitalis.

Die Messungen fanden in einem klimatisierten, lichtreduzierten Raum statt, in dem es während der Messungen keine Störung der Probanden gab. Die Messung der Endothelfunktion erfolgte aufgrund der räumlichen Anordnung der Geräte bei allen Patienten ausschließlich an der Arteria brachialis des rechten Armes. Nach einer zehnmütigen Ruhepause im Liegen wurde dem Patienten ein Drei-Kanal-EKG zur kontinuierlichen Aufzeichnung angelegt. Weiterhin erfolgte die Anlage einer Blutdruckmanschette und eines Blutdruckmonitors an den linken Arm, welche im Intervall von fünf Minuten eine Blutdruckmessung durchführten. Der rechte Arm des Patienten wurde leicht außenrotiert, ca. 45° vom Körper abgewinkelt und in Supinationsposition gelagert. An den rechten Unterarm unterhalb der F. cubitalis wurde eine weitere Blutdruckmanschette angelegt (Abb. 2). Anschließend wurde die A. brachialis im Longitudinalanschnitt einschließlich der anterioren und posterioren Gefäßwand sonographisch dargestellt. Ferner wurde der Schallkopf in einer für die Messung entwickelten stereotaktischen Halterung befestigt.

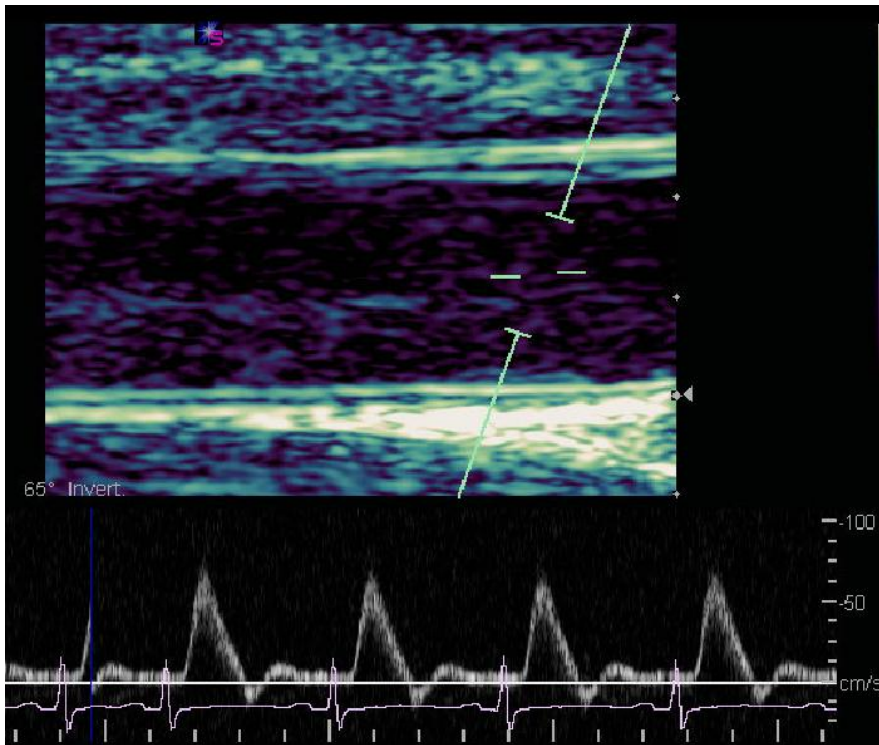


**Abbildung 2:** Versuchsaufbau zur Messung der Endothelfunktion

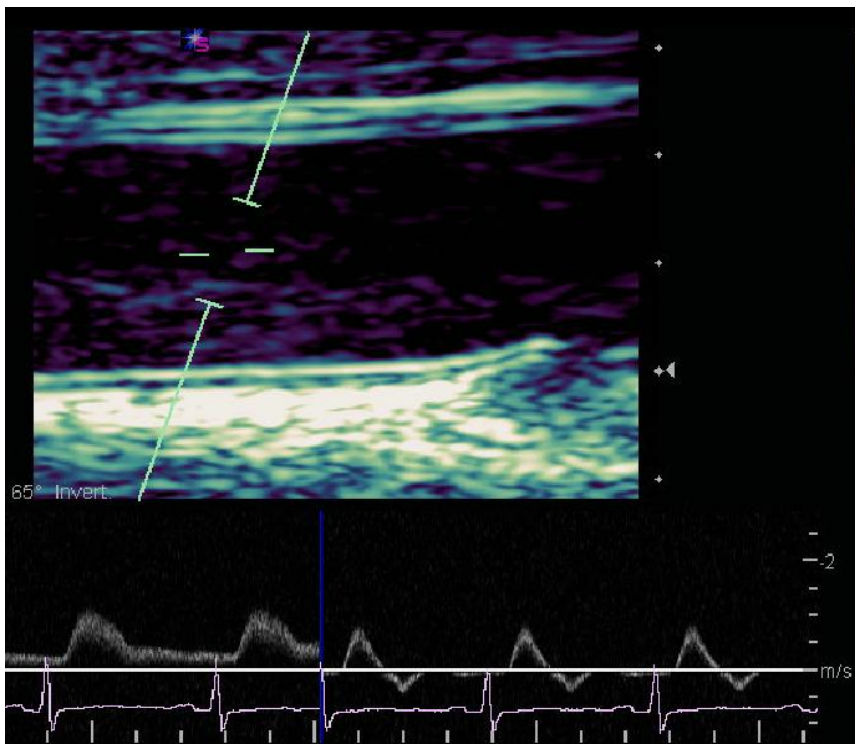
Es erfolgte die Aufnahme eines Baseline-Bildes und Baseline-Dopplerclips von fünf Sekunden mit dem Ultraschallgerät. Beides dargestellt in den Abbildungen 3 und 4. Als Erstes wurde die Endothel-abhängige flussvermittelte Dilatation (FMD) und darauf folgend die Endothel-unabhängige nitratvermittelte Dilatation (*nitro-mediated Dilatation*, NMD) gemessen. Bei Messung der FMD erfolgte die Stauung der Blutdruckmanschette am Unterarm bei allen Patienten mit suprasystolischem Druck von 220 mmHg über fünf Minuten. Während des Ablassens der Stauung am rechten Unterarm erfolgte in der reaktiven hyperämischen Phase die Aufnahme eines Dopplerclips von fünf Sekunden (siehe Abbildung 5). 15 Sekunden nach Beendigung der Stauung wurde über einen Zeitraum von zwei Minuten alle 15 Sekunden und während der dritten Minute alle 30 Sekunden ein fünfsekündiger Videoclip aufgezeichnet.



**Abbildung 3:** Sonografische Darstellung der Arteria brachialis vor Beginn der Endothelfunktionsmessung mit dazugehörigem EKG.



**Abbildung 4:** Typisches triphasisches Flussmuster der Arteria brachialis vor Beginn der Stauung mit der Blutdruckmanschette am Unterarm.  $V_{max} = 0,6 \text{ cm/s}$ . Flussgeschwindigkeit in  $\text{cm/s}$  = Zentimeter pro Sekunde.



**Abbildung 5:** Dopplersonografische Erfassung der Hyperämie nach Ablassen der fünfminütigen Stauung mittels Blutdruckmanschette am Unterarm. Dargestellt ist das typische postischämische monophasische Flussmuster der A. brachialis.  $V_{max} = 1,0 \text{ cm/s}$ . Flussgeschwindigkeit in  $\text{cm/s}$  = Zentimeter pro Sekunde.

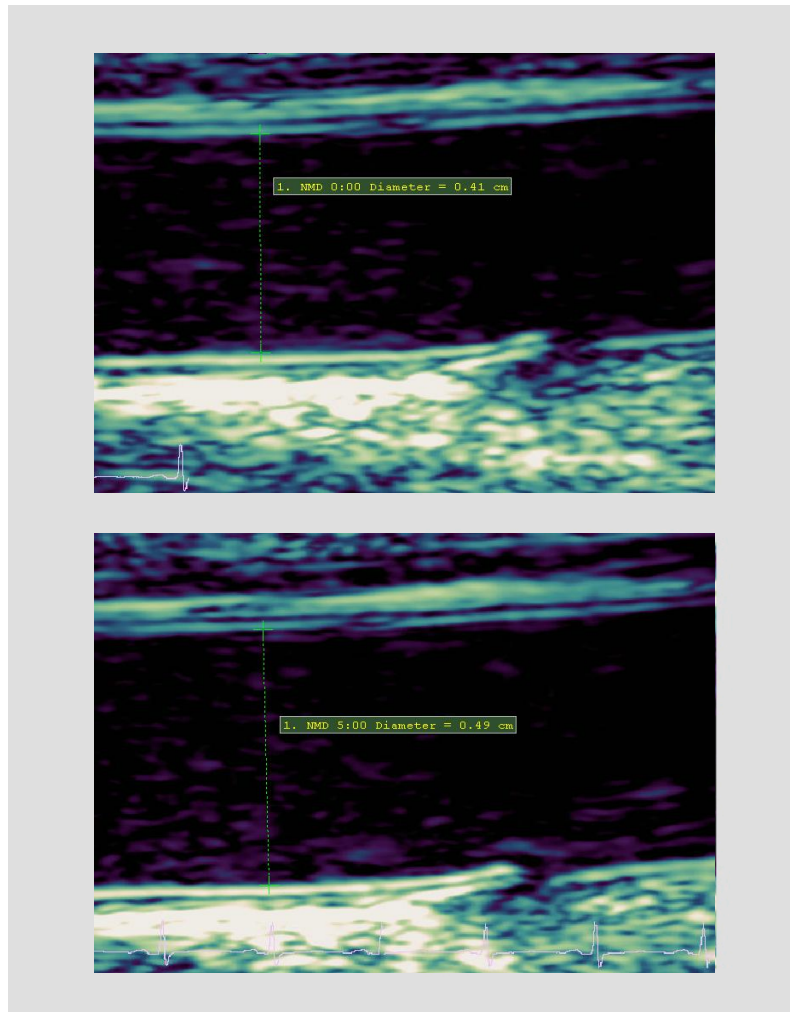
Die FMD ist definiert als maximale prozentuale Änderung des Gefäßdurchmessers, hervorgerufen durch Scherkräfte in der Phase reaktiver Hyperämie im Vergleich zur Baseline der jeweiligen Messung<sup>12</sup> (siehe Abbildung 6). Nach erneuter zehninütiger Pause im Liegen erfolgte die Neujustierung des Ultraschallkopfes in der Halterung und die Aufnahme eines Baseline-Bildes und Baseline-Dopplerclips von fünf Sekunden. Der Blutdruck wurde noch einmal kontrolliert und bei systolischen Werten über 100 mmHg erfolgte die sublinguale Gabe von 0,4 mg Nitroglycerinspray. Anschließend wurde die NMD durch kontinuierliche Aufzeichnung von fünfsekündigen Videoclips alle 30 Sekunden über sechs Minuten beginnend 30 Sekunden nach der Gabe von Nitroglycerin erfasst. In der Abbildung 7 ist die A. brachialis sonografisch vor und sechs Minuten nach Nitroglyceringabe abgebildet. Die NMD ist definiert als maximale prozentuale Änderung des Gefäßdurchmessers nach sublingualer Gabe von Nitroglycerin im Vergleich zur Baseline der jeweiligen Messung<sup>12</sup> (siehe Abbildung 6).

$$\text{FMD} = \frac{\text{Diameter}_{\text{postischämisch}} \text{ (mm)} - \text{Diameter}_{\text{präischämisch}} \text{ (mm)}}{\text{Diameter}_{\text{präischämisch}} \text{ (mm)}} * 100\%$$

$$\text{NMD} = \frac{\text{Diameter}_{\text{nach Nitrogabe}} \text{ (mm)} - \text{Diameter}_{\text{vor Nitrogabe}} \text{ (mm)}}{\text{Diameter}_{\text{vor Nitrogabe}} \text{ (mm)}} * 100\%$$

**Abbildung 6:** Berechnung der FMD und NMD. FMD = *flow-mediated dilation*; NMD = *nitro-mediated dilation*.





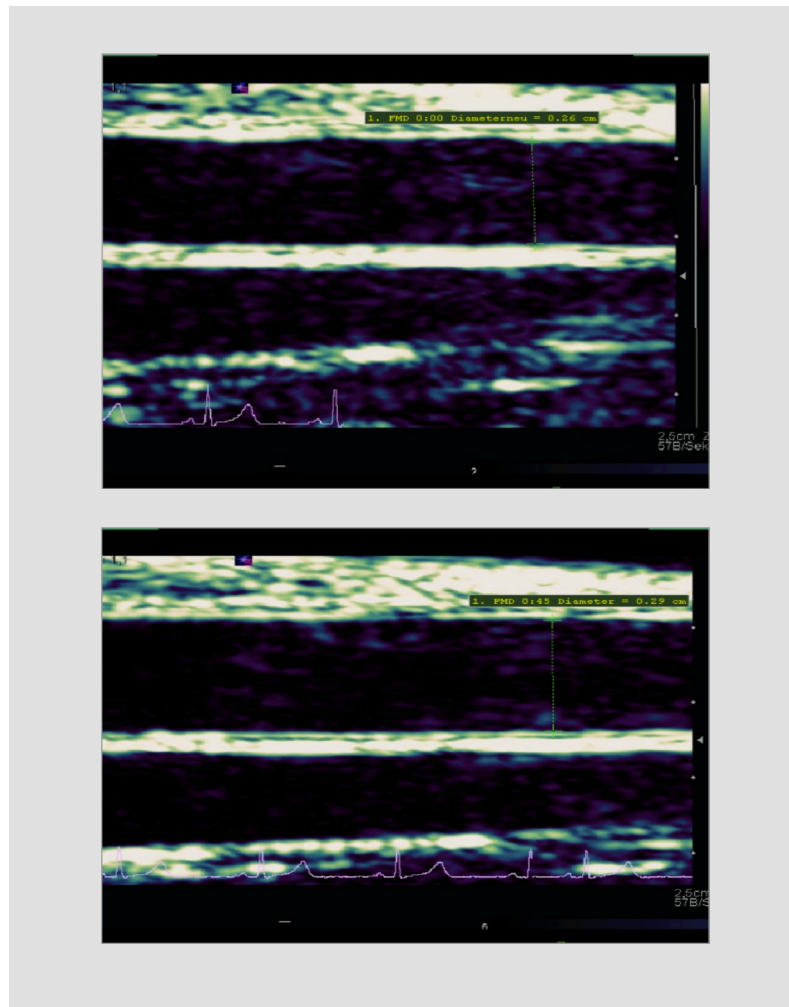
**Abbildung 7:** Sonografische Darstellung der Gefäßes und Messung der NMD. Oberes Bild: vor Nitroglyceringabe. Unteres Bild: sechs Minuten nach Gabe von 0,4 mg Nitroglycerin.

#### 4.5 Auswertung der aufgezeichneten Endothelfunktion

Die Aufzeichnungen der Endothelfunktion wurden digitalisiert und offline von einem anderen Untersucher, der zu unserer Studie verblindet war, ausgewertet (Tom Tec Imaging Systems, Germany). Die Auswertungen erfolgten manuell.

Auf den fünfsekündigen Videoclips war neben der Endothelfunktion das Drei-Kanal-EKG aufgezeichnet worden. Die Auswertung der Videoclips erfolgte EKG-unterstützend in der enddiastolischen Phase des Herzzyklus. Dazu erfolgte die Einstellung der R-Zacke des EKGs im Video und anschließend wurde mit drei verschiedenen Punkten über den gesamten Longitudinalanschnitt der Abstand zwischen anteriorer und posteriorer Gefäßwand gemessen (siehe Abbildung 8). Danach wurde die nächste R-Zacke aufgesucht und mit drei weiteren Messpunkten fortgeföhren. Dies wurde in allen

aufgenommen Videoclips identisch wiederholt und anschließend wurde durch das Programm aus den jeweiligen sechs Werten pro fünfsekündigem Clip ein absoluter und relativer Wert für die FMD und NMD errechnet. Diese Werte gingen in die statistische Auswertung ein.



**Abbildung 8:** Sonografische Darstellung des Gefäßes und Messung der FMD: Oberes Bild: vor hyperämischen Reiz. Unteres Bild: nach hyperämischen Reiz.

#### 4.6 Bestimmung des oxidativen Status

Zur Evaluierung des Einflusses von Ivabradin auf den oxidativen Status wurden von allen Patienten im Rahmen der regulären Blutentnahme beim ersten und vierten Studienbesuch zwei mit Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) vorgefüllte Röhrchen gewonnen. Anschließend wurde das gewonnene Vollblut innerhalb von fünf Minuten in einer Zentrifuge für 15 Minuten bei 3500 Umdrehungen und 4°C behandelt. Nach der Separierung entnahm ich das Plasma als Überstand mit einer Eppendorfpipette (jeweils

100µl) und füllte es in jeweils zwei Eppendorfröhrchen. Diese wurden dann mit Patientennamen und Abnahmedatum beschriftet und sofort bei -80°C in den laboreigenen Tiefkühlschrank verbracht. Nach Sammlung mehrerer Proben wurden diese auf Trockeneis gelagert und mit einem Expresskurier in das Labor der Immundiagnostik AG (Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Deutschland) verschickt. Die Mitarbeiter der Immundiagnostik bestimmten für uns Parameter, die es uns ermöglichten, Aussagen über den oxidativen Status der Probanden zu treffen. Zum einen wurde mittels Kolorimetrie die antioxidative Kapazität (ImAnOx) und die Gesamtkonzentration der Lipidperoxidasen (PerOx) bestimmt. Bei dieser Methode erfolgte die Messung der Konzentration unserer Proben mittels Vergleich einer Farbskala, die durch die bekannte Konzentration einer Kontrolllösung gewonnen wurde. Weitere Werte waren das oxLDL, das anti-oxLDL und die Myeloperoxidase (MPO), deren Konzentration mittels *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) bestimmt wurde. Dieses Verfahren basiert auf einer Antikörper-Antigen-Reaktion und die Konzentration kann mittels enzymatischer Farbreaktion quantifiziert werden.

#### 4.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der vorliegenden Daten erfolgte mit SPSS (Version 20.0, SPSS Corp., Chicago, Illinois, USA). Quantitativ stetige Parameter wurden als reelle Zahlen mit den für die gegebene Genauigkeit entsprechenden Dezimalstellen, quantitativ diskrete Merkmale als ganzzahlige Parameter verarbeitet.

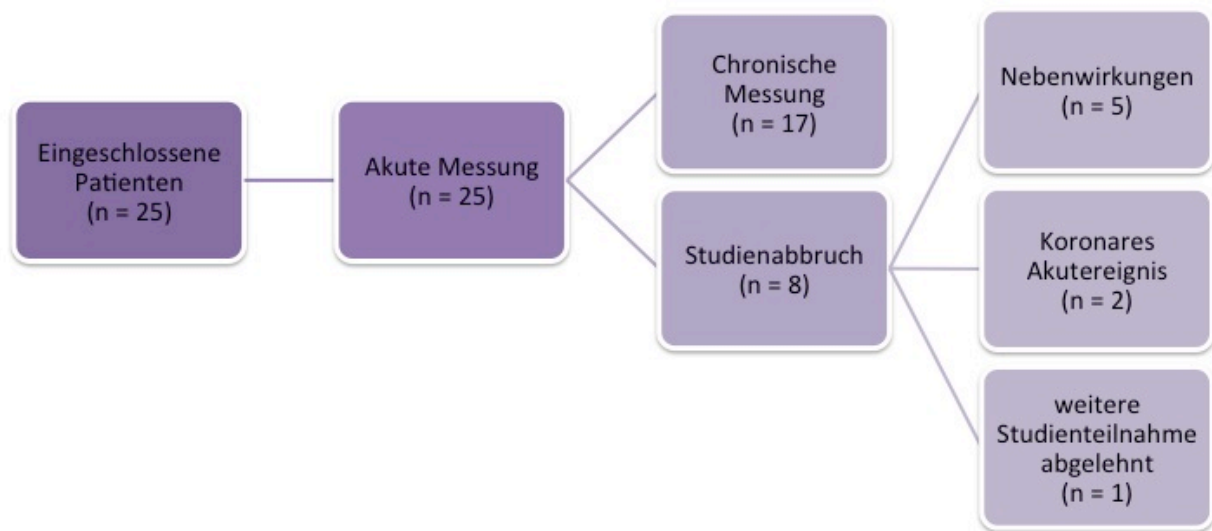
Alle Werte für FMD und Hf in Tabellen, Text und Abbildungen wurden als Median (M) mit Interquartilsabstand (IQR) =  $Q1 - Q3$  dargestellt (M [Q1-Q3]). Für die Basisparameter und demografischen Werte wurden die Mittelwerte und die Standardabweichung kalkuliert. Absolute und relative Häufigkeiten wurden für diskrete Variablen bestimmt. Alle statistischen Testverfahren waren zwei-seitig mit einem Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$ . Die nicht-parametrische Testung unserer Daten erfolgte aufgrund der kleinen Studiengröße. Zur Auswertung der gepaarten Stichproben wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test genutzt. Vergleiche zwischen FMD und Hf wurden mittels Regressionsanalyse dargestellt. Die Korrelationsberechnung erfolgte aufgrund nicht-normal verteilter Werte mit dem Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten.

## 5 ERGEBNISSE

### 5.1 Die Studienpopulation

Insgesamt wurden 25 Patienten in unsere Studie eingeschlossen. Bei allen 25 Teilnehmern konnten wir vier Stunden nach erstmaliger Einnahme von 7,5 mg Ivabradin den akuten Effekt des Wirkstoffs auf die Endothelfunktion untersuchen. Bei 17 dieser eingeschlossenen Patienten konnten wir zusätzlich den chronischen Effekt nach vierwöchiger Ivabradintherapie erheben. Acht Patienten brachen die Studie vorzeitig ab (siehe Abbildung 9). Fünf der Studienabbrecher beendeten unsere Studie frühzeitig wegen unerwünschter Nebenwirkungen wie Phosphenen, Schwindel und Müdigkeit, sodass nur der akute Effekt von Ivabradin dargestellt werden konnte. Bei allen Probanden, die die Studie aufgrund von Nebenwirkungen, die im Zusammenhang mit Ivabradin standen, abbrachen, wurde das Medikament sofort abgesetzt. In einer anschließenden klinischen Kontrolle waren die Symptome bei allen Patienten regredient. Die Basisparameter und demografischen Daten der Patienten sind in Tabelle 2 dargestellt. Das Durchschnittsalter betrug  $62,9 \pm 8,4$  Jahre und der mittlere BMI  $27,7 \pm 4,9$  kg/m<sup>2</sup>. 76% (n = 19) der Teilnehmer waren männlichen und 24% (n = 6) waren weiblichen Geschlechts. Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) lag bei allen Probanden im Normbereich. Der überwiegende Teil der Probanden wies kardiovaskuläre Risikofaktoren auf. So waren sechs (24%) Raucher, 22 (88%) hatten einen arteriellen Hypertonus, zehn (40%) einen Diabetes mellitus und 20 (80%) eine Dyslipidämie. Ebenso fanden bei zehn (40%) Teilnehmern kardiovaskuläre Ereignisse im Rahmen eines Myokardinfarktes in der Vergangenheit statt. Bei 80% (n = 20) der Teilnehmer war in der Vergangenheit eine perkutane koronare Intervention (PCI) oder ein Aorto-Koronarer-Venen-Bypass (ACVB) indiziert. Aktuell berichten 68% (n = 17) der Probanden von gelegentlichen pektanginösen Beschwerden, vor allem unter physischer und psychischer Belastung. 44% (n = 11) der Patienten erhielten eine zusätzliche Betablocker-Therapie.





**Abbildung 9:** Flussdiagramm der durchgeführten Untersuchung und Anzahl der Studienabbrüche mit Gründen.

**Tabelle 2:** Basischarakteristik und demografische Daten der Studienpopulation bei Studieneinschluss. Die Parameterbeschreibung erfolgte als Anzahl der Patienten (Prozentzahl) bzw. als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; BMI = Body Mass Index; RR syst. = systolischer Blutdruck; RR diast. = diastolischer Blutdruck; LVEF= linksventrikuläre Ejektionsfraktion; ACVB = Aorto-Koronarer-Venen-Bypass; PCI = *percutaneous coronary intervention* (perkutane Koronarintervention); ICD = Implantierbarer Cardioverter Defibrillator; COPD = *chronic obstructive pulmonary disease* (chronisch obstruktive Lungenerkrankung); ASS = Acetylsalicylsäure; ACE-Hemmer = *Angiotensin Converting Enzyme*-Hemmer; AT-1-Antagonist = Angiotensin-1-Antagonist; LDL= *low-density lipoprotein*; HDL = *high-density lipoprotein*; CRP = C-reaktives Protein; TSH = Thyroidea-stimulierendes Hormon; Hb = Hämoglobin.

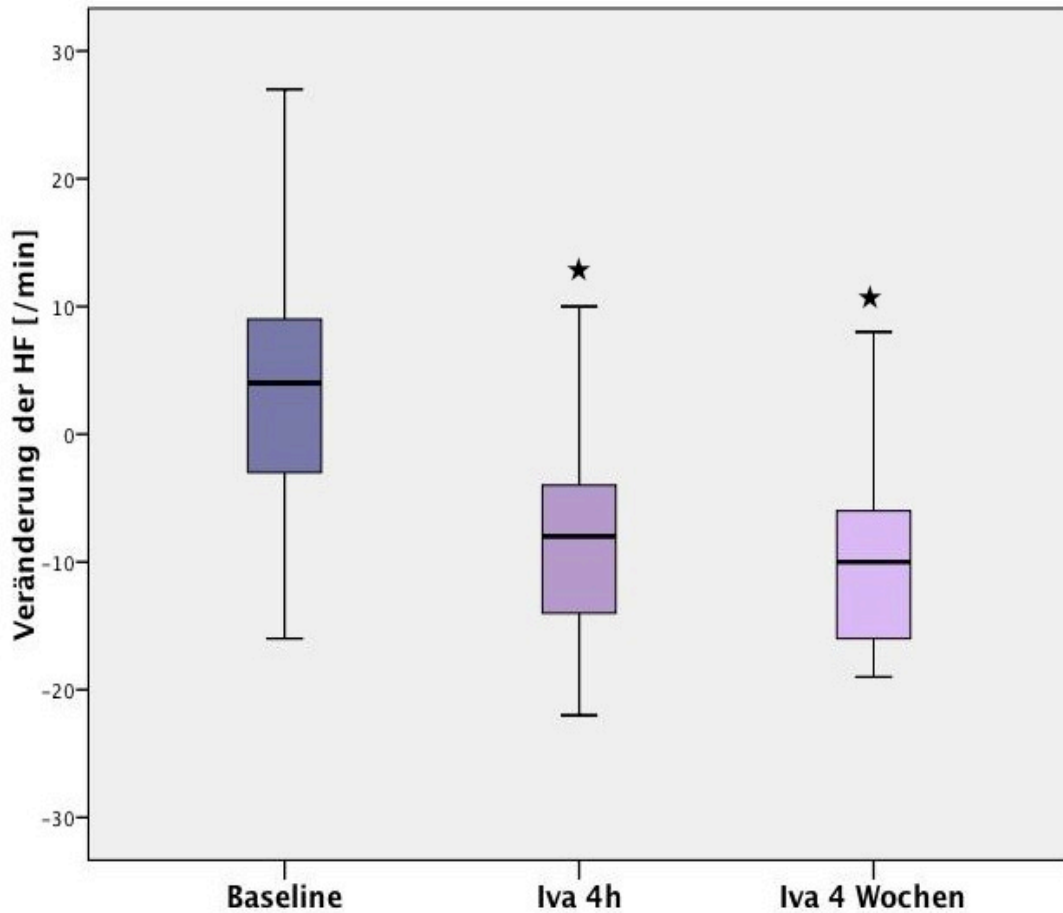
<b>Studienpopulation n = 25</b>	
<i>Demografische Charakteristik</i>	
Alter (Jahre)	62,9 $\pm$ 8,4
Männliches Geschlecht	19 (76%)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,7 $\pm$ 4,9
aktuell Raucher	6 (24%)
<i>Kardiale Parameter</i>	
Herzfrequenz (/min)	82,4 $\pm$ 10,8
RR syst. (mmHg)	126,7 $\pm$ 16,2
RR diast. (mmHg)	76,8 $\pm$ 9,0
LVEF (%)	54,8 $\pm$ 8,6
<i>Medizinische Vorgeschichte</i>	
Koronare Herzerkrankung	25 (100%)
arterieller Hypertonus	22 (88%)
Diabetes mellitus	10 (40%)
Dyslipidämie	20 (80%)
Z.n. Myokardinfarkt	10 (40%)
ACVB/PCI	20 (80%)
ICD	2 (8%)

stabile Angina pectoris	17 (68%)
<i>Kontraindikation für Betablockertherapie</i>	
Asthma bronchiale	3 (12%)
COPD	6 (24%)
Psoriasis vulgaris	4 (16%)
<i>Medikation</i>	
Betablocker	11 (44%)
Thrombozytenaggregationshemmer	20 (80%)
Statin	18 (72%)
ACE-Hemmer/ AT-1-Antagonist	23 (92%)
Nitrate	7 (28%)
Ca-Antagonist	13 (52%)
Diuretika	19 (76%)
Orale Antidiabetika	7 (28%)
Insulin	2 (8%)
<i>Laborparameter nüchtern</i>	
Glucose (mg/dl)	109,5 ± 34,3
Cholesterin (mg/dl)	177,8 ± 50,7
LDL (mg/dl)	106,0 ± 40,1
HDL (mg/dl)	56,4 ± 25,9
Triglyceride (mg/dl)	132,2 ± 54,9
Kreatinin (mg/dl)	1,0 ± 0,3
CRP (mg/dl)	0,5 ± 0,9

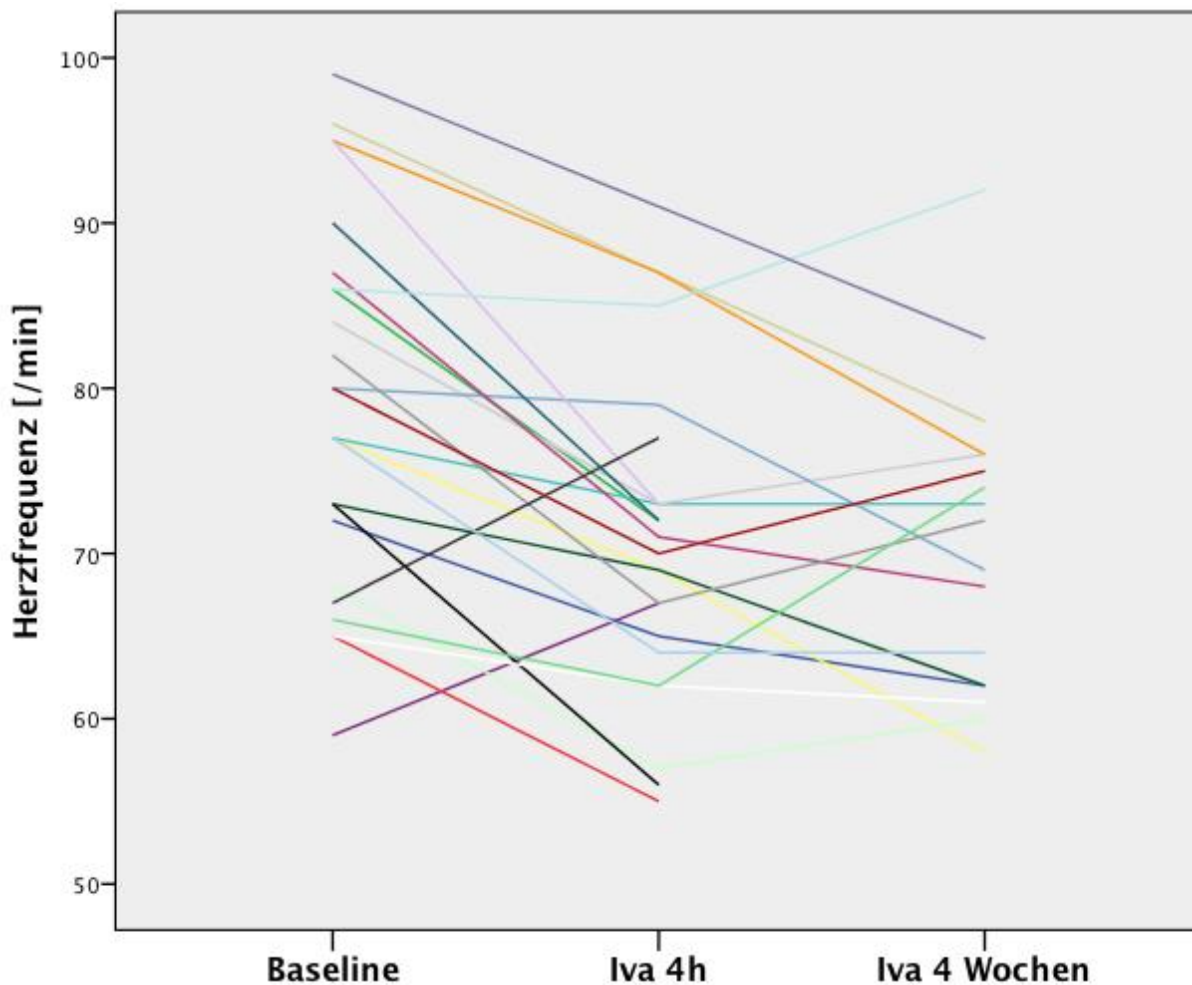
TSH (mU/l)	1,4 ± 0,8
Hb (g/dl)	13,3 ± 0,4

## 5.2 Ivabradin und Herzfrequenz

Ausgehend von einer Baseline Hf von 79/min [70-86,5], sank die Hf vier Stunden nach erstmaliger Einnahme von Ivabradin 7,5 mg auf 71/min [64-76,5] und nach vierwöchiger Therapie mit Ivabradin 5 oder 7,5 mg sahen wir eine Reduktion auf 72/min [62-76]. Somit konnten wir in unserer Studie eine signifikante Senkung der Hf vier Stunden nach Einnahme von 7,5 mg Ivabradin (-8 [-14-(-4)] /min) zeigen. Ebenso stellte sich eine signifikante Herzfrequenzreduktion bei zweimal täglicher Einnahme von Ivabradin (5 bis 7,5 mg) über vier Wochen (-10 [-17-(-5)] /min) im Vergleich zu den Ausgangswerten dar (siehe Abb. 10). In Abbildung 11 ist der Verlauf der Herzfrequenz aller Teilnehmer innerhalb des Studienzeitraums dargestellt.



**Abbildung 10:** Veränderung der Herzfrequenz. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. HF = Herzfrequenz; Iva = Ivabradin; Baseline: Differenz zwischen der Herzfrequenz um 08:00 Uhr und um 12:00 Uhr bei Studienbesuch 1 (ohne Ivabradin); Iva 4h: Differenz zwischen der Herzfrequenz vor und vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: Differenz zwischen der Herzfrequenz vor der ersten Gabe von Ivabradin (Besuch 2) und nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin. ★  $p \leq 0.05$  bezogen auf die Baseline.



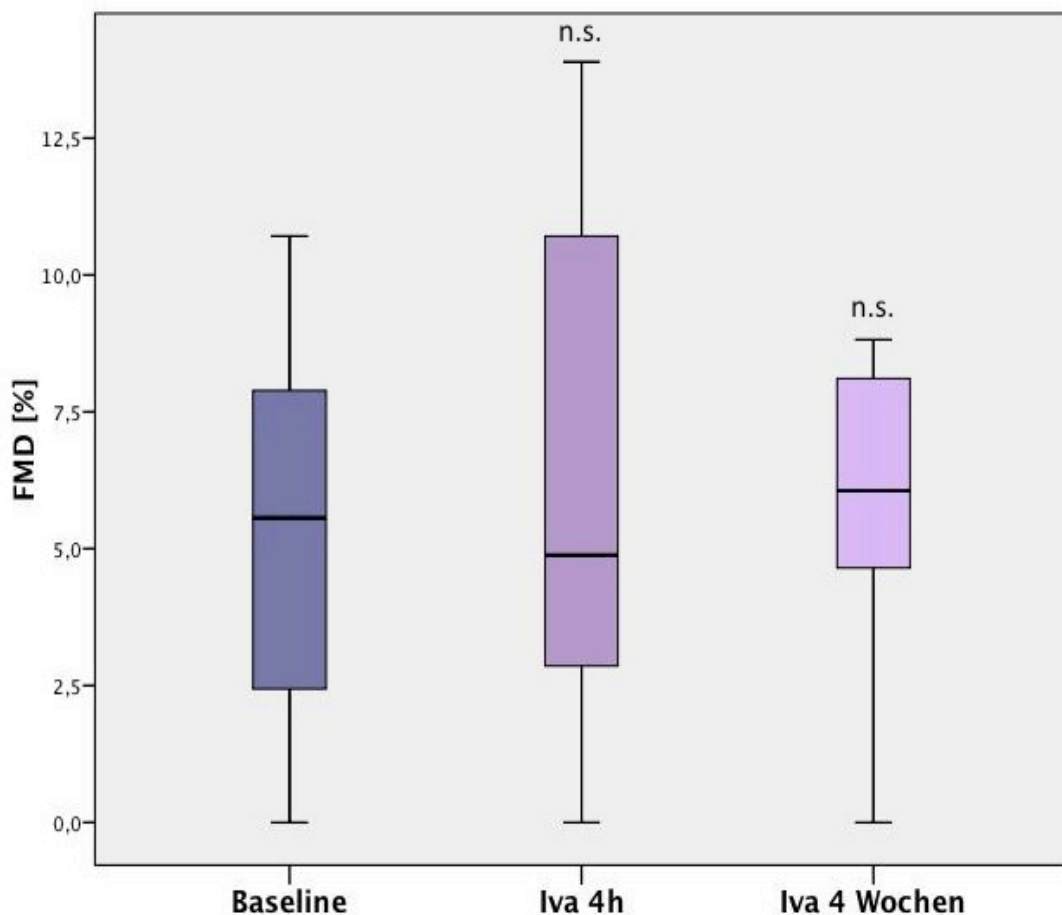
**Abbildung 11:** Veränderung der Herzfrequenz für jeden Studienteilnehmer. Iva = Ivabradin; Baseline: Herzfrequenz vor Ivabradin-gabe; Iva 4h: Herzfrequenz vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: Herzfrequenz nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin.

### 5.3 Ivabradin und FMD

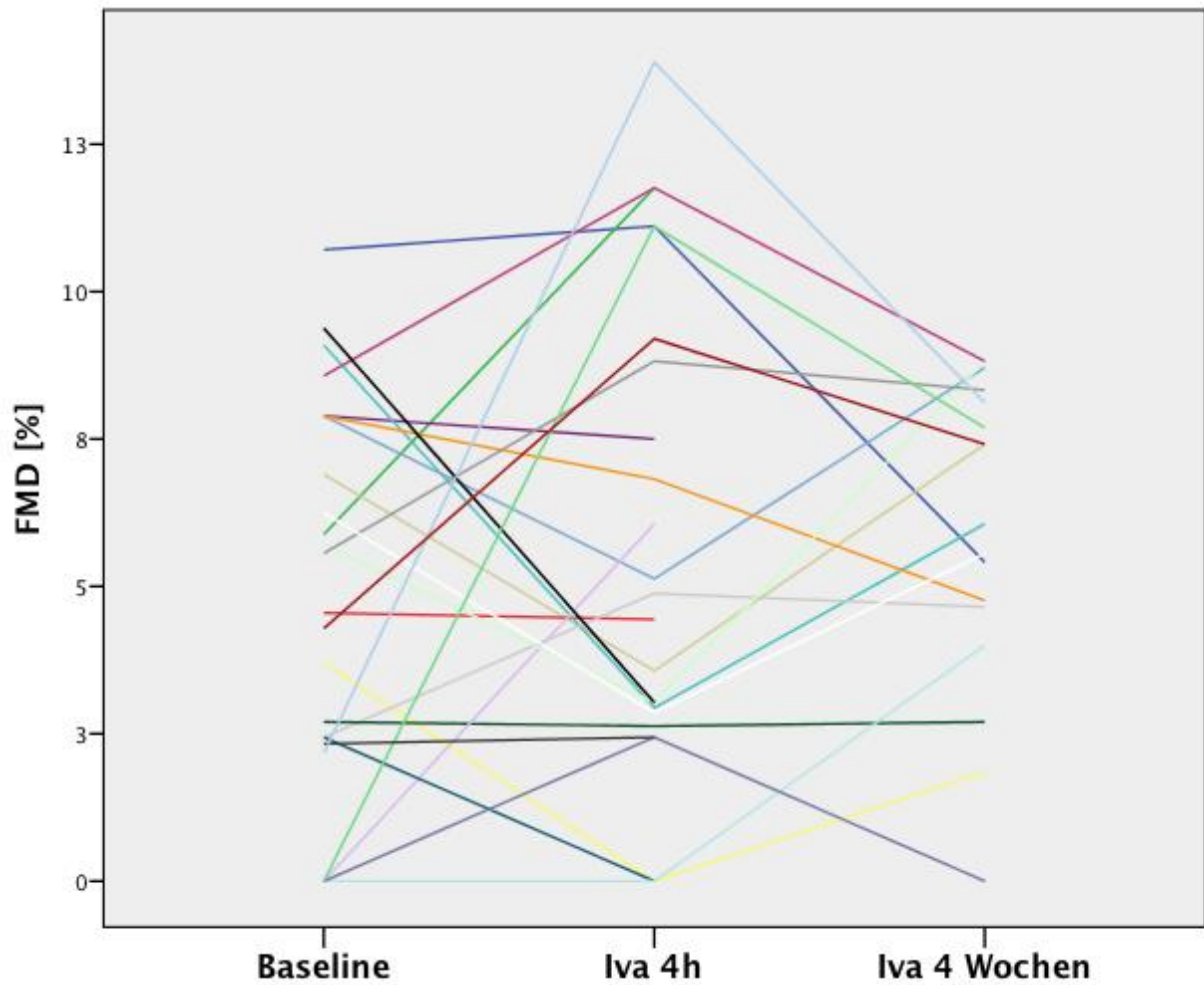
Nach Auswertung der Endothelfunktionsmessungen durch einen zur Studie verblindeten Untersucher konnten wir trotz der signifikanten Hf-Senkung, akut und chronisch, keine signifikante Änderung der FMD zeigen. Dies wurde weder bei der ersten Gabe von Ivabradin beim zweiten Studienbesuch noch nach vierwöchiger Therapie mit zweimal täglicher Einnahme von Ivabradin (5 bis 7,5 mg) erreicht. Die Baseline FMD betrug 5,0% [2,4-7,9] die FMD vier Stunden nach 7,5 mg Ivabradin war 4,9% [2,7-9,8] und die FMD vier Wochen unter Ivabradintherapie betrug 6,1% [4,3-8,2]. Diese Entwicklung der FMD im Verlauf der Studie wird in Abbildung 12 dargestellt. Die FMD der einzelnen Studienteilnehmer über den gesamten Studienzeitraum sind in Abbildung 13 zu sehen. In der Abbildung 14 sind die Differenzen der FMD an den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten zu sehen. Dabei betrachteten wir die Differenz zwischen der FMD um 08:00 Uhr und um 12:00 Uhr am ersten Studientag

ohne Ivabradineinnahmen (Baseline), am zweiten Studientag die Differenz zwischen 08:00 Uhr und 12:00 Uhr mit erstmaliger Einnahme von Ivabradin nach der morgendlichen Endothelfunktionsmessung (Iva 4h) und am letzten Studientag wurde die Differenz der FMD zwischen 08:00 Uhr des gleichen Tages und um 08:00 Uhr am zweiten Studientag berechnet (Iva 4 Wochen). In der Subgruppenanalyse der Patienten mit der höchsten Hf-Reduktion durch Ivabradin im Vergleich zum Ausgangswert (Median -8 für für Ivabradin akuter Effekt [n = 15], Median -10 für Ivabradin chronischer Effekt [n = 10]) stellte sich ebenfalls keine signifikante Veränderung der FMD dar (siehe Tabelle 3 und 4 und Abbildung 15 und 16).

Ivabradin zeigte weder bei Patienten mit noch bei Teilnehmern ohne vorbestehende Betablockertherapie einen Einfluss auf die Endothelfunktion.

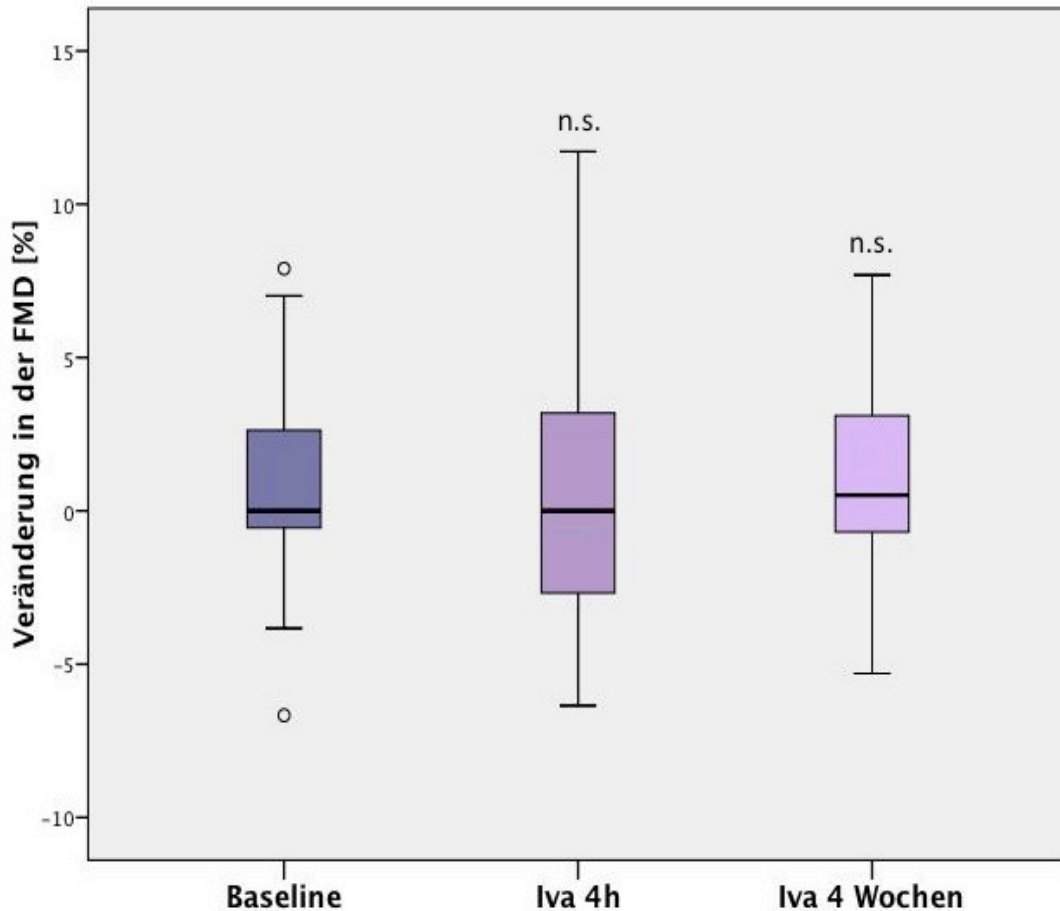


**Abbildung 12:** Veränderung der *flow-mediated dilation* (FMD): Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Iva = Ivabradin; Baseline: FMD vor Ivabradingabe; Iva 4h: FMD vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: FMD nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin. n.s.: nicht signifikant bezogen auf die Baseline.



**Abbildung 13:** Veränderung der *flow-mediated dilation* (FMD) für jeden Studienteilnehmer. Iva = Ivabradin; Baseline: FMD vor Ivabradineinnahme; Iva 4h: FMD vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: FMD nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin.





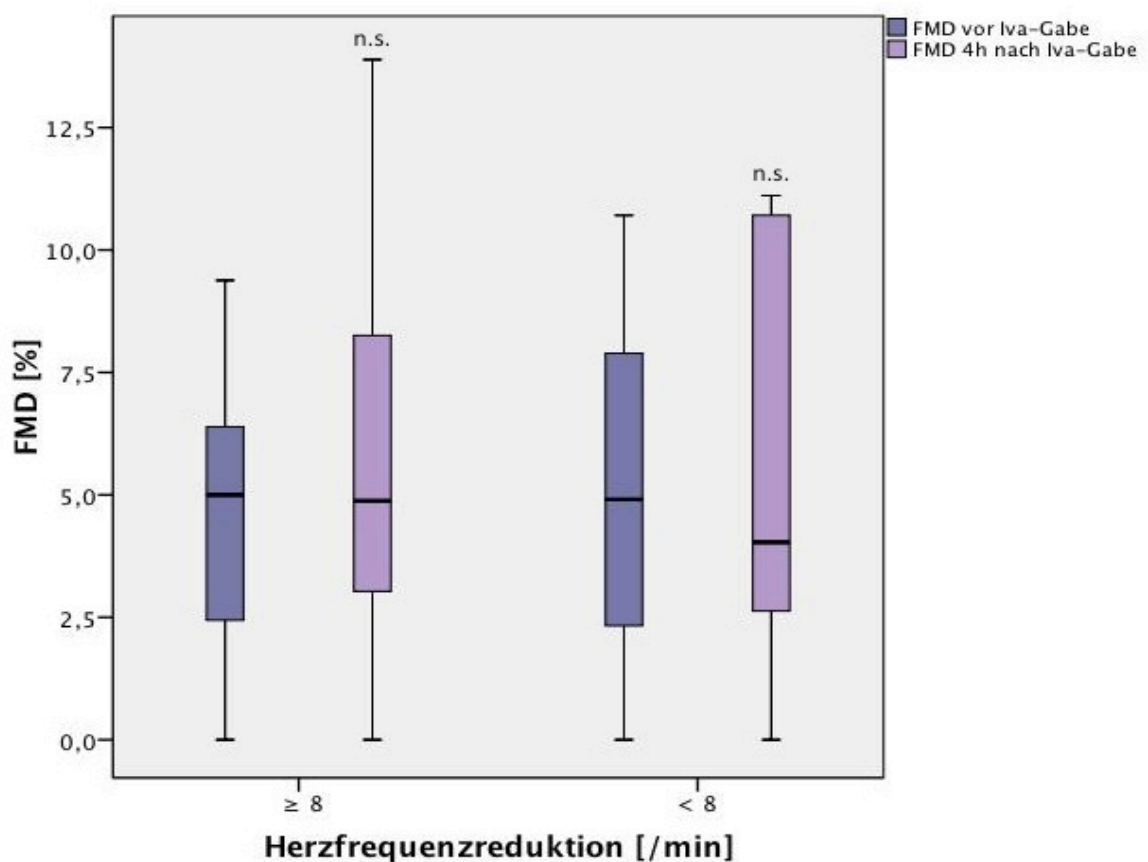
**Abbildung 14:** Veränderung der FMD während des Studienverlaufes. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Iva = Ivabradin; FMD = *flow-mediated dilation*. Baseline: Differenz zwischen der FMD um 08:00 Uhr und um 12:00 Uhr bei Studienbesuch 1 (ohne Ivabradin); Iva 4h: Differenz zwischen der FMD vor und vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: Differenz zwischen der FMD vor der ersten Gabe von Ivabradin (Besuch 2) und nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin. n.s.: nicht signifikant bezogen auf die Baseline.

**Tabelle 3:** Subgruppenanalyse mit der höchsten Herzfrequenzreduktion ( $\geq 8$ /min) nach erstmaliger Einnahme von Ivabradin. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Baseline: vor der ersten Einnahme von Ivabradin; Iva 4h: vier Stunden nach Einnahme von 7,5 mg Ivabradin;  $p \leq 0,05$  bezogen auf die Baseline; Iva = Ivabradin; Hf = Herzfrequenz; FMD = *flow-mediated dilation*.

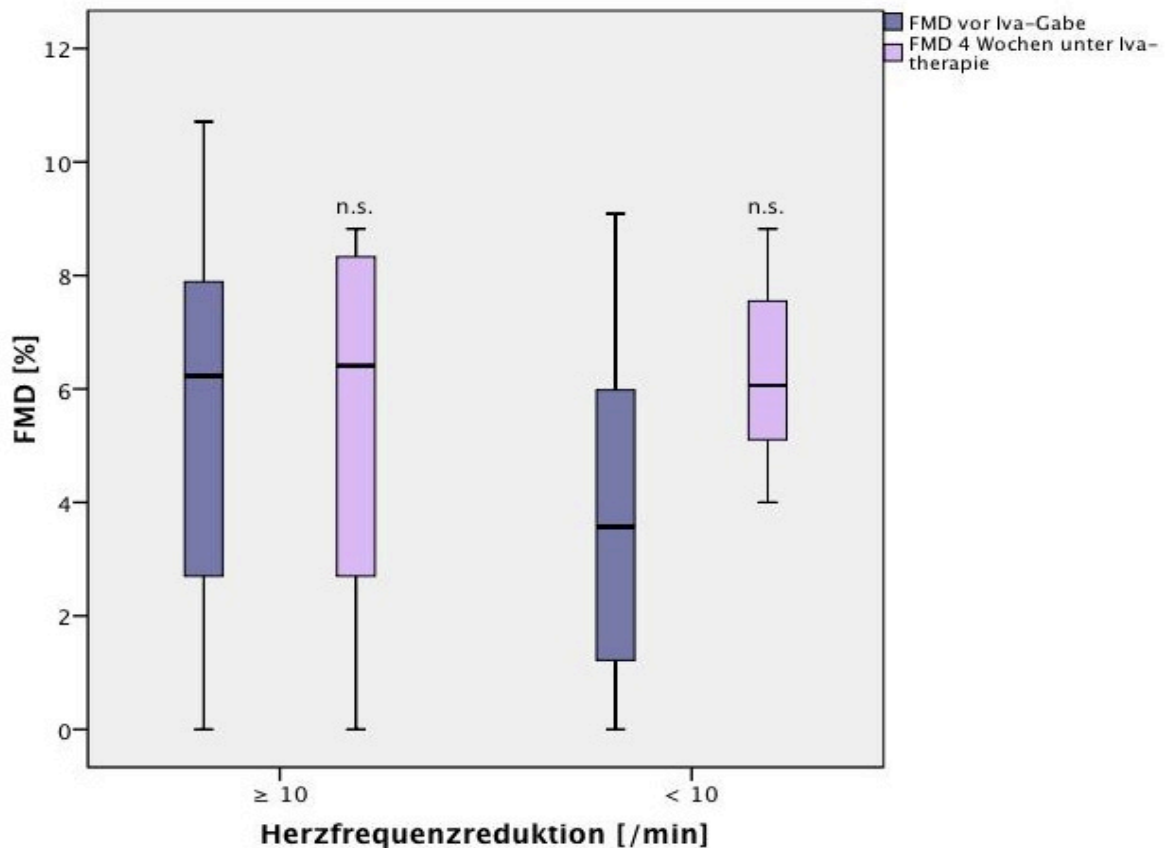
n = 15	Baseline	Iva 4 h	p
Hf/min	84 [77-95]	71 [64-73]	0,01
FMD%	5,0 [2,4-6,9]	4,9 [3,0-8,8]	0,495
NMD%	14,7 [8,3-22,0]	13,9 [7,1-19,5]	0,263

**Tabelle 4:** Subgruppenanalyse mit der höchsten Herzfrequenzreduktion ( $\geq 10/\text{min}$ ) nach vierwöchiger Einnahme von Ivabradin. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Baseline: vor der ersten Einnahme von Ivabradin; Iva 4 Wochen: vier Wochen zweimal tägliche Einnahme von Ivabradin (5 bis 7,5 mg);  $p \leq 0,05$  bezogen auf die Baseline; Iva = Ivabradin; Hf = Herzfrequenz; FMD = *flow-mediated dilation*.

n = 10	Baseline	Iva 4 Wochen	p
Hf/min	81 [76-95,3]	68,5 [62-76,5]	0,05
FMD%	6,2 [2,6-8,1]	5,5 [4,2-7,6]	0,612
NMD%	17,0 [8,9-27,3]	17,3 [10,7-27,7]	0,612



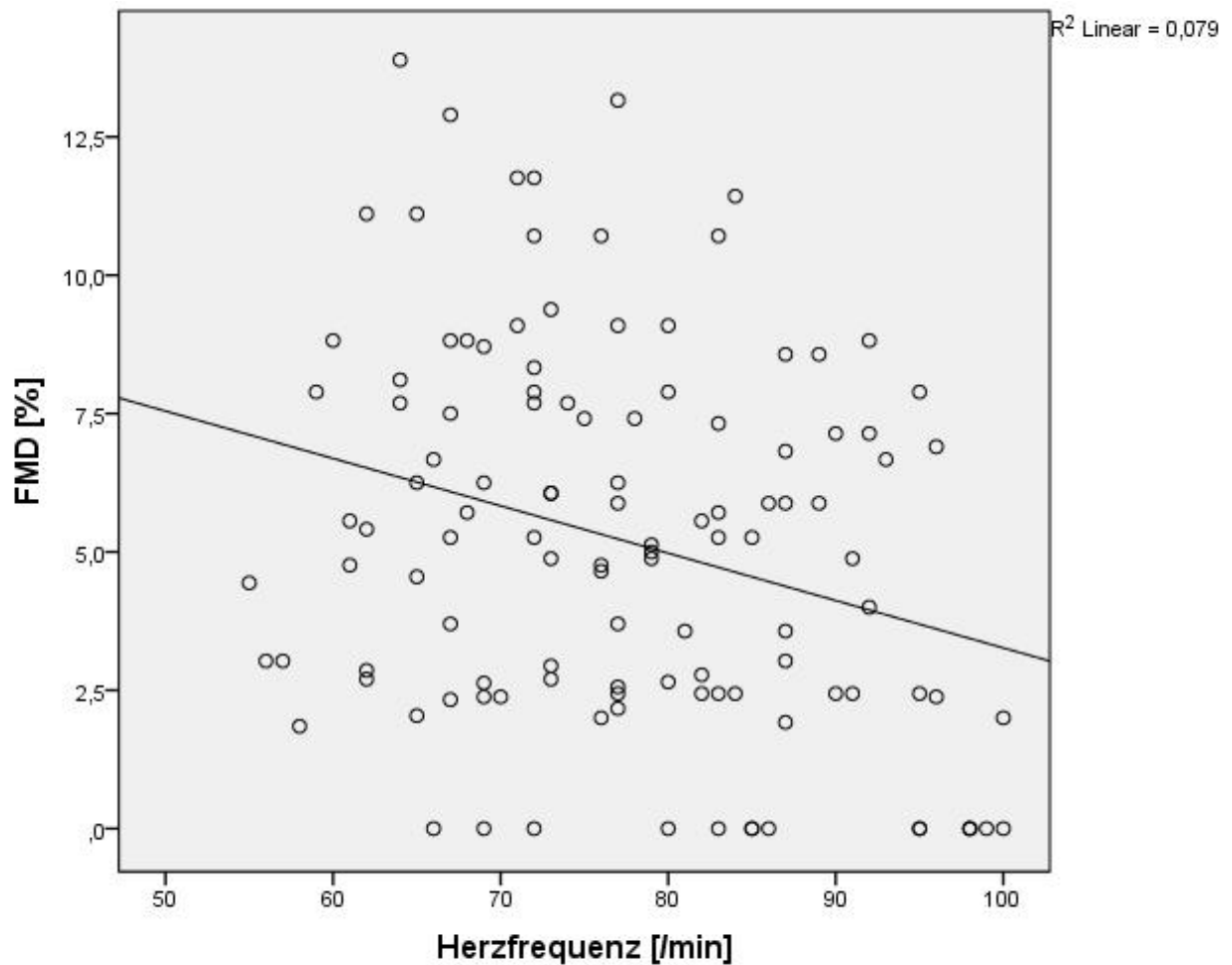
**Abbildung 15:** Veränderung der FMD vier Stunden nach Einnahme von Ivabradin in Bezug zur Höhe der Herzfrequenzreduktion. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Iva = Ivabradin; FMD = *flow-mediated dilation*; n.s.: nicht signifikant bezogen auf die FMD vor Ivabradin-Gabe.



**Abbildung 16:** Veränderung der FMD nach vierwöchiger Therapie mit Ivabradin in Bezug zur Höhe der Herzfrequenzreduktion. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Iva = Ivabradin; FMD = *flow-mediated dilation*; n.s.: nicht signifikant bezogen auf die FMD vor Ivabradin-Gabe.

#### 5.4 Korrelation von Herzfrequenz und FMD

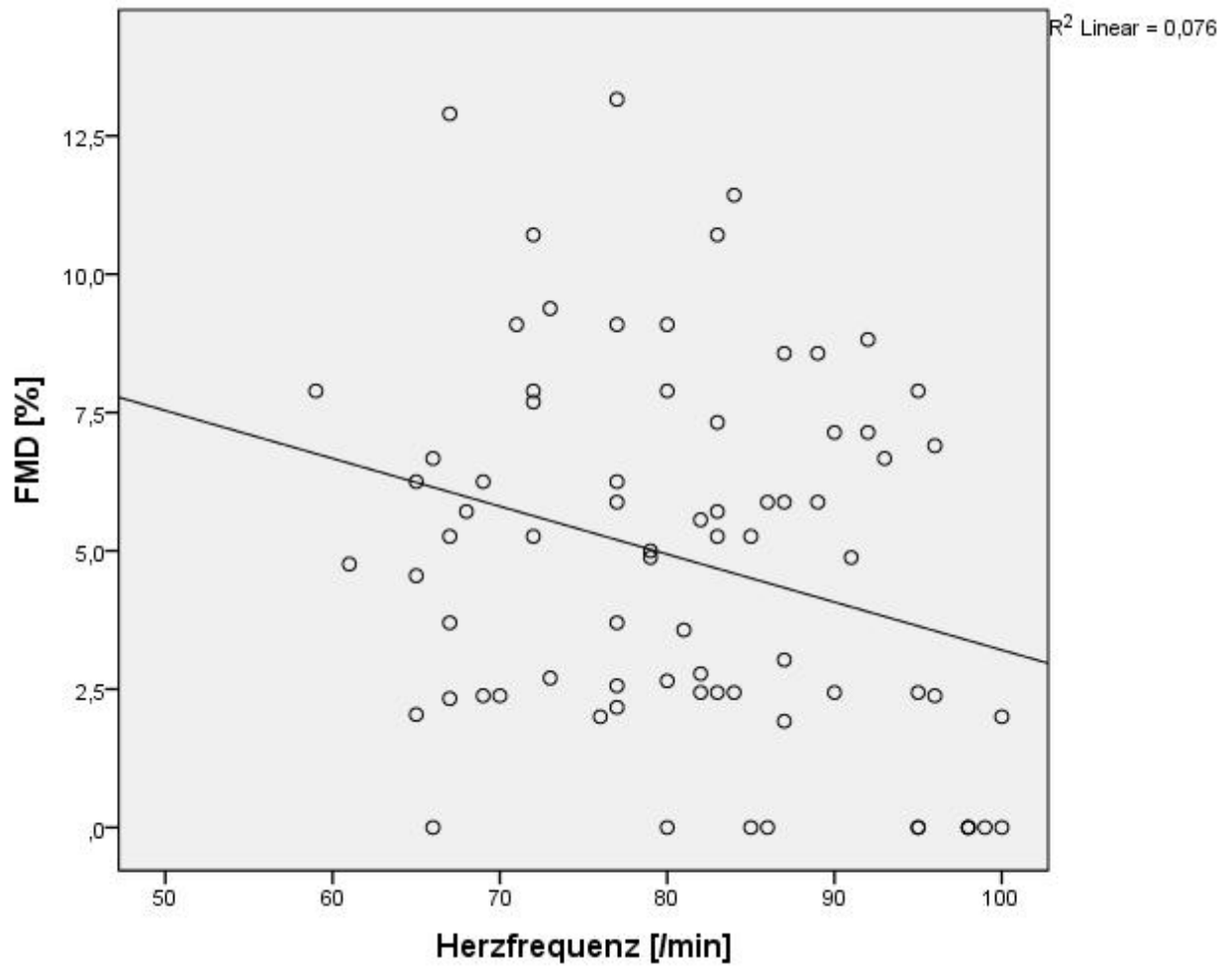
In einer durchgeführten Regressionsanalyse konnten wir eine statistisch signifikante inverse Korrelation zwischen Hf und FMD ( $r^2 = 0,079$ ), unabhängig von der Ivabradineinnahme ( $n = 109$ ), zeigen (siehe Abbildung 17). Zusätzlich betrachteten wir jeweils die Korrelation zwischen der Herzfrequenz und der FMD ohne Ivabradin ( $r^2 = 0,076$ ) und mit Ivabradin ( $r^2 = 0,039$ ). Die Anzahl der Teilnehmer für die Messdaten ohne Ivabradin war  $n = 75$  und mit Ivabradin war sie  $n = 42$ . Die dazugehörigen Streudiagramme sind in den Abbildungen 18 und 19 dargestellt. Dabei konnten wir eine inverse Korrelation zwischen der Hf und der FMD ohne Ivabradin zeigen, wobei eine hohe Herzfrequenz mit einer niedrigeren FMD assoziiert war (siehe Tabelle 5). Für die FMD-Messungen mit Ivabradin konnten wir dies nicht bestätigen.



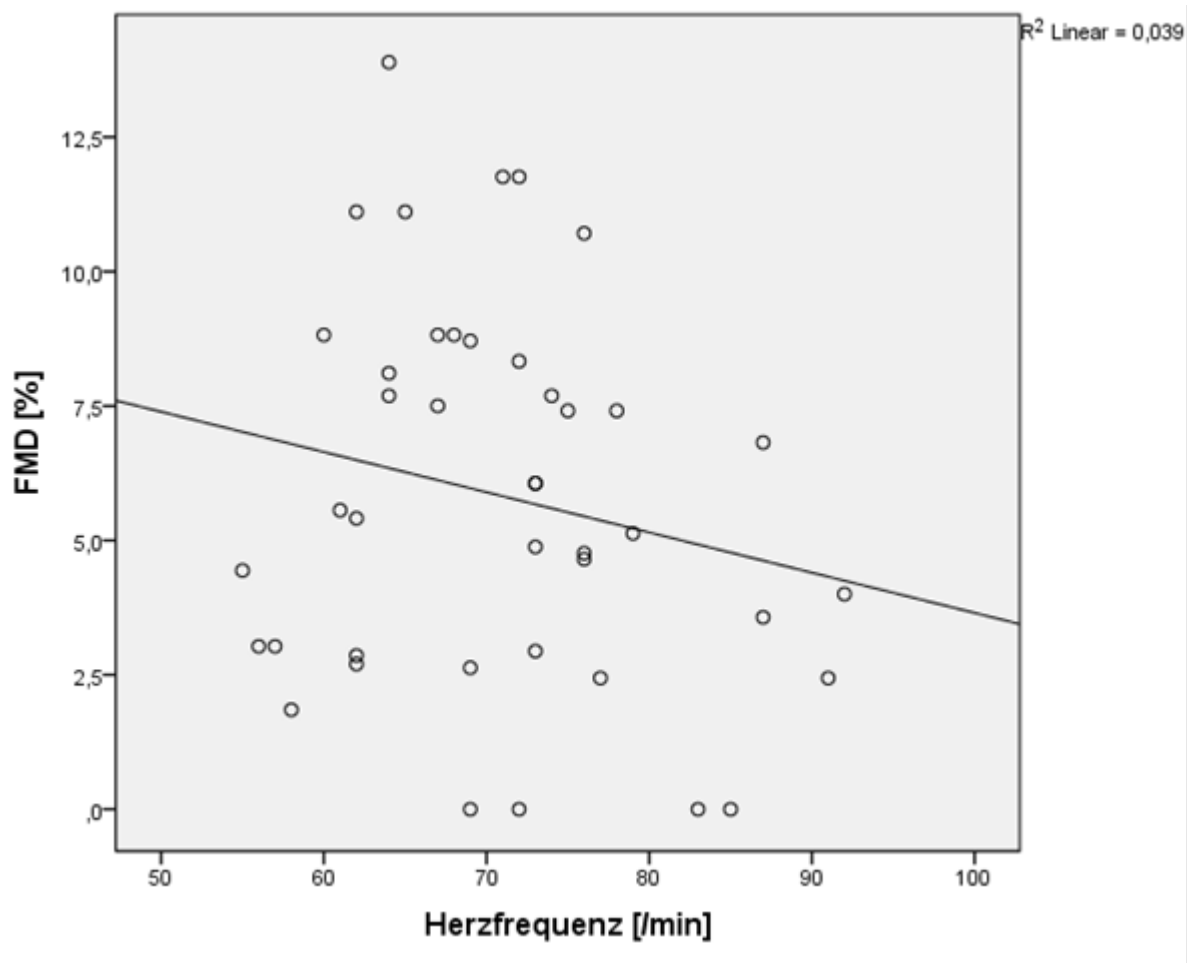
**Abbildung 17:** Herzfrequenz und FMD. Regressionsanalyse von Herzfrequenz und FMD unabhängig von der Ivabradineinnahme. FMD = *flow-mediated dilatation*.  $p = 0,004$ .

**Tabelle 5:** Spearman-Rangkorrelationskoeffizient von FMD und Herzfrequenz. Alle = alle Werte für FMD und Hf unabhängig von der Ivabradineinnahme; ohne Iva = alle Werte für FMD und Hf ohne Ivabradin; mit Iva = alle Werte für FMD und Hf mit Ivabradin;  $p \leq 0,05$ ; Iva = Ivabradin; Hf = Herzfrequenz; FMD = *flow mediated dilatation*.

	Anzahl n	FMD	p
alle	109	- 0,264	0,004
ohne Iva	75	- 0,240	0,038
mit Iva	42	- 0,181	0,253



**Abbildung 18:** Herzfrequenz und FMD. Regressionsanalyse von Herzfrequenz und FMD ohne Ivabradin. FMD = *flow-mediated dilatation*.  $p = 0,038$ .



**Abbildung 19:** Herzfrequenz und FMD. Regressionsanalyse von Herzfrequenz und FMD mit Ivabradin. FMD = flow-mediated dilation.  $p = 0,253$ .

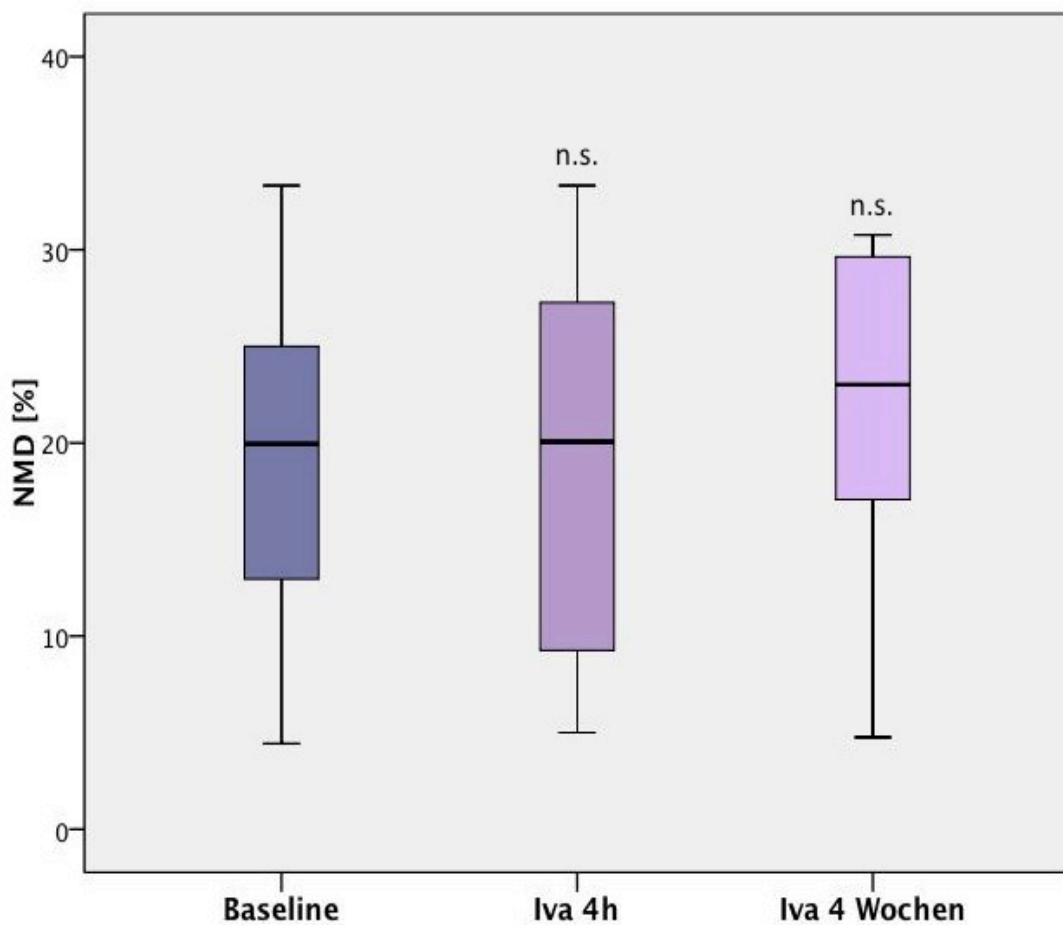
### 5.5 Intra- und Interobserver-Variabilität

Die Intraobserver-Variabilität wurde mittels IKK (Intra-Klassen-Koeffizient) berechnet. Der IKK der beiden Basisuntersuchungen für die FMD betrug 0,97 und für die NMD 0,99 ( $p = <0,001$ ). Die Interobserver-Variabilität betrug für die FMD 0,91 und für die NMD 0,98 ( $p = <0,001$ ).

### 5.6 Ivabradin und NMD

Weiterhin werteten wir die endothelunabhängige NMD aller Patienten aus und konnten dabei ebenfalls trotz der signifikanten Herzfrequenzreduktion keine statistisch signifikante Änderung der NMD feststellen. Die Baseline NMD betrug 16,7% [13,0-24,6], vier Stunden nach Einnahme von 7,5 mg Ivabradin war die NMD 17,3% [9,8-23,7] und nach vierwöchiger Ivabradineinnahme lag die NMD bei 21,1% [13,5-29,6]. Die

Veränderung in der NMD zu den verschiedenen Messzeitpunkten ist in Abbildung 20 dargestellt.



**Abbildung 20:** Veränderung der *nitro-mediated dilation* (NMD). Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Iva = Ivabradin; Baseline: NMD vor Ivabradineinnahme; Iva 4h: NMD vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: NMD nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin. n.s.: nicht signifikant bezogen auf die Baseline.

### 5.7 Ivabradin und oxidativer Status

Durch Bestimmung des oxidativen Status konnten wir eine signifikante Steigerung der oxLDL-Konzentration im Plasma unserer Patienten feststellen. Die oxLDL-Konzentration betrug bei der Erstuntersuchung vor Ivabradineinnahme 48,7 ng/ml [40,2-111,1] und nach vierwöchiger Therapie mit Ivabradin (5 oder 7,5 mg) 52,3 ng/ml [7,9-117,5]. Alle weiteren oxidativen Parameter wie anti-oxLDL, MPO, ImAnOx und PerOx waren zwischen Erst- und Folgemessung nicht signifikant unterschiedlich. In Tabelle 6 sind die Parameter des oxidativen Status dargestellt.





**Tabelle 6:** Vergleich des oxidativen Status vor und nach vier Wochen Ivabradintherapie. Alle Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Baseline: Blutentnahme und Bestimmung der oxidativen Parameter vor der ersten Einnahme von Ivabradin; Iva 4 Wochen: Blutentnahme und Bestimmung der oxidativen Parameter nach vierwöchiger zweimal täglicher (5 bis 7,5 mg) Ivabradineinnahme;  $p \leq 0,05$  bezogen auf die Baseline; oxLDL = oxidiertes *low-density lipoprotein*; anti-oxLDL = anti-oxidiertes *low density lipoprotein*; MPO = Myeloperoxidase; lmao = Antioxidative Kapazität; PerOx = gesamte Lipidperoxidase.

n = 17	Baseline	Iva 4 Wochen	p
oxLDL (ng/ml)	48,7 [40,2-111,1]	52,3 [7,9-117,5]	0,050
anti-oxLDL (U/ml)	9405 [6839-15000]	10123 [7424-13200]	0,842
MPO (ng/ml)	61,9 [51,3-98,0]	74,0 [47,7-97,5]	0,717
lmao ( $\mu\text{mol/l}$ )	320 [287-340]	320 [298,3-352,0]	0,365
PerOx ( $\mu\text{mol/l}$ )	204 [91-454]	275 [146-405]	0,241

### 5.8 Zusätzliche Einflüsse von Ivabradin

Ivabradin nahm in unserer Studie keinen Einfluss auf den systolischen und diastolischen Blutdruck der Patienten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt. Unter der vierwöchigen zweimal täglichen Einnahme von Ivabradin (5 bis 7,5 mg) konnten wir keinen Einfluss des Medikamentes auf die Lipidwerte feststellen. Weiterhin nahm Ivabradin auch keinen Einfluss auf die zusätzlich erhobenen laborchemischen Parameter wie Glucose, CRP und Hb (siehe Tabelle 8).

**Tabelle 7:** Vergleich systolischer und diastolischer Blutdruck vor und nach vier Wochen Ivabradintherapie. Baseline: Blutdruckmessung vor der ersten Einnahme von Ivabradin; Iva 4 Wochen: Blutdruckmessung nach vierwöchiger zweimal täglicher (5 bis 7,5 mg) Ivabradineinnahme;  $p \leq 0,05$  bezogen auf die Baseline; n = Anzahl der Teilnehmer; RR syst = systolischer Blutdruck; RR diast = diastolischer Blutdruck.

n = 17	Baseline	Iva 4 Wochen	p
RR syst (mmHg)	125,4 ± 16,8	132,5 ± 22,7	0,177
RR diast (mmHg)	73,3 ± 9,8	73,9 ± 9,6	0,977

**Tabelle 8:** Vergleich laborchemischer Parameter vor und nach vier Wochen Ivabradintherapie. Baseline: Blutabnahme vor der ersten Einnahme von Ivabradin; Iva 4 Wochen: Blutentnahme nach vierwöchiger zweimal täglicher (5 bis 7,5 mg) Ivabradineinnahme;  $p \leq 0,05$  bezogen auf die Baseline; n = Anzahl der Teilnehmer; LDL = *low-density lipoprotein*; HDL = *high-density Lipoprotein*; CRP = C-reaktives Protein; Hb = Hämoglobin.

n = 17	Baseline	Iva 4 Wochen	p
Cholesterin (mg/dl)	178,8 ± 55,7	192,6 ± 38,2	0,173
LDL (mg/dl)	110,7 ± 42,4	112,4 ± 35,4	0,514
HDL (mg/dl)	54,1 ± 29,8	50,2 ± 20,5	0,875
Triglyceride (mg/dl)	145,1 ± 54,8	177,0 ± 107,7	0,334
Glucose (mg/dl)	112,4 ± 39,5	123,8 ± 66,4	0,256
CRP (mg/dl)	0,4 ± 0,6	0,2 ± 0,2	0,293
Hb (g/dl)	14,1 ± 0,7	14,0 ± 1,4	0,586

## 6 DISKUSSION

### 6.1 Diskussion des Studiendesigns

Unsere Studie ist die erste Untersuchung am Menschen mit Blick auf die Wirkung einer exklusiven Herzfrequenzreduktion auf die Endothelfunktion. Um diese Auswirkungen zu evaluieren, nutzten wir das 2006 auf den Markt gekommene Ivabradin, welches der erste selektive If-Kanalhemmer ist. Ivabradin zeigt keine Wirkungen auf die kardiale Kontraktilität, den arteriellen Blutdruck, die intrakardiale Erregungsweiterleitung oder die ventrikuläre Repolarisation<sup>34, 35</sup>. Mittlerweile hat Ivabradin nach Veröffentlichung der SHIFT-Studie im Jahre 2010 als Klasse-IIa-B-Empfehlung der ESC Eingang in die Therapie der chronischen Herzinsuffizienz gefunden<sup>37</sup>. Die SHIFT-Studie kam zu dem Ergebnis, dass neben der Herzfrequenzsenkung, welche zu einer Verlängerung der Diastole und somit zu einer effektiveren kardialen Sauerstoff-Ausschöpfung führt, ein zusätzlicher pleiotroper Effekt von Ivabradin vorhanden zu sein scheint, der Remodelling-Prozesse am Herzen unterstützt<sup>38</sup>. Auf Grundlage dieser Ergebnisse konnte unsere Studie so geplant werden, dass wir zum einen akute und langfristige Effekte einer reinen Frequenzmodulation und zum anderen eventuelle pleiotrope Effekte durch Ivabradin evaluieren konnten.

Unser Studiendesign sah sehr strikte Ausschlusskriterien vor, sodass wir nur Patienten mit einer gesicherten KHK und einer Herzfrequenz über 70/min (in zwei konsekutiv erfolgten EKGs dokumentiert), die ansonsten kardial kaum vorerkrankt waren, einschließen konnten. Weiterhin mussten wir laborparametrisch sehr enge Grenzen setzen, da vor allem der Lipidstatus einen großen Einfluss auf die Endothelfunktion hat. Aufgrund der Ausschlusskriterien, die in Absatz 2.1 dargestellt sind, hatten wir ein Verhältnis von 1:10 bezogen auf den Studieneinschluss gescreenter Patienten. Mit den Ein- und Ausschlusskriterien orientierten wir uns vor allem an der Ivabradin-Zulassungsstudie BEAUTIFUL<sup>39</sup> aus dem Jahr 2006 und versuchten die mannigfaltigen Einflüsse auf die Endothelfunktion so weit wie möglich zu minimieren.

### 6.2 Diskussion der Methode

Die nicht-invasive Darstellung des Endothels mittels hochfrequentem Ultraschall und Erfassung der FMD ist eine seit 20 Jahren in der Angiologie etablierte Methode. Die Messungen erfolgten nach den aktuell gültigen Leitlinien<sup>12</sup>. Um dem internationalen

Standard gerecht zu werden, führte ich vor Beginn der Studie ca. 90 Probemessungen unter Supervision durch. Anschließend wurden die Studiendaten ausschließlich durch mich erhoben. Diese nicht-invasiv gewonnenen Daten der FMD sind nach ausführlichem Training einfach zu erfassen und reproduzierbar und den invasiv gewonnenen Daten mittels Acetylcholin-Injektion an den Koronarien ebenbürtig<sup>12</sup>.

Die hohen Werte der Intra- und Interobserver-Variabilität für FMD und NMD zeigen eine sehr gute Beherrschung der Messmethode und erlauben eine gute Vergleichbarkeit der Messungen zu den verschiedenen Zeitpunkten.

Ob die FMD verwertbar ist, wird mit einer Positiv-Kontrolle gezeigt, welche durch die nitrovermittelte Dilatation erfolgt. Die NMD ist endothelunabhängig und entsteht durch eine direkte Wirkung auf die glatten Muskelzellen der Gefäßmedia nach sublingualer Gabe von 0,4 mg Nitroglycerin. Anschließend kommt es zu einer Dilatation der A. brachialis, die weitaus deutlicher ist als bei der FMD. Sollte in der NMD keine Reaktion darstellbar sein, wäre eine Messung der wesentlich schwächeren FMD, welche durch eine indirekte Stimulation der glatten Muskelzellen mittels NO aus den Endothelzellen zu Stande kommt, nicht möglich. In unserer Studie erfolgte bei allen Patienten eine Positiv-Kontrolle mittels NMD.

Die Erfassung der FMD in der Phase der reaktiven Hyperämie ist simpel, jedoch auch sehr störanfällig. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, obliegt die Endothelfunktion vielen Einflüssen wie physischen und psychischen Belastungen<sup>28, 30</sup>, Rauchen<sup>20</sup>, Alkohol, Medikamenteneinnahme, Drogen, fettreicher Ernährung, Vitamin- und Mineralstoffpräparaten, Koffein und Bestandteilen von grünem und schwarzem Tee<sup>40, 41</sup>. Weiterhin haben auch verschiedenste Krankheitsbilder wie die KHK<sup>24</sup>, der Diabetes mellitus<sup>16</sup>, die Hypercholesterinämie<sup>16, 17</sup>, der arterielle Hypertonus<sup>13, 18</sup> und die chronische Herzinsuffizienz<sup>19, 20</sup> Auswirkungen auf die FMD und bilden die Grundlage für eine eingeschränkte Endothelfunktion. Zur Elimination der externen Störfaktoren wurden unsere Patienten gebeten, zwölf Stunden vor den Messungen und zwischen den Messungen eines Studientages nicht zu rauchen, keinen Kaffee, Tee oder Alkohol zu trinken und keine Vitamin- und Mineralstoffpräparate einzunehmen. Die Teilnehmer erschienen zur morgendlichen Messung nüchtern und erhielten anschließend ein standardisiertes Frühstück von uns. Wir konnten jedoch nicht erfassen, wie der

Lebensstil der Probanden zwischen den einzelnen Studientagen aussah, auch wenn wir diese um Einhaltung der in Abschnitt 2.2 genannten Verhaltensweisen baten.

### 6.3 Diskussion der Studienpopulation

Unsere Studienteilnehmer zeigten ein ausgeprägtes kardiovaskuläres Risikoprofil bestehend aus einer Raucheranamnese, einer Prä-Adipositas (BMI 27,7 kg/m<sup>2</sup>) und Komorbiditäten wie einem arteriellen Hypertonus, einem Diabetes mellitus und einer Dyslipidämie (siehe Absatz 2.1), welches charakteristisch für das Patientengut der KHK ist. Der überwiegende Anteil unserer Patienten war wie durch die europäischen Leitlinien für die Prävention und Therapie der KHK empfohlen therapiert<sup>8</sup>.

#### 6.3.1 Thrombozytenaggregationshemmung in der Studienpopulation

Nach Aufnahme der Basischarakteristik aller 25 Studienteilnehmer, stellten wir fest, dass nur 80% (n = 20) der Teilnehmer trotz gesicherter KHK ein Thrombozytenaggregationshemmer in Form von ASS einnahmen, welches als Standardtherapeutikum im Rahmen einer KHK etabliert ist (ESC Klasse-IA-Empfehlung)<sup>8</sup>. Drei Patienten verweigerten die Einnahme von ASS und waren allgemein auffällig durch ihre Therapie-Incompliance und gehörten zu den 32% (n = 8) der Studienabbrecher. Die restlichen zwei Patienten gaben eine ASS-Unverträglichkeit an, wobei einer eine Thrombozytenaggregationshemmung durch Clopidogrel nach Implantation eines Drug-eluting Stents (DES) erhielt.

#### 6.3.2 Statintherapie bei Diabetes mellitus Typ II in der Studienpopulation

Ein Statinpräparat hatten 72% unserer Teilnehmer in ihrer Hausmedikation, 32% davon zeigten eine laborparametrisch erfassbare Hypercholesterinämie unter laufender Therapie. Als Hypercholesterinämie wurde eine Nüchternplasmawert  $\geq 190$  mg/dl gewertet, orientierend an der aktuellen Empfehlung der ESC zur KHK-Therapie<sup>8</sup>. Alle Patienten mit einem Diabetes mellitus, behandelt mit oralen Antidiabetika oder insulinpflichtig, hatten ebenso eine vorbestehende Statintherapie. Bei Statinpräparaten konnte in der Vergangenheit eine positive Wirkung auf das kardiovaskuläre System gezeigt werden. Dies bezog sich auf die Morbidität und die Rehospitalisierungshäufigkeit aufgrund kardiovaskulärer Ereignisse und war unabhängig von der Ausgangshöhe des LDL<sup>42, 43</sup>. Aufgrund dessen wird davon ausgegangen, dass Statinpräparate neben ihren cholesterinsenkenden Eigenschaften pleiotrope Effekte aufweisen, welche auch bei normalem LDL-Spiegel zu verzeichnen

sind. Die aktuellen Leitlinien der ESC für die Therapie der KHK geben unabhängig von der Höhe des LDL eine Klasse IA-Empfehlung für die Behandlung mit Statinen bei Typ II-Diabetikern an. Diese Patienten haben aufgrund ihrer Grunderkrankung ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko. In unserer Studie waren alle Typ II-Diabetiker leitliniengerecht therapiert<sup>8</sup>.

## 6.4 Diskussion der Ergebnisse

### 6.4.1 Hauptaussage der vorliegenden Daten

Die Haupteckentnis aus den vorliegenden Daten ist, dass die Therapie mit Ivabradin nicht mit einer signifikanten Verbesserung der Endothelfunktion bei Patienten mit stabiler KHK assoziiert ist, weder vier Stunden nach erstmaliger Gabe von 7,5 mg Ivabradin noch nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme von Ivabradin (5 bis 7,5 mg). Obwohl die Hf um circa 10% gesenkt werden konnte, konnten wir keine Veränderungen der FMD, welche nicht-invasiv mit hochfrequentem Ultraschall an der A. brachialis gemessen wurde, beobachten. Dies konnte weder nach vierstündiger noch nach vierwöchiger Therapie mit Ivabradin gezeigt werden. Selbst in den Subgruppen mit der höchsten Herzfrequenzsenkung bezogen auf die Ausgangswerte fanden wir keinen signifikanten Einfluss auf die Endothelfunktion unserer Probanden.

### 6.4.2 Ivabradin und Herzfrequenz

Wir konnten eine statistisch signifikante Herzfrequenzreduktion sowohl im Rahmen der akuten Wirkung von Ivabradin als auch nach vierwöchiger Ivabradintherapie zeigen. Die Höhe der Frequenzsenkung von circa 10% (10,1% nach vier Stunden Ivabradin und 8,9% nach vier Wochen Ivabradin) deckt sich mit den Daten, die aus der BEAUTIFUL-Studie (minus 15,3% nach vier Wochen) und aus der SHIFT-Studie (minus 20% nach vier Wochen) gewonnen wurden<sup>31, 38</sup>. Weiterhin zeigen tierexperimentelle Untersuchungen mit Ivabradin eine ähnlich hohe und statistisch signifikante Herzfrequenzreduktion<sup>25-27, 36</sup>.

In Abbildung 6 kann man jedoch sehen, dass zwei der Teilnehmer vier Stunden nach Einnahme von 7,5 mg Ivabradin und fünf andere nach vier Wochen Therapie einen Frequenzanstieg und keinen Frequenzabfall boten. Dies kann durch mehrere Faktoren verursacht sein: Erstens, die Patienten gehörten zu einer Non-Responder-Gruppe, bei denen das eingesetzte Medikament nicht die gewünschte Wirkung zeigt. Dazu lassen

sich keine Angaben in der Ivabradinzulassungsstudie BEAUTIFUL und der aktuellen SHIFT-Studie finden<sup>31, 38</sup>. Zweitens wäre es möglich, dass sich die Patienten trotz des vierstündigen Aufenthalts in einem ruhigen Raum unserer Klinik, psychisch belastet haben. Eventuell reichte auch die fünfminütige Ruhepause vor Erfassung des 12-Kanal-EKGs bei diesen Patienten nicht aus. Bei den fünf Patienten, die nach vier Wochen keine Reduktion der Herzfrequenz zeigten, wäre es zusätzlich noch denkbar, dass sie anders als erwünscht zur Untersuchung angereizt waren (z.B. mit Fahrrad, schnelles Laufen). Weiterhin können wir nicht mit Sicherheit sagen, wie hoch die Compliance der Patienten war und ob sie Ivabradin vier Wochen lang genommen haben.

#### 6.4.3 Ivabradin und FMD

Wie unter Absatz 4.3.3 zusammengefasst, konnten wir bei unseren Studienteilnehmern keine signifikante Veränderung der FMD zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten feststellen. Bei der Messung des akuten Effektes von Ivabradin nach vierstündiger Wirkdauer war kein Unterschied in der FMD sichtbar. Es war lediglich ein Trend nach vierwöchiger zweimal täglicher Ivabradineinnahme nachweisbar. Dieses Ergebnis widerspricht überwiegend experimentellen Daten, welche unter verschiedenen Bedingungen von ApoE<sup>-/-</sup> Mäusen gewonnen wurden, die als Modell der Hyperlipidämie-induzierten endothelialen Dysfunktion etabliert sind. Bei den Tieren konnte die lipidinduzierte Dysfunktion durch die Hf-Senkung mittels des If-Kanalhemmers Ivabradin aufgehoben werden<sup>25-27, 36</sup>. Drouin berichtet in seiner Studie aus dem Jahr 2008, dass Ivabradin bei Mäusen mit humaner Apolipoprotein B-100-Expression vor einer Verschlechterung der Endothelfunktion renaler und cerebraler Arterien schützt<sup>26</sup>. Ebenso zeigen die Daten von Custodis aus dem gleichen Jahr bei ApoE<sup>-/-</sup> Mäusen eine gesteigerte Endothelfunktion der Aortenringe, reduzierten oxidativen Stress an der Gefäßwand (vermehrte antioxidative Effekte) und eine Verringerung der atherosklerotischen Plaquebildung. Diese Effekte waren unabhängig von Blutdruck oder Lipidsenkung<sup>25</sup>. Vor kurzer Zeit zeigte Schirmer in einem Maushinterfußmodell der endothelialen Dysfunktion, dass Ivabradin die Atherogenese verbessert, die eNOS-Expression erhöht und sowohl die NO-Bioverfügbarkeit als auch die endothelabhängige Dilatation steigert. Als Hauptwirkmechanismus wird die reine Hf-Senkung angesehen, da Ivabradin keine direkten Wirkungen auf das Endothel zeigt, weder in kultivierten Endothelzellen noch an isolierten Aortenringen von ApoE<sup>-/-</sup> Mäusen<sup>36</sup>. Auch neuere Daten der Arbeitsgruppe um Baumhäkel und Custodis belegen

antiatherosklerotische Effekte einer selektiven Herzfrequenzreduktion im Modell der Cholesterin-gefütterten ApoE<sup>-/-</sup> Maus mit erektiler Dysfunktion. So führt die selektive Reduktion der Hf mittels Ivabradin durch antioxidative sowie durch antiinflammatorische Effekte zu einer Verbesserung der Endotheldysfunktion, einer damit einhergehenden Besserung der erektilen Dysfunktion und einer Reduktion atherosklerotischer Läsionen<sup>27</sup>.

Eine Studie aus den Niederlanden kommt zu ähnlichen Ergebnissen wie unsere Studie. In dieser Untersuchung wurden die Effekte einer Langzeitherzfrequenzsenkung auf die kardiale Angiogenese und Endothelfunktion in einem post-Myokardinfarkt Rattenmodell untersucht. Die Ratten erhielten über zwölf Wochen Ivabradin oder Metoprolol. Es konnte in beiden Gruppen trotz signifikanter Reduktion der Hf kein Schutz vor Entwicklung einer endothelialen Dysfunktion in der thorakalen Aorta gezeigt werden<sup>44</sup>.

Die Gründe für die unterschiedlichen Ergebnisse unserer Probanden im Vergleich zu den Tiermodellen sind nicht geklärt, jedoch spielen vielleicht Artenunterschiede eine wichtige Rolle. Die Hf beim Menschen liegt normalerweise unter 100/min, bei kleinen Tieren wie Mäusen jedoch um 600/min, sodass es trotz ähnlicher relativer Herzfrequenzsenkung aufgrund der Höhe der absoluten Senkung zu unterschiedlichen Wirkungen auf die Endothelfunktion kommen könnte. Harzheim berichtete unter anderem, dass die *hyperpolarization-activated and cyclic nucleotide gated channels* (HCN-Kanäle), an dessen Unterform HCN4 Ivabradin am Sinusknoten wirkt, die Hf nur bei embryonalen Mäusen erwiesen mitreguliert. Bei erwachsenen Mäusen, welche für die oben genannten Studien genutzt wurden, wird die Hf nur während und nach Belastung über die HCN4-Kanäle gesteuert<sup>45, 46</sup>. Das würde bedeuten, dass die Ruheherzfrequenz bei erwachsenen Mäusen mittels Ivabradin nicht reguliert werden kann und die weiter oben erwähnten positiven Effekte auf das Gefäßendothel nicht auf die Herzfrequenzreduktion zurückzuführen wären. Diesen Ansatz unterstützt auch eine Studie aus dem Jahre 1995 (vor der eigentlichen Zulassung von Ivabradin), die zu dem Schluss kommt, dass Ivabradin keine Effekte auf die Endothelfunktion in Ruhe hat. Darin untersuchten die Pharmakologen erwachsene Hunde, die mit Ivabradin oder Propranolol in Ruhe und unter Belastung behandelt wurden. Die Evaluierung der FMD (mittels Acetylcholinjektion) und NMD (mittels Nitroglycerininjektion) erfolgte invasiv an den Koronarien. Das Ergebnis der Studie zeigte, dass Ivabradin keinen Effekt auf die



Koronardilatation in Ruhe hat, aber die Möglichkeit einer Dilatation unter Belastung erhält im Gegensatz zu Propranolol, welches sowohl in Ruhe als auch unter Belastung vasokonstriktorisch wirkte<sup>47</sup>. Diese Studie ist vielleicht vergleichbarer als die Studien an Mäusen, da erwachsene Hunde mit ihrer Hf von circa 60-120 Schlägen pro Minute dem Menschen deutlich ähnlicher sind.

Eine weiterer Grund für die divergierenden Ergebnisse zwischen humanen und Tier-Studien könnte die unterschiedliche Erhebung der Endothelfunktion bei Mensch und Tier sein. Die Endothelfunktion des Mausmodells wurde invasiv nach Präparation der Aortenringe, der renalen oder cerebralen Arterien erhoben. Dagegen erfolgte in unserer Studie die Evaluierung der FMD als Surrogatmarker einer Makroangiopathie nicht-invasiv mittels Ultraschall. Die Methode der Messung im Rahmen unserer Studie erlaubt uns über die ermittelte Endothelfunktion einen Rückschluss auf die NO-Bioverfügbarkeit zu ziehen. Während der hyperämischen Phase nach Ablassen der Stauung am Unterarm wirken Scherkräfte auf die Gefäßwand ein, die zu einer Aktivierung der Endothelzellen und Sezernierung von NO führt. Die Messung der FMD ist eine weit verbreitete Methode, jedoch wurde bisher nur eine Multicenterstudie durchgeführt, da keine ausreichend hohe Qualität zum Vergleich zwischen den verschiedenen Einrichtungen gewährleistet werden kann. In diesem Zusammenhang steht auch die Frage im Raum, ob unsere Studienpopulation trotz strenger Ausschlusskriterien zu heterogen für die Evaluierung der FMD vor und nach einer medikamentösen Intervention war. Vielleicht ist die Endothelfunktion aufgrund interindividueller Unterschiede der Studienteilnehmer in Bezug auf Art der Erkrankung, Krankheitsdauer, Therapie, Interventionsart und -anzahl und Medikamenteneinnahme nicht vergleichbar. Zusätzlich waren wir auch nicht in der Lage, Einflüsse auf die FMD, die durch Ernährung, Genussmittelkonsum und Stress, welche vor Studieneinschluss und zwischen den Studienterminen wirkten, zu kontrollieren.

Fraglich ist auch, ob wir unsere Patienten über einen zu kurzen Zeitraum, also vier Wochen, mit Ivabradin behandelt haben. Es ist möglich, dass die Regeneration der Endotheldysfunktion, die bei allen Patienten aufgrund der unterschiedlichen Krankheitsdauer und -kombination länger oder kürzer besteht, mehr Zeit in Anspruch nimmt. In den oben genannten tierexperimentellen Studien betrug die Behandlungsdauer mindestens sechs Wochen<sup>25, 36</sup> und maximal zwölf Wochen<sup>26, 27</sup>,

sodass eventuell positive Effekte auf die Endothelfunktion unserer Probanden innerhalb von vier Wochen noch nicht signifikant sichtbar waren, sich jedoch durch den positiven Trend andeuteten.

Wir gehen deswegen davon aus, dass die reine Herzfrequenzsenkung anscheinend keinen Grund für die FMD-Erhöhung ist, da diese trotz der signifikanten Frequenzreduktion nach erstmaliger Ivabradineinnahme nicht zu sehen war. Aufgrund dessen mutmaßen wir, dass pleiotrope Effekte, die unabhängig von der Herzfrequenz sind, eine Rolle im Remodelling des Gefäßendothels spielen könnten.

#### 6.4.4 Patienten mit akuter Herzfrequenzreduktion $\geq 8/\text{min}$

Nach Auswertung der Daten der akuten Messung, also vier Stunden nach erstmaliger Einnahme von Ivabradin 7,5 mg, führten wir eine Subgruppenanalyse für die Patienten mit der höchsten Herzfrequenzsenkung durch. Der Median betrug  $-8/\text{min}$  und wir schlossen alle Probanden mit einer Frequenzreduktion  $\geq 8/\text{min}$  ein. 60% ( $n=15$ ) der Teilnehmer erfüllten dieses Kriterium. Auch in dieser Gruppe konnten wir weder eine signifikante Veränderung noch einen Trend in der FMD oder NMD im Vergleich zur Baseline feststellen, sodass ein reiner Frequenzeffekt auch hier ausgeschlossen wurde (Tabelle 3, Abbildung 10).

#### 6.4.5 Patienten mit chronischer Herzfrequenzreduktion $\geq 10/\text{min}$

Ebenso schauten wir uns die Messdaten nach der vierwöchigen zweimal täglichen Einnahme von Ivabradin 5 oder 7,5 mg an und führten eine Subgruppenanalyse für die Patienten mit der höchsten Herzfrequenzreduktion durch. Der Median in dieser Gruppe betrug  $-10/\text{min}$  und wir schlossen alle Teilnehmer (40%,  $n = 10$ ) mit einer Frequenzsenkung  $\geq 10/\text{min}$  ein. In der NMD zeigte sich kein Unterschied im Vergleich zur Baseline und in der FMD war sogar ein negativer Trend sichtbar, also die Endothelfunktion wurde reduziert (siehe Tabelle 4 und Abbildung 11). Somit widersprechen gerade diese Daten einer Verbesserung der Endothelfunktion durch Herzfrequenzreduktion mittels If-Kanalinhibition wie in den unter Absatz 4.3.5 erwähnten Studien.

#### 6.4.6 Ivabradin und NMD

Wir konnten bei allen Patienten eine NMD durch 0,4 mg Nitroglycerin sublingual auslösen und somit alle 25 Patienten einschließen, da die NMD eine Positiv-Kontrolle darstellt. Im Verlauf der vier Wochen zeigte sich Ähnliches bei den 17 noch in der

Studie verbliebenden Probanden wie bei der FMD. Insgesamt konnten wir keine signifikante Veränderung der NMD feststellen, vier Stunden nach erstmaliger Ivabradineinnahme blieb die NMD konstant und nach vier Wochen zeigte sich ein Trend zur Steigerung der NMD. Somit können wir auch hier die gleichen Vermutungen wie für die FMD unter Absatz 4.3.5 aufgeführt aufstellen, dass herzfrequenzunabhängige Effekte eine Rolle spielen könnten. In den bereits erwähnten tierexperimentellen Studien der Arbeitsgruppe Custodis/Baumkäkel konnten jedoch trotz signifikanter Herzfrequenzreduktion keine Unterschiede in der NMD gezeigt werden<sup>25, 27</sup>. In den im nächsten Absatz aufgeführten Korrelationsstudien wurde entweder keine endothelunabhängige nitratvermittelte Dilatation durchgeführt<sup>13</sup> oder es fanden sich weder bei Frequenzsenkung noch bei -steigerung statistisch signifikante Veränderungen<sup>28, 30</sup>.

#### 6.4.7 Korrelation von Herzfrequenz und FMD

In der Literatur wurden bisher eine inverse Korrelation zwischen der Herzfrequenz und der FMD gezeigt. Im Rahmen der *Framingham Heart Study* konnten die Untersucher bei einer Subgruppe von 2883 Teilnehmern eine positive Korrelation zwischen Ruhe-Hf und FMD zeigen. Dies bedeutet, dass eine hohe Hf mit einer gesteigerten FMD assoziiert war<sup>13</sup>. Konträr zu dieser Studie zeigten zwei kleinere Interventionsstudien eine negative Korrelation zwischen Hf und FMD. In einer Studie mit 29 asymptomatischen Patienten mit metabolischem Syndrom konnte gezeigt werden, dass die Baseline-FMD negativ von einer gesteigerten Hf abhängt. Nach zwölfwöchigem regelmäßigen Ergometertraining wurde eine Verbesserung der Endothelfunktion um 2% im Vergleich zur Gruppe ohne Training erreicht. Als Ursache für die Steigerung der FMD wird hier die erhöhte Hf der Probanden unter der Belastung und der damit erhöhte Scherstress, der eine NO-Freisetzung bedingt, diskutiert<sup>28</sup>. In einer weiteren Arbeit wurde gezeigt, dass eine Erhöhung der Hf ausgelöst durch physischen Stress mit einer endothelialen Dysfunktion assoziiert war<sup>30</sup>. Dabei wurden 44 Patienten mit Syndrom X, welches pectanginöse Beschwerden und Symptome eines Myokardinfarktes verursacht, ohne jedoch ein anatomisches Korrelat an den Koronarien zu zeigen, untersucht. Alle Patienten absolvierten einen mathematischen Stresstest über drei Minuten. In dieser Zeit und anschließend bei der Messung der FMD nach zehn, 30 und 45 Minuten wurden erhöhte Herzfrequenzen dokumentiert. Zu allen Zeiten konnte eine reduzierte FMD mittels eines brachialen Gefäßultraschalls dargestellt werden. Green et. al.

beobachteten, dass eine gesteigerte Hf durch kardiale Schrittmacherstimulation keinen Einfluss auf die Endothelfunktion hat<sup>29</sup>. Dabei wurde jeweils eine zweiminütige Stimulation mit 80, 90, 100, 110 und 120 Schlägen/min mit simultaner Aufzeichnung der FMD am Unterarm, durchgeführt. Die Studie fällt jedoch mit nur sechs Teilnehmern sehr klein aus, sodass die Aussagekraft in Frage gestellt werden muss.

Die vorhandene Signifikanz bei allen Messdaten und bei den FMD-Messungen ohne Ivabradineinnahme und die nicht signifikante Korrelation in der Messreihe unter Ivabradintherapie lässt sich wie folgt diskutieren: Zum einen nimmt die n-Zahl in den jeweiligen Untergruppen kontinuierlich ab, sodass über die hohe Fallzahl eine Signifikanz in den ersten beiden Gruppen wahrscheinlich ist. Zum anderen muss hinzugefügt werden, dass nicht jede Messung einen unterschiedlichen Patienten darstellt, sondern sich mehrere Messungen desselben Individuums zu verschiedenen Zeitpunkten hinter den Daten verbergen. Fraglich ist auch inwieweit diese statistische Signifikanz eine klinische Relevanz hat, da wir nur minimale Unterschiede in der FMD erfassen konnten.

## 6.5 Limitationen

Eine Limitation unserer Studie ist die kleine Fallzahl und die relativ hohe Abbrecherquote von 32% (n = 8) der Teilnehmer. Obwohl vor Studienbeginn eine statistische Power-Analyse erfolgte und wir uns an den aktuellen Leitlinien zur Erfassung der Endothelfunktion orientierten, war unsere Studienpopulation eventuell zu klein um statistisch signifikante Ergebnisse zu erhalten. Dieser Fakt wurde durch die oben erwähnten Drop-Outs noch verstärkt, somit konnten wir nur von 17 Patienten ein follow up nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme von Ivabradin erheben. Allerdings war es unser Ziel eine Pilot-Studie auf dem Forschungsgebiet durchzuführen und Perspektiven aufzuzeigen.

Eine weitere Limitation stellt die rein monozentrische Datenerfassung dar.

Außerdem ist anzumerken, dass die nicht-invasive Messung der Endothelfunktion beim Menschen eine leicht praktikable, aber durch externe Faktoren bedingte sensible und störanfällige Methode ist und wir nicht alle Einflüsse kontrollieren konnten.

Weiterhin zählt zu den Limitationen unserer Studie, dass wir keinen placebokontrollierten Studienarm hatten, sondern alle Probanden wissentlich das

Verum erhielten. Zusätzlich erfolgte die Auswertung der FMD-Daten manuell und nicht mittels einer *edge detection* und *wall tracking* Software, welche fast unabhängig von Untersucherfehlern ist.

#### 6.6 Ausblick

Für zukünftige Arbeiten sollte versucht werden eine größeres und homogeneres Studienkollektiv zu rekrutieren. Weiterhin sollte eine placeobkontrolierte Studie durchgeführt werden, sodass eine Vergleichsgruppe ohne Intervention vorhanden ist.

#### 6.7 Schlussfolgerung

Abschließend lässt sich sagen, dass unsere Daten die bisher gezeigten positiven Effekte der reinen Herzfrequenzreduktion durch den If-Kanalinhistor Ivabradin in Hinblick auf die Verbesserung der Endothelfunktion nicht unterstützen.

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Kannel WB, Kannel C, Paffenbarger RS, Jr., Cupples LA. Heart rate and cardiovascular mortality: The framingham study. *American heart journal*. 1987;113:1489-1494
2. Hjalmarson A, Gilpin EA, Kjekshus J, Schieman G, Nicod P, Henning H, Ross J, Jr. Influence of heart rate on mortality after acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology*. 1990;65:547-553
3. Diaz A, Bourassa MG, Guertin MC, Tardif JC. Long-term prognostic value of resting heart rate in patients with suspected or proven coronary artery disease. *European heart journal*. 2005;26:967-974
4. Gillman MW, Kannel WB, Belanger A, D'Agostino RB. Influence of heart rate on mortality among persons with hypertension: The framingham study. *American heart journal*. 1993;125:1148-1154
5. Fox KM, Ferrari R. Heart rate: A forgotten link in coronary artery disease? *Nature reviews. Cardiology*. 2011;8:369-379
6. Thorin E, Thorin-Trescases N. Vascular endothelial ageing, heartbeat after heartbeat. *Cardiovascular research*. 2009;84:24-32
7. Custodis F, Reil JC, Laufs U, Bohm M. [heart rate and rate control : Prognostic value in cardiovascular diseases]. *Der Internist*. 2012;53:6-13
8. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, Albus C, Benlian P, Boysen G, Cifkova R, Deaton C, Ebrahim S, Fisher M, Germano G, Hobbs R, Hoes A, Karadeniz S, Mezzani A, Prescott E, Ryden L, Scherer M, Syvanne M, Scholte op Reimer WJ, Vrints C, Wood D, Zamorano JL, Zannad F, European Association for Cardiovascular P, Rehabilitation, Guidelines ESCCfP. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The fifth joint task force of the european society of cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *European heart journal*. 2012;33:1635-1701
9. Freemantle N, Cleland J, Young P, Mason J, Harrison J. Beta blockade after myocardial infarction: Systematic review and meta regression analysis. *British medical journal*. 1999;318:1730-1737
10. Brophy JM, Joseph L, Rouleau JL. Beta-blockers in congestive heart failure. A bayesian meta-analysis. *Annals of internal medicine*. 2001;134:550-560

11. Kreuzer JT, Christiane *Atherosklerose*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2003.
12. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R, International Brachial Artery Reactivity Task F. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the international brachial artery reactivity task force. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002;39:257-265
13. Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Mitchell GF, Vasan RS, Keaney JF, Jr., Lehman BT, Fan S, Osypiuk E, Vita JA. Clinical correlates and heritability of flow-mediated dilation in the community: The framingham heart study. *Circulation*. 2004;109:613-619
14. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *Journal of the American College of Cardiology*. 1994;24:1468-1474
15. Herrington DM, Fan L, Drum M, Riley WA, Pusser BE, Crouse JR, Burke GL, McBurnie MA, Morgan TM, Espeland MA. Brachial flow-mediated vasodilator responses in population-based research: Methods, reproducibility and effects of age, gender and baseline diameter. *Journal of cardiovascular risk*. 2001;8:319-328
16. Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE, Sampson M, Sorensen KE, Adams M, Yue DK, Betteridge DJ, Deanfield JE. Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. *Journal of the American College of Cardiology*. 1996;28:573-579
17. Lundman P, Eriksson MJ, Stuhlinger M, Cooke JP, Hamsten A, Tornvall P. Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;38:111-116
18. Gokce N, Holbrook M, Duffy SJ, Demissie S, Cupples LA, Biegelsen E, Keaney JF, Jr., Loscalzo J, Vita JA. Effects of race and hypertension on flow-mediated and nitroglycerin-mediated dilation of the brachial artery. *Hypertension*. 2001;38:1349-1354

19. Tounian P, Aggoun Y, Dubern B, Varille V, Guy-Grand B, Sidi D, Girardet JP, Bonnet D. Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: A prospective study. *Lancet*. 2001;358:1400-1404
20. Al Suwaidi J, Higano ST, Holmes DR, Jr., Lennon R, Lerman A. Obesity is independently associated with coronary endothelial dysfunction in patients with normal or mildly diseased coronary arteries. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;37:1523-1528
21. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109:III27-32
22. Finegold JA, Asaria P, Francis DP. Mortality from ischaemic heart disease by country, region, and age: Statistics from world health organisation and united nations. *International journal of cardiology*. 2012
23. Clarkson P, Celermajer DS, Powe AJ, Donald AE, Henry RM, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilatation is impaired in young healthy subjects with a family history of premature coronary disease. *Circulation*. 1997;96:3378-3383
24. Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, Selwyn AP, Ganz P, Yeung AC, Creager MA. Flow-induced vasodilation of the human brachial artery is impaired in patients <40 years of age with coronary artery disease. *The American journal of cardiology*. 1996;78:1210-1214
25. Custodis F, Baumhake M, Schlimmer N, List F, Gensch C, Bohm M, Laufs U. Heart rate reduction by ivabradine reduces oxidative stress, improves endothelial function, and prevents atherosclerosis in apolipoprotein e-deficient mice. *Circulation*. 2008;117:2377-2387
26. Drouin A, Gendron ME, Thorin E, Gillis MA, Mahlberg-Gaudin F, Tardif JC. Chronic heart rate reduction by ivabradine prevents endothelial dysfunction in dyslipidaemic mice. *British journal of pharmacology*. 2008;154:749-757
27. Baumhake M, Custodis F, Schlimmer N, Laufs U, Bohm M. Heart rate reduction with ivabradine improves erectile dysfunction in parallel to decrease in atherosclerotic plaque load in apoe-knockout mice. *Atherosclerosis*. 2010;212:55-62
28. Lavrencic A, Salobir BG, Keber I. Physical training improves flow-mediated dilation in patients with the polymetabolic syndrome. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2000;20:551-555



29. Green D, Cheetham C, Henderson C, Weerasooriya R, O'Driscoll G. Effect of cardiac pacing on forearm vascular responses and nitric oxide function. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. 2002;283:H1354-1360
30. Mizia M, Mizia-Stec K, Gasior Z, Gomulka S, Kumor P, Niedojadlo A, Mielczarek M. Mental stress, heart rate and endothelial function in patients with syndrome x. *Cardiology journal*. 2007;14:180-185
31. Beautiful Study G, Ferrari R, Ford I, Fox K, Steg PG, Tendera M. The beautiful study: Randomized trial of ivabradine in patients with stable coronary artery disease and left ventricular systolic dysfunction - baseline characteristics of the study population. *Cardiology*. 2008;110:271-282
32. Brown HF, DiFrancesco D, Noble SJ. How does adrenaline accelerate the heart? *Nature*. 1979;280:235-236
33. DiFrancesco D, Camm JA. Heart rate lowering by specific and selective i(f) current inhibition with ivabradine: A new therapeutic perspective in cardiovascular disease. *Drugs*. 2004;64:1757-1765
34. Camm AJ, Lau CP. Electrophysiological effects of a single intravenous administration of ivabradine (s 16257) in adult patients with normal baseline electrophysiology. *Drugs in R&D*. 2003;4:83-89
35. Manz M, Reuter M, Lauck G, Omran H, Jung W. A single intravenous dose of ivabradine, a novel i(f) inhibitor, lowers heart rate but does not depress left ventricular function in patients with left ventricular dysfunction. *Cardiology*. 2003;100:149-155
36. Schirmer SH, Degen A, Baumhakel M, Custodis F, Schuh L, Kohlhaas M, Friedrich E, Bahlmann F, Kappl R, Maack C, Bohm M, Laufs U. Heart-rate reduction by if-channel inhibition with ivabradine restores collateral artery growth in hypercholesterolemic atherosclerosis. *European heart journal*. 2012;33:1223-1231
37. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Bohm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Kober L, Lip GY, Maggioni AP, Parkhomenko A, Pieske BM, Popescu BA, Ronnevik PK, Rutten FH, Schwitter J, Seferovic P, Stepinska J, Trindade PT, Voors AA, Zannad F, Zeiher A, Guidelines ESCCfP. Esc guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 of the european

- society of cardiology. Developed in collaboration with the heart failure association (hfa) of the esc. *European heart journal*. 2012;33:1787-1847
38. Swedberg K, Komajda M, Bohm M, Borer JS, Ford I, Dubost-Brama A, Lerebours G, Tavazzi L, Investigators S. Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (shift): A randomised placebo-controlled study. *Lancet*. 2010;376:875-885
  39. Fox K, Ford I, Steg PG, Tendera M, Ferrari R, Investigators B. Ivabradine for patients with stable coronary artery disease and left-ventricular systolic dysfunction (beautiful): A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2008;372:807-816
  40. Jochmann N, Baumann G, Stangl V. Green tea and cardiovascular disease: From molecular targets towards human health. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2008;11:758-765
  41. Jochmann N, Lorenz M, Krosigk A, Martus P, Bohm V, Baumann G, Stangl K, Stangl V. The efficacy of black tea in ameliorating endothelial function is equivalent to that of green tea. *The British journal of nutrition*. 2008;99:863-868
  42. Reriani MK, Dunlay SM, Gupta B, West CP, Rihal CS, Lerman LO, Lerman A. Effects of statins on coronary and peripheral endothelial function in humans: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*. 2011;18:704-716
  43. Zhang L, Gong D, Li S, Zhou X. Meta-analysis of the effects of statin therapy on endothelial function in patients with diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 2012;223:78-85
  44. Ulu N, Henning RH, Goris M, Schoemaker RG, van Gilst WH. Effects of ivabradine and metoprolol on cardiac angiogenesis and endothelial dysfunction in rats with heart failure. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2009;53:9-17
  45. Harzheim D, Pfeiffer KH, Fabritz L, Kremmer E, Buch T, Waisman A, Kirchhof P, Kaupp UB, Seifert R. Cardiac pacemaker function of hcn4 channels in mice is confined to embryonic development and requires cyclic amp. *The EMBO journal*. 2008;27:692-703
  46. Triggle CR. Defying the economists: A decrease in heart rate improves not only cardiac but also endothelial function. *British journal of pharmacology*. 2008;154:727-728

47. Simon L, Ghaleh B, Puybasset L, Giudicelli JF, Berdeaux A. Coronary and hemodynamic effects of s 16257, a new bradycardic agent, in resting and exercising conscious dogs. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1995;275:659-666

## 8 TABELLENVERZEICHNIS

**Tabelle 1:** Einschluss- und Ausschlusskriterien bei Probandenrekrutierung. KHK = Koronare Herzerkrankung; EKG = Elektrokardiogramm; BMI = Body Mass Index; AV-Block = Atrio-Ventrikulärer Block; LDL = *low-density lipoprotein*; HDL = *high-density lipoprotein*.

**Tabelle 2:** Basischarakteristik und demografische Daten der Studienpopulation bei Studieneinschluss. Die Parameterbeschreibung erfolgte als Anzahl der Patienten (Prozentzahl) bzw. als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; BMI = Body Mass Index; RR syst. = systolischer Blutdruck; RR diast. = diastolischer Blutdruck; LVEF= linksventrikuläre Ejektionsfraktion; ACVB = Aorto-Koronarer-Venen-Bypass; PCI = *percutaneous coronary intervention* (perkutane Koronarintervention); ICD = Implantierbarer Cardioverter Defibrillator; COPD = *chronic obstructive pulmonary disease* (chronisch obstruktive Lungenerkrankung); ASS = Acetylsalicylsäure; ACE-Hemmer = *Angiotensin Converting Enzyme*-Hemmer; AT-1-Antagonist = Angiotensin-1-Antagonist; LDL= *low-density lipoprotein*; HDL = *high-density lipoprotein*; CRP = C-reaktives Protein; TSH = Thyroidea-stimulierendes Hormon; Hb = Hämoglobin.

**Tabelle 3:** Subgruppenanalyse mit der höchsten Herzfrequenzreduktion ( $\geq 8$ /min) nach erstmaliger Einnahme von Ivabradin. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Baseline: vor der ersten Einnahme von Ivabradin; Iva 4h: vier Stunden nach Einnahme von 7,5 mg Ivabradin;  $p \leq 0,05$  bezogen auf die Baseline; Iva = Ivabradin; Hf = Herzfrequenz; FMD = *flow-mediated dilation*.

**Tabelle 4:** Subgruppenanalyse mit der höchsten Herzfrequenzreduktion ( $\geq 10$ /min) nach vierwöchiger Einnahme von Ivabradin. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Baseline: vor der ersten

**Tabelle 5:** Spearman-Rangkorrelationskoeffizient von FMD und Herzfrequenz. Alle = alle Werte für FMD und Hf unabhängig von der Ivabradineinnahme; ohne Iva = alle Werte für FMD und Hf ohne Ivabradin; mit Iva = alle Werte für FMD und Hf mit Ivabradin;  $p \leq 0,05$ ; Iva = Ivabradin; Hf = Herzfrequenz; FMD = *flow mediated dilation*.

**Tabelle 6:** Vergleich des oxidativen Status vor und nach vier Wochen Ivabradintherapie. Alle Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Baseline: Blutentnahme und Bestimmung der oxidativen Parameter vor der ersten Einnahme von Ivabradin; Iva 4 Wochen: Blutentnahme und Bestimmung der oxidativen Parameter nach vierwöchiger zweimal täglicher (5 bis 7,5 mg) Ivabradineinnahme;  $p \leq 0,05$  bezogen auf die Baseline; oxLDL = oxidiertes *low-density lipoprotein*; anti-oxLDL = anti-oxidiertes *low density lipoprotein*; MPO = Myeloperoxidase; ImAnOx = Antioxidative Kapazität; PerOx = gesamte Lipidperoxidase.

**Tabelle 7:** Vergleich systolischer und diastolischer Blutdruck vor und nach vier Wochen Ivabradintherapie. Baseline: Blutdruckmessung vor der ersten Einnahme von Ivabradin; Iva 4 Wochen: Blutdruckmessung nach vierwöchiger zweimal täglicher (5 bis 7,5 mg) Ivabradineinnahme;  $p \leq 0,05$  bezogen auf die Baseline; n = Anzahl der Teilnehmer; R syst = systolischer Blutdruck; RR diast = diastolischer Blutdruck.

**Tabelle 8:** Vergleich laborchemischer Parameter vor und nach vier Wochen Ivabradintherapie. Baseline: Blutabnahme vor der ersten Einnahme von Ivabradin; Iva 4 Wochen: Blutentnahme nach vierwöchiger zweimal täglicher (5 bis 7,5 mg) Ivabradineinnahme;  $p \leq 0,05$  bezogen auf die Baseline; n = Anzahl der Teilnehmer; LDL = *low-density lipoprotein*; HDL = *high-density Lipoprotein*; CRP = C reaktives, Protein; Hb = Hämoglobin.

## 9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

**Abbildung 1:** Fließdiagramm des Studiendesigns. Hf: Herzfrequenz; Iva: Ivabradin; FMD: *flow-mediated dilation*; NMD: *nitro-mediated dilation*.

**Abbildung 2:** Versuchsaufbau zur Messung der Endothelfunktion.

**Abbildung 3:** Sonografische Darstellung der Arteria brachialis vor Beginn der Endothelfunktionsmessung mit dazugehörigem EKG.

**Abbildung 4:** Typisches triphasisches Flussmuster der Arteria brachialis vor Beginn der Stauung mit der Blutdruckmanschette am Unterarm.  $V_{max} = 0,6$  cm/s. Flussgeschwindigkeit in cm/s = Zentimeter pro Sekunde.

**Abbildung 5:** Dopplersonografische Erfassung der Hyperämie nach Ablassen der fünfminütigen Stauung mittels Blutdruckmanschette am Unterarm. Dargestellt ist das typische postischämische monophasische Flussmuster der A. brachialis.  $V_{max} = 1,0$  cm/s. Flussgeschwindigkeit in cm/s = Zentimeter pro Sekunde.

**Abbildung 6:** Berechnung der FMD und NMD. FMD = *flow-mediated dilation*; NMD = *nitro-mediated dilation*.

**Abbildung 7:** Sonografische Darstellung der Gefäßes und Messung der NMD. Oberes Bild: vor Nitroglyceringabe. Unteres Bild: sechs Minuten nach Gabe von 0,4 mg Nitroglycerin.

**Abbildung 8:** Sonografische Darstellung des Gefäßes und Messung der FMD. Oberes Bild: vor hyperämischen Reiz. Unteres Bild: nach hyperämischen Reiz.

**Abbildung 9:** Flussdiagramm der durchgeführten Untersuchung und Anzahl der Studienabbrüche mit Gründen.

**Abbildung 10:** Veränderung der Herzfrequenz. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. HF = Herzfrequenz; Iva = Ivabradin; Baseline: Differenz zwischen der

Herzfrequenz um 08:00 Uhr und um 12:00 Uhr bei Studienbesuch 1 (ohne Ivabradin); Iva 4h: Differenz zwischen der Herzfrequenz vor und vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: Differenz zwischen der Herzfrequenz vor der ersten Gabe von Ivabradin (Besuch 2) und nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin. ★  $p \leq 0.05$  bezogen auf die Baseline.

**Abbildung 11:** Veränderung der Herzfrequenz für jeden Studienteilnehmer. Iva = Ivabradin; Baseline: Herzfrequenz vor Ivabradingabe; Iva 4h: Herzfrequenz vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: Herzfrequenz nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin.

**Abbildung 12:** Veränderung der *flow-mediated dilation* (FMD): Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Iva = Ivabradin; Baseline: FMD vor Ivabradingabe; Iva 4h: FMD vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: FMD nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin. n.s.: nicht signifikant bezogen auf die Baseline.

**Abbildung 13:** Veränderung der *flow-mediated dilation* (FMD) für jeden Studienteilnehmer. Iva = Ivabradin; Baseline: FMD vor Ivabradingabe; Iva 4h: FMD vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: FMD nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin.

**Abbildung 14:** Veränderung der FMD während des Studienverlaufes. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Iva = Ivabradin; FMD = *flow-mediated dilation*. Baseline: Differenz zwischen der FMD um 08:00 Uhr und um 12:00 Uhr bei Studienbesuch 1 (ohne Ivabradin); Iva 4h: Differenz zwischen der FMD vor und vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: Differenz zwischen der FMD vor der ersten Gabe von Ivabradin (Besuch 2) und nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin. n.s.: nicht signifikant bezogen auf die Baseline.

**Abbildung 15:** Veränderung der FMD vier Stunden nach Einnahme von Ivabradin in Bezug zur Höhe der Herzfrequenzreduktion. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Iva = Ivabradin; FMD = *flow-mediated dilation*; n.s.: nicht signifikant bezogen auf die FMD vor Ivabradin-Gabe.

**Abbildung 16:** Veränderung der FMD nach vierwöchiger Therapie mit Ivabradin in Bezug zur Höhe der Herzfrequenzreduktion. Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Iva = Ivabradin; FMD = *flow-mediated dilation*; n.s.: nicht signifikant bezogen auf die FMD vor Ivabradin-Gabe.

**Abbildung 17:** Herzfrequenz und FMD. Regressionsanalyse von Herzfrequenz und FMD unabhängig von der Ivabradineinnahme. FMD = *flow-mediated dilation*.  $p = 0,004$ .

**Abbildung 18:** Herzfrequenz und FMD. Regressionsanalyse von Herzfrequenz und FMD ohne Ivabradin. FMD = *flow-mediated dilation*.  $p = 0,038$ .

**Abbildung 19:** Herzfrequenz und FMD. Regressionsanalyse von Herzfrequenz und FMD mit Ivabradin. FMD = *flow-mediated dilation*.  $p = 0,253$ .

**Abbildung 20:** Veränderung der *nitro-mediated dilation* (NMD): Die Werte werden als Median [Q1-Q3] dargestellt. Iva = Ivabradin; Baseline: NMD vor Ivabradin-Gabe; Iva 4h: NMD vier Stunden nach Gabe von 7,5 mg Ivabradin; Iva 4 Wochen: NMD nach vierwöchiger zweimal täglicher Einnahme (5 bis 7,5 mg) von Ivabradin. n.s.: nicht signifikant bezogen auf die Baseline.



## 10 EIDESSTATLICHE VERSICHERUNG

Ich, Franziska Reshetnik (geb. Schröter), versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Einfluss von Ivabradin auf die Endothelfunktion von Patienten mit einer stabilen koronaren Herzerkrankung* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum 08.06.2013

Unterschrift

### Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Franziska Reshetnik, (geb. Schröter) hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: N. Jochmann, F. Schröter, C. Gericke, K. Stangl, G. Baumann, V. Stangl, **No influence of ivabradine on endothelial function in patients with stable coronary heart disease**, European Heart Journal 2012.

Posterpräsentation auf dem Kongress der European Society of Cardiology 2012 in München und der 41. Jahrestagung der Gesellschaft für Angiologie 2012 in Mainz.

Beitrag im Einzelnen: Rekrutierung der Patienten, Erhebung und Auswertung der verwendeten Daten.

Publikation 2: F.Schröter, N. Jochmann, F. Knebel, C. Gericke, K. Stangl, G. Baumann, V. Stangl, **Effect of ivabradine-induced heart rate reduction on flow-mediated dilation measured with high-sensitivity ultrasound in patients with stable coronary heart disease**, Cardiovascular Ultrasound, 2013.

Eingereicht am 06.06.2013 und zum Zeitpunkt des Druckes im Peer Review-Verfahren.

Beitrag im Einzelnen: Rekrutierung der Patienten, Erhebung und Auswertung der verwendeten Daten, Erstellung einzelner Abschnitte des Manusscripts und der Tabellen.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers.

Unterschrift der Doktorandin

## **11 LEBENSLAUF**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht

## 12 KONGRESSBEITRÄGE UND PUBLIKATIONEN ZU DIESER ARBEIT

N. Jochmann, F. Schroter, C. Gericke, K. Stangl, G. Baumann, V. Stangl. **No influence of ivabradine on endothelial function in patients with stable coronary heart disease.** European Heart Journal. 2012; 33 (Abstract Supplement): 589.

Vorstellung auf dem Kongress der ESC 2012 in München und der 41. Jahrestagung der Gesellschaft für Angiologie 2012 in Mainz.

N. Jochmann, F. Schröter, F. Knebel, C. Gericke, K. Stangl, G. Baumann, V. Stangl. **Effect of ivabradine-induced heart rate reduction on flow-mediated dilation measured with high-sensitivity ultrasound in patients with stable coronary heart disease.** Cardiovascular Ultrasound, 2013.

Eingereicht am 06.06.2013 und zum Zeitpunkt des Druckes im Peer Review-Verfahren.

## 13 ETHIKANTRAG



Charité | 10117 Berlin

Frau  
Dr. med. N. Jochmann  
Med. Klinik und Poliklinik mit Schwerpunkt  
Kardiologie, Angiologie

CCM

Ethikkommission  
Ethikausschuss I am Campus Charité - Mitte

Vorsitzender: Prof. Dr. R. Uebelhack

Geschäftsführung: Katja Orzechowski  
ethikkommission@charite.de

Korrespondenzadresse: Charitéplatz 1, 10117 Berlin  
Tel.: 030/450-517222  
Fax: 030/450-517952

[www.charite.de/ethikkommission](http://www.charite.de/ethikkommission)

Datum: 18.07.08

Auswirkungen einer exklusiven Herzfrequenzreduktion mittels Ivabradin auf die vaskuläre Endothelfunktion

**Antragsnummer: EA1/087/08**

Sehr geehrte Frau Dr. Jochmann,

hiermit bestätigen wir Ihnen den Eingang Ihres Schreibens vom 10.07.08 mit folgenden Anlagen:

- Antragstext vom 10.07.08
- Versicherungsbestätigung vom 09.07.08

Die Auflagen laut Votum vom 04.06.08 sind somit erfüllt. Wir wünschen viel Erfolg bei der Durchführung o.g. Studie.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. R. Uebelhack  
Vorsitzender

## 14 AUFKLÄRUNG UND EINWILLIGUNG ZUR STUDIE

### Aufklärung für Teilnehmer an der Studie

„Auswirkungen einer exklusiven Herzfrequenzreduktion mittels Ivabradin auf die vaskuläre Endothelfunktion“

#### Studienleitung

Verena Stangl, Prof. Dr. med.

Oberärztin

Med. Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie, Angiologie, Pneumologie

Universitätsmedizin Charité Berlin

Campus Mitte

Schumannstr. 20/21

10117 Berlin

Nicoline Jochmann, Dr. med.

Fachärztin

Med. Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie, Angiologie, Pneumologie

Universitätsmedizin Charité Berlin

Campus Mitte

Schumannstr. 20/21

10117 Berlin

#### 1. Zweck der Studie

Ivabradin ist ein neues, vielversprechendes Medikament in der Kardiologie. Dieses Medikament stellt für Sie eine therapeutische Alternative zu einem Betablocker dar, den sie aufgrund anderer Begleiterkrankungen nicht nehmen sollten. Im Tierversuch zeigt sich, dass Ivabradin auch bei anderen kardiologischen Krankheitsbildern (z.B. einer Herzinsuffizienz), wirksam ist. Ein wichtiger Risikomarker für das Auftreten zukünftiger kardialer Ereignisse ist die Messung der Endothelfunktion der Armarterie. Wir wollen untersuchen, ob die Einnahme von Ivabradin zu einer Verbesserung der Endothelfunktion führt um Aufschlüsse darüber zu erlangen, ob Ivabradin auch bei anderen kardiologischen Erkrankungen eine therapeutische Alternative sein könnte.

## 2. Welche Untersuchungen werden vorgenommen?

Es erfolgt vor der Einnahme von Ivabradin eine Voruntersuchung (Ruhe-EKG, Blutentnahme), um mögliche Kontraindikationen einer Therapie mit Ivabradin zu erfassen.

Wir wollen die akuten Effekte einer Einnahme von Ivabradin vs. Placebo prüfen. Hierzu sind 2 Studientermine im Abstand von 2 bis max. 7 Tagen vorgesehen. Der Studienablauf ist an beiden Tagen gleich: Wir bitten Sie, zu den Untersuchungen nüchtern zu erscheinen. Es erfolgt initial eine Messung der Endothelfunktion, ein Ruhe-EKG, eine Blutentnahme und nachfolgend die Einnahme von Ivabradin oder Placebo. Dazu erhalten Sie ein standardisiertes Frühstück, auf Kaffee oder Tee muss leider verzichtet werden. 4 Stunden nach Einnahme von Ivabradin oder Placebo erfolgt eine 2. Messung der Endothelfunktion und ein Ruhe-EKG.

Ab dem Folgetag des 2. Studientermins nehmen Sie Ivabradin über 2 Wochen 2 x 5 mg täglich. Nach Ablauf der 2 Wochen erfolgt eine weitere Studienvisite. Im Rahmen dieser Vorstellung fragen wir Sie nach ihrem Befinden unter der laufenden Medikation und schreiben ein 12-Kanal-EKG. Ggf. erfolgt ab dieser Studienvisite die Dosiserhöhung von Ivabradin auf 2 x 7,5 mg täglich.

Ab dem Folgetag der Studienvisite nehmen Sie Ivabradin in der ärztlich festgelegten Dosis (2 x 5 mg/täglich oder 2 x 7,5 mg/täglich) für weitere 2 Wochen. Nach dem Ablauf dieser 2 Wochen erfolgt der 3. Studientermin. Hierbei wollen wir den chronischen Effekt einer Einnahme von Ivabradin prüfen. Am Studientag bitten wir Sie, zu den Untersuchungen nüchtern zu erscheinen. Es erfolgt eine Messung der Endothelfunktion, ein Ruhe-EKG, und eine Blutentnahme.

Bei der Endothelfunktionsmessung wird am Unterarm eine Staumanschette angelegt und für 5 Minuten aufgepumpt. Nach Ablassen wird der Fluss und der Durchmesser der Arterie (Arteria brachialis) mittels Ultraschall gemessen. Nach 15 minütiger Pause und Gabe von 2 Hüben eines Medikaments, das die Gefäße erweitert (Nitrat), wird erneut gemessen. Die Endothelfunktionsmessungen werden durch die Klinik für Kardiologie, Angiologie und Pneumologie durchgeführt. Die gewonnenen Blutproben und Daten aus der Endothelfunktionsmessung werden ausgewertet und anonymisiert.

## 3. Ist mit Komplikationen oder Risiken zu rechnen?

Die in dieser Studie angewandten Untersuchungsmethoden sind risikoarme Routineverfahren.

Das Medikament, das bei der Endothelfunktionsmessung verabreicht wird, kann in seltenen Fällen dazu führen, dass kurzzeitig der Blutdruck abfällt und Schwindel auftritt. Weiterhin kann es durch die gefäßerweiternde Wirkung zu Kopfschmerzen kommen.

Ivabradin ist ein Medikament mit einem hervorragenden Sicherheitsprofil. Häufig kommt es dennoch zum Auftreten visueller Symptome, insbesondere in Form von sogenannten „Phosphenen“ (= Lichtblitze). Diese Nebenwirkung tritt dosisabhängig und meist nur zu Anfang der Therapie auf. Nach Absetzen des



Medikamentes sind potenzielle visuelle Symptome vollständig reversibel. Sehr selten kann es zu bradykarden Herzrhythmusstörungen kommen.

#### 4. Abbruch der Studienteilnahme

Sie können jederzeit ohne Angabe von Gründen Ihre Teilnahme an der Studie beenden.

#### 5. Datenschutz

Durch ihre Unterschrift auf der Einwilligungserklärung erklären Sie sich damit einverstanden, dass der Studienarzt und seine Mitarbeiter Ihre personenbezogenen Daten zum Zweck der o.g. Studie erheben und verarbeiten dürfen. Personenbezogene Daten sind z.B. Ihr Geburtsdatum, Ihr Geschlecht, Ihre Rasse oder ethnische Zugehörigkeit, Daten zu Ihrer physischen und psychischen Gesundheit oder andere persönliche Daten, die während Ihrer Teilnahme an der Studie oder bei einer der Folgeuntersuchungen erhoben wurden. Ihre persönlichen Daten werden durch den Sie aufklärenden Prüfarzt erhoben und von diesem auf der Einwilligungserklärung vermerkt. Die Einwilligungserklärung mit diesen unverschlüsselten personenbezogenen Angaben bleibt bei dem Studienarzt. Die im Rahmen dieser Studie erhobenen und gewonnenen Gesundheits- bzw. Krankheitsdaten und die Ergebnisse der klinischen Studie werden verschlüsselt und in dieser Form elektronisch gespeichert. Der Schlüssel, der gebraucht wird um diese Daten Ihren persönlichen Daten zuordnen zu können, ist auf einem von den übrigen Daten getrennten Computer bei den Studienärzten gespeichert und nur für diese zugänglich. Die Ergebnisse der Studie werden ohne Nennung Ihres Namens (d.h. anonym) veröffentlicht.

Ihre gespeicherten oder sonst aufgezeichneten Daten/personenbezogenen Angaben und der Schlüssel werden gemäss der gesetzlichen Aufbewahrungsfrist 10 Jahre gespeichert und danach gelöscht bzw. vernichtet. Sie können jederzeit einer Weiterverarbeitung Ihrer Daten widersprechen. In diesem Fall werden die über Sie gespeicherten persönlichen Angaben und der dazugehörige Schlüssel gelöscht bzw. vernichtet, soweit nicht gesetzliche oder berufsrechtliche Aufbewahrungspflichten dem entgegenstehen. Ferner können Sie unrichtige Daten, die Sie betreffen, berichtigen lassen. Die von Ihnen im Rahmen dieser Studie entnommenen Blutproben werden ebenfalls verschlüsselt, so dass die Herstellung einer Verbindung zwischen Ihrer Person und der Blutprobe nur mit dem bei den Studienärzten auf einem separaten Computer gespeicherten Schlüssel möglich ist.

Auf Ihren Antrag hin werden Ihnen die Ergebnisse der im Rahmen dieser Studie vorgenommenen Untersuchungen und der Inhalt der über Ihre Person ansonsten aufgezeichneten Informationen mitgeteilt. Der Studienarzt wird Ihre personenbezogenen Daten für Zwecke der Verwaltung und Durchführung der Studie sowie Zwecke der Forschung und statistischen Auswertung verwenden.

14.1.1.1

#### 14.1.1.2 6. Versicherungsschutz

Es besteht Versicherungsschutz durch die Betriebshaftpflichtversicherung der Charité.

### 7. Bei offenen Fragen

Als Studienteilnehmer können Sie jederzeit den für Sie zuständigen Prüfarzt zu Belangen der Studienteilnahme, bei Fragen zu Untersuchungen im Rahmen der Studie und zu ungeklärten Sachverhalten ansprechen.

Ihre zuständigen Prüfarzte sind:

Prof. Dr. med. Verena Stangl/Dr. med. Nicoline Jochmann

Klinik für Innere Medizin/Kardiologie

Universitätsklinikum Charité

Humboldt Universität zu Berlin

10117 Berlin

Tel.: (0 30)4 50 51 31 42

Fax: (0 30)4 50 51 39 32

### 8. Die Teilnahme ist freiwillig und nicht verpflichtend

Sie haben das Recht, ohne Angabe von Gründen an der Studie nicht teilzunehmen, ohne dass hierdurch die für Sie notwendigen und indizierten medizinischen Maßnahmen beeinträchtigt werden.

Gleiches gilt für Abbruch der Studienteilnahme und den Widerruf der Einwilligung sowie bei Widerspruch gegen die Weiterverarbeitung der Daten.

Der Prüfarzt hat das Entscheidungsrecht, Sie als Studienteilnehmer aus Sicherheitsgründen, Änderung der Maßnahmen und anderen medizinischen Gründen aus der Studie herauszunehmen.

Ich habe die mir vorgelegte Patientenaufklärung zur Studie gelesen und verstanden sowie eine Ausfertigung derselben zum Verbleib erhalten.

***Hiermit bestätige ich, die Aufklärung zur Studienteilnahme gelesen und verstanden zu haben. Ein Exemplar habe ich zum Verbleib erhalten.***

***Name***

***Unterschrift Versuchsteilnehmer***

***Berlin, den***

***Name***

***Unterschrift aufklärender Arzt***

## Einwilligungserklärung

„Auswirkungen einer exklusiven Herzfrequenzreduktion mittels Ivabradin auf die vaskuläre Endothelfunktion.“

### Studienleiter:

Prof. Dr. med V. Stangl

Tel.: 030-450513142

Dr. med N. Jochmann

Tel.: 030-450613038

Von Frau/ Herr.....wurde ich über die Bedeutung, Tragweite und Dauer der klinischen Studie allgemein, sowie insbesondere über absehbare Risiken aufgeklärt. Ich hatte Gelegenheit, alle mich interessierenden Fragen zu stellen und erkläre hiermit, dass mir alle Fragen hinreichend beantwortet wurden. Ich hatte auch ausreichend Zeit, meine Entscheidung zur Teilnahme an der Studie zu überdenken.

Eine Kopie des Aufklärungsbogens und der Einwilligungserklärung habe ich erhalten. Mir wurde erklärt, dass der Versicherungsschutz über die Betriebshaftpflicht Lehre und Forschung der Charité besteht. Ich bin damit einverstanden, dass die medizinischen Daten unter Einhaltung des Datenschutzes in anonymisierter Form an die Studienleitung weitergegeben werden und publiziert werden. Außerdem bin ich damit einverstanden, dass zur Kontrolle der Prüfergebnisse zur Verschwiegenheit verpflichtete Personen im Auftrag der Studienleitung Einsicht in die Studienunterlagen nehmen können, wenn es zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Untersuchungen erforderlich ist. Darüber hinaus bin ich mit der Entnahme, Untersuchung sowie verschlüsselten (pseudonymisierten bzw. anonymisierten) Lagerung meines im Rahmen dieser klinischen Studie entnommenen Blutes, für den Zweck der Studie durch die/den Studienärztin/Studienarzt bzw. das Labor einverstanden. Mir ist bekannt, dass ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich zurückziehen und einer Weiterverarbeitung meiner Daten jederzeit widersprechen kann.

Ich versichere, dass ich mich zum Zeitpunkt meiner Unterschrift im vollen Besitz meiner geistigen Kräfte befinde und diese Entscheidung aus freiem Willen treffe.

Ich bin mit der Teilnahme an der klinischen Studie

\_\_\_\_\_ EINVERSTANDEN

\_\_\_\_\_ NICHT EINVERSTANDEN

**Berlin, den**

**Name des Probanden**

**Arzt/Ärztin**

Hiermit erkläre ich, die/den o.g. Versuchsteilnehmerin/-teilnehmer am \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ über Wesen, Bedeutung, Tragweite und Risiken der o.g. Studie mündlich und schriftlich aufgeklärt und ihr/ihm eine Ausfertigung der Information sowie dieser Einwilligungserklärung übergeben zu haben.

**Unterschrift des Probanden**

**Unterschrift des aufklärenden Arztes**

## **15 DANKSAGUNG**

Ich danke allen, die das Zustandekommen dieser Arbeit ermöglicht haben:

Frau Dr. Nicoline Jochmann und Frau Prof. Dr. Verena Stangl für die Überlassung des Themas und die Unterstützung während der gesamten Arbeitszeit.

Herrn PD Dr. Fabian Knebel für die kompetente Betreuung und Unterstützung bei der Auswertung der Daten und während der Phase des Schreibens.

Frau Ulrike Günther für die Unterstützung bei Nachfragen und die reibungslosen organisatorischen Abläufe.

Ich danke meinem Mann, meiner Tochter, meinen Eltern, Großeltern und meinen Freunden für die tatkräftige Unterstützung beim Schreiben und Korrigieren der Arbeit und für den Ansporn durch beharrliches Nachfragen.