

Aus dem Center for Cardiovascular Research
Medizinischen Fakultät der Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Auswirkung einer Furosemid- und Megestrol®-Therapie auf die
Nierenstruktur bei chronischer Herzinsuffizienz am Ratten-Modell
des myokardialen Infarkts

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Christian Suckow
aus Stralsund

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. Dr. St. Anker
 2. Prof. Dr. B. Hoher
 3. Prof. Dr. B. Pieske

Datum der Promotion: 14.02.2014

1. EINLEITUNG	6
1.1 Die chronische Herzinsuffizienz.....	6
1.1.1 Definition der chronischen Herzinsuffizienz.....	7
1.1.2 Epidemiologie der chronischen Herzinsuffizienz.....	7
1.1.3 Prognose der chronischen Herzinsuffizienz	8
1.1.4 Ätiologie der chronischen Herzinsuffizienz	10
1.1.5 Pathophysiologie der chronischen Herzinsuffizienz	12
1.1.6 Symptome und Zeichen der chronischen Herzinsuffizienz	13
1.1.7 Diagnostische Parameter der chronischen Herzinsuffizienz	14
1.1.8 Klassifikation der chronischen Herzinsuffizienz	15
1.1.9 Therapie-Guidelines der chronischen Herzinsuffizienz	17
1.1.10 Guidelines für Diuretika	19
1.2 Assoziierte Syndrome der chronischen Herzinsuffizienz	21
1.2.1 Kardiorenales Syndrom.....	21
1.2.1.1 Klassifikation des kardiorenenalen Syndroms	23
1.2.1.2 Charakteristik des kardiorenenalen Syndroms	24
1.2.1.3 Auswirkung einer Diuretikatherapie auf die Nierenfunktion.....	24
1.2.1.4 Auswirkungen einer Furosemidtherapie auf die Nierenfunktion	26
1.2.2 Kardiale Kachexie	28
1.2.2.1 Definition der kardialen Kachexie	28
1.2.2.2 Charakteristik der kardialen Kachexie	29
1.2.2.3 Therapie der kardialen Kachexie	31
1.2.2.3.1 Appetitstimulanzien.....	32
1.2.2.3.2 Megestrol Acetat	32
1.2.2.3.3 Pharmakologische Daten	33
1.2.2.3.4 Dosierung.....	34
1.2.2.3.5 Wirkung	34
1.2.2.3.6 Nebenwirkungen	36

1.3. Zielsetzung	37
2. MATERIAL UND METHODEN	39
2.1 Material.....	39
2.1.1 Technisches Gerät.....	39
2.1.2 Chemikalien.....	40
2.1.3 Versuchstiere	41
2.2. Methoden.....	41
2.2.1 Studiendesign.....	42
2.2.1.1 Herzinsuffizienz am Rattenmodell.....	42
2.2.1.2 Versuchsplan und Medikamentengabe	42
2.2.1.3 Probengewinnung und -auswahl	45
2.2.2 Histologische Methoden.....	45
2.2.2.1 Anfertigen von Gefrierschnitten	45
2.2.2.2 Bestimmung der interstitiellen Fibrose mittels Sirius-Red-Färbung.....	46
2.2.2.3 Bestimmung der Glomerulosklerose mittels Perjodsäure-Schiff-Färbung (PAS).....	49
2.2.2.4 Bestimmung der Media-Lumen-Ratio arterieller Gefäße mittels Elastika van Gieson Färbung.....	52
2.2.3 Labortechnische und biometrischen Paramter	55
2.2.4 Statistik.....	58
3. ERGEBNISSE	59
3.1. Klinische Chemie	59
3.2. Relatives Nierengewicht.....	67
3.3 Albumin-Kreatinin-Quotient	69
3.4 Kreatinin-Clearance	71
3.5 Histologie.....	72
3.5.1 Interstitielle Fibrose	72
3.5.2 Media-Lumen-Ratio	75

3.5.3 Glomerulosklerose	79
4. DISKUSSION.....	83
4.1. Klinische Chemie.....	84
4.1.1 Leberwerte	84
4.1.2 Kreatinkinase.....	85
4.1.3 Albumin	86
4.2 Nierenparameter	87
4.2.1 Relatives Nierengewicht	87
4.2.2 Diurese	88
4.2.3 Kreatinin.....	89
4.2.4 Kreatinin-Clearance	90
4.2.5 Albumin-Kreatinin-Quotient.....	92
4.3 Histologie.....	93
4.3.1 Interstitielle Fibrose	93
4.3.2 Media-Lumen-Ratio	95
4.3.3 Glomerulosklerose	96
5. ZUSAMMENFASSUNG.....	99
6. LITERATURVERZEICHNIS	102
7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	122
8. ANHANG	125
8.1. Abbildungsverzeichnis	125
8.2 Tabellenverzeichnis	127
8.3 Eidesstattliche Erklärung.....	128
8.4 Lebenslauf	129
8.5 Publikationen	131
8.6 Danksagung.....	132

1. EINLEITUNG

1.1 Die chronische Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz gehört zu den häufigsten internistischen Erkrankungen weltweit und ist mit einer hohen Morbidität und Mortalität assoziiert. Zunehmende Veränderungen der Alterstruktur der Bevölkerung führen zu progredienter Prävalenz und Inzidenz dieses Krankheitsbildes. Bei deutlichen Auswirkungen auf den medizinischen, sozialen und wirtschaftlichen Sektor ist eine weitere Aufklärung der Komplexität der chronischen Herzinsuffizienz (CHI) zwingend erforderlich [1-3].

Als komplexes klinisches Syndrom wird die CHI durch verschiedene Symptome, Komorbiditäten und Faktoren bestimmt die sowohl die Entstehung als auch deren Prognose beeinflussen [1-3]. Einen prognoselimitierenden Faktor stellt z.B. die Niereninsuffizienz bzw. das Nierenversagen dar. Einschränkungen der Nierenfunktion sind eine häufige und fortschreitende Komplikation der CHI deren zunehmende Bedeutung und Zusammenhang den Begriff des kardioresenalen Syndroms geprägt haben [7].

Zunehmende Relevanz erlangt hat auch der prognostische Einfluss der Kachexie als eigenständige Größe im Sinne einer kardialen Kachexie [4-6].

Eine optimierte Behandlung der CHI bedarf daher eines tieferen Verständnisses der Pathophysiologie der komplexen Zusammenhänge dieses Krankheitsbildes und des Einflusses einer Pharmakotherapie auf das kardioresenale System als auch auf die kardiale Kachexie.

1.1.1 Definition der chronischen Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz ist ein klinisches Syndrom unterschiedlicher Ätiologie [8]. Pathophysiologisch liegt die Unfähigkeit des Herzens vor, das vom Organismus benötigte Herzzeitvolumen bei normalem oder ausreichendem enddiastolischen Ventrikeldruck zu fördern. Es resultiert die Unterversorgung der Gewebe des Körpers mit ausreichend Blut und damit genügend Sauerstoff, was in verminderte körperliche Belastbarkeit mündet [1, 8].

Die chronische Herzinsuffizienz entwickelt sich im Verlauf von Monaten bis Jahren. Sie ist charakterisiert durch Kompensationsprozesse des Organismus. Klinisch liegt dann eine chronische Herzinsuffizienz vor, wenn typische Symptome wie Dyspnoe, Müdigkeit oder Flüssigkeitsretention bestehen, denen ursächlich eine kardiale Funktionsstörung zugrunde liegt [9-11].

1.1.2 Epidemiologie der chronischen Herzinsuffizienz

Als eine der häufigsten internistischen Erkrankungen ist die Herzinsuffizienz die dominierende Herzkreislaufkrankung des 21. Jahrhunderts [10, 12]. In den westlichen Ländern leiden mehr als ein Prozent der Bevölkerung an einer CHI [1]. In Europa wird die Zahl herzinsuffizienter Patienten auf mehr als 10 Millionen geschätzt. Etwa vergleichbar groß ist die Patientengruppe mit systolisch kardialer Dysfunktion ohne Herzinsuffizienzsymptome [10]. Weit mehr als 2 Millionen Menschen der deutschen Bevölkerung leiden an einer CHI [12].

Die stetige Zunahme an Herzinsuffizienzerkrankungen ist einer veränderten Altersstruktur unserer Bevölkerung und verbesserter Überlebenschancen durch medizinischen Fortschritt geschuldet. Die ansteigende Altersstruktur in der Bevölkerungspyramide hat somit wesentlich zu einer erhöhten Inzidenz und Prävalenz von Patienten mit CHI beigetragen [2, 3]. In Deutschland haben in den letzten 20 Jahren die stationären Behandlungen wegen Herzinsuffizienz um über 150 Prozent zugenommen [12]. Die deutlich altersabhängige Prävalenz und Inzidenz zeigen, dass

weniger als ein Prozent der Bevölkerung im Alter zwischen 45-55 Jahren an einer Herzinsuffizienz erkrankt sind. Zwischen dem 65. und 75. Lebensjahr steigt die Prävalenz bereits auf zwei bis fünf Prozent an und bei den über 80-jährigen beträgt sie fast 10 Prozent, ältere Zahlen gehen hier sogar von 30 Prozent aus [9, 13-14]. Das Lebenszeitrisko eine Herzinsuffizienz zu erwerben ist für Frauen und Männer über 40 Jahre etwa gleich hoch und liegt bei durchschnittlich 20 Prozent [3]. Genauer betrachtet besteht allerdings bei der Prävalenz ein geschlechtsspezifischer Unterschied. Männer sind mit etwa 1,5:1 häufiger betroffen als gleichaltrige Frauen. In höherem Lebensalter nimmt besonders bei Frauen der Anteil einer diastolischen Herzinsuffizienz zu und macht bei älteren Patienten mehr als 30 Prozent, bei Patientinnen mehr als 40 Prozent aus [15].

Die Anzahl jährlicher Neuerkrankungen liegt laut Framingham Heart Study bei zwei bis fünf Prozent [3, 16].

Bei Betrachtung der Herzinsuffizienz in Bezug zum klinischen Schweregrad zeigen 0,2 Prozent der über 40-jährigen eine schwerste Herzinsuffizienz bei eingeschränkter Ventrikelleistung. Bei etwa zwei Prozent liegt eine Herzinsuffizienz aller Schweregrade vor und bei etwa 20 Prozent zeigt sich eine Hochrisikokonstellation mit Hypertonie oder erlittenem Myokardinfarkt. Bei mehr als 40 Prozent der Betroffenen findet sich eine Hochrisikokonstellation und Übergewicht [17].

1.1.3 Prognose der chronischen Herzinsuffizienz

Die World Health Organisation (WHO) ging davon aus, dass die Herzkreislauferkrankungen bis zum Jahr 2010 weltweit die häufigste Todesursache sein werden [12]. In Deutschland stehen Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems bereits an der Spitze der Todesursachen. Im Jahr 2010 erlag ihnen fast jeder zweite Gestorbene (41,1 % aller Verstorbenen) [18]. Die Zahl der Todesfälle, die auf Herzinsuffizienz zurückgeführt werden kann, hat sich seit 1970 um das 3- bis 4-fache erhöht [2, 9]. Laut statistischem Bundesamt steht die Herzinsuffizienz 2010 mit 5,6 Prozent damit an dritter Stelle der Todesursachen, gleich nach der chronisch ischämischen Herzkrankheit (8,5 %) und dem akuten Myokardinfarkt (6,5 %) [18]. Mehr

als 90 Prozent der Todesfälle bei CHI treten bei Patienten über 65 Jahren auf [2, 9]. Fortschreitendes Pumpversagen, ursächlich durch symptomatische oder hämodynamische Verschlechterung und plötzlicher Herztod sind die wesentlichen Todesursachen [1, 19-21]. Das Mortalitätsrisiko ist im Allgemeinen bei infarktbedingter Herzinsuffizienz gegenüber hypertoniebedingter erhöht. Damit ist die Ursache an sich als Risikofaktor mit der höchsten Signifikanz einzuschätzen [22]. Mit zunehmender kardialer Funktionseinschränkung verschlechtert sich die Prognose. Von tragender Bedeutung sind hier unter anderem der Grad der Pumpfunktionsstörung, die Symptomatik, die Belastbarkeit, das Alter und Begleiterkrankungen [10, 23].

Die Art bzw. die Ursache der Herzinsuffizienz sollte daher bei der Betrachtung der Prognose beachtet werden. Epidemiologische Analysen haben gezeigt, dass die Prognose bei CHI mit erhaltener Pumpfunktion günstiger ist, als bei systolischer Dysfunktion. Die jährliche Sterblichkeit kann bei systolischer Dysfunktion mit 15 bis 19 Prozent angegeben werden, bei der diastolischen liegt sie mit 8 bis 9 Prozent deutlich darunter [10, 24-26].

Die mittlere Lebenserwartung bei CHI liegt im Mittel bei ca. 7 Jahren. Die Sterbewahrscheinlichkeit nach durchlebten 10 Jahren steigt etwa um das sechsfache [22].

Bei Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz ohne entsprechende Therapie liegt die Ein-Jahres-Mortalität bei 52 Prozent [19, 20, 27]. In den letzten Jahren hat sich die Diagnostik und Therapie der Herzinsuffizienz deutlich verbessert. Eine Verschiebung vorzeitiger Mortalität in höhere Altersbereiche hat Auswirkungen auf prognostische Aussagen [2, 28, 29].

Derzeit liegt die Ein- beziehungsweise Fünf-Jahres-Mortalität im Allgemeinen für Männer bei 28 bzw. 59 Prozent (1990 bis 1999), die für Frauen bei 24 bzw. 45 Prozent (1990 bis 1999). Bei Männern liegt die Sterblichkeit somit höher als bei Frauen [2, 9, 30].

1.1.4 Ätiologie der chronischen Herzinsuffizienz

Die Ursachenlandschaft der Herzinsuffizienz ist groß, was auch zu einer Vielfalt in deren Unterscheidung mündet. Eine Unterscheidung in primäre und sekundäre Herzinsuffizienz, Low-output-failure und High-output-failure, Links- und/oder Rechtsherzinsuffizienz oder akute und chronische Herzinsuffizienz beschreibt letztendlich unterschiedliche Pathophysiologien bei der Entstehung des Syndroms der Herzinsuffizienz, die alle in eine gemeinsame Endstrecke mit entsprechenden Symptomen münden. Tabelle 1.1 gibt einen Überblick der allgemein gültigen Ursachen.

Ursachen einer Herzinsuffizienz:
Koronare ischämische Herzerkrankung
Hypertensive Herzerkrankung/arterielle Hypertonie
Dilatative Kardiomyopathie
Hypertrophe Kardiomyopathie, hypertrophisch- obstruktive Kardiomyopathie
Restriktive Kardiomyopathie
Vitien
Perikarderkrankungen
Entzündliche Erkrankungen (z.B. Myokarditis, Endokarditis)
Stoffwechselstörungen (z.B. Hyperthyreose)
Toxisch- metabolische Kardiomyopathien
Rhythmogene Herzinsuffizienz
Peripartale Kardiomyopathie
Andere

Tabelle 1.1: Überblick über die Ursachen einer Herzinsuffizienz [1, 10]

Low-output-failure beschreibt ein Vorwärtsversagen mit Verminderung des Herzzeitvolumens, High-output-failure eine mangelnde Blut- und damit Sauerstoffversorgung der Peripherie bei erhöhtem Herzzeitvolumen. Bei Low-output-failure ist die arteriovenöse Sauerstoff-Differenz vergrößert, wohingegen die Differenz bei High-output-failure normal bis vermindert ist. Die Ursache bei Low-output-failure kann weiterhin unterschieden werden in systolische und diastolische Ventrikelfunktionsstörungen.

Systolische Ventrikelfunktionsstörungen entstehen erstens in Folge einer Kontraktionsstörung des Myokards, häufig durch koronare Herzkrankheiten (70 Prozent) [14, 31] und Kardiomyopathien (15 %) und zweitens bei erhöhter Ventrikelwandspannung, ursächlich durch arterielle (35-52 % dieser Patienten) [14, 31] oder pulmonale Hypertonie.

Die diastolische Ventrikelfunktionsstörung ist Folge einer verminderten diastolischen Dehnbarkeit und Relaxation des linken Ventrikels. Arterielle Hypertonie, konstriktive Perikarditis und restriktive Kardiomyopathien stehen hier an erster Stelle als Auslöser für Herzhypertrophie und Behinderung der Ventrikelfüllung [8, 32]. Somit stellen linksventrikuläre Funktionsstörungen bei Low-output-failure (80-90 %) die Hauptursache bei herzinsuffizienten Patienten dar, hier insbesondere die Gruppe mit systolischer Dysfunktion. Verschiedene Studien ergaben bei Vorliegen einer systolischen Dysfunktion in etwa 60 Prozent der Fälle eine Ejektionsfraktion von 40 Prozent [9, 26, 33-34].

Systolische als auch diastolische Dysfunktion sind stark altersabhängig. So berichten Studien auch von einer 13- bis 74-prozentigen Prävalenz der diastolischen Dysfunktion [24, 26, 35].

1.1.5 Pathophysiologie der chronischen Herzinsuffizienz

Die vorgezeigten Ursachen, die eine primäre Einschränkung der Pumpleistung auslösen, führen letztendlich zu einer Schädigung von Herzmuskelzellen. Im Allgemeinen kommt es infolge einer Linksherzinsuffizienz zu einem Flüssigkeitsrückstau in die Lunge, bei Rechtsherzinsuffizienz zu einem generellen venösen Rückstau und einer Flüssigkeitsansammlung im ganzen Körper. Besonders betroffen sind dabei die Gewebe der unteren Extremitäten und der Bauchorgane, vorallem die Leber. Oftmals führt eine Linksherzinsuffizienz zum Versagen der rechten Kammer und damit zu biventrikulärem Herzversagen mit der Konsequenz von Lungen- und Beinödemen [36]. Ein damit verbundener hämodynamischer Leistungsverlust muss kompensatorisch ausgeglichen werden mit dem Ziel, die Perfusion lebenswichtiger Organe zu sichern. Neurohumorale Anpassungsvorgänge, wie die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), des sympathischen Nervensystems, verschiedener Zytokine und vasoaktiver Substanzen sind die Folge [37-42]. Die lokalen und systemischen neuroendokrinen Aktivierungen bewirken eine periphere Vasokonstriktion mit ansteigenden Kapillardrücken und erhöhtem peripheren Widerstand. Als Konsequenz ergibt sich eine weitere Zunahme des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens, der enddiastolischen Vordehnung und Nachlast des Herzens, pulmonaler Stauung und peripherer Ödeme. Erhöhte myokardiale Inotropie und Chronotropie, getriggert durch z.B. Katecholamineffekte, können eine Verschlechterung der koronaren Ischämie sowie eine erhöhte Arrhythmieneigung bewirken. Ventrikuläres Remodeling und Förderung des Zelltodes von Myozyten wird vorangetrieben [1, 9, 41, 43-45]. Es resultiert also eine Verschlechterung struktureller wie funktioneller Eigenschaften des Herzens mit Zunahme der Symptomatik bei den Patienten [1, 10] und damit einer weiteren Progression der CHI.

1.1.6 Symptome und Zeichen der chronischen Herzinsuffizienz

Die vielfältigen kardialen Erkrankungen, die einer Herzinsuffizienz zugrunde liegen, äußern sich im entsprechenden Stadium mit charakteristischen, jedoch unspezifischen Symptomen [1, 9, 19, 46]. Dyspnoe, Leistungsabnahme sowie Verdauungsbeschwerden können zwar auf das Vorliegen einer Herzinsuffizienz hindeuten, für die Diagnose der CHI bedarf es jedoch objektiver Kriterien. Entsprechend der Framingham-Studie wurden relevante Kriterien für die klinische Diagnose einer Herzinsuffizienz konkretisiert (s. Tabelle 1.2), von denen zwei Kriterien 1. Ordnung oder ein Kriterium 1. Ordnung und zwei Kriterien 2. Ordnung vorhanden sein müssen [10, 47].

Framingham-Kriterien für die klinische Diagnose einer Herzinsuffizienz
<u>Kriterien 1. Ordnung</u>
Paroxysmal nächtliche Dyspnoe oder Orthopnoe
Halsvenenstauung
Pulmonale Rasselgeräusche
Kardiomegalie
Akutes Lungenödem
3. Herzton
Erhöhter zentraler Venendruck (>16 cm H ₂ O)
Zirkulationszeit ≥ 25 Sek.
Hepatojugulärer Reflux
Gewichtsabnahme über 4,5 kg in 5 Tagen unter Herzinsuffizienztherapie
<u>Kriterien 2. Ordnung</u>
Unterschenkelödeme
Nächtlicher Husten
Belastungsdyspnoe, Hepatomegalie, Pleuraergüsse
Tachykardie (Herzfrequenz >120 pro Minute)
Vitalkapazität vermindert auf weniger als 1/3 des Maximums

Tabelle 1.2: Framingham-Kriterien 1. und 2. Ordnung [10, 47]

1.1.7 Diagnostische Parameter der chronischen Herzinsuffizienz

Ergänzend zu den diagnosesichernden Verfahren, wie Anamnese, körperliche Untersuchung, 12-Kanal-EKG, Röntgen der Thoraxorgane und transthorakale Echokardiographie sollen zur Primärdiagnostik die in Tabelle 1.3 aufgeführten Laborparameter zur Beurteilung von Begleiterkrankungen bestimmt werden.

Wesentliche Laborparameter	Laborparameter bei spezieller Indikation
Blutbild	myokardiale Biomarker (Troponin T/I, CK/CK-MB)
Serum-Elektrolyte	BNP/NTproBNP
Kreatinin	Schilddrüsenhormone
Glukose	Harnstoff
Serumlipide	Harnsäure
Leberenzyme	Gerinnungsparameter
Urinstatus	
C-reaktives Protein	

Tabelle 1.3: Überblick über Laboruntersuchungen bei Herzinsuffizienz [10]

Neben der Ursachenklärung vorliegender Vitien, Kontraktionsstörungen, ventrikulärer Dilatation, diastolischen Relaxations- oder Compliancestörungen, Myokardhypertrophie und Perikarderkrankungen [9, 48-50] sollen diese Parameter bei der Beurteilung der klinischen Situation, Risikofaktifizierung und Therapieüberwachung hilfreich sein. Besonders zu erwähnen ist hier die Kontrolle der Nierenfunktion. Die Bestimmung des Serum-Kreatininwertes allein kann jedoch keine ausreichende Information liefern und führt häufig bei älteren Patienten zu Fehlinterpretationen. Der berechnete Kreatinin-Clearance-Wert ergibt hingegen eine ausreichend verlässliche Beurteilung der Nierenfunktion [51].

Innerhalb der Laboruntersuchungen stellt die Bestimmung der Peptide „brain natriuretic peptide“ (BNP) und N-terminales (NT)-proBNP eine wichtige Neuerung in der Diagnostik der Herzinsuffizienz dar. In der klinischen Routine kann die BNP/NTproBNP-Bestimmung zum Ausschluss einer relevanten kardialen Dysfunktion (linksventrikulären Pumpfunktionsstörung) bei symptomatischen Patienten dienen [51, 52].

Niedrig normale Konzentrationen von BNP/NTproBNP bei unbehandelten Patienten machen daher eine Herzinsuffizienz bei der Abklärung einer Dyspnoe unwahrscheinlich [51]. Erhöhte BNP-Werte finden sich bei diastolischer Dysfunktion (nicht bei systolischer Herzinsuffizienz), ventrikulärer Hypertrophie, Herzklappenerkrankungen, akuter und chronischer Ischämie sowie arterieller Hypertonie und Lungenembolie. Renale Funktionsstörungen führen ebenfalls zu erhöhten BNP-Werten. Zu beachten ist, dass Frauen und ältere Patienten höhere physiologische Werte aufweisen [10, 53, 54].

Bei der frühen Diagnose einer asymptomatischen kardialen Dysfunktion spielt die Bestimmung von Biomarkern hingegen noch keine Rolle [55].

1.1.8 Klassifikation der chronischen Herzinsuffizienz

Die medikamentöse Therapie der Herzinsuffizienz richtet sich nach der Klassifikation der New York Heart Association (NYHA). Diese ist eine Einteilung basierend auf der Leistungsfähigkeit der Patienten (s. Tabelle 1.4). Eine weitere Klassifikation der American Heart Association berücksichtigt mehr die Entstehung und Progredienz der Erkrankung (s. Tabelle 1.5) [1, 10, 56].

NYHA-Klassifikation der Herzinsuffizienz	
I.	Herzerkrankung ohne körperliche Limitation. Alltägliche körperliche Belastung verursacht keine inadäquate Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
II.	Herzerkrankung mit leichter Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Alltägliche körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
III.	Herzerkrankung mit höhergradiger Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit bei gewohnter Tätigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Geringe körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
IV.	Herzerkrankung mit Beschwerden bei allen körperlichen Aktivitäten und in Ruhe. Bettlägerigkeit.

Tabelle 1.4: Stadieneinteilung der NYHA-Klassifikation bei Herzinsuffizienz [1, 10, 56]

Herzinsuffizienz-Klassifikation der American Heart Association	
Stadium A	hohes Herzinsuffizienz-Risiko, da Faktoren vorliegen, die stark mit der Entstehung einer Herzinsuffizienz assoziiert sind; keine strukturelle Herzerkrankung, noch nie Herzinsuffizienzsymptome
Stadium B	strukturelle Herzerkrankung, die eng mit der Entstehung einer Herzinsuffizienz assoziiert ist, bisher keine Herzinsuffizienzsymptome
Stadium C	frühere oder derzeitige Herzinsuffizienz-Symptome bei struktureller Herzerkrankung
Stadium D	fortgeschrittene strukturelle Herzerkrankung und schwere Herzinsuffizienzsymptome in Ruhe trotz maximaler medikamentöser Therapie

Tabelle 1.5: Stadieneinteilung der American Heart Association [1, 10, 56]

1.1.9 Therapie-Guidelines der chronischen Herzinsuffizienz

Ziele einer medikamentösen Therapie bei der CHI sind die Senkung der Mortalität und der Hospitalisierungsrate, eine Verbesserung der Beschwerden sowie die Reduzierung einer Progression der Erkrankung. Primärpräventiv sollen zunächst Therapieansätze zur Beseitigung der Ursache einer Herzinsuffizienz als auch eine Beeinflussung häufig vorliegender Komorbiditäten mit dem Ziel einer Risikominimierung ausgeschöpft werden.

Entsprechend der NYHA-Stadieneinteilung basiert die medikamentöse Stufentherapie bei systolischer linksventrikulärer Dysfunktion auf einer Kombinationstherapie mit ACE-Hemmern, β -Blockern, Diuretika, gegebenenfalls AT1-Blockern und Herzglykosiden. Die detaillierten Guidelines sind in Tabelle 1.6 zusammengefasst [1, 10, 56].

Die Behandlungsmaßnahmen bei der diastolischen Herzinsuffizienz können aufgrund fehlender gesicherter Studiendaten nicht in adäquater Weise zur systolischen Stufentherapie durchgeführt werden. Eine Senkung des ventrikulären Füllungsdrucks und damit eine Verminderung der venösen Stauung mittels Diuretika und Nitraten zur Verbesserung der Symptomatik kann bei einem Teil der Patienten erreicht werden.

β -Blocker oder bradykardisierende Kalziumantagonisten zur Kammerfrequenzsenkung scheinen günstige Auswirkungen zu haben [1, 9]. Ebenso zeigte sich in einer randomisierten Studie unter dem AT1-Antagonisten Candesartan tendenziell eine Reduktion der Hospitalisationsrate [57].

Medikamentöse Stufentherapie bei systolischer linksventrikulärer Dysfunktion				
Medikament	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
ACE-Hemmer	indiziert	indiziert	indiziert	indiziert
Beta-Blocker (ohne ISA)	nach Myokardinfarkt, bei Hypertonie	indiziert*	indiziert*	indiziert*
Diuretika <i>Thiazide</i>	bei Hypertonie	bei Flüssigkeitsretention oder ehemals vorgelegener Flüssigkeitsretention	indiziert zur Potenzierung der Schleifen-diuretikawirkung	indiziert zur Potenzierung der Schleifen-diuretikawirkung
<i>Schleifen-diuretika</i>	-	bei Flüssigkeitsretention oder ehemals vorgelegener Flüssigkeitsretention	indiziert	indiziert
<i>Aldosteron-Antagonisten</i>	nach Myokardinfarkt	nach Myokardinfarkt	indiziert	indiziert
AT1-Rezeptor-Blocker	bei ACE-Hemmer-Intoleranz			
Herzglykoside	bei tachysystolischem Vorhofflimmern	bei tachysystolischem Vorhofflimmern; im Sinusrhythmus nach Besserung von schwerer Symptomatik #	indiziert #	indiziert #

Tabelle 1.6: Überblick über die Guidelines der medikamentösen Stufentherapie bei systolischer linksventrikulärer Dysfunktion (EF<40 %) entsprechend der Stadieneinteilung der NYHA-Klassifikation (ISA= intrinsische sympathomimetische Aktivität; NW= Nebenwirkung; *nur bei stabilen Patienten, langsam einschleichend unter engmaschiger Kontrolle, # mit niedrigen Zielserumspiegeln) [10]

1.1.10 Guidelines für Diuretika

Der Einsatz von Diuretika bei der Behandlung der CHI ist weit verbreitet und akzeptiert, auch wenn keine randomisierten oder prospektiven Daten zu einer Beeinflussung harter klinischer Endpunkte vorliegen [1]. Entsprechend den Guidelines sind Diuretika bei jeder Herzinsuffizienz mit Flüssigkeitsretention oder ehemals vorgelegener Flüssigkeitsretention indiziert und sollen möglichst immer mit ACE-Hemmern kombiniert werden. Ziel ist hier vorrangig die schnelle symptomatische Besserung insbesondere durch Abnahme der pulmonalen Stauung. Die Wahl der Diuretika wird unter anderem bestimmt vom Grad der Flüssigkeitseinlagerung und der Nierenfunktion. Leichte bis mäßiggradige Flüssigkeitseinlagerungen werden mit Thiaziden und niedrig dosierten Schleifendiuretika behandelt. Ab Kreatininwerten $>1,8$ mg/dl (>158 $\mu\text{mol/l}$) bzw. bei Kreatinin-Clearance-Werten <30 ml/min ist die Gabe von Schleifendiuretika induziert. Bei schwerem oder instabilem Krankheitsbild kann ein Therapieversuch mittels Steigerung der Diuretikadosis und gegebenenfalls Umstellung zu intravenöser Applikation erfolgen (s. Tabelle 1.7).

Bei persistierender Flüssigkeitsretention und Kreatininwerten $>5,5$ mg/dl (>484 $\mu\text{mol/l}$) ist Hämodialyse oder -filtration Therapieoption der Wahl. Aldosteronantagonisten sind bei Kreatininwerten unter $2,5$ mg/dl und Kaliumwerten unter 5 mmol/L angebracht [48].

Diuretikum	Dosisbereich (mg/Tag)	Wirkeintritt (h)	Wirkdauer (h)	Wichtige Nebenwirkungen
<u>Thiazide/Derivate</u>				Hypokaliämie
<i>Hydrochlorothiazid</i>	25-50	1-2	6-12	Hyponatriämie
<i>Chlortalidon</i>	50-200	2	48-72	Hypo-
<i>Indapamid</i>	2,5	1	12-24	magnesiämie
<i>Xipamid</i>	10-80	1	24	Hypotonie
<u>Schleifendiuretika</u>				Hypokaliämie
<i>Furosemid</i>	40-160	0,5	6-8	Hyponatriämie
<i>Torasemid</i>	5-20	1	6-8	Hyperurikämie
<i>Etacrynsäure</i>	50-200	0,5	6-8	Glucosetole-
<i>Piretanid</i>	3-20	1	4-6	ranzstörung
				Erektile
				Dysfunktion
<u>Kaliumsparende Diuretika</u>				Hyperkaliämie
<i>Spironolacton</i>	12,5-100	2-6	24-36	Gynäkomastie
<i>Epleronon</i>	12,5-50	2-6	24-36	
<i>Triamteren</i>	50-100	2	8-16	
<i>Amilorid</i>	5-10	2	10-24	

Tabelle 1.7: Dosierung und Wirkdauer einiger häufig verwendeter Diuretika
(Dosisbereich für die orale Applikation angegeben) [10]

1.2 Assoziierte Syndrome der chronischen Herzinsuffizienz

Die Komplexität der Herzinsuffizienz äußert sich unter anderem in den sie begleitenden Erkrankungen. Oftmals ist hierbei unklar, inwieweit die Komorbiditäten die Herzinsuffizienz beeinflussen, oder diese die Herzinsuffizienz ihrerseits in der Progredienz vermehrt negativ vorantreiben. Das multifaktorielle Zusammenspiel verschiedener Köpersysteme findet seinen Ausdruck in der Bezeichnung verschiedener Syndrome, die weiterer Aufklärung bedürfen.

1.2.1 Kardiorenales Syndrom

Eine sehr häufig beobachtete Komorbidität der CHI ist die Niereninsuffizienz. Die Kombination der beiden Erkrankungen verschlechtert die Prognose der bereits bestehenden Erkrankung [4, 7, 58-59]. Der Zusammenhang dieser Krankheitsbilder findet schon lange Beachtung, die zugrundeliegenden pathophysiologischen Zusammenhänge sind aber weiterhin rudimentär [7, 58-59]. Beobachtungen haben unter anderem gezeigt, dass Patienten, die an einer chronischen Nierenerkrankung (CKD) leiden, ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Komplikationen aufweisen, wie auch Patienten mit Herzerkrankungen mit einem erhöhten Risiko für CKD behaftet sind. Die Progression der Erkrankungen steigt rapide an und erhöht die Mortalität [60, 61].

Tritt unter Behandlung der chronischen (dekompensierten) Herzinsuffizienz eine Verschlechterung der Nierenfunktion auf, spricht man vom kardiorenalen Syndrom [62]. Diese Verschlechterungen der Nierenfunktion werden besonders beobachtet bei Patienten die älter sind, eine hohe Prävalenz an Nierendysfunktion, Diabetes mellitus und Hypertonus haben [63]. Erstaunlicherweise findet sich eine systolische Dysfunktion nicht häufiger. Die Verschlechterung infolge der Nierendysfunktion ist auch nicht charakterisiert durch Low-output-status [7, 63-64]. Die jedoch im Zusammenhang mit der Nierendysfunktion auftretende vermehrte Flüssigkeitsansammlung führt ihrerseits wiederum zur Verschlechterung des Symptomenkomplexes der Herz-

insuffizienz [7, 63, 64], erhöhter und verlängerter Hospitalisierung sowie erhöhter Morbidität und erhöhter Mortalität nach Entlassung [65].

Das kardiorenale Syndrom (CRS) ist demnach ein Zustand, in dem Herz und Niere simultan betroffen sind, sich die schädigenden Komponenten in einem gegenseitigen Feedbackmechanismus weiter verstärken und so die Herz- und Nierenfunktionsschäden vorantreiben [61]. Die multifaktoriell bedingten Komplexe dieser Erkrankungen machen eine pathophysiologische Erklärung schwierig. Das Zusammenspiel von Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, Beeinflussung von renal-blood-flow (RBF) und damit glomerulärer Filtrationsrate (GFR), forcierter Diurese, neurohumeraler und inflammatorischer Prozesse sowie endothelialer Zerstörung [61, 65-66] bilden die Grundlage von hypothetischen Ansätzen.

Das kardiorenale Syndrom ist nach aktuellem Stand der Wissenschaft derzeit nicht gezielt behandelbar. Als Folge einer immer besser werdenden Therapie der Herzinsuffizienz und damit verbundener verlängerter Überlebensraten werden Ereignisse wie Arrhythmie seltener zum Tod führen und mehr Patienten das eigentliche Endstadium der Herzinsuffizienz, die kardiorenale Dysfunktion, erreichen [7, 58-59].

1.2.1.1 Klassifikation des kardiorenenalen Syndroms

Die wachsende Bedeutung des CRS und der Zuwachs an wissenschaftlicher Erkenntnis haben zu immer neueren Definitionsversuchen geführt. Ronco C et.al [67] haben ihre Definition um eine Klassifikation erweitert, die mögliche Pathophysiologien, Zeiträume und bestimmte Erscheinungen von Herz- und Nierendysfunktion berücksichtigen (s. Tabelle 1.8).

Generell wird hier das CRS als pathophysiologische Funktionsstörung von Herz und Niere verstanden, wobei akute oder chronische Fehlfunktion eines Organs die akute oder chronische Dysfunktion des anderen bedingen kann.

Type 1 CRS	reflektiert eine abrupte Verschlechterung kardialer Funktionen (z.B. akuter kardiogener Schock oder dekompensierte CHI), die zu akuter Schädigung der Niere führt
Type 2 CRS	umfasst chronische Abnormalitäten/Störungen der Herzfunktion (z.B. CHI), die eine progressive chronische Nierenerkrankung verursachen
Type 3 CRS	besteht aus einer abrupten Nierenfunktionsverschlechterung (z.B. akute Nierenischämie oder Glomerulonephritis), die akute kardiale Dysfunktion verursacht (z.B. Herzinsuffizienz, Arrhythmien, Ischämien)
Type 4 CRS	beschreibt einen Status chronischer Nierenerkrankung (z.B. chronisch glomeruläre Erkrankungen (Glomerulosklerose)), die zu Verschlechterung kardialer Funktion, kardialer Hypertrophie und/oder zu erhöhtem Risiko des Auftretens kardiovaskulärer Ereignisse führt
Type 5 CRS	spiegelt systemische Zustände wider (z.B. Sepsis), die sowohl kardiale als auch renale Dysfunktion bewirken

Tabelle 1.8: Klassifikation des kardiorenenalen Syndroms nach Ronco C et.al [67]

1.2.1.2 Charakteristik des kardiorenenalen Syndroms

Mit der Diagnostik einer Verschlechterung der Nierenfunktion steht dem Therapiekonzept der Herzinsuffizienz ein bedeutender prognostischer Parameter zur Verfügung, da die renale Dysfunktion den Risikofaktor mit der höchsten Signifikanz für ein schlechteres Überleben [4] bei Patienten mit CHI darstellt und mit einer Zunahme an komplizierenden Ereignissen verbunden ist [7, 59, 68].

Die Schwere bzw. das Auftreten einer renalen Dysfunktion bei Patienten mit CHI, gemessen an der Hospitalisierungsrate, ist assoziiert mit einer Verlängerung der stationären Behandlung [69-70], einem um 33 Prozent gesteigertem Risiko einer erneuten stationären Behandlung und einem um 67 Prozent gesteigertem Risiko innerhalb der nächsten sechs Monaten nach Entlassung zu versterben [71].

Der Anstieg des Serum-Kreatinin-Level über Basislevel um 25 Prozent oder mehr bzw. 0,3 mg/l (26,5 mmol/l) sowie eine Kreatinin-Clearance unter 60-70 ml/min wird definitionsgemäß als Worsening Renal Failure (WRF) bezeichnet [70]. In einer Multi-Center-Studie hatte ein Serum-Kreatinin-Anstieg von >0,3 mg/ml eine Sensitivität von 65 Prozent und eine Spezifität von 81 Prozent für die Prognose der Mortalität von stationär behandelten Patienten [64].

Bereits ab einem Serum-Kreatinin-Level über 1,3 mg/dl (oberer Grenzbereich) kann ein erhöhtes Risiko als evident [72] angesehen werden und wird bei Werten ab 1.5 mg/dl manifest [4]. Veränderungen dieser Art zeigen sich bei 25-45 Prozent der CHI-Patienten [59, 69].

1.2.1.3 Auswirkung einer Diuretikatherapie auf die Nierenfunktion

Eine der Hauptkomponenten in der Therapie der CHI ist die Gabe von Diuretika. Sie beeinflussen auf unterschiedliche Weise die renale Salz- und Wasserretention und wirken somit auf den Flüssigkeitsstatus, was zur Linderung der Symptomatik bei CHI ausgenutzt wird. Gleichzeitig stimulieren Diuretika aber auch das RAAS [73-75] und

zeigen metabolische Effekte [76]. Dies führt zu adaptiven Prozessen, die möglicherweise kontraproduktiv sind [73].

Diuretika assoziierte Nebenwirkungen
Anstieg Plasma-Renin
Stimulation des sympathischen Nervensystems
Veränderung der Nephronstruktur und -funktion
Hypokaliämie
Arrhythmien
Aldosteron-Anstieg
Elektrolytstörungen
Hypokalziämien
Hypomagnesiämien
Hypotonien mit Reflextachykardie
Neurohormonale Stimulation
gestörte Nierenfunktion
Hypovolämia

Tabelle 1.9: Übersicht der häufigsten mit Diuretikagabe assoziierten Nebenwirkungen [77-80]

So zählen einige der in Tabelle 1.9 aufgeführten Nebenwirkungen zu den multiplen Faktoren, die direkte Effekte an den Nierengefäßen und eine Niereninsuffizienz (ARF) bedingen können [77], mit den bekannten Folgen einer weiteren Verschlechterung der Herzinsuffizienz und erhöhter Mortalität [73].

Die optimale Verwendung von Diuretika bei der Therapie der CHI [78] und die Effekte der Diurese auf den weiteren Krankheitsverlauf und das Überleben sind relativ unklar, große randomisierte Studien (control trailed) fehlen [79, 80].

Mehrere Studien zeigen jedoch einen Zusammenhang zwischen Diuretikadosis, Mortalität und WRF. So sind High ceiling/loop Diuretika und aggressive Diurese signifikant assoziiert mit einer Verschlechterung der Nierenfunktion (WRF), einer bis zu

50-prozentigen Erhöhung der Mortalität, einer Verschlechterung der Sechs-Monats-Überlebensrate und plötzlichem Herzversagen [75-76, 78, 81-83].

Die Assoziation der Diuretikaverwendung mit verschlechtertem Überleben ist eine unabhängige Größe und dosisabhängig. Mit Fortschreiten der CHI steigt die Dosis der Diuretika an, verschlechtert sich die Nierenfunktion und identifiziert somit gerade die Patientengruppe mit dem höchsten Mortalitätsrisiko [84, 85].

Das sich hier abzeichnende Dilemma besteht einerseits in der Notwendigkeit einer aggressiveren Diuretikatherapie bei Verwendung höherer Dosen aufgrund verstärkter Symptomatik, beeinträchtigter diastolischer Ventrikelfüllung, Diuretikaresistenz und WRF [7, 86]. Andererseits bewirkt die Verschlechterung der Symptomatik und der Herzfunktion ein verändertes Ansprechen der Niere auf die Diuretikagabe mit Verschlechterung der renalen Dysfunktion, unter anderem bedingt durch veränderte Schwellenwerte, Absorptionsrate und -menge [79].

1.2.1.4 Auswirkungen einer Furosemidtherapie auf die Nierenfunktion

Besonders ausgeprägt zeigt sich die beschriebene Problematik einer zunehmenden aggressiven Therapie und einer zunehmenden Beschwerdesymptomatik bei Patienten höheren Alters, bei diastolischer Herzinsuffizienz und bei fortgeschrittener CHI. Gerade in den Stadien IV und V der Herzinsuffizienz bewirkt nur der Einsatz von Schleifendiuretika eine wirkungsvolle und suffiziente Diurese [61].

Das am häufigsten eingesetzte Schleifendiuretikum zur Therapie der Herzinsuffizienz ist in über 80 Prozent der Fälle Furosemid [76].

Furosemid, auch als Lasix® bekannt, ist ein Natrium-Kalium-2Chlorid-Cotransport-Inhibitor im aufsteigenden Teil der Henle-Schleife und führt so zur Ausscheidung großer Mengen Gewebeflüssigkeit. Das 1962 von Hoechst patentierte Furosemid ist ein kurz wirksames Diuretikum (HWZ 1h), besitzt eine schlechte Permeabilität, schlechte Löslichkeit bei niedrigem pH-Wert und eine sehr variable Bioverfügbarkeit (10-90 %) und Absorption [79]. Trotz seiner Beständigkeit auf dem Arzneimittelmarkt und seiner Akzeptanz in der Therapie verschiedener akuter und chronischer Erkrankungen

existieren keine wirklich großen randomisierten und placebo- kontrollierten Studien zu dem Einfluss von Furosemid auf die Mortalität und Langzeitmorbidity bei systolischer und diastolischer Dysfunktion der Herzinsuffizienz [83].

In kleineren Studien wurde der nützliche Effekt von Furosemid auf den Symptomenkomplex der CHI gezeigt. Ödeme und Volumenüberladung konnten signifikant gesenkt werden und damit auch die Hospitalisierungsrate. Dabei verbesserte sich die Auswurfleistung bei systolischer und linksventrikulärer Dysfunktion, weitere Ventrikelvergrößerung konnte verhindert werden, die Mortalität wurde gesenkt [80, 83]. Einige Studien konnten sogar eine verminderte Makrophageninfiltration, verminderte reaktive Sauerstoffspezies, verringerte gelatinolytische Aktivität [87] und eine Verbesserung des kardialen Remodeling im Tiermodell nachweisen [74].

Die weitaus größere Anzahl der Studien zeigen jedoch einer Verschlechterung der Mortalität und Nierendysfunktion unter Diuretikalangzeittherapie mit Furosemid bei CHI [70-73, 78, 81].

Es kann als gesichert angesehen werden, dass Furosemid durch die Blockade des Na-K-2Cl-Co-Transporters die Diurese stimuliert, Elektrolytsekretion verstärkt [88], die Urinausscheidung von Kalium signifikant erhöht und so Hypokaliämien, Hyponatriämien und Hypomagnesiämien verursacht. Dies wiederum führt zu erhöhter Morbidity und Mortalität [89, 90]. Im fortgeschrittenen Stadium einer CHI scheinen zusätzlich andere Mechanismen eine tragende Rolle zu spielen. Unter einer Furosemidtherapie kommt es zu einer reaktiven Aktivierung des RAAS, damit verbundener Verstärkung der Hyponatriämie und Hypokaliämie sowie zu einer Stimulation der Plasma-Renin-Aktivität. Da Furosemid nicht das RAAS blockiert [92], konnten positive antialdosterone und vasorelaxierende Effekte, wie z.B. unter Torasemidtherapie beobachtet, nicht nachgewiesen werden [91, 93-94]. Eine verbesserte myokardiale Funktion und Unterdrückung des kardialen Remodeling mit z.B. verminderter linksventrikulärer Fibrose, konnten unter Furosemidtherapie ebenfalls nicht gezeigt werden [87, 91-92].

Die Verschlechterung einer renalen Dysfunktion im Zusammenhang mit schwerer Herzinsuffizienz und Hochdosis-Furosemid-Therapie ist signifikant assoziiert mit verkürzter Überlebenszeit [81, 85, 89]. Eine tägliche Furosemidbehandlung und eine Dosisgabe von mehr als 80 mg/d konnten als unabhängige Faktoren zur Vorhersage einer WRF und einer erhöhten Mortalität nachgewiesen werden [70, 77].

1.2.2 Kardiale Kachexie

Ebenso wie das kardiorenale Syndrom ist auch die kardiale Kachexie eine der gefürchteten Komorbiditäten die multifaktoriell bedingt sind und mehrere Organsysteme gleichzeitig beeinflussen. So führen im Verlauf einer CHI anfänglich adaptive Prozesse im weiteren Fortschreiten der Erkrankung zu neurohumeralen kompensatorischen Mechanismen, die eine weitere Verschlechterung der Erkrankung bewirken [5]. Das Erscheinungsbild der chronischen Prozesse manifestiert sich dann häufig in endothelialer Dysfunktion, Ventilationsstörung, Skelettmuskelveränderung und sogenannter Auszehrung [5]. Das Auftreten von signifikanter Gewichtsabnahme und CHI im Sinne einer kardialen Kachexie ist eine bedeutende Komplikation der chronischen Erkrankung und ein unabhängiger Prognosefaktor, assoziiert mit progressiver Verschlechterung der Erkrankung und erhöhter Mortalität [5, 95-96]. Das Auftreten des klinischen Syndroms der kardialen Kachexie, entspricht dem Endstadium der CHI [6].

Die genauen Pathomechanismen des Syndroms der kardialen Kachexie sind bisher weitgehend ungeklärt, eine gezielte Therapie ist derzeit nicht etabliert.

1.2.2.1 Definition der kardialen Kachexie

Kachexie allgemein kann als ein "schlechter Zustand" beschrieben werden, bei dem es zu allgemeiner Atrophie mit Abnahme des Körpergewichts um mehr als 20 Prozent des Sollwertes kommt. Assoziiert ist der Gewichtsverlust meist mit verminderter Nahrungsaufnahme, Malabsorption oder Maldigestion sowie einer Vielzahl an Erkrankungen [98].

Die Definition der Kachexie hat sich in den letzten Jahren sehr gewandelt. So variiert die Prozentangabe über die Gewichtsabnahme als auch der Zeitraum über die sich eine Gewichtsveränderung vollzogen haben soll. Der derzeitige Konsens liegt bei einer Gewichtsabnahme von mehr als fünf bis sechs Prozent des individuellen Idealgewichts über einen Zeitraum von mindestens zwei bis sechs Monaten [99].

Kardiale Kachexie ist eine schwere unbeabsichtigte Gewichtsabnahme durch CHI. Die Patienten verlieren vorwiegend an Muskelmasse, teilweise unabhängig von Appetit und Kalorienzufuhr [100]. Anker et al. [101] formulieren eine Definition der kardialen Kachexie, die unabhängig vom Idealgewicht ist. Kardiale Kachexie ist demnach ein dokumentierter, nicht ödematöser Gewichtsverlust von mehr als sechs Prozent des Ausgangsgewichtes bei Patienten mit CHI über einen Zeitraum von mindestens sechs Monaten.

1.2.2.2 Charakteristik der kardialen Kachexie

Kachexie, wie sie auch im Zusammenhang mit der CHI und der Niereninsuffizienz auftritt, kann ursächlich auf ein Defizit in der Energieaufnahme und dem Energieverbrauch sowie einer auftretenden Anorexie zurückgeführt werden. Das Defizit zwischen Energieaufnahme und Energieverbrauch kann hier sowohl als Ursache der Kachexie als auch als Konsequenz der CHI, die in eine Kachexie mündet, postuliert werden [97, 99, 102]. Der multifaktoriell bedingte Mechanismus der kardialen Kachexie schließt metabolische, nutritionale, neuroendokrine und immunologische Prozesse mit ein [95] und ist nicht ausreichend geklärt.

Die Folgen der Unterernährung auf die Herzstruktur und -funktion sind fatal und treiben den chronischen Prozess weiter voran [103]. So kann die CHI zu Blutstau in der Leber und im Darm führen, resultierend in Schwellung der Organe und Übelkeit. Dies wiederum führt zu vermindertem Appetit und Malabsorption [100].

Die Anorexie, als pathophysiologisch bedeutsamer Faktor einer kardialen Kachexie, ist selbst als ein komplexes multifaktoriell bedingtes Erkrankungsbild anzusehen und führt zu schlechterer Lebensqualität, assoziiert mit erhöhter Hospitalisierungsrate und Mortalität [119-120]. Vermutet als Pathogenese der Anorexie wird ein multifaktorielles Zusammenspiel u.a. von Entzündungen, veränderten Aminosäuremustern, urämischen Toxinen und den Hormonen der brain-gut-axis, wie z.B. Leptin, Neuropeptide Y, Serotonin und Ghrelin [106, 119]. Als ursächlich kann hier auch eine Nierendysfunktion angenommen werden. Hier kann z.B. ein Zurückhalten von Toxinen und Zytokinen von großer Bedeutung sein [104].

Zytokine spielen eine wesentliche Rolle bei der Entwicklung und der Progression chronischer Erkrankungen. Die Interaktion zwischen Myokard einerseits und Immunsystem, peripherem Gewebe und Organen andererseits, bedingen eine Überproduktion von proinflammatorischen Zytokinen und unterhalten chronisch inflammatorische Prozesse, die von besonderer Bedeutung in der Entwicklung der Kachexie von CHI-Patienten sind [5].

Bei kachektischen Patienten zeigten sich u.a. ein Anstieg der Plasmaspiegel von NA, Adrenalin, Cortison, Renin sowie TNF-alpha [105] als auch erhöhte Werte von Tryptophan. Tryptophan beispielsweise bewirkt einen Anstieg der Serotoninsynthese, die unter anderem verantwortlich ist für die Appetit-inhibition. Die proinflammatorischen Zytokine wie TNF-alpha sind mit kachektischen Effekten assoziiert [106]. Zusätzlich kommt es zum Versagen anaboler Schutzmechanismen mit Insulinresistenz [107], Wachstumshormonresistenz und verminderten Plasmaspiegeln anaboler Steroidhormone [108, 109].

Mit zunehmendem Schweregrad der CHI verstärkt sich auch die Symptomatik der Atemnot. Infolge dessen steigt der Ruheenergieumsatz, als auch die Körpertemperatur, was wiederum zu erhöhter Verbrennung und zu verstärkter Ausschüttung von Zytokinen (TNF-alpha) führt. Eine verminderte Atemmuskelkraft ist daher als prognostisch relevant anzusehen. Erschwerend kommt hinzu, dass gerade im Alter und in fortgeschrittenen Stadien der CHI die Gewebezusammensetzung atypisch verändert ist. Der Gewichtsverlust betrifft hier primär die Nicht-Fett-Masse. Diese Muskelatrophie, bedingt durch verminderte Proteinsynthese bei gleichzeitig verstärktem Abbau [110], führt zu einem insgesamt unausgeglichenem zu Katabolismus neigendem Stoffwechsel [111] und erhöht die Wahrscheinlichkeit einer frühen Sarkopenie [112]. Die abnormale Skelettmuskulatur kann in einem circulus vitiosus mit verminderten Energiereserven und geschwächten Körperfunktionen primär verantwortlich für die Symptome bei der CHI gemacht werden [113].

Zu beachten ist außerdem die Verschleierung der Kachexie durch Ödeme (ca. 50 Prozent der Patienten) mit erhöhter Inzidenz bei älteren Patienten [103].

Das sich bedingende Gefüge aus Unterernährung, Nierendysfunktion, Anorexie, Inflammation und oxidativem Stress, das letztendlich in eine katabole Stoffwechsellage mit erhöhtem Proteinabbau und weiterer neurohormoneller und immunologischer Aktivierung führt, resultiert wiederum in eine erhöhte Morbidität und Mortalität [96-97, 104].

1.2.2.3 Therapie der kardialen Kachexie

Die multifaktorielle Genese der kardialen Kachexie bei CHI-Patienten als wahrscheinlich kombinierter Effekt von Malabsorption, erhöhtem Nährstoffverlust über Niere und Darm, erhöhtem Stoffwechsel und Interaktion von Medikamenten [114-116] stellt eine besondere Herausforderung an eine erfolgreiche Therapie dar. Die derzeitige Behandlung ist den direkten Beweis eines Zurückdrängens der kardialen Kachexie schuldig geblieben [95].

Da die Anorexie als eine Schlüsselkomponente bei (Anorexie-) Kachexie-Syndromen betrachtet werden kann [99], ist die derzeitige Konsequenz ein ernährungstherapeutischer Ansatz.

Zu beachten ist in diesem Zusammenhang auch die Erkenntnis, dass ein erhöhter BMI und Hypercholesterinämie nicht mit erhöhter Mortalität in dieser Patientengruppe verbunden sind und sich sogar eine Assoziation mit verringerter Mortalität zeigt [97, 117-118].

1.2.2.3.1 Appetitstimulanzen

Appetitstimulanzen tragen zur verbesserten Energiebilanz durch den Aufbau von Fettreserven und Muskelmasse bei. Im Zusammenhang mit der kardialen Kachexie bei CHI könnten insbesondere solche Appetitstimulanzen erfolgversprechend sein, die entzündungshemmende und antioxidative Komponenten enthalten [97]. Als eine solche Substanz zeigt sich z.B. Megestrol Acetat [97].

1.2.2.3.2 Megestrol Acetat

Megestrol Acetat ist ein semisynthetisches progestationales Steroid mit dem chemischen Namen 17alpha-acetoxy-6-methylpregna-4,6-diene-3,20-dione (C₂₄H₃₂O₄). Ursprünglich fand Megestrol Acetat seine Verwendung als modulierendes Therapeutikum bei metastasiertem Brustkrebs und Endometrium-CA [121] beziehungsweise zur Hemmung von malignen postmenopausalen hormonabhängigen Tumoren [122-125].

Die dabei am häufigsten beobachtete Nebenwirkung einer Appetits- und Gewichtszunahme unter Megestrol Acetat ist jetzt als Behandlungsstrategie von Unterernährung bei einer zunehmenden Anzahl von Erkrankungen etabliert [121].

Eine Übersicht über die Anwendungsgebiete von Megestrol Acetat zeigt Tabelle 1.10.

Indikation/Erkrankung	Literaturquelle
Endometrium-CA	[126]
Anorexie-Kachexie	[126, 127]
Gewichtsverlust	[99]
Prostata-CA	[126, 128, 129]
AIDS	[121, 130-133]
Hormonsensibler Krebs	[121]
Ovarial-CA	[126]
Mama-CA	[126, 134-138]
Nierenzell-CA	[126, 139]
Malignes Melanom	[126]
Endometriumhyperplasie	[126]
BPH	[126]
Kontrazeption	[126]
Low-grade Endometrium Sarkom	[140]
Geriatric	[141-143]

Tabelle 1.10: Übersicht über die Anwendungsgebiete von Megestrol Acetat seit Markteinführung im Jahr 1971

1.2.2.3.3 Pharmakologische Daten

Megace® (Megestrol Acetat) ist ein weißes, kristallines Pulver mit einer Löslichkeit in Wasser bei 37 Grad Celsius von 2 µg/ml. Die Löslichkeit im Plasma beträgt 24 µg/ml. Megace® wird primär über die Niere ausgeschieden.

Die Markteinführung erfolgte mittels Tablettenform, gefolgt von einer konzentrierten oralen Suspension und einer oralen Suspension in spezieller Formulierung durch nanokristalline Technologie. Diese Technologie ist speziell entwickelt worden, um die Bioverfügbarkeit, besonders von schlecht wasserlöslichen Arzneimitteln, zu optimieren.

Die mikrokristalline bzw. mikronisierte Suspension soll laut präklinischen Pharmakokinetikdaten die Resorption signifikant beschleunigen und damit einen schnelleren Wirkeintritt besitzen und so das Outcome von Kachexiepatienten verbessern [99, 127].

1.2.2.3.4 Dosierung

Die empfohlene Initialdosis für Erwachsene liegt bei 13,3 mg/kg/d [144]. Das entspricht 800 mg/d (20 ml/d bei 40 mg pro ml Suspension). Bei der Ratte werden 100 mg/kg/d als übliche Dosierung verwendet.

1.2.2.3.5 Wirkung

Der genaue Wirkungsmechanismus von Megestrol Acetat ist bisher nicht ausreichend geklärt. Als Progesteronderivat können bei Megace® antiandrogene, antiöstrogene und geringe glukokortikoidähnliche Eigenschaften angenommen werden [122]. Die antiandrogene Wirkung ist schwach ausgeprägt und die vermuteten androgenen Eigenschaften, wie ansteigende EGF-Spiegel, konnten in Mäuseexperimenten nicht nachgewiesen werden [145]. Wahrscheinlich steht diese Effektivität in direkter Proportion zu der Anzahl der zytoplasmatischen Progesteronrezeptoren [126].

Die Wirkung auf den Gewichtsanstieg und die Appetitsteigerung entfaltet Megace® sehr wahrscheinlich im Hypothalamus [146]. In vitro konnte nachgewiesen werden, dass Megace® in der Adenohypophyse in drei polare Metaboliten aufgespalten wird [146] und in speziellen für die Nahrungsaufnahme relevanten Neuronen des Hypothalamus einen Teil des hochschwelligigen Ca-Kanal-Stroms hemmen. Eine Erhöhung der hypothalamischen Neuropeptid-Y-Konzentration konnte an therapierten Ratten nachgewiesen werden [147-149].

Des Weiteren konnte für Megestrol Acetat die Unterdrückung von Gonadotropin, die Inhibition von 5 alpha-Reductase, die Bindung an Dihydrotestosteronrezeptoren [126] und die Inhibition von ATP-abhängiger Bindung von 3H-Quabain an die Na-K-ATPase gezeigt werden [150].

Als wirkungsvolle Appetitstimulanz steigert Megace® die Nahrungsaufnahme, die Energie- und Proteinzufuhr und führt so zu signifikanter Gewichtszunahme [151-152]. Die Gewichtszunahme ist primär auf eine Zunahme der Fettmasse zurückzuführen bzw. mit einer Zunahme an Trockengewicht verbunden [153-154]. Es resultiert ein verbesserter Ernährungsstatus assoziiert mit verbesserter Lebensqualität gerade bei kachektischen Krebs- und AIDS-Patienten [120, 126, 153-155].

Die entzündungssenkende Komponente von Megace® konnte in einigen Studien gezeigt werden. Eine Milderung der Entzündung mit Abfall der Synthese und verringerter Freisetzung von Zytokinen mit proinflammatorischem und kachektischem Effekt, wie IL-1, IL-6 und TNF-alpha [156] wurde z.B. bei kachektischen Krebs-, AIDS-, und Dialysepatienten nachgewiesen [120]. Insbesondere bei dialysierten Patienten wurde auch ein Anstieg an Serumalbumin, Serumleptin, Serum-LDH und ein CRP-Abfall beobachtet [120, 153, 155].

Somit beeinflusst Megestrol Acetat die Appetitstimulation wahrscheinlich auf zwei Wegen. Einerseits über den direkten Ansatz an der Hypophyse und dem Appetitregulzentrum, andererseits über das Absenken der Plasmalevel an Zytokinen mit katabolischen Effekten [99, 106].

Im onkologischen Sinne scheint Megestrol Acetat kaum positive Wirkung an der Niere zu entfalten [126, 157-158]. Die derzeitige Datenlage reicht hier jedoch nicht aus, um gesicherte Aussagen, insbesondere auch im Zusammenhang mit der jeweiligen Ätiologie der tumorösen Nierenveränderung, zu machen. Dennoch kann auch hier von dem positiven Effekt von Megace® zur Linderung von Anorexie und Gewichtsverlust ausgegangen werden [159].

Bei der Behandlung von Anorexie-Kachexie-Syndromen mittels Megestrol Acetat ist die dosisabhängige Wirkung noch nicht ausreichend geklärt [126, 138, 160].

1.2.2.3.6 Nebenwirkungen

Die beobachteten Nebenwirkungen einer Megace®-Therapie sind meist mild ausgeprägt, reversibel und dosisabhängig [161] (s. Tabelle 1.11).

Nebenwirkungen	Symptome
Gastrointestinale	Übelkeit, Unwohlsein, Erbrechen, Diarrhoe [153, 162, 163]
Neurologische	Asthenie, Müdigkeit, Lethargie, Verwirrtheit, Kopfschmerzen, Stimmungsschwankungen [153, 162-164]
Kardiopulmonale	Dyspnoe, Ödeme, Flüssigkeitsretention, Bluthochdruck, Thrombophlebitis, Lungenembolie, milde Herzinsuffizienz [138, 161-163]
Hormonelle	Cushing-Syndrom, herabgesetzte Glukosetoleranz, Hyperglykämie [138, 153, 161-166] ACTH-Hypophysen-Nebennieren-Suppression, Abfall der Cortisonspiegel [127, 151], Reduktion der Testosteronkonzentration [142, 162, 163, 167-170]
Weitere	Haarausfall, vaginale Blutungen, Endometriumhyperplasie [155, 165]

Tabelle 1.11: Überblick der Nebenwirkungen einer Megestrol®-Therapie

Unter der glukokortikoiden Wirkung von Megace® kann ein Cushing-Syndrom ausgelöst werden. Es kommt zur Verschlechterung von Diabetes mellitus bis hin zu klinischen und mikroskopischen Zeichen von Veränderungen an Pankreas, Haut, Nieren und Augen [138, 153, 161-166]. Die häufig nachgewiesene Reduktion der Testosteronkonzentration im Blut bis hin zum Kastrationslevel kann als androgene Wirkung von Megestrol Acetat angesehen werden [142, 162-163, 167-170]. Beobachtete Nierenprobleme traten vereinzelt auf. Hier lag jedoch eine Schädigung der Niere bereits vor Therapiebeginn vor [164, 166].

1.3. Zielsetzung

Die chronische Herzinsuffizienz, als eine der häufigsten Erkrankungen weltweit, ist mit hoher Prävalenz, Inzidenz und Mortalität verbunden. Tendenziell ist davon auszugehen, dass die CHI zur Todesursache Nummer Eins in den Industrieländern avanciert. Eine frühzeitige Diagnostik und verbesserte Therapiemöglichkeiten führen zu einem Verschieben des Altersgipfels innerhalb der Stadien der CHI. Veränderte Altersstrukturen führen insgesamt zu erhöhter Inzidenz der CHI. Dies bedeutet gleichzeitig aber auch eine verlängerte Applikationsdauer der Arzneimittel und die vermehrte Inzidenz höherer Stadien der CHI [2]. Die leitliniengerechte Behandlung der CHI beinhaltet in allen höhergradigen bzw. symptomatischen CHI-Stadien die Applikation eines Diuretikums. Die Verordnung des Schleifendiuretikums Furosemid ist in Deutschland weit verbreitet, wird aber zunehmend kontrovers diskutiert [9, 19-20].

In zwei voneinander unabhängigen Studien am CCR wurde eine signifikant erhöhte Mortalität am Rattenmodell unter Furosemidtherapie nachgewiesen [171-172].

Zur Ursachenforschung dieser erhöhten Mortalität werden in der vorliegenden Arbeit Gewebe- und Blutproben aus der Dissertationsarbeit von S. Straßburg [171] analysiert. Hierbei soll insbesondere auf die Auswirkungen der angewandten Furosemidtherapie [171] auf die Nierenstruktur und Nierenfunktionalität mit der Frage nach vermehrter interstitieller Fibrose, Glomerulosklerose und progredientem vaskulären Remodeling an den Nierengefäße fokussiert werden. Zusammen mit der Analyse der vorliegenden Blut- und Urinwerte soll die Hypothese einer Verschlechterung der Nierenfunktion als Ursache der hier erhöhten Mortalität unter Furosemidtherapie geprüft werden.

Die histochemische Beurteilung des Niereninterstitiums, der Glomeruli, der intrarenalen Arterien und die laborchemischen Analysen sollen im pathophysiologischen Zusammenhang im Rahmen des kardiorenenalen Syndroms diskutiert werden.

Das kardiorenale Syndrom als auch die kardiale Kachexie treten besonders in den höheren Stadien einer CHI auf und bedeuten hier eine rapide Verschlechterung der Prognose. Die Komplexität der CHI mit ihrer multifaktoriellen Genese und Multiorganbeteiligung schließt ein Überlappen beider Syndrome nicht aus. Eine Verschlechterung der Nierenfunktion ist mit den Nachteilen des Anstiegs an systemischer Exposition und Toxizität der über sie metabolisierten Substanzen

assoziiert [173], genauso wie neuroendokrine, immunologische, inflammatorische und metabolische Prozesse der kardialen Kachexie die Nierenfunktion negativ beeinflussen [95].

Das in der Studie von S. Straßburg [171] verwendete Megestrol Acetat rückt als Appetitstimulanz vermehrt in den Fokus verschiedener Untersuchungen. Der u.a. vermutete antiinflammatorische Effekt könnte positive Auswirkungen sowohl auf die kardiale Kachexie als auch auf das kardiorenale Syndrom der CHI haben. Untersuchungen des Einflusses von Megestrol Acetat auf das kardiorenale Syndrom liegen zurzeit nicht vor. In dieser Arbeit soll unter Betrachtung der Nierenstruktur und -funktion die Wirkung bzw. Wechselwirkung von Megestrol Acetat und Furosemid im Zusammenhang mit dem kardiorenenalen Syndrom untersucht werden.

Die genauen Pathomechanismen des Syndroms der kardialen Kachexie als auch des kardiorenenalen Syndroms sind derzeit nicht ausreichend geklärt. Für neue und effektivere Therapieansätze zur Behandlung und Prävention der CHI bedarf es weiterer Aufklärung. Die Beachtung der kardialen Kachexie als auch des kardiorenenalen Syndroms im Zusammenhang ist daher notwendig.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Material

2.1.1 Technisches Gerät

Analyzer Waage, Scaltec SBC 22, Goettingen, Deutschland

Color Digital Camera Scion, Model CFW 1310C, Scion Corporation, USA

Deckgläser, Menzel-Gläser® (100 Deckgläser 24 x 60 mm #1), Deutschland

Digital pH-Meter 3500, Beckmann Instruments, Berlin, Deutschland

Eppendorf-Reaktionsgefäße 2,0 ml, Fisher, Schwarte, Deutschland

Feather microtom blades, R35 Type, Japan

Histokinette TP1020, Leica Instruments GmbH, Nußloch, Deutschland

Kryostat Jung Frigocut 2800 E, Leica Instruments GmbH, Nußloch, Deutschland

Kunststoffeinmalgefäße der Firmen Greiner, Baxter, Brand und Nunc

Küvetten, Roth GmbH, Deutschland

Macintosh PC, Power Macintosh, Apple

Magnetrührer, Combimag RCO Fa. IKA, Deutschland

Meßzylinder, Roth GmbH, Deutschland

Mikroskop BH-2 U-PMTV, Olympus, Japan

Mikrowelle, Deutschland

pH-Meter, Knick, Berlin, Deutschland

Reagenzgläser, Roth GmbH, Deutschland

SuperFrost®-Plus Objektträger, R. Langenbrinck, Labor- und Medizintechnik, Teningen, Deutschland

Varipetten, Eppendorf GmbH, Hamburg, Deutschland

Vortex Genie 2, Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz

Waage BL 600, Sartorius

2.1.2 Chemikalien

Festchemikalien der Firmen Baxter, Brand, J.T. Baker, Greiner und Nunc

Deckelmasse, Depex, Serva, Heidelberg, Deutschland

Ethanol, Herbeta Arzneimittel, Berlin, Deutschland

Klebeglucose, Jung Tissue Freezing Media®, Leica Microsystems Nußloch GmbH, Nussbaum, Deutschland

Mayers Hämalun Lösung, Merck AG, Deutschland

Pikrinsäure, Fluka, Deutschland

Pikrofuchsin-Lösung van Gieson, Chroma, Waldeck GmbH & Co KG, Division Chroma®, Deutschland

Resorcin-Fuchsin, Weigert, Waldeck GmbH & Co KG, Division Chroma®, Deutschland

SCHIFF`s Reagenz, Merck AG, Deutschland

Sirius-Red F3BA, Chroma-Gesellschaft, Schmid GmbH & Co, Deutschland

Weigerts Lösung A alkoholische Hämatoxylin, Roth GmbH, Deutschland

Weigerts Lösung B salzsaure Eisen(III)-nitratlösung, Roth GmbH, Deutschland

2.1.3 Versuchstiere

Das verwendete Tiermaterial stammt aus dem Tierversuch (Ziffer A XXXIII) der Dissertationsarbeit von S. Straßburg [171]. Es handelte sich hierbei um männliche Wistar-Ratten, ca. sieben Wochen alt und mit einem Gewicht von 215-230 g (DIMED GmbH, Schönwalde, Deutschland). Diese Tiere waren in einem klimatisierten Raum (23 Grad Celsius) zu je ein bis drei Ratten pro Käfig untergebracht. Sie erhielten die übliche Spezialdiät (ssniff, Soest) und hatten freien Zugang zu Trinkwasser. Bei den für die histologische Analyse verwendeten Proben handelte es sich ausschließlich um rechte Nieren.

2.2. Methoden

Zur Klärung der Fragestellungen wurden die Nieren der Ratten aus der Tierversuchsstudie A XXXIII [171] aufgearbeitet, histologisch untersucht sowie mit der vorhandenen Datenlage verglichen. Bereits vorhandene Parameter aus Blut- und Uringewinnung, als auch biometrische Werte aus dem Tierversuch A XXXIII wurden in die weiteren Analysen und Berechnungen, insbesondere von Nierenfunktionswerten, miteinbezogen.

2.2.1 Studiendesign

2.2.1.1 Herzinsuffizienz am Rattenmodell

Zur Induktion einer Herzinsuffizienz wurde bei den Versuchstieren eine Ligatur der LAD in Anlehnung an eine erstmals von Selye et al. [174] beschriebene Methode durchgeführt. Diese Tiere werden weiterführend als CHI-Tiere bezeichnet.

Eine Kontrolltiergruppe, sogenannte Shamgruppe, wurde ebenfalls einer OP mit Thoraxeröffnung unterzogen, jedoch ohne die Koronarligatur.

Eine Weiterbehandlung der Tiere fand ab dem 18. postoperativen Tag statt, um die Manifestation einer Herzinsuffizienz vor auszusetzen [171].

2.2.1.2 Versuchsplan und Medikamentengabe

In der Tierversuchsstudie A XXXIII [171] wurde den Ratten das Appetitstimulanz Megestrol Acetat, entweder als herkömmliches Megace® bzw. als neueres Megace®ES und/oder ein Diuretikum in Form von Furosemid bzw. eine Placebolösung appliziert (s. Tabelle 2.1).

Die CHI-Tiere waren in vier Gruppen unterteilt und blockrandomisiert. In drei dieser Gruppen erhielten die Ratten ab dem 18. postoperativen Tag (\pm 2 Tage) Furosemid (Lasix® 250 mg Ampullen, Aventis Pharma GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) mit einer Konzentration von 8,6 mg/100 ml über das Trinkwasser bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes. Dies entspricht einer Anfangsdosierung von 10 mg/kg/d bei einem Gewicht der Ratten von 300 g und Trinkmenge von 35 ml/d [171].

Die Kontrollgruppe der CHI-Tiere erhielt eine Placebo-Lösung aus 0,2-prozentigem Natrium-Benzoat (Sodium Benzoat, ICN Biomedicals GmbH, Eschwege, Deutschland) in Trinkwasser aufgelöst und kein Furosemid [171].

Shamoperierte Tiere waren in drei Gruppen blockrandomisiert eingeteilt. Diesen Ratten wurde ebenfalls kein Furosemid verabreicht. Die Abbildungen 2.1 und 2.2 geben einen

Überblick über das Studiendesign des Tierversuches A XXXIII [171], aus dem das verwendete Tiermaterial stammt.

Den drei CHI-Tiergruppen mit Furosemid beziehungsweise den drei shamoperierten Gruppen wurde ab dem 44. postoperativen Tag mittels täglicher Gavage verblindet Megace®, Megace®ES oder Placebo über 18 Wochen verabreicht. Die zwei Formen von Megestrol Acetat wurden zusammen mit der Placebo-Lösung verblindet als Substanzen A, B und C geliefert (PAR Pharmaceuticals, Spring Valley, NY, USA (100 mg/kg/KG pro Tag)) [171].

Mit Beendigung der Gavage am 170. postoperativen Tag wurden in der Nachbeobachtungszeit bis zum 212. postoperativen Tag (24. bis 30. Woche postoperativ) an den Tieren weitere spezielle Untersuchungen, wie z.B. tägliche Gewichtsmessungen, Echokardiographie, Ein- und Ausfuhrkontrollen in metabolischen Käfigen (zufällig ausgewählte Tiere pro Gruppe) vorgenommen. Die Studie [171] wurde als double-blind controlled trial geplant und durchgeführt.

Gruppe	Medikation
A	Furosemid + Placebo
B	Furosemid + Megace®
C	Furosemid + Megace®ES
D	Placebo kein Furosemid
E	Sham + Placebo
F	Sham + Megace®
G	Sham + Megace®ES

Tabelle 2.1: Zuordnung der Pharmakonverabreichung zu den Tierversuchsgruppen

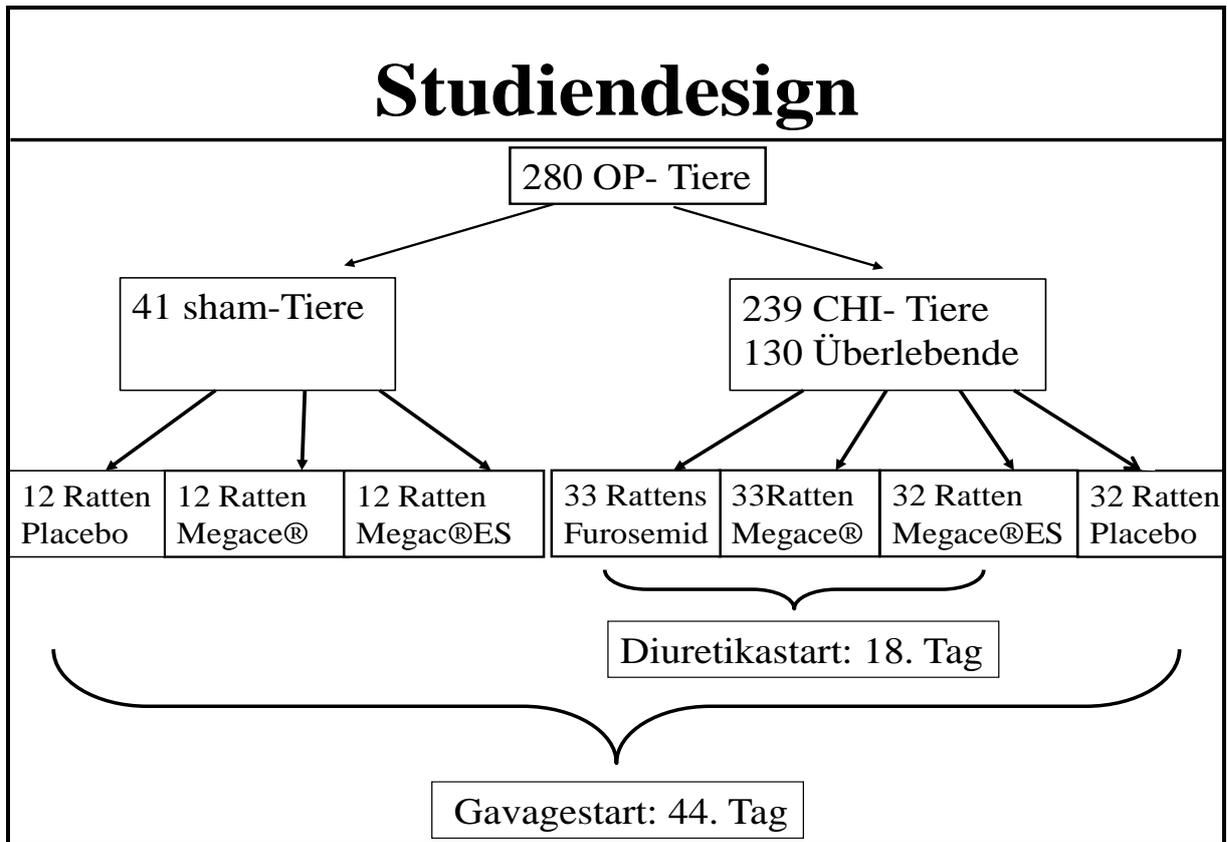


Abbildung 2.1: Übersicht des Studiendesigns des Tierversuches A XXXIII (modifiziert aus der Arbeit von S. Straßburg [171])

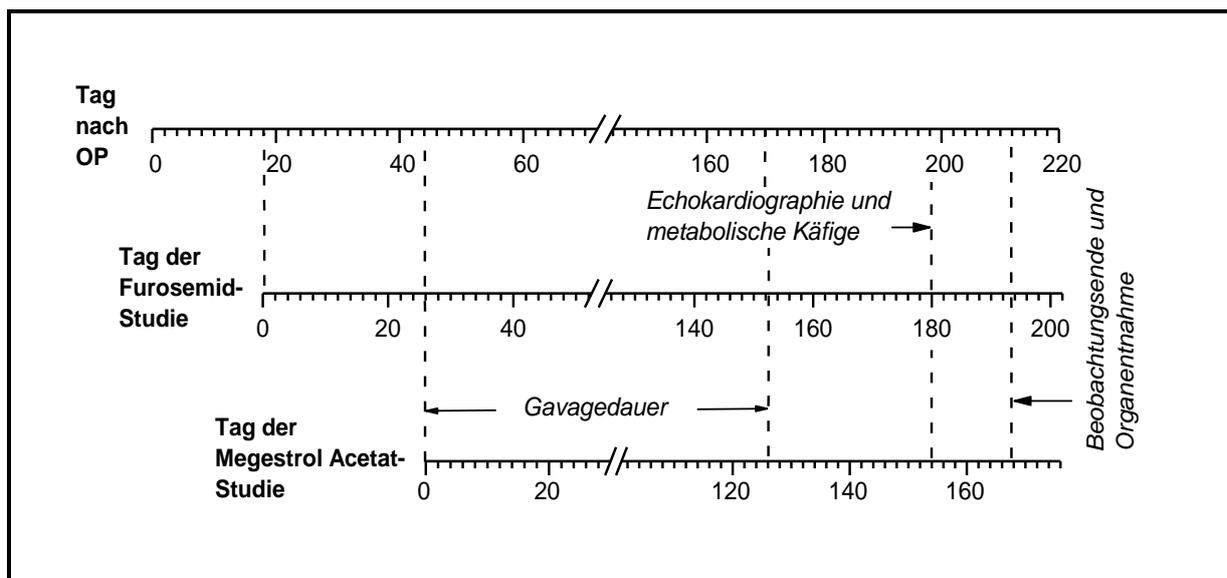


Abbildung 2.2: Zeitstrahl über den Tierversuch A XXXIII. Ab Tag 18 wurde mit der Furosemid-Gabe über das Trinkwasser, nach dem 44. postoperativen Tag mit der Gavage von Megace® und Megace®ES bzw. Placebo begonnen. Am 126. Tag endete die Gavage. Die Furosemidapplikation erfolgte bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes [171].

2.2.1.3 Probengewinnung und -auswahl

Nach Beendigung des Beobachtungszeitraumes wurden in der 31. Woche die Tiere mit 0,4 g/kg KG Chloralhydrat anästhesiert.

Die entnommenen Nieren wurden in Stickstoff eingefroren und bei minus 80 Grad Celsius in 2,0 ml Eppendorf-Reaktionsgefäßen eingelagert. Das aus der Bauchorta entnommene Blut wurde zentrifugiert und das gewonnene Plasma in Eppendorf-Reaktionsgefäßen bei minus 80 Grad Celsius gelagert bzw. wie auch die Urinproben zur Analyse an das Labor 28 (Berlin, Germany) eingeschickt.

Für die histologischen Untersuchungen und die Auswertung dieser mit den gewonnenen Werten aus der Blut- und Urinanalyse wurden aus den Gruppen A bis D (CHI-Tiere s. Tabelle 2.1) jeweils 15 Tiere, aus der Gruppe E 11 Tiere und aus der Gruppe F und G jeweils 12 Tiere ausgewählt. In den Gruppen A bis D erfolgte die Auswahl randomisiert, in den Gruppen E bis F (Shamtiere s. Tabelle 2.1) wurden alle vorhandenen Tierproben miteinbezogen. Die Zuordnung der Tiere zu den entsprechenden Gruppen war während der Untersuchungen dem Untersucher nicht bekannt, so dass hier eine Verblindung in Bezug auf Art und Weise der Vorbehandlung der Tiere vorlag.

2.2.2 Histologische Methoden

2.2.2.1 Anfertigen von Gefrierschnitten

Für eine histologische Untersuchung müssen die zu untersuchenden Organe auf spezifische Weise vorbereitet werden. Die Proben waren in flüssigem Stickstoff tiefgefroren und dann bei minus 80 Grad Celsius gelagert worden. Die für die jeweilige Aufarbeitung ausgesuchten Proben wurden aus dem Kühlschrank entnommen und gekühlt zum Kryostat transportiert. Während des Schneidevorgangs wurden die Proben im Kryostat bei minus 22 Grad Celsius zwischengelagert.

Um die Schnitte am Kryostat anfertigen zu können, wurden zuerst die Gewebe vor dem Schneiden auf einen Halter mit Gewebeeinbettmedium für Gefrierschnitte aufgebracht. Auf Grund der Einlagerung in den Eppendorf-Reaktionsgefäßen und der Organbeschaffenheit konnten nur Radiärschnitte angefertigt werden. Die Schnitte erfolgten bei einer Umgebungstemperatur von minus 22 Grad Celsius und einer Temperatur der zu schneidenden Objekte von minus 23 Grad Celsius. Der Winkel des Messers war auf 10 Grad eingestellt.

Die Schnitte wurden auf Objektträger aufgezogen (je Probe 5 Objektträger a 5 bis 8 Schnitte a 4 µm) und nach kurzer Trocknung sofort in Aceton für 20 Minuten bei minus 22 Grad Celsius fixiert. Die Lagerung der fixierten Präparate erfolgte bis zur weiteren Bearbeitung nach der Trocknung lichtgeschützt bei ca. 18 Grad Celsius.

2.2.2.2 Bestimmung der interstitiellen Fibrose mittels Sirius-Red-Färbung

Die Sirius-Red-Färbung ist eine geeignete Methode, fibrotische Gewebeanteile nachzuweisen [175].

Die Sulfonsäuregruppen des anionischen Farbstoffes Sirius-Red färben basische Gruppen im Kollagenmolekül. Somit zeigen sich in Sirius-Red gefärbten Präparaten stark kollagenhaltige Areale als rote Anteile. Kollagenhaltige und somit rote Anteile werden mit dem Grad der Fibrosierung im interstitiellen Bindegewebe assoziiert. Dementsprechend bedeutet ein hoher Anteil an roter Fläche einen hohen Grad an Fibrosierung. Muskuläre Anteile und Gewebeanteile werden gelblich gefärbt.

Benötigte Lösungen

Sirius-Red F3BA

Pikrinsäure

0,01 M HCL in Ethanol (166µ HCL (37 %, rauchend)) in 199,8 ml abs. Ethanol)

Xylol

Roticlear

Depex

Technische Durchführung

Zur Herstellung einer 0,1-prozentigen Sirius-Red-Lösung sind 0,2 g Sirius-Red als Pulver in 200 ml Pikrinsäure zu lösen und zu mischen. Anschließend wird diese Lösung filtriert und auf einen pH-Wert um 2,0 eingestellt.

Die für diesen Vorgang benötigte gesättigte wässrige Pikrinsäure wurde im Vorfeld angesetzt. Dazu wurden 8 g Pikrinsäure in 250 ml heißem Aqua dest. gelöst und im abgekühlten Zustand filtriert.

Färbeschritte

Bewässern

2 min	absolut Ethanol
2 min	95 % Ethanol
2 min	80 % Ethanol
2 min	70 % Ethanol

Färben

1 h	Sirius-Red
kurzes abspülen	HCL 0,01 M

Entwässern

kurz spülen	70 % Ethanol
kurz spülen	80 % Ethanol
2 min	95 % Ethanol

2 min	absolut Ethanol
2 x 5 min	Xylol

Eindecken mit Depex

Auswertung

Der Grad der Fibrose wurde über ein Mikroskop-Kamera-Computer-System bestimmt. Dazu wurden die histologischen Präparate am Olympus Mikroskop BH-2 mäanderartig durchwandert. Es wurden ca. 30 Aufnahmen bei 20-facher Vergrößerung je Präparat über die Color Digital Camera Scion mit Hilfe des VisiCapture PC-Programms aufgenommen und abgespeichert.

Die weitere Bearbeitung erfolgte mit dem Image J Software Programm (Programm Image Version 1.61 (Shareware des National Institute of Health, NIH, USA)). Das Programm erfasst die zu messende Fläche über den Threshold-Modus. Im Threshold wird eine Schwarz-/Weißgrenze benutzt, die im nativen Bild der Grenze zwischen Sirius-Red-positiven und Sirius-Red-negativen Anteilen entspricht. Zur Bestimmung eines einheitlichen Thresholds wurden Probemessungen an je 10 Ausschnitten an fünf zufällig ausgewählten Präparaten gemessen. In den ausgewählten Ausschnitten wurde die Sirius-Red-positive Fläche prozentual zur Gesamtausschnittsfläche bestimmt. Die Ergebnisse dieser Messungen wurden gemittelt. Der sich hieraus ergebene Threshold konnte nun für alle Präparate verwendet werden. Die rot gefärbten Anteile können so in prozentuale Beziehung zur Gesamtfläche gesetzt werden und gelten somit als Ausdruck des prozentualen Anteils der Fibrosierung.

Zur Auswertung der Präparate erfolgte ein weiterer Bearbeitungsschritt. Durch ein zuvor ausgearbeitetes Makro wurde um die Präparatausschnitte ein Rahmen gelegt, der eine verminderte Belichtung in diesem Bereich ausschaltete. Des Weiteren wurden Verschmutzungen bzw. durch den Threshold fehlinterpretierte Anfärbungen durch verschiedene Umwandlungen der digitalen Bilder und Farbsubtraktionen weitestgehend eliminiert.

2.2.2.3 Bestimmung der Glomerulosklerose mittels Perjodsäure-Schiff-Färbung (PAS)

Mit der Perjodsäure-Schiff-Reaktion werden glykogenhaltige Bestandteile der Zellen angefärbt. Kohlenhydrate werden mit Perjodsäure oxidiert und die entstehenden Aldehydgruppen ergeben mit fuchsin-schwefliger Säure eine charakteristische Rotfärbung.

Nach Diastasevorbehandlung wird Glykogen gespalten, so dass nur noch Glykoproteine, Mukoproteine und Mukopolysaccharide eine rosa-rote Farbreaktion mit PAS ergeben. Die Zellkerne erscheinen violett-blau. In PAS-gefärbten Gewebeschnitten der Niere zeigt der Anteil an PAS-positiv gefärbten Strukturen im Glomerulum den Grad der Sklerosierung an. Über einen festgelegten Score kann der Glomeruloskleroseindex der einzelnen Präparate bestimmt und vergleichbar gemacht werden.

Benötigte Lösungen

Alkoholische Perjodsäure

Schiffsches Reagenz

Ethanol

Mayers Hämalaun Lösung

Xylol

Depex

Technische Durchführung

Die alkoholische Perjodsäure wird durch Lösen von 1 g Perjodsäure in 30 ml Aqua dest. hergestellt. Anschließend werden 70 ml Ethanol absolut hinzugegeben und vermischt. Die Schiffssche-Reagenz-Lösung ist eine fertige Gebrauchslösung und muss zuvor im Brutschrank auf 40 Grad Celsius erwärmt werden.

Färbeschritte

Bewässern

2 min	absolut Ethanol
2 min	96 % Ethanol
2 min	80 % Ethanol
2 min	50 % Ethanol

Färben

spülen	Aqua dest.
6 min	1 % Perjodsäure
spülen	Leitungswasser
spülen	Aqua dest.
7 min	Schiffs-Reagenz
5 min	Leitungswasser, warm, fließend wechseln
1-2 min	Mayers Hämalaun Lösung
10 min	Leitungswasser, fließend wechseln

Entwässern

kurz spülen	70 % Ethanol
-------------	--------------

kurz spülen	80 % Ethanol
2 min	96 % Ethanol
2 min	absolut Ethanol
5 min	Xylol
5 min	Xylol

Eindecken mit Depex

Auswertung

Die Beurteilung des Glomeruloskleroseindex ist ein subjektives Verfahren. Die einzelnen Präparate wurden unter dem Mikroskop (Olympus Mikroskop BH-2, 20-fache Vergrößerung) mäanderartig durchwandert und die Glomeruli anhand des Grades der PAS-positiv gefärbten Anteile beurteilt. Die Auswertung erfolgte über ein Scoresystem, das als Zahlenwert dem Schweregrad der Sklerosierung entspricht (s. Tabelle 2.2). Die Scorewerte eines Präparates wurden gemittelt und nach Aufhebung der Verblindung miteinander verglichen.

Glomeruloskleroseindex		
PAS-Score	PAS-positive Fläche	entsprechender Sklerosegrad
1	< 25 %	< 25 %
2	25-50 %	25-50 %
3	50-70 %	50-70 %
4	> 75 %	> 75 %

Tabelle 2.2: Scoresystem zur Einteilung des Sklerosegrades nach PAS-Färbung

2.2.2.4 Bestimmung der Media-Lumen-Ratio arterieller Gefäße mittels Elastika van Gieson Färbung

Eine spezifische Methode zur Darstellung von elastischen Fasern ist die Anfärbung mit Resorcin-Fuchsin-Lösung nach Weigert in Verbindung mit der Pikrofuchsin-Lösung nach van Gieson und der Kernfärbung mit Eisenhämatoxylin nach Weigert. Die Pikrofuchsin-Färbung nach van Gieson ist eine Bindegewebsfärbung. Durch die Ergänzung dieser mit der Resorcin-Fuchsin-Lösung von Weigert werden die elastischen Fasern differenziert dargestellt und erscheinen schwarzviolett. Die kollagenen Fasern färben sich rot, die Muskulatur gelb und die Zellkerne schwarz-braun. Somit ergeben sich hervorragende Bedingungen, die zur Bestimmung der Media-Lumen-Ratio benötigten Strukturen zu unterscheiden und auszumessen. Die Media-Lumen-Ratio kann als ein Maß für vaskuläres Remodeling angesehen werden.

Benötigte Lösungen

Pikrofuchsin-Lösung nach van Gieson

Resorcin-Fuchsin-Lösung nach Weigert

Weigerts Lösung A alkoholische Hämatoxylin-Lösung

Weigerts Lösung B salzsaure Eisen(III)-nitratlösung

HCL

Xylol

Ethanol

Aqua dest.

Depex

Technische Durchführung

Weigerts Lösung A und B werden im Verhältnis 1 : 1 gemischt

Lösung A: 1 g Hämatoxylin ad 100 ml 96 % Ethanol

Lösung B: 1,16 g EisenIII-chlorid, 98 ml Aqua dest., 1 ml offizielle HCL

Färbeschritte

Bewässern

2 min 95 % Ethanol

2 min 80 % Ethanol

Färben

10 min Resorcin-Fuchsin nach Weigert

3 min Leitungswasser, fließend

kurz 1 % HCL-Ethanol

7 min Leitungswasser, fließend wechseln

kurz Aqua dest.

Entwässern

1 min 70 % Ethanol

2 min 80 % Ethanol

Färben

3 min Eisenhämatoxylin nach Weigert

3 min Leitungswasser, fließend

kurz 1 % HCL-Ethanol

7 min Leitungswasser, fließend

kurz Aqua dest.

Färben

sehr kurz van Gieson-Gemisch

Entwässern

kurz 95 % Ethanol

1 min absolut Ethanol

2 min absolut Ethanol

5 min Xylol

5 min Xylol

Eindecken mit Depex

Auswertung

Die Media-Lumen-Ratio ist ein wertvolles Instrument zur Beurteilung von Auswirkungen auf Muskelzellen in arteriellen Gefäßen und damit hilfreich bei der Einschätzung von Veränderungen, die im Rahmen von vaskulärem Remodeling stattfinden.

Die intrarenalen Arterien wurden durch die Mäandertechnik in den einzelnen Präparaten aufgesucht und bei 20- bzw. 40-facher Vergrößerung vom Objektträger über die Color Digital Camera mittels des VisiCapture-PC-Programms aufgezeichnet.

Die Vermessung und Berechnung der Media-Lumen-Ratio erfolgte mittels des Image J Software Programm (Programm Image Version 1.61 (Shareware des National Institute of Health, NIH, USA)). Durch ein Freihandtool wurden die Umfänge der inneren bzw. äußeren Wandschicht der Tunica media abgefahren. Die Media-Lumen-Ratio, die hieraus bestimmt wird, korreliert mit dem Ausmaß vaskulären Remodelings.

Zur weiteren Optimierung der Auswertung wurden die arteriellen Gefäßquerschnitte entsprechend ihrer Darstellung qualitativ beurteilt. Hierzu wurde ein Qualitätsscore verwendet (s. Tabelle 2.3).

Qualitätsgrad	Qualitätsbeschreibung
1	sehr gute Qualität Gefäß genau quer getroffen und gut dargestellt
2	gute Qualität Gefäß genau quer getroffen Abgrenzungen der Tunica media teilweise unscharf
3	Qualität befriedigend Gefäß nicht genau quer getroffen oder schlechte Abgrenzung der Tunica media
4	Qualität schlecht Gefäß nicht quer getroffen und schlechte Abgrenzung der Tunica media

Tabelle 2.3: Qualitätsscore zur Beurteilung der verwendeten Gefäßanschnitte

Diese Qualitätsabgrenzung fand in der weiteren statistischen Auswertung Berücksichtigung.

2.2.3 Labortechnische und biometrischen Parameter

Aus den Untersuchungen und Ergebnissen der Tierversuchsstudie A XXXIII [171] konnte auf eine Reihe relevanter Parameter für die Analyse zurückgegriffen werden (s. Tabelle 2.4).

Parameter	Maßeinheit
ALAT	in U/l
ASAT	in U/l
Kreatinin im Plasma	in mg/dl
Kreatinin im Urin	in mmol/l
Kreatinkinase im Plasma	in U/l
Albumin im Urin	in µg/l
24 h Diurese	in ml
Nierengewicht	in mg
Körpergewicht	in g

Tabelle 2.4: Parameter aus vorhandener Datenlage vom Tierversuch A XXXIII [171]

Mit Hilfe dieser Parameter und deren statistischer Auswertung konnten entweder direkte Aussagen getroffen werden oder indirekt über Berechnungen weitere vergleichende Analysen erfolgen. Zur Optimierung der Beurteilung gewonnener Ergebnisse wurden die Plasmakreatininwerte, die Urinkreatininwerte, die Urinalbuminwerte, die Diuresewerte und damit weiterführend der Albumin-Kreatinin-Quotient als auch die Kreatinin-Clearance als relative Werte pro 100 g Körpergewicht angegeben. Die Berechnung erfolgte nach der allgemeinen Formel:

$$\text{Parameter pro 100g KG} = \text{Parameter} / \text{KG} \times 100$$

Die Bestimmung der Kreatinin-Clearance erfolgte nach der allgemeinen Formel:

$$\text{Kreatinin-Clearance} = U_{\text{krea}} / S_{\text{krea}} \times V_{\text{Urin}}$$

wobei U_{krea} der Kreatininkonzentration im Urin, S_{krea} der Kreatininkonzentration im Plasma und V_{Urin} der 24 h Diurese entspricht. Hierzu mussten die Plasmakreatininwerte von mg/dl durch Multiplizieren mit dem Faktor 0,0885 in mmol/l umgewandelt werden.

Des Weiteren wurde die gesamte Formel um die Division durch den Faktor 1440 erweitert, um so entsprechende Werte in ml/min zu erhalten.

Die Berechnung des Albumin-Kreatinin-Quotienten erfolgte nach der Formel:

$$\text{Albumin-Kreatinin-Quotient} = \text{Urin-Albumin (g/l)} / \text{Urin-Kreatinin (g/l)}$$

Vorab erfolgte die Umrechnung der Albuminwerte von $\mu\text{g/l}$ in g/l (Faktor 10^{-6}) und der Urinkreatininwerte von mmol/l mit dem Faktor 0,1131 ebenfalls zu g/l-Werten.

Zur Vorbereitung der statistischen Auswertungen wurden auch die Albuminurinwerte als Albumin pro Tag Werte durch die Formel:

$$\text{Albumin pro Tag} = \text{Albumin } (\mu\text{g/l}) / 1000 \times \text{Diurese (ml)}$$

berechnet.

Die Masse der verwendeten rechten Nieren wurde als relatives Nierengewicht in mg / 100 g Körpergewicht angegeben.

2.2.4 Statistik

Die statistische Analyse der gewonnenen Daten erfolgte durch die Anwendung des Statistikprogramms GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Die Daten wurden auf Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Normalitätstests geprüft. Dementsprechend erfolgte die Varianzanalyse von mehreren Gruppen durch den ANOVA- bzw. Kruskal-Wallis-Test. Um die Werte von zwei Gruppen hinsichtlich signifikanter Unterschiede zu vergleichen wurde der Mann-Whitney-U-Test bzw. der ungepaarte Student's t-Test verwendet. Alle Ergebnisse werden als Mittelwert \pm Standardfehler angegeben. Als signifikant wurden Werte von $p < 0,05$ (*) und $p < 0,01$ (**), als hochsignifikant Werte von $p < 0,001$ (#) gewertet.

3. ERGEBNISSE

Die Auswertung der zusammengetragenen Daten erfolgte nach Aufhebung der Verblindung. Zur besseren Übersicht zeigt die nachfolgende Tabelle 3.1 die Gruppenbezeichnung und die entsprechende Behandlung der Tiere der jeweiligen Gruppe an.

Gruppenbezeichnung	Behandlungstyp/Medikation
Furosemid	Herzinfarktgruppe (CHI), behandelt mit Furosemid und einer Placebolösung
Megace®	Herzinfarktgruppe (CHI), behandelt mit Furosemid und einer herkömmlichen Form von Megestrol Acetat
Megace®ES	Herzinfarktgruppe (CHI), behandelt mit Furosemid und der mikrokristallinen Form von Megestrol Acetat
Placebo	Herzinfarktgruppe (CHI), unbehandelte Kontrollgruppe
ShamPlacebo	Shamoperierte Gruppe, unbehandelte Kontrollgruppe
ShamMegace®	Shamoperierte Gruppe, behandelt mit einer herkömmlichen Form von Megestrol Acetat
ShamMegace®ES	Shamoperierte Gruppe, behandelt mit der mikrokristallinen Form von Megestrol Acetat

Tabelle 3.1: Gruppenzuordnung und Medikation

3.1. Klinische Chemie

Im Verlauf des Tierexperimentes von S. Straßburg [171] wurden bei einer Vielzahl von Ratten Blut- und Urinproben gewonnen. Die hier dargestellten Werte geben die Ergebnisse der statistischen Analyse wieder und wurden zur Berechnung weiterer relevanter Parameter verwendet.

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	Probenanzahl
Furosemid	48,5	5,661	6
Megace®	48,83	8,654	6
Megace®ES	40,86	3,173	7
Placebo	63,33	18,7	6
ShamPlacebo	45,67	3,827	6
ShamMegace®	38	3,276	6
ShamMegace®ES	43,14	4,698	7

Tabelle 3.2: Zusammenfassung der Ergebnisse ALAT-Laborparameter (in U/l)

Die statistische Auswertung der ALAT-Werte lieferte keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Gruppen (Kruskal-Wallis CHI-Gruppen $p=0,42$; Shamgruppen $p=0,31$).

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	Probenanzahl
Furosemid	70,5	13,64	6
Megace®	59,83	7,956	6
Megace®ES	68,57	9,861	7
Placebo	73,5	14,01	6
ShamPlacebo	85,17	22,06	6
ShamMegace®	61	3,531	6
ShamMegace®ES	74,71	6,896	7

Tabelle 3.3: Zusammenfassung der Ergebnisse ASAT-Laborparameter (in U/l)

Bezüglich der ASAT-Werte konnte kein Unterschied zwischen den Gruppen gefunden werden (Kruskal-Wallis CHI-Gruppen $p=0,47$; Shamgruppen $p=0,58$).

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	Probenanzahl
Furosemid	637	335,4	6
Megace®	380	116,6	6
Megace®ES	564,4	128,9	7
Placebo	494,8	156,8	6
ShamPlacebo	702,7	246,1	6
ShamMegace®	789,5	248,4	6
ShamMegace®ES	800,9	263,4	7

Tabelle 3.4: Zusammenfassung der Ergebnisse Kreatinkinase-Laborparameter (in U/l)

Keinen Unterschied innerhalb der Gruppen zeigte die statistische Auswertung der Kreatinkinasewerte im Rattenplasma (Kruskal-Wallis CHI-Gruppen $p=0,73$; Shamgruppen $p=0,92$).

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	Probenanzahl
Furosemid	0,07952	0,006171	6
Megace®	0,08131	0,01033	6
Megace®ES	0,09993**	0,004789	7
Placebo	0,08714	0,009878	6
ShamPlacebo	0,07852	0,009724	6
ShamMegace®	0,07539	0,004256	6
ShamMegace®ES	0,07486	0,004241	8

Tabelle 3.5: Zusammenfassung der Ergebnisse Plasmakreatininwerte (in mg/dl pro100g KG) (erhöhte Werte Megace®ES vs. ShamMegace®ES-Gruppe**)

Bei der Beurteilung der Ergebnisse der Plasmakreatininwerte konnten innerhalb der Gruppen keine Unterschiede gefunden werden (Kruskal-Wallis CHI-Gruppen $p=0,31$; Shamgruppen $p=0,45$).

Die Analyse zwischen den einzelnen Gruppen zeigte eine Erhöhung der Plasmakreatininwerte bei der Placebogruppe gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe ($0,515\pm 0,042$ ($n=6$) vs. $0,3913\pm 0,014$ ($n=8$) $p=0,0066^{**}$). Bei der Megace®ES-Gruppe waren gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe die Werte erhöht ($0,4814\pm 0,0256$ ($n=7$) vs. $0,3913\pm 0,0144$ ($n=8$); $p=0,0073^{**}$). Im Vergleich der Placebogruppe mit der ShamPlacebogruppe zeigte sich ebenso eine Erhöhung des Plasmakreatinins ($0,515\pm 0,042$ ($n=6$) vs. $0,4117\pm 0,025$ ($n=6$); $p=0,0438^*$).

Zur Berücksichtigung von Größen- und Gewichtsunterschieden der Ratten wurden die gewonnenen Parameter in Relation zum Körpergewicht gesetzt. Die Tabelle 3.5 fasst diese Ergebnisse zusammen. Innerhalb der Gruppen wurden auch hier keine Unterschiede gefunden (Kruskal-Wallis CHI-Gruppen $p=0,18$; Shamgruppen $p=0,95$).

Jedoch kommt es hier zu einer Verschiebung in den Signifikanzen zwischen den einzelnen Gruppen. So wird der Unterschied bei der Megace®ES-Gruppe vs. der ShamMegace®ES-Gruppe deutlicher ($p=0,0017^{**}$), die anderen Unterschiede hingegen sind aufgehoben.

Ein tendenziell verringerter Plasmakreatininspiegel zeigte sich bei der Furosemidgruppe gegenüber der Megace®ES-Gruppe ($p=0,0513$). Ebenfalls nur grenzwertig erhöht war der Kreatininwert im Vergleich der Megace®ES-Gruppe gegenüber der ShamPlacebogruppe ($p=0,05$). Tendenzuell verringert zeigten sich die Plasmaspiegel von Kreatinin im Vergleich der Megace®-Gruppe gegenüber der Megace®ES-Gruppe ($p=0,073$).

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	Probenanzahl
Furosemid	2,113	0,3386	6
Megace®	2,771* **	0,2572	7
Megace®ES	2,548	0,2912	7
Placebo	1,999	0,2471	7
ShamPlacebo	1,793	0,1009	7
ShamMegace®	1,85	0,2135	7
ShamMegace®ES	2,912*	0,4233	7

Tabelle 3.6: Zusammenfassung der Ergebnisse der Urinkreatininwerte (in mmol/l pro100g KG) (erhöhte Werte ShamMegace®ES- vs. ShamPlacebogruppe*, ShamMegace®ES- vs. ShamMegace®Gruppe*, Megace®- vs. ShamMegace®Gruppe*, Megace®- vs. ShamPlacebo**, Megace®ES- vs. ShamPlacebogruppe*)

Innerhalb der CHI-Gruppen zeigten sich keine Unterschiede hinsichtlich der Urinkreatininwerte (ANOVA $p=0,44$). Unterschiede zeigten sich jedoch in den Shamgruppen (Kruskal-Wallis $p=0,03^*$). So war ein niedrigerer Wert in der ShamPlacebogruppe gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe zu verzeichnen ($9,798\pm 0,29$ ($n=7$) vs. $15,4\pm 2,003$ ($n=7$); $p=0,0061^{**}$).

Zwischen den Gruppen zeigte sich eine Erhöhung der Urinkreatininwerte der Megace®-Gruppe ($15,5\pm 1,67$ ($n=7$) gegenüber der ShamPlacebogruppe ($9,79\pm 0,29$ ($n=7$); $p=0,0033^{**}$) als auch gegenüber der ShamMegace®-Gruppe ($10,46\pm 1,33$ ($n=7$); $p=0,0361^*$). Erhöhte Werte fanden sich auch im Vergleich der Megace®ES-Gruppe mit der ShamPlacebogruppe ($12,82\pm 1,58$ ($n=7$) vs. $9,79\pm 0,29$ ($n=7$); $p=0,0379^*$).

Nach Relativieren der Urinkreatininwerte zum Körpergewicht zeigte sich ein ähnliches Bild. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.6 zusammengefasst. Die CHI-Gruppen zeigten untereinander keine Unterschiede (Kruskal-Wallis $p=0,15$). Innerhalb der Shamgruppen (ANOVA $p=0,018^*$) zeigte sich ein erhöhter Wert der ShamMegace®ES-Gruppe gegenüber der ShamPlacebogruppe ($p=0,0244^*$) als auch gegenüber der ShamMegace®-Gruppe ($p=0,0447^*$).

Erhöhte Urinkreatininwerte zeigten sich im Vergleich der Megace®-Gruppe mit der ShamMegace®-Gruppe ($p=0,0175^*$), wie auch im Vergleich mit der ShamPlacebogruppe ($p=0,0012^{**}$). Erhöht waren die Werte der Megace®ES-Gruppe gegenüber der ShamPlacebogruppe ($p=0,0305^*$). Bei der Betrachtung der Megace®-Gruppe ist hier die Erhöhung der Urinkreatininwerte gegenüber der Placebogruppe als grenzwertig zu beschreiben ($p=0,05$).

Gruppe	Probenanzahl	Mittelwert in $\mu\text{g/l}$	Standardfehler	Mittelwert in $\mu\text{g/Tag}$	Standardfehler
Furosemid	6	15251	6708	124,7	32,91
Megace®	7	28208	12064	216,1	86,8
Megace®ES	6	12203	4051	93,11	34,34
Placebo	7	21631	7868	205,9	61,41
ShamPlacebo	7	17230	5787	206,2	46,53
ShamMegace®	7	18538	5590	193,4	60,13
ShamMegace®ES	7	48180*	11421	481,9**	116

Tabelle 3.7: Zusammenfassung der Ergebnisse Albumin im Urin (pro100g KG) (erhöhte Werte ShamMegace®ES- vs. ShamPlacebogruppe*, ShamMegace®ES- vs. ShamMegace®-Gruppe, ShamMegace®ES- vs. Megace®ES-Gruppe**, ShamMegace®ES- vs. Furosemidgruppe**)

Die untersuchten Albuminwerte aus den 24-Stunden-Sammelurinen wurden einerseits unter Berücksichtigung der Körpergewichte analysiert und in einem weiteren Schritt als absolute Albuminexkretion pro Tag betrachtet. Die Tabelle 3.7 gibt die Ergebnisse dieser Analyse wieder.

In der Analyse der Urinalbuminkonzentration der 24-Stunden-Sammelurine konnten innerhalb der CHI-Gruppen keine Unterschiede festgestellt werden (Kruskal-

Wallis $p=0,49$). Innerhalb der Shamgruppen wurden jedoch Unterschiede deutlich (ANOVA $p=0,027^*$). So zeigten sich die Werte der ShamMegace®ES-Gruppe erhöht gegenüber der ShamPlacebogruppe ($p=0,0111^*$) als auch gegenüber der ShamMegace®-Gruppe ($p=0,038^*$).

Einen deutlich niedrigeren Wert zeigte die Megace®ES-Gruppe gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe ($p=0,0082^{**}$).

Bei Betrachtung der absoluten Albuminexkretion ergibt sich ein ähnliches Bild. Unterschiede traten nur innerhalb der Shamgruppen auf (ANOVA $p=0,033^*$; CHI-Gruppen Kruskal-Wallis $p=0,39$). Auch hier lagen die Werte der ShamMegace®ES-Gruppe signifikant höher als die der ShamPlacebogruppe ($p=0,0476^*$) beziehungsweise der ShamMegace®-Gruppe ($p=0,0474^*$).

Die höchste Konzentration an Albumin im Urin zeigte sich bei der ShamMegace®ES-Gruppe. Im Vergleich mit der Megace®ES-Gruppe ($p=0,0047^{**}$) und der Furosemidgruppe ($p=0,0047^{**}$) war diese Erhöhung signifikant.

Gruppe	Mittelwert	Standardfehler	Probenanzahl
Furosemid	1,868	0,4706	6
Megace®	1,502	0,2432	7
Megace®ES	1,552	0,2959	7
Placebo	1,755	0,3558	7
ShamPlacebo	2,53*	0,3464	7
ShamMegace®	1,754	0,2204	7
ShamMegace®ES	1,961	0,3251	7

Tabelle 3.8: Zusammenfassung der Ergebnisse der 24 Stunden Diurese (in ml pro 100g KG) (erhöhte Werte ShamPlacebogruppe vs. Megace®-Gruppe*)

Bezüglich der Menge der Urinausscheidung während einer 24-Stunden-Sammeldauer konnten weder innerhalb der CHI-Gruppen (ANOVA $p=0,5$) noch in den Shamgruppen (ANOVA $p=0,182$) Unterschiede gefunden werden. Lediglich zwischen den Gruppen

Megace®ES und ShamPlacebo ($7,829 \pm 1,672$ ($n=7$) vs. $14,23 \pm 2,279$ ($n=7$); $p=0,0392^*$) beziehungsweise Megace® und ShamPlacebo ($8,391 \pm 1,352$ ($n=7$) vs. ($14,23 \pm 2,279$ ($n=7$); $p=0,0477^*$) zeigten sich diese signifikant.

Unter Berücksichtigung des Körpergewichts stellte sich das in Tabelle 3.8 gezeigte Bild dar. Unterschiede zeigten sich auch hier innerhalb der Gruppen nicht (CHI-Gruppen Kruskal-Wallis $p=0,95$; Shamgruppen Kruskal-Wallis $p=0,195$).

Bei der ShamPlacebogruppe mit den höchsten Werten in der Urinausscheidung gegenüber allen anderen Gruppen zeigte sich dies signifikant im Vergleich mit der Megace®-Gruppe ($p=0,0111^*$) und grenzwertig bei der Megace®ES-Gruppe ($p=0,053$), bei der Placebogruppe ($p=0,0973$) und bei der ShamMegace®ES-Gruppe ($p=0,0973$).

3.2. Relatives Nierengewicht

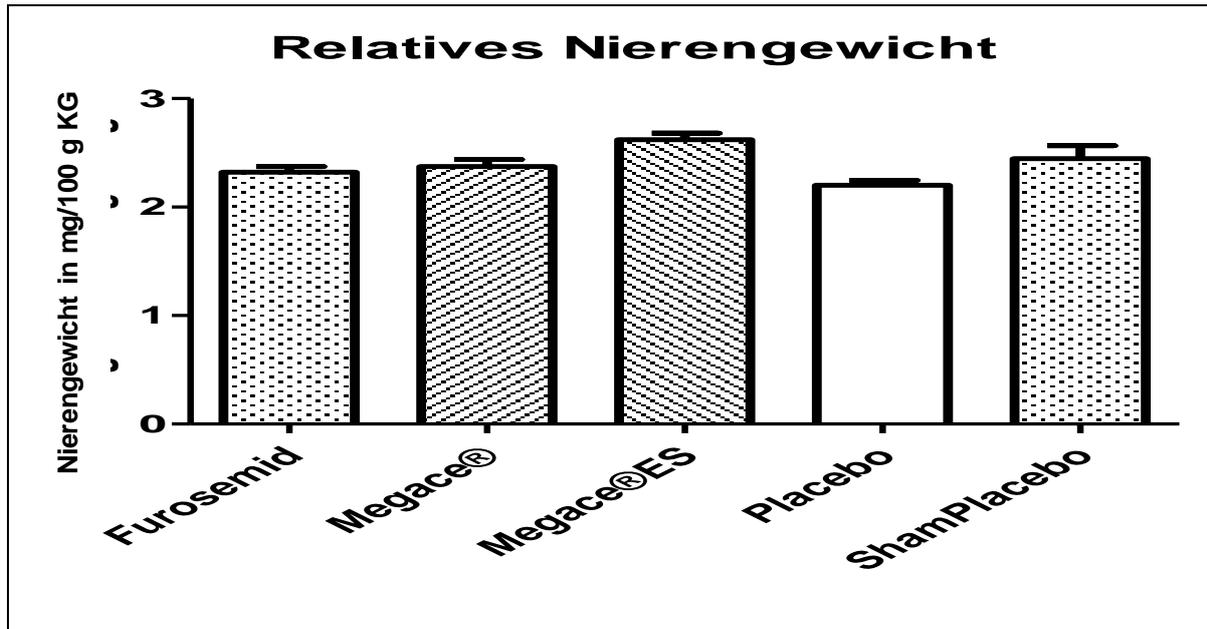


Abbildung 3.1: Ergebnisse der relativen Nierengewichte der CHI-Gruppen (ANOVA $p < 0,0001\#$)

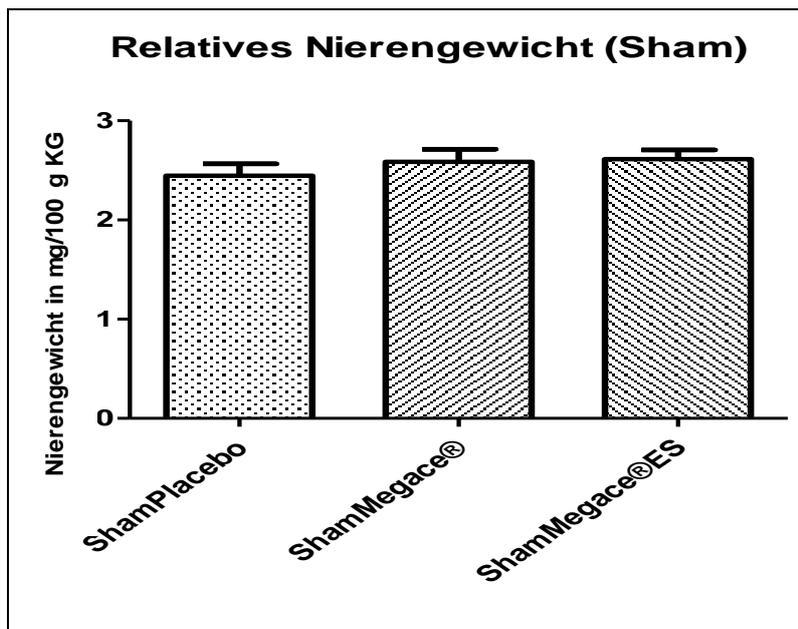


Abbildung 3.2: Ergebnisse der relativen Nierengewichte der Shamgruppen (Kruskal-Wallis $p = 0,56$)

Bei der Analyse der relativen Nierengewichte (s. Abbildung 3.1 und 3.2) zeigten sich deutliche Unterschiede in den CHI-Gruppen (ANOVA $p < 0,0001\#$). Die Auswertung der Shamgruppen hingegen blieb ohne statistisch relevante Aussage bezüglich der Gruppenunterschiede (Kruskal- Wallis $p = 0,56$).

Als Gruppe mit den größten relativen Nierengewichten innerhalb der CHI-Gruppen stellte sich die Megace®ES-Gruppe ($2,62 \pm 0,061$ ($n=15$)) dar. Dies zeigte sich deutlich im Vergleich mit der Furosemidgruppe ($2,32 \pm 0,053$ ($n=15$) $p = 0,0009\#$), mit der Megace®-Gruppe ($2,37 \pm 0,64$ ($n=15$) $p = 0,0094^{**}$) und insbesondere gegenüber der Placebogruppe ($2,2 \pm 0,044$ ($n=15$) $p = < 0,0001\#$).

Die Placebogruppe war die Gruppe mit den niedrigsten relativen Nierengewichten insgesamt. Dieser Unterschied zeigt sich des Weiteren gegenüber der Megace®-Gruppe ($p = 0,0332^*$). Im Vergleich mit der Furosemidgruppe ist dieser Unterschied lediglich grenzwertig ($p = 0,0924$).

In der weiteren Auswertung der Gruppen untereinander konnte ein erniedrigter Wert des relativen Nierengewichtes der Placebogruppe gegenüber der ShamPlacebogruppe ($2,44 \pm 0,12$ ($n=11$) $p = 0,0127^*$) festgestellt werden. Tendenziell erniedrigt war der Wert der Furosemidgruppe im Vergleich mit der ShamPlacebogruppe ($p = 0,0968$).

Die Einbeziehung der ShamMegace®-Gruppe ($2,59 \pm 0,13$) und der ShamMegace®ES-Gruppe ($2,61 \pm 0,092$) in die Auswertung blieb ohne relevante Aussage.

3.3 Albumin-Kreatinin-Quotient

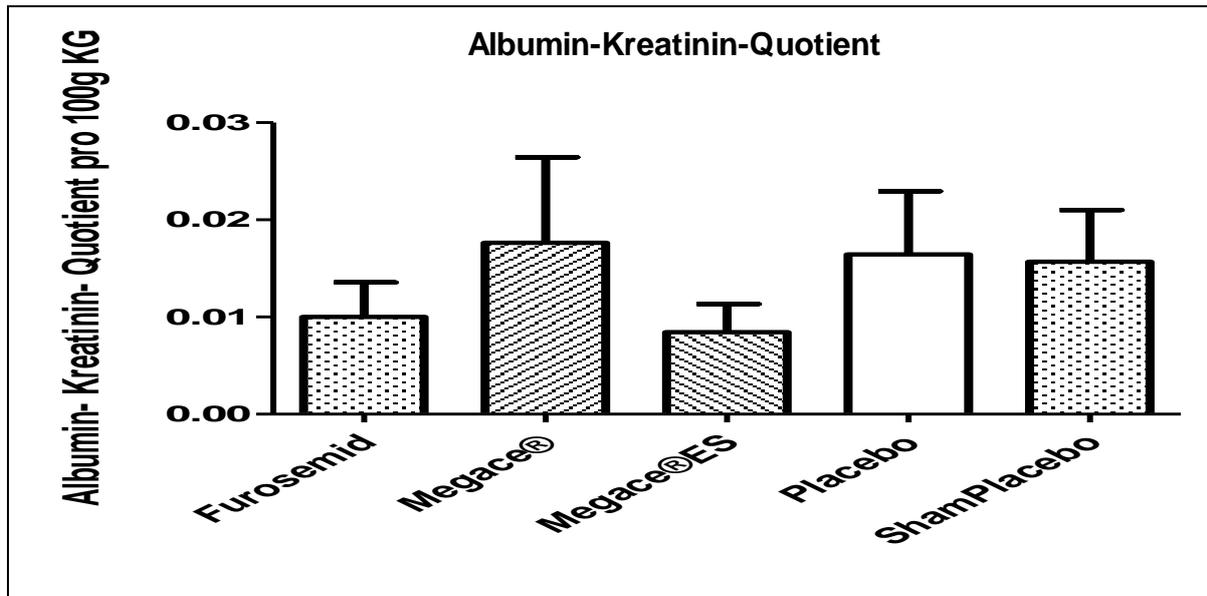


Abbildung 3.3: Ergebnisse Albumin-Kreatinin-Quotient der CHI-Gruppen (Kruskal-Wallis $p=0,43$)

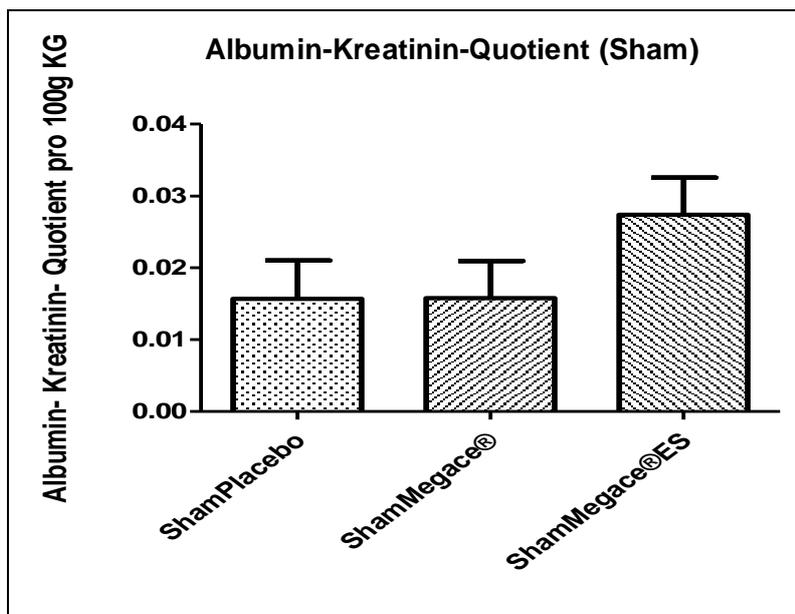


Abbildung 3.4: Ergebnisse Albumin-Kreatinin-Quotient der Shamgruppen (Kruskal-Wallis $p=0,075$)

Die Analyse des Albumin-Kreatinin-Quotienten zeigte weder Unterschiede zwischen den CHI-Gruppen (Kruskal-Wallis $p=0,43$) noch innerhalb der Shamgruppen (Kruskal-Wallis $p=0,075$). Im Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander zeigte sich ein niedrigerer Wert der Megace®ES-Gruppe gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe ($0,0423\pm 0,0141$ ($n=6$) vs. $0,161\pm 0,03$ ($n=8$); $p=0,0047^{**}$) als auch ein niedrigerer Quotient der ShamPlacebogruppe gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe ($0,081\pm 0,0226$ ($n=7$) vs. $0,161\pm 0,03$ ($n=8$); $p=0,0289^*$). In der Betrachtung als grenzwertig ist der erniedrigte Quotient der ShamMegace®-Gruppe gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe zu beschreiben ($0,088\pm 0,027$ ($n=7$) vs. $0,161\pm 0,03$ ($n=8$) $p=0,099$).

Die Berücksichtigung des Körpergewichtes der Ratten bei der Berechnung des Albumin-Kreatinin-Quotienten lieferte das in Abbildung 3.3 und 3.4 dargestellte Bild.

Ersichtlich war hier ebenfalls kein Unterschied innerhalb der CHI-Gruppen (Kruskal-Wallis $p=0,49$) beziehungsweise innerhalb der Shamgruppen (Kruskal-Wallis $p=0,15$).

Der Unterschied zwischen der Megace®ES- und der ShamMegace®ES-Gruppe zeigte sich hier ebenfalls deutlich ($0,0084\pm 0,0029$ ($n=6$) vs. $0,0274\pm 0,0051$ ($n=7$) $p=0,0082^{**}$).

Der erniedrigte Quotient der ShamPlacebogruppe im Vergleich mit der ShamMegace®ES-Gruppe war hingegen nicht mehr signifikant ($0,01569\pm 0,005324$ ($n=7$) vs. $0,0274\pm 0,0051$ ($n=7$); $p=0,0728$).

Weitere Unterschiede konnten nicht aufgezeigt werden.

3.4 Kreatinin-Clearance

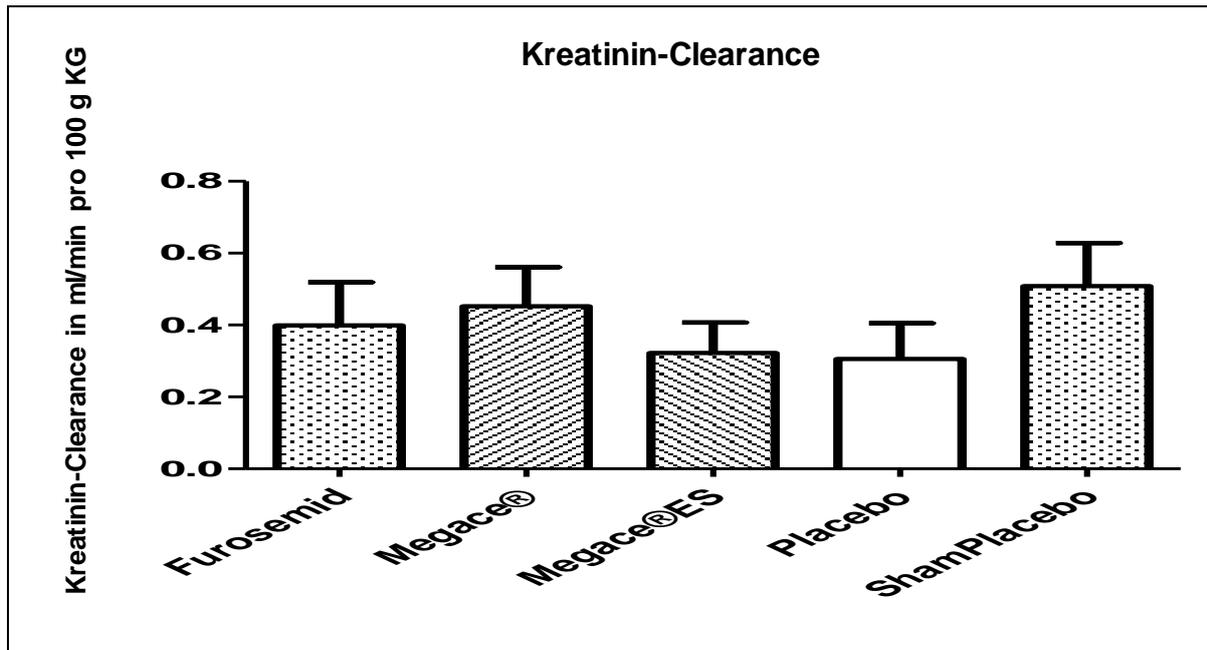


Abbildung 3.5: Ergebnisse der Kreatinin-Clearance der CHI-Gruppen (Kruskal-Wallis $p=0,84$)

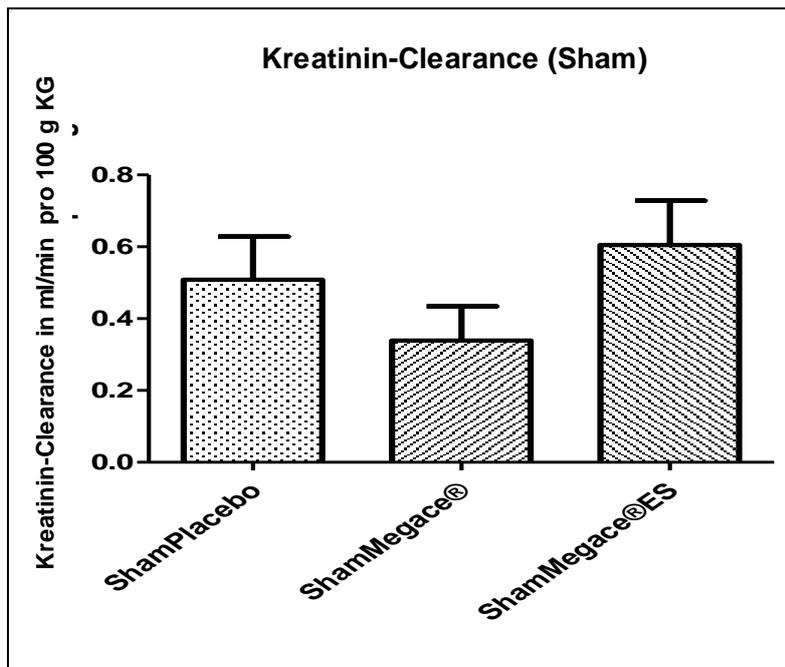


Abbildung 3.6: Ergebnisse der Kreatinin-Clearance der Shamgruppen (Kruskal-Wallis $p=0,17$).

Bei der Auswertung der Kreatinin-Clearance-Werte zeigten sich keine Unterschiede in den CHI-Gruppen (Kruskal-Wallis $p=0,84$). Gleiches gilt für die Shamgruppen (Kruskal-Wallis $p=0,212$). Vergleicht man die einzelnen Gruppen untereinander, zeigte sich eine erniedrigte Kreatinin-Clearance bei der Megace®ES-Gruppe gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe ($1,642\pm 0,4789$ ($n=6$) vs. $3,142\pm 0,5194$ ($n=7$); $p=0,0350^*$). Unter Berücksichtigung des Körpergewichts liessen sich signifikante Unterschiede innerhalb der Gruppen (CHI-Gruppen Kruskal-Wallis $p=0,845$; Shamgruppen Kruskal-Wallis $p=0,166$) als auch zwischen den einzelnen Gruppen nicht mehr darstellen (s. Abbildung 3.5 und 3.6). Grenzwertige Ergebnisse bezüglich der Kreatinin-Clearance fanden sich bei dem Vergleich folgender Gruppen: Megace®ES ($0,3222\pm 0,08446$ ($n=6$)) vs. ShamMegace®ES ($0,605\pm 0,1233$ ($n=7$) $p=0,0734$), Placebo ($0,3056\pm 0,0995$ ($n=6$) vs. ShamPlacebo ($0,5085\pm 0,1201$ ($n=6$) $p=0,0931$) und ShamMegace® ($0,339\pm 0,0953$ ($n=6$) vs. ShamMegace®ES ($0,605\pm 0,1233$ ($n=7$) $p=0,0734$).

3.5 Histologie

3.5.1 Interstitielle Fibrose

Die mittels Sirius-Red-Färbung sichtbar gemachten kollagenhaltigen Anteile können als Grad der interstitiellen Fibrosierung angesehen werden. Der Anteil dieser Fibrosierung pro Gesamtfläche wurde per Bildverarbeitungsprogramm berechnet. Das Ergebnis der statistischen Auswertung ist in Abbildung 3.7 und 3.8 dargestellt.

Innerhalb der CHI-Gruppen zeigte der Kruskal-Wallis-Test keine Unterschiede an ($p=0,27$). Gleiches gilt für die Shamgruppen ($p=0,53$). Im Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander fiel dennoch ein erniedrigter Fibrosegrad der Furosemidgruppe gegenüber der Placebogruppe auf ($0,48\pm 0,11$ ($n=15$) vs. $1,03\pm 0,31$ ($n=15$); $p=0,0421^*$). Grenzwertig war diese Erniedrigung bei der Furosemidgruppe gegenüber der ShamPlacebogruppe ($0,48\pm 0,11$ ($n=15$) vs. $0,92\pm 0,26$ ($n=15$); $p=0,0693$).

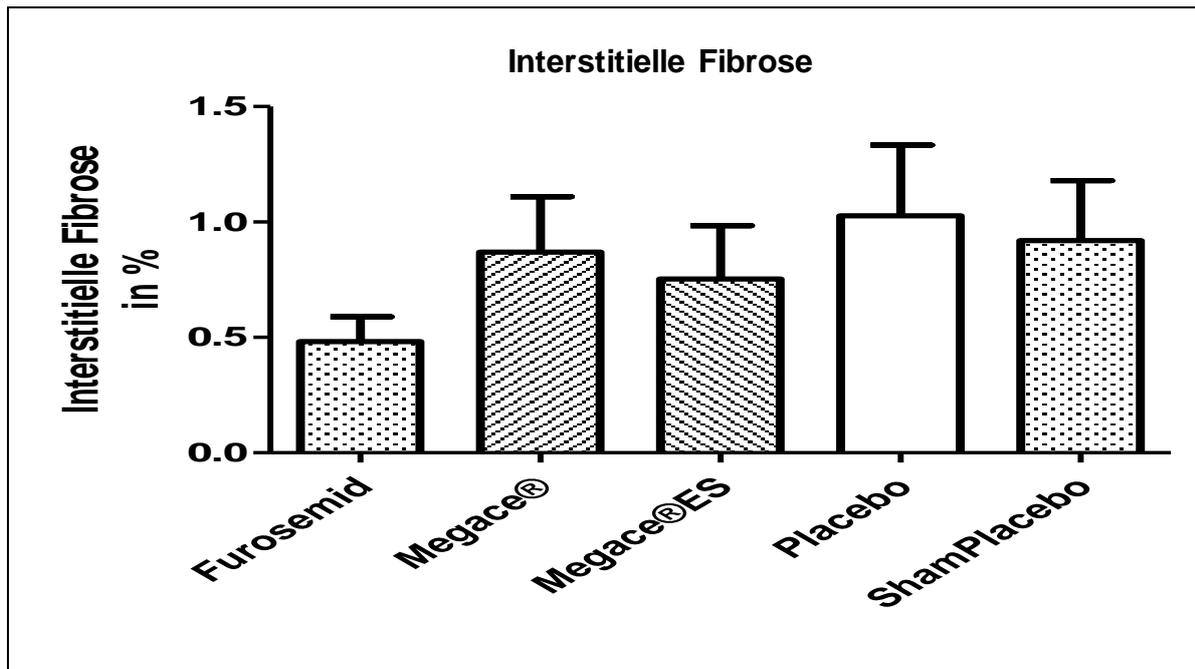


Abbildung 3.7: Ergebnisse der statistischen Auswertung der interstitiellen Fibrose der CHI-Gruppen (Kruskal-Wallis $p=0,27$)

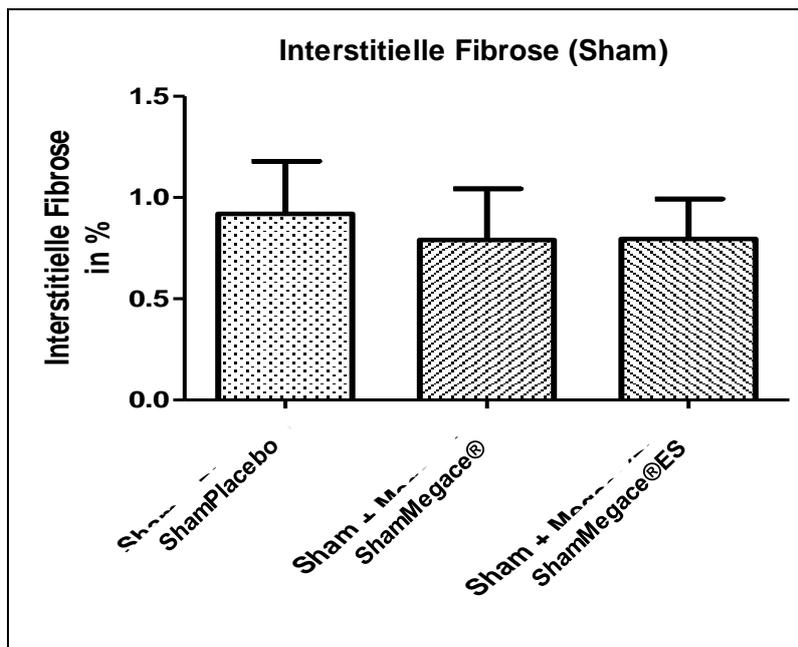


Abbildung 3.8: Ergebnisse der statistischen Auswertung der interstitiellen Fibrose der Shamgruppen (Kruskal-Wallis $p=0,53$)



Abbildung 3.9: Exemplarische Darstellung der interstitiellen Fibrose aus der Furosemidgruppe (geringer Fibrosierungsgrad) (mikroskopische Ausschnitte aus Sirius-Red-gefärbten Nierenpräparaten, Vergrößerung 40-fach, roter Anteil entspricht kollagenreichen Arealen=Fibrosierung)

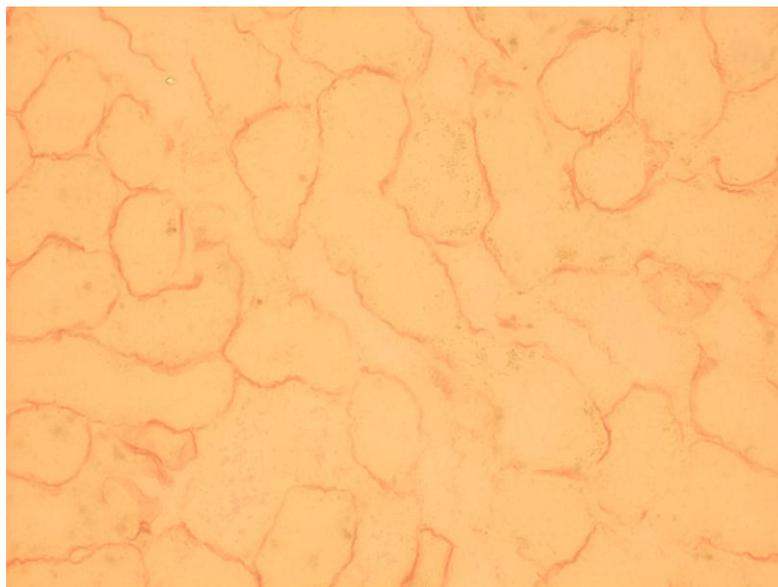


Abbildung 3.10: Exemplarische Darstellung der interstitiellen Fibrose aus der Placebogruppe (hoher Fibrosierungsgrad) (mikroskopische Ausschnitte aus Sirius-Red-gefärbten Nierenpräparaten, Vergrößerung 40-fach, roter Anteil entspricht kollagenreichen Arealen=Fibrosierung)

3.5.2 Media-Lumen-Ratio

Die Beurteilung der Wanddicke der Tunica media mit Hilfe der Media-Lumen-Ratio dient der Einschätzung des Ausmaßes von vaskulärem Remodeling an arteriellen Gefäßen. Die nachfolgenden Abbildungen 3.11 und 3.12 zeigen die in diesem Versuch gewonnenen Ergebnisse.

Ersichtlich war hier weder ein Unterschied innerhalb der CHI-Gruppen (ANOVA $p=0,5$), noch innerhalb der Shamgruppen (Kruskal-Wallis $p=0,76$).

Im Vergleich der Gruppen untereinander zeigte sich die Media-Lumen-Ratio bei der Furosemidgruppe verringert gegenüber der ShamPlacebogruppe ($1,564 \pm 0,09558$ (n=15) vs. $1,896 \pm 0,1158$ (n=11) $p=0,0358^*$).

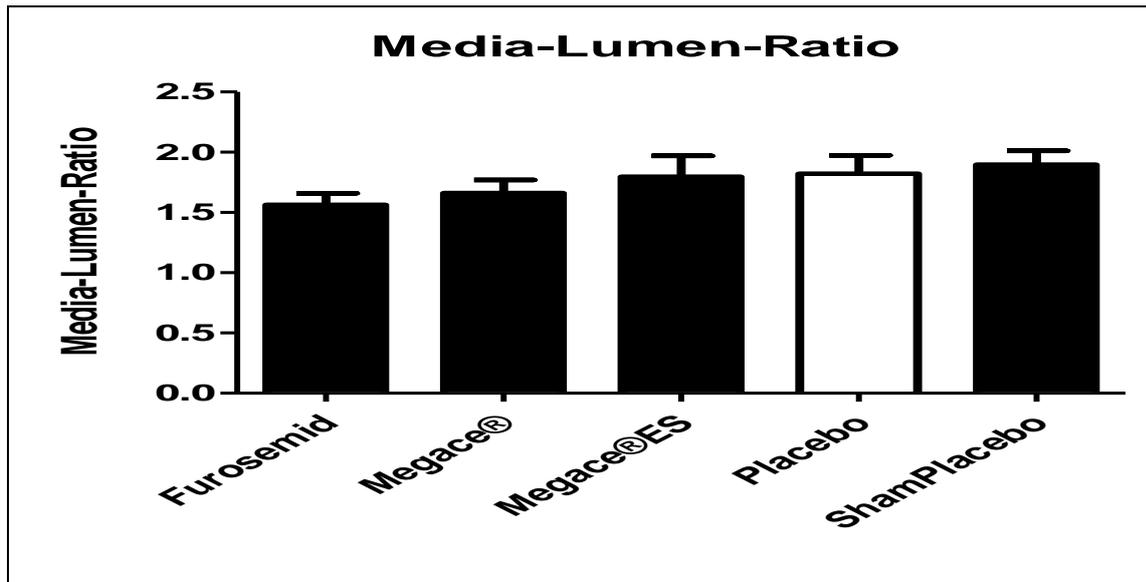


Abbildung 3.11: Ergebnisse der Media-Lumen-Ratio der CHI-Gruppen (ANOVA p=0,5)

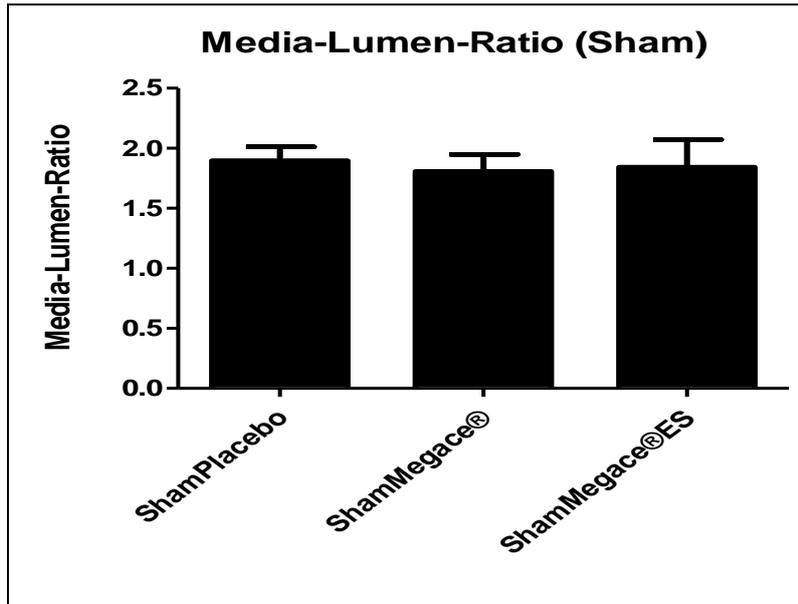


Abbildung 3.12: Ergebnisse der Media-Lumen-Ratio der Shamgruppen (Kruskal-Wallis p=0,76)

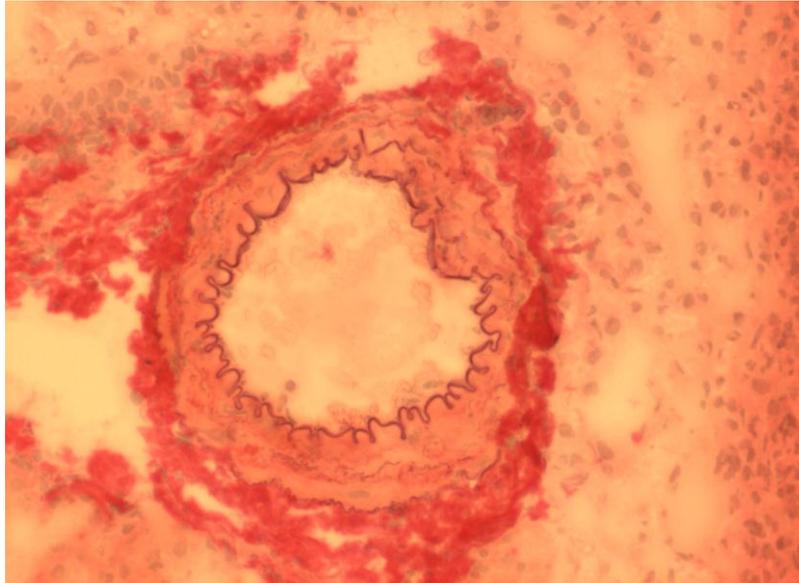


Abbildung 3.13: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Gefäßanschnittes zur Media-Lumen-Ratio-Bestimmung aus der Furosemidgruppe

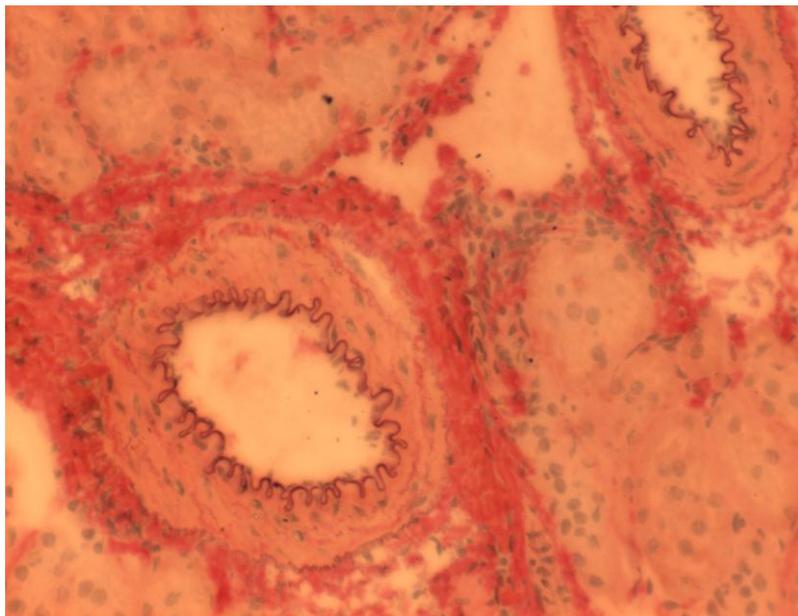


Abbildung 3.14: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Gefäßanschnittes zur Media-Lumen-Ratio-Bestimmung aus der Megace®-Gruppe

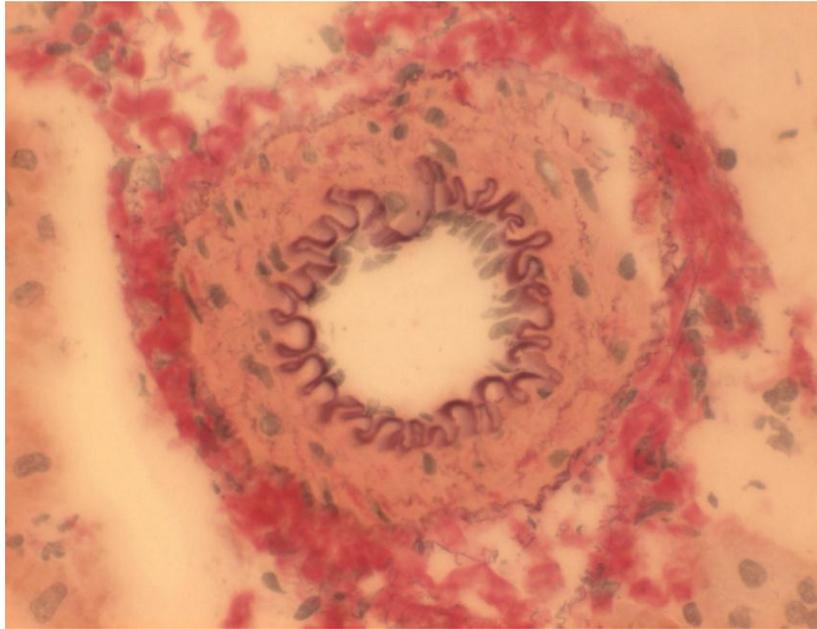


Abbildung 3.15: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Gefäßanschnittes zur Media-Lumen-Ratio-Bestimmung aus der Megace®ES-Gruppe

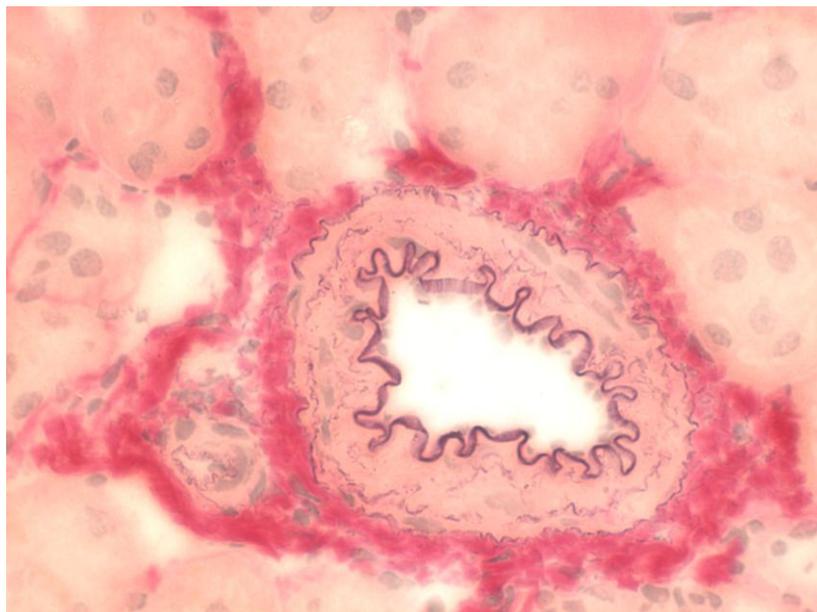


Abbildung 3.16: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Gefäßanschnittes zur Media-Lumen-Ratio-Bestimmung aus der Placebogruppe

3.5.3 Glomerulosklerose

Zur Bestimmung des Sklerosegrades an den Glomeruli werden diese nach dem PAS-positiv gefärbten Anteilen in ein Scoresystem eingestuft. Die Auswertung der sich hieraus ergebenden Scoreindexe ist in Abbildung 3.17 und 3.18 graphisch wiedergegeben.

Der Unterschied innerhalb der CHI-Gruppen war grenzwertig (Kruskal-Wallis $p=0,063$).

Die Shamgruppen zeigen untereinander keinen Unterschied (Kruskal-Wallis $p=0,89$).

Insgesamt betrachtet zeichnete sich die Placebogruppe mit dem geringsten Scoreindex aus ($1,333\pm 0,0253$ ($n=15$)). Der Grad der Glomerulosklerose dieser Gruppe kann damit als geringer eingeschätzt werden sowohl im Vergleich mit der Furosemidgruppe ($1,423\pm 0,02846$ ($n=15$) $p=0,0255^*$), mit der Megace®-Gruppe ($1,478\pm 0,0583$ ($n=15$) $p=0,0381^*$) als auch mit der Megace®ES-Gruppe ($1,558\pm 0,114$ ($n=15$) $p=0,0344^*$). Die Megace®ES-Gruppe war hierbei diejenige mit dem höchsten Scoreindex. Im weiteren Vergleich der Gruppen zueinander ließ sich ebenfalls ein erniedrigter Grad der Glomerulosklerose bei der Placebogruppe gegenüber der ShamPlacebogruppe ($1,397\pm 0,02841$ ($n=11$) $p=0,0098^{**}$) aufzeigen.



Abbildung 3.17: Ergebnisse der Scoreindexe der Glomerulosklerose der CHI-Gruppen (Kruskal-Wallis $p=0,06$)

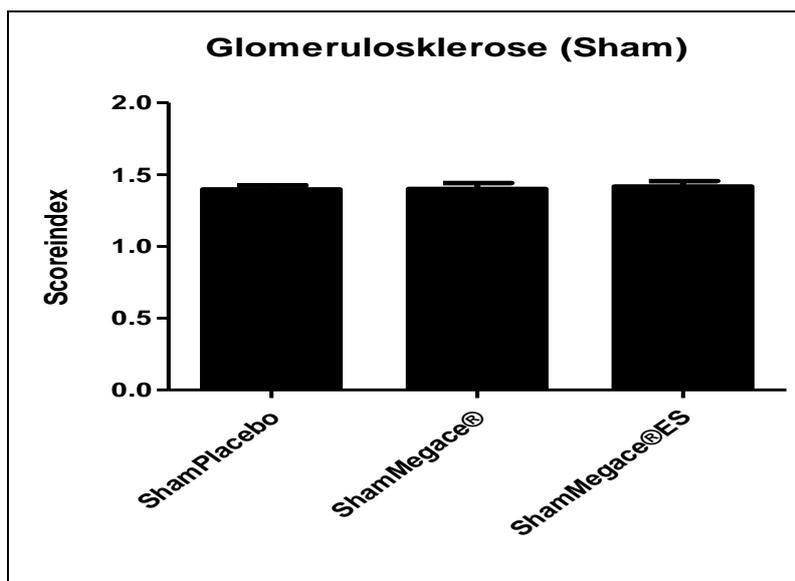


Abbildung 3.18: Ergebnisse der Scoreindexe der Glomerulosklerose der Shamgruppen (Kruskal-Wallis $p=0,89$)

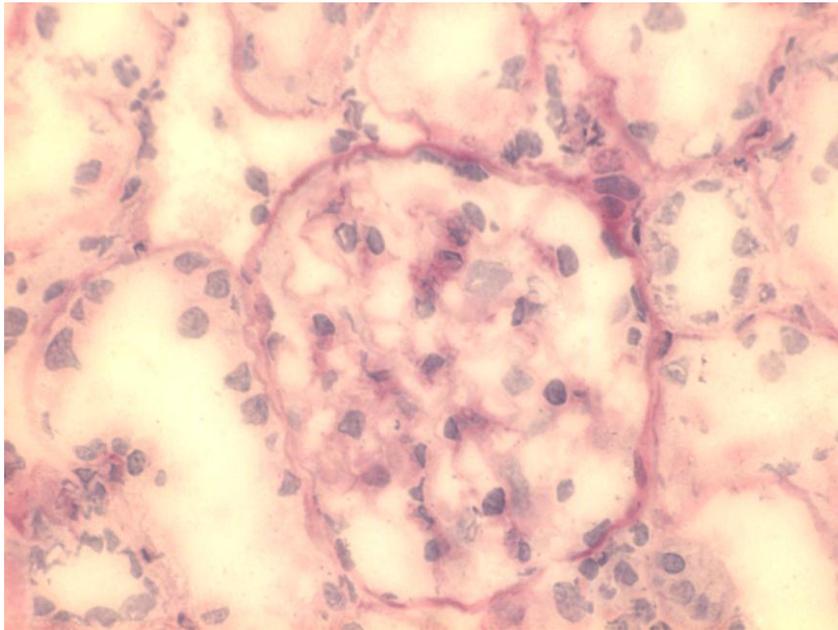


Abbildung 3.19: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Ausschnittes mit einem Glomeruloskleroseindex von 1 (entspricht Sklerosierung < 25 %)

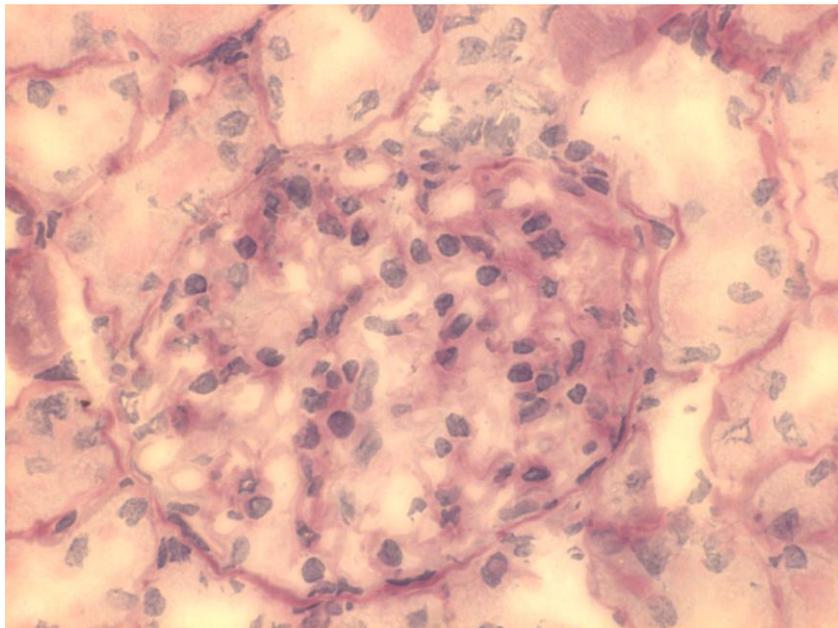


Abbildung 3.20: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Ausschnittes mit einem Glomeruloskleroseindex von 2 (entspricht Sklerosierung von 25-50 %)

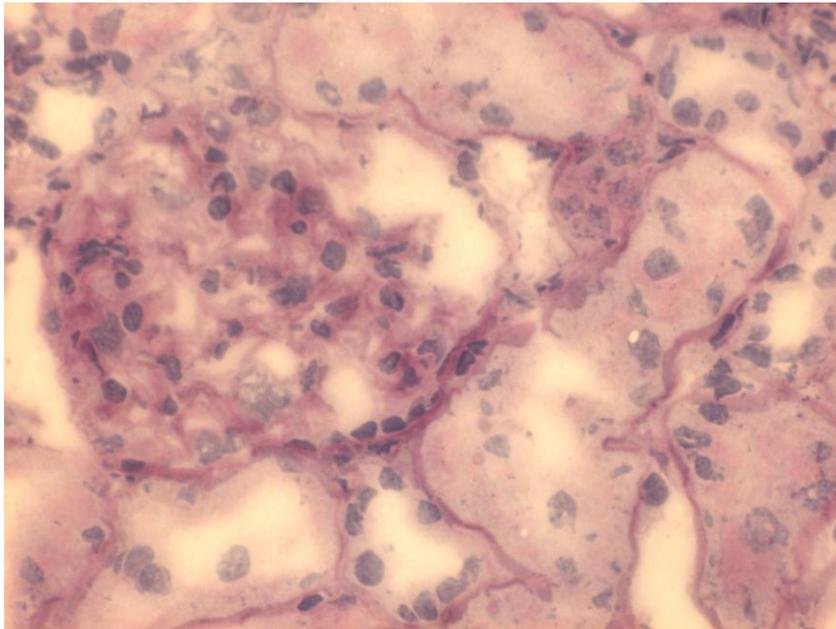


Abbildung 3.21: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Ausschnittes mit einem Glomeruloskleroseindex von 3 (entspricht Sklerosierung von 50-70 %)

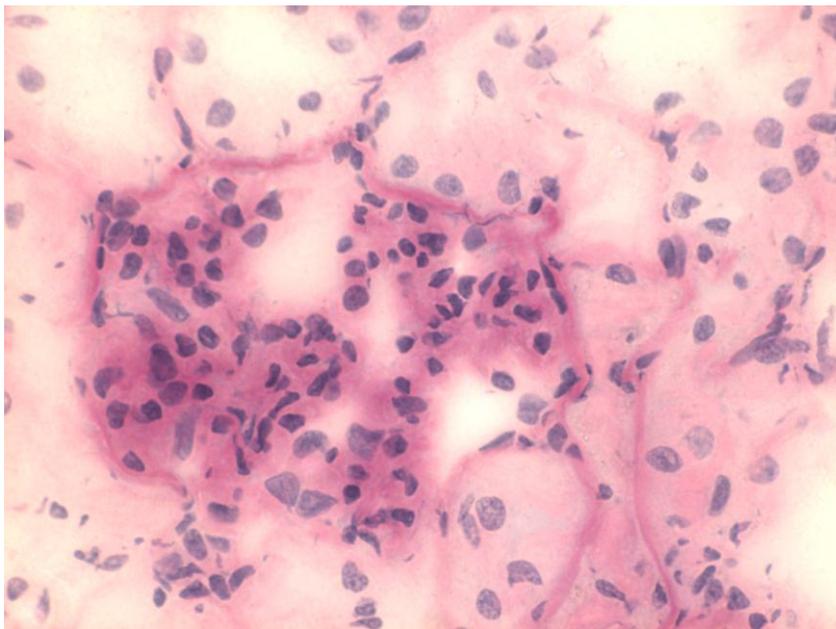


Abbildung 3.22: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Ausschnittes mit einem Glomeruloskleroseindex von 4 (entspricht Sklerosierung > 75 %)

4. DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war es, Auswirkungen einer Furosemid- und Megestrol®-Therapie auf die Nierenfunktion und -struktur bei vorliegender CHI zu untersuchen. Im Kontext des kardioresalen Syndroms lag der Fokus dabei auf der Ursachenforschung einer beobachteten erhöhten Mortalität unter Furosemidapplikation der hier untersuchten Rattennieren aus dem Tierexperiment von S. Straßburg [171]. In diesem Tierexperiment konnte kein Unterschied bezüglich der mittleren Infarktgröße in den verschiedenen Gruppen festgestellt werden (Furosemidgruppe 31,5 % (n=23), Megace®-Gruppe 32,8 % (n=23), Megace®ES-Gruppe 30,6 % (n=23), Placebo 32,2 % (n=30)), der die erhöhte Mortalität der Furosemidgruppe erklärt hätte. Mögliche Rhythmusstörungen als Ursache konnten verständlicherweise nicht aufgezeichnet werden.

In der Arbeit von S. Straßburg [171] konnte eine bessere LVEF ($p=0,04$) als auch ein verbessertes Überleben der Megace®ES-Gruppe gegenüber der Furosemidgruppe nachgewiesen werden. Inwieweit sich ein Therapieversuch mittels Megestrol Acetat bei kardialer Kachexie auch auf die Nierenfunktion und -struktur auswirkt und somit im Zusammenhang mit dem kardioresalen Syndrom gesehen werden muss, war ein weiteres Anliegen dieser Arbeit.

Die Auswertung und Analyse vorhandener Laborwerte sowie die histologische Begutachtung der Nierenstruktur der „überlebenden“ Tiere aus dem Tierexperiment von S. Straßburg [171] soll hier dementsprechend diskutiert werden.

Da die verstorbenen Tiere und somit die Tiere mit der vermuteten wesentlichen Pathologie nicht in die Analyse mit einbezogen werden konnten, können die sich ergebenden Befunde demnach nur den Beginn von Prozessen darstellen. Eine alleinige Wirkungsbeurteilung von Megace® bzw. Megace®ES im Zusammenhang mit CHI ist aufgrund der Versuchsanordnung nicht möglich. Die hier gewonnen Erkenntnisse können nur frühzeitige Trends bei gleichzeitiger Furosemidtherapie anzeigen.

4.1. Klinische Chemie

4.1.1 Leberwerte

Die Erfassung der Leberenzyme gehört standardmäßig zur Diagnostik bzw. Verlaufsdagnostik einer Herzinsuffizienz. Ein Anstieg der Transaminasen wird allgemein bei Patienten mit CHI beobachtet [176] und ist mit einem Anstieg des Schweregrades der CHI assoziiert [177]. Eine Leberschädigung im Rahmen einer Herzinsuffizienz aufgrund eines venösen Rückstaus ist Ausdruck eines fortgeschrittenen Stadiums der CHI [8].

Statistisch gesehen zeigt die Auswertung der in den Versuchen gewonnenen Leberenzymen ALAT und ASAT keinen Unterschied unter den Versuchsgruppen an und die Werte bewegen sich im Normbereich [178]. Die gefundenen Werte sprechen hier gegen eine durch Herzinsuffizienz und/oder durch Arzneimittel induzierte Minderperfusion der Leber bzw. Leberschädigung. Auch im Vergleich mit einer Studie von Vasconcelos LA et al. [177], die erhöhte Werte der Transaminasen nur in fortgeschrittenen Stadien einer CHI nachwies, ist eine schwerwiegende CHI bei den untersuchten Ratten hier auszuschließen.

Die dezente Erhöhung der ALAT-Werte in der Placebogruppe gegenüber allen anderen Versuchsgruppen könnte allenfalls als Hinweis auf einen beginnenden pathologischen Prozess gewertet werden. Ob unter der hier erfolgten Arzneimittelapplikation etwaige Prozesse aufgehalten wurden, lässt sich nicht nachweisen. Die Aussagekraft der Leberenzymergebnisse ist aufgrund der äußerst geringen Gruppengröße insgesamt jedoch als stark eingeschränkt einzustufen.

Anzumerken ist weiterhin, dass zur Beurteilung einer Verschlechterung der Leberleistung bzw. der Abschätzung einer Leberschädigung im Rahmen einer Herzinsuffizienz die Veränderung des totalen Bilirubingehalts von höherer Relevanz ist [176]. Diese Werte konnten in die Analyse jedoch nicht mit aufgenommen werden.

4.1.2 Kreatinkinase

Die Kreatinkinase (CK) ist ein wichtiges Enzym für die Diagnose von Schädigungen an der Herz- und Skelettmuskulatur. Erhöhte Werte der Gesamt-CK lassen sich bei Muskelschäden, z.B. bei sportlicher Überbelastung, Trauma, Myopathie, Rhabdomyolyse als auch nach Operationen nachweisen. Falsch hohe CK-Werte werden bei Vorliegen von u.a. Tumorleiden, schweren Allgemeinerkrankungen als auch bei Niereninsuffizienz gemessen. Die Höhe eines Kreatinkinase-Anstieges korreliert mit der Infarktgröße [179].

Die analysierten Werte der Kreatinkinase zeigten keine Auffälligkeiten. Unterschiede waren statistisch nicht signifikant. Im Vergleich mit den Normwerten zeigten sich die Kreatinkinasewerte relativ im Referenzbereich [178]. Schlussfolgernd bedeutet dies, dass hier weder die Herzinsuffizienz noch die erfolgte Applikation von Megestrol Acetat und/oder Furosemid zu einer relevanten Auswirkung auf die CK-Level führten. Zeigen andere Arbeiten einen deutlichen Zusammenhang einer erhöhten CK bei einer CHI [180-181], scheinen die hier untersuchten Tiere demzufolge nicht oder noch nicht an einer schweren Herzinsuffizienz zu leiden. Verstorbene Tiere, die möglicherweise höhergradige Stadien einer CHI erreicht hatten, konnten, wie bereits oben erwähnt, in der Analyse nicht berücksichtigt werden.

Weiterhin anzumerken ist auch, dass die Kreatinkinase-Level aller Shamgruppen sogar um das ca. 1,1- bis 2,1-fache über denen der CHI-Gruppen lagen. Dies würde eher ein Abfall der CK-Level nach induzierter CHI bedeuten. Ohne statistische Signifikanz bleibt diese Beobachtung jedoch ohne weitreichende Relevanz.

Aufgrund der geringen Gruppengröße, der einmaligen Wertbestimmung und der Versuchsdauer ist eine zwingende Schlussfolgerung schwierig. Weiterführende Untersuchungen sollten über ein längeres Zeitintervall im Vergleich mit weiteren die Herzinsuffizienz beurteilenden Parametern zur Bestimmung der Bedeutung und des Verlaufs der CK durchgeführt werden. Eine Bestimmung der Gesamt-CK alleine reicht zur Beurteilung der Schäden durch CHI nicht aus.

4.1.3 Albumin

Diskutiert werden sollen hier die Urinalbuminwerte nach Relativierung zum Körpergewicht und unter Berücksichtigung der jeweiligen Diurese, um eventuelle Störfaktoren zu minimieren (Albumin im Urin pro Tag pro 100 g KG).

Im Vergleich mit anderen Arbeiten [182-183] lagen die analysierten Werte weitestgehend im Normbereich.

Auffälligkeiten ergaben sich jedoch in den mit Megace®ES behandelten Gruppen. Insgesamt betrachtet zeigte sich dies in der Megace®ES-Gruppe mit den geringsten Level in der Albuminausscheidung. Im Gegensatz dazu zeigte die Megace®ES-Applikation bei den Shamtieren die deutlich höchsten Werte in der Albuminexkretion. Die Level der ShamMegace®ES-Gruppe waren im Vergleich mit der ShamPlacebogruppe um das 2,3-fache, mit der ShamMegace®-Gruppe um das 2,5-fache, mit der Megace®ES-Gruppe um das 5,2-fache und mit der Furosemidgruppe um das 3,9-fache signifikant erhöht.

Bei der Betrachtung der CHI-Gruppen fällt ein um 54,8 Prozent reduzierter Wert der Albuminexkretion der Megace®ES-Gruppe, als auch ein um 43,4 Prozent reduzierter Wert der Furosemidgruppe im Vergleich mit der Placebogruppe auf. Diese Beobachtungen sind statistisch allerdings nicht signifikant.

Da die Höhe der Albuminausscheidung als ein unabhängiger Risikofaktor für das erhöhte Auftreten von kardiovaskulären und renalen Erkrankungen gilt [184-185], zeichnen sich hier für die Applikation von Megace®ES gegenläufige Tendenzen ab. So ist von einer schädigenden Wirkung der Substanz bei den Shamtieren auszugehen.

In Kombination mit Furosemid trat keine signifikante Änderung auf, so dass hier eine Verschlechterung der Nierenfunktion weder durch Megace®ES, Furosemid oder in Kombination der beiden Arzneimittel nachgewiesen werden kann. Die Level der Placebogruppen zeigten ebenfalls keinen Hinweis einer negativen Einflussnahme der Herzinsuffizienz auf die Albuminexkretion und deuten somit kein erhöhtes Risiko für renale Erkrankungen an.

Bedeutet geringere Level der Albuminexkretion ein geringeres Risiko kardiovaskulärer und renaler Erkrankungen [185], so ist hier möglicherweise von einer nierenprotektiven Wirkung von Furosemid, wie sie auch in kleineren Arbeiten beschrieben

wurde [85, 186-187], auszugehen. Diese Wirkungsweise scheint durch Megace®ES nicht beeinflusst.

Andererseits ist mit dieser Arbeit keine Aussage bezüglich der Relevanz unterschiedlicher Applikationsdosen von Furosemid auf die Mortalität möglich. Eine dosisabhängige erhöhte Mortalität und WRF [70, 79] kann hier somit nicht nachgewiesen werden.

4.2 Nierenparameter

4.2.1 Relatives Nierengewicht

Unterschiedliche Ätiologien einer Nierenschädigung führen zu unterschiedlichen Auswirkungen auf die Niere und auf das Nierengewicht. So führen kompensatorische Mechanismen im Rahmen einer induzierten Niereninsuffizienz zu einer Hypertrophie der Niere und einem Anstieg des relativen Nierengewichtes [188]. Eine Zunahme der Parenchymdicke und der Nierenlänge zeigte sich bei ARF im Vergleich mit CRF [189]. Mehrere Studien belegen den Zusammenhang einer Langzeit-Furosemidtherapie mit der Entwicklung einer Nephrocalcinose [190-193] und damit verbundenem Anstieg des Nierengewichtes [194-195].

Die in dieser Studie analysierten rechten Rattennieren zeigten ein signifikantes Absinken des relativen Nierengewichtes der Placebogruppe um 9,9 Prozent gegenüber der ShamPlacebogruppe. Bezüglich der Furosemidgruppe (um 5,1 %) und der Megace®-Gruppe (um 2,9 %) zeigte sich das relative Nierengewicht nur tendenziell verringert gegenüber der ShamPlacebogruppe.

Daraus lässt sich schließen, dass die CHI hier zu einem Absinken des relativen Nierengewichtes führt. Da die Placebogruppe sich insgesamt mit dem geringsten relativem Nierengewicht präsentiert, lässt sich die Aussage dahingehend spezifizieren, dass insbesondere eine unbehandelte CHI zu diesem Verlust führt.

Innerhalb der Herzinsuffizienzgruppe ergab sich ein signifikantes Absinken des relativen Nierengewichtes der Placebogruppe um 7,9 Prozent gegenüber der Megace®-Gruppe

und gegenüber der Megace®ES-Gruppe sogar um 19 Prozent. Im Vergleich mit der Furosemidgruppe lag die Erniedrigung bei nur tendenziellen 5,4 Prozent. Im Umkehrschluss liegt hier also eine Erhöhung des Nierengewichtes unter Furosemid vor, wie sie auch in anderen Arbeiten beschrieben wurde [194-196].

Die Megace®ES-Gruppe präsentierte sich insgesamt mit den höchsten Werten des relativen Nierengewichtes mit einer signifikanten Erhöhung um 12,9 Prozent gegenüber der Furosemidgruppe als auch um 9,3 Prozent gegenüber der Megace®-Gruppe.

Beide Megestrolgruppen lagen über dem Niveau der Kontrollgruppen und unterschieden sich signifikant voneinander. Die Annahme einer veränderten Wirkung von Megace®ES an der Niere liegt hier nahe.

Mit diesem Ergebnis ist davon auszugehen, dass die Applikation von Furosemid und/oder Megestrol Acetat der hier beobachteten Atrophie der Niere unter CHI entgegenwirkt. Dies stützt andererseits die oben beschriebenen negativen Auswirkungen einer durch Furosemid induzierten Nephrocalcinose, die durch Megestrol Acetat, insbesondere Megace®ES, weiter verstärkt zu werden scheinen. Somit liegen hier Hinweise auf pathologische Mechanismen dieser Substanzen an der Nierenstruktur vor.

4.2.2 Diurese

Bei der Betrachtung des Diureseverhaltens der Tiere unter Berücksichtigung des Körpergewichts traten keine nennenswerten Unterschiede auf. Die Relativierung der Ergebnisse zum Körpergewicht erfolgte, um eventuelle Einflüsse von Größenunterschieden der Tiere zu reduzieren.

Die ShamPlacebogruppe präsentierte hier die Gruppe mit den deutlich höchsten Werten in der Diurese. Somit liegen auch alle CHI-Gruppen unter dem Diureselevel dieser Gruppe. Betrachtet man daher die ShamPlacebogruppe als die Gruppe mit den zu erwartenden Normwerten, zeigte sich im Vergleich eine signifikant reduzierte Diurese bei der Megace®-Gruppe von 59,4 Prozent. Tendenzuell ist bei der Megace®ES-Gruppe (61,3 %) als auch bei der Placebogruppe (69,4 %) die Diurese gegenüber der

ShamPlacebogruppe vermindert. Dies impliziert die Vermutung eines antidiuretischen Effekts von Megestrol Acetat in seinen beiden hier applizierten Formen. Gestützt wird diese Annahme durch die Beobachtung des gleichgerichteten Verhaltens der ShamMegestrolgruppen im Vergleich mit der ShamPlacebogruppe, die als tendenziell reduzierte Diurese im Fall der ShamMegace®ES-Gruppe (69,3 %) beschrieben werden kann. Die Ursache für die Auswirkung auf die Diurese ist wahrscheinlich auf die supprimierende Einflussnahme von Megestrol Acetat auf die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse zurückzuführen [129, 153, 197-200].

Von einer Interaktion mit Furosemid bezüglich der Diurese kann nach der Datenlage nicht ausgegangen werden, zumal sich die Diureselevel der ShamMegestrolgruppen nicht von denen der CHI-Megestrolgruppen unterschieden.

Eine hier erwartete deutlich diuretische Wirkung von Furosemid [196] konnte im Vergleich innerhalb der CHI-Gruppen nicht gezeigt werden. Die Diuresebestimmung als alleiniger Wert ist jedoch nicht ausreichend, um die Nierenfunktion ausreichend zu beurteilen. Auf eine Einschränkung der Nierenfunktion bei den CHI-Gruppen kann daher nicht geschlossen werden.

4.2.3 Kreatinin

Einen weiteren wesentlichen Laborparameter bei der Diagnostik der Herzinsuffizienz stellt der Kreatiningehalt im Plasma dar. Kreatinin entsteht im Muskel durch Abbau von Kreatinphosphat und wird in der gesunden Niere fast vollständig filtriert. Serum-Kreatininwerte sind weitestgehend nahrungsunabhängig und korrelieren zur glomerulären Filtrationsrate. Ein Anstieg der Serum-Kreatininwerte wird erst dann beobachtet, wenn das Glomerulumfiltrat um mehr als die Hälfte vermindert ist. Bei verminderter Muskelmasse, wie z.B. im Alter, sind die Werte erniedrigt. Ein normaler Kreatininwert kann somit schon eine leichte Einschränkung der GFR bedeuten. Erhöhte Werte treten unter anderem auch bei vermehrter Muskelmasse und Muskelläsionen auf [8].

Die hier gemessenen Plasmakreatininwerte bewegten sich alle im Normbereich [182-183]. Nach Relativierung der Plasmakreatininwerte zum Körpergewicht zeigte sich

allerdings eine Erhöhung der meisten CHI-Gruppen über dem Niveau der ShamPlacebogruppe, jedoch statistisch nicht signifikant. Lediglich bei der Megace®ES-Gruppe mit den höchsten Plasmakreatininwerten insgesamt kann mit einer 27,3-prozentigen Erhöhung über dem Niveau der ShamPlacebogruppe von einem Trend gesprochen werden.

Für die Furosemidgruppe konnte keine Erhöhung der Plasmakreatininwerte gegenüber der ShamPlacebogruppe aufgezeigt werden. Somit kann bei der hier applizierte Dosis und Dauer von Furosemid, bei bekanntem Zusammenhang einer erhöhten Kreatininkonzentration und WRF [71], nicht auf eine WRF geschlossen werden.

Die Megace®ES-Gruppe ist weiterhin dahingehend auffällig, dass sie sich signifikant erhöht von ihrer Shamvergleichsgruppe unterscheidet (1,3-fach) als auch tendenziell erhöht von der Furosemidgruppe (1,3-fach) und der Megace®-Gruppe (1,2-fach).

Dies lässt vermuten, dass bei vorliegender CHI ein anderer Wirkmechanismus oder Wirkungsort zwischen den beiden Megestrolformen besteht, der möglicherweise auch durch Furosemid beeinflusst wird. Eine Störung der Nierenfunktion ist hier nicht sicher auszuschließen.

Erwähnt werden muss in diesem Zusammenhang auch die Beobachtung eines unterschiedlichen Verlaufs der beiden Megestrolgruppen in der Gewichtsentwicklung nach Therapieende in der Tierversuchsstudie von S. Straßburg [171]. Der erhöhte Kreatininwert könnte sich zwar durch die verbesserte Leistungsfähigkeit (LVEF) und damit möglicherweise durch eine erhöhte Muskelmasse erklären lassen. Die Tatsache der signifikant erhöhten Plasmakreatininspiegel der Megace®ES-Gruppe gegenüber der Shamvergleichsgruppe als auch die signifikant verringerten Körpergewichte der Megace®ES- bzw. Megace®-Gruppe ($p=0,0001/p=0,018$) [171] gegenüber der Furosemidgruppe suggerieren aber einen eher pathologischen Prozess.

4.2.4 Kreatinin-Clearance

Bei der Bewertung der Nierenfunktion detektieren die zuvor genannten Parameter erst sehr spät bzw. nur bedingt Veränderungen der Nierenfunktion. Die Kreatinin-Clearance

reflektiert dagegen schon eher pathologische Werte und zeigt so frühzeitig den Beginn einer eingeschränkten Nierenfunktion an [201].

Da sich nach Berücksichtigung des Körpergewichts bei der Auswertung der Kreatinin-Clearance-Ergebnisse weder in den CHI-Gruppen, den Shamgruppen noch in den Gruppen untereinander signifikante Unterschiede zeigten, können nachfolgende Aussagen nur einen vermuteten Trend darstellen.

Bezüglich der Furosemidgruppe bedeutet dies hingegen, dass hier ein negativer Effekt einer Behandlung der CHI mit Furosemid in der hier verabreichten Dosis und Applikationsdauer zu keiner Einschränkung der Nierenfunktion führte. Gleiches gilt für die Placebogruppe. Zwar zeigte sich die Kreatinin-Clearance mit 60,1 Prozent gegenüber der ShamPlacebogruppe als tendenziell verringert, bei normalen Kreatininwerten und statistisch unauffälligen Diuresewerten kann für diese Gruppe aber hier ebenfalls keine Funktionsstörung der Niere manifestiert werden, wie sie in zahlreichen anderen Studien nachgewiesen wurde [70-73, 78, 81].

Die erhöhte Mortalität unter Furosemidtherapie bei CHI kann bei den hier untersuchten Ratten [171] somit nicht durch eine Funktionseinschränkung der Niere erklärt werden. Vielmehr zeigten die Ergebnisse eher positive Tendenzen bezüglich der Nierenfunktion an, wie sich auch in anderen Studien positive Effekte auf renale Hämodynamik [186, 187] und somit auf das kardiale Remodeling fanden [196].

Bei der Betrachtung der Megestrolgruppen ergibt sich folgendes Bild und nachfolgende Schlussfolgerungen:

Unter einer Therapie von Megace®ES und Furosemid bei CHI kommt es zu keiner nennenswerten Einschränkung der Kreatinin-Clearance. Tendenziell erscheint hier die Kreatinin-Clearance der Megace®ES-Gruppe jedoch unter dem Niveau der ShamMegace®ES-Gruppe.

Ohne Furosemid und bei scheinbar gesunden Ratten präsentierte die ShamMegace®ES-Gruppe die höchsten Werte in der Kreatinin-Clearance insgesamt. Da dies jedoch keinen statistischen Unterschied zur ShamPlacebogruppe darstellte, muss hier von einer intakten Nierenfunktion ausgegangen werden. Dennoch zeigte die Applikation von Megace®ES bei shamoperierten Tieren eine tendenzielle Einschränkung der Diurese bei einem signifikanten Verlust von Kreatinin im Urin. Schlussfolgernd kann sich hier durchaus eine Funktionsstörung der Niere anbahnen.

Bei Bestehen einer CHI kann unter Applikation von Megace®ES in Kombination mit Furosemid möglicherweise eine Nierenfunktionsstörung vorliegen. Die Tendenz einer verringerten Kreatinin-Clearance der Megace®ES-Gruppe gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe im Zusammenhang mit einer tendenziell eingeschränkten Diurese ($p=0,053$ vs. ShamPlacebo), bei ebenfalls tendenziell erhöhtem Plasmakreatinin und signifikant erhöhter Kreatininexkretion lässt hier auf eine beginnende „Dekompensation“ der Nierenfunktion schließen.

Im Gegensatz dazu zeigte die Applikation von Megace® weder bei der shamoperierten Gruppe noch bei der CHI-Gruppe unter zusätzlicher Furosemidtherapie eine Einschränkung der Kreatinin-Clearance. Die tendenziell erniedrigten Werte der ShamMegace®-Gruppe gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe lassen sich bei den CHI-Tieren nicht nachweisen. Bei unauffälligen Plasmakreatininwerten unter Megace® kommt es aber zu signifikant erhöhten Urinkreatininwerten bei CHI und unter zusätzlicher Furosemidtherapie gegenüber der ShamPlacebogruppe. Der hier signifikante Kreatininverlust bei ebenfalls signifikant verringerter Diurese (im Vergleich zur ShamPlacebogruppe) unter CHI und Furosemidtherapie impliziert hier eher die Interaktion mit der Furosemidtherapie als Ursache und keine negativen Auswirkung von Megace® auf die Nierenfunktion.

Deutlich wird an dieser Stelle, dass sich die beiden Applikationsformen von Megestrol Acetat in ihrer Wirkungsweise voneinander unterscheiden. Nachfolgend ist zu prüfen, ob sich diese Schlussfolgerungen auch auf die Ergebnisse der Analyse der Nierenstrukturen übertragen lassen und sich dort Hinweise auf den Ort der unterschiedlichen Einflussnahme finden lassen. Zwar wird in verschiedenen Studien ein positiver Einfluss von Megestrol Acetat auf die Entwicklung der Grundkrankheit, wie z.B. der kardialen Kachexie beschrieben [202-204], eine direkte Einflussnahme auf die Nierenfunktion und -struktur ist bisher jedoch nicht untersucht worden.

4.2.5 Albumin-Kreatinin-Quotient

Mit dem Albumin-Kreatinin-Quotienten besitzt man einen Diagnostikparameter, der relativ unkompliziert eine Mikroalbuminurie nachweisen kann. Erhöhte Werte gelten als

unabhängiger Risikofaktor für renale und kardiovaskuläre Komplikationen [205-208]. Durch die Hinzunahme der Kreatininkonzentration wird die entsprechende Diurese mit berücksichtigt.

Erhöhte Werte fanden sich im Vergleich mit der ShamPlacebogruppe ausschließlich bei der ShamMegace®ES-Gruppe als tendenzielle Steigerung um 73 Prozent.

Da die Werte zwischen der ShamMegace®ES-Gruppe und Megace®ES-Gruppe sich signifikant um das 3,2-fache unterschieden, scheint sich die zuvor geäußerte Vermutung einer negativen Wirkung von Megace®ES an gesunden Nieren zu bestätigen.

Ebenfalls Erwähnung finden sollte der signifikant geringere Albumin-Kreatinin-Quotient der Furosemidgruppe gegenüber der ShamMegace®ES-Gruppe.

Die Auswertung der CHI-Gruppen lieferte jedoch keinen Hinweis einer schädigenden oder einschränkenden Wirkung bei vorliegender CHI, weder mit noch ohne Therapie. Zwar spiegeln sich hier die postulierten Aussagen bezüglich der Albuminexkretion wider, ohne statistische Signifikanz bleibt der um 39,1 Prozent erniedrigte Albumin-Kreatinin-Quotient der Furosemidgruppe und der um 48,8 Prozent reduzierte Albumin-Kreatinin-Quotient der Megace®ES-Gruppe gegenüber der Placebogruppe ohne weitreichende Relevanz.

4.3 Histologie

4.3.1 Interstitielle Fibrose

Kompensatorische Regelmechanismen einer CHI, wie z.B. die Aktivierung des RAAS, resultieren u.a. in veränderter Hämodynamik, Vasokonstriktion und nachfolgender Hypoxie [209]. Verbunden mit weiteren neurohumeralen Prozessen führt dies zu einer Überaktivierung von Adhäsionsmolekülen und einer Infiltration von inflammatorischen Zellen mit profibrotischer Wirkung [209, 210]. Die Progression der interstitiellen Fibrose der Niere ist mit einer WRF assoziiert und bedingt somit eine erhöhte Morbidität und Mortalität.

In mehreren Studien [74, 89, 93-94, 196, 211-212] konnte gezeigt werden, dass die Applikation von Furosemid eine erhöhte RAAS-Aktivierung induziert. Insbesondere eine erhöhte Renin-Aktivität [211] kann somit im Zusammenhang einer erhöhten Morbidität und Mortalität unter Furosemidtherapie gesehen werden.

In der vorliegenden Arbeit konnten unter statistischen Gesichtspunkten keine gruppenspezifischen Unterschiede detektiert werden. In der Gesamtbetrachtung aller Gruppen zeigten sich die Mittelwerte der Placebogruppe jedoch mit dem höchsten Grad an interstitieller Fibrosierung. Aufgrund fehlender signifikanter Unterschiede zur ShamPlacebogruppe lässt sich dies nur spekulativ auf eine negative Interaktion der CHI zurückführen, wie sie in einigen Studien beschrieben wurde [209-210].

Die niedrigsten Fibroseanzeichen insgesamt fanden sich im Gegensatz dazu in der Furosemidgruppe. Der um 53,1 Prozent signifikant reduzierte Wert gegenüber der Placebogruppe schließt somit eine Schädigung von Furosemid auf der interstitiellen Ebene hier aus. Die deutlich tendenzielle Erniedrigung der interstitiellen Fibrose der Furosemidgruppe (52,4 %) im Vergleich mit der ShamPlacebogruppe unterstützt diese Aussage. Auch in anderen Studien wurde eine verbesserte Hämodynamik durch Furosemid beschrieben [186], die trotz RAAS-Aktivierung nicht zu einer erhöhten interstitiellen Fibrose führte [186, 213-214]. Ursächlich für diese Beobachtungen sind möglicherweise die vorübergehenden positiven Auswirkungen einer verbesserten Hämodynamik. Dies wiederum ist in Abhängigkeit von der Dauer und Dosis der Furosemidapplikation als auch dem Stadium einer CHI zu sehen. Ob die erhöhte Mortalität unter Furosemid in der Arbeit von S. Straßburg [171] einem fortgeschrittenen Stadium der CHI und anderen Mechanismen [83, 87, 91] geschuldet ist, lässt sich auf Grund des Studiendesigns und des Ausschlusses der verstorbenen Tiere nicht ermitteln. Die hier vorliegende geringere Ausprägung einer interstitiellen Fibrosierung und damit offensichtlichen Verlangsamung altersspezifischer als auch krankheitsbedingter Veränderungen an der Niere unter Furosemid stehen im deutlichen Kontrast mit der Annahme einer verstärkten Nierenschädigung unter Furosemidlangzeittherapie [70-73, 78, 81]. Trotz einer nachweislichen Herzinsuffizienz [171] gibt es somit keinen Anhalt einer interstitiellen Nierenschädigung durch Furosemid in der vorliegenden Applikation bei dieser Pathologie. Vielmehr sind hier Hinweise auf eine Nierenprotektion auf interstitieller Ebene in diesem Zusammenhang gegeben.

Bei den Gruppen, die zusätzlich oder ausschließlich mit Megestrol Acetat behandelt wurden, zeigte sich kein Einfluss dieser Substanzen alleine oder in Kombination mit Furosemid auf gesunde bzw. durch CHI geschädigte Rattennieren. Sicherlich könnte der deutlich positive Effekt von Furosemid negatives Wirkungspotential einer Megestrol®-Therapie bei vorliegender CHI kompensieren. Das gewählte Studiendesign lässt eine solche Aussage allerdings nicht zu. Ein in der Literatur beschriebener antiinflammatorischer Effekt durch verringerte Plasmalevel an Zytokinen [101, 108, 122, 158] und somit eine antifibrotische Auswirkung auf den interstitiellen Fibrosegrad konnte hier nicht nachgewiesen werden.

4.3.2 Media-Lumen-Ratio

Mittels der Media-Lumen-Ratio kann eine Aussage getroffen werden über pathologische Auswirkungen an der arteriellen Gefäßwand. Ein erhöhter Quotient in der Media-Lumen-Ratio und damit eine Gefäßeinengung bedeutet eine dem Gefäß nachgeschaltete Minderperfusion. Hieraus resultiert eine herabgesetzte Versorgung des beteiligten Gewebes bis zum Gewebsuntergang. Andererseits führt eine Minderversorgung der Niere zur Aktivierung verschiedener Mechanismen, z.B. Aktivierung des RAAS, mit wiederum nachfolgender regulatorischer Engstellung der Gefäße [209].

Bezüglich der Media-Lumen-Ratio stellten sich die Gruppen weitestgehend homogen dar. Ein Unterschied innerhalb der Gruppen konnte statistisch nicht gezeigt werden.

Im Gesamtbild fand sich allerdings der niedrigste Ratiowert in der Furosemidgruppe, der höchste Wert in der ShamPlacebogruppe. Die um 17,5 Prozent verringerte Media-Lumen-Ratio der Furosemidgruppe war statistisch signifikant. Innerhalb der CHI-Gruppen präsentierte die Placebogruppe die höchsten Ratio-Werte, allerdings nicht signifikant.

Die Aktivierung des RAAS unter Furosemidapplikation, wie beschrieben in verschiedenen Arbeiten [74, 89, 93-94, 196, 211-212, 215-216], und damit die Verschlechterung einer CHI und WRF [212, 217] zeigte in dieser Arbeit weder negative Auswirkungen auf die interstitielle Nierenstruktur noch auf die intrarenalen arteriellen

Gefäße. Folgen einer Hypertension, peripherer Gegenregulation bei Low-output-failure, Hypoxie, Aktivierung proinflammatorischer oder fibrotischer Mechanismen sind im vorliegenden Fall insgesamt an den Nierengefäßen nicht nachweisbar. Eher zeichnete sich hier die Verlangsamung pathologischer Prozesse an diesen Strukturen unter Furosemid bei vorliegender CHI ab und dies offensichtlich über das Maß „gesunder Rattennieren“ hinaus. Als ursächlich muss hier, in Anlehnung an andere Arbeiten [186-187, 214], die vorübergehende verbesserte Hämodynamik mit Verringerung von ischämischen Auswirkungen, verbessertem Remodeling, verbesserter Reperfusion und möglicherweise noch unbekanntem Wirkungsmechanismen von Furosemid angesehen werden.

Die zusätzliche Applikation von Megestrol Acetat kann hier weder als nachteilig noch als positiv beschrieben werden. Somit lässt sich hier kein struktureller Anhalt für eine antiinflammatorische Wirkung durch diese Substanzen nachweisen. Die vermutete negative Wirkung von Megace®ES an „gesunden“ Rattennieren kann hier nicht bestätigt werden. Bezüglich der CHI-Tiere reicht das Studiendesign, wie zuvor beschrieben, nicht aus, um weitreichende Aussagen zu treffen.

4.3.3 Glomerulosklerose

Die beobachtete erhöhte Mortalität der Ratten unter alleiniger Furosemidtherapie in der Studie von S. Straßburg [171] hätte vermuten lassen, dass sich dies in einer pathologisch veränderten Nierenstruktur widerspiegelt. Die bisher diskutierten Ergebnisse zeigten jedoch in deutlicher Häufung eher Hinweise auf eine nierenprotektive Wirkung der verwendeten Furosemidapplikation und -dauer. Bei einer verringerten interstitiellen Fibrose, nicht nachgewiesener Lumeneinengung bzw. Mediahypertrophie der arteriellen Nierengefäße und unauffälliger Kreatinin-Clearance ist kein negativer Einfluss auf die Nierenstruktur gefunden worden und damit eine erhöhte Glomerulosklerose nicht zu erwarten.

Tatsächlich zeigten die Ergebnisse der PAS-Färbung aber eine signifikante Erhöhung der Glomeruloskleroseindizes der Furosemidgruppe im Vergleich zur Placebogruppe.

Zu erklären wäre dieses Ergebnis u.a. mit der Annahme einer Aktivierung des RAAS [74, 89, 93-94, 196, 211-212, 215-216] und im speziellen mit der stimulierenden Wirkung von Angiotensin II auf die Synthese extrazellulärer Matrixproteine in mesangialen Zellen, wie sie in anderen Arbeiten beschrieben wurde [92, 215-216]. Diese Zellen werden als Hauptursache bei der Glomerulosklerose angesehen [218].

Überraschenderweise zeigte die Placebogruppe den niedrigsten Grad an Glomerulosklerose innerhalb der CHI-Gruppen an, als auch insgesamt. Das erhöhte Outcome dieser Gruppe im Vergleich mit der Furosemidgruppe in dem Tierexperiment von S. Straßburg [171] könnte sich damit erklären lassen.

Zeigten die Ergebnisse der Shamgruppen in den Glomeruloskleroseindizes ein in sich homogenes Bild, so ist die signifikante Erniedrigung der Ergebnisse der Placebogruppe gegenüber der ShamPlacebogruppe als deutliches Indiz einer tatsächlich verringerten glomerulären Schädigung unter CHI und ohne Furosemid zu werten. Im Gegenzug muss dann postuliert werden, dass eine Furosemidtherapie und insbesondere eine zusätzliche Applikation von Megestrol Acetat zu einer signifikanten sklerotischen Veränderung an den Glomeruli der Ratten führt. Hierbei scheint die Form von Megace®ES, als Gruppe mit den höchsten Indizes der Glomerulosklerose insgesamt, mit einem zusätzlichen Handicap belegt zu sein.

Zwar zeigten sich die erhöhten Werte aller mit Furosemid behandelten Tiere im Vergleich mit den Shamgruppen als nicht signifikant, die erhöhten Indizes der Megestrol-Acetat-Gruppen gegenüber der Placebogruppe lassen aber einen alleinigen negativen Effekt von Megestrol Acetat bei CHI unter Furosemidapplikation an den Glomeruli vermuten. Zumindest muss davon ausgegangen werden, dass bezüglich der oben erwähnten Aktivierung des RAAS diese nicht durch Megestrol Acetat in seinen beiden hier applizierten Formen unterbunden wird.

Hier wird auch deutlich, dass Megestrol Acetat bei CHI bzw. CHI unter Furosemidtherapie einen anderen Regelmechanismus und ein anderes Wirkungsverhalten an der Niere zeigt. Insbesondere lassen sich hier bei der Applikation von Megace®ES auffällig negative Tendenzen auf der glomerulären als auch auf der interstitiellen Ebene aufzeigen. Bezüglich der Furosemidgruppe und der Placebogruppe zeigte sich hingegen ein negativer Einfluss nur auf einer der beiden Ebenen. Ergab eine Furosemidapplikation unter CHI eine deutlich vermehrte Glomerulosklerose bei deutlich

reduzierter interstitieller Fibrose, scheint die CHI bei der Placebogruppe die Glomerulosklerose zu reduzieren bei deutlich erhöhter interstitieller Fibrose.

Die CHI führte hier unter den bekannten kompensatorischen Regelmechanismen [209] zu beginnenden pathologischen Veränderungen der Niere bzw. der Nierenfunktion. Davon definitiv nicht betroffen sind in dieser Untersuchung die Glomeruli.

Die hier applizierte Dosis und Dauer der Furosemidtherapie führte zu einer Erhöhung des Nierengewichtes. Im Vergleich mit anderen Arbeiten kann die Ursache möglicherweise in einer beginnenden Nephrocalcinose [190] oder einer renalen, kortikalen und glomerulären Hypertrophie gesehen werden [214].

Eine sich hier manifestierende erhöhte Glomerulosklerose unter Furosemidtherapie bei CHI ist demnach mit diesen Beobachtungen assoziierbar. Die neurohumorale Aktivierung und insbesondere die häufig beschriebene RAAS-Aktivierung unter Furosemid [74, 89, 93-94, 196, 211-212, 215-216, 218], führt demnach zur Unterbrechung der glomerulären-tubulären Kontinuität, zur Aktivierung von Myofibroblasten, Upregulation von Chemokinen und Adhäsionsmolekülen mit nachfolgenden Kollagenablagerungen und somit zu glomerulosklerotischen Prozessen und glomerulärer Hypertrophie [210, 214]. Die verbesserte Hämodynamik unter Furosemid [186-187, 214] scheint hier verantwortlich für die unauffälligen Daten bezüglich der interstitiellen Fibrose [214] und der arteriellen Gefäße der Niere zu sein. Die negativen Folgen einer Furosemidlangzeittherapie mit verstärkter Glomerulosklerose überwiegen jedoch die positiven Folgen der verbesserten Hämodynamik.

Da die Applikation von Megestrol Acetat hier ebenfalls zu pathologischen Veränderungen an der Niere führte, die Überlebenszeit der Megestrol-Acetat-Gruppen als auch der Placebogruppe hingegen deutlich gegenüber der Furosemidgruppe erhöht war, ist hier von einem veränderten Mechanismus bei CHI unter der Kombination einer Furosemid- und Megestrol®-Therapie auszugehen, deren Ursache und Wirkung möglicherweise im Zusammenhang mit einer verbesserten Situation der kardialen Kachexie stehen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Eine Verschlechterung der Nierenfunktion unter CHI ist mit einer rapiden Progression der Erkrankung und erhöhten Mortalität verbunden. Verschiedene Studien belegen einen Zusammenhang von Diuretikaapplikation, WRF und erhöhter Mortalität [70-73, 78, 81]. Die weitere Aufklärung dieser Zusammenhänge ist von besonderem Interesse vor dem Hintergrund des Avancierens der CHI zur Todesursache Nummer Eins weltweit.

In dem Tierexperiment von S. Straßburg [171] zeigte sich eine erhöhte Mortalität der Ratten unter Furosemidtherapie bei durch LAD-Ligatur induzierter CHI im Vergleich zu einer Placebogruppe ($p=0,028$). Pathologische Veränderungen an den Rattennieren wurden als Ursache der erhöhten Mortalität vermutet. Zur Überprüfung dieser Hypothese fokussierte sich die vorliegende Arbeit auf die histochemische und laborchemische Analyse der Nierenstruktur und -funktion überlebender Ratten der Tierversuchsstudie von S. Straßburg [171].

Das ursprüngliche Studiendesign, eine Mortalitätsprüfung von Megestrol Acetat bei kardialer Kachexie, zeigte hingegen ein verbessertes Überleben und eine verbesserte LVEF, insbesondere unter Megace®ES. Durch die vorliegende Daten- und Tiermateriallage aus der Arbeit von S. Straßburg [171] konnte erstmals ein möglicher Therapieeinsatz von Megestrol Acetat bei kardialer Kachexie und kardiorenalem Syndrom im Zusammenhang analysiert werden.

Das vorliegende Studiendesign und die reduzierte Materiallage auf Grund der verstorbenen Tiere, stellen einen Bias dar und reduzieren die Aussagekraft dieser Arbeit.

Unter der hier induzierten CHI entwickelten die Ratten ein verringertes relatives Nierengewicht. Bei erhöhter renaler interstitieller Fibrose, jedoch reduzierter Glomerulosklerose und unauffälligem arteriellen Nierengefäßstatus konnten keine Auswirkungen der CHI auf die Nierenfunktion aufgezeigt werden. Bezüglich der Diuresewerte und Kreatinin-Clearance fand sich allenfalls eine tendenzielle Verringerung. Die laborchemischen Parameter lagen im Normbereich.

Die Applikation von Furosemid bei hier induzierter CHI führte zu vermehrter Glomerulosklerose, möglicherweise assoziiert mit erhöhtem Nierengewicht. Somit bestätigt sich hier eine stimulierende Wirkung von Renin und/oder Angiotensin II unter

einer Furosemidtherapie [215, 216, 218]. Bei offensichtlich nierenprotektiver Wirkung hinsichtlich der interstitiellen Fibrose und des intrarenalen Gefäßstatus ohne Nachweis negativer Auswirkungen auf die Nierenfunktion oder auf die untersuchten laborchemischen Parameter, scheint dies als alleinige Ursache einer erhöhten Mortalität der Ratten unter Furosemid [174] fraglich zu sein.

Eine zusätzliche Therapie der CHI mit Megestrol Acetat führte auf struktureller Ebene zu deutlich erhöhten Werten der Glomerulosklerose bei ebenfalls erhöhtem Nierengewicht. Der Grad der interstitiellen Fibrose als auch der arterielle Nierengefäßstatus blieben hingegen unbeeinflusst. Bei Betrachtung der Nierenfunktionsparameter zeigten sich Hinweise einer Beeinträchtigung der Nierenfunktion anhand verringerter Diuresewerte und erhöhtem Plasmakreatiningehaltes. Die unterschiedliche Wirkungsweise von Megace® und Megace®ES mit zum Teil gegensätzlichen Tendenzen sowohl untereinander als auch im Vergleich mit den Kontroll- bzw. Shamgruppen zeigte sich insbesondere in einer deutlich erhöhten Albumin- und Kreatininexkretion der Shamtiere unter Megace®ES. In den berechneten Nierenparametern Kreatinin-Clearance und Albumin-Kreatinin-Quotient zeigten sich ebenfalls Tendenzen erhöhter Werte unter Megace®ES-Einfluss. Als ursächlich muss hier ein veränderter Pathomechanismus bei vorliegender CHI sowie eine Interaktion mit Furosemid angenommen werden.

Die vermutete antiinflammatorische Wirkung, die zu einer verbesserten Herzfunktion und verbessertem Überleben unter Megestrol Acetat geführt haben sollen, konnte an der Niere nicht nachgewiesen werden.

Fazit

Trotz einer dringenden Notwendigkeit eines verbesserten Behandlungskonzepts der CHI und einer kritischen Beurteilung einer Furosemidtherapie zeigt diese Arbeit einen großen Bedarf an weiterer Aufklärung der Pathomechanismen einer CHI und deren Therapie. Eine sich im Verlauf einer CHI entwickelnde kardiale Kachexie ist im Zusammenhang mit dem CRS zu betrachten und zu therapieren. Der Einsatz von Megestrol Acetat bei kardialer Kachexie ist hier als nicht unbedenklich einzustufen, da dies zwar die Herzfunktion verbessert aber zu nachteiligen Entwicklungen an der Niere führte. Weitere Untersuchungen mit einem erweiterten Spektrum an relevanten Parametern und einem veränderten Studiendesign sind hierzu notwendig.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Bauriedel G, Skowasch D, Lüderitz B. Die chronische Herzinsuffizienz-Zertifizierte medizinische Fortbildung. Deutsches Ärzteblatt. 2005 März; A 592-666(102): 592-600.
- [2] Levy D, Kenchaiah S, Larson MG, et al. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. N Engl J Med. 2002 Oct 31; 347(18):1397-402.
- [3] Lloyd-Jones DM, Larson MG, Leip EP, et al. Lifetime risk for developing congestive heart failure: the Framingham Heart Study patent 1524-4539 (Electronic). 2002 Dec 10.
- [4] Cohen N, Gorelik O, Almozni-Sarafian D, et al. Renal dysfunction in congestive heart failure, pathophysiological and prognostic significance. Clin Nephrol. 2004 Mar; 61(3):177-84.
- [5] Conraads VM, Bosmans JM, Vrints CJ. Chronic heart failure: an example of a systemic chronic inflammatory disease resulting in cachexia. Int J Cardiol. 2002 Sep; 85(1):33-49.
- [6] von Haehling S, Lainscak M, Springer J, Anker SD. Cardiac cachexia: a systematic overview. Pharmacol Ther. 2009 Mar; 121(3):227-52.
- [7] Shlipak MG, Massie BM. The clinical challenge of cardiorenal syndrome. Circulation. 2004 Sep 21; 110(12):1514-7.
- [8] Herold, ed. Innere Medizin 2011. Köln 2010: 201-216
- [9] Hoppe U, E E. Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. Der Kardiologe. 2001; 90:218-37.
- [10] R.H. Strasser, D. Andresen FdH, G. Ertl, et al. Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. German Cardiac Society. Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie-Herz- und Kreislaufforschung e.V. 2005.
- [11] WHO. Physician Guidelines (for GPs) designed to be translated and distributed worldwide to primary care physicians. 1995.
- [12] Neumann DmT. Zweitätiges kardiologisches Symposium zur Herzschwäche im Ruhrgebiet/Herzzentren aus Bochum, Duisburg, Essen und Wuppertal als Ausrichter. Essen 19.Oktober 2006, Dr. med Till Neumann, Klinik für Kardiologie am Westdeutschen Herzzentrum Essen, Universitätsklinikum Essen, Herausgeber Universitätsklinikum Essen. 2006.

- [13] D'Agostino RB, Kannel WB, Belanger AJ, Sytkowski PA. Trends in CHD and risk factors at age 55-64 in the Framingham Study. *Int J Epidemiol.*1989; 18 (3 Suppl 1):S67-72.
- [14] McMurray JJ, Stewart S. Epidemiology, Aetiology and Prognosis of heart failure. *Heart.* 2000 May; 83(5):596-602.
- [15] Hogg K, Swedberg K, McMurray J. Heart failure with preserved left ventricular systolic function; Epidemiology, clinical characteristics, and prognosis. *J Am Coll Cardiol.* 2004 Feb 4;43(3):317-27.
- [16] Roger VL, Weston SA, Redfield MM, et al. Trends in heart failure incidence and survival in a community-based population. *Jama.* 2004 Jul 21; 292(3):344-50.
- [17] Yusuf S, Pitt B. A lifetime of prevention: the case of heart failure. *Circulation.* 2002 Dec 10;106(24):2997-8.
- [18] Statistisches Bundesamt. Todesursachen 2010. <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Todesursachen>.
- [19] Group TCTS. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). The CONSENSUS Trial Study Group. *N Engl J Med.* 1987 Jun 4;316(23):1429-35.
- [20] The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med.* 1991 Aug 1; 325(5):293-302.
- [21] Narang R, Cleland JG, Erhardt L, et al. Mode of death in chronic heart failure. A request and proposition for more accurate classification. *Eur Heart J.* 1996 Sep;17(9):1390-403.
- [22] Riabenko DV. Survival and risk factors in patients with chronic cardiac insufficiency (results of a long-term prospective observation). *Lik Sprava.* 2001 Jan-Feb(1):67-70.
- [23] Bouvy ML, Heerdink ER, Leufkens HG, Hoes AW. Predicting mortality in patients with heart failure: a pragmatic approach. *Heart.* 2003 Jun; 89(6):605-9.
- [24] Gottdiener JS, McClelland RL, Marshall R, et al. Outcome of congestive heart failure in elderly persons: influence of left ventricular systolic function. The Cardiovascular Health Study. *Ann Intern Med.* 2002 Oct 15; 137(8):631-9.

- [25] Gustafsson F, Torp-Pedersen C, Brendorp B, Seibaek M, Burchardt H, Kober L. Long-term survival in patients hospitalized with congestive heart failure: relation to preserved and reduced left ventricular systolic function. *Eur Heart J*. 2003 May; 24(9):863-70.
- [26] Vasan RS, Larson MG, Benjamin EJ, Evans JC, Reiss CK, Levy D. Congestive heart failure in subjects with normal versus reduced left ventricular ejection fraction: prevalence and mortality in a population-based cohort. *J Am Coll Cardiol*. 1999 Jun; 33(7):1948-55.
- [27] Cohn JN, Johnson G, Ziesche S, et al. A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure. *N Engl J Med*. 1991 Aug 1; 325(5):303-10.
- [28] Baker DW, Einstadter D, Thomas C, Cebul RD. Mortality trends for 23,505 Medicare patients hospitalized with heart failure in Northeast Ohio, 1991 to 1997. *Am Heart J*. 2003 Aug; 146(2):258-64.
- [29] Polanczyk CA, Rohde LE, Dec GW, DiSalvo T. Ten-year trends in hospital care for congestive heart failure: improved outcomes and increased use of resources. *Arch Intern Med*. 2000 Feb 14; 160(3):325-32.
- [30] Ho KK, Anderson KM, Kannel WB, Grossman W, Levy D. Survival after the onset of congestive heart failure in Framingham Heart Study subjects. *Circulation*. 1993 Jul; 88(1):107-15.
- [31] Cleland JG, Swedberg K, Follath F, et al. The EuroHeart Failure survey programme - a survey on the quality of care among patients with heart failure in Europe. Part 1: patient characteristics and diagnosis. *Eur Heart J*. 2003 Mar; 24(5):442-63.
- [32] Gandhi SK, Powers JC, Nomeir AM, et al. The pathogenesis of acute pulmonary edema associated with hypertension. *N Engl J Med*. 2001 Jan 4; 344(1):17-22.
- [33] McDonagh TA, Morrison CE, Lawrence A, et al. Symptomatic and asymptomatic left-ventricular systolic dysfunction in an urban population. *Lancet*. 1997 Sep 20; 350(9081):829-33.
- [34] Senni M, Redfield MM. Heart failure with preserved systolic function. A different natural history? *J Am Coll Cardiol*. 2001 Nov 1; 38(5):1277-82.

- [35] Vasan RS, Benjamin EJ, Levy D. Prevalence, clinical features and prognosis of diastolic heart failure: an epidemiologic perspective. *J Am Coll Cardiol*. 1995 Dec; 26(7):1565-74.
- [36] Faris R, Flather MD, Purcell H, Poole-Wilson PA, Coats AJ. Diuretics for heart failure. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006(1):CD003838.
- [37] Anand IS, Fisher LD, Chiang YT, et al. Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Circulation*. 2003 Mar 11; 107(9):1278-83.
- [38] Benedict CR, Johnstone DE, Weiner DH, et al. Relation of neurohumoral activation to clinical variables and degree of ventricular dysfunction: a report from the Registry of Studies of Left Ventricular Dysfunction. SOLVD Investigators. *J Am Coll Cardiol*. 1994 May; 23(6):1410-20.
- [39] Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, et al. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med*. 1984 Sep 27; 311(13):819-23.
- [40] Francis GS, Goldsmith SR, Levine TB, Olivari MT, Cohn JN. The neurohumoral axis in congestive heart failure. *Ann Intern Med*. 1984 Sep; 101(3):370-7.
- [41] Dzau VJ. Renal and circulatory mechanisms in congestive heart failure. *Kidney Int*. 1987 Jun; 31(6):1402-15.
- [42] Sigurdsson A, Amtorp O, Gundersen T, Nilsson B, Remes J, Swedberg K. Neurohormonal activation in patients with mild or moderately severe congestive heart failure and effects of ramipril. The Ramipril Trial Study Group. *Br Heart J*. 1994 Nov; 72(5):422-7.
- [43] Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Mar 1; 35(3):569-82.
- [44] Communal C, Singh K, Pimentel DR, Colucci WS. Norepinephrine stimulates apoptosis in adult rat ventricular myocytes by activation of the beta-adrenergic pathway. *Circulation*. 1998 Sep 29; 98(13):1329-34.
- [45] Tan LB, Jalil JE, Pick R, Janicki JS, Weber KT. Cardiac myocyte necrosis induced by angiotensin II. *Circ Res*. 1991 Nov; 69(5):1185-95.

- [46] Remme WJ, Swedberg K. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2001 Sep; 22(17):1527-60.
- [47] Rihal CS, Davis KB, Kennedy JW, Gersh BJ. The utility of clinical, electrocardiographic, and roentgenographic variables in the prediction of left ventricular function. *Am J Cardiol*. 1995 Feb 1; 75(4):220-3.
- [48] Hunt SA, Baker DW, Chin MH, et al. ACC/AHA Guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: executive summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure). *J Am Coll Cardiol*. 2001 Dec; 38(7):2101-13.
- [49] Redfield MM. Understanding "diastolic" heart failure. *N Engl J Med*. 2004 May 6; 350(19):1930-1.
- [50] Zile MR, Baicu CF, Gaasch WH. Diastolic heart failure-abnormalities in active relaxation and passive stiffness of the left ventricle. *N Engl J Med*. 2004 May 6; 350(19):1953-9.
- [51] Mueller C, Laule-Kilian K, Scholer A, et al. Use of B-type natriuretic peptide for the management of women with dyspnea. *Am J Cardiol*. 2004 Dec 15; 94(12):1510-4.
- [52] Luchner A, Holmer S, Schunkert H, GA R. Bedeutung der Herzinsuffizienzmarker BNP und NTproBNP für die Klinik. *Deutsches Ärzteblatt*. 2004; 100(Heft 50): A 3314-21.
- [53] de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet*. 2003 Jul 26; 362(9380):316-22.
- [54] Packer M. Should B-type natriuretic peptide be measured routinely to guide the diagnosis and management of chronic heart failure? *Circulation*. 2003 Dec 16; 108(24):2950-3.
- [55] Rodeheffer RJ. Measuring plasma B-type natriuretic peptide in heart failure: good to go in 2004 *J Am Coll Cardiol*. 2004 Aug 18; 44(4):740-9.
- [56] Hunt SA, Baker DW, Chin MH, et al. ACC/AHA Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): Developed in Collaboration With

- the International Society for Heart and Lung Transplantation; Endorsed by the Heart Failure Society of America. *Circulation*. 2001 Dec 11; 104(24):2996-3007.
- [57] Yusuf S, Pfeffer MA, Swedberg K, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and preserved left-ventricular ejection fraction: the CHARM-Preserved Trial. *Lancet*. 2003 Sep 6; 362(9386):777-81.
- [58] Hillege H, Van Gilst W, de Zeeuw D, van Veldhuisen DJ. Renal function as a predictor of prognosis in chronic heart failure. *Heart Fail Monit*. 2002; 2(3):78-84.
- [59] Hillege HL, Girbes AR, de Kam PJ, et al. Renal function, neurohormonal activation, and survival in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2000 Jul 11; 102(2):203-10.
- [60] Cauthen CA, Lipinski MJ, Abbate A, et al. Relation of blood urea nitrogen to long-term mortality in patients with heart failure. *Am J Cardiol*. 2008 Jun 1; 101(11):1643-7.
- [61] Portoles Perez J, Cuevas Bou X. Cardiorenal syndrome. *Nefrologia*. 2008; 28 Suppl 3:29-32.
- [62] Heywood JT. The cardiorenal syndrome: lessons from the ADHERE database and treatment options. *Heart Fail Rev*. 2004 Jul; 9(3):195-201.
- [63] Forman DE, Butler J, Wang Y, et al. Incidence, predictors at admission, and impact of worsening renal function among patients hospitalized with heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Jan 7; 43(1):61-7.
- [64] Gottlieb SS, Abraham W, Butler J, et al. The prognostic importance of different definitions of worsening renal function in congestive heart failure. *J Card Fail*. 2002 Jun; 8(3):136-41.
- [65] Elkayam U, Ng TM, Hatamizadeh P, Janmohamed M, Mehra A. Renal Vasodilatory Action of Dopamine in Patients With Heart Failure: Magnitude of Effect and Site of Action. *Circulation*. 2008 Jan 15; 117(2):200-5.
- [66] Martin FL, Chen HH, Cataliotti A, Burnett JC, Jr. Targeting the kidney in acute decompensated heart failure: conventional diuretics and renal-acting vasodilators. *Rev Cardiovasc Med*. 2008; 9(1):39-45.
- [67] Ronco C, Haapio M, House AA, Anavekar N, Bellomo R. Cardiorenal syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Nov 4; 52(19):1527-39.

- [68] Hillege HL, Nitsch D, Pfeffer MA, et al. Renal function as a predictor of outcome in a broad spectrum of patients with heart failure. *Circulation*. 2006 Feb 7; 113(5):671-8.
- [69] Krumholz HM, Chen YT, Vaccarino V, et al. Correlates and impact on outcomes of worsening renal function in patients > or =65 years of age with heart failure. *Am J Cardiol*. 2000 May 1; 85(9):1110-3.
- [70] Metra M, Nodari S, Parrinello G, et al. Worsening renal function in patients hospitalised for acute heart failure: clinical implications and prognostic significance. *Eur J Heart Fail*. 2008 Feb; 10(2):188-95.
- [71] Smith GL, Vaccarino V, Kosiborod M, et al. Worsening renal function: what is a clinically meaningful change in creatinine during hospitalization with heart failure? *J Card Fail*. 2003 Feb; 9(1):13-25.
- [72] Dries DL, Exner DV, Domanski MJ, Greenberg B, Stevenson LW. The prognostic implications of renal insufficiency in asymptomatic and symptomatic patients with left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Mar 1; 35(3):681-9.
- [73] Ellison DH. Diuretic therapy and resistance in congestive heart failure. *Cardiology*. 2001; 96(3-4):132-43.
- [74] Seeland U, Kouchi I, Zolk O, et al. Effects of diuretic treatment on cardiac and circulating RAS in chronic heart failure post-myocardial infarction in rats. *Eur J Heart Fail*. 2003 Jun; 5(3):241-6.
- [75] Sidorenko BA, Preobrazhesnkii DV, Bataraliev TA, Pershukov IV, Makhmutkhodzhaev SA. Changing views on the place of loop and thiazide diuretics in the treatment of chronic heart failure. Part II. Influence on outcomes and clinical application. *Kardiologia*. 2005;45(9):99-104.
- [76] Rocca C. The diuretic in chronic cardiac failure: a clumsy partner. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 2006 Jun; 99(6):599-606.
- [77] Toft P, Gilsaa T. Acute renal failure in critically ill patients. *Ugeskr Laeger*. 2007 Feb 19; 169(8):692-5.
- [78] Peacock WF, Costanzo MR, De Marco T, et al. Impact of intravenous loop diuretics on outcomes of patients hospitalized with acute decompensated heart failure: insights from the ADHERE registry. *Cardiology*. 2009; 113(1):12-9.

- [79] Sica DA. Pharmacotherapy in congestive heart failure: drug absorption in the management of congestive heart failure: loop diuretics. *Congest Heart Fail*. 2003 Sep-Oct; 9(5):287-92.
- [80] Timio M, Saronio P, Venanzi S, Bellomo G, Timio F. Use of diuretics in congestive heart failure: renal effects. *G Ital Nefrol*. 2006 Jan-Feb; 23 Suppl 34:S44-6.
- [81] Goebel JA, Van Bakel AB. Rational use of diuretics in acute decompensated heart failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2008 Sep; 5(3):153-62.
- [82] Hasselblad V, Gattis Stough W, Shah MR, et al. Relation between dose of loop diuretics and outcomes in a heart failure population: results of the ESCAPE trial. *Eur J Heart Fail*. 2007 Oct; 9(10):1064-9.
- [83] Singh A, Blackwell J, Neher J. Clinical inquiries. Does furosemide decrease morbidity or mortality for patients with diastolic or systolic dysfunction? *J Fam Pract*. 2005 Apr; 54(4):370-2.
- [84] Eshaghian S, Horwich TB, Fonarow GC. Relation of loop diuretic dose to mortality in advanced heart failure. *Am J Cardiol*. 2006 Jun 15; 97(12):1759-64.
- [85] Mielniczuk LM, Tsang SW, Desai AS, et al. The association between high-dose diuretics and clinical stability in ambulatory chronic heart failure patients. *J Card Fail*. 2008 Jun; 14(5):388-93.
- [86] van Kraaij DJ, Jansen RW, Gribnau FW, Hoefnagels WH. Diuretic therapy in elderly heart failure patients with and without left ventricular systolic dysfunction. *Drugs Aging*. 2000 Apr; 16(4):289-300.
- [87] Yoshida J, Yamamoto K, Mano T, et al. Different effects of long- and short-acting loop diuretics on survival rate in Dahl high-salt heart failure model rats. *Cardiovasc Res*. 2005 Oct 1; 68(1):118-27.
- [88] Nusing RM, Treude A, Weissenberger C, et al. Dominant role of prostaglandin E2 EP4 receptor in furosemide-induced salt-losing tubulopathy: a model for hyperprostaglandin E syndrome/antenatal Bartter syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2005 Aug; 16(8):2354-62.
- [89] Cohen N, Almozni-Sarafian D, Zaidenstein R, et al. Serum magnesium aberrations in furosemide treated patients with congestive heart failure: pathophysiological correlates and prognostic evaluation. *Heart*. 2003 Apr; 89(4):411-6.

- [90] Goldsmith SR. Current treatments and novel pharmacologic treatments for hyponatremia in congestive heart failure. *Am J Cardiol.* 2005 May 2; 95(9A): 14B-23B.
- [91] Seeland U, Kouchi I, Zolk O, Itter G, Linz W, Bohm M. Effect of ramipril and furosemide treatment on interstitial remodeling in post-infarction heart failure rat hearts. *J Mol Cell Cardiol.* 2002 Feb; 34(2):151-63.
- [92] Veeraveedu PT, Watanabe K, Ma M, et al. Comparative effects of torasemide and furosemide in rats with heart failure. *Biochem Pharmacol.* 2008 Feb 1; 75(3):649-59.
- [93] Ishido H, Senzaki H. Torasemide for the treatment of heart failure. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2008 Jun; 8(2):127-32.
- [94] Kido H, Ohtaki Y. Torasemide (LUPRAC): a review of its pharmacological and clinical profile. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* 2001 Aug; 118(2):97-105.
- [95] Adigun AQ, Ajayi AA. The effects of enalapril-digoxin-diuretic combination therapy on nutritional and anthropometric indices in chronic congestive heart failure: preliminary findings in cardiac cachexia. *Eur J Heart Fail.* 2001 Jun; 3(3):359-63.
- [96] Anker SD, Coats AJ. Cardiac cachexia: a syndrome with impaired survival and immune and neuroendocrine activation. *Chest.* 1999 Mar; 115(3):836-47.
- [97] Kalantar-Zadeh K, Anker SD, Horwich TB, Fonarow GC. Nutritional and anti-inflammatory interventions in chronic heart failure. *Am J Cardiol.* 2008 Jun 2; 101(11A):89E-103E.
- [98] Pschyrembel. *Medizinisches Wörterbuch.* 275th ed. Hamburg: W. de Gruyter Verlag, 1994: 749.
- [99] Femia RA, Goyette RE. The science of megestrol acetate delivery: potential to improve outcomes in cachexia. *BioDrugs.* 2005; 19(3):179-87.
- [100] Dei Cas A, Muoio A, Zavaroni I. Chronic heart failure and cachexia: role of endocrine system. *Minerva Cardioangiol.* 2011 Dec; 59(6):601-12.
- [101] Anker SD, Negassa A, Coats AJ, et al. Prognostic importance of weight loss in chronic heart failure and the effect of treatment with angiotensin-converting-enzyme inhibitors: an observational study. *Lancet.* 2003 Mar 29; 361(9363): 1077-83.

- [102] Witte KK, Clark AL. Nutritional abnormalities contributing to cachexia in chronic illness. *Int J Cardiol.* 2002 Sep; 85(1):23-31.
- [103] King D, Smith ML, Chapman TJ, Stockdale HR, Lye M. Fat malabsorption in elderly patients with cardiac cachexia. *Age Ageing.* 1996 Mar; 25(2):144-9.
- [104] Carrero JJ, Aguilera A, Stenvinkel P, Gil F, Selgas R, Lindholm B. Appetite disorders in uremia. *J Ren Nutr.* 2008 Jan; 18(1):107-13.
- [105] Anker SD, Sharma R. The syndrome of cardiac cachexia. *Int J Cardiol.* 2002 Sep; 85(1):51-66.
- [106] Aguilera A, Selgas R, Diez JJ, Bajo MA, Codoceo R, Alvarez V. Anorexia in end-stage renal disease: pathophysiology and treatment. *Expert Opin Pharmacother.* 2001 Nov; 2(11):1825-38.
- [107] Doehner W, Anker SD, Coats AJ. Defects in insulin action in chronic heart failure. *Diabetes Obes Metab.* 2000 Aug; 2(4):203-12.
- [108] Anker SD, Chua TP, Ponikowski P, et al. Hormonal changes and catabolic/anabolic imbalance in chronic heart failure and their importance for cardiac cachexia. *Circulation.* 1997 Jul 15; 96(2):526-34.
- [109] Anker SD, Volterrani M, Pflaum CD, et al. Acquired growth hormone resistance in patients with chronic heart failure: implications for therapy with growth hormone. *J Am Coll Cardiol.* 2001 Aug; 38(2):443-52.
- [110] Morrison WL, Edwards RH. Cardiac cachexia. *Bmj.* 1991 Feb 9; 302(6772):301-2.
- [111] Berry C, Clark AL. Catabolism in chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2000 Apr; 21(7):521-32.
- [112] Wallace JI, Schwartz RS. Epidemiology of weight loss in humans with special reference to wasting in the elderly. *Int J Cardiol.* 2002 Sep; 85(1):15-21.
- [113] Coats AJ, Clark AL, Piepoli M, Volterrani M, Poole-Wilson PA. Symptoms and quality of life in heart failure: the muscle hypothesis. *Br Heart J.* 1994 Aug; 72(2 Suppl):S36-9.
- [114] Blackburn GL, Gibbons GW, Bothe A, Benotti PN, Harken DE, McEnany TM. Nutritional support in cardiac cachexia. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1977 Apr; 73(4):489-96.
- [115] Heymsfield SB, Smith J, Redd S, Whitworth HB, Jr. Nutritional support in cardiac failure. *Surg Clin North Am.* 1981 Jun; 61(3):635-52.

- [116] Pittman JG, Cohen P. The Pathogenesis of Cardiac Cachexia. *N Engl J Med*. 1964 Aug 20; 271:403-9 CONTD.
- [117] Davos CH, Doehner W, Rauchhaus M, et al. Body mass and survival in patients with chronic heart failure without cachexia: the importance of obesity. *J Card Fail*. 2003 Feb; 9(1):29-35.
- [118] Horwich TB, Fonarow GC, Hamilton MA, MacLellan WR, Woo MA, Tillisch JH. The relationship between obesity and mortality in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Sep; 38(3):789-95.
- [119] Bossola M, Tazza L, Giungi S, Luciani G. Anorexia in hemodialysis patients: an update. *Kidney Int*. 2006 Aug; 70(3):417-22.
- [120] Rammohan M, Kalantar-Zadeh K, Liang A, Ghossein C. Megestrol acetate in a moderate dose for the treatment of malnutrition-inflammation complex in maintenance dialysis patients. *J Ren Nutr*. 2005 Jul; 15(3):345-55.
- [121] Karcic E, Philpot C, Morley JE. Treating malnutrition with megestrol acetate: literature review and review of our experience. *J Nutr Health Aging*. 2002 May; 6(3):191-200.
- [122] Alexieva-Figusch J, Van Glise HA. Progestin therapy in advanced breast cancer: Megestrol acetate - An evaluation of 160 treated cases. *Cancer* 1980; 46: 2369-2372.
- [123] Benghiat A, Cassidy SA. Megestrol acetate in the treatment of advanced post-menopausal breast cancer. *Eur J Surg Oncol*. 1986; 12: 43-45.
- [124] PE. G. Pre-clinical and clinical review of vorozole, a new third generation aromatase inhibitor. *Breast Cancer Res Tr*. 1998; 49:S59-S65.
- [125] Gregory EJ, Cohen SC. Megestrol acetate therapy for advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 1985; 3:155-160. 1985.
- [126] Schacter L, Rozenzweig M, Canetta R, Kelley S, Nicaise C, Smaldone L. Megestrol acetate: clinical experience. *Cancer Treat Rev*. 1989 Mar; 16(1):49-63.
- [127] Lee LW, Glenn MB. Adrenal insufficiency masquerading as sepsis in a patient with tetraparesis: a case report. *Arch Phys Med Rehabil*. 2000 Jun; 81(6):830-3.
- [128] Bonomi P PD, Bunting N, et al. . Megestrol acetate used as primary hormonal therapy in stage D prostatic cancer. *Semin Oncol* 1985; 12 (Suppl 1): 36-39.

- [129] Keller J WJ. A phase III randomized comparative trial of megestrol acetate v. diethylstilbestrol in stage D2 prostatic cancer. Preliminary results. Proc Am Soc Clin Oncol 1986; 5:421 (Abstrakt).
- [130] Graham KK, Mikolich MD, Fisher AE. Pharmacologic evaluation of megestrol acetate oral suspension in cachectic AIDS patients. J Aqu Imm Def Syndr 1994; 7: 580-586.
- [131] Oster MH ES, Samuels SJ, et al. Megestrol acetate in patients with AIDS and Cachexia. Ann Intern Med 1994; 121: 400-408.
- [132] Von Roenn JH, Armstrong D, Kotler DP, et al. Megestrol Acetate in patients with AIDS-related cachexia. Ann Inter Med 1994; 121: 393-399.
- [133] Von Roenn JH, Murphy RL, Wegener N. Megestrol Acetate for treatment of anorexia and cachexia associated with human immunodeficiency virus infection. Sem Oncol 1990; 17 (Suppl 9): 13-16.
- [134] Aisner J PH, Tait N, et al. Appetite stimulation and weight gain with megestrol acetate. Sem Oncol 1990; 17: 6 (Suppl 9): 2-7.
- [135] Aisner J, Tchekmedian S, Tait N, et al. Studies of high-dose megestrol acetate: potential applications in cachexia. Sem Oncol 1988; 15 (Suppl 1): 68-75.
- [136] Loprinzi CL, Ellison NM, Schaid DJ, et al. Controlled trial of megestrol acetate for the treatment of cancer anorexia and cachexia. J Natl Cancer Inst 1990; 82: 1127-1132.
- [137] Loprinzi CL, Schaid DJ, Dose AM, et al. Body-Composition changes in patients who gain weight while receiving megestrol acetate. J Clin Oncol 1993; 11: 152-154.
- [138] Aisner J, Tchekmedyan NS, Moody M, Tait N. High-dose megestrol acetate for the treatment of advanced breast cancer: dose and toxicities. Semin Hematol. 1987 Apr; 24(2 Suppl 1):48-55.
- [139] Thotathil ZS, Varghese A, Ragheb A. Renal cell carcinoma: the experience of Kuwait Cancer Control Center, Kuwait. Med Princ Pract. 2005 Jan-Feb; 14(1): 1-5.
- [140] Leunen M, Breugelmans M, De Sutter P, Bourgain C, Amy JJ. Low-grade endometrial stromal sarcoma treated with the aromatase inhibitor letrozole. Gynecol Oncol. 2004 Dec; 95(3):769-71.

- [141] Cicero LA RJ, Miyashiro A, Maybe JI. Megestrol acetate suspension for the treatment of involuntary weight loss in elderly nursing home residents. *Consult Pharm* 2000; 15: 811-814.
- [142] Lambert CP, Sullivan DH, Freeling SA, et al. Effects of Testosterone replacement and/or resistance exercise on the composition of megestrol acetate stimulated weight gain in elderly man: a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2100-2106.
- [143] Yeh SS WS, Lee TP, et al. Improvement in quality of life measures and stimulation of weight gain after treatment with megestrol acetate oral suspension in geriatric cachexia. *J Am Geriatr Soc* 2000; 48: 485-492.
- [144] Par Pharmaceuticals Inc. Megestrol acetate oral suspense (Megace©) 40 mg/ml 8 fl. oz. product information, Par Pharmaceuticals Inc., Spring Valley, New York, 2010; 10977; www.parpharm.com/downloads/megestroloral_po.pdf.
- [145] Bullock LP, Barthe PL, Mowszowicz I, Orth DN, Bardin CW. The effect of progestins on submaxillary gland epidermal growth factor: demonstration of androgenic, synandrogenic and antiandrogenic actions. *Endocrinology*. 1975 Jul; 97(1):189-95.
- [146] Cooke BA, Vallance DK. Metabolism of megestrol acetate by rat adrenal glands in vitro. *Biochem J* 1968; 109: 121-125.
- [147] Costa AMN, Spence KT, Plata-Salamán CR, et al. Residual Ca²⁺ channel current modulation by megestrol acetate via a G-protein α -subunit in rat hypothalamic neurones. *J Physiol* 1995; 487: 291-303.
- [148] McCarthy HD, Crowder RE, Dryden S, Williams G. Megestrol acetate stimulates food and water intake in the rat: effects on regional hypothalamic neuropeptide Y concentrations. *Eur J Pharm* 1994; 265: 99-102.
- [149] Williamson PS, Browning JD, MacDonald RS. Megestrol acetate increases short-term food intake in zinc-deficient rats. *Physiol Behav* 2002; 75: 323-330.
- [150] Temma, K. Ng, Y. C. Brody, T. M. Akera, T. Effects of progesterone derivatives on sodium pump activity and force of myocardial contraction in isolated guinea pig heart. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1983 Jul; 41(1):51-63.
- [151] Orme LM, Bond JD, Humphrey MS, et al. Megestrol acetate in pediatric oncology patients may lead to severe, symptomatic adrenal suppression. *Cancer*. 2003 Jul 15; 98(2):397-405.

- [152] Skarlos DV, Fountzilas G, Pavlidis N, et al. Megestrol acetate in cancer patients with anorexia and weight loss. A Hellenic Co-operative Oncology Group (HeCOG) study. *Acta Oncol.* 1993; 32(1):37-41.
- [153] Boccanfuso JA, Hutton M, McAllister B. The effects of megestrol acetate on nutritional parameters in a dialysis population. *J Ren Nutr.* 2000 Jan; 10(1):36-43.
- [154] Burrowes JD, Bluestone PA, Wang J, Pierson RN, Jr. The effects of moderate doses of megestrol acetate on nutritional status and body composition in a hemodialysis patient. *J Ren Nutr.* 1999 Apr; 9(2):89-94.
- [155] Lien YH, Ruffenach SJ. Low dose megestrol increases serum albumin in malnourished dialysis patients. *Int J Artif Organs.* 1996 Mar; 19(3):147-50.
- [156] Mantovani G, Maccio A, Lai P, et al. Cytokine activity in cancer-related anorexia/cachexia: role of megestrol acetate and medroxyprogesterone acetate. *Semin Oncol* 1998; 2 (Suppl 6): 45-52.
- [157] Hahn RG, Bauer M, Wolter J, Creech R, Bennett JM, Wampler G. Phase II study of single-agent therapy with megestrol acetate, VP-16-213, cyclophosphamide, and dianhydrogalactitol in advanced renal cell cancer. *Cancer Treat Rep.* 1979 Mar; 63(3):513-5.
- [158] Laucius JF, Patel YA, Lusch CJ, Koons LS, Bellet RE, Mastrangelo MJ. The phase II evaluation of Bacillus Calmette-Guerin plus megestrol acetate in patients with metastatic renal adenocarcinoma. *Med Pediatr Oncol.* 1977; 3(3):237-42.
- [159] Voravud N, Sriuranpong V, Lertsaguansinchai P. Recombinant interferon-alpha 2b and megestrol acetate in patients with advanced renal cell carcinoma. *J Med Assoc Thai.* 2000 Feb; 83(2):123-8.
- [160] Gebbia V, Testa A, Gebbia N. Prospective randomised trial of two dose levels of megestrol acetate in the management of anorexia-cachexia syndrome in patients with metastatic cancer. *Br J Cancer.* 1996 Jun; 73(12):1576-80.
- [161] Parnes HL, Abrams JS, Tchekmedyian NS, Tait N, Aisner J. A phase I/II study of high-dose megestrol acetate in the treatment of metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1991 Aug; 18(3):171-7.
- [162] Khoo SH, Wilkins EG, Abbott M. Induction of adrenal suppression by megestrol acetate. *Ann Intern Med* 1996; 124: 613-614.
- [163] Leinung MC, Liporace R, Miller CH. Induction of adrenal suppression by megestrol acetate in patients with AIDS. *Ann Intern Med* 1995; 122: 843-845.

- [164] Horton J, Knuiman M, Keller AM, et al. Combination hormone therapy for metastatic breast cancer. An ECOG study of megestrol and aminoglutethimide. *Cancer*. 1987 Nov 1; 60(9):2137-40.
- [165] Nelson LW, Kelly WA. Progestogen-related gross and microscopic changes in female Beagles. *Vet Pathol*. 1976; 13(2):143-56.
- [166] Caparros GC, Zambrana JL, Delgado-Fernandez M, Diez F. Megestrol-induced Cushing syndrome. *Ann Pharmacother*. 2001 Oct; 35(10):1208-10.
- [167] Barbieri RL, Ryan KJ. Direct effects of medroxyprogesterone acetate (MPA) and megestrol acetate (MGA) on rat testicular steroidogenesis. *Acta Endocrinol* 1980; 94: 419-425.
- [168] Engelson ES, Pi-Sunyer FX, Kotler DP. Effects of Megestrol Acetate and Testosterone on body composition in castrated male Sprague-Dawley rats. Effects of Megestrol Acetate upon body composition and circulating testosterone concentrations in patients with AIDS. *AIDS* 1995; 9:1107-1108. *Nutrition* 1999; 15: 465-473.
- [169] Engelson ES, Pi-Sunyer FX, Kotler DP. Effects of Megestrol Acetate and Testosterone on body composition in castrated male Sprague-Dawley rats. *Nutrition* 1999; 15: 465-473.
- [170] Geller J, Albert J, Yen SS et al. Medical castration of males with megestrol acetate and small doses of diethylstilbestrol. *J Clin Endocr Metab* 1981; 52: 576-580. bzw. Medical castration with megestrol acetate and minidose of diethylstilbestrol. *Urology* 1981; 17 (Suppl 4):27-33. *J Clin Endocr Metab* 1981; 52: 576-580
- [171] Straßburg S. Einfluss eines Appetitstimulanz (Megestrol Acetat) auf den Gewichtsverlust und die Mortalität am Rattenmodell der Herzinsuffizienz mit Kachexie. Berlin 2004.
- [172] J. Springer BB, Sandra Palus, Sabine Straßburg, Christiane Waller, Johann Bauersachs, Stefan D. Anker Furosemid and mortality in a rat model of chronic heart failure 2010.
- [173] Li YF, Fu S, Hu W, et al. Systemic anticancer therapy in gynecological cancer patients with renal dysfunction. *Int J Gynecol Cancer*. 2007 Jul-Aug; 17(4): 739-63.

- [174] Selye H, Bajusz E, Grasso S, Mendell P. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology*. 1960 Oct; 11:398-407.
- [175] Junqueira LC, Bignolas G & Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J*. 1979; 11, 447-455.
- [176] Allen LA, Felker GM, Pocock S, et al. Liver function abnormalities and outcome in patients with chronic heart failure: data from the Candesartan in Heart Failure: Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity (CHARM) program. *Eur J Heart Fail*. 2009 Feb; 11(2):170-7.
- [177] Vasconcelos LA, de Almeida EA, Bachur LF. Clinical evaluation and hepatic laboratory assessment in individuals with congestive heart failure. *Arq Bras Cardiol*. 2007 May; 88(5):590-5.
- [178] Zur B. Laborchemische Referenzbereiche für Wistarratten und C57BL/6-Mäuse. Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, 2005.
- [179] Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction; A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of patients with acute myocardial infarction). *J Am Coll Cardiol*. 2004 Aug 4; 44(3):E1-E211.
- [180] Parveen A, Babbar R, Agarwal S, Kotwani A, Fahim M. Mechanistic clues in the cardioprotective effect of Terminalia arjuna bark extract in isoproterenol-induced chronic heart failure in rats. *Cardiovasc Toxicol*. 2011 Mar; 11(1):48-57.
- [181] Fu YH, Lin QX, Li XH, et al. A novel rat model of chronic heart failure following myocardial infarction. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2009 Jul-Aug; 31(6):367-73.
- [182] Osicka TM, Yu Y, Panagiotopoulos S, et al. Prevention of albuminuria by aminoguanidine or ramipril in streptozotocin-induced diabetic rats is associated with the normalization of glomerular protein kinase C. *Diabetes*. 2000 Jan; 49(1):87-93.
- [183] Schulte P. Genomweite Analyse von Blutdruck- und Albuminurie-QTL in einer Kreuzpaarungspopulation zwischen salzsensitiven SHRSP und alzresistenten Lewis Ratten 2009:30.

- [184] Boersma C, Gansevoort RT, Pechlivanoglou P, et al. Screen-and treat strategies for albuminuria to prevent cardiovascular and renal disease: cost-effectiveness of nationwide and targeted interventions based on analysis of cohort data from the Netherlands. *Clin Ther.* 2010 Jun; 32(6):1103-21.
- [185] de Zeeuw D, Parving HH, Henning RH. Microalbuminuria as an early marker for cardiovascular disease. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Aug; 17(8):2100-5.
- [186] Aravindan N, Shaw A. Effect of furosemide infusion on renal hemodynamics and angiogenesis gene expression in acute renal ischemia/reperfusion. *Ren Fail.* 2006; 28(1):25-35.
- [187] Aravindan N, Aravindan S, Riedel BJ, Weng HR, Shaw AD. Furosemide prevents apoptosis and associated gene expression in a rat model of surgical ischemic acute renal failure. *Ren Fail.* 2007; 29(4):399-407.
- [188] Diezemann C. Einfluss einer antioxidativen Therapie mit Tempol auf Nierenveränderungen bei ApoE (-/-) Mäusen mit experimenteller Niereninsuffizienz, Erlangen-Nürnberg 2009; 23- 59.
- [189] Ozmen CA, Akin D, Bilek SU, Bayrak AH, Senturk S, Nazaroglu H. Ultrasound as a diagnostic tool to differentiate acute from chronic renal failure. *Clin Nephrol.* 2010 Jul; 74(1):46-52.
- [190] Kim YG, Kim B, Kim MK, et al. Medullary nephrocalcinosis associated with long-term furosemide abuse in adults. *Nephrol Dial Transplant.* 2001 Dec; 16(12): 2303-9.
- [191] Gratny LL, Ringer K, Hall RT, Alon US. Salt supplementation, growth, and nephrocalcinosis in the furosemide-treated weanling rat. *Biol Neonate.* 1997; 71(1):37-45.
- [192] Osorio AV, Alon MM, Nichols MA, Alon US. Effect of age on furosemide-induced nephrocalcinosis in the rat. *Biol Neonate.* 1998; 73(5):306-12.
- [193] Pattaragarn A, Fox J, Alon US. Effect of the calcimimetic NPS R-467 on furosemide-induced nephrocalcinosis in the young rat. *Kidney Int.* 2004 May; 65(5):1684-9.
- [194] Kikuchi T, Matsuzaki H, Sato S, et al. Diminished kidney function and nephrocalcinosis in rats fed a magnesium-deficient diet. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 1998 Aug; 44(4):515-23.

- [195] Stonard MD, Samuels DM, Lock EA. The pathogenesis and effect on renal function of nephrocalcinosis induced by different diets in female rats. *Food Chem Toxicol.* 1984 Feb; 22(2):139-46.
- [196] Mougnot N, Bos R, Mediani O, Lechat P. Captopril-furosemide survival study in experimental heart failure. *Fundam Clin Pharmacol.* 2005 Aug; 19(4):457-64.
- [197] Wiedemann K, Lauer CJ, Hirschmann M, Knautt K, Holsboer F. Sleep-endocrine effects of mifepristone and megestrol acetate in healthy men. *Am J Physiol.* 1998 Jan; 274(1 Pt 1):E139-45.
- [198] Gonzalez Villarroel P, Fernandez Perez I, Paramo C, et al. Megestrol acetate-induced adrenal insufficiency. *Clin Transl Oncol.* 2008 Apr; 10(4):235-7.
- [199] Church DB, Watson AD, Emslie DR, Middleton DJ, Tan K, Wong D. Effects of proligestone and megestrol on plasma adrenocorticotrophic hormone, insulin and insulin-like growth factor-1 concentrations in cats. *Res Vet Sci.* 1994 Mar; 56(2):175-8.
- [200] Raedler TJ, Jahn H, Goedeken B, Gescher DM, Kellner M, Wiedemann K. Acute effects of megestrol on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2003 Dec; 52(6):482-6.
- [201] Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function-measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med.* 2006 Jun 8; 354(23):2473-83.
- [202] Fernandez Lucas M, Teruel JL, Burguera V, et al. Treatment of uraemic anorexia with megestrol acetate. *Nefrologia.* 2010; 30(6):646-52.
- [203] Golebiewska J, Lichodziejewska-Niemierko M, Aleksandrowicz E, Majkovicz M, Lysiak-Szydlowska W, Rutkowski B. Influence of megestrol acetate on nutrition and inflammation in dialysis patients - preliminary results. *Acta Biochim Pol.* 2009; 56(4):733-7.
- [204] Yeh SS, Marandi M, Thode HC Jr., et al. Report of a pilot, double-blind, placebo-controlled study of megestrol acetate in elderly dialysis patients with cachexia. *J Ren Nutr.* 2010 Jan; 20(1):52-62.
- [205] Viazzi F, Leoncini G, Conti N, et al. Microalbuminuria is a predictor of chronic renal insufficiency in patients without diabetes and with hypertension: the MAGIC study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010 Jun; 5(6):1099-106.

- [206] Reffelmann T, Dorr M, Volzke H, et al. Urinary albumin excretion, even within the normal range, predicts an increase in left ventricular mass over the following 5 years. *Kidney Int.* 2010 Jun; 77(12):1115-22.
- [207] Jackson CE, Solomon SD, Gerstein HC, et al. Albuminuria in chronic heart failure: prevalence and prognostic importance. *Lancet.* 2009 Aug 15; 374(9689):543-50.
- [208] Masson S, Latini R, Milani V, et al. Prevalence and prognostic value of elevated urinary albumin excretion in patients with chronic heart failure: data from the GISSI-Heart Failure trial. *Circ Heart Fail.* 2010 Jan; 3(1):65-72.
- [209] Dzau VJ. Renal effects of angiotensin-converting enzyme inhibition in cardiac failure. *Am J Kidney Dis.* 1987 Jul; 10(1 Suppl 1):74-80.
- [210] Rodriguez-Iturbe B, Garcia Garcia G. The role of tubulointerstitial inflammation in the progression of chronic renal failure. *Nephron Clin Pract.* 2010; 116(2):c81-8.
- [211] Tsutsui T, Tsutamoto T, Maeda K, Kinoshita M. Comparison of neurohumoral effects of short-acting and long-acting loop diuretics in patients with chronic congestive heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2001 Oct; 38 Suppl 1:S81-5.
- [212] van Kraaij DJ, Jansen RW, Sweep FC, Hoefnagels WH. Neurohormonal effects of furosemide withdrawal in elderly heart failure patients with normal systolic function. *Eur J Heart Fail.* 2003 Jan; 5(1):47-53.
- [213] Aref'eva AK, Rykov VA. Effect on kidney structure of the use of antitumor preparations combined with diacarb and furosemide. *Farmakol Toksikol.* 1982 Sep-Oct; 45(5):78-80.
- [214] Lane PH. Long-term furosemide treatment in the normal rat: dissociation of glomerular hypertrophy and glomerulosclerosis. *Am J Kidney Dis.* 1999 Jun; 33(6):1058-63.
- [215] McCurley JM, Hanlon SU, Wei SK, Wedam EF, Michalski M, Haigney MC. Furosemide and the progression of left ventricular dysfunction in experimental heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2004 Sep 15; 44(6):1301-7.
- [216] Cataliotti A, Boerrigter G, Costello-Boerrigter LC, et al. Brain natriuretic peptide enhances renal actions of furosemide and suppresses furosemide-induced aldosterone activation in experimental heart failure. *Circulation.* 2004 Apr 6; 109(13):1680-5.

- [217] Amann K, Neuss R, Ritz E, Irzyniec T, Wiest G, Mall G. Changes of vascular architecture independent of blood pressure in experimental uremia. *Am J Hypertens.* 1995 Apr; 8(4 Pt 1):409-17.
- [218] Kagami S, Border WA, Miller DE, Noble NA. Angiotensin II stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor-beta expression in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest.* 1994 Jun; 93(6):2431-7.

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

abs.	absolut
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACTH	adrenokortikotropes Hormon
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
ALAT	Alanin-Aminotransferase
Aqua dest.	Aqua destilata
ARF	Acute Renal Failure
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
AT1	Angiotensin 1
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
BNP	Brain like
BPH	Benigne Prostata Hyperplasie
bzw.	beziehungsweise
CA	Carcinoma
ca.	circa
CCR	Center for Cardiovascular Research
CHI	Chronic Heart Insufficiency
CK	Kreatinkinase
CK-MB	Kreatinkinase vom Myokardtyp
CKD	Chronic Kidney Disease,

CRP	C-reaktives Protein
CRS	Kardiorenales Syndrom
EF	Ejection Fraction
EGF	Epidermal-Growth-Factor
EKG	Elektrokardiogramm
et.al	und andere
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
IL	Interleukin
LAD	Left anterior descending
LDH	Laktatdehydrogenase
LVEF	Left Ventricle Ejection Fraktion
HWZ	Halbwertszeit
ISA	Intrinsische sympathomimetische Aktivität
KG	Körpergewicht
Mio.	Million
NA	Noradrenalin
NTproBNP	N-terminales (NT)-proBNP
NW	Nebenwirkung
NYHA	New York Heart Association
OP	Operation
PAS	Periodic acid Schiff reaction
RAAS	Renin Angiotensin Aldosteron System
RBF	Renal Blood Flow

RN	Rechte Niere
Std.	Standard
TNF-alpha	Tumor Nekrose Faktor alpha
u.a.	unter anderem
WRF	Worsening Renal Failure
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel

8. ANHANG

8.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Übersicht des Studiendesigns des Tierversuch A XXXIII	44
Abbildung 2.2: Zeitstrahl über den Tierversuch A XXXIII..	44
Abbildung 3.1: Ergebnisse der relativen Nierengewichte der CHI-Gruppen	67
Abbildung 3.2: Ergebnisse der relativen Nierengewichte der Shamgruppen	67
Abbildung 3.3: Ergebnisse Albumin-Kreatinin-Quotient der CHI-Gruppe	69
Abbildung 3.4: Ergebnisse Albumin-Kreatinin-Quotient der Shamgruppen	69
Abbildung 3.5: Ergebnisse der Kreatinin-Clearance der CHI-Gruppen	71
Abbildung 3.6: Ergebnisse der Kreatinin-Clearance der Shamgruppen	71
Abbildung 3.7: Ergebnisse der statistischen Auswertung der interstitiellen Fibrose der CHI-Gruppen.....	73
Abbildung 3.8: Ergebnisse der statistischen Auswertung der interstitiellen Fibrose der Shamgruppen.....	73
Abbildung 3.9: Exemplarische Darstellung der interstitiellen Fibrose aus der Furosemidgruppe (geringer Fibrosierungsgrad)	74
Abbildung 3.10: Exemplarische Darstellung der interstitiellen Fibrosierung aus der Placebogruppe (hoher Fibrosierungsgrad)	74
Abbildung 3.11: Ergebnisse der Media-Lumen-Ratio der CHI-Gruppen	76
Abbildung 3.12: Ergebnisse der Media-Lumen-Ratio der Shamgruppen	76
Abbildung 3.13: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Gefäßanschnittes zur Media-Lumen-Ratio-Bestimmung aus der Furosemidgruppe	77
Abbildung 3.14: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Gefäßanschnittes zur Media-Lumen-Ratio-Bestimmung aus der Megace®Gruppe	77
Abbildung 3.15: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Gefäßanschnittes zur Media-Lumen-Ratio-Bestimmung aus der Megace®ES-Gruppe	78
Abbildung 3.16: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Gefäßanschnittes zur Media-Lumen-Ratio-Bestimmung aus der Placebogruppe	78
Abbildung 3.17: Ergebnisse der Scoreindexe der Glomerulosklerose der CHI-Gruppen	80

Abbildung 3.18: Ergebnisse der Scoreindexe der Glomerulosklerose der Shamgruppen	80
Abbildung 3.19: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Ausschnittes mit einem Glomeruloskleroseindex von 1	81
Abbildung 3.20: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Ausschnittes mit einem Glomeruloskleroseindex von 2	81
Abbildung 3.21: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Ausschnittes mit einem Glomeruloskleroseindex von 3	82
Abbildung 3.22: Exemplarische Darstellung eines mikroskopischen Ausschnittes mit einem Glomeruloskleroseindex von 4	82

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Überblick über die Ursachen einer Herzinsuffizienz.....	10
Tabelle 1.2: Framingham-Kriterien 1. und 2. Ordnung.....	13
Tabelle 1.3: Überblick über Laboruntersuchungen bei Herzinsuffizienz	14
Tabelle 1.4: Stadieneinteilung der NYHA-Klassifikation bei Herzinsuffizienz.....	16
Tabelle 1.5: Stadieneinteilung der American Heart Association	16
Tabelle 1.6: Überblick über die Guidelines der medikamentöse Stufentherapie bei systolischer linksventrikulärer Dysfunktion entsprechend der Stadieneinteilung der NYHA-Klassifikation	18
Tabelle 1.7: Dosierung und Wirkdauer einiger häufig verwendeter Diuretika.....	20
Tabelle 1.8: Klassifikation des kardierenalen Syndroms nach Ronco C et.al.....	23
Tabelle 1.9: Übersicht der häufigsten mit Diuretikagabe assoziierten Nebenwirkungen	25
Tabelle 1.10: Übersicht über die Anwendungsgebiete von Megestrol Acetat seit Markteinführung im Jahr 1971	33
Tabelle 1.11: Überblick der Nebenwirkungen einer Megestrol®-Therapie.....	36
Tabelle 2.1: Zuordnung der Pharmakonverabreichung zu den Tierversuchsgruppen	43
Tabelle 2.2: Scoresystem zur Einteilung des Sklerosegrades nach PAS-Färbung...	51
Tabelle 2.3: Qualitätsscore zur Beurteilung der verwendeten Gefäßanschnitte	55
Tabelle 2.4: Parameter aus vorhandener Datenlage vom Tierversuch A XXXIII	56
Tabelle 3.1: Gruppenzuordnung und Medikation	59
Tabelle 3.2: Zusammenfassung der Ergebnisse ALAT-Laborparameter (in U/l)	60
Tabelle 3.3: Zusammenfassung der Ergebnisse ASAT-Laborparameter (in U/l).....	60
Tabelle 3.4: Zusammenfassung der Ergebnisse Kreatinkinase-Laborparameter (in U/l)	61
Tabelle 3.5: Zusammenfassung der Ergebnisse Plasmakreatininwerte (in mg/dl pro100g KG)	61
Tabelle 3.6: Zusammenfassung der Ergebnisse der Urinkreatininwerte (in mmol/l pro100g KG)	63
Tabelle 3.7: Zusammenfassung der Ergebnisse Albumin im Urin (pro100g KG)	64
Tabelle 3.8: Zusammenfassung der Ergebnisse der 24 Stunden Diurese	
(in ml pro 100g KG).....	65

8.3 Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Christian Suckow, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

Auswirkung einer Furosemid- und Megestrol®-Therapie auf die Nierenstruktur bei chronischer Herzinsuffizienz am Ratten-Modell des myokardialen Infarkts

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum 09.10.2012

Unterschrift

8.4 Lebenslauf

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

8.5 Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht in:

Furosemide induces mortality in a rat model of chronic heart failure

Rokutan H, Suckow C, von Haehling S, Straßburg S, Bockmeyer B, Doehner W, Waller C, Bauersachs J, von Websky K, Hoher B, Anker SD, Springer J.

Int J Cardiol. 2011 Mar 28. Center for Cardiovascular Research, Charité Medical School, Campus Mitte, Berlin, Germany; Applied Cachexia Research, Department of Cardiology, Charité Medical School, Campus Virchow-Klinikum, Berlin, Germany.

8.6 Danksagung

Diese Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. Stefan Anker, Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie, erstellt. Sie wurde im Center for Cardiovascular Research, AG Prof. Dr. Dr. Stefan Anker Angewandte Kachexie-Forschung, unter der Betreuung von Dr. rer. nat. Jochen Springer erstellt. Ich möchte mich daher ausdrücklich bei Prof. Dr. Dr. Stefan Anker und Dr. rer. nat. Jochen Springer für die Überlassung des Themas, für die hervorragende Betreuung während der Durchführung sowie für die zur Verfügung gestellten Mittel bedanken.

Mein besonderer Dank gilt des Weiteren den Mitarbeitern der AG Prof. Dr. med. Berthold Hoher, ohne deren Anleitung, Beratung und Betreuung diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre. Insbesondere bin ich Katharina Krause-Relle, Susi Heiden und Karoline von Websky zu Dank verpflichtet.

Ich möchte mich an dieser Stelle vor allem auch bei meiner Familie für die fortwährende Unterstützung, das Verständnis und die Rückendeckung während des gesamten Medizinstudiums und während des Prozesses der Erstellung dieser Arbeit bedanken. Insbesondere möchte ich mich an dieser Stelle bei meiner Frau Akiko bedanken.