

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Design der Dissertationsuntersuchungen**

Diese Dissertationsarbeit wurde als doppelblinde, randomisierte monozentrische Vergleichsstudie mit zwei parallelen Gruppen und einer zweiwöchigen Placebo-run-in-Phase durchgeführt. Die statistische Auswertung wurde nach Intention-to-treat-Ansatz durchgeführt.

Die Studie dauerte insgesamt 18 Wochen. An die zweiwöchige Placebo-run-in-Phase schloss sich eine doppelblinde 16-wöchige Therapiephase mit zwei parallelen Gruppen an.

### **2.2. Patientenauswahl**

#### 2.2.1. Anzahl der Patienten

In diese klinische Prüfung wurden 41 Patienten aufgenommen, wobei ein Patient nicht randomisiert wurde (nur Placebo), jeweils 20 Patienten pro Therapiegruppe.

#### 2.2.2. Einschlusskriterien

An der Prüfung konnten Männer und Frauen im Alter von 30 bis 70 Jahren teilnehmen, die folgende Kriterien erfüllten:

- Patienten mit bisher unbehandelter leichter bis mittelschwerer Hypertonie (RR diastolisch  $\geq 95$  mmHg bis  $\leq 115$  mmHg (Praxismessung im Liegen))
- Patienten mit leichter bis mittelschwerer Hypertonie, deren bisherige antihypertensive Therapie gefahrlos abgesetzt werden konnte und deren diastolische Blutdruckwerte am Termin 1 (Placebo-run-in-Phase) gemessen, im Bereich  $\geq 95$  mmHg und  $\leq 115$  mmHg (Mittelwert aus 3 Einzelmessungen im Abstand von 1 min.) lagen
- Linksherzhypertrophie mit linksventrikulärer endsystolischer Wand- und echokardiographische Septumdicke von  $> 15$  mm bis  $< 20$  mm.
- Linksventrikulärer endsystolischer Diameter  $< 35$  mm (short axis)
- Ventrikuläre Extrasystolen bis Lown III

Nach Vorlage bei der Ethikkommission wurde vor Aufnahme in die Prüfung von allen Patienten eine Einwilligungserklärung eingeholt.

Zusätzlich zu den Einschlusskriterien bei Visite 1 wurden bei Visite 2 und 3 (vor Therapiebeginn) folgende Kriterien bezüglich des Blutdrucks überprüft:

- Patienten mit leichter bis mittelschwerer Hypertonie deren diastolische Blutdruckwerte, an den Terminen 2 und 3 (Placebo-run-in-Phase) gemessen, im Bereich  $\geq 95$  mmHg und  $\leq 115$  mmHg lagen (Mittelwert aus jeweils 3 Einzelmessungen im Abstand von 1 min)
- Auch bei diesen Patienten war darüber hinaus am Termin 3 eine Langzeit-Blutdruckmessung durchzuführen. Vor der randomisierten Zuordnung zu einem der beiden Therapie-Regime war abschließend zu sichern, daß der diastolische Tagesmittelwert der Einzelwerte im Zeitraum zwischen 8:00 und 22:00 Uhr oberhalb von  $> 85$  mmHg lag.

### 2.2.3. Ausschlusskriterien

Folgende Patienten wurden von der Studie ausgeschlossen :

- Patienten mit anamnestischen Hinweisen auf eine Überempfindlichkeit gegenüber der Studienmedikation oder chemisch verwandten Substanzen
- Patienten, die in den letzten 4 Wochen schon mit anderen ACE-Hemmern behandelt worden waren
- Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion, u.a. verifiziert durch: S-GPT, Überschreiten des doppelten Normalwertes, Serumbilirubin über 1,4 mg / dl
- Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion, u.a. verifiziert durch: Serumkreatinin über 1,5 mg / dl
- Patienten mit gravierenden Herzfehlern der Schweregrade  $> 2$
- Patienten mit einer Begleitmedikation, die eine Leukopenie hervorrufen kann
- Patienten mit instabilen oder unkontrollierbaren pulmonalen Erkrankungen
- Patienten mit Nierenarterienstenosen
- Patienten, bei denen eine bisher bestehende medikamentöse antihypertensive Therapie nicht vorübergehend abgesetzt werden konnte (zweiwöchige Placebo-run-in-Phase)

## 2.3. Studienmedikation

### 2.3.1. Studienmedikation:

Die in dieser Dissertationsuntersuchung verwendete Medikation wurde von der Firma Aventis bereitgestellt.

Es handelte sich um die Präparate Ramipril und Captopril, die in neutraler Konfektionierung verabreicht wurden und jeweils in zwei verschiedenen Einzeldosen verwendet werden konnten. Es standen Ramiprilpräparate mit Einzeldosen von 1,25 mg und 2,5 mg, sowie Captoprilpräparate mit Einzeldosen von 6,25 mg und 12,5 mg zur Verfügung.

### 2.3.2. Dosierung

Alle Patienten wurden vom Doktoranden zunächst in die Placebo-run-in-Phase eingeschlossen, in der sie in den Wochen -2 und -1 je zweimal täglich eine Placebo-Kapsel erhielten. Hieran schloß sich die 16 Wochen dauernde Therapiephase an.

Am Ende der Placebo-Periode wurden die Patienten randomisiert und zwei parallelen Gruppen wie folgt zugeordnet:

- 1. - 8. Woche:     Gruppe I: Ramipril 1,25 mg täglich
- Gruppe II: Captopril 6,25 mg zweimal täglich

Bei Non-Respondern (manuell gemessen: RR diast. > 95 mmHg) wurde die Dosis in beiden Gruppen wie folgt erhöht:

- 8. - 16. Woche:   Gruppe I: Ramipril 2,5 mg einmal täglich
- Gruppe II: Captopril 12,5 mg zweimal täglich

Die Medikamenteneinnahme erfolgte oral, jeweils zur gleichen Tageszeit:

- Ramipril:           morgens
- Captopril:          morgens + abends

An den Kontrolltagen sollte der Patient vor seinem Erscheinen beim behandelnden Arzt keine Testsubstanz einnehmen. Die Untersuchungen wurden während der gesamten Studie morgens zur gleichen Zeit geplant und jeweils vom gleichen Untersucher durchgeführt.

### 2.3.3. Ausgabe der Studienmedikation

Wir gaben die Studienmedikation nur an die in die klinische Prüfung eingeschlossenen Patienten aus, bei denen von uns alle im Prüfplan angegebenen Untersuchungen durchgeführt werden konnten.

Unserer Untersuchung haben wir eine Serie von Patientennummern zugeteilt. Die Vergabe der Patientennummern erfolgte in der Reihenfolge der Aufnahme in die Studie. Welche Behandlung den verschiedenen Patientennummern jeweils zuzuordnen war, wurde bereits vorher anhand eines Randomisierungsplans festgelegt. Die Randomisierung der Patienten erfolgte im Verhältnis 1:1.

### 2.3.4. Verblindung der Verpackung

Die Studienmedikation wurde in neutraler Konfektionierung mit Patientenummer bereitgestellt. Jedem Patienten haben wir nur die Medikation mit seiner Nummer ausgehändigt. Die Verblindung wurde anhand von Randomisierungsbriefen durchgeführt.

### 2.3.5. Compliance

Zur Überprüfung der Compliance wurden die Patienten gebeten, zu jedem Untersuchungstermin ihre Studienmedikation mitzubringen. Die Kapseln wurden ohne Kenntnisnahme der Patienten vom Doktoranden gezählt und das Ergebnis in den von uns entwickelten Prüfbogen eingetragen

Jeder Patient, der die Studienmedikation für mehr als zwei Tage nicht einnahm, sollte vorzeitig aus der Studie ausgeschleust werden.

## **2.4. Vor- und Begleiterkrankungen und Medikationen**

### 2.4.1. Vor- und Begleiterkrankungen

Erkrankungen, die der Patient neben seiner Grunderkrankung bereits bei der Aufnahme in die Studie aufwies, galten als Begleiterkrankungen und wurden in unserem Kontrollbogen dokumentiert. Erkrankungen, die erst während der Studie auftraten (interkurrente Erkrankungen) galten als unerwünschte Ereignisse und wurden als solche auf dem entsprechenden Formular im Kontrollbogen dokumentiert.

### 2.4.2. Vor- und Begleitmedikation

Als Begleittherapie galten sämtliche Medikamente, die der Patient schon vor seiner Aufnahme in die Studie eingenommen hatte und nach seiner Aufnahme weiterhin einnahm sowie alle Medikamente, die er im Verlauf der Studie zusätzlich zur Studienmedikation erhielt. Jede Begleittherapie wurde dokumentiert. Begleitmedikamente wurden während der Studie auf ein Minimum begrenzt, sie konnten jedoch nach Rücksprache mit dem Doktorvater verabreicht werden, wenn ihr Einsatz im Interesse des Patienten als notwendig erachtet und die Prüfung dadurch nicht beeinflusst wurde.

Eine Begleittherapie mit weiteren Antihypertensiva als der Testsubstanzen war während dieser Studie nicht zulässig. Patienten, bei denen eine bisher bestehende medikamentöse Therapie nicht abgesetzt werden konnte, durften nicht in die Studie aufgenommen werden.

Patienten, die aufgrund eines erhöhten Blutdruckes eine zusätzliche Behandlung benötigten, konnten ab Woche 8 mit einem weiteren Medikament (kein ACE-Hemmer und kein ATII-Rezeptorblocker) behandelt werden. Die zusätzlich eingenommenen Antihypertensiva wurden im Kontrollbogen dokumentiert.

## 2.5. Studienverlauf

### 2.5.1. Dokumentation der Patientendaten

Die Wirksamkeit, im Hinblick auf eine Hypertrophieregression, wurde anhand der linksventrikulären Wanddicke (primärer Wirksamkeitsparameter) gemessen. Desweiteren wurden die Ergebnisse der Kernresonanztomographie, des EKGs, die Vitalparameter (inkl. manueller Blutdruckwerte und der Ergebnisse der 24h-Blutdruckmessung) als sekundäre Wirksamkeitsparameter einbezogen.

Die Verträglichkeit wurde anhand der unerwünschten Ereignisse, die im Studienverlauf auftraten, der Labor-Sicherheitsparameter und der körperlichen Untersuchung evaluiert.

### 2.5.2. Beschreibung des Studienverlaufs

Am Anfang dieser Dissertationsuntersuchung stand die klinische Untersuchung und die Erhebung der Anamnese der in Frage kommenden Patienten. Die für die Dissertationsuntersuchung geeigneten Patienten wurden dann nach ausführlicher Aufklärung und Einwilligung in die Placebo-run-in-Phase eingeschleust.

Bei allen antihypertensiv vorbehandelten Patienten wurde wie in 2.4.2. beschrieben verfahren. Während der Placebo-Phase wurden die Patienten zur Untersuchung einbestellt. Es wurde ein EKG und ein MRT des Herzens angefertigt. Blutbild und Elektrolyte wurden bestimmt. 24 Stunden-Langzeit-EKG und 24-Stunden-Blutdruck wurden ambulant durchgeführt.

In Woche 2 und 4 wurden die Patienten erneut zur Blutdruck-, Puls- und Gewichtskontrolle einbestellt. Die zweite MRT-, Langzeit-EKG-, und EKG-Kontrolle fand in Woche 8 statt. Darauf folgten in Woche 10 und 12 erneute RR-, Puls- und Gewichtskontrolle. Die Abschlußuntersuchung fand nach Beendigung der Studie in Woche 16 statt, sie entsprach dem Umfang nach der Eingangsuntersuchung.

Ablauf der Studie	Screening		Therapiebeginn							Behandlungswochen				
	-2	-1	0	2	4	8	10	12	16					
Woche														
Ein- / Ausschlusskriterien	X													
Antihypertens. Vorbehandlung	X													
Anamnese	X													
Große körperliche Untersuchung	X													X
Gew., HF, manuelle RR-Messung	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
MRT			X				X							X
24h-EKG			X				X							X
24h-RR			X											X
Compliance			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Bestimmung Non-Responder							X							
Laboruntersuchung			X											X
Unerwünschte Ereignisse	----- Dokumentation bei Auftreten -----													
Begleittherapie	----- Dokumentation bei Einnahme / Änderung -----													
Abschlussuntersuchung mit Dokumentation	----- Bei frühzeitiger Beendigung der Studie -----													

Tab.1: Protokoll für die Dissertationsuntersuchung

## 2.6. Methoden der Erhebung von Patientendaten

### 2.6.1. Bestimmung der linksventrikulären Hypertrophie mittels MRT

Die magnetresonanztomographischen Untersuchungen wurden auf einem 1,5 Tesla Gyroscan ACS-NT der Firma Philips unter Verwendung einer Phased-Array Thorax-Oberflächenspule durchgeführt. Zunächst wurden Planungsbilder („scouts“) in transversaler, sagittaler und coronarer Schichtführung angefertigt. An diesen wurde eine dem 4-Kammer-Blick entsprechende Schichtorientierung mittels Winkelung in allen drei Raumebenen geplant. Die Darstellung des 4-Kammer-Blicks erfolgte mit T1-gewichteten Turbo-Spin-Echo-Aufnahmen („black-blood“) mit einer Schichtdicke von 7 mm. In einem Abstand („gap“) von jeweils 5 mm wurde kranial und kaudal zu der ersten jeweils eine weitere Schicht mit gleicher Schichtdicke aufgenommen, so daß insgesamt drei parallel zueinander gelegene Schichten resultierten. Sämtliche Aufnahmen erfolgten EKG-getriggert in der Endsystole mit einer Echozeit TE von 40 ms, einer von der Herzfrequenz abhängigen Repetitionszeit TR, einem Field of View FOV von 350, einer Matrix von 256 x 256 und einem Flip-Winkel von 90°.

Anhand dieser Aufnahmen wurde bei jedem Patienten die Dicke des linksventrikulären Myokards bestimmt. Zur Bestimmung der Dicke der linksventrikulären Seitenwand wurden von der Herzbasis bis zu den apikalen Anteilen der Lateralwand in jeder der drei Schichten jeweils drei epikardiale Messpunkte definiert. Der am weitesten herzbasisnah gelegene Messpunkt lag 1,5 cm apikal des Mitralklappenansatzes, die zwei weiteren jeweils im Abstand von 1,5 cm in Richtung Herzspitze. Zur Messung der myokardialen Wanddicke wurden Tangenten an die Meßpunkte angelegt, von denen rechtwinklig die Meßstrecken gezogen wurden, wodurch die kürzeste Verbindung zwischen Endokard und Epikard ermittelt wurde.

Die Dicke des interventrikulären Septums wurde ausschließlich in der mittleren Schicht bestimmt. Hierzu wurden drei Messpunkte im Bereich des rechtsventrikulären septalen Endokards definiert und die Dicke des Myokards entsprechend den Messungen der Seitenwand bestimmt. Der Abstand der Messpunkte voneinander betrug wiederum 1,5 cm.

Die Magnetresonanztomographie wurde zu Therapiebeginn, nach 8 Wochen Behandlung und zum Abschluß der Studie (nach 16 Wochen) durchgeführt. Die Beurteilung der Auswirkung der beiden Therapieregime auf die linksventrikuläre Wanddicke erfolgte über einen Vergleich der Veränderungen Baseline versus Endline.



## 2.6.2. Messungen im Rahmen der körperlichen Untersuchung

### Körpergewicht

Zur Bestimmung des Körpergewichts wurden die Patienten leichtbekleidet ohne Schuhe auf einer austarierten Balkenwaage vom Untersucher gewogen.

### Herzfrequenz

Die Messung erfolgte nach fünfminütigem Liegen und einminütigem Stehen

### Blutdruck

Die Blutdruckmessung führten wir nach 10 Minuten im Liegen mit einem Sphygmo-  
manometer am gleichen Arm durch. Der diastolische Blutdruck wurde beim Verschwinden  
der Korotkow-Geräusche / Phase 5 abgelesen.

## 2.6.3. 24h-Blutdruckmessung

Die 24h-Blutdruckmessung erfolgte zu Beginn und am Ende der Therapiephase. Es wurde das  
SpaceLabs 90207 der Firma Squibb verwendet. Die Auswertung erfolgte über die dazu-  
gehörige Auswerteeinheit am PC.

## 2.6.4. 24h-EKG, zur Ermittlung und Klassifizierung von Extrasystolen

Die Beurteilung der Auswirkung der beiden Therapieregime auf die Herzrhythmus-Störungen  
erfolgte über einen Vergleich der Veränderungen der Auftretenshäufigkeiten der verschie-  
denen Formen der ventrikulären und supraventrikulären Extrasystolen.

Das 24h-EKG wurde zu Beginn, nach 8 Wochen und zum Abschluß der Studie durchgeführt.  
Es wurde das MT 200 von Schiller verwendet, die Auswertung erfolgte über die dazu-  
gehörige Software am PC.

## 2.7. Statistik

### 2.7.1. Wirksamkeitsvariablen

Als primäre Wirksamkeitsvariable wurde die Veränderung der linksventrikulären Wanddicke nach einer 16wöchigen Therapiephase im Vergleich zu den Werten vor Therapiebeginn festgelegt. Dabei wurde zunächst der Mittelwert aus den Einzelwerten der 3 Ebenen je Patient und MR-Untersuchung bestimmt.

Als sekundäre Wirksamkeitsvariablen wurden nach 16wöchiger Therapie die Veränderungen der folgenden Größen im Vergleich zu den Baselinewerten herangezogen:

- linksventrikuläre Wanddicke (Werte der Ebenen 1 bis 3 jeweils getrennt)
- Septumdicke (Mittelwert aus den Meßstrecken 1 bis 3)
- Blutdruck (manuelle Messung)
- 24h-Blutdruckmessung
- Pulsfrequenz (manuelle Messung)
- Häufigkeit des Auftretens von Extrasystolen im 24h-EKG
- Allgemeine Beurteilung der Wirksamkeit durch den Prüfarzt

### 2.7.2. Studienpopulationen

Die Intention-to-treat (ITT) Population umfasste alle randomisierten Patienten mit einer Magnetresonanztomographie zu Therapiebeginn sowie mindestens einer MRT unter Therapie (nach 8 Wochen und / oder nach 16 Wochen).

Alle Patienten der ITT-Population, die keine bedeutenden Protokollabweichungen aufwiesen, wurden in die Per-Protokoll-Population eingeschlossen.

### 2.7.3. Wirksamkeitsanalyse

Der Vergleich der Änderungen (Endwert versus Baselinewert) der beiden Therapiegruppen bezüglich der primären Wirksamkeitsvariablen (linksventrikuläre Wanddicke) führten wir mit Hilfe des t-Tests für unverbundene Stichproben durch. Zur Überprüfung der Modellvoraussetzungen wurden die Werte zunächst mit Hilfe des Shapiro-Wilks-Tests auf Normalverteilung getestet. Da die Hypothese der Normalverteilung (auf 10 % - Niveau) abgelehnt wurde, kam der Wilcoxon Rangsummen-Test als nichtparametrisches Verfahren zur Anwendung. Alle anderen Tests wurden auf dem 5 % - Niveau durchgeführt. Entsprechende 90 %- und 95 %-Konfidenzintervalle wurden bestimmt.

Die Analyse der sekundären Wirksamkeitsvariablen erfolgte im explorativen Sinne, die p-Werte sind rein deskriptiv zu bewerten. Für den Vergleich der Therapiegruppen kamen ebenfalls der Wilcoxon Rangsummen-Test bzw. der exakte Test nach Fischer zur Anwendung. Entsprechende 90 %- und 95 % - Konfidenzintervalle wurden bestimmt.

### 2.7.4. Statistische Begründung des Stichprobenumfangs

Der Vergleich der Therapiegruppen bzgl. der primären Zielvariablen erfolgte mit Hilfe des zweiseitigen t-Tests für unverbundene Stichproben. Als klinisch relevant wurde ein therapiebedingter Unterschied zwischen den Wanddicke-Mittelwerten der Therapieregime in Höhe einer Standardabweichung angesehen. Auf der Basis dieser Angaben sowie eines  $\alpha$ -Fehlers  $\alpha = 0,05$  (zweiseitig) und eines  $\beta$ -Fehlers  $\beta = 0,15$  (Power 85 %) wurde eine notwendige Fallzahl von 20 Patienten pro Therapiegruppe bestimmt. Die Gesamtzahl der in die Studie aufzunehmenden Patienten betrug somit 40.