

**Aus der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin,  
Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum und Campus Charité Mitte**

**DISSERTATION**

**Eine prospektiv-randomisierte, doppelblinde Evaluation von  
Furosemid und Torasemid in der Therapie der postkapillären  
pulmonalen Hypertonie herzchirurgischer Patienten: Einflüsse  
auf Endothelin-1- und Angiotensin-II-Spiegel und Parameter  
der Hämodynamik nach oraler Applikation**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

**Hannes Schenk**

**aus: Dresden**

Datum der Promotion: 4. September 2015

# Inhaltsverzeichnis

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b> .....	<b>II</b>
<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>V</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VII</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>IX</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>XI</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>XIII</b>
<b>1. EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
<b>2. FRAGESTELLUNG</b> .....	<b>6</b>
<b>3. STUDIENDESIGN</b> .....	<b>7</b>
3.1 Allgemeines .....	7
3.2 Zielparameter .....	7
3.3 Patienten .....	8
3.4 Studienmedikation .....	9
3.5 Studienablauf .....	9
<b>4. MATERIALIEN UND METHODEN</b> .....	<b>12</b>
<b>4.1 Bestimmung von Angiotensin II und Endothelin-1</b> .....	<b>12</b>
4.1.1 Allgemeines .....	12
4.1.2 Bestimmungsmethode .....	12
4.1.3 Methodik des RIA .....	12
4.1.4 Inhalt des RIA-Kits .....	13
4.1.5 Ablauf des RIA .....	13

4.1.6 Berechnung der Ergebnisse des RIA.....	14
4.1.7 Methodik des ELISA.....	16
4.1.8 Inhalt des ELISA-Kits .....	16
4.1.9 Ablauf des ELISA .....	17
4.1.10 Berechnung der Daten des ELISA.....	17
<b>4.2 Bestimmung der Parameter der Hämodynamik.....</b>	<b>17</b>
4.2.1 Nicht-invasiv bestimmte Parameter .....	17
4.2.2 Invasiv bestimmte Parameter .....	17
<b>4.3 Statistik.....</b>	<b>20</b>
4.3.1 Primäre Zielkriterien .....	20
4.3.1.1 Statistik zum Test auf Verteilung der Daten .....	20
4.3.1.2 Statistik zur Beschreibung der Daten .....	20
4.3.1.3 Statistik zum Test auf Unterschiede .....	21
Intergruppenvergleich.....	21
Intragruppenvergleich.....	21
4.3.2 Sekundäre Zielkriterien .....	22
<b>5. DARSTELLUNG DER STUDIENERGEBNISSE.....</b>	<b>23</b>
<b>5.1 Basischarakteristika.....</b>	<b>23</b>
<b>5.2 Primäre Zielkriterien.....</b>	<b>25</b>
5.2.1 Beschreibung der erhobenen Daten .....	25
Endothelinkonzentrationen der Furosemidgruppe.....	25
arterielles Endothelin .....	25
gemischt-venöses Endothelin .....	25
Endothelinkonzentrationen der Torasemidgruppe.....	25
arterielles Endothelin .....	25
gemischt-venöses Endothelin-1 .....	25
Angiotensin-II-Konzentrationen der Furosemidgruppe.....	27
arterielles Angiotensin II .....	27
gemischt-venöses Angiotensin II.....	27
Angiotensin-II-Konzentrationen der Torasemidgruppe .....	28
arterielles Angiotensin II .....	28
gemischt-venöses Angiotensin II.....	28
5.2.2 Statistische Zusammenhänge.....	30
Intergruppenvergleich .....	30
Intragruppenvergleich .....	31
<b>5.3 Sekundäre Zielkriterien.....</b>	<b>32</b>

5.3.1 Beschreibung der erhobenen Daten .....	32
Druckwerte in der Furosemidgruppe .....	32
Druckwerte in der Torasemidgruppe .....	32
Kardiale Indices in der Furosemidgruppe .....	36
Kardiale Indices in der Torasemidgruppe .....	36
Dopamin, Nitroglycerin und Urinausscheidung .....	40
5.3.2 Statistische Zusammenhänge .....	40
Intergruppenvergleich .....	41
Intragruppenvergleich .....	42
<b>6. DISKUSSION .....</b>	<b>43</b>
<b>6.1 Primäre Zielparameter .....</b>	<b>43</b>
6.1.1. Wirkung von Torasemid und Furosemid auf die Angiotensin-II-Plasmaspiegel .....	43
6.1.2. Wirkung von Torasemid vs. Furosemid auf die Endothelin-1-Plasmaspiegel .....	46
<b>6.2 Sekundäre Zielparameter .....</b>	<b>49</b>
<b>6.3 Klinische Anwendbarkeit .....</b>	<b>53</b>
<b>6.4 Methodendiskussion .....</b>	<b>54</b>
<b>7. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>58</b>
<b>8. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG .....</b>	<b>66</b>
<b>9. LEBENS LAUF .....</b>	<b>67</b>
<b>10. ANTEILSERKLÄRUNG AN ETWAIGEN ERFOLGTEN PUBLIKATIONEN .....</b>	<b>68</b>
<b>11. DANKSAGUNG .....</b>	<b>69</b>

## Zusammenfassung

**Einleitung:** Veterinärmedizinische Untersuchungen zeigten, dass Torasemid, aber nicht Furosemid, die vasokonstriktorische Aktivität von Angiotensin II sowie die Angiotensin-II-vermittelte Proliferation der Gefäßmuskulatur reduziert. Zusätzlich wurde für beide Medikamente eine Hemmung der Endothelin-1-vermittelten Vasokonstriktion beschrieben. Beiden Mediatoren wird bei der Entwicklung der pulmonal-arteriellen Hypertonie eine zentrale Bedeutung beigemessen. Diese Pilotstudie untersuchte in einem doppelt verblindeten und randomisierten Studiendesign den Einfluss dieser Medikamente nach oraler Applikation auf die Angiotensin-II- und Endothelin-1-Konzentrationen sowie auf die globale und die pulmonalen Hämodynamik bei kardiochirurgisch operierten Patienten mit postkapillärer pulmonaler Hypertonie.

**Methodik:** Nach Zustimmung durch die Ethikkommission wurden 29 Patienten in die Studie eingeschlossen. Aufgrund des Ausschlusses von 8 Patienten ergab sich eine Verteilung von 10 Patienten in der Torasemid- und 11 Patienten in der Furosemidgruppe. Am ersten postoperativen Tag wurden die Studienmedikamente oral appliziert. Sowohl vor als auch 60 Minuten nach oraler Applikation wurden die Mediatorkonzentrationen im arteriellen sowie gemischt-venösen Blut bestimmt. Die Parameter der Hämodynamik (pulmonalarterieller Mitteldruck, Wedge-Druck, rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion, systemischer arterieller Mitteldruck, Herz-Zeit-Volumen, ZVD, Herzfrequenz) wurden simultan dokumentiert. Die Beschreibung der Messwerte erfolgte als Median und Quartile, für die statistische Auswertung wurde der Mann-Whitney-U-Test (Intergruppenvergleich) sowie der Wilcoxon- und der Friedman-Test (Intragruppenvergleich) benutzt.

**Ergebnisse:** Mit 16,3 pg/ml (IQR 12,2/30,7) war die arterielle Angiotensin-II-Konzentration in der Furosemidgruppe deutlich höher als die der Torasemidgruppe mit 9,7 pg/ml (IQR 5,6/12,6),  $p=0,009$ . Unterschiede bezüglich der Endothelin-1-Konzentrationen konnten nicht herausgearbeitet werden. Zusätzlich war das Herz-Zeit-Volumen in der Torasemidgruppe mit 6,3 l/min (IQR 5,8/7,7) gegenüber der Furosemidgruppe mit 5,9 l/min (IQR 4,9/6,9),  $p=0,021$  erhöht. Vor Studienmedikation bestanden beide Unterschiede nicht.

**Schlussfolgerung:** Korrespondierend zu den veterinärmedizinischen Voruntersuchungen erhöhte Furosemid im Vergleich zu Torasemid signifikant die arteriellen Angiotensin-II-Konzentrationen. Eine mögliche Erklärung könnte ein unterschiedlicher Einfluss der Studienmedikamente auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems sein, welcher in der Literatur auch beim Menschen beschrieben ist. Eine übereinstimmende Aussage bezüglich der Unterschiede der Schleifendiuretika findet sich hier allerdings nicht, so dass diese Pilotstudie Anlass zu weiteren Untersuchungen der Wirkung von Furosemid und Torasemid bei Patienten mit postkapillärer pulmonal-arterieller Hypertonie geben sollte, auch im Hinblick auf den von uns beschriebenen besseren Einfluss auf das Herz-Zeit-Volumen durch Torasemid.

## Abstract

**Introduction:** Experimental data have demonstrated that torasemide but not furosemide reduces the angiotensin-II-dependent vasoconstriction and the angiotensin-II-dependent proliferation of vascular myocytes. In addition it was shown that both loop diuretics inhibit the endothelin-1-dependent vasoconstriction. Endothelin-1 as well as angiotensin II has a central importance in the development of pulmonary hypertension. This study investigates if there are measurable differences between furosemide and torasemide according to the plasma-levels of both mediators and according to the parameters of pulmonary and global hemodynamics of patients with post capillary pulmonary hypertension after cardiac surgery in a double blind and randomized trial.

**Methods:** 29 patients were enrolled in this study after approval of the ethics committee. 8 had to be excluded from the study so that we included 10 patients in the torasemide- and 11 patients in the furosemide-group. The study-medication was given orally at the first day after surgery. The plasma-levels of angiotensin II and endothelin-1 were analysed before and 60 minutes after oral administration, hemodynamic parameters (mean pulmonary artery pressure, pulmonary capillary wedge pressure, right ventricular ejection fraction, mean arterial pressure, cardiac output, central venous pressure, heart rate) were documented simultaneously. All data were expressed as median and quartiles. The Mann-Whitney U test was used for intergroup analysis. Intragroup analysis was performed with Wilcoxon rank-sum and Friedman's test.

**Results:** Furosemide increased significantly arterial angiotensin-II-levels compared with the torasemide group,  $p=0,009$ . There were no differences according to the endothelin-1-levels. Torasemide increased significantly the cardiac output in comparison to furosemide,  $p=0,021$ . Both differences did not exist before oral administration.

**Conclusion:** Corresponding to experimental data, furosemide increased significantly arterial angiotensin-II-levels compared to torasemide. A possible explanation could be the different influence on the renin-angiotensin-aldosterone system of loop diuretics, which is described in man, too. Since there are no concurrent statements regarding to the influence of loop diuretics to this system in man, this study should give cause for further investigation of the effects of torasemide and furosemide in patients with post

capillary pulmonary hypertension, especially concerning the described significant increase of cardiac output by torasemide.



## Abkürzungsverzeichnis

<sup>123</sup> I-MIBG	<sup>123</sup> Iod-Metaiodbenzylguanidin
ACE	Angiotensin-Converting-Enzym
ACVB	Aortokoronarer Venenbypass
AT-1-Rezeptor	Angiotensin-II-Rezeptor Subtyp I
BMI	Body-Mass-Index
BNP	Brain Natriuretic Peptide
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CO	Cardiac output, Herz-Minuten-Volumen
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CPM	Zerfall pro Minute
CVP	Central venous pressure, Zentraler Venendruck
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GAR	Goat-Anti-Rabbit
HR	Heartrate, Herzfrequenz
IQR	Interquartil range, Interquartilabstand
KE	Klappenersatz-Operation
KHK	Koronare Herzkrankheit
LVEDV	linksventrikuläres enddiastolisches Volumen
LVESV	linksventrikuläres endsystolisches Volumen
MAP	Systemischer arterieller Mitteldruck

MPAP	Pulmonal-arterieller Mitteldruck
MWU	Mann-Whitney-U-Test
NA	Noradrenalin
NRS	Normal Rabbit Serum
NYHA	New York Heart Association
PAH	Pulmonal-arterielle Hypertonie
PAPD	diastolischer pulmonalarterieller Druck
PAPS	systolischer pulmonalarterieller Druck
PCWP	Pulmonaler kapillärer Verschlussdruck – „Wedge-Druck“
PRA	Plasma-Reninaktivität
PVR	Pulmonary vascular resistance, Pulmonaler Gefäßwiderstand
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RIA	Radioimmunoassay
RVEDV	Rechtsventrikuläres enddiastolisches Volumen
RVEF	Rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion
RVESV	Rechtsventrikuläres endsystolisches Volumen
SVR	Systemic vascular resistance, systemischer Gefäßwiderstand
t1, t2	verschiedene Messzeitpunkte der Studie
$X_{0,25}$	erstes Quartil
$X_{0,75}$	drittes Quartil

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Bestückung der einzelnen Polysteren-Röhrchen für die RIA-Reaktion .....	13
Abb. 2	Eichkurve, ermittelt durch Aktivität des Standardpeptids.....	15
Abb. 3	Beispiel für die Errechnung der Mediatorkonzentration anhand eines gemessenen B/B <sub>0</sub> -Koeffizienten .....	15
Abb. 4	Schematische Darstellung der Einzelschritte der ELISA-Reaktion.....	16
Abb. 5	Stewart-Hamilton-Methode zur Berechnung des Herz-Zeit-Volumens.....	19
Abb. 6	Darstellung der arteriellen Endothelin-1-Konzentrationen beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot.....	26
Abb. 7	Darstellung der gemischt-venösen Endothelin-1-Konzentrationen beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot.....	27
Abb. 8	Darstellung der arteriellen Angiotensin-II-Konzentrationen beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot.....	28
Abb. 9	Darstellung der gemischt-venösen Angiotensin-II-Konzentrationen beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot.....	29
Abb. 10	Darstellung des Intergruppenvergleichs der arteriellen Angiotensin-II-Konzentration zum Messzeitpunkt t <sub>2</sub> als Boxplot .....	31
Abb. 11	Darstellung des MPAP beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot .....	33
Abb. 12	Darstellung des MAP beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot .....	34
Abb. 13	Darstellung des CVP beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot .....	35

Abb. 14	Darstellung des PCWP beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot .....	36
Abb. 15	Darstellung des CO beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot .....	37
Abb. 16	Darstellung der RVEF beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot .....	38
Abb. 17	Darstellung der HR beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot .....	39
Abb. 18	Darstellung des Intergruppenvergleichs des CO zum Messzeitpunkt t2 als Boxplot .....	42

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Klassifikation der pulmonalen Hypertonie nach Dana Point.....	1
Tabelle 2	Einteilung der PAH nach hämodynamischen Kriterien.....	2
Tabelle 3	Basischarakteristika der Patienten beider Gruppen .....	24
Tabelle 4	Mediatorkonzentrationen als Median und IQR beider Gruppen zu beiden Messzeitpunkten sowie zugehörige statistische Zusammenhänge .....	30
Tabelle 5	Dopamin, Nitroglycerin sowie Urinvolumina als Median und IQR beider Gruppen zu beiden Messzeitpunkten sowie zugehörige statistische Zusammenhänge.....	40
Tabelle 6	Sekundäre Zielparameter als Median und IQR beider Gruppen zu beiden Messzeitpunkten sowie zugehörige statistische Zusammenhänge .....	41

# 1. Einleitung

Die medikamentöse Behandlung der pulmonal-arteriellen Hypertonie (PAH) unterlag in den letzten Jahren einem starken Wandel. Das zunehmende Verständnis der Pathophysiologie hat daran entscheidenden Anteil. Pathogenetisch können unterschiedliche Ursachen zu der Entwicklung der PAH führen, die heute gebräuchliche Einteilung entsprechend der Grunderkrankung nach Dana Point ist in Tabelle 1 dargestellt.

Klassifikation	Grunderkrankung
Dana Point 1, pulmonal-arterielle Hypertonie	chronische Veränderungen im pulmonalen Strombett (idiopathisch/hereditär, medikamenten-assoziiert)
Dana Point 2, pulmonale Hypertonie bei Linksherzerkrankungen	linksatriale bzw. linksventrikuläre Herzerkrankungen linksseitige valvuläre Herzerkrankungen
Dana Point 3, pulmonale Hypertonie bei Erkrankungen des respiratorischen Systems und/oder Hypoxämie	COPD interstitielle Lungenerkrankungen schlafbezogene Atemstörungen Hypoventilationssyndrome angeborene Lungenerkrankungen
Dana Point 4, pulmonale Hypertonie infolge chronischer thrombotischer oder embolischer Prozesse	Obstruktion von Lungenarterien (Tumormaterial, Parasiten, Fremdkörper) Lungenembolien
Dana Point 5, pulmonale Hypertonie unklarer oder multifaktorieller Genese	Systemerkrankungen (z.B. Sarkoidose, Histiozytosis X) Metabolische Erkrankungen (z.B. Glykogenspeichererkrankungen, Schilddrüsenerkrankungen) Andere Erkrankungen (z.B. dialysepflichtige terminale Niereninsuffizienz)

**Tabelle 1 Klassifikation der pulmonalen Hypertonie nach Dana Point[15]**

Die Diagnosestellung der PAH erfolgt nach hämodynamischen Kriterien. Eine PAH gilt gesichert bei einer Erhöhung des mittleren pulmonalarteriellen Mitteldrucks (MPAP) über 25mmHg [15]. Ursächlich für den Anstieg des MPAP können 4 hämodynamische Pathologien sein [46], welche in Tabelle 2 zusammengefasst dargestellt sind.

Hämodynamische Einteilung	Zugrundeliegender Pathomechanismus
1. Steigerung des Gefäßwiderstands im pulmonalarteriellen Gefäßbett (Präkapilläre PAH)	angeborene oder erworbene ("primären") Formen - Punkt 1 der Dana-Point-Klassifikation  persistierende Neugeborenen-PAH  chronische Hypoxämien (Aufenthalt in großen Höhen, Lungenerkrankungen wie COPD oder Sarkoidose)  akute oder chronische Okklusion der pulmonalarteriellen Gefäße bei Lungenarterienembolie oder externe Kompression durch Raumforderungen
2. Steigerung des Gefäßwiderstands im pulmonalvenösen Gefäßbett (Postkapilläre PAH)	diastolische und systolische Linksherzinsuffizienz  Vitien der Aorten- und Mitralklappe
3. Mischformen aus 1. und 2	chronische Linksherzinsuffizienz mit Rückstau ins pulmonalarterielle Gefäßbett
4. Erhöhung des Blutflusses im pulmonalarteriellen Strombett	Vitien mit Links-Rechts-Shunt (Vorhofseptum- und Ventrikelseptumdefekt, persistierender Ductus arteriosus)  High-output cardiac failure  Lebererkrankungen  chronische Anämie

**Tabelle 2 Einteilung der PAH nach hämodynamischen Kriterien [46]**

Aktuell ist davon auszugehen, dass bei der pathophysiologischen Entstehung der Erkrankung weniger die Vasokonstriktion als vielmehr vaskuläre Umbauprozesse, das

sogenannte Remodelling, die entscheidende Rolle spielen [7]. Hierunter versteht man Veränderungen aller Schichten der Gefäßwand, vor allem Proliferation und Verdickungen der Media- und der Intimazellen und die damit verbundene Rarifizierung des Gefäßvolumens und Zunahme des Gefäßwiderstandes.

Dem von Yanagisawa et al. im Jahre 1988 entdeckten Endothelinsystem wird eine wichtige Rolle als Mediator der Entwicklung der PAH zugeschrieben [45]. Zum einen wirkt Endothelin-1 über den Endothelin-A-Rezeptor in der pulmonalen Strombahn als direkter Vasokonstriktor [3], zum anderen konnte auch ein mitogener und proliferativer Effekt auf das Gefäßendothel und auf die glatte Muskulatur vaskulärer Muskelzellen nachgewiesen werden [22]. Giaid et al. zeigten darüber hinaus, dass Patienten mit PAH eine verstärkte Endothelin-1-Aktivität vorweisen [12]. Die Behandlung der PAH mittels Endothelin-Rezeptor-Antagonisten berücksichtigt diese Zusammenhänge und zeigt auch deutliche Erfolge:

- Li et al. konnten nachweisen, dass der Endothelin-Rezeptor-Antagonist BQ 123 die Entwicklung einer PAH günstig beeinflusst [31]
- Ohlstein et al. beschrieben eine antagonisierende Wirkung von BQ 123 auf die mitogenen Effekte des Endothelin-1 [44]

Als weiterer wichtiger Aktivator bei der Entstehung der PAH wird in der Literatur der vasoaktive Mediator Angiotensin II angesehen. Angiotensin II wirkt als potenter Vasopressor und hat einen wichtigen Einfluss auf die Pathogenese der PAH [22]. Ähnlich dem Endothelin-1 wurde bei Angiotensin II auch eine Stimulation der Proliferation der pulmonalen vaskulären Myozyten über den Angiotensin-II-Rezeptor Subtyp I (AT-1-Rezeptor) nachgewiesen [40]. Hubloue et al. konnten im Tierversuch zeigen, dass sich durch eine selektive Blockade des AT1-Rezeptors durch Candesartan die Hypoxie-induzierte Vasokonstriktion inhibieren lässt [17]. Bei Patienten mit chronisch obstruktiver Lungenerkrankung (COPD) konnte eine deutliche Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) und eine essentielle Rolle dieses Systems in der Entwicklung der COPD-bedingten PAH nachgewiesen werden [10]. Im Tierversuch zeigte sich eine erhöhte Aktivität der Angiotensin-bildenden Protease (Angiotensin-Converting Enzym, ACE) bei Hypoxie-induzierter PAH [39]. Des Weiteren zeigten Kanno et al. ebenfalls im Tierversuch, dass sich die Entwicklung einer Monocrotalin-induzierten PAH



durch die Gabe von ACE-Hemmern unterdrücken lässt [20]. Müller et al. beschrieben eine gesteigerte Aktivität des ACE auch bei Menschen mit PAH [41].

Aufgrund dieser Erkenntnisse über den Einfluss von Angiotensin II und Endothelin-1 entwickelten sich in den letzten Jahre zunehmend therapeutische Ansätze zur Behandlung der PAH, die an diesen Systemen ansetzen:

- Endothelin-Rezeptor-Antagonisten [15]
- ACE-Hemmer und Sartane bei postkapillärer PAH [15]

Neben diesen Medikamenten spielen allerdings bei der PAH kardialer Genese immer noch Medikamente, die der Behandlung der Herzinsuffizienz dienen, eine wichtige therapeutische Rolle, so auch die in dieser Studie eingesetzten Schleifendiuretika Furosemid und Torasemid.

Eine hämodynamische Beeinflussung der Lungenstrombahn durch Schleifendiuretika bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz konnte mehrfach gezeigt werden. Isbary et al. beschrieben eine Reduktion des pulmonalarteriellen (MPAP) und des pulmonalen kapillären Verschlussdrucks (PCWP) durch Furosemid und Torasemid [18], Podszus et al. beschrieben ähnliche Effekte für Torasemid allein bei der Anwendung an Patienten mit erworbener Herzinsuffizienz [47]. 1997 beschrieben Manohar et al. im Tierversuch an Vollblutpferden einen statistisch signifikanten Abfall des MPAP und des PCWP nach der Gabe verschiedener Dosen von Furosemid [38].

Aufgrund des beschriebenen Einflusses von Angiotensin II und Endothelin-1 als Vasokonstriktoren der pulmonalarteriellen Strombahn sowie als Stimulatoren des vaskulären Remodellings stellt sich nun die Frage, ob die Effekte der Schleifendiuretika an der Lungenstrombahn allein aufgrund der diuretischen und damit Volumen-reduzierenden Wirkung beruhen, oder aber ob Furosemid und Torasemid möglicherweise Einfluss auf den Stoffwechsel der Mediatoren Endothelin-1 und Angiotensin II haben.

Hintergrund dieser Annahme sind Befunde von Fortuno und Muniz, welche 2001 nachweisen konnten, dass Torasemid die vasokonstriktorische Wirkung von Angiotensin II an der Aorta hypertensiver Ratten inhibiert [9]. In einem ähnlichen Versuchsaufbau zeigten sie darüber hinaus, dass Torasemid, aber nicht Furosemid, die Angiotensin-II-induzierte Steigerung der Proteinsynthese der glatten Gefäßmuskulatur einschränkt

[42]. Des Weiteren zeigten sie wiederum in derselben Versuchsanordnung, dass sowohl Furosemid als auch Torasemid die vasokonstriktorische Aktivität von Endothelin-1 hemmen [8].

Die für unsere Arbeit als Referenz herangezogenen Publikationen bezüglich der unterschiedlichen Beeinflussung der vasokonstriktorischen Aktivität von Angiotensin II und Endothelin-1 durch Torasemid und Furosemid beruhen auf Erkenntnissen aus Tierversuchen [9, 42, 8]. Die Wirkung der Schleifendiuretika auf die Hämodynamik des kleinen Kreislaufs ist sowohl am Menschen [47] als auch im Tiermodell [37, 38] vorbeschrieben.

Die hier vorgestellte Pilotstudie untersuchte in einem randomisierten und prospektiven Design die Wirkung der Schleifendiuretika auf die Aktivität oben genannter Vasokonstriktoren (Endothelin-1 und Angiotensin II) sowie auf die hämodynamischen Parameter des kleinen und des systemischen Kreislaufs bei Patienten mit postkapillärer PAH.

## 2. Fragestellung

Mit dieser Untersuchung soll die Frage beantwortet werden, ob der beim Menschen bereits beschriebene direkte vasorelaxierende Effekt der Schleifendiuretika auf die pulmonalarterielle Strombahn in Zusammenhang mit der tierexperimentell erwiesenen Wirkung auf das Angiotensin-II- bzw. auf das Endothelin-1-System steht und in wie weit dies anhand der Plasmaspiegel von Angiotensin II und Endothelin-1 nach der Gabe der Studienmedikamente verifizierbar ist. Dabei gehen wir auch der Frage nach, ob es eine unterschiedliche Beeinflussung der hämodynamischen Parameter des pulmonalarteriellen und auch des systemischen Kreislaufs durch die Studienmedikamente bei Patienten mit postkapillärer PAH gibt und ob etwaige humorale und hämodynamische Effekte der Studienmedikamente in Zusammenhang stehen.

## **3. Studiendesign**

### **3.1 Allgemeines**

Diese Arbeit beruht auf Vorkenntnissen, die zum großen Teil in veterinärmedizinischen Studien gewonnen wurden. So konnten in den Vorarbeiten aufgrund der tierexperimentellen Versuchsanordnung immunhistologische und molekularbiologische Verfahren einfacher an gewonnenen Zellkulturen in vitro durchgeführt werden [9, 42, 8], was bei unserer Versuchsanordnung (Versuchsperson Mensch) nicht möglich war. Daher versuchten wir den Einfluss der Schleifendiuretika auf das Angiotensin-II- und Endothelin-1-System mittels direkter Messung der Konzentrationen der Mediatoren in vivo, und zwar im arteriellen und gemischtvenösen (pulmonalarteriellen) Blut zu untersuchen.

Aufgrund der Tatsache, dass sich unsere Fragestellung zum großen Teil auf Erkenntnisse aus der Veterinärmedizin begründet, verzichteten wir auf eine Fallzahlbestimmung und entschlossen uns zum Design als Pilotstudie.

Sie wurde als randomisierte Doppelblindstudie geplant, am 17. April 2001 der Ethikkommission der Charité Berlin vorgestellt und durch diese genehmigt und in diesem Design als monozentrische Untersuchung durchgeführt.

### **3.2 Zielparameter**

Als primäre Zielparameter wurden die Plasmaspiegel von Endothelin-1 und Angiotensin II im arteriellen und gemischtvenösen (gewonnen aus dem Pulmonalarterienkatheter) Blut untersucht. Zu jedem definierten Messzeitpunkt erfolgte eine simultane Blutentnahme aus dem arteriellen Zugang und aus dem Pulmonalarterienkatheter (siehe Abschnitt Studienablauf).

Die sekundären Zielparameter setzten sich aus den einzelnen Parametern der Hämodynamik zusammen:

- Herzfrequenz (HR)
- mittlerer pulmonal-arterieller Druck (MPAP)

- rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion(RVEF)
- systemischer arterieller Mitteldruck (MAP)
- Herz-Zeit-Volumen (CO)
- zentraler Venendruck (CVP)
- Wedge-Druck(PCWP)

Die sekundären Parameter wurden parallel zu den Blutentnahmen zu definierten Messzeitpunkten aufgenommen und dokumentiert (siehe Abschnitt Studienablauf).

### **3.3 Patienten**

Die in unserer Studie eingeschlossenen Patienten entwickelten alle eine PAH infolge einer Linksherzinsuffizienz, bedingt durch eine Erkrankung des Klappenapparates, einer koronaren Herzerkrankung (KHK) oder Kombination von beidem. Nach der Dana-Point-Klassifikation entsprachen unsere Patienten der Gruppe 2, nach hämodynamischer Einteilung lag bei unseren Patienten eine postkapilläre oder eine Mischform aus prä- und postkapillärer PAH vor.

Als Einschlusskriterium galt eine anamnestisch bekannte PAH mit einem MPAP zwischen 25 und 40 mmHg aufgrund einer strukturellen Herzerkrankung (bekanntes Klappenvitium oder Linksherzinsuffizienz) und die Vollendung des 18. Lebensjahres.

Die Ausschlusskriterien waren:

- Ablehnung des Patienten
- MPAP außerhalb des Einschlussbereichs
- Linksventrikuläre Ejektionsfraktion kleiner 40%
- Terminale Niereninsuffizienz
- Unvollständige Datenerhebung
- Schwangerschaft
- Unverträglichkeit gegen das Studienmedikament

- akute kardiale Dekompensation mit Katecholaminpflichtigkeit bzw. mechanischer Kreislaufunterstützung (z.B. intraartoale Ballonpumpe, left ventricular assist device) vor Gabe der Studienmedikation

Als Abbruchkriterien galten:

- postoperative Komplikationen
  - Rethorakotomie
  - Katecholaminpflichtiges Herzversagen
  - Postoperative pulmonal-hypertone Entgleisung
  - Akutes postoperatives Nierenversagen
  - Transfusionspflichtiger Hämoglobinabfall mit einem Transfusionsaufkommen von mehr als 4 Erythrozytenkonzentraten
  - Pneumonie
  - Tod des Probanden

### 3.4 Studienmedikation

Die Patienten wurden mit Hilfe einer computergenerierten Randomliste einer Medikamentengruppe (Torasemid– bzw. Furosemidgruppe) zugeteilt. Die verabreichten Dosierungen der Studienmedikamente waren dosisäquivalent:

- 40mg Furosemid bzw. 20mg Torasemid intravenös [2, 30]
- 80mg Furosemid bzw. 20mg Torasemid per os [2, 30]

Während der Messperiode wurden den Patienten keine Volumengaben oder Boli vasoaktiver Substanzen, die zu einer Beeinflussung der hämodynamischen Messparameter hätten führen können, verabreicht. Die Gabe der Studienmedikation und die studienbezogenen Messungen wurden vor der Gabe der patienteneigenen Medikation durchgeführt, um mögliche Arzneimittelinteraktionen sowie Veränderungen der gemessenen Parameter auszuschließen.

### 3.5 Studienablauf

Alle Patienten sind unmittelbar vor der Studie einer herzchirurgischen Operation unterzogen worden und wurden entsprechend der klinikinternen Richtlinie postoperativ intubiert und beatmet auf die Intensivstation verlegt, wo dann die Studienmedikamente zu-

nächst intravenös appliziert wurden. Die intravenöse Applikation erfolgte als kontinuierliche Infusion mittels Perfusor über 30 Minuten. Am darauffolgenden Tag wurde nach erfolgreicher Extubation bei Spontanatmung die Studienmedikamente oral verabreicht. Dem Studiendesign als doppelblinde Studie entsprechend, erfolgte die Verblindung durch die Apotheke der Charité Campus Mitte. Der die Studienmedikation verabreichende Studienarzt der Klinik für Anästhesiologie kannte nur eine Studiennummer, die Entblindung erfolgte nach Abschluss der experimentellen Phase.

Wir definierten für unsere Studie 4 Messzeitpunkte, zu denen sowohl die Plasmaspiegel von Endothelin-1 und Angiotensin II als auch die Parameter der Hämodynamik gemessen und dokumentiert wurden:

Die erste Messung galt als Basismessung. Anschließend wurde das entsprechende Studienmedikament intravenös appliziert und 30 Minuten später, das heißt nach Abschluss der intravenösen Applikation die zweite Messung vorgenommen. Am darauffolgenden Tag erfolgte die orale Applikation. Vor der oralen Medikamentengabe wurde wiederum ein Basiswert gemessen, 60 Minuten nach der oralen Applikation nahmen wir dann die vierte Messung vor.

Die Studie war als Grundlage für 2 Dissertationen geplant. Es sollte zu jeder Applikationsform eine Promotion erfolgen. Der Ergebnis- und Diskussionsteil dieser Arbeit beschreibt bzw. diskutiert ausschließlich die ermittelten Daten vor und nach der oralen Gabe, das heißt die 3. und 4. Messung der Studie. Diese Messzeitpunkte bezeichneten wir, abweichend zu der Veröffentlichung der Studie [61] als t1 und t2. Der Zeitabstand zwischen t1 und t2 wurde mit 60 Minuten so gewählt, dass die Studienmedikamente entsprechend ihrer Pharmakokinetik den maximalen Serumspiegel erreichen konnten [2].

Das zu den verschiedenen Messzeitpunkten gewonnene EDTA-Blut wurde sofort gekühlt und umgehend das Plasma abzentrifugiert. Die zellulären Bestandteile wurden verworfen und das Plasma in Eppendorfbehältern bei -70°C (Angiotensin II) bzw. bei -20°C (Endothelin-1) bis zur Auswertung zwischengelagert.

Die Parameter der Hämodynamik (siehe Abschnitt 3.2) wurden zu jedem Messzeitpunkt parallel zur Blutentnahme dokumentiert. Der PCWP wurde zu jedem Messzeitpunkt

dreimal bestimmt, der am meisten abweichende Wert verworfen und aus den verbleibenden Werten das arithmetische Mittel errechnet und dokumentiert.



## **4. Materialien und Methoden**

### **4.1 Bestimmung von Angiotensin II und Endothelin-1**

#### **4.1.1 Allgemeines**

Angiotensin II und Endothelin-1 wurde aus zu vordefinierten Zeitpunkten (t1 und t2) entnommenen EDTA-Proben gemessen. Es erfolgten zu jedem Messzeitpunkt eine Blutentnahmen aus dem arteriellen und aus dem pulmonal-arteriellem (gemischtvenösem) Stromgebiet. Die Mediatorkonzentrationen wurden dann vom Labor doppelt bestimmt und der Mittelwert gebildet, welchen wir zur statistischen Auswertung heranzogen.

#### **4.1.2 Bestimmungsmethode**

Die Bestimmung der Konzentrationen für Angiotensin II erfolgte mittels Radioimmunoassay (RIA ED 29051, Eurodiagnostica, Arnheim, Niederlande), die Endothelin-1-Konzentrationen wurden mittels eines Enzyme-linked Immunosorbent Assay-Kits (ELISA, Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, Halstenbek, Deutschland, BI-20052, BI 20072) ermittelt. Die Messungen wurden in enger Kooperation mit dem Labor Dr. F. P. Armbruster Immundiagnostik AG (Wiesenstraße 4, D-64625 Bensheim) durchgeführt.

#### **4.1.3 Methodik des RIA**

Bei dem verwendeten RIA-Kit handelt es sich um ein indirekt vergleichendes RIA. Das Testprinzip beruht auf der Konkurrenz des Kit-internen, radioaktiv markierten Testpeptids (<sup>125</sup>I-Peptid) und dem zu untersuchenden Mediator (Angiotensin II) um peptidspezifische Antikörper (gewonnen aus Kaninchen-Serum).

Liegen mehr Mediator-Peptide vor, binden diese vermehrt an die bekannte und limitierte Anzahl der Antikörper und verringern somit die Anzahl der an das Testpeptid gebundenen Antikörper. Die Konzentration der Testpeptid-Antikörper-Komplexe lässt sich radiologisch messen und anhand dieser Konzentration kann anschließend indirekt die Konzentration des zu untersuchenden Mediators abgeleitet werden [6, 50].

#### 4.1.4 Inhalt des RIA-Kits

Das Kit zur Bestimmung des zu messenden Peptids enthält verschiedene Bestandteile [6]:

- 50 ml RIA-Puffer
- 12,8 µg Standardpeptid
- 13 ml peptidspezifisches Kaninchenantiserum (primärer Antikörper)
- 1,5 µg <sup>125</sup>I-Peptid
- 13 ml anti-Kaninchen IgG-Serum gewonnen aus Ziegen (Goat-Anti-Rabbit/ GAR)
- 13 ml normales Kaninchenserum (Normal Rabbit Serum/ NRS)

#### 4.1.5 Ablauf des RIA

Zunächst wird der RIA-Puffer mit destilliertem Wasser verdünnt und sowohl das Standard-Peptid als auch das peptidspezifische Kaninchenantiserum mit der Pufferlösung aufgelöst. Im Anschluss werden die Proben mit dem RIA-Puffer versetzt.

Abbildung 1 stellt die Bestückung der Polystyren-Röhrchen, in denen die RIA-Reaktion abläuft, sowie die einzelnen Arbeitsschritte der Nachweismethode schematisch dar. Erwähnenswert ist hier, dass die 1. und 2. Inkubation bei 4° C erfolgt, die 3. Inkubation hingegen bei Raumtemperatur. Die Zentrifugation wird über 20 Minuten bei 4° C mit 3000 rpm durchgeführt.

Röhrchen NSB 1 und 2	Röhrchen TB1 und 2	Röhrchen Nr.7-22(Standard)	Röhrchen Nr.23-125 (Test)
200µl RIA-Puffer Inkubation 16-24h	100µl RIA-Puffer 100µl Antikörper Inkubation 16-24h	100µl Standard-Peptid 100µl Antikörper Inkubation 16-24h	100µl Probe 100µl Antikörper Inkubation 16-24h
100µl Tracer Inkubation 16-24h	100µl Tracer Inkubation 16-24h	100µl Tracer Inkubation 16-24h	100µl Tracer Inkubation 16-24h
100µl GAR 100µl NRS Inkubation 1,5h	100µl GAR 100µl NRS Inkubation 1,5h	100µl GAR 100µl NRS Inkubation 1,5h	100µl GAR 100µl NRS Inkubation 1,5h
500µl Puffer Zentrifugation	500µl Puffer Zentrifugation	500µl Puffer Zentrifugation	500µl Puffer Zentrifugation

Abb. 1 Bestückung der einzelnen Polystyren-Röhrchen für die RIA-Reaktion

Der als „tracer-Solution“ bezeichnete Zusatz enthält das in Pufferlösung aufgelöste radioaktiv markierte Testpeptid ( $^{125}\text{-I}$ -Peptid), „GAR“ enthält das in Puffer gelöste anti-Kaninchen-IgG-Serum aus der Ziege, „NRS“ steht für das in Puffer gelöste normale Kaninchen-Serum.

Für die Bestimmung wichtig ist, dass sowohl das  $^{125}\text{-I}$ -Peptid (Tracer) als auch die Mediatoren (Probe) um den primären Antikörper konkurrieren und mit ihm einen Immunkomplex bilden. Dies findet während des ersten und zweiten Inkubationsschrittes statt.

Nach stattgehabter Antigen-Antikörperreaktion müssen die Immunkomplexe von dem restlichen Material getrennt werden („Waschen“). Zu diesem Zweck wurde bei unserem Kit eine Zentrifugation vorgenommen. Die Technik der Zentrifugation nutzt das Prinzip der Zentrifugalkraft durch Massenunterschiede [14]. Da die in diesem Testverfahren erzeugten Immunkomplexe relativ klein sind (Angiotensin II 8 Aminosäuren) bedient man sich eines zweiten Antikörpers, welcher sich gegen das Kaninchenserum richtet und aus Ziegen gewonnen wurde (GAR). Dieser Antikörper wird während des dritten Inkubationsschrittes den Testlösungen zugesetzt. Der hierbei entstehende Doppelantikörper lässt sich dann gut abzentrifugieren.

Nach stattgehabter Zentrifugation wird abschließend die Radioaktivität der Pellets in Zerfall pro Minute (CPM) mittels Gammazähler bestimmt [6].

#### **4.1.6 Berechnung der Ergebnisse des RIA**

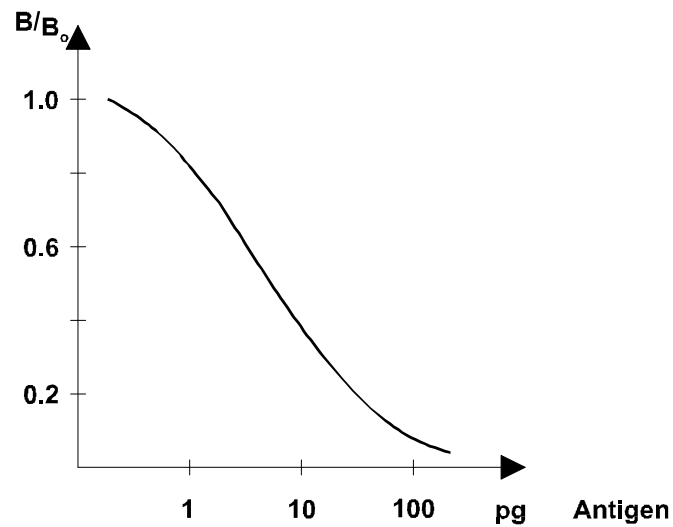
Die Pellets der TB-Röhrchen enthalten nur markierte Antikörper und Antigen, hier erfolgt eine 100%ige Bindung. Diese Strahlungsaktivität wird als  $B_0$  definiert. Um Fehlern vorzubeugen, wird hiervon noch die Aktivität des Pellets NSB abgezogen (in den NSB-Röhrchen befinden sich keine markierten Antikörper und keine Mediatoren bzw. Standardpeptid, d.h. hier findet keine Immunreaktion statt).  $B_0 = TB_{MW} - NSB_{MW}$ .

Die Aktivitäten der restlichen Pellets werden nun ins Verhältnis zu  $B_0$  gesetzt:

$$B/B_0 = \frac{((\text{durchschnittliche Radioaktivität des Pellets des Röhrchens}) - (\text{NSB}))}{B_0} * 100\%$$

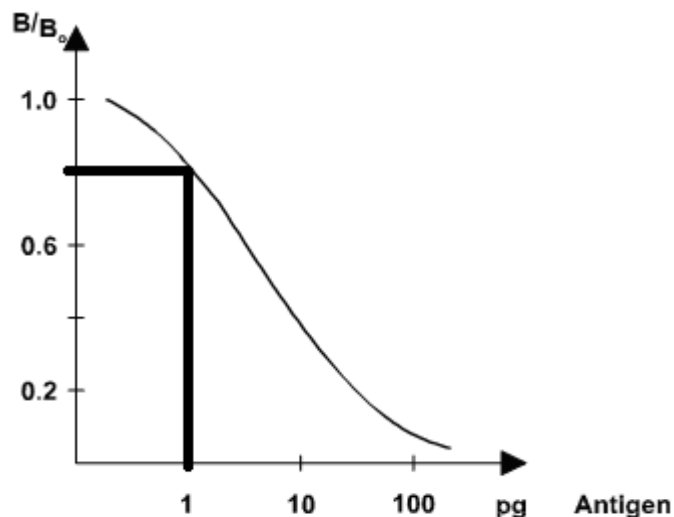
$B_0$

Die Röhren 7-23 enthalten eine definierte Konzentration eines Standardpeptids. Ihr  $B/B_0$ -Koeffizient dient der Erstellung einer Standardkurve (Abbildung 2).



**Abb. 2** Eichkurve, ermittelt durch Aktivität des Standardpeptids

Mit Hilfe dieser Standardkurve lassen sich dann die Mediatorkonzentrationen anhand der aus den Röhren 23-125 bestimmten  $B/B_0$ -Koeffizienten ablesen. In dem in Abbildung 3 dargestellten Beispiel entspricht ein  $B/B_0$ -Koeffizient von 0,8 einer Mediatorkonzentration von 1 pg/ml.



**Abb. 3** Beispiel für die Errechnung der Mediatorkonzentration anhand eines gemessenen  $B/B_0$ -Koeffizienten

### 4.1.7 Methodik des ELISA

Das eingesetzte ELISA-Kit funktioniert als sogenanntes Doppel-Antikörper-Sandwich-ELISA (Abbildung 4). Zunächst reagiert die Probe mit der zu bestimmenden Endothelin-1-Konzentration (2) mit einem auf einer Mikrotiterplatte beschichtetem spezifischem Endothelin-1-Antikörper (1). In einem zweiten Schritt wird abermals ein spezifischer Endothelin-1-Antikörper (3) zugesetzt, an den zusätzlich ein Enzym (4) gebunden ist, welches in einem dritten Schritt eine chromogene Reaktion katalysiert (5). Es entsteht somit ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex mit gebundenem Enzym. Im letzten Reaktionsschritt wird ein Substrat zugesetzt. Dieses wird, katalysiert durch das gebundene Enzym, zu einem photometrisch nachweisbaren Reaktionsprodukt umgesetzt. Die Intensität der Farbe ist dabei proportional zu der Mediatorkonzentration [13].

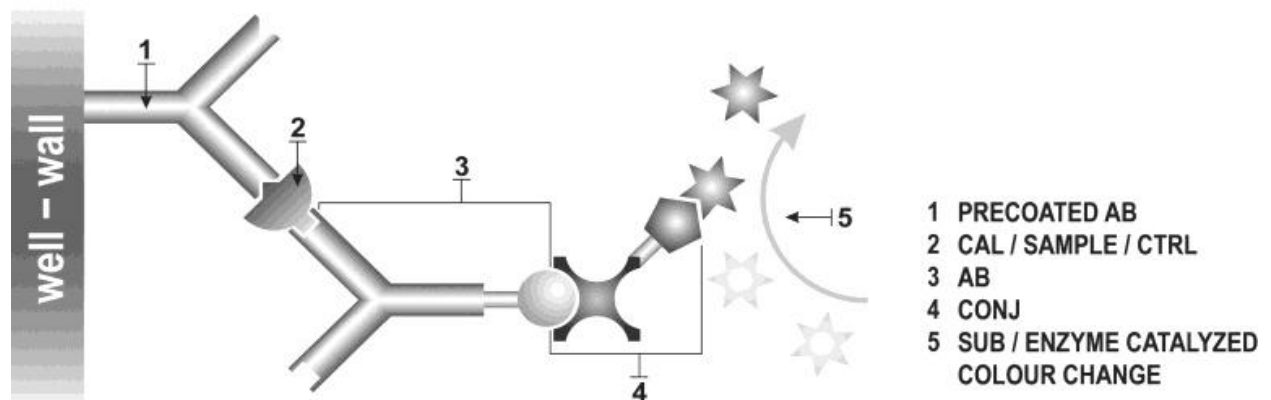


Abb. 4 Schematische Darstellung der Einzelschritte der ELISA-Reaktion [1]

### 4.1.8 Inhalt des ELISA-Kits

Das Kit zur Messung der Endothelin-Konzentration enthält verschiedene Bestandteile [1]:

- Mikrotiterplatten für den Endothelin-Antikörper
- Pufferkonzentrat
- Monoklonaler anti-Endothelin-Antikörper gewonnen aus Mäusen
- Standard- und Kontrolllösungen aus synthetisch gewonnenem Endothelin

- Konjugationsantikörper mit gebundener Meerretich-Peroxidase, ebenfalls gewonnen aus Mäusen
- Substratlösung für die Farbreaktion
- Waschlösung
- Abbruchlösung

#### **4.1.9 Ablauf des ELISA**

Bei Raumtemperatur werden die Standard-, Kontroll- und Probenlösungen mit dem an der Mikrotiterplatte gebundenen anti-Endothelin-Antikörper versetzt und für 16-24 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert, im Anschluss gewaschen und mit dem Konjugationsantikörper versetzt. Die nun folgende Antikörper-Antigen-Antikörper-Reaktion bedarf einer Inkubation von 1 Stunde, ebenfalls bei Raumtemperatur. Nach anschließender erneuter Waschung wird die Substratlösung zugesetzt. Die an den Antikörper-Antigen-Antikörper gebundene Meerretich-Peroxidase setzt nun während einer Inkubation von 30 Minuten bei Dunkelheit das Substrat um, dessen Konzentration anschließend photometrisch bestimmt wird. Diese Messung erfolgt bei einer Wellenlänge von 450 nm [1].

#### **4.1.10 Berechnung der Daten des ELISA**

Analog zu der Bestimmung der RIA-Daten (Abschnitt 4.1.6) wird anhand der Absorption der Kontroll- und Standardlösungen eine Eichkurve erstellt, aus der dann die Endothelin-1-Konzentrationen der Proben abgelesen werden können.

### **4.2 Bestimmung der Parameter der Hämodynamik**

#### **4.2.1 Nicht-invasiv bestimmte Parameter**

Zur Bestimmung der HR diene als Quelle die 1. Extremitätenableitung des Oberflächen-EKGs nach Einthoven.

#### **4.2.2 Invasiv bestimmte Parameter**

Zur invasiven Blutdruckmessung diene ein arterieller Zugang, standardmäßig über die Arteria radialis links. Die Blutdruckmessung erfolgte über Druckmesssysteme der Firma Becton-Dickinson, New Jersey, USA, welche ihr Signal an den Monitor übermitteln.

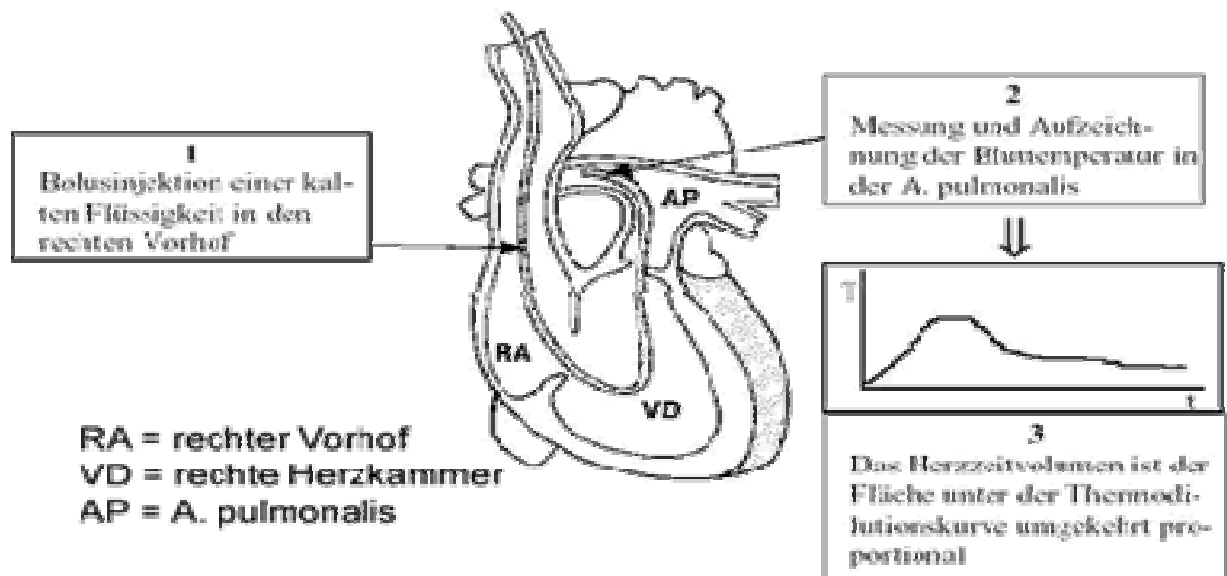
Hiermit gelingt ein kontinuierliches Monitoring des systolischen, diastolischen und des mittleren arteriellen Blutdrucks [57].

Die Messung der restlichen sekundären Zielparameter (pulmonalarterielle Druckwerte, PCWP, CO sowie RVEF und CVP) wurden mit einem modifizierten Pulmonalarterienkatheter nach Swan und Ganz durchgeführt, dessen Spitze sich in der Lungenstrombahn befindet. Dieses Messverfahren wurde erstmals 1970 von Swan und Ganz im New England Journal of Medicine beschrieben [59]. Hierzu wird ein Katheter in das rechte Atrium eingeführt und der an der Spitze sitzende Ballon mit 0,8 ml geblockt. Der Ballon passiert dann dem Blutfluss folgend das rechte Herz und kommt in einer peripheren Lungenarterie zum Liegen. Wenn der Ballon aufgeblasen ist und die periphere Lungenarterie verschließt, kann der Druck distal des Katheterballons gemessen werden. Dieser Druck wird als Wedge-Druck bezeichnet und entspricht unter bestimmten physiologischen Bedingungen (Lage in einer Unterlappenarterie rechts, Zone 3 nach West) dem Druck im linken Vorhof und somit der Vorlast des linken Herzens [56].

Der MPAP wurde analog zur invasiven Messung des systemischen arteriellen Blutdrucks bestimmt.

Entgegen der oben genannten direkten Druckmessungen erfolgt die Messung des CO indirekt mittels Thermodilution. Hierzu wird eine Lösung mit definierter Temperatur (Voraussetzung: kälter als das Blut des Patienten) mittels des Rechtsherzkatheters in den rechten Vorhof appliziert. Anschließend wird die Temperatur in der Arteria pulmonalis gemessen. Die injizierte Flüssigkeit kühlt das Blut im rechten Vorhof/ Ventrikel sowie in der Arteria pulmonalis ab. Je mehr Blut der Ventrikel fördert, d.h. je mehr Blut das rechte Herz durchfließt, desto mehr Blut vermischt sich mit der Testsubstanz und desto geringer ist die Abkühlung am Sensor in der Arteria pulmonalis [43].

Die letztendliche Errechnung des CO erfolgte durch den Monitor nach der Stewart-Hamilton-Methode [19] (Abbildung 5).



$HZV = \frac{V \cdot (T_B - T_I)}{\int \Delta T_B \cdot dt} \cdot K$	<p>V = Injektatvolumen  <math>T_B</math> = Bluttemperatur  <math>T_I</math> = Injektattemperatur  <math>\int \Delta T_B \cdot dt</math> = Fläche unter der  Thermodilutionskurve  K = Kalibrierungsfaktor</p>
--	---

**Abb. 5** Stewart-Hamilton-Methode zur Berechnung des Herz-Zeit-Volumens

Ähnlich der oben beschriebenen Messung des CO erfolgte die Messung des rechtsventrikulären endsystolischen (RVESV) und des rechtsventrikulären enddiastolischen Volumens (RVEDV) anhand bestimmter, charakteristischer Zeiten aus der Thermodilutionskurve. Dies ermöglicht die Bestimmung der RVEF als Quotient aus RVESV und RVEDV.

In unserem Versuchsaufbau verwendeten wir eine Erweiterung der oben genannten Methode, die sogenannte kontinuierliche Messung des Cardiac Output (CCO). Hierbei werden nicht intermittierend Kälteboli durch den Untersucher appliziert, sondern kontinuierlich mittels Heizspirale im Rechtsherzkatheter das Blut erwärmt und die Erwärmung mittels Temperatursensor in der Arteria pulmonalis gemessen und hierüber das Schlagvolumen ermittelt. Der Vorteil dieses Systems liegt in einer kontinuierlichen Echt-



zeitmessung des CO [65]. Verwendet wurde ein modifizierter Rechtsherzkatheter der Firma Edwards Lifesciences, Irvine, USA.

Der CVP wurde ebenfalls über den Rechtsherzkatheter gemessen. Prinzipiell erfolgt die automatische Messung ähnlich der manuellen, über direkte Druckmessung im Bereich der V.cava superior (automatisch mittels Drucksensor, manuell über extrakorporalen Abgleich des Druckgradienten in Infusionssystemen) [58]. In unserer Versuchsanordnung wurde automatisch gemessen.

## **4.3 Statistik**

Die statistische Datenanalyse fand in Zusammenarbeit mit dem Institut für medizinische Biometrie der Humboldt-Universität Berlin statt. Die Ergebnisse der statistischen Ausarbeitung dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht [61].

### **4.3.1 Primäre Zielkriterien**

#### **4.3.1.1 Statistik zum Test auf Verteilung der Daten**

Aufgrund der kleinen Fallzahl gingen wir von einer nicht normalen Verteilung der Testdaten aus und verzichteten auf weitere statistische Untersuchungen bezüglich der Datenverteilung.

#### **4.3.1.2 Statistik zur Beschreibung der Daten**

Aufgrund der nicht normalen Verteilung und der kleinen Fallzahl (siehe Abschnitt 4.3.1.1) wurden zur deskriptiven Darstellung der gemessenen Daten Mediane und Interquartilbereiche (IQR) verwendet. Den Median versteht man verteilungsunabhängig als den Wert, der genau in der Mitte der Stichproben liegt, das heißt oberhalb und unterhalb des Medianwerts befinden sich genau 50% der erhobenen Daten [33].

Die Quartile beschreiben in einer der Größe nach geordneten Messreihe, die in vier Viertel zerlegt wurde, die einzelnen Trennpunkte. Das erste Quartil wird mit  $X_{0,25}$  und das dritte mit  $X_{0,75}$  bezeichnet.  $X_{0,50}$  ist identisch mit dem Median [33].

### **4.3.1.3 Statistik zum Test auf Unterschiede**

#### ***Intergruppenvergleich***

Der Intergruppenvergleich dient der Überprüfung auf Unterschiede durch die Behandlung mit den Studienmedikamenten.

Wir definierten hierfür 2 Gruppen: Die Torasemid- und die Furosemidgruppe. Überprüft wurde einmal vor Behandlung (t1) und einmal nach Behandlung (t2). Die hier zu testenden Variablen waren unabhängig (verschiedene Medikamentengruppen) sowie nicht normalverteilt. Zur Überprüfung auf Unterschiede der Mediatorkonzentrationen zwischen den beiden Medikamentengruppen benutzten wir deshalb den Mann-Whitney-U-Test (MWU). Dieser Test dient der Überprüfung der Signifikanz der Übereinstimmung zweier Verteilungen, das heißt, es wird geprüft ob zwei unabhängige Verteilungen (in unserer Versuchsanordnung die Mediatorkonzentration der beiden Medikamentengruppen) zu derselben Grundgesamtheit gehören oder sich signifikant voneinander unterscheiden [35]. Als statistisch signifikanten Unterschied definierten wir p-Werte kleiner 0,05.

#### ***Intragruppenvergleich***

Im Gegensatz zu dem Intergruppenvergleich wurden hier abhängige (Messwerte vor und nach Medikamentengabe innerhalb einer Medikamentengruppe) und ebenfalls nicht normalverteilte Variablen getestet. Für die lokale Datenanalyse benutzten wir hier den Wilcoxon-Rangsummentest, bei der globalen Datenanalyse kam der Friedman-Test zur Anwendung.

Analog zum MWU wird bei dem Wilcoxon-Test die Signifikanz der Übereinstimmung bzw. der Unterscheidung zweier Verteilungen überprüft. Im Unterschied zum MWU kommt der Wilcoxon-Test aber bei der Prüfung abhängiger Variablen zum Einsatz [35]. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde von uns als statistisch signifikanter Unterschied definiert.

Beim Friedman-Test handelt es sich um eine zweifache Rangvarianzanalyse. Gegeben sind mehrere verbundene Stichproben (Mediatorkonzentrationen vor und nach Medikamentengabe) sowie verschiedene Behandlungen (Studienmedikament Torasemid und Studienmedikament Furosemid). Untersucht wird der Einfluss der Behandlungen

[34]. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  nahmen wir einen statistisch signifikanten Unterschied der Behandlungen an.

#### **4.3.2 Sekundäre Zielkriterien**

Zur Darstellung der sekundären Zielkriterien verwendeten wir ebenfalls aufgrund der geringen Fallzahl Median und Quartile. Für die Überprüfung auf statistische Signifikanz der ermittelten Unterschiede wurde analog zu den primären Zielkriterien im Intragruppenvergleich der Wilcoxon-Test sowie der Friedmann-Test und im Intergruppenvergleich der Mann-Whitney-U-Test benutzt. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner 5% ( $p < 0,05$ ) gingen wir von einem statistisch signifikanten Zusammenhang aus.

## 5. Darstellung der Studienergebnisse

### 5.1 Basischarakteristika

Nach Zustimmung der Ethikkommission der Charité am Campus Mitte erteilten 29 Patienten ihr mündliches und schriftliches Einverständnis für die Teilnahme an dieser Studie. Der Patienteneinschluss und die Datenerhebung erfolgten von März 2002 bis April 2003.

Die durchgeführten Eingriffe waren wie folgt verteilt:

- Aortenklappenersatz, n=5
- Aortenklappenersatz und mitrale Valvuloplastik, n=2
- Mitralklappenersatz, n=3
- Aortokoronarer Venenbypass (ACVB), n=9
- Kombinationsoperation aus Klappenersatz-Operation (KE) und ACVB, n=9
- ACVB und mitrale Valvuloplastik, n=1

Von den eingeschlossenen Patienten mussten 8 aufgrund erfüllter Abbruchkriterien

- Rethorakotomie wegen Blutung, n=2
- katecholaminpflichtiges Herzversagen, n=2
- akutes dialysepflichtiges Nierenversagen, n=1
- notwendige Schleifendiuretikatherapie bei postoperativer Oligurie, n=2
- Todesfall, n=1

aus der Studie ausgeschlossen werden. Der Todesfall erfolgte unmittelbar nach der Übernahme des Patienten auf die Intensivstation vor der ersten Messung der Studiendaten und vor Applikation der Studienmedikamente.

Dies führte zu einer Patientenverteilung von 10 Patienten in der Torasemidgruppe und 11 Patienten in der Furosemidgruppe. Der präoperative MPAP wurde mittels Pulmonalarterienkatheter bestimmt oder echokardiographisch abgeschätzt. Die Parameter des Risikoscore Apache II wurden bei Übernahme auf die Intensivstation errechnet. Der

Body-Mass-Index (BMI) errechnete sich aus anamnestischen Angaben.

Der Vergleich auf statistisch signifikante Unterschiede der Basischarakteristika (Tabelle 3) in beiden Patientengruppen wurde mittels MWU durchgeführt. Hierbei zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede, so dass man von einer homogenen Verteilung der Patienten in den beiden Gruppen ausgehen kann.

	<b>Torasemidgruppe</b> Median (IQR)	<b>Furosemidgruppe</b> Median (IQR)	<b>p-Wert</b> MWU-Test
<b>Alter</b> (Jahre)	69 (58;72)	63 (54;72)	0,572
<b>Geschlecht</b> (w/m)	4/6	5/6	0,806
<b>BMI</b>	26 (32;30)	28 (26;34)	0,324
<b>Apache II Score</b>	8 (6;10)	9 (6;10)	0,97
<b>MPAP präoperativ</b> (mmHg)	30 (24;37)	36 (29;42)	0,24
<b>Zeit Herz-Lungen-Maschine</b> (min)	95 (75;125)	92 (72;117)	0,965
<b>OP</b> (KE/ACVB/Kombination)	4/3/3	4/4/3	0,97

**Tabelle 3 Basischarakteristika der Patienten beider Gruppen**

## 5.2 Primäre Zielkriterien

### 5.2.1 Beschreibung der erhobenen Daten

#### **Endothelinkonzentrationen der Furosemidgruppe**

Der Median der Endothelinkonzentrationen vor und nach der oralen Applikation von Furosemid zeigte in den unterschiedlichen Stromgebieten ein unterschiedliches Verhalten: Anstieg im arteriellen und Abfall im gemischtvenösen Schenkel (siehe Abbildung 6 und Abbildung 7 sowie Tabelle 4).

#### ***arterielles Endothelin***

Vor der Gabe von Furosemid lag der Median der Endothelinkonzentration bei 0,21 fmol/ml (IQR 0,2/0,25) und nach Applikation bei 0,25 fmol/ml (IQR 0,2/0,28). Zum Messzeitpunkt t2 fällt ein deutlich von der IQR abweichender Maximalwert von 7,68 fmol/ml auf.

#### ***gemischt-venöses Endothelin***

Die Endothelinkonzentration betrug im Median 0,25 fmol/l (IQR 0,22/0,54) vor der Medikamentengabe und 0,23 fmol/ml (IQR 0,21/0,27) 60 min nach der oralen Applikation von Furosemid.

#### **Endothelinkonzentrationen der Torasemidgruppe**

Im arteriellen Schenkel ließ sich nach Torasemidgabe ein Anstieg von Endothelin-1 nachweisen, im gemischt-venösem Blut blieb der Median der Endothelin-1-Konzentrationen gleich (siehe Abbildung 6 und Abbildung 7 sowie Tabelle 4).

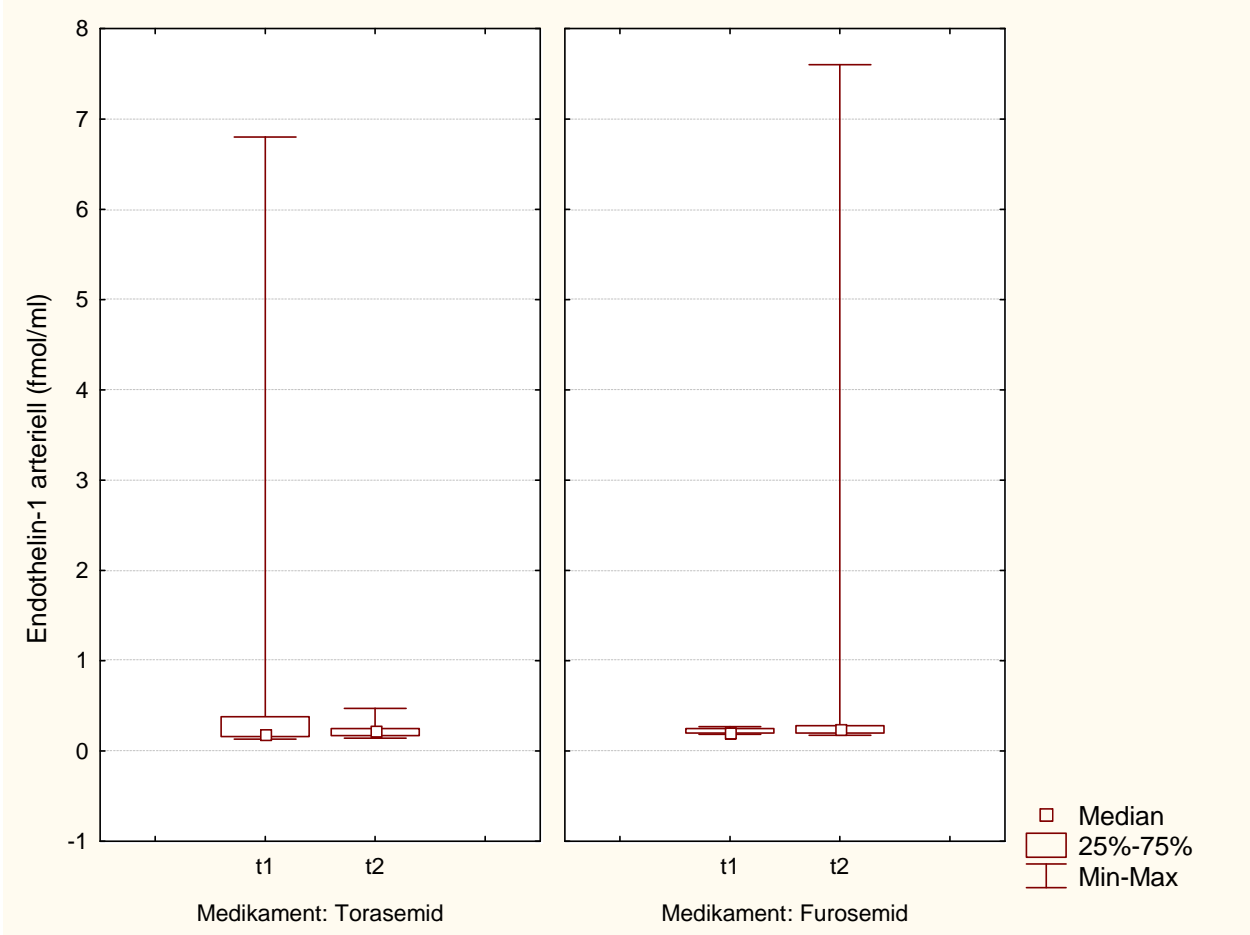
#### ***arterielles Endothelin***

Der Median der Endothelinkonzentration im arteriellen Blut betrug vor Applikation 0,18 fmol/ml (IQR 0,16/0,38) und nach oraler Applikation 0,23 fmol/ml (IQR 0,17/0,25). Zum Messzeitpunkt t1 fällt ein stark von der IQR abweichender Maximalwert auf.

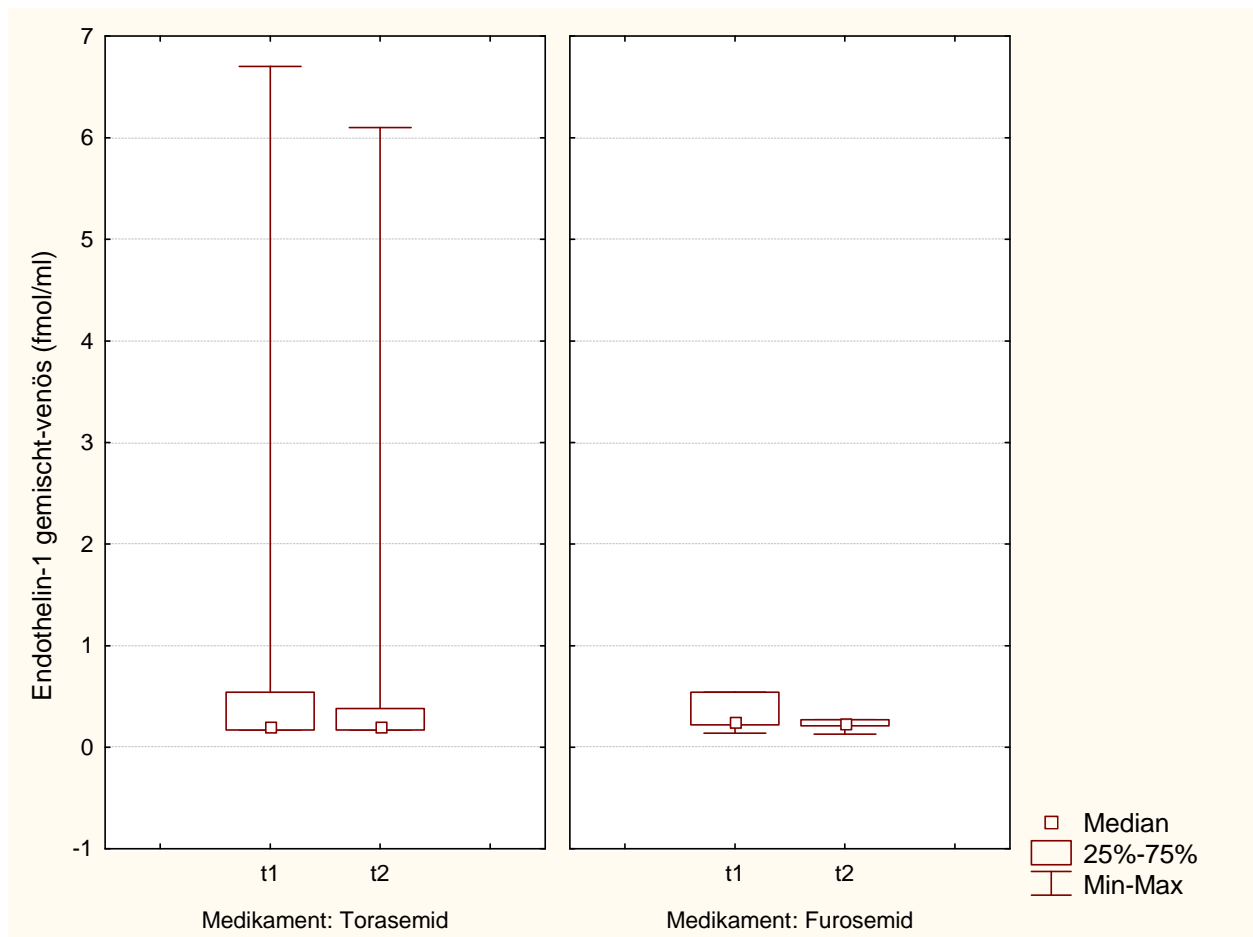
#### ***gemischt-venöses Endothelin-1***

Im gemischt-venösen Blut blieb der Median der Endothelinkonzentration vor Medikamentengabe und nach oraler Torasemidgabe bei 0,2 fmol/ml.  $X_{0,25}$  lag zu beiden mess-

zeitpunkten bei 0,17 fmol/ml,  $X_{0,75}$  war aber unterschiedlich (t1 0,54 fmol/ml, t2 0,38 fmol/ml). Zu beiden Messzeitpunkten zeigen sich stark von der IQR abweichende Maximalwerte.



**Abb. 6** Darstellung der arteriellen Endothelin-1-Konzentrationen beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot



**Abb. 7** Darstellung der gemischt-venösen Endothelin-1-Konzentrationen beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot

### Angiotensin-II-Konzentrationen der Furosemidgruppe

Sowohl im arteriellen als auch im venösen Stromgebiet kam es zu einem Anstieg des Medians der Angiotensinkonzentrationen nach der oralen Gabe von Furosemid (siehe Abbildung 8 und Abbildung 9 sowie Tabelle 4).

#### **arterielles Angiotensin II**

Der Median zeigte einen Anstieg der Angiotensin-II-Konzentration von 13,6 pg/ml (IQR 10,2/20,8) auf 16,3 pg/ml (IQR 12,2/30,7).

#### **gemischt-venöses Angiotensin II**

Der Median zeigte einen Anstieg der Angiotensin-II-Konzentration von 15,2 pg/ml (IQR 10,4/22,2) auf 16,7 pg/ml (IQR 14,7/27,5).



### **Angiotensin-II-Konzentrationen der Torasemidgruppe**

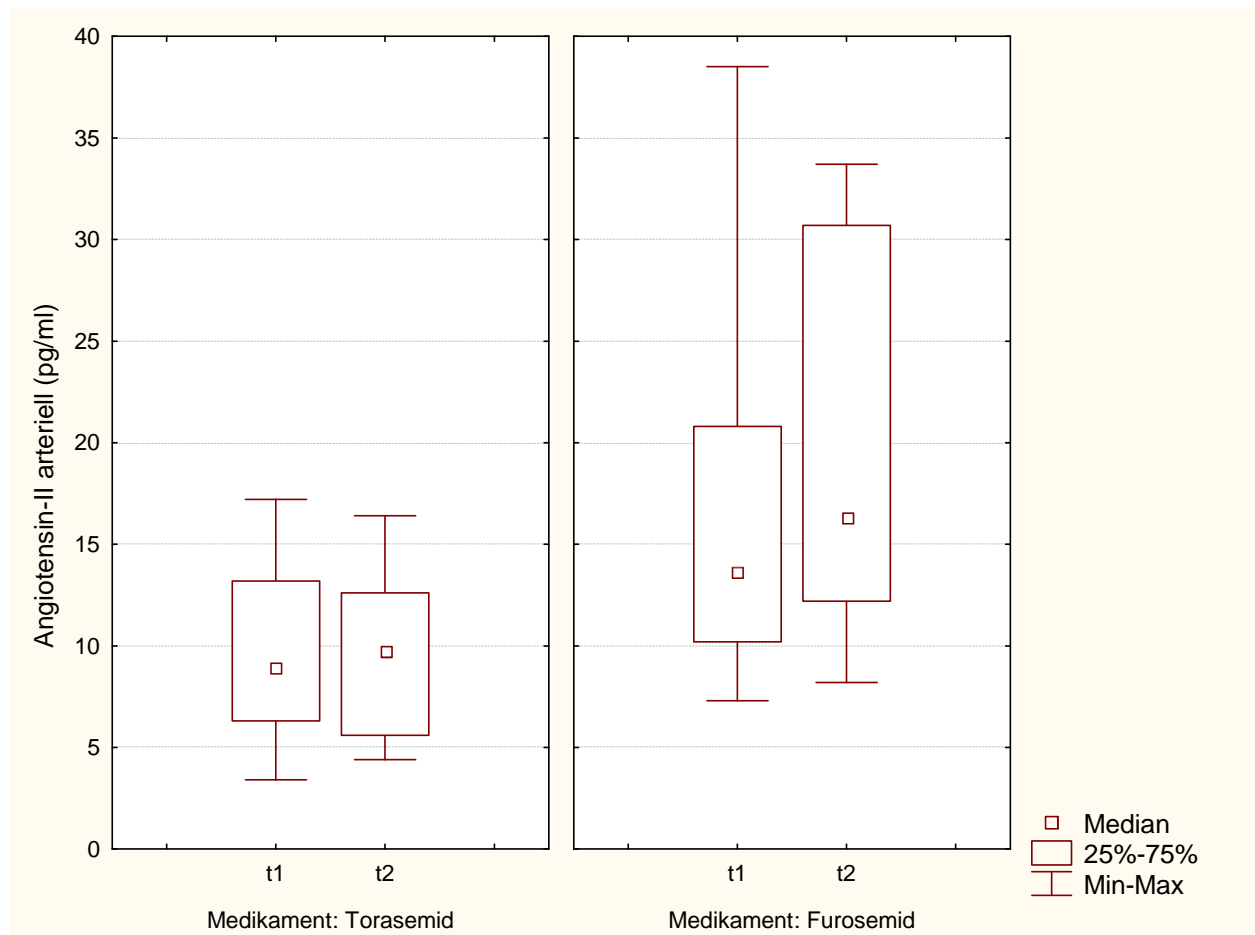
Sowohl im arteriellen als auch im venösen Plasma der Patienten der Torasemidgruppe stieg der Medianwert der Angiotensin-II-Konzentration nach Applikation des Studienmedikamentes an (siehe Abbildung 8 und Abbildung 9 sowie Tabelle 4).

#### **arterielles Angiotensin II**

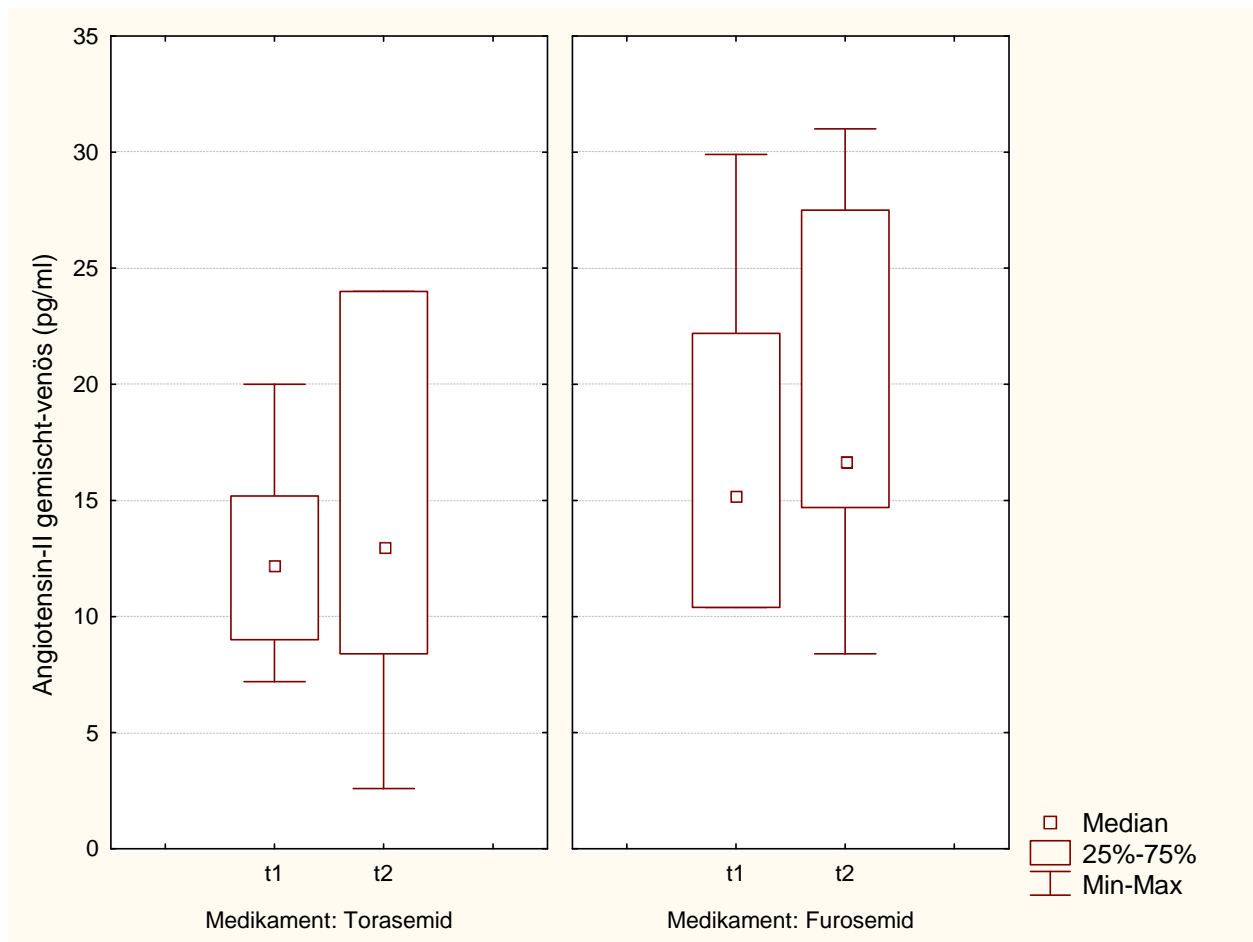
Der Median zeigte einen Anstieg der Angiotensin-II-Konzentration von 8,9 pg/ml (IQR 6,3/13,2) auf 9,7 pg/ml (IQR 5,6/12,6).

#### **gemischt-venöses Angiotensin II**

Der Median zeigte einen Anstieg der Angiotensin-II-Konzentration von 12,2 pg/ml (IQR 9,0/15,2) auf 13,0 pg/ml (IQR 8,4/24,0).



**Abb. 8** Darstellung der arteriellen Angiotensin-II-Konzentrationen beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot



**Abb. 9** Darstellung der gemischt-venösen Angiotensin-II-Konzentrationen beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot

## 5.2.2 Statistische Zusammenhänge

Tabelle 4 zeigt die Mediane und die Quartile der einzelnen Gruppen mit den zugehörigen Irrtumswahrscheinlichkeiten  $p$  im Inter- und Intragruppenvergleich. Da wir sowohl die Basiswerte ( $t_1$ ) als auch die Werte nach Studienmedikation ( $t_2$ ) auf Unterschiede zwischen beiden Gruppen verglichen, ergaben sich im Intergruppenvergleich 2  $p$ -Werte. Auf eine unterschiedliche Beeinflussung weist ein  $p$ -Wert entsprechend unserer Definition (siehe Abschnitt 4.3.1.3) zum Messzeitpunkt  $t_2$  hin. Der  $p$ -Wert zum Messzeitpunkt  $t_1$  dient der Überprüfung, ob ein etwaiger Unterschied bereits vor der Applikation der Studienmedikamente bestand.

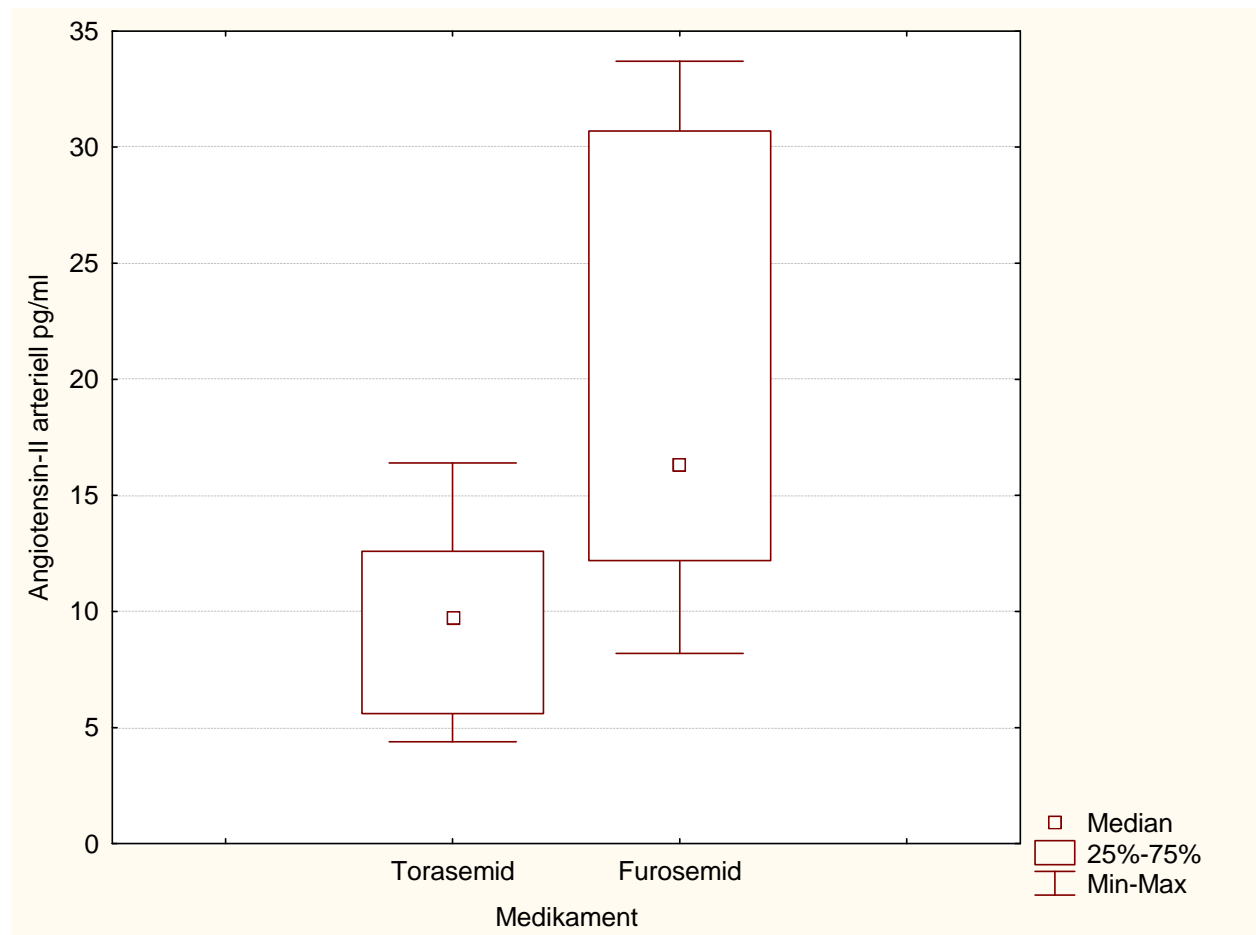
Mediator	Medikament	t1	t2	Intergruppenvergleich	Intragruppenvergleich
Endothelin-1 (arteriell)	Torasemid	0,18 (0,16/0,38)	0,23 (0,17/0,25)	$p=0,822$ ( $t_1$ )	$p=0,327$
	Furosemid	0,21 (0,20/0,25)	0,25 (0,20/0,28)	$p=0,298$ ( $t_2$ )	$p=0,05$
Endothelin-1 (gem.-venös)	Torasemid	0,20 (0,17/0,54)	0,20 (0,17/0,38)	$p=0,241$ ( $t_1$ )	$p=0,398$
	Furosemid	0,25 (0,22/0,54)	0,23 (0,21/0,27)	$p=0,691$ ( $t_2$ )	$p=0,139$
Angiotensin II (arteriell)	Torasemid	8,9 (6,3/13,2)	9,7 (5,6/12,6)	$p=0,331$ ( $t_1$ )	$p=0,0928$
	Furosemid	13,6 (10,2/20,8)	16,3 (12,2/30,7)	<b><math>p=0,009</math>(<math>t_2</math>)</b>	$p=0,859$
Angiotensin II (gem.-venös)	Torasemid	12,2 (9,0/15,2)	13,0 (8,4/24,0)	$p=0,241$ ( $t_1$ )	$p=0,05$
	Furosemid	15,2 (10,4/22,2)	16,7 (14,7/27,5)	$p=0,522$ ( $t_2$ )	$p=0,735$

**Tabelle 4** Mediatorkonzentrationen als Median und IQR beider Gruppen zu beiden Messzeitpunkten sowie zugehörige statistische Zusammenhänge, signifikante  $p$ -Werte sind fett dargestellt [61]

### Intergruppenvergleich

Die Berechnungen des Intergruppenvergleichs zeigten, dass es einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Angiotensin-II-Konzentrationen in den arteriellen Proben der Furosemid- und der Torasemid-Gruppe nach der oralen Applikation gab ( $p=0,009$ ). Vor Medikamentengabe bestand kein signifikanter Unterschied ( $p=0,331$ ).

Der Median der arteriellen Angiotensin-II-Konzentrationen ist in der Furosemidgruppe zum Messzeitpunkt t2 mit 16,3 pg/ml (12,2/30,7) deutlich höher als der vergleichbare Wert der Torasemidgruppe (9,7pg/ml, IQR 5,6/12,6) (siehe Abbildung 10). Alle restlichen Mediatorkonzentrationen beider Medikamentengruppen wiesen im Intergruppenvergleich keine statistisch signifikanten Unterschiede auf.



**Abb. 10** Darstellung des Intergruppenvergleichs der arteriellen Angiotensin-II-Konzentration zum Messzeitpunkt t2 als Boxplot,  $p=0,009$

### Intragruppenvergleich

Eindeutige statistische Unterschiede bestanden im Intragruppenvergleich zu den Zeitpunkten t1 und t2 nicht. Der Anstieg des arteriellen Endothelin-1 von 0,21 fmol/ml (IQR 0,20/0,25) auf 0,25 fmol/ml (IQR 0,20/0,28) in der Furosemidgruppe sowie der Anstieg des gemischt-venösen Angiotensin II in der Torasemidgruppe von 12,2 pg/ml (IQR 9,0/15,2) auf 13,0 pg/ml (IQR 8,4/24,0) zeigten mit einem  $p = 0,05$  einen statistisch gesehen tendenziellen Unterschied.

## 5.3 Sekundäre Zielkriterien

Als sekundäre Zielkriterien gelten in unserer Studie die hämodynamischen Parameter.

Zusätzlich führen wir in diesem Kapitel um eine bessere Vergleichbarkeit zu schaffen die während des Intensivaufenthaltes applizierten vasoaktiven Pharmaka Dopamin und Nitroglycerin sowie die Urinausscheidung zu den Messzeitpunkten auf und vergleichen diese auf statistisch signifikante Unterschiede innerhalb der Patientengruppen und zwischen den beiden Patientengruppen.

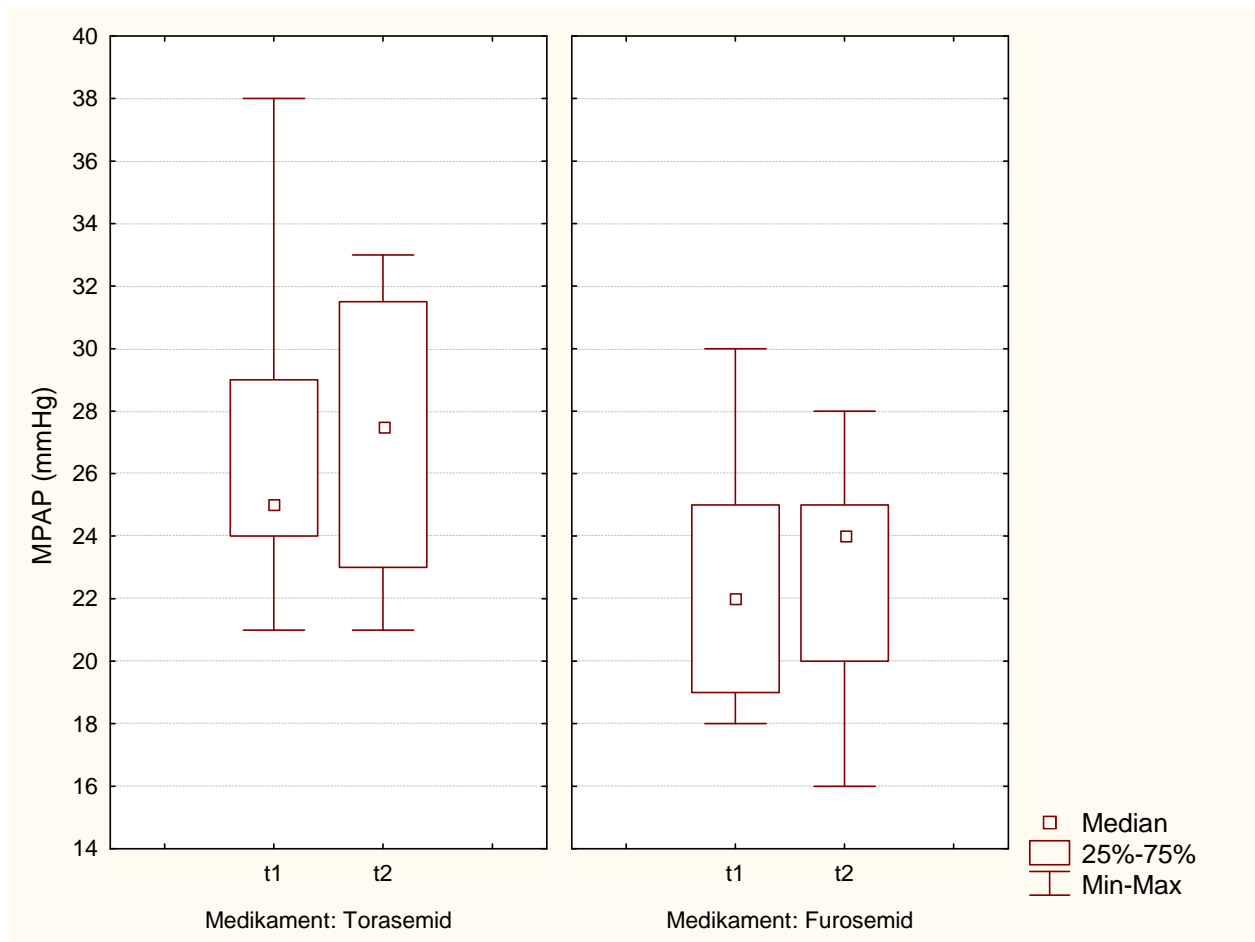
### 5.3.1 Beschreibung der erhobenen Daten

#### Druckwerte in der Furosemidgruppe

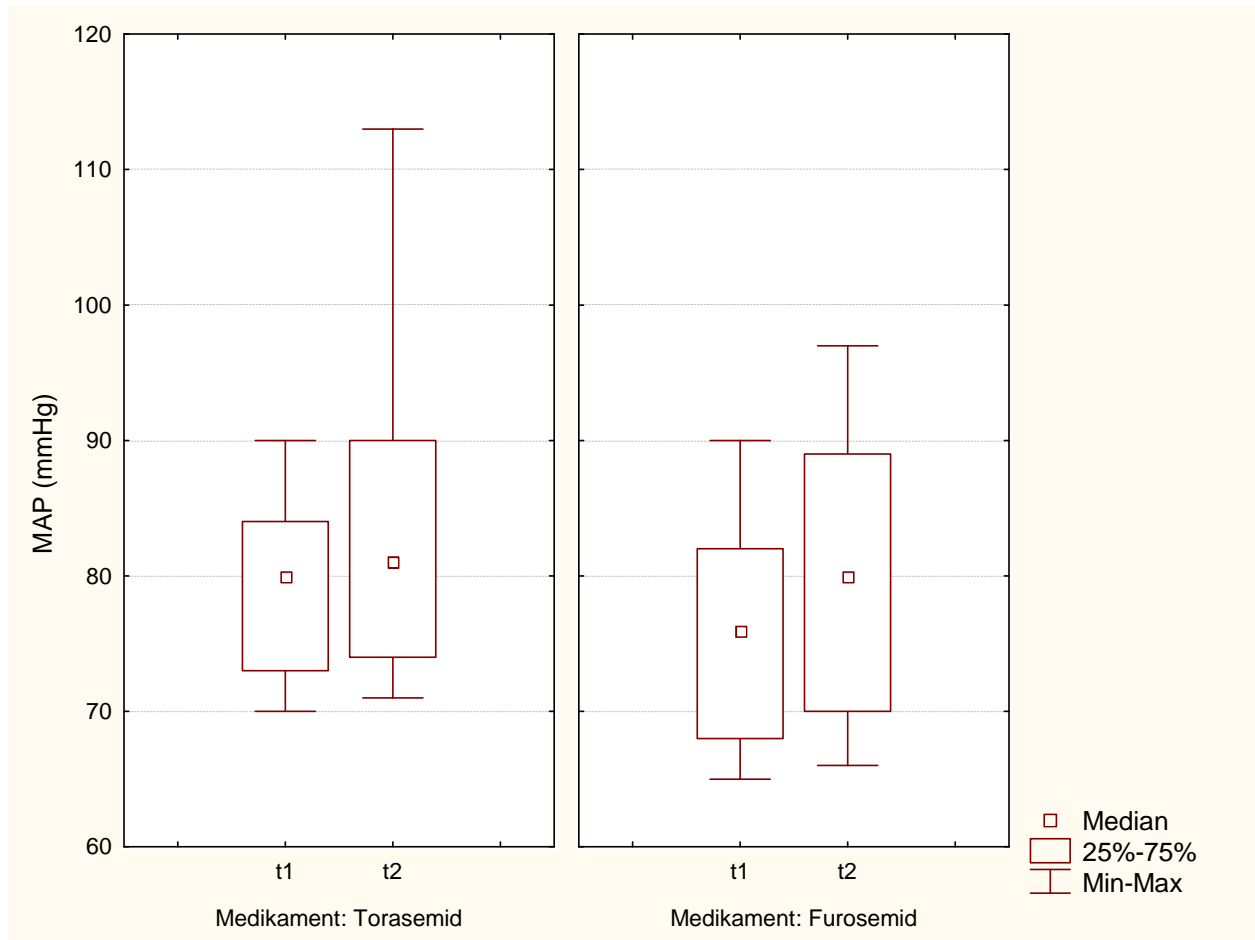
Der MPAP betrug im Median vor der Furosemidapplikation 22 mmHg (IQR 19/25) und nach der Medikamentengabe 24 mmHg (IQR 20/25). Der ermittelte Median für den MAP in der Furosemidgruppe zum Zeitpunkt t1 betrug 76 mmHg (IQR 68/82) und zum Zeitpunkt t2 80 mmHg (IQR 70/89). Vor oraler Furosemidapplikation ermittelten wir für den CVP einen Median von 9 mmHg (IQR 6/11) und nach der peroralen Gabe von Furosemid ebenfalls einen Median von 9 mmHg (IQR 7/11). Betrachtet man den PCWP in der Furosemidgruppe ermittelten wir Mediane von 12 mmHg (IQR 10/14) zum Zeitpunkt t1 und von 14 mmHg (IQR 11/15) zum Messzeitpunkt t2. Die genannten Ergebnisse sind in Abbildung 11 bis 14 als Boxplot graphisch und in Tabelle 6 tabellarisch dargestellt.

#### Druckwerte in der Torasemidgruppe

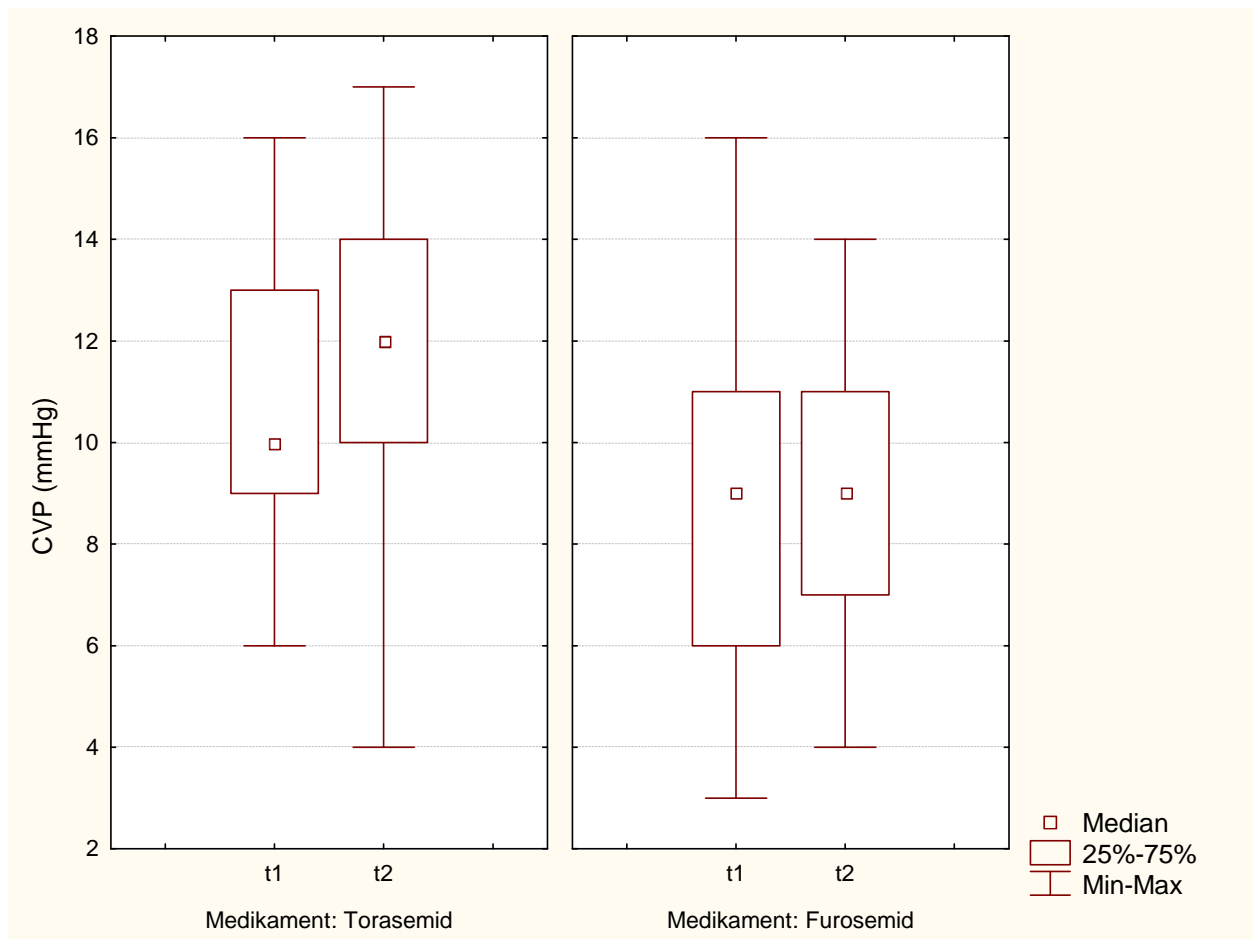
Der ermittelte Median für den MPAP betrug vor der Gabe des Studienmedikamentes 25 mmHg (IQR 24/29) und nach Gabe des Studienmedikaments 28 mmHg (IQR 23/32). Für den MAP konnten Mediane von 80 mmHg (IQR 72/86) vor und von 81 mmHg (IQR 73/92) nach Medikamentengabe errechnet werden. Vor oraler Torasemidapplikation nahm der Median des CVP einen Wert von 10 mmHg (IQR 9/14) und nach oraler Gabe des Studienmedikaments einen Wert von 12 mmHg (IQR 7,5/14) an. Der PCWP betrug in dieser Gruppe vor Medikamentengabe 13 mmHg (IQR 11/20) und 15 mmHg (IQR 10/20) nach Medikamentengabe. Die genannten Ergebnisse sind in Abbildung 11 bis 14 als Boxplot graphisch und in Tabelle 6 tabellarisch dargestellt.



**Abb. 11** Darstellung des MPAP beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot

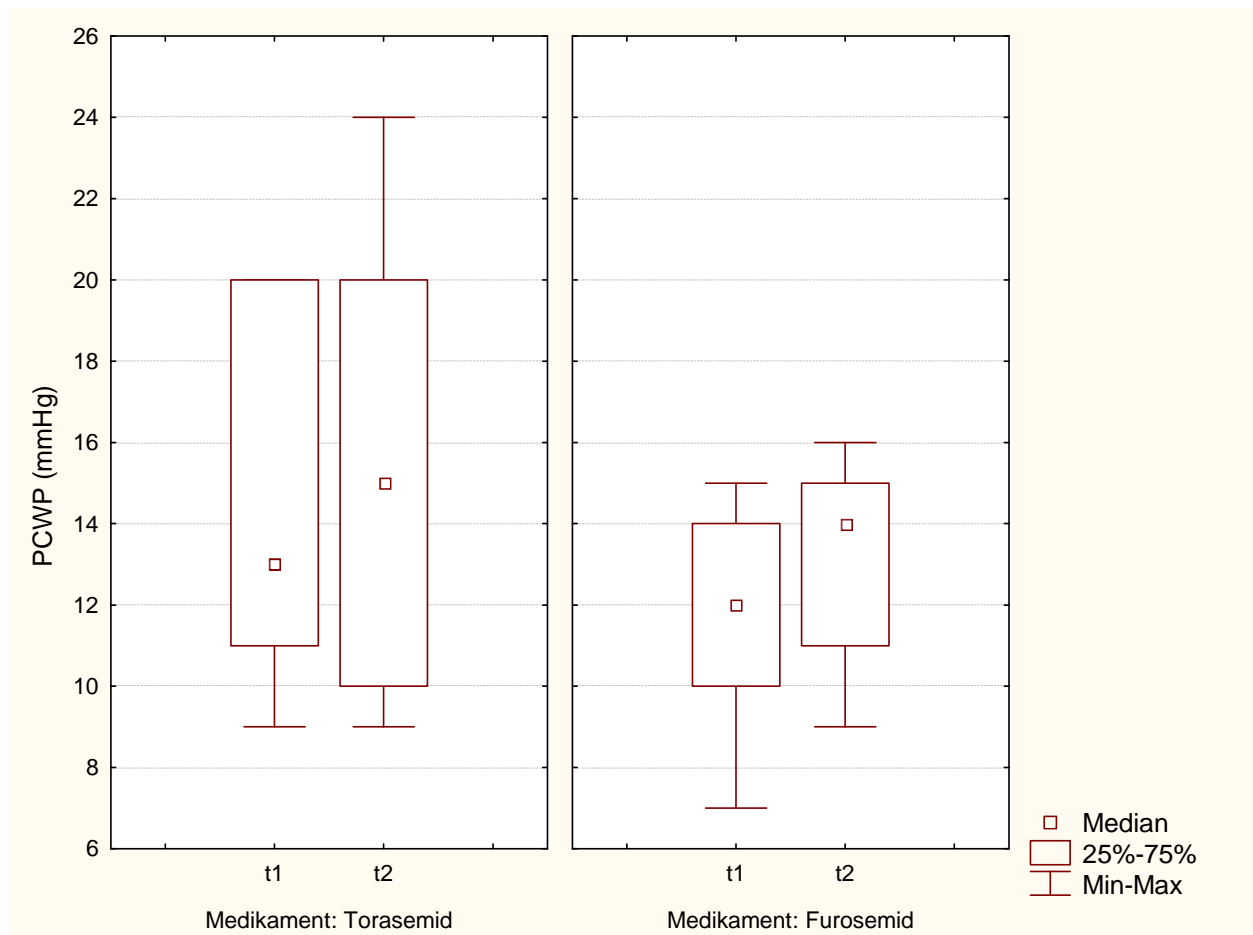


**Abb. 12** Darstellung des MAP beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot



**Abb. 13** Darstellung des CVP beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot





**Abb. 14** Darstellung des PCWP beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot

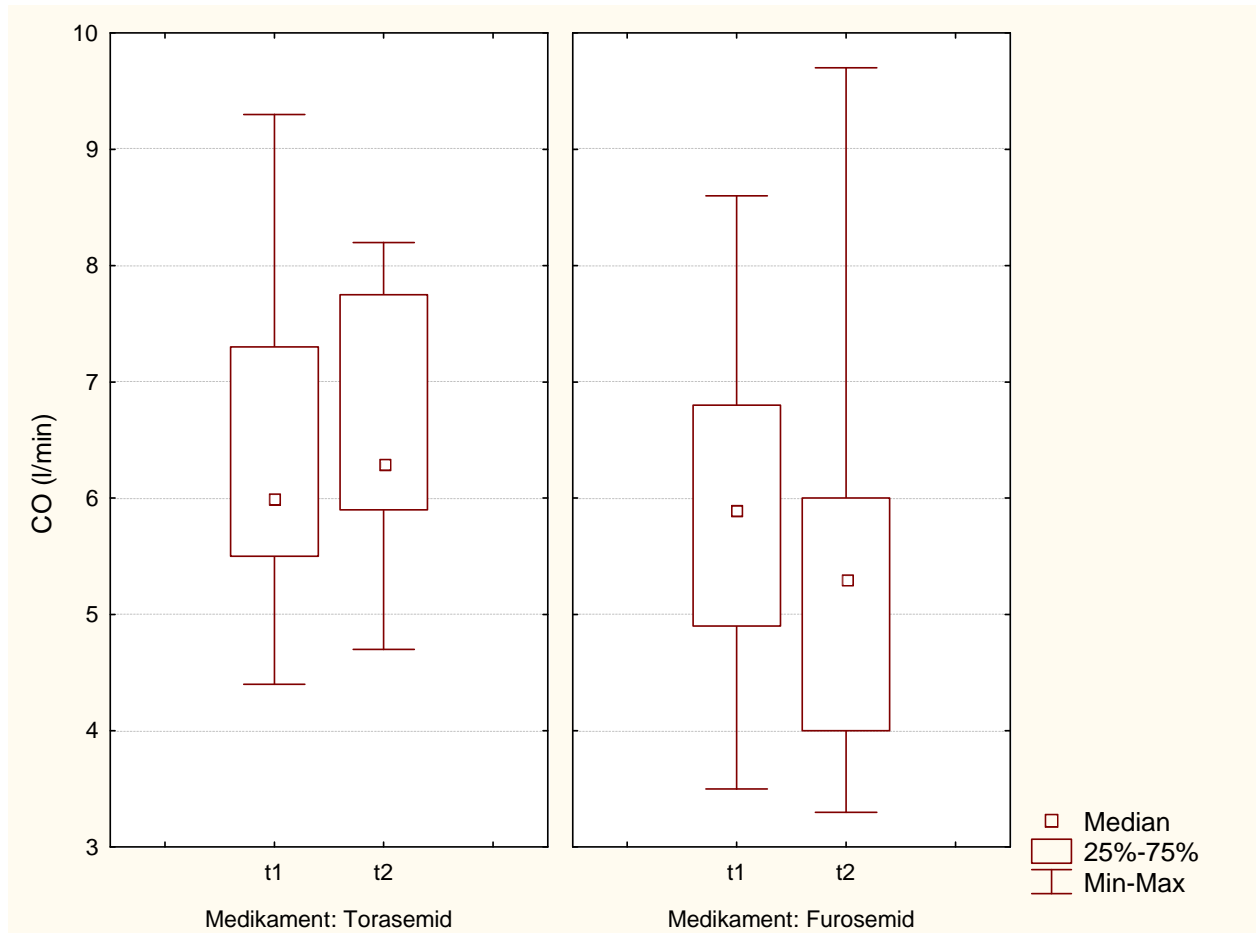
### Kardiale Indices in der Furosemidgruppe

Der Median des CO in der Furosemidgruppe betrug 5,9 l/min (IQR 4,9/6,8) vor und 5,3 l/min (IQR 4,0/6,0) nach Medikamentengabe. Die RVEF nahm vor der Medikamentenapplikation einen Wert von 29% (IQR 25/40) und nach Gabe des Studienmedikamentes einen Wert von 35 % (IQR 22/39) an. Für den Messzeitpunkt t1 berechneten wir die HR betreffend einen Median von 83 bpm (IQR 78/87) und für den Zeitpunkt t2 einen Median von 81 bpm (IQR 78/100). Die genannten Ergebnisse sind in Abbildung 15 bis 17 als Boxplot graphisch und in Tabelle 6 tabellarisch dargestellt.

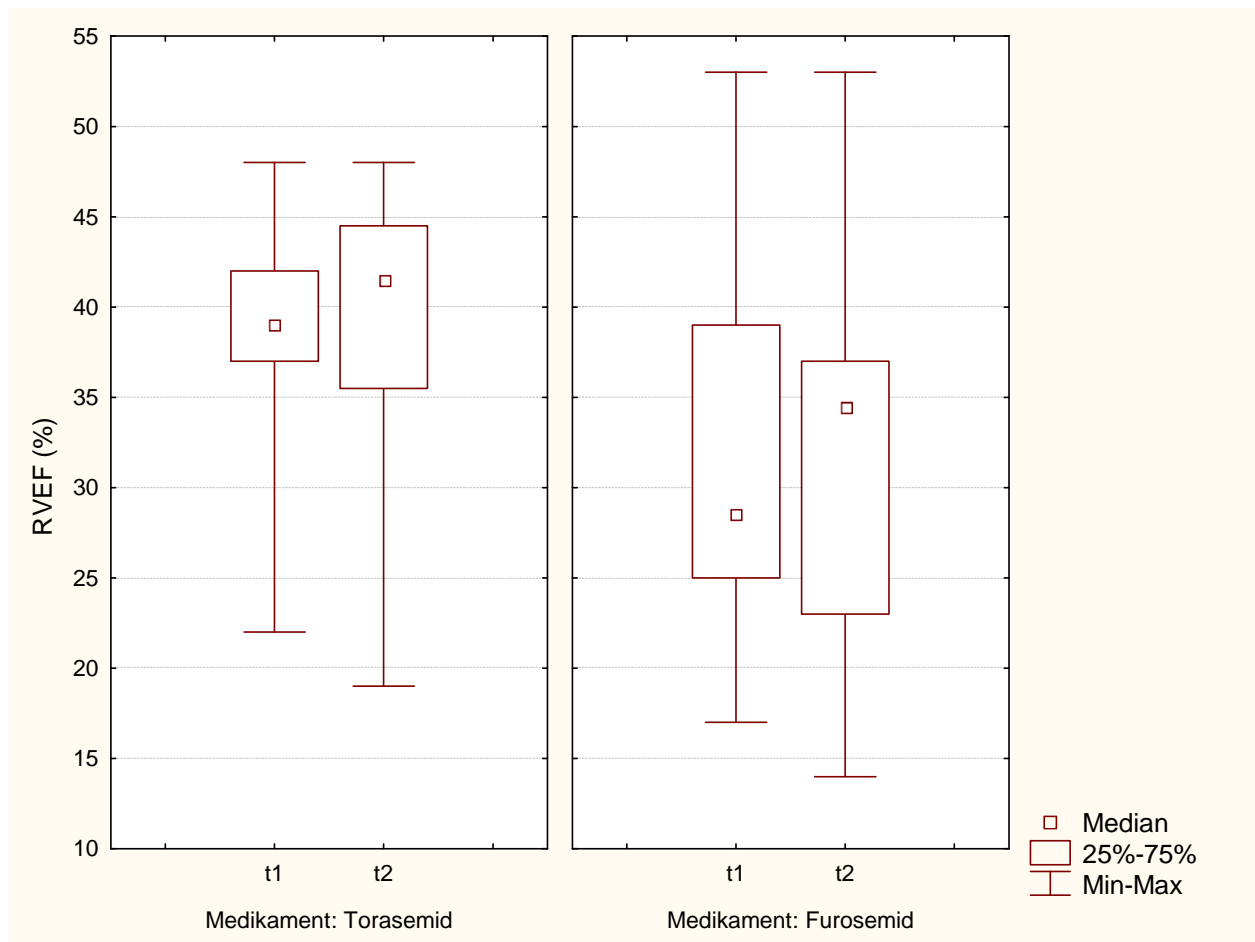
### Kardiale Indices in der Torasemidgruppe

Der ermittelte Median für das CO in dieser Gruppe betrug 6,0 l/min (IQR 5,3/7,9) vor und 6,3 l/min (IQR 5,8/7,7) nach Medikamentengabe. Die RVEF betrug im Median vor Torasemidgabe 39% (IQR 32/42) und nach Torasemidgabe 41% (IQR 34/45). Für den

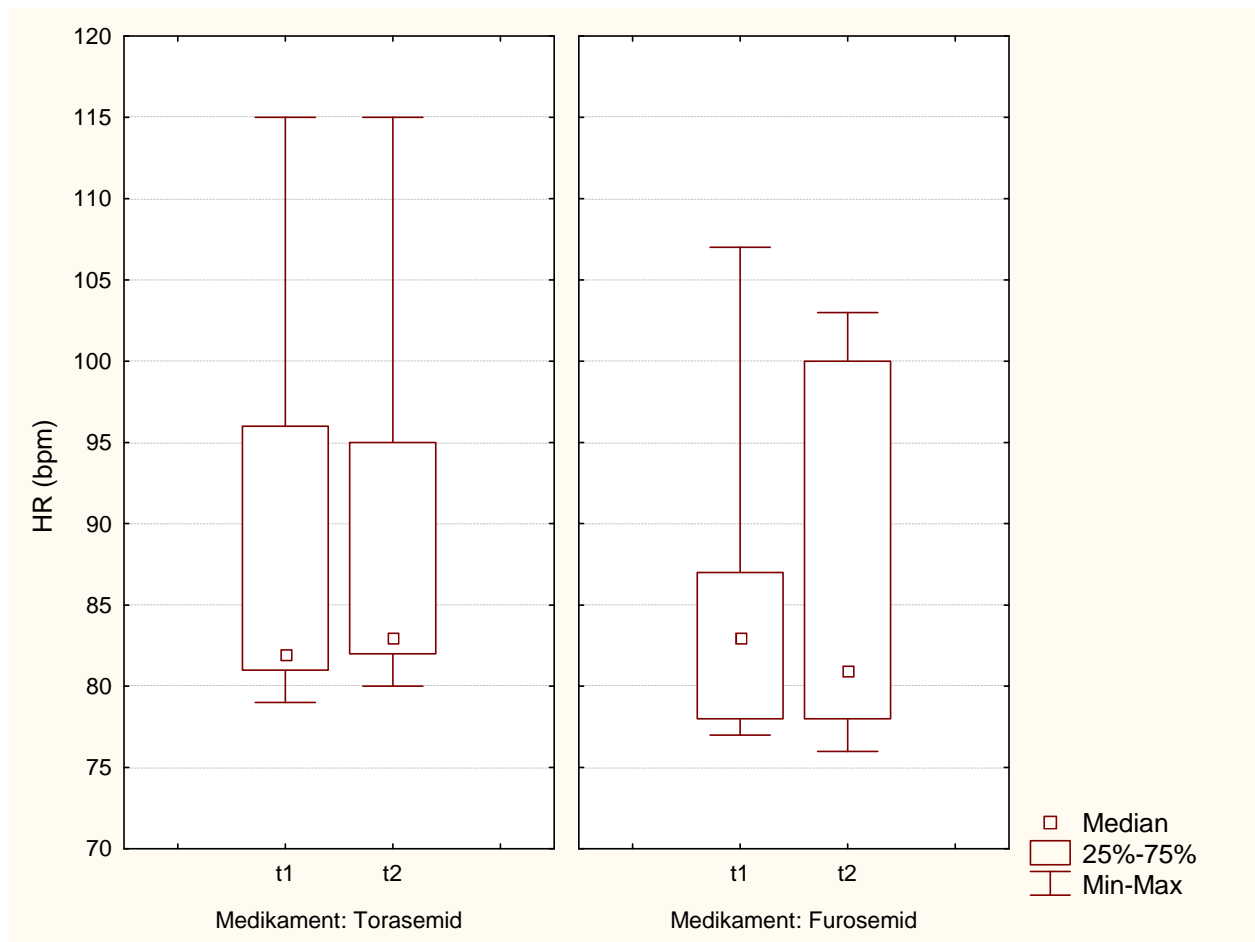
Messzeitpunkt vor Medikamentengabe berechneten wir einen Median der HR von 82 bpm (IQR 80,5/99) und für den Zeitpunkt nach Medikamentengabe 83 bpm (IQR 81/96). Die genannten Ergebnisse sind in Abbildung 15 bis 17 als Boxplot graphisch und in Tabelle 6 tabellarisch dargestellt



**Abb. 15** Darstellung des CO beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot



**Abb. 16** Darstellung der RVEF beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot



**Abb. 17** Darstellung der HR beider Medikamentengruppen vor und nach oraler Applikation als Boxplot

## Dopamin, Nitroglycerin und Urinausscheidung

Tabelle 5 stellt die applizierten vasoaktiven Pharmaka sowie die Urinvolumina beider Medikamentengruppen zu den Messzeitpunkten t1 und t2 als Median und Quartile sowie die errechneten p-Werte im Inter- und Intragruppenvergleich dar. Sowohl der Intra- als auch der Intergruppenvergleich ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Medikamentengruppen beziehungsweise innerhalb der Gruppen zu den beiden Messungen, so dass eine Beeinflussung der Studienergebnisse durch die Anwendung von Nitroglycerin oder Dopamin nicht wahrscheinlich erscheint. Bezüglich der Urinvolumina zeigen die Testergebnisse an, dass sich sowohl zwischen den Gruppen als auch innerhalb einer Medikamentengruppe zu den verschiedenen Messzeitpunkten keine Unterschiede die Ausscheidung betreffend ermitteln lassen.

Messwert	Medikament	t1	t2	Intergruppenvergleich	Intragruppenvergleich
Dopamin (µg/kg/min)	Furosemid	5,5 (5,0/6,0)	5,0 (5,0/5,0)	p=0,08 (t1) p=0,16 (t2)	p=0,5
	Torasemid	2,4 (2,0/4,5)	2,7 (2,1/4,1)		p=0,44
Nitroglycerin (µg/kg/min)	Furosemid	0,6 (0,3/1,3)	0,5 (0,5/1,5)	p=0,90 (t1) p=0,62 (t2)	p=0,48
	Torasemid	0,5 (0,5/2,2)	0,5 (0,5/2,1)		p=0,47
Urinvolumen (ml)	Furosemid	2690 (1375/4390)	3297 (2266/5180)	p=0,75 (t1) p=0,25 (t2)	p=0,14
	Torasemid	2400 (1795/3035)	3005 (2030/3260)		p=0,13

**Tabelle 5 Dopamin, Nitroglycerin sowie Urinvolumina als Median und IQR beider Gruppen zu beiden Messzeitpunkten sowie zugehörige statistische Zusammenhänge [61]**

### 5.3.2 Statistische Zusammenhänge

Zunächst sollen in diesem Kapitel die Mediane und Quartile der sekundären Zielparame- ter beider Gruppen inklusive der zugehörigen Ergebnisse des Inter- und Intragrup- penvergleichs gegenübergestellt werden. Anschließend wird auf beide Gruppenverglei- che eingegangen.

Messwert	Medikament	t1	t2	Intergruppenvergleich	Intragruppenvergleich
HR (bpm)	Furosemid	83 (78/87)	81 (78/100)	p=0,543 (t1)	p=0,441
	Torasemid	82 (80,5/99)	83 (81/96)	p=0,305 (t2)	p=0,933
CVP (mmHg)	Furosemid	9 (6/11)	9 (7/11)	p=0,149 (t1)	p=0,284
	Torasemid	10 (9/14)	12 (7,5/14)	p=0,129 (t2)	p=0,813
MAP (mmHg)	Furosemid	76 (68/82)	80 (70/89)	p=0,470 (t1)	p=0,155
	Torasemid	80 (72/86)	81 (73/92)	p=0,425 (t2)	p=0,327
MPAP (mmHg)	Furosemid	22 (19/25)	24 (20/25)	p=0,119 (t1)	p=0,726
	Torasemid	25 (24/29)	28 (23/32)	p=0,051 (t2)	p=0,799
CO (l/min)	Furosemid	5,9 (4,9/6,8)	5,3 (4,0/6,0)	p=0,447 (t1)	p=0,169
	Torasemid	6,0 (5,3/7,9)	6,3 (5,8/7,7)	<b>p=0,021 (t2)</b>	p=0,779
PCWP (mmHg)	Furosemid	12 (10/14)	14 (11/15)	p=0,342 (t1)	p=0,554
	Torasemid	13 (11/20)	15 (10/20)	p=0,329 (t2)	p=0,465
RVEF (%)	Furosemid	29 (25/40)	35 (22/39)	p=0,206 (t1)	p=0,988
	Torasemid	39 (32/42)	41 (34/45)	p=0,155 (t2)	p=0,447

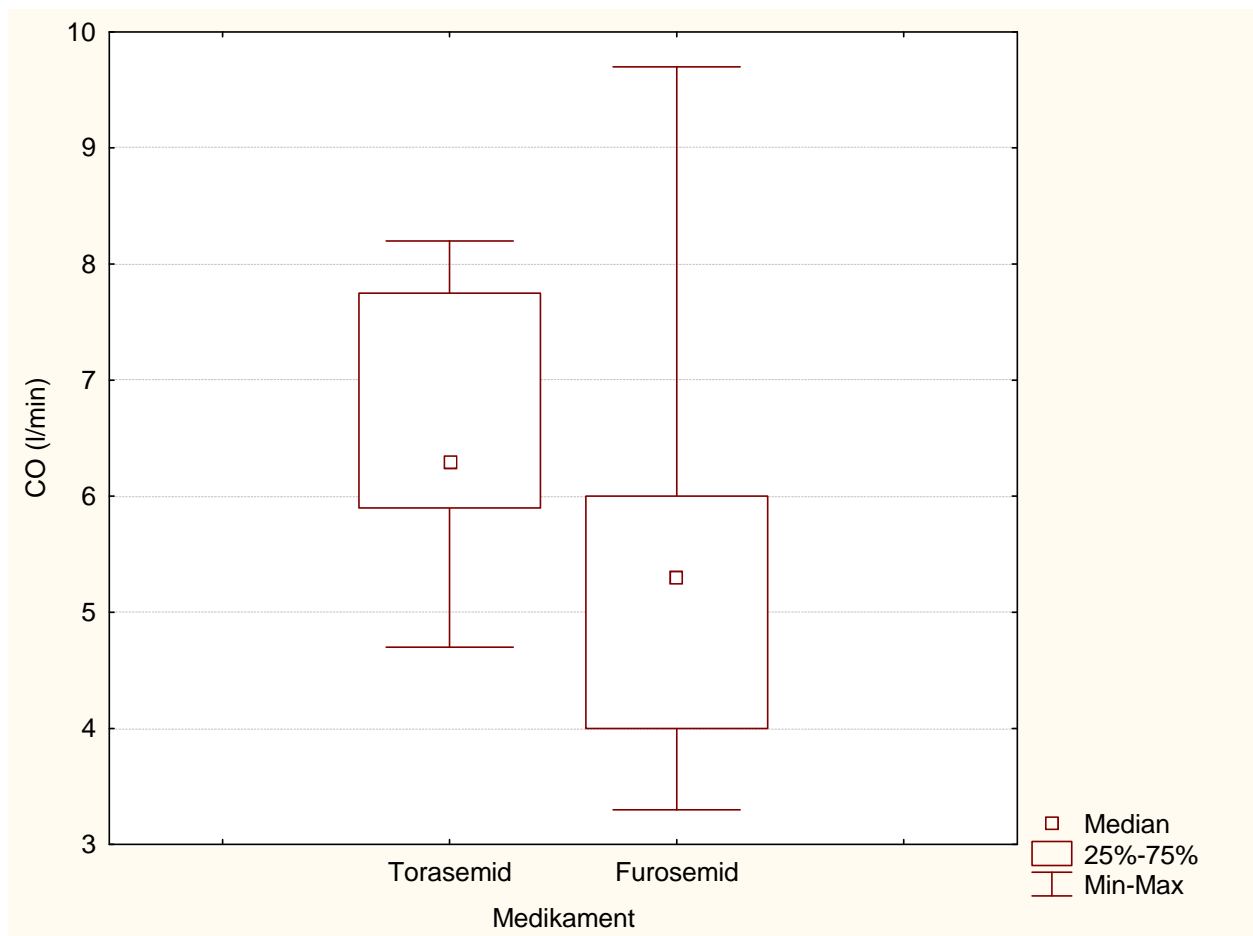
**Tabelle 6** Sekundäre Zielparameter als Median und IQR beider Gruppen zu beiden Messzeitpunkten sowie zugehörige statistische Zusammenhänge, signifikante p-Werte sind fett dargestellt [61]

### Intergruppenvergleich

Der Intergruppenvergleich nach MWU zeigte zum Messzeitpunkt t2 mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von p=0,021 zwischen der Torasemid- und der Furosemidgruppe ein signifikant höheres CO in der Torasemidgruppe. Das Herz-Zeitvolumen in der Tora-

semidgruppe war mit 6,3 l/min im Vergleich zu der Furosemidgruppe mit 5,3 l/min deutlich höher (Median). Vor der Medikamentengabe war das CO in der Torasemidgruppe im Median zwar bereits höher als in der Furosemidgruppe, dieser Unterschied war mit einem p von 0,447 aber statistisch nicht signifikant. Abbildung 18 stellt dies graphisch als Boxplot dar.

Zusätzlich konnte sich nach Einnahme von Torasemid mit 28 mmHg (Median) ein tendenziell höherer MPAP ( $p=0,051$ ) als nach Einnahme von Furosemid mit einem Median von 24 mmHg beobachten lassen.



**Abb. 18** Darstellung des Intergruppenvergleichs des CO zum Messzeitpunkt t2 als Boxplot,  $p=0,021$

### Intragruppenvergleich

Der Intragruppenvergleich erbrachte bezüglich der sekundären Zielkriterien keine signifikanten Unterschiede vor und nach Studienmedikation.

## **6. Diskussion**

### **6.1 Primäre Zielparameter**

#### **6.1.1. Wirkung von Torasemid und Furosemid auf die Angiotensin-II-Plasmaspiegel**

Das wesentliche Ergebnis dieser Studie bezogen auf die primären Zielparameter ist die unterschiedliche Beeinflussung der arteriellen Angiotensin-II-Konzentrationen. In der Furosemidgruppe stellte sich ein signifikant höherer Spiegel als in der Torasemidgruppe heraus.

Vor der Medikamentengabe bestand dieser Unterschied nicht. Wir beobachteten in beiden Gruppen einen Anstieg der Mediatorkonzentration. Dieser war in der Furosemidgruppe allerdings deutlich ausgeprägter als in der Torasemidgruppe. Daraus lässt sich für diese Studie schlussfolgern, dass bei Patienten mit PAH Dana Point 2 die orale Applikation von Furosemid im Vergleich zu Torasemid zu einem deutlicheren Anstieg der arteriellen Angiotensin-II-Konzentration führte. Jedoch ergaben die Ergebnisse der Intragruppenvergleiche keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der arteriellen Angiotensin-II-Konzentrationen vor und nach Medikamentengabe innerhalb der Gruppen.

Einen ähnlichen Effekt beobachteten Fortuno et al. [9] in einer tierexperimentellen Untersuchung. Sie konnten nachweisen, dass Torasemid nicht aber Furosemid die Angiotensin-II-vermittelte Proteinsynthese sowie das Muskelzellwachstum und damit das vasculäre Remodelling in glatten Muskelzellen der Aorta reduziert. Jedoch wurde in dieser Arbeit nicht die Mediatorkonzentration sondern der Angiotensin-Effekt über Messung der DNA und Proteinsynthese sowie über direkte Messung der Zellzahl und somit der Proliferationsrate analysiert. Aufgrund der unterschiedlichen Versuchsanordnung (tierexperimentell vs. Versuch am Patienten, Messung der Zieleffekte vs. Messung der Mediatorkonzentration, Messung in vitro vs. Messung in vivo) lassen sich beide Studien zwar nur eingeschränkt vergleichen, deuten aber eine steigernde Wirkung von Furosemid auf den Angiotensin-II-Spiegel an.

Unsere Literaturrecherche konnte keine Arbeit finden, die wie unser klinischer Ver-



suchsaufbau Veränderungen der Angiotensin-II-Konzentration im Blut durch Behandlung mit Schleifendiuretika untersuchte, allerdings sind Effekte auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System durch unsere Studienmedikamente mehrfach untersucht.

Uchida et al. konnten bereits 1994 in einer prospektiven tierexperimentellen Arbeit an gesunden und an medikamentös-induziert hypertensiven Ratten eine dosisabhängige Beeinflussung der Plasma-Reninaktivität (PRA) durch Torasemid und Furosemid nachweisen [60]. Sie behandelten gesunde und medikamentös-induziert hypertensive Ratten oral und untersuchten primär auf unterschiedliche Beeinflussung der PRA sowie der Aldosteronkonzentration und sekundär auf Unterschiede bezüglich der diuretischen Wirkung und der Dyselektrolytämie als Nebenwirkung. Im Gegensatz zu unserem Ergebnis zeigte sich hier allerdings ein signifikanter Anstieg der PRA in beiden Gruppen zu einem vergleichbaren Messzeitpunkt (1 Stunde nach oraler Applikation). 2 Stunden nach Applikation der Studienmedikamente konnte für beide Medikamente ein signifikanter Anstieg der Aldosteronkonzentration nachgewiesen werden. Des Weiteren konnten Uchida et al. ähnlich wie Fortuno et al. auf zellulärer Ebene in vitro einen Vorteil von Torasemid herausarbeiten, denn in der Torasemid-Gruppe lies sich eine Unterdrückung der Aldosteron-Bindung an seinem Rezeptor an der entfernten Niere nachweisen. Die Autoren leiteten daraus einen anti-aldosteronergen Effekt des Torasemids ab.

Grundsätzlich zeigten sie damit in Hinsicht auf die Aldosteronsynthese einen zu unseren Studienergebnissen ähnlichen Vorteil von Torasemid gegenüber Furosemid. Jedoch sind die Ergebnisse nur bedingt vergleichbar, da zum einen ein anderer Versuchsaufbau vorlag (tierexperimentell vs. klinische Studie) und zum anderen der in der Uchida-Arbeit in beiden Gruppen gleichermaßen nachgewiesene Anstieg der PRA nicht mit dem von uns gemessenen geringeren Angiotensin-II-Spiegel in der Torasemidgruppe konsistent ist, so dass hier weiterführende Untersuchungen Klarheit bringen müssen.

Kiely et al. beobachteten 1997 in einer prospektiv randomisierten Studie ebenfalls eine Beeinflussung der PRA durch oral verabreichtes Furosemid [24]. Sie untersuchten bei 8 gesunden Freiwilligen die Auswirkung einer induzierten Hypoxie durch Inhalation eines Stickstoff-Sauerstoff-Gemischs auf die PRA sowie auf unterschiedliche Parameter der Hämodynamik (Pulmonaler Gefäßwiderstand - PVR, MPAP, HR, MAP). Im Vorfeld erhielten die Probanden für eine Woche Placebo oder 4x40 mg Furosemid per os. Bei

allen 3 Messungen (normale Oxygenierung, mittlere und starke Hypoxie) konnte in der Furosemidgruppe eine erhöhte PRA-Aktivität nachgewiesen werden. Gleichzeitig war eine erhöhte PVR unter Normoxämie sowie unter Hypoxie in der Furosemidgruppe im Vergleich zu Placebo messbar. Die Autoren diskutierten eine verstärkte Hypoxie-induzierte Vasokonstriktion in der pulmonalen Strombahn unter Furosemidtherapie, die möglicherweise durch die erhöhte PRA erklärt werden könnte.

Eine erhöhte PRA sollte zu erhöhten Angiotensin-II-Konzentrationen führen, da die PRA ein Maß für die Aktivität des RAAS ist [55]. Daher ist die dargestellte Erhöhung der PRA mit unserem Ergebnis gut in Einklang zu bringen. Beide Studien zeigen höhere Angiotensin-II-Spiegel bzw. Aktivierung des RAAS nach Furosemidgabe. Das Studienkollektiv ist allerdings unterschiedlich zu den von uns behandelten herzchirurgischen Patienten, da Kiely et al. gesunde Probanden untersuchten. Des Weiteren fehlt der Vergleich zu Torasemid.

Im Gegensatz zu den diskutierten Studien beschrieben Yamato et al. 2003 in einer prospektiv-randomisierten Studie einen Anstieg der PRA auch durch den Einsatz von Torasemid [62] bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz NYHA II-III. Eingeschlossen wurden 50 Patienten mit einer seit mindestens einem Jahr bestehenden Betablockertherapie, die entweder 4-8 mg Torasemid oder 20-40 mg Furosemid per os erhielten. Zusätzlich wurde mit einem ACE-Hemmer peroral behandelt. Ausgeschlossen wurden Patienten bei Dyselektrolytämien, Nierenversagen oder bei notwendiger Therapie mit einem Aldosteronantagonisten. Nach 6 Monaten wurden in beiden Gruppen laborchemisch die PRA, der Herzinsuffizienzmarker Brain Natriuretic Peptide (BNP), die Serumspiegel von Aldosteron und Norepinephrin sowie echokardiographisch linksventrikuläre Funktionsparameter bestimmt. Des Weiteren untersuchten die Autoren Parameter der globalen Hämodynamik (systolischer und diastolischer Blutdruck, Herzfrequenz) und verglichen in beiden Gruppen die klinische Entwicklung bezüglich der Ausprägung der Herzinsuffizienzsymptome nach der NYHA-Klassifikation. In der Furosemidgruppe konnten keine Veränderungen der neurohumoralen Parameter herausgearbeitet werden, in der Torasemidgruppe zeigten sich statistisch signifikant eine verstärkte PRA sowie erhöhte Aldosteronspiegel. Dies wurde als Indikator für den von Uchida et al. im Tierversuch beschriebenen antialdosteronergen Effekt des Torasemids interpretiert. Aufgrund der Behandlung nicht herzchirurgisch-operierte Patienten über einen längeren

Beobachtungszeitraum, der niedrigeren Dosierung der Studienmedikamente sowie der Einsatz eines zusätzlichen Pharmakons (ACE-Hemmer), welches aufgrund seines Wirkmechanismus direkt an dem RAAS angreift, lassen sich die Ergebnisse von Yamato et al. ebenfalls nur sehr eingeschränkt mit den Ergebnissen unserer Studie vergleichen.

Hori et al. konnten 2007 im Tierversuch ebenfalls eine Erhöhung der Aldosteronkonzentrationen durch beide Studienmedikamente in einem Cross-Over-Design nach oraler Anwendung nachweisen [16]. Sie untersuchten 8 gesunde Hunde, welche nacheinander gewichtsadaptiert sowohl Furosemid (2 mg/kg KG) als auch Torasemid (0,2 mg/kg KG) und Placebo oral appliziert bekamen. Die Medikamente wurden jeweils für 14 Tage alle 12 Stunden gegeben. Es konnte ein signifikanter Anstieg der Aldosteronkonzentrationen bei beiden Studienmedikamenten im Vergleich zum Ausgangswert nachgewiesen werden. Die Aldosteronkonzentrationen waren in der Torasemidgruppe im Vergleich zur Furosemidgruppe vergleichbar mit den Ergebnissen von Yamato et al. statistisch signifikant höher.

Übereinstimmend zu unseren Ergebnissen geben die Arbeiten von Yamato et al. und Hori et al., trotz des grundsätzlich anderen Studiendesigns, einen Hinweis darauf, dass durch Schleifendiuretika eine Beeinflussung des RAAS bei unterschiedlichen Patientengruppen bzw. im tierexperimentellen Ansatz nachgewiesen werden kann.

Zusammenfassend erscheint eine Beeinflussung des RAAS durch Schleifendiuretika gegeben, auch wenn die Ergebnisse der vorgestellten Studien und unserer Untersuchung teils deutlich voneinander differieren. Hinweise auf einen antialdosteronergen Effekt des Torasemid sind vorhanden, eine Erhöhung der Angiotensin-II-Aktivität durch Furosemid wurde in unserer Studie sowie von Kiely et al beobachtet. Die durch Fortuno et al. im Tierversuch erhaltenen Hinweise auf eine positive Beeinflussung des Angiotensin-II-Haushalts [9, 42] durch Torasemid konnten durch unsere Studie zumindest teilweise in unserem Patientenkollektiv bestätigt werden.

### **6.1.2. Wirkung von Torasemid vs. Furosemid auf die Endothelin-1-Plasmaspiegel**

Signifikante Unterschiede der Endothelin-1-Aktivität in Abhängigkeit des Studienmedikamentes konnten in unserer Arbeit nicht nachgewiesen werden.

Für Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz ist die Rolle des Endothelins bereits untersucht:

Kinugawa et al. konnten 2003 einen direkten Zusammenhang zwischen der Endothelin-1-Konzentration und der klinischen Ausprägung der Herzinsuffizienz nach NYHA-Klassifikation nachweisen [25]. Des Weiteren wiesen sie eine direkte Korrelation der Endothelin-1-Konzentrationen mit den Konzentrationen des Herzinsuffizienz-Markers BNP und einer erhöhten Sympathikusaktivität, gemessen an der Plasmakonzentration von Norepinephrin, nach. Eine medikamentöse Beeinflussung der Endothelin-Konzentration war jedoch nicht Gegenstand dieser Studie.

Hingegen erhielten in einer prospektiven Studie im Jahre 2003 von Salomon et al. 92 Patienten mit akuter Dekompensation einer vorbekannten chronischen Herzinsuffizienz Furosemid und Captopril zur Rekompensation [52]. Neben Endothelin-1 untersuchten die Autoren zusätzlich BNP, cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) sowie die NoradrenalinKonzentrationen (NA). Alle Werte wurden zu Therapiebeginn, also im Rahmen der Dekompensation, sowie 5-7 Tage nach Behandlung und nach Remission der Symptome der akuten Dekompensation bestimmt. Innerhalb der Studienpopulation unter akuter kardialer Dekompensation waren die Plasmaspiegel von Endothelin-1, BNP, cGMP und NA erhöht und 5-7 Tage nach Behandlung mit Captopril und Furosemid ein statistisch signifikanter Abfall von Endothelin-1, BNP und cGMP messbar. Hieraus wurde geschlossen, dass diese Parameter sich gut zur Verlaufskontrolle der Rekompensationstherapie eignen.

Ob der Abfall der Endothelin-Konzentration Folge der Rekompensationstherapie und somit Ausdruck der Verbesserung des NYHA-Stadiums der Herzinsuffizienz ist, wie es Kinugawa et al. vorbeschrieben, oder aber als direkte Wirkung der eingesetzten Pharmaka interpretiert werden kann, wurde in dieser Studie nicht untersucht, so dass nur eine eingeschränkte Vergleichbarkeit zu unserem Untersuchungsaufbau vorliegt.

Erwiesen erscheint, dass Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz in Abhängigkeit von der klinischen Ausprägung erhöhte Endothelin-1-Spiegel aufweisen [25, 52].

Einschlusskriterium unserer Arbeit war eine postkapilläre pulmonal-arterielle Hypertonie auf dem Boden einer chronischen Herzinsuffizienz. Die Endothelinspiegel betragen im Median vor Medikation 0,18-0,25 fmol/ml und nach Medikation 0,2-0,25 fmol/ml.

Schneider et al. konnten 2002 erhöhte Endothelin-1-Spiegel bei Diabetikern [54] zeigen. In ihrer Kontrollgruppe wurde ein Median von 0,08 fmol/ml gemessen. Vergleicht man nun unsere Patienten mit diesen gesunden Probanden, zeigte sich in unserer Studie korrespondierend zu den Ergebnissen von Salomon und Kinugawa ebenfalls erhöhte Endothelin-1-Spiegel auf dem Boden einer chronischen Herzinsuffizienz.

Eine Beeinflussung des Endothelin-1-Plasmaspiegels durch Furosemid konnten wir entgegen der Ergebnisse von Salomon et al. nicht nachweisen. Als Ursachen sind an erster Stelle die unterschiedlich lange Applikationsdauer (Einmalgabe vs. Therapie über 5-7 Tage) und das unterschiedliche Patientenkollektiv (kardiochirurgisch versorgte Patienten vs. akut kardial dekompensierte Patienten) zu nennen.

Korrespondierend zu unserem Ergebnis konnten Galve et al. 2005 ebenso keine Beeinflussung der Endothelinkonzentration durch Schleifendiuretika feststellen [11]. Sie untersuchten in einem follow-up-Design 26 Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz in einem stabilen Stadium II nach NYHA. Voraussetzung für den Einschluss waren im Wesentlichen wenigstens eine kardiale Dekompensation in der Eigenanamnese, eine eingeschränkte systolische Pumpfunktion sowie eine Dauertherapie mit bis zu 80mg Furosemid oder einem anderen Schleifendiuretikum in äquivalenter Maximaldosierung und einem ACE-Hemmer. Untersucht wurde der Einfluss einer Pausierung der Diuretika für 3 Monate auf die Serumspiegel von Endothelin, PRA, Vasopressin, BNP, Aldosteron und Epinephrin. 17 Patientin tolerierten das Absetzen des Diuretikums, bei 9 Patienten musste die Diuretikatherapie vor den 3 Monaten wieder aufgenommen werden. Nach 3 monatiger Diuretikakarenz konnte eine signifikante Verbesserung der Nierenfunktion gemessen an Harnstoff und Kreatinin dokumentiert werden. Es kam zu einem signifikanten Anstieg des BNP. Eine statistisch signifikante Beeinflussung des Endothelin konnten die Autoren nicht herausarbeiten und kamen somit trotz des völlig unterschiedlichen Studiendesigns zu einem ähnlichen Ergebnis wie wir. Interessanterweise konnte bei den 9 Patienten, welche wieder Diuretika einnehmen mussten ein Anstieg der Endothelinkonzentration beschrieben werden, welcher allerdings nicht signifikant war. Auch hier konnte in unserer Studie in der Furosemidgruppe eine ähnliche Tendenz beobachtet werden: Anstieg des Median von 0,21 fmol/ml auf 0,25 fmol/ml im arteriellen Blut mit einer knappen Verfehlung des Signifikanzkriteriums ( $p=0,05$ ).

## 6.2 Sekundäre Zielparameter

In der Torasemidgruppe wurde nach Gabe des Studienmedikaments ein signifikant höheres CO als in der Furosemidgruppe gemessen. Eine Beeinflussung durch eine signifikant höhere Dosierung von vasoaktiven Substanzen (Dopamin und Nitroglycerin) konnten wir ausschließen, sowohl im Intra- als auch im Intergruppenvergleich gab es hier keine signifikanten Unterschieden. Der MPAP war nach Einnahme von Torasemid numerisch, jedoch nicht signifikant höher als in der Furosemidgruppe. Ein alleiniger Volumeneffekt als Ursache erscheint bei nicht differierenden Urinausscheidungen in beiden Gruppen (siehe Tabelle 5, Abschnitt 5.3.1) sowie keinen Unterschieden beim CVP (siehe Tabelle 6, Abschnitt 5.3.2) unwahrscheinlich.

Kiely et al. beschrieben eine statistisch signifikante Erhöhung des MPAP, der PVR und des CO nach oraler Furosemidanwendung in der Baseline-Messung an gesunden Probanden im Vergleich zu Placebo [24]. Nach Erhöhung des pulmonalen Widerstandes durch Induktion einer Hypoxie via Insufflation eines Stickstoff-Sauerstoff-Gemischs waren die Effekte nicht mehr signifikant. Dieses Ergebnis konnten wir mit unserer Studie nicht nachvollziehen. Es war keine Beeinflussung von CO sowie MPAP im Intragruppenvergleich in der Furosemidgruppe nachweisbar. Ein Vergleich mit Torasemid wurde von Kiely et al. nicht durchgeführt, so dass die Ergebnisse beider Studien nur eingeschränkt miteinander vergleichbar sind. Des Weiteren erschweren das unterschiedliche Patientenkollektiv (gesunde Probanden vs. Patienten in unserer Studie), die verschiedenen Beobachtungszeiträume (4 Tage vs. Einmalgabe) sowie die unterschiedlichen Dosierungen (4x40 mg Furosemid vs. 1x80 mg Furosemid oder 1x20 mg Torasemid) die direkte Vergleichbarkeit der Studienergebnisse.

Ein klassisches Anwendungsgebiet der Schleifendiuretika ist die Rekompensation der akuten kardialen Dekompensation sowie die Behandlung der chronischen Herzinsuffizienz jeglicher Genese [28]. Daher lassen sich hier mehrere Studien zur Wirkung unserer Studienmedikamente auf die Hämodynamik zitieren, auch wenn in unserer Untersuchung Patienten mit einer kardialen Dekompensation ausgeschlossen waren:

Isbary et al. verglichen die hämodynamischen Effekte unserer Studienmedikamente bei Patienten mit schwerer Linksherzinsuffizienz ohne Berücksichtigung der Genese in einem randomisierten, doppelt blinden und prospektiven Studiendesign [18]. Einge-

geschlossen wurden 21 Patienten mit Herzinsuffizienz NYHA III-IV und einem PCWP > 18 mmHg. Die Patienten erhielten entweder 20 mg Furosemid oder 20 mg Torasemid intravenös. Die unterschiedlichen Parameter wurden ähnlich unserer Arbeit mittels Swan-Ganz-Katheter gemessen. Der Beobachtungsraum betrug 24 h. In der ersten Stunde wurde in 5 minütigen Abständen gemessen, dann stündlich. In beiden Gruppen konnte über 24 h ein Abfall des PCWP beobachtet werden, die PCWP-Reduktion in der Furosemidgruppe war statistisch signifikant. Der Intergruppenvergleich erbrachte hier keinen Vorteil eines Medikaments bezüglich des PCWP. Der MPAP zeigte ebenfalls einen Abfall in beiden Gruppen, die MPAP-Reduktion in der Furosemidgruppe war statistisch signifikant. Bezüglich des CO, des systemischen Blutdrucks und der systemisch vaskulären Resistance beobachteten die Autoren keine Unterschiede. Die PVR fiel in der Torasemidgruppe ab und blieb in der Furosemidgruppe konstant.

Aufgrund des längeren Beobachtungszeitraums und der anderen Applikationsform der Studienmedikamente sowie des unterschiedlichen Patientenkollektivs, der unterschiedlichen Dosen und der nicht bestehenden Dosisäquivalenz der applizierten Schleifendiuretika ist die Arbeit von Isbary et al. mit unserer Arbeit nur eingeschränkt vergleichbar, dennoch sind die Ergebnisse bezüglich des MPAP ähnlich: signifikante Reduktion in der Furosemidgruppe in der Arbeit von Isbary et al. sowie tendenziell erniedrigte MPAP-Werte in der Furosemidgruppe im Vergleich zur Torasemidgruppe in unserer Studie.

Langbehn et al. untersuchten mittels Swan-Ganz-Katheter die Effekte der intravenösen Torasemid- oder Furosemidapplikation auf die Druckwerte in der pulmonalen Strombahn an Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz auf dem Boden einer KHK in einer randomisiert, doppelt verblindeten prospektiven Studie [29]. Sie applizierten intravenös 20 mg Torasemid oder 20 mg Furosemid. Die pulmonalen Druckwerte MPAP, systolischer pulmonalarterieller Druck (PAPS) und diastolischer pulmonalarterieller Druck (PAPD) wurden nach 4, 8 sowie 12 Minuten gemessen und verglichen. Eingeschlossen wurden insgesamt 19 Patienten. Die Autoren konnten eine signifikante Senkung aller 3 Werte in der Torasemidgruppe sowie eine signifikante Senkung des PAPD in der Furosemidgruppe beobachten und kamen damit zu einem anderen Ergebnis als wir. Die Unterschiede der Ergebnisse sind durch die unterschiedliche Applikationsform, Dosierung, fehlender Dosisäquivalenz der Studienmedikation [2], dem kürzeren Beobachtungszeitraum sowie in dem differierenden Patientenkollektiv erklärbar.

Podszus et al. untersuchten 1994 die hämodynamischen Effekte der oralen Torasemidgabe bei Patienten mit leichter chronischer Herzinsuffizienz [47] in einer prospektiven Studie. Eingeschlossen wurden 24 Patienten mit kompensierter Herzinsuffizienz. Die Patienten erhielten über 12 Wochen 5 mg Torasemid per os täglich. Die hämodynamischen Parameter wurden zum Therapiebeginn und nach 12 Wochen sowohl in Ruhe als auch unter Belastung mittels Fahrradergometer gemessen. Im Unterschied zu unserer Studie konnten Podszus et al. bei ihren Patienten nach Torasemidgabe einen signifikanten Abfall des MPAP sowohl in Ruhe als auch unter Belastung nach 12 Wochen der oralen Therapie beobachten. Zusätzlich beschrieben sie einen signifikanten Abfall des rechtsatrialen Drucks und des systemischen Blutdrucks. Bezüglich des CO konnte korrespondierend zu den Ergebnissen unseres Intragruppenvergleichs keine signifikante Änderung identifiziert werden. Auch für die PVR, den systemischen Gefäßwiderstand (SVR) sowie die HR konnte keine Beeinflussung durch Torasemid analysiert werden.

Der MPAP war in unserer Studie im Unterschied zu den Ergebnissen von Podszus et al. unbeeinflusst durch die orale Anwendung von Torasemid. Die Gründe hierfür liegen möglicherweise an den anderen Einschlusskriterien und vor allem an der deutlich längeren Therapiedauer (Einmalgabe vs. 12 wöchige Therapie).

Kasama et al. verglichen 2006 in einer randomisiert-prospektiven Studie den Einfluss von Furosemid und Torasemid bezüglich der Wirkung auf das sympathische Nervensystem sowie auf echokardiographisch bestimmte Parameter der linksventrikulären Herzfunktion [21]. Eingeschlossen wurden 40 Patienten mit dekompensierter Herzinsuffizienz NYHA III-IV: Nach Rekompensationstherapie mittels intravenöser Anwendung von Furosemid sowie der peroralen Anwendung eines ACE-Hemmers (Enalapril oder Perindopril) wurden die Patienten in zwei Gruppen aufgeteilt. Jede Gruppe erhielt entweder 4-8 mg Torasemid oder 20-40 mg Furosemid per os über 6 Monate. Die Aktivität des sympathischen Nervensystems wurde szintigraphisch mittels  $^{123}\text{I}$ -Metaiodbenzylguanidin ( $^{123}\text{I}$ -MIBG) Imaging überwacht, die linksventrikulären Parameter wurden echokardiographisch bestimmt. Zusätzlich wurden die Serumwerte des Herzinsuffizienzmarkers BNP und das klinische Stadium der Herzinsuffizienz nach NYHA-Klassifikation bestimmt. Bezüglich des  $^{123}\text{I}$ -MIBG Imagings konnte ein statistisch signifikanter Vorteil für die Torasemidgruppe beschrieben werden. Das linksventrikuläre end-systolische (LVEDV) und enddiastolische Volumen (LVESV) wurde in der Torasemid-



gruppe, nicht aber in der Furosemidgruppe signifikant gesenkt. Das CO, welches in unserer Untersuchung in der Torasemidgruppe höher war, wurde nicht speziell untersucht. Bezüglich der EF konnten Kasama et al. in der Torasemidgruppe einen tendenziellen Anstieg von 31 auf 34% messen, in der Furosemidgruppe zeigte sich kein Unterschied.

Zusammenfassend arbeiteten Kasama et al hinsichtlich der linksventrikulären Funktion einen Vorteil für Torasemid heraus. Zusätzlich konnten sie in beiden Gruppen eine signifikante Verbesserung der klinischen Symptomatik nach der NYHA-Klassifikation im Intragruppenvergleich beschreiben. Die Verbesserungen in der Torasemidgruppe waren allerdings ausgeprägter. Dieses Ergebnis war im Intergruppenvergleich statistisch signifikant, so dass die Autoren bezüglich der von ihnen eingeschlossenen Patientengruppe ein Vorteil für Torasemid postulierten.

Eine direkte Untersuchung linksventrikulärer Funktionsparameter war nicht Gegenstand unserer Studie, betrachtet man das von uns gemessene CO als Surrogat-Parameter der linksventrikulären Funktion kam unsere Arbeit trotz der Unterschiede im Behandlungszeitraum (Einmalgabe vs. 6-monatige tägliche Applikation) und der unterschiedlichen eingeschlossenen Patienten (postkapilläre PAH vs. Patienten mit dekompensierter Herzinsuffizienz) zu ähnlichen Ergebnissen wie die Arbeitsgruppe von Kasama et al.

Die TORIC-Studie verglich als nicht-randomisierte Beobachtungsstudie die Effekte von Furosemid und Torasemid bezüglich der Langzeitanwendung bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz [4]. Eingeschlossen wurden 1377 Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz NYHA II-III. Die Studienmedikamente wurden bezüglich Sicherheit und Verträglichkeit (gemessen anhand der Morbidität und Mortalität sowie der Nebenwirkung Hypokaliämie) sowie Effektivität (Verbesserung der NYHA-Klassifikation) überprüft. Der Beobachtungszeitraum betrug 12 Monate, die genannten Kriterien wurden alle 3 Monate geprüft. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass Torasemid verträglicher (weniger Hypokaliämien, geringere Mortalität und Morbidität) sowie effektiver (stärkere Verbesserung der NYHA-Klasse) ist.

Zusammenfassend erscheint Torasemid bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz einen besseren Einfluss auf die Funktionsparameter des linken Ventrikels zu haben [21]. Zusätzlich hat es bei chronischer Herzinsuffizienz einen stärkeren Effekt auf die klinische Symptomatik [4]. Langbehn et al. zeigten bei Patienten mit chronischer Herz-

insuffizienz einen Vorteil von Torasemid bezüglich der Drücke in der pulmonalen Strombahn [29]. Dieser Effekt wurde von Podszus et al. für Torasemid bestätigt [47]. Unsere Arbeit zeigte ähnlich zu den zitierten Studien bei unserem Patientenkollektiv ein höheres CO nach oraler Anwendung von Torasemid. Kiely et al. [24] konnten im Gegensatz zu unseren Patienten bei gesunden Probanden mit Hypoxie-induzierter PAH eine Steigerung des CO nach Anwendung von Furosemid beobachten.

### **6.3 Klinische Anwendbarkeit**

In der Literatur ist eine Beeinflussung des RAAS durch die Schleifendiuretika Torasemid und Furosemid beschrieben [24, 62, 60, 16]. Es gibt Hinweise auf eine antialdosteronerge Wirkung von Torasemid [62, 60, 16]. In mehreren Studien war eine höhere Aldosteronkonzentrationen nach Torasemid im Vergleich zu Furosemid [62, 16] nachweisbar. Für herzchirurgische Patienten mit einer postkapillären PAH in unserer Studie geht die Gabe von Furosemid mit einer signifikant höheren Angiotensin-II-Konzentration im Vergleich zu Torasemid einher. Die tierexperimentellen Hinweise von Fortuno et al. auf eine positive Beeinflussung des Angiotensin-II-Haushalts [9, 42] durch Torasemid konnten wir bei unseren Patienten ebenfalls beobachten.

Aufgrund der stark vasokonstriktorischen Wirkung von Angiotensin-II [23] und der negativen Beeinflussung des vaskulären Remodellings [23, 40] durch diesen Mediator sollte unser Studienergebnis Anlass zur weiteren Untersuchung der Wirkung von Torasemid auf das RAAS bei Patienten mit postkapillärer PAH geben, um bei indizierter diuretischer Therapie durch den angenommenen zusätzlichen Vorteil im Sinne niedrigerer Angiotensin II-Spiegel eine Entscheidungshilfe bei der Auswahl des Schleifendiuretikums zu erhalten.

Bezüglich der Beeinflussung des Endothelinhaushaltes durch Schleifendiuretika bei Patienten mit PAH ließen sich in unserer Studie keine Vorteile für Furosemid oder Torasemid finden. Ein Zusammenhang zwischen dem Stadium der Linksherzinsuffizienz und der Endothelinkonzentration konnten mehrere Studien zeigen [25, 52]. Ebenso ergab unsere Literaturrecherche mehrere Arbeiten, die einen Vorteil bei der Behandlung der chronischen Herzinsuffizienz durch Torasemid als Ergebnis hatten [47, 21, 4]. Jedoch ist bislang eine Beeinflussung der linksventrikulären Funktionsparameter in der Echokardiographie durch Schleifendiuretika bei Patienten mit PAH unseres Wissens nach

nicht beschrieben worden, so dass darin ein weiterer zukünftiger Forschungsansatz liegen sollte.

Aufgrund der Rolle des Endothelin-1 als Mediator der Entwicklung einer PAH [45] durch direkte Vasokonstriktion am pulmonalen Strombett [3] und die erwiesenen proliferativen und mitogenen Effekte auf die glatte Gefäßmuskulatur [22] ist die Frage nach der Beeinflussung des Endothelinsystems durch Schleifendiuretika bei Patienten mit PAH durchaus relevant und sollte weiter untersucht werden.

Unter Berücksichtigung der Publikationen von Salomon et al. und Kinugawa et al. [25, 52] sollten in zukünftigen Untersuchungen Patienten mit gleichen klinischen Stadien der Herzinsuffizienz und PAH oder aber Patienten mit PAH ohne Herzinsuffizienz, beispielsweise COPD-Patienten ohne Cor pulmonale eingeschlossen werden.

Zusätzlich beobachteten wir bei unseren Patienten eine Erhöhung des CO nach Behandlung mit Torasemid. Andere Arbeiten konnten im Langzeitversuch eine bessere Beeinflussung der Herzfunktion bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz durch Torasemid [21, 4] nachweisen. Im Gegensatz hierzu beschrieben Kiely et al. [24] eine Erhöhung des CO bei gesunden Patienten durch Furosemid. Inwiefern es hier Besonderheiten bei Patienten mit PAH gibt, sollte Gegenstand weiterer Studien sein, auch unter Berücksichtigung der von uns herausgearbeiteten tendenziellen unterschiedlichen Beeinflussung des MPAP mit Vorteilen für Furosemid.

## **6.4 Methodendiskussion**

In der Interpretation unserer Studienergebnisse müssen verschiedene Limitationen der Methodik diskutiert werden:

Zunächst ist die orale Bioverfügbarkeit von Furosemid mit 10 Prozent bis 100 Prozent interindividuell sehr schwankend und unterscheidet sich sehr von der oralen Bioverfügbarkeit von Torasemid (80-100 Prozent) [2].

Trotz Beachtung der Dosisäquivalenz im Studienaufbau kann nicht sicher von einer einheitlichen Resorption ausgegangen werden, was insbesondere bei einer Pilotstudie mit kleiner Fallzahl (n=21) zu einer Beeinflussung der Ergebnisse geführt haben kann.

Des Weiteren können wir nicht sicher ausschließen, dass die Messintervalle zu kurz

hintereinander lagen um alle Effekte der Schleifendiuretika zu erfassen.

Da diese Arbeit den Einfluss der oralen Applikation der Studienmedikamente auf die Zielparameter untersuchte, muss an dieser Stelle auch einschränkend auf die vorangegangene intravenöse Applikation hingewiesen werden:

1. Zum einen konnte mehrfach eine Beeinflussung des RAAS durch Schleifendiuretika nachgewiesen werden [24, 62, 60, 16], so dass eine Beeinflussung unserer Angiotensinmessungen durch die vorangegangene intravenöse Diuretikagabe nicht ausgeschlossen werden kann.
2. Zum anderen ist eine direkte stimulierende Wirkung von Angiotensin-II auf Endothelin-1 bekannt [49]. Die intravenöse Applikation von Torasemid hatte mit geringer Verfehlung der Signifikanzgrenze ( $p=0,05$ ) einen Anstieg von Angiotensin-II von 10,5 pg/ml auf 11,9 pg/ml im arteriellen bzw. von 9,1 pg/ml auf 14,8 pg/ml im gemischt-venösen Strombett (jeweils Median) nach sich gezogen [61], so dass hier durchaus eine Beeinflussung der Ergebnisse der Endothelinmessungen dieser Dissertation in Betracht gezogen werden muss.

Der Intergruppenvergleich bezüglich der Basischarakteristika erbrachte keine signifikanten Unterschiede. Eine Beeinflussung durch prämorbidet Faktoren konnte somit ausgeschlossen werden (siehe Abschnitt 5.1).

Eine relevante Beeinträchtigung durch die während des Intensivaufenthalts applizierten vasoaktiven Pharmaka konnte bei fehlenden signifikanten Unterschieden im Inter- und Intragruppenvergleich ebenso ausgeschlossen werden (siehe Abschnitt 5.3.1).

Die hämodynamischen Parameter und die Mediatorkonzentrationen wurden jeweils zweimal (bzw. der PCWP dreimal) bestimmt und das arithmetische Mittel zur Berechnung der Ergebnisse benutzt um Fehlerquellen zu minimieren.

Dennoch muss hier die Limitationen des Kreislaufmonitorings (Pulmonalarterienkatheter) angesprochen werden:

Der PCWP wird durch die Lage des Katheters beeinflusst, eine Lage in Zone 1 und 2 nach West kann zu Fehlmessungen führen [51]. Ursache ist eine Beeinflussung des Blutflusses durch die Ventilation in diesen Zonen. Eine valide Messung erfolgt nur in

Zone 3 nach West. Daher wurde bei allen Patienten routinemässig nach Herzoperation eine Röntgen-Thoraxaufnahme nach Aufnahme auf die Intensivstation durchgeführt und die korrekte Lage des Pulmonalarterienkatheters verifiziert.

Zusätzlich zu einer Fehllage des Pulmonalarterienkatheters können Mitralklappenfehler die Messung des PCWP beeinflussen [51]. 3 Patienten aus unserem Kollektiv erhielten Operationen an der Mitralklappe, so dass dies als relevante Fehlerquelle erwähnt sein muss, jedoch durch die Rekonstruktion bzw. den Ersatz der Mitralklappe als gering eingestuft werden kann.

Des Weiteren ist die PCWP-Bestimmung als Preload-Indikator als statische Messung im unteren Bereich des Frank-Sterling-Mechanismus ungenauer als mittlerweile verfügbare dynamische Messverfahren wie beispielsweise die Pulswellenvarianzanalyse [51].

Bezüglich der Bestimmung des CO mittels Thermodilution besteht lt. aktueller Lehrmeinung ein Präzisionsintervall von +/- 20% [64] bis +/- 25 % [51]. Als ursächlich für die Messungenauigkeiten werden im Wesentlichen Arrhythmien, intrakardiale Shunts, trikuspidale Regurgitation sowie Varianzen bei der Applikation des Kältebolus angegeben [51]. Yang et al. verglichen 2013 im Schweinmodell die CO-Bestimmung mittels Thermodilution mit der Messung des Flows in der Aorta mithilfe einer Dopplersonde [63] und konnten bei medikamentös induziertem niedrigem CO Varianzen bis zu +/- 39% errechnen. Zusätzlich verglichen sie mehrere Pulmonalarterienkatheter hintereinander an einem Versuchstier und ermittelten dabei einen systemischen Fehler von 26%. Das von uns verwendete CCO ist hier zwar der einfachen Thermodilutionsmethode mit einer Präzision 0,56-0,74l/min (11,2-15%) was die Messgenauigkeit angeht überlegen [51], dennoch besteht diese Fehlerquelle und ist im Hinblick auf den einzigen herausgearbeiteten signifikanten Unterschied bei den sekundären Zielparametern (CO Furosemidgruppe T2 5,3 l/min vs. CO Torasemidgruppe T2 6,3 l/min, also Differenz 18,8%) durchaus als relevant einzuschätzen.

Eine Beeinträchtigung der Mediatorkonzentrationen aufgrund der hohen Flüchtigkeit von Angiotensin II und Endothelin-1 trotz umgehender Kühlung nach Gewinnung der Blutproben und sofortigem Transport in das Labor zur Zentrifugation ist sicher nicht mit letzter Gewissheit auszuschließen. Die auffällig starke Streuung mit gruppenunabhängig deutlich von der IQR abweichenden Maximalwerten für Endothelin-1 (siehe Ab-

schnitt 5.2.1, Abbildung 6, Abbildung 7) gibt hier Hinweise auf etwaige Messfehler bei der Bestimmung dieses Mediators in unserer Versuchsanordnung. Zusätzlich gibt es Ungenauigkeiten in der Bestimmungsmethode selber, welche vor allem in der Kreuzreaktivität mit biologisch weniger aktiven Peptiden wie Endothelin-3 oder Big-Endothelin-1 liegt [48].

Des Weiteren unterliegt Endothelin-1 nach aktuellem Kenntnisstand mehreren Wechselwirkungen im Körper, auf welche wir in unserer Versuchsanordnung teilweise keine Rücksicht genommen haben. Es besteht eine Beeinflussung durch Angiotensin-II und oxidativen Stress [49] sowie durch den Natriumstoffwechsel [26, 36]. Zusätzlich wirkt Endothelin-1 nicht klassisch endokrin sondern eher para- und autokrin [27]. Somit ist durch eine direkte Messung des Plasma-Endothelins nach aktueller Meinung keine Aussage bezüglich der Endothelinproduktion sondern vielmehr der Endothelin-clearance zu treffen [48]. Hier gibt es Hinweise, dass diese über den Endothelin-B-Rezeptor vermittelt wird [5]. Somit postulierte Pollock 2013, dass eine Plasmamessung von Endothelin-1 eher die Aktivität des Endothelin-B-Rezeptors als die Produktion von Endothelin widerspiegelt [48].

## 7. Literaturverzeichnis

- 1 Biomedica 20052, rev.no. 120216 (replacing 090701), Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, A-1210 Wien, Divischgasse 4
- 2 Brater DC. Clinical Pharmacology of Loop Diuretics Drugs. 1991;41 Suppl 3:14-22
- 3 Caraballo Fonseca JC, Martinez Belzano CD, Sanchez de León R. Endothelial Dysfunction in Pulmonary Hypertension. Arch Bronconeumol. 2005; 41:389-92.
- 4 Cosín J, Díez J; TORIC investigators. Torasemide in chronic heart failure: results of the TORIC study. Eur J Heart Fail. 2002;4:507-13.
- 5 Elmarakby AA, Dabbs Loomis E, Pollock JS, Pollock DM. ETA receptor blockade attenuates hypertension and decreases reactive oxygen species in ETB receptor-deficient rats. J Cardiovasc Pharmacol. 2004 Nov;44 Suppl 1:S7-10.
- 6 Eurodiagnostika ED 29051, Angiotensin II RIA, Radioimmunoassay for the quantitative determination of Angiotensin II in human plasma. Doc. no. E-23-0066-00. Dezember, 2003.
- 7 Farber HW, Loscalzo J. Pulmonary arterial hypertension N Engl J Med. 2004;351: 1655-65.
- 8 Fortuno A., Muniz P., Zalba G., Díez J. The loop diuretic torasemide interferes with endothelin-1 actions in the aorta of hypertensive rats. Nephrol Dial Transplant. 2001;16 Suppl 1:18-21.
- 9 Fortuño A, Muñoz P, Ravassa S, Rodríguez JA, Fortuño MA, Zalba G, Díez J. Torasemide inhibits angiotensin-II-induced vasoconstriction and intracellular calcium increase in the aorta of spontaneously hypertensive rats. Hypertension. 1999;34:138-43.

- 10 Frangulian RR. The role of renin-angiotensin system in pathogenesis of pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Klin Med (Mosk)*.2000;78:18-20.
- 11 Galve E, Mallol A, Catalan R, Palet J, Méndez S, Nieto E, Diaz A, Soler-Soler J. Clinical and neurohumoral consequences of diuretic withdrawal in patients with chronic, stabilized heart failure and systolic dysfunction. *Eur J Heart Fail*. 2005;7:892-8.
- 12 Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, Kimura S, Masaki T, Duguid WP, Stewart DJ. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1993;328:1732-9.
- 13 Goldsby, R.A., Kindt, T.J., Osborne, B.A. & Kuby, J. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In: *Immunology*, 5th ed., pp. 148-150. W. H. Freeman, New York, 2003, ISBN 0-7167-4947-5
- 14 Hassani T S, Kessler D, Deom A. LEISTUNGSDOKUMENT NR. 25: Zentrifugation. CSCQ 2009.
- 15 Herold G. Pulmonale Hypertonie. In: Herold, eds. *Innere Medizin*. Köln, Deutschland: Dr. med. Gerd Herold, 2013: 407-8
- 16 Hori Y, Takusagawa F, Ikadai H, Uechi M, Hoshi F, Higuchi S. Effects of oral administration of furosemide and torsemide in healthy dogs. *Am J Vet Res*. 2007;68:1058-63.
- 17 Hubloue I, Rondelet B, Kerbaul F, Biarrent D, Milani GM, Staroukine M, Bergmann P, Maeije R, Leeman M. Endogenous angiotensin II in the regulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction in anaesthetized dogs. *Crit Care*. 2004;8:R163-71.
- 18 Isbary J, Achhammer I, Wetzels E. The influence of 20mg torasemide iv. and 20mg furosemide iv. on hemodynamics and diuresis in patients with high grade left heart failure. *Progress in Pharmacology and Clinical Pharmacology*, Vol I, Gustav Fischer Verlag Stuttgart New York 1990



- 19 Jansen JR, Schreuder JJ, Settels JJ, Kornet L, Penn OC, Mulder PG, Versprille A, Wesseling KH. Single injection thermodilution. A flow-corrected method. *Anesthesiology*. 1996;85:481-90.
- 20 Kanno S, Wu YJ, Lee PC, Billiar TR, Ho C. Angiotensin-converting enzyme inhibitor preserves p21 and endothelial nitric oxide synthase expression in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats. *Circulation*. 2001 Aug 21;104:945-50.
- 21 Kasama S, Toyama T, Hatori T, Sumino H, Kumakura H, Takayama Y, Ichikawa S, Suzuki T, Kurabayashi M. Effects of torasemide on cardiac sympathetic nerve activity and left ventricular remodeling in patients with congestive heart failure. *Heart* 2006;92:1434-40.
- 22 Keith IM, The Role of Endogenous Lung Neuropeptides in Regulation of the Pulmonary Circulation *Physiol Res*. 2000;49(5):519-37
- 23 Keith IM. The role of endogenous lung neuropeptides in regulation of the pulmonary circulation. *Physiol Res*. 2000;49(5):519-37.
- 24 Kiely DG, Cargill RI, Lipworth BJ. Effects of furosemide and hypoxia on the pulmonary vascular bed in man. *Br J Clin Pharmacol*. 1997; 43: 309-13.
- 25 Kinugawa T; Kato M; Ogino K, Osaki S; Igawa O; Hisatome I; Shigemasa C. Plasma endothelin-1 levels and clinical correlates in patients with chronic heart failure. *J Card Fail*. 2003;9:318-24.
- 26 Kohan DE, Inscho EW, Wesson D, Pollock DM. Physiology of endothelin in the kidney. *Comprehensive Physiol*. 2011;1: 883-919
- 27 Kohan DE, Rossi NF, Inscho EW, Pollock DM. Regulation of blood pressure and salt homeostasis by Endothelin. *Physiol Rev*. 2011;91: 1-77
- 28 Krück F. Acute and long term effects of loop diuretics in heart failure. *Drugs*. 1991; 41 Suppl 3:60-8

- 29 Langbehn AF, Achhammer I, Bölke T. Acute hemodynamic effects of 20mg torasemide and 20mg furosemide given intravenously to patients with congestive heart failure. *Progress in Pharmacology and Clinical Pharmacology*, Vol. 8/1 1990
- 30 Lesne M. Comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of torasemide and furosemide in healthy volunteers. *Arzneimittelforschung*. 1988;38:160-3
- 31 Li H, Elton TS, Chen YF, Oparil S. Increased endothelin receptor gene expression in hypoxic rat lung. *Am J Physiol*. 1994;266:L553-60.
- 32 Lipworth BJ, Dagg KD. Comparative effect of Angiotensin-II on Doppler parameters of left and right heart systolic and diastolic blood flow. *Br J Clin Pharmacol* 1994; 37: 273-8.
- 33 Lozán J L, Kausch H. Erläuterung einiger Fachbegriffe. In Lozán J L *Angewandte Statistik für Naturwissenschaftler*. Berlin, Germany. Parey Buchverlag Berlin, 1998: 21-32
- 34 Lozán J L, Kausch H. Varianzanalyse. In Lozán J L *Angewandte Statistik für Naturwissenschaftler*. Berlin, Germany. Parey Buchverlag Berlin, 1998: 117-172
- 35 Lozán J L, Kausch H. Vergleich zweier Stichproben. In Lozán J L *Angewandte Statistik für Naturwissenschaftler*. Berlin, Germany. Parey Buchverlag Berlin, 1998: 87-116
- 36 Lyon-Roberts B, Strait KA, van Peurse E, Kittikulsuth W, Pollock JS, Pollock DM, Kohan DE. Flow regulation of collecting duct endothelin-1 production. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011 Mar;300(3):F650-6.
- 37 Magid JH, Manohar M. Goetz TE, Bake GJ, Ulbricht R, Bontkowski S, Ghantous S. Pulmonary vascular pressures of thoroughbred horses exercised 1, 2, 3 and 4h after furosemide administration. *J Vet Pharmacol Ther*. 2000;23:81-9.

- 38 Manohar M, Goetz TE, Sullivan E, Griffin R. Pulmonary vascular pressures of strenuously exercising Thoroughbreds after administration of varying doses of furosemide. *Equine Vet J.* 1997;29:298-304.
- 39 Morell NW, Atochima EN, Morris KG, Stenmark KR. Angiotensin converting enzyme expression is increased in small pulmonary arteries of rats with hypoxia-induced pulmonary hypertension. *J Clin Invest.* 1995;96:1823-33.
- 40 Morrell NW, Upton PD, Kotecha S, Huntley A, Yacoub MH, Polak JM, Wharton J. Angiotensin II activates MAPK and stimulates growth of human pulmonary artery smooth muscle via AT1 receptors. *Am J Physiol.* 1999;277:L440-8.
- 41 Müller AM, Maas M, Kozińska U, Franke FE. Expression of angiotensin I converting enzyme in pulmonary hypertension. *Pathologe.* 2006;27:133-9.
- 42 Muniz P, Fortuno A, Zalba G, Diez J. Effects of loop diuretics on angiotensin-II-stimulated smooth muscle cell growth. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16 Suppl 1:14-7.
- 43 Nechwatal W, Eversmann A, Bier P, König E: Die Bestimmung des Herz-Zeit-Volumens mit einer automatisierten Thermodilutionsmethode. *Klinische Wochenschrift*, 15. Juli 1976, Volume 54, Issue 14, pp 677-682
- 44 Ohlstein EH, Arleth A, Bryan H, Elliott JD, Sung CP. The selective ET-A receptor antagonist BQ123 antagonizes endothelin-1-mediated mitogenesis. *Eur J Pharmacol.* 1992;225:347-50.
- 45 Pepke-Zaba J and Morrell N W. The endothelin system and its role in pulmonary arterial hypertension (PAH). *Thorax.* 2005;60(6):443-4.
- 46 Petkov V, AKH Wien, Universitätsklinik für Innere Medizin IV, klinische Abteilung für Pulmonologie: "Pulmonale Hypertonie", veröffentlicht auf [www.aneesthesiology.at](http://www.aneesthesiology.at)

- 47 Podszus T, Wagner U, Ploch T. Clinical and haemodynamic effects of long-term treatment with torasemide in congestive heart failure. *Cardiology*. 1994;84 Suppl 2:124-30.
- 48 Pollock DM. 2013 Dahl Lecture: American Heart Association council for high blood pressure research clarifying the physiology of endothelin. *Hypertension*. 2014;63:e110-7.
- 49 Pollock DM. Endothelin, angiotensin, and oxidative stress in hypertension. *Hypertension*. 2005 Apr;45(4):477-80.
- 50 Reingard Senekowitsch-Schmidtke: Immunoassays, Qualitätskontrolle. In: Torsten Kuwert u.a. (Hrsg.) *Nuklearmedizin*. Thieme Verlag, Stuttgart 2008, ISBN 978-3-13-118504-4.
- 51 Robin E, Costecalde M, Lebuffe G, Vallet B. Clinical relevance of data from the pulmonary artery catheter. *Crit Care*. 2006;10 Suppl 3:S3.
- 52 Salomon P, Prewlocka-Kosmala M, Orda A. Plasma levels of brain natriuretic peptide, cyclic 3`5´-guanosine monophosphate, endothelin 1 and noradrenaline in patients with chronic congestive heart failure. *Pol Arch Med Wewn*. 2003 Jan; 109:43-8.
- 53 Schäfers H J, Seeger W. *Pulmonale Hypertonie*. Blackwell-Wissenschafts-Verlag 2001, ISBN 3-89412-483-0
- 54 Schneider JG, Tilly N, Hierl T, Sommer U, Hamman A, Dugi K, Leidig-Bruckner G, Kasperk C. Elevated plasma endothelin-1 levels in diabetes mellitus. *Am J Hypertens*. 2002;15:967-72.
- 55 Stickler T. Plasma-Renin-Aktivität (PRA) ist ein aussagekräftiger prognostischer Marker für das Mortalitätsrisiko bei Patienten mit Herzinsuffizienz. *Austrian Journal of Hypertension* 2009; 13 (4): 44

- 56 Striebel H W. Klinisch-apparative und laborchemische Überwachung von Intensivpatienten: Pulmonalkapillärer Verschlussdruck. In: Striebel H W. Operative Intensivmedizin. Sicherheit in der klinischen Praxis. Stuttgart, Germany: Schattauer GmbH, 2008: 186
- 57 Striebel H W. Klinisch-apparative und laborchemische Überwachung von Intensivpatienten: Punktion der A. radialis und Anschluss der Druckmessung. In: Striebel H W. Operative Intensivmedizin. Sicherheit in der klinischen Praxis. Stuttgart, Germany: Schattauer GmbH, 2008: 164-65
- 58 Striebel H W. Klinisch-apparative und laborchemische Überwachung von Intensivpatienten: Zentraler Venendruck. In: Striebel H W. Operative Intensivmedizin. Sicherheit in der klinischen Praxis. Stuttgart, Germany: Schattauer GmbH, 2008: 166-81
- 59 Swan HJ, Ganz W, Forrester J, Marcus H, Diamond G, Chonette D. Catheterization of the heart in man with use of a flow-directed balloon-tipped catheter. N Engl J Med. 1970;283:447-51.
- 60 Uchida T, Yamanaga K, Kido H, Ohtaki Y, Watanabe M. Diuretic and Vasodilating Actions of Torasemide. Cardiology. 1994;84 Suppl 2:14-7.
- 61 von Dossow V, Spies C, Schenk H, Schlesinger S, von Heymann C. Secondary pulmonary hypertension: haemodynamic effects of torasemide versus furosemide. Clin Drug Investig. 2008;28(1):17-26.
- 62 Yamato M, Sasaki T, Honda K, Fukuda M, Akutagawa O, Okamoto M, Hayashi T. Effects of torasemide on left ventricular function and neurohumoral factors in patients with chronic heart failure. Circ J. 2003;67:384-90.
- 63 Yang XX, Critchley LA, Rowlands DK, Fang Z, Huang L. Systematic error of cardiac output measured by bolus thermodilution with a pulmonary artery catheter compared with that measured by an aortic flow probe in a pig model. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2013;27:1133-9.

- 64 Yang XX, Critchley LA, Joynt GM. Determination of the precision error of the pulmonary artery thermodilution catheter using an in vitro continuous flow test rig. *Anesth Analg.* 2011 Jan;112(1):70-7.
- 65 Yelderman M. Continuous cardiac Output by thermodilution. *Int Anaesthesiol Clin.* 1993, Vol. 31, No. 3 , S.127-140.

## **8. Eidesstattliche Versicherung**

Ich, Hannes Schenk, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Eine prospektiv-randomisierte, doppelblinde Evaluation von Furosemid und Torasemid in der Therapie der postkapillären pulmonalen Hypertonie herzchirurgischer Patienten: Einflüsse auf Endothelin-1- und Angiotensin-II-Spiegel und Parameter der Hämodynamik nach oraler Applikation“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM und werden von mir verantwortet.

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

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

## **9. Lebenslauf**

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



## 10. Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Hannes Schenk hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

von Dossow V, Spies C, Schenk H, Schlesinger S, von Heymann C. Secondary pulmonary Hypertension: haemodynamic effects of torasemide vs. furosemide. Clin Drug Investig 2008; 28 (1): 17-26.

Die in der Publikation veröffentlichten Ergebnisse beruhen auf den Messwerten dieser Studie. Herr Schenk erhob die Daten zusammen mit den anderen Mitgliedern der Arbeitsgruppe, die nachfolgend von Frau Dr. von Dossow als Erstautorin publiziert wurden.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

## 11. Danksagung

Diese Arbeit entstand in der Arbeitsgruppe von Frau Professor Dr. med. Claudia Spies, Leiterin der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin, Universitätsmedizin Berlin. Die klinische Datenerhebung erfolgte auf der Intensivstation des Campus Charité Mitte unter der Betreuung von Professor Dr. med. Christian von Heymann. Die laborchemische Aufarbeitung unserer Proben erfolgten durch Dr. F. P. Armbruster in Bensheim.

Allen, die mich bei der Entstehung dieser Dissertation unterstützt haben, gilt mein Dank, insbesondere:

Herrn Professor Dr. med. Christian von Heymann, stellvertretender Direktor der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin, Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow, für die Übernahme der Betreuung dieser Arbeit, die Organisation sowie die Erarbeitung der Studie. Ihm gilt mein besonderer Dank für die Hilfe und Unterstützung bei allen Teilen dieser Arbeit von der klinischen Datenerhebung bis hin zur finalen Korrektur der Dissertation.

Herrn Professor Dr. Klaus-Dieter Wernecke, Sostana GmbH Berlin, für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Doktorarbeit.

Meinen Eltern, Herrn Dr. Klaus-Thomas Schenk sowie Frau Dipl.-Med. Petra Schenk, ohne deren Unterstützung und Vertrauen weder mein Medizinstudium noch meine Promotion möglich gewesen wären.