

Untersuchung des Einflusses körperlicher  
Belastung auf die Plasmakonzentration  
endogener Substanzen gesunder Hunde  
unter der Behandlung mit Bisoprolol,  
Atenolol oder Benazepril

---

Gabriel Wurtinger



**INAUGURAL-DISSERTATION** zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

**Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autor dieses Werkes.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2014

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2014

© 2014 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition linguistique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin  
Klinik für Kleintiere – Innere Medizin  
Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Matthias Schneider

**Untersuchung des Einflusses  
körperlicher Belastung auf die Plasmakonzentration  
endogener Substanzen gesunder Hunde  
unter der Behandlung mit Bisoprolol, Atenolol oder Benazepril**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades eines Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Gabriel Wurtinger**

Tierarzt aus Miltenberg

Gießen 2013

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. M. Kramer

Gutachter:

Prof. Dr. Matthias Schneider

Prof. Dr. Rüdiger Gerstberger

Tag der Disputation: 11. Dezember 2013

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	12
2	Literatur.....	13
2.1	Körperliche Belastung .....	13
2.2	Endothelin .....	13
2.2.1	Struktur, Synthese und Abbau von Endothelin.....	13
2.2.2	Endothelin Rezeptoren und deren vermittelte Effekte.....	15
2.2.3	Endothelin in ausgewählten pathophysiologischen Geschehen .....	16
2.2.4	Endothelin unter Belastung.....	17
2.3	Endogene Herzglykoside.....	18
2.3.1	Digoxin und endogene Herzglykoside.....	18
2.3.2	Synthese von endogenen Herzglykosiden.....	18
2.3.3	Endogene Herzglykoside bei körperlicher Belastung.....	19
2.3.4	Wirkung endogenen Digoxins im Vergleich mit Ouabain .....	19
2.3.5	Zusammenhang zwischen Ouabain und Endothelin .....	20
2.4	Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin .....	20
2.4.1	Synthese von Adrenalin und Noradrenalin.....	20
2.4.2	Adrenerge Rezeptoren.....	21
2.4.3	Noradrenalin und Adrenalin unter Belastung .....	22
2.5	Betablocker .....	22
2.5.1	Atenolol.....	23
2.5.2	Bisoprolol .....	23
2.5.3	Betablocker und Endothelin .....	23
2.5.4	Betablocker und Glykoside .....	24
2.6	Angiotensin-converting Enzym Hemmer .....	24
2.6.1	Renin-Angiotensin-Aldosteron System .....	24
2.6.2	Wirkung von Angiotensin II .....	25
2.6.3	Wirkung von Aldosteron.....	25
2.6.4	Wirkung von Angiotensin-converting Enzym Hemmern.....	26
2.6.5	Benazepril.....	26

2.6.6	Angiotensin-converting Enzym Hemmer und Endothelin .....	27
2.6.7	Angiotensin-converting Enzym Hemmer und Glykoside .....	27
3	Eigene Untersuchungen.....	28
3.1	Material und Methoden.....	28
3.1.1	Studiendesign .....	28
3.1.2	Allgemeiner Studienablauf .....	29
3.1.2.1	Studientiere .....	29
3.1.2.2	Körperliche Belastung auf dem Laufband.....	31
3.1.2.3	Einschluss- und Ausschlusskriterien der Studie .....	34
3.1.2.4	Randomisierung und Verblindung .....	35
3.1.2.5	Unerwünschte Ereignisse.....	35
3.1.2.6	Eingesetzte Testsubstanzen .....	35
3.1.2.6.1	Bisoprolol .....	36
3.1.2.6.2	Atenolol .....	37
3.1.2.6.3	Benazepril .....	38
3.1.2.6.4	Applikation.....	39
3.1.3	Detaillierter Studienablauf .....	40
3.1.3.1	Einschlussuntersuchung.....	40
3.1.3.2	Tägliche Beobachtungen.....	40
3.1.3.3	Bestimmung des Körpergewichtes .....	40
3.1.3.4	Verträglichkeit der eingesetzten Testsubstanzen .....	41
3.1.3.5	Klinische Untersuchung.....	41
3.1.3.6	Hämatologie und klinisch – chemische Blutuntersuchung.....	41
3.1.3.7	Blutdruckmessung .....	42
3.1.3.8	Radiographie des Thorax .....	42
3.1.3.9	Elektrokardiogramm .....	43
3.1.3.10	Echokardiographie .....	43
3.1.3.11	24-Stunden-Elektrokardiogramm.....	44
3.1.3.12	Bestimmung endogener Substanzen .....	45
3.1.3.12.1	Entnahme der Blutproben .....	45

3.1.3.12.2	Aufbereitung der Blutproben .....	45
3.1.3.12.3	Analyse der Blutproben .....	46
3.1.3.13	Untersuchungszeitpunkte während der Behandlungsphasen.....	47
3.1.4	Statistische Datenanalyse.....	49
3.2	Ergebnisse .....	51
3.2.1	Studieneinschluss und -ausschluss .....	51
3.2.2	Körperliche Belastung auf dem Laufband .....	51
3.2.3	Behandlung mit den Testsubstanzen .....	51
3.2.4	Klinischer Ablauf .....	52
3.2.4.1	Tägliche Beobachtungen.....	52
3.2.4.2	Körpergewichte .....	52
3.2.4.3	Verträglichkeit der eingesetzten Testsubstanzen .....	54
3.2.4.4	Klinische Untersuchung.....	54
3.2.4.5	Hämatologie und klinisch – chemische Blutuntersuchung.....	55
3.2.4.6	Blutdruckmessung.....	56
3.2.4.7	Radiographie des Thorax .....	59
3.2.4.8	Elektrokardiogramm .....	60
3.2.4.9	Echokardiographie .....	63
3.2.4.10	24-Stunden-Elektrokardiogramm.....	71
3.2.4.11	Endogene Substanzen .....	74
4	Diskussion.....	78
4.1	Studieneinschluss und –ausschluss .....	78
4.2	Körperliche Belastung auf dem Laufband.....	78
4.3	Auswahl und Dosis der Studienmedikamente .....	79
4.4	Behandlung mit den Testsubstanzen .....	79
4.5	Tägliche Beobachtungen .....	79
4.6	Körpergewichte .....	80
4.7	Verträglichkeit der eingesetzten Testsubstanzen .....	80
4.8	Hämatologie und klinisch – chemische Blutuntersuchung.....	81
4.9	Blutdruckmessung.....	83

4.10	Radiographie des Thorax .....	84
4.11	Elektrokardiogramm .....	84
4.12	Echokardiographie .....	85
4.13	24-Stunden-Elektrokardiogramm .....	86
4.14	Endogene Substanzen .....	87
4.14.1	Adrenalin und Noradrenalin .....	87
4.14.2	Endotheline und Digoxin .....	88
4.15	Schlussfolgerung .....	91
5	Zusammenfassung .....	92
6	Summary .....	94
7	Literaturverzeichnis .....	96
8	Anhang .....	106
	Anhang 1 Sicherheitsdatenblatt Bisoprolol .....	106
	Anhang 2 Packungsbeilage und Herstellungsbeschreibung Atenolol .....	110
	Anhang 3 Packungsbeilage Fortekor .....	116
	Anhang 4 Tatsächliche Behandlungsdosierungen .....	118
	Anhang 5 Hämatologie und klinische Chemie .....	121
	Anhang 6 Blutdruckmessungen .....	124
	Anhang 7 Radiographie des Thorax .....	127
	Anhang 8 Elektrokardiogramm .....	130
	Anhang 9 Echokardiographie .....	133
	Anhang 10 24-Stunden-Elektrokardiogramm .....	136
	Anhang 11 Endothelin-1, big Endothelin-1 und Digoxin .....	139
	Anhang 12 Adrenalin und Noradrenalin .....	145
	Anhang 13 Tierversuchsgenehmigung .....	148
9	Danksagung .....	149
10	Erklärung .....	150

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Canines big Endothelin-1 .....	14
Abbildung 2	Canines Endothelin-1 .....	14
Abbildung 3	Ouabain und Digoxin .....	18
Abbildung 4	Adrenalin und Noradrenalin.....	21
Abbildung 5	Laufband .....	31
Abbildung 6	Beagle auf dem Laufband .....	33
Abbildung 7	Pulsuhr .....	34
Abbildung 8	Entwicklung der Körpergewichte .....	53
Abbildung 9	Mittlerer Blutdruck .....	56
Abbildung 10	Systolischer Blutdruck .....	57
Abbildung 11	Diastolischer Blutdruck.....	58
Abbildung 12	Vertebral heart size .....	59
Abbildung 13	Mittlere Herzfrequenz .....	60
Abbildung 14	PQ - Intervall .....	61
Abbildung 15	QT - Intervall.....	62
Abbildung 16	Interventrikulärer Septumdurchmesser, diastolisch (IVSd).....	63
Abbildung 17	Linksventrikulärer Durchmesser, diastolisch (LVDd) .....	64
Abbildung 18	Linksventrikulärer Durchmesser, systolisch (LVDs) .....	65
Abbildung 19	Linksventrikulärer Wanddurchmesser, diastolisch (LVPWd) .....	66
Abbildung 20	Prozentuale Verdickung der linken Ventrikelwand (LVPW%).....	67
Abbildung 21	Pre ejection period (PEP).....	68
Abbildung 22	Left ventricular ejection time (LVET) .....	69
Abbildung 23	Fractional shortening (FS) .....	70
Abbildung 24	Kreisflächenverkürzung (AS).....	71
Abbildung 25	Mittlere Herzfrequenz (HRm).....	72
Abbildung 26	big Endothelin-1 Plasmakonzentrationen .....	74
Abbildung 27	Digoxin Plasmakonzentrationen .....	75
Abbildung 28	Adrenalin Plasmakonzentrationen.....	76
Abbildung 29	Noradrenalin Plasmakonzentrationen .....	77

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Regime der Dosierung .....	29
Tabelle 2	Individuelle Tierdaten .....	30
Tabelle 3	Belastungsprotokoll auf dem Laufband .....	32
Tabelle 4	Zeitpunkte der Untersuchungen während der Behandlungsperioden ..	48
Tabelle 5	Körpergewichte (Zusammenfassung) .....	53
Tabelle 6	Tatsächliche Behandlungsdosierung von Benazepril.....	118
Tabelle 7	Tatsächliche Behandlungsdosierung von Atenolol .....	119
Tabelle 8	Tatsächliche Behandlungsdosierung von Bisoprolol .....	120
Tabelle 9	Hämatologie und klinische Chemie (1) .....	121
Tabelle 10	Hämatologie und klinische Chemie (2) .....	122
Tabelle 11	Hämatologie und klinische Chemie (3) .....	123
Tabelle 12	Blutdruckmessungen (1).....	124
Tabelle 13	Blutdruckmessungen (2).....	125
Tabelle 14	Blutdruckmessungen (3).....	126
Tabelle 15	Radiographie des Thorax (1) .....	127
Tabelle 16	Radiographie des Thorax (2) .....	128
Tabelle 17	Radiographie des Thorax (3) .....	129
Tabelle 18	Elektrokardiogramm (1) .....	130
Tabelle 19	Elektrokardiogramm (2) .....	131
Tabelle 20	Elektrokardiogramm (3) .....	132
Tabelle 21	Echokardiographie (1) .....	133
Tabelle 22	Echokardiographie (2) .....	134
Tabelle 23	Echokardiographie (3) .....	135
Tabelle 24	24-Stunden-Elektrokardiogramm (1).....	136
Tabelle 25	24-Stunden-Elektrokardiogramm (2).....	137
Tabelle 26	24-Stunden-Elektrokardiogramm (3).....	138
Tabelle 27	Endothelin-1 Werte (1).....	139
Tabelle 28	Endothelin-1 Werte (2).....	140
Tabelle 29	Endothelin-1 Werte (3).....	141
Tabelle 30	big Endothelin-1 und Digoxin Werte (1) .....	142
Tabelle 31	big Endothelin-1 und Digoxin Werte (2) .....	143
Tabelle 32	big Endothelin-1 und Digoxin Werte (3).....	144
Tabelle 33	Adrenalin und Noradrenalin Werte (1) .....	145
Tabelle 34	Adrenalin und Noradrenalin Werte (2) .....	146
Tabelle 35	Adrenalin und Noradrenalin Werte (3) .....	147

## Verwendete Abkürzungen

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ALT	Alanin – Aminotransferase
ANOVA	analysis of variance (Varianzanalyse)
AS	Kreisflächenverkürzung
At	Atenolol
AV – Block	Atrioventrikulärer Block
Be	Benazepril
Bi	Bisoprolol
Bili:	Bilirubin
BPd	diastolischer Blutdruck
BPm	mittlerer Blutdruck
BPs	systolischer Blutdruck
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
cm	Zentimeter
CREA	Kreatinin
det.lim.	Detektionslimit
ECE	Endothelin-converting Enzym
Echo	Echokardiographie
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
fmol	Femtomol
FS	Fractional shortening
g	Erdbeschleunigung
h	Stunde
HKT	Hämatokrit
HPLC	high performance liquid chromatography
HR	Herzfrequenz
HRm	mittlere Herzfrequenz
ISACHC	international small animal cardiac health council
IVSd	Interventrikuläres Septum, diastolisch
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
km	Kilometer
l	Liter
LDL	Low-density Lipoproteine
LH	Lithium – Heparin
Li	Lithium
log	Logarithmus

LVA <sub>d</sub>	Linksventrikuläre Fläche, diastolisch
LVA <sub>s</sub>	Linksventrikuläre Fläche, systolisch
LVD <sub>d</sub>	Linksventrikulärer Durchmesser, diastolisch
LVD <sub>s</sub>	Linksventrikulärer Durchmesser, systolisch
LVET	Left ventricular ejection time
LVPW(%)	Prozentuale Verdickung der Wand
LVW <sub>d</sub>	Linksventrikuläre Wand, diastolisch
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
M-Mode	Motion mode
mRNS	messenger Ribonukleinsäure
msec	Millisekunde
Na <sup>+</sup> /Ca <sup>2+</sup> Austauscher	Natrium – Calcium Austauscher
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase	Natrium – Kalium – ATPase
ng	Nanogramm
NI	No item (ohne Testsubstanz)
NO	Stickstoffmonoxid
PC	Personal computer
PEP	Pre ejection period
pg	Pikogramm
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen Aktivität (potentia Hydrogenii)
RBC	Red bloodcell count (Erythrozytenzahl)
sec	Sekunde
SVES	Supraventrikuläre Extrasystole
TP	Gesamteiweiß
U	Umdrehungen
UREA	Harnstoff
VErsatz	Ventrikuläre Ersatzsystole
VES	Ventrikuläre Extrasystole
VHS	Vertebral heart size
WBC	White bloodcell count (Leukozytenzahl)

## 1 Einleitung

Körperliche Belastung führt zu einer Vielzahl an physiologischen Reaktionen im Körper. Das Herz-Kreislaufsystem reagiert mit einer Zunahme des Herzzeitvolumens. Dies wird größtenteils bedingt durch eine Zunahme der Herzfrequenz. Ein prozentual kleiner Anteil entsteht durch eine Zunahme des Schlagvolumens (Keck, 1965). Außerdem kommt es zu einem Anstieg des mittleren arteriellen Blutdruckes. Das Laufen auf einem Laufband wird bereits lange als Belastungsart für Versuchshunde angewandt.

Endothelin bewirkt als potenter Vasokonstriktor eine Erhöhung des arteriellen Blutdruckes. Endothelin wurde 1988 als neues gefäßkonstringierendes Agens beschrieben (Yanagisawa et al., 1988). Inwiefern die Erhöhung des Blutdruckes beim Hund durch eine körperliche Belastung mit einer Erhöhung der Plasmakonzentration von Endothelin begleitet ist und in welchem Zusammenhang die Plasmakonzentrationen an endogenem Digoxin, Ouabain und der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin gesehen werden können, ist aktuell nicht bekannt. Der Einfluss der Betablocker Bisoprolol, Atenolol und des Hemmers des Angiotensin-converting Enzyms Benazepril auf diese Werte ist ebenfalls nicht bekannt.

Durch eine Vorgängerstudie ist bereits der Anstieg von endogenem Ouabain unter Belastung und die Unterdrückung dieses Anstieges durch Atenolol und Benazepril bekannt (Bauer et al., 2005).

Das Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss körperlicher Belastung auf die Plasmakonzentration von Endothelin-1, big Endothelin-1 und Digoxin bei gesunden Hunden zu untersuchen, die mit den Betablockern Bisoprolol, Atenolol und dem Angiotensin-converting Enzym Hemmer Benazepril behandelt wurden. Dabei sollte in vivo überprüft werden, ob man Rückschlüsse auf Regulationsmechanismen der Ausschüttung von Endothelinen unter Kreislaufbelastung ziehen kann.

## 2 Literatur

### 2.1 Körperliche Belastung

Die körperliche Belastung auf einem Laufband wird regelmäßig als akute Belastung für Hunde verwendet (Seitelberger et al., 1988; Bernstein et al., 1996). Untersuchungen zum Herzauswurfvolumen und anderen Kreislaufparametern unter Laufbandbelastung beim Hund sind publiziert (Keck, 1965; Khouri et al., 1965).

### 2.2 Endothelin

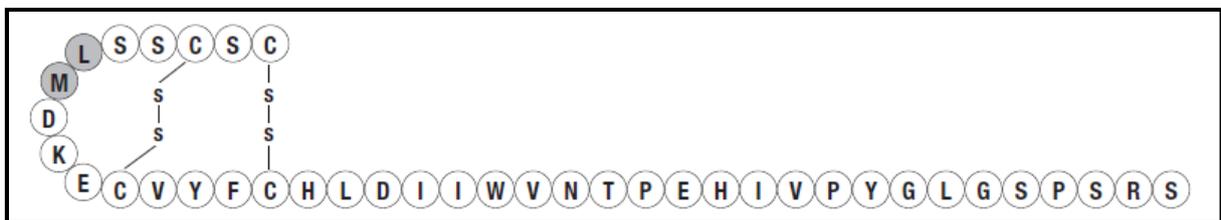
Endothelin-1 gilt als stärkstes vasokonstriktorisches endogenes Agens. Es wurde ursprünglich aus Endothelzellen der Aorta isoliert (Yanagisawa et al., 1988; Kawanabe und Nauli, 2011). Bereits kurz nach der ersten Beschreibung wurden zwei weitere Isoformen (Endothelin-2 und -3) entdeckt (Inoue et al., 1989). Die Wirkung der Endotheline wird vermittelt über 2 verschiedene Rezeptoren (Endothelin<sub>A</sub> und Endothelin<sub>B</sub> Rezeptor), die beide 1990 beschrieben wurden (Arai et al., 1990; Sakurai et al., 1990).

#### 2.2.1 Struktur, Synthese und Abbau von Endothelin

Genetisch ist die Information für Endothelin-1 beim Menschen auf dem sechsten Chromosom verankert. Nach Transkription und Translation entsteht das Preproendothelin-1. Verschiedene Faktoren fördern die Produktion und die Ausschüttung von Endothelin-1. Dazu gehören Insulin, Thrombin, low-density Lipoproteine (LDL), Angiotensin II, Vasopressin, Endothelin-1 selbst und schwache Scherkräfte. Die Wirkung wird über die Aktivierung der Proteinkinase C und der Protoonkogene Jun und Fos vermittelt, die an den Aktivator am Endothelin-1 Promotor binden (Gray und Webb, 1996). Das Preproendothelin-1 wird durch spezifische Endopeptidasen in big Endothelin-1 (Abbildung 1) gespalten. Endothelin-1 schlussendlich wird durch das Endothelin-converting Enzym (ECE) aus big Endothelin-1 abgespalten (Kawanabe und Nauli, 2011). Das physiologisch wirksame Endothelin-converting Enzym ist eine membrangebundene Metalloprotease. Es sind 2 verschiedene Enzyme beschrieben (ECE-1 und ECE-2), die sich anhand ihres pH-Optimums und ihrer vorwiegenden Gewebeverteilung unterscheiden. ECE-1 hat ein neutrales pH-Optimum und ist im Körper weit verteilt, außer in Neuronen und Gliazellen des Gehirns. ECE-2 hat ein saures pH-Optimum

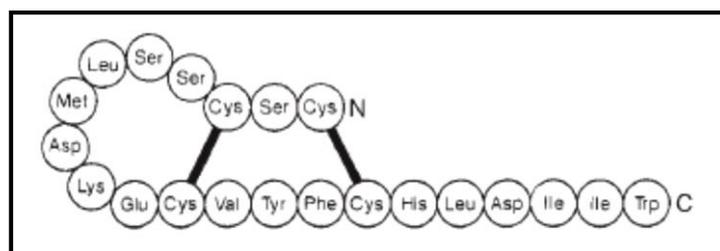
und findet sich in großer Menge in Nervengewebe. Ein großer Teil des von Zellen sekretierten Endothelins ist bereits ausgereiftes Endothelin-1, sodass auch intrazellulär, vermutlich in sekretorischen Vesikeln, eine Spaltung durch ein ECE erfolgen muss (Gray und Webb, 1996). Neben dem Endothelin-converting Enzym gibt es offenbar ein Chymostatin sensitives Enzym, das big Endothelin-1 in vasokonstriktorisch wirksame Endotheline umsetzt (Maguire und Davenport, 2004). Canines Endothelin-1 stimmt mit Endothelin-1 von Mensch, Maus und Ratte überein. Es besteht aus einer Sequenz von 21 Aminosäuren (Abbildung 2). Canines big Endothelin-1 besteht aus 39 Aminosäuren und unterscheidet sich an den Stellen 28 und 37 von humanem big Endothelin-1 (Biondo et al., 2003).

**Abbildung 1 Canines big Endothelin-1**



Aus Biondo et al. (Veterinary Clinical Pathology 2003)

**Abbildung 2 Canines Endothelin-1**



Aus Yanagisawa et al. (Nature 1988)

Endothelin-1 wird in Endothelzellen der Gefäße produziert. Auch Endokardzellen sind zur Produktion befähigt. Zellen der glatten Muskulatur der Blutgefäße können ebenfalls Endothelin-1 ausschütten. In der Nebenniere wird Endothelin-1 von Zellen der Zona glomerulosa hergestellt.

Die Halbwertszeit von Endothelin-1 im Plasma des Menschen beträgt weniger als 1,5 Minuten. Der Abbau erfolgt beim Menschen vor allem in Gefäßen des Splanchnikusgebietes und der Nieren durch Bindung an Endothelin Rezeptoren, die anschließend internalisiert und abgebaut werden und nicht wie bei Ratten in der Lunge (de Nucci et al., 1988; Ray et al., 1992). Untersuchungen zeigen, dass der Endothelin<sub>B</sub> Rezeptor hier die entscheidende Rolle spielt. Thrombozyten, glatte Muskelzellen der Gefäße und Endothelzellen sind ebenfalls zum Abbau befähigt. Endotheline können weiterhin von neutraler Endopeptidase in Plasmamembranen von Endothelzellen abgebaut werden (Gray und Webb, 1996).

### 2.2.2 Endothelin Rezeptoren und deren vermittelte Effekte

Die Endothelin Rezeptoren sind G-Protein gekoppelt. Der Endothelin<sub>A</sub> Rezeptor zeigt unterschiedliche Affinitäten für die verschiedenen Endothelin Isomere mit der stärksten Affinität für Endothelin-1 und -2 und der schwächsten Affinität für Endothelin-3. Der Endothelin<sub>B</sub> Rezeptor besitzt identische Affinitäten für alle 3 Endothelin Isomere (Arai et al., 1990; Sakurai et al., 1990). Der Endothelin<sub>A</sub> Rezeptor ist auf glatten Muskelzellen der Gefäße lokalisiert und vermittelt eine langsame Vasokonstriktion. Der Endothelin<sub>B</sub> Rezeptor befindet sich neben glatten Muskelzellen der Gefäße vor allem auf Endothelzellen. Hier wird bei Aktivierung die vasodilatatorisch wirkende Substanz Stickstoffmonoxid (NO) freigesetzt. Des Weiteren wird über den Endothelin<sub>B</sub> Rezeptor Zellwachstum unterdrückt, Vasokonstriktion vermittelt und der Rezeptor spielt wie bereits erwähnt eine wichtige Rolle bei der Eliminierung von Endothelin-1 (Kawanabe und Nauli, 2011). Die Verteilung der Rezeptoren im Körper ist unterschiedlich und unterscheidet sich offenbar auch zwischen verschiedenen Spezies. Der Endothelin<sub>A</sub> Rezeptor findet sich auf glatten Muskelzellen großer Arterien, wohingegen der Endothelin<sub>B</sub> Rezeptor im venösen System und in kleinen Arterien größere Bedeutung hat (Gray und Webb, 1996). Bemerkenswert sind die Unterschiede zwischen verschiedenen Spezies in den Nierengefäßen. Das Verhältnis von Endothelin<sub>A</sub> zu Endothelin<sub>B</sub> Rezeptoren in der Nierenrinde liegt beim Hund bei 22/78 und im Nierenmark bei 40/60. Bei der Ratte und beim Menschen sind Verhältnisse von 30/70 sowohl in der Rinde als auch im Mark beschrieben. Zusammenfassend ist auch in den Gefäßen der Niere die dominierende Wirkung eine Vasokonstriktion. Der renale Blutfluss und die glomeruläre Filtrationsrate werden gesenkt (Kohan et al., 2011).

Die Nierentubuli und das Sammelrohrsystem sind ebenfalls zur Produktion von Endothelin befähigt und sind mit Endothelin Rezeptoren ausgestattet. Eine wichtige Funktion des Endothelin Systems ist die Hemmung der Natrium Reabsorption im

Sammelrohrsystem, die durch den parakrin stimulierten Endothelin<sub>B</sub> Rezeptor vermittelt wird. Außerdem wird die Wasser Reabsorption durch Hemmung der durch Arginin-Vasopressin stimulierten Permeabilität unterdrückt (Kohan et al., 2011).

### 2.2.3 Endothelin in ausgewählten pathophysiologischen Geschehen

Endothelin-1 wird vermehrt bei Patienten mit pulmonärer Hypertension in Endothelzellen von Lungengefäßen produziert. Außerdem werden durch Endothelin-1 ein erhöhter Gefäßtonus und ein Umbau der Gefäße bei pulmonärer Hypertension vermittelt (Giaid et al., 1993). Experimentell sind beide Endothelin Rezeptoren bei pulmonärer Hypertension hochreguliert (Takahashi et al., 2001).

Beim Menschen sind bei Herzversagen Gewebekonzentrationen von Endothelin erhöht. Außerdem ist die Plasmakonzentration von big Endothelin ein prognostischer Faktor für das Überleben (Hülsmann et al., 1998). Endothelin-1 trägt zum Remodelling des Ventrikels und der Gefäße, zu erhöhtem Gefäßwiderstand, zu Entzündung bei und wirkt proarrhythmogen (Toth et al., 1995; Hülsmann et al., 1998; Szokodi et al., 1998). Hunde, bei denen experimentell Myokardischämien reperfundiert wurden, zeigten höhere Endothelin-1 und big Endothelin-1 Werte in arteriellem Blut, wenn sie Kammerflimmern entwickelten, im Vergleich zu Hunden, die kein Kammerflimmern hatten (Vago et al., 2004). Der Endothelin<sub>A</sub> Rezeptor ist bei Herzversagen im Myokard hochreguliert, während der Endothelin<sub>B</sub> Rezeptor herunter reguliert scheint (Pönicke et al., 1998; Zolk et al., 1999). In einer klinischen Studie an Hunden mit erworbenen Herzerkrankungen im kongestiven Herzversagen wurden signifikant höhere Endothelin-1 Konzentrationen im Blutplasma gefunden als bei Hunden ohne Herzerkrankung oder mit erworbenen Herzerkrankungen, die nicht kongestiv waren (Prošek et al., 2004).

In einer zweiten Studie bei Dobermann Pinschern mit klinisch manifester Dilatativer Kardiomyopathie konnten signifikant höhere Plasma big Endothelin-1 Werte gefunden werden als bei gesunden Dobermann Pinschern. Zusätzlich konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Überlebenszeit der Hunde mit klinisch manifester Dilatativer Kardiomyopathie und dem Anstieg von big Endothelin-1 über einen Monat festgestellt werden (O'Sullivan et al., 2007).

Im Jahr 2009 wurde Endothelin-1 im Blutplasma bei Hunden mit chronisch degenerativer Klappenerkrankung untersucht (Piantedosi et al., 2009). Die Patienten wurden anhand des Schweregrades der Erkrankung nach der Klassifikation des International small animal cardiac health council (ISACHC) eingeteilt. Es konnte kein

statistisch signifikanter Unterschied der Endothelin-1 Werte zwischen den unterschiedlich stark erkrankten Tieren gefunden werden (Piantedosi et al., 2009).

Bedeutsam ist, dass die Blutspiegel der Endotheline nicht immer mit den Gewebespiegeln übereinstimmen, so zeigen Human-Patienten mit arterieller Hypertension in der Regel normale Plasmaspiegel von Endothelin-1, während die lokalen Werte in Gefäßwänden erhöht sind (Davenport et al., 1990; Schiffrin und Thibault, 1991; Schiffrin, 2001).

#### 2.2.4 Endothelin unter Belastung

Es wurden mehrere Untersuchungen zur Veränderung von Endothelin unter verschiedenen Trainingsbedingungen beim Menschen und Tiermodell veröffentlicht.

Bereits 1994 wurde gezeigt, dass beim Menschen die Konzentration von Plasma Endothelin-1 nach akuter Belastung auf einem Ergometer über 30 Minuten signifikant ansteigt. Bei größerer Intensität der Belastung wurde ein stärkerer Anstieg der Endothelin-1 Spiegel festgestellt. Der stärkste Anstieg konnte 30 Minuten nach Belastung gemessen werden (Maeda et al., 1994).

Untersuchungen bei Ratten konnten zeigen, dass eine akute Belastung über 30 Minuten auf einem Laufband zu einer Änderung der Expression von Endothelin-1 Genen in verschiedenen Geweben führt. Die Expression der messenger Ribonukleinsäure (mRNS) von Preproendothelin-1 in der Aorta ist nach Belastung signifikant erniedrigt, im Plantarmuskel signifikant erhöht und im Musculus soleus, Musculus tibialis anterior, im Fettgewebe und in der Leber unverändert (Maeda et al., 2004a). Eine akute Belastung bei Ratten über 45 Minuten zeigte einen Anstieg sowohl der Expression von messenger Ribonukleinsäure (mRNS) von Preproendothelin-1 als auch der Plasma Peptidkonzentration von Endothelin-1 (Maeda et al., 1998).

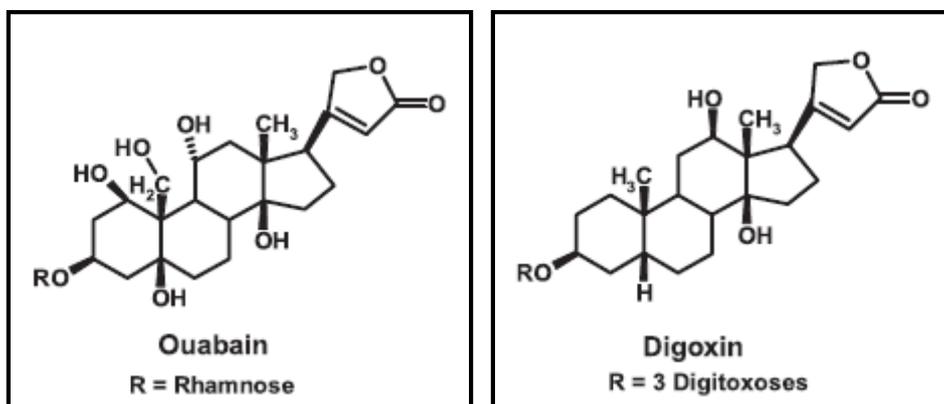
Im Gegensatz zur Akutbelastung kommt es beim Ausdauertraining der Menschen auf einem Ergometer über 8 Wochen zu einem signifikanten Abfall der Plasmakonzentration von Endothelin-1 bei einem gleichzeitigen Anstieg des vasodilatatorisch wirksamen Stickstoffmonoxid (NO) (Maeda et al., 2001). Die Abnahme nach Ausdauertraining konnte ebenfalls bei älteren Frauen gezeigt werden, die prinzipiell höhere Endothelin-1 Werte haben als jüngere Frauen (Maeda et al., 2003). Die gleiche Arbeitsgruppe konnte einen Abfall der Plasmakonzentrationen von Endothelin-1 nach Krafttraining über 8 Wochen zeigen (Maeda et al., 2004b).

## 2.3 Endogene Herzglykoside

### 2.3.1 Digoxin und endogene Herzglykoside

Digoxin ist bereits seit Jahrhunderten als pflanzliches Glykosid bekannt und wird seit Jahrzehnten therapeutisch genutzt. Bereits in den 1950 Jahren wurde vermutet, dass es auch endogen von Säugetieren produziert wird. Schlussendlich wurde 1990 in menschlichem Urin eine Substanz, die nicht von Digoxin unterschieden werden konnte beschrieben (Goto et al., 1990). Im Jahr 2004 konnte bewiesen werden, dass Tumorzellen der Nebennierenrinde zur Synthese einer Digoxin ähnlichen Substanz befähigt sind (Qazzaz, 2004). Zu den endogenen Herzglykosiden, die während der Suche nach endogenem Digoxin identifiziert werden konnten, gehören die Cardenolide und die Bufadienolide. Ouabain ist ein hydrophiles Cardenolid, Digoxin ein eher hydrophobes Cardenolid (Abbildung 3). Zu den Bufadienoliden gehören Marinobufagenin und Telecinobufagin (Schoner und Scheiner-Bobis, 2007a).

**Abbildung 3 Ouabain und Digoxin**



Aus Schoner et al. (AJP: Cell Physiology 2007)

### 2.3.2 Synthese von endogenen Herzglykosiden

Die Glykoside werden in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde und scheinbar auch im zentralen Nervensystem (Hypothalamus) synthetisiert. Andere Synthesorte werden vermutet. Die Synthese startet bei allen endogenen Herzglykosiden bei Cholesterin. Über Pregnenolon und Progesteron findet die Synthese der Cardenolide statt. Der genaue Weg ist ebenso wie der Syntheseweg der Bufadienolide

unbekannt. Die Ausschüttung von Ouabain aus Nebennierenzellen wird durch Adrenalin ( $\beta$ 1-adrenerge Rezeptoren), Angiotensin II und Adrenocorticotropes Hormon (ACTH) angeregt (Schoner und Scheiner-Bobis, 2009). Auch eine Kreislaufbelastung sowie Stress und Hypoxie führen zu erhöhten Blutwerten von endogenen Herzglykosiden. Außerdem führt die Natriumkonzentration des Blutes im Mittelhirn zur Ausschüttung von Ouabain als Neurotransmitter, wodurch es wiederum zu einer Ausschüttung von Angiotensin II kommt (Schoner und Scheiner-Bobis, 2009).

### 2.3.3 Endogene Herzglykoside bei körperlicher Belastung

Die Ausschüttung endogener Herzglykoside bei körperlicher Belastung konnte bei Menschen und Hunden gezeigt werden.

Beim Menschen wurde die Ausschüttung von Digoxin unter Belastung bereits vor längerer Zeit untersucht. So konnte gezeigt werden, dass nach einer Belastung über etwa drei Stunden es zu einem deutlichen Anstieg der Digoxinkonzentration kam, allerdings nach 60 Minuten noch kein signifikanter Anstieg bemerkt werden konnte (Valdes et al., 1988).

Bei trainierten Menschen kommt es nach 15 minütiger Belastung auf einem Laufband oder einem Ergometer zu einem 36fachen Anstieg der endogenen Ouabain Immunreaktivität im Plasma (Bauer et al., 2005); bei untrainierten Menschen war der Anstieg noch ausgeprägter. In der Erholungsphase nach Belastung fielen die Werte mit einer mittleren Halbwertszeit von 2,8 Minuten wieder ab. Bei Beagle Hunden stiegen die Plasma-Werte der endogenen Ouabain Immunreaktivität nach einer 13 minütigen Belastung auf einem Laufband um das 46fache (Bauer et al., 2005). Dieser Anstieg verlief parallel mit dem Anstieg von Noradrenalin. Die Halbwertszeit des Abfalls der Blutwerte bei den Hunden betrug im Mittel 3,9 Minuten (Bauer et al., 2005).

### 2.3.4 Wirkung endogenen Digoxins im Vergleich mit Ouabain

Die Wirkung endogener Herzglykoside wird durch Bindung an die Natrium/Kalium-ATPase ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase) umgesetzt. Endogene Glykoside kontrollieren den Blutdruck, den Salzhaushalt, die kardiale Funktion und fungieren als Wachstumsfaktoren. Aktuell werden zwei verschiedene Mechanismen vermutet, über die die Wirkungen je nach Konzentration des Glykosids vermittelt werden (Schoner und Scheiner-Bobis, 2007b).

Über den sogenannten Plasmerosom Weg wird die Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase durch Bindung inaktiviert, wodurch es im submembranären Raum, der sich in der Nähe des endoplasmatischen Retikulums befindet, dem sogenannten Plasmerosom, zu einem Natriumanstieg kommt. Folglich kommt es durch den Natrium/Calcium-Austauscher (Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>-Austauscher) zu einem Calciumanstieg. Das Calcium wiederum vermittelt die individuelle Wirkung (Vasokonstriktion). Der Plasmerosomweg wird in nanomolaren Konzentrationen der Herzglykoside beschrieben. In niedrigeren Konzentrationen der Herzglykoside, also im subnanomolaren Bereich, in dem auch die endogenen Substanzen physiologisch vorkommen, wird offenbar ein anderer Weg genutzt. Durch Bindung an die Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase werden intrazellulär verschiedene Wirkungen vermittelt, ohne das eigentliche Enzym zu inaktivieren. Dieser sogenannte Signalosomweg vermittelt ebenfalls Muskelkontraktion aber unter anderem auch eine Genaktivierung. Er wird als verantwortlicher Transduktionsweg für die positiv inotrope Wirkung am Herzen angesehen (Schoner und Scheiner-Bobis, 2007b, 2009).

Die Wirkungen, die an der Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase vermittelt wird, ist vor allem für Ouabain untersucht. Interessanterweise agiert Digoxin als Antagonist von Ouabain, was die durch Ouabain bedingte Hypertension anbelangt. Die zellulären Mechanismen sind nicht bekannt (Schoner und Scheiner-Bobis, 2007b; Bagrov und Shapiro, 2008).

### 2.3.5 Zusammenhang zwischen Ouabain und Endothelin

In vitro konnte gezeigt werden, dass Ouabain die Ausschüttung von Endothelin-1 aus Endothelzellen humaner Nabelarterien stimuliert. Außerdem konnte ein Anstieg der Endothelin-1 messenger RNS durch Ouabain nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse implizieren, dass die Regulation der Gefäßspannung durch Ouabain zumindest zum Teil über Endothelin vermittelt wird (Saunders und Scheiner-Bobis, 2004).

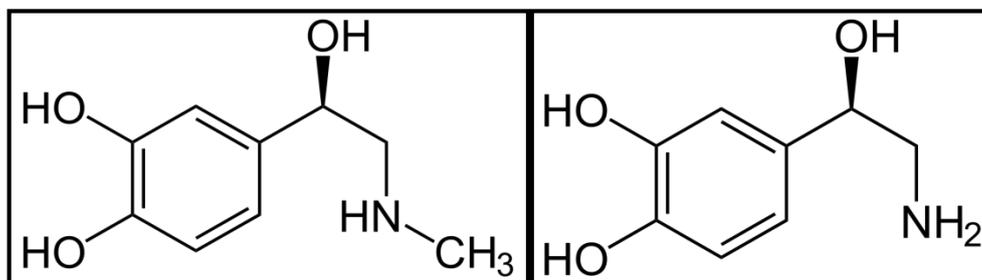
## 2.4 Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin

Katecholamine und ihre physiologischen Wirkungen sind lange bekannt. Sie gehören zur Gruppe der biogenen Amine. Generell führen sie über ihre sympathomimetische Wirkung zu einer Alarm- beziehungsweise Fluchtbereitschaft (Horn, 2003).

### 2.4.1 Synthese von Adrenalin und Noradrenalin

Die Produktion findet vor allem im Nebennierenmark statt und bei Adrenalin in geringer Menge, bei Noradrenalin als Neurotransmitter in größerer Menge auch im zentralen Nervensystem. Aus der Aminosäure Tyrosin wird durch enzymatische Schritte über L-Dopa und Dopamin das Noradrenalin synthetisiert. Durch Methylierung wird aus Noradrenalin schließlich Adrenalin (Abbildung 4). Allen Katecholaminen gemeinsam ist der Katecholring. Die Ausschüttung aus dem Nebennierenmark wird über sympathische Stimulation ausgelöst (Horn, 2003). Außerdem konnte in vitro gezeigt werden, dass Endothelin-1 zu einer Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin aus bovinen chromaffinen Zellen der Nebenniere führt (Boarder und Marriott, 1989).

**Abbildung 4 Adrenalin und Noradrenalin**



<http://de.wikipedia.org/wiki/Adrenalin>

<http://de.wikipedia.org/wiki/Noradrenalin>

#### 2.4.2 Adrenerge Rezeptoren

Grundsätzlich unterscheidet man  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren, die wiederum in weitere Subtypen ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  und  $\beta_3$ ) unterschieden werden. Adrenalin bindet sowohl an  $\alpha$ - und an  $\beta$ - Rezeptoren etwa gleich, Noradrenalin bindet vorwiegend an  $\alpha$ -Rezeptoren. Über  $\alpha_1$ -Rezeptoren wird ein intrazellulärer Calciumanstieg ausgelöst. Er befindet sich vor allem auf der glatten Muskulatur arterieller Gefäße und vermittelt hier eine Vasokonstriktion. Der  $\alpha_2$ -Rezeptor führt zu einem intrazellulären Abfall an cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP) und vermittelt hauptsächlich eine Hemmung der Ausschüttung von Noradrenalin. Die  $\beta$ -Rezeptoren vermitteln einen Anstieg an intrazellulärem cAMP. Der  $\beta_1$ -Rezeptor befindet sich am Herzen, wo er positiv chronotrop, bathmotrop, dromotrop und inotrop wirkt sowie an den Nieren, wo es zur Renin Ausschüttung kommt. Folglich kommt es über das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System zum Blutdruckanstieg. Der  $\beta_2$ -Rezeptor vermittelt eine Bronchodilatation sowie eine Vasodilatation in bestimmten Organen, vor allem in der Skelettmuskulatur (Frey, 2002; Horn, 2003).

### 2.4.3 Noradrenalin und Adrenalin unter Belastung

Die Plasmakonzentration an Katecholaminen zeigt einen deutlichen Anstieg unter Belastung beim Hund. Unter einer 13-minütigen Laufbandbelastung mit zunehmender Steigung (4° alle 2 Minuten) bei Beagle Hunden, steigt der Noradrenalin Plasma-Wert um durchschnittlich über 40 Prozent (Bauer et al., 2005). Nach einer 90 minütigen Belastung von Mischlingshunden auf einem Laufband mit 6 km/h und einer Steigung von 12 Grad steigen sowohl Adrenalin als auch Noradrenalin stark an, fallen nach Ende der Belastung auch rasch wieder ab (Wasserman et al., 1984). Auch eine Belastung über 150 Minuten bei gleicher Geschwindigkeit und Steigung ergab einen starken Anstieg bei Mischlingshunden (Moates et al., 1988). Beide Untersuchungen zeigten bereits nach circa 10 Minuten einen deutlichen Anstieg der Adrenalin- und Noradrenalin Plasmakonzentrationen (Wasserman et al., 1984; Moates et al., 1988).

Auch beim Menschen führt körperliche Belastung zum Anstieg von Katecholaminen. Belastungen zwischen neun und 18 Minuten Dauer auf einem Ergometer führen zu einem starken Anstieg von Adrenalin und Noradrenalin direkt nach Belastung. Eine größere Intensität der Belastung führte zu einem stärkeren Anstieg (Jezova et al., 1985). Ein etwa 18 minütiges submaximales Krafttraining führt zu einem Anstieg des Plasma Noradrenalins um etwa 60 Prozent (Ramel, 2004).

### 2.5 Betablocker

Betablocker gehören von allem in der Humanmedizin zu den wichtigsten Medikamenten des Herz-Kreislaufsystems. Sie binden spezifisch an  $\beta$ -adrenerge Rezeptoren und vermitteln ihre Effekte über eine kompetitive und reversible Hemmung. Da Effekte unterdrückt werden, die prinzipiell bei einem aktivierten Sympathikus vorkommen, sind die klinischen Auswirkungen in Ruhe begrenzt (López-Sendón et al., 2004). Betablocker werden anhand ihrer Selektivität für  $\beta$ -adrenerge Rezeptoren eingeteilt in drei Generationen. Betablocker der ersten Generation binden recht unselektiv an  $\beta_1$ - und  $\beta_2$ -Rezeptoren (zum Beispiel Propranolol). Die zweite Generation beinhaltet  $\beta_1$ -selektive Antagonisten (Bristow, 1997). Die Selektivität ist allerdings begrenzt und dosisabhängig (López-Sendón et al., 2004). Bei hohen Dosen von  $\beta_1$ -selektiven Antagonisten (zum Beispiel Atenolol oder Bisoprolol) verstärkt sich die  $\beta_2$ -blockierende Wirkung. Betablocker der dritten Generation (zum Beispiel Carvedilol) haben neben ihrer selektiven oder unselektiven Betablockade zusätzliche Eigenschaften. Meist vermitteln sie eine Vasodilatation

durch eine zusätzliche Blockade des  $\alpha$ 1-Rezeptors (Bristow, 1997; López-Sendón et al., 2004).

### 2.5.1 Atenolol

Atenolol zählt zu den Betablockern, die eine  $\beta$ 1-selektive Wirkung haben (López-Sendón et al., 2004). Es besitzt eine niedrige Lipidlöslichkeit und wird beim Hund im Gegensatz zum Menschen nach Aufnahme als Kapsel, Tablette oder Lösung nahezu vollständig resorbiert, kaum metabolisch umgesetzt und kaum biliär ausgeschieden (McAinsh und Holmes, 1983; Chiou et al., 2000). Die Ausscheidung beim Hund erfolgt über die Niere. Die Plasma Halbwertszeit beim Hund nach oraler Applikation beträgt fünf bis sechs Stunden und die maximale Blutkonzentration wird nach ein bis zwei Stunden erreicht (McAinsh und Holmes, 1983). Beim Menschen konnte unter körperlicher Belastung keine Änderung der Plasmakonzentration von Atenolol festgestellt werden (Baak et al., 1992).

### 2.5.2 Bisoprolol

Bisoprolol besitzt ebenfalls eine  $\beta$ 1-selektive Wirkung und eine moderate Lipidlöslichkeit (López-Sendón et al., 2004). Beim Hund werden nach oraler Aufnahme 98 Prozent absorbiert (Chiou et al., 2000). Der primäre Metabolismus (first-pass Effekt) ist mit weniger als zehn Prozent sehr gering (Yuji et al., 1997). Beim Menschen erfolgt die Eliminierung zu etwa gleichen Teilen renal und hepatobiliär (López-Sendón et al., 2004). Beim Beagle werden nur etwa zehn Prozent über die Fäzes ausgeschieden (Buehring et al., 1986). Die mittlere Halbwertszeit beim Menschen beträgt etwa zehn Stunden (Leopold et al., 1986). Beim Beagle wurde eine Halbwertszeit von fünf Stunden beschrieben (Buehring et al., 1986).

### 2.5.3 Betablocker und Endothelin

An menschlichen Endothelzellen von Umbilikalvenen wurde gezeigt, dass nach Behandlung mit verschiedenen Betablockern die Biosynthese von Endothelin-1 gehemmt wird (Garlichs et al., 1999). Bei Patienten im chronischen Herzversagen korreliert das klinische Ansprechen auf die Therapie mit Betablockern (Carvedilol) mit der Abnahme der Plasmakonzentration von Endothelin-1 (Krum et al., 1996). In humanen koronaren Endothelzellen und glatten Muskelzellen führen Betablocker der

dritten Generation (Nebivolol und Carvedilol) zu einer verminderten Endothelin-1 Sekretion. Für Nebivolol wurde gezeigt, dass dieser Effekt auf einer Reduktion der messenger Ribonukleinsäure von Preproendothelin-1 beruht (Brehm et al., 2000).

#### 2.5.4 Betablocker und Glykoside

Bisherige Untersuchungen haben ergeben, dass der Anstieg der Ouabain Immunreaktivität beim Hund nach einer 13-minütigen Belastung auf einem Laufband um das 46fache durch die Gabe des Betablockers Atenolol über 16 Tage in einer gesteigerten Dosis von 0,35 mg/kg Körpergewicht über fünf Tage, 0,7 mg/kg Körpergewicht über weitere fünf Tage und 1,4 mg/kg Körpergewicht über die restlichen sechs Tage vollständig unterdrückt werden konnte (Bauer et al., 2005).

#### 2.6 Angiotensin-converting Enzym Hemmer

Diese Gruppe an Medikamenten blockiert das Angiotensin-converting Enzym, das im Rahmen des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems die Umsetzung von Angiotensin-I zu Angiotensin-II vermittelt. Das Enzym ist eine Protease mit zwei Zinkgruppen und findet sich in allen Endothelien, vor allem aber in der Lunge (Opie und Gersh, 2009).

##### 2.6.1 Renin-Angiotensin-Aldosteron System

Renin wird primär aus spezialisierten Zellen der afferenten Arteriolen der Nieren ausgeschüttet. Die Ausschüttung wird angeregt durch einen verminderten renalen Blutfluss, durch Hyponatriämie, durch Hypotonie, durch Hypovolämie und durch  $\beta$ 1-adrenerge Stimulation. Renin fungiert im Blut als Protease und führt zu einer enzymatischen Umsetzung von Angiotensinogen zu Angiotensin-I. Das durch das Angiotensin-converting Enzym entstandene Angiotensin-II hat starke vasokonstriktorische Wirkung und führt wiederum in der Nebennierenrinde zur Ausschüttung von Aldosteron. Dies wiederum führt in der Niere zu einer vermehrten Natrium- und Wasserrückresorption. Ein weiterer Effekt vom Angiotensin-converting Enzym ist der Abbau von Bradykinin. Das bedeutet, dass Angiotensin-converting Enzym Hemmer vasodilatatorisch wirken über die verminderte Produktion von Angiotensin-II und den verminderten Abbau von Bradykinin (Opie und Gersh, 2009). Die Umsetzung von Angiotensin-I zu Angiotensin-II kann neben dem Angiotensin-converting Enzym auch über andere Enzyme stattfinden. Die Serinprotease Chymase aus Mastzellen ist zur Angiotensin-II Produktion im Herzen befähigt. Sie

wird nicht durch Angiotensin-converting Enzym Hemmer blockiert (Matsumoto, 2003).

### 2.6.2 Wirkung von Angiotensin II

Die Wirkung von Angiotensin-II wird vermittelt über Angiotensin-II Rezeptoren. Es sind zwei Subtypen des Rezeptors (AT-1 und AT-2 Rezeptor) bekannt. Durch die Rezeptoren werden intrazelluläre Signaltransduktionswege initiiert (Opie und Sack, 2001). Durch Bindung von Angiotensin-II an den Rezeptor wird die Phospholipase C aktiviert. Diese wiederum führt über den Inositol Triphosphat (IP3) Signaltransduktionsweg in Gefäßen zur Freisetzung von Calcium und damit zur Vasokonstriktion. Über eine Signalkaskade wird weiter die Proteinkinase C aktiviert, welche wiederum Signalwege aktiviert, die das Remodeling der Ventrikelmuskulatur des Herzens fördern (Opie et al., 2006). Der AT-1 Rezeptor ist verantwortlich für die Vermittlung der Effekte von Angiotensin-II am erkrankten Herzen und im Kreislaufversagen. Er vermittelt eine Steigerung der Kontraktion des Herzens, eine Vasokonstriktion, eine Hypertrophie von Myozyten, eine Fibrosierung und eine Natriumrückresorption in der Niere (Webster, 2003). Im Fetus vermittelt der AT-1 Rezeptor eine Wachstumsstimulierung und der AT-2 Rezeptor eine Wachstumshemmung. Beim adulten Menschen ist die Wirkung des AT-2 Rezeptors nicht sicher bekannt (Opie und Gersh, 2009). Angiotensin-II fördert neben der Wirkung in der Nebennierenrinde auch die Freisetzung von Noradrenalin aus adrenergen Neuronen und führt zu einer Steigerung des Sympathikotonus durch zentrale und periphere Aktivierung. Außerdem wird durch Angiotensin-II die  $\alpha$ 1-Rezeptor-vermittelte Vasokonstriktion von Noradrenalin verstärkt (Opie und Gersh, 2009).

### 2.6.3 Wirkung von Aldosteron

Aldosteron als Endprodukt des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems wird aus der Nebennierenrinde durch Angiotensin-II oder durch Stimulation mit Adrenocorticotropem Hormon oder erhöhten Kalium-Blutkonzentrationen ausgeschüttet. Im distalen Tubulussystem der Niere wird der Natrium-Kalium Austausch unterdrückt wodurch es zur Natriumretention und zur Kaliumausscheidung kommt. Wasser wird sekundär zum Natrium ebenfalls rückresorbiert (Opie und Gersh, 2009). Aldosteron scheint ebenfalls die myokardiale Fibrosierung und die endotheliale Dysfunktion zu fördern (Weber, 1999; Farquharson und Struthers, 2000).

#### 2.6.4 Wirkung von Angiotensin-converting Enzym Hemmern

Für den Einsatz von Angiotensin-converting Enzym Hemmern gibt es mannigfaltige Indikationen. Im Herzversagen kommt es zu einem Blutdruckabfall durch die verminderte Funktion des linken Ventrikels. Die Hypotension führt zu einem verminderten renalen Blutfluss und über Barorezeptoren zu einer noradrenergen Stimulation. Diese stimuliert wiederum die Reninausschüttung aus dem juxtaglomerulären Apparat. Bei Patienten mit Hypertension, die wiederum viele Ursachen haben kann, kommt es auf Dauer zu einer verminderten renalen Perfusion und somit zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. Bei Patienten mit Nephropathien und renalem Proteinverlust führt Angiotensin-II durch den vasokonstriktischen Effekt in der Vas efferens zu einem stärkeren Druck in den Nierenglomerula und zu einer potentiell schneller fortschreitenden Schädigung. Der chronische Einsatz von Diuretika führt durch die Natriurese und die Reduktion des Blutdruckes zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. Diese verschiedenen Indikationen führen zur Entscheidung des klinischen Einsatzes eines Angiotensin-converting Enzym Hemmers, die man in drei Gruppen einteilt. Zu Gruppe eins gehört Captopril, das bereits die biologisch aktive Form darstellt. In Gruppe zwei gehören Medikamente, die erst nachdem sie im hepatischen Metabolismus zur Disäure umgesetzt wurden, biologisch aktiv sind. Zu dieser Gruppe gehört auch Benazepril, dessen aktive Form das Benazeprilat darstellt. In Gruppe drei findet sich das wasserlösliche Lisinopril, das nicht metabolisch umgesetzt wird. Die meisten Angiotensin-converting Enzym Hemmer werden dominierend renal ausgeschieden (Opie und Gersh, 2009). Die Wirkungsweise der verschiedenen Präparate beruht auf der Hemmung der vielfältigen Effekte von Angiotensin-II. Folglich kommt es durch den Einsatz zu einer Reduktion des arteriellen Blutdruckes und zu einer Dilatation der Vas efferens der Nierenglomerula. Hierzu trägt auch der verminderte Abbau von Bradykinin bei. Als Folge der verminderten Angiotensin-II Produktion wird die Ausschüttung von Aldosteron aus der Nebennierenrinde vermindert. Diese Reduktion von Aldosteron führt zu einem milden natriuretischen und kaliumretinierenden Effekt. Da Angiotensin-II zu einer Ausschüttung von Noradrenalin aus Varikositäten des Sympathikus führt, besitzen Angiotensin-converting Enzym Hemmer bedingt auch einen antiadrenergen Effekt.

#### 2.6.5 Benazepril

Benazepril stellt als Angiotensin-converting Enzym Hemmer der Klasse zwei die Vorstufe des Benazeprilates dar und ist ein Ethylester. Die übliche Formulierung als Benazeprilhydrochlorid wird beim Hund nach oraler Aufnahme gut absorbiert

(Waldmeier und Schmid, 1989). Die maximale Benazeprilat Konzentration bei Beagle Hunden konnte nach 1,25 Stunden gezeigt werden. Die Plasmaelimination hat einen biphasischen Verlauf mit einer schnellen und einer terminalen Phase. Die mittlere Verweilzeit nach einer 14-tägigen, einmal täglichen Applikation von 0,5 mg/kg liegt bei 17,4 Stunden. Es kommt zu einer moderaten Akkumulation, sodass nach drei Tagen ein stabiler Zustand (steady-state) der Plasmakonzentration erreicht wird (King et al., 1997). Beim Menschen mit schwerer Einschränkung der Nierenfunktion kommt es zu einer stärkeren Akkumulation von Benazeprilat, sodass eine Dosisreduktion durchgeführt werden sollte (Kaiser et al., 1989). Die Effektivität von Benazepril bei Hunden mit gering- bis mittelgradigem kongestivem Herzversagen wurde gezeigt (Kitagawa et al., 1997). Klinische Parameter besserten sich signifikant nach einer Behandlung über vier Wochen. Bei diesen Tieren kam es zu keiner pathologischen Erhöhung der Nierenwerte (Kreatinin und Plasma Harnstoff Stickstoff) und es konnte gezeigt werden, dass die Plasmaaktivität des Angiotensin-converting Enzyms um über 50 Prozent verringert wird (Kitagawa et al., 1997).

#### 2.6.6 Angiotensin-converting Enzym Hemmer und Endothelin

Menschen im kongestiven Herzversagen mit erhöhten Plasmaendothelinwerten, die mit dem Angiotensin-converting Enzym Hemmer Fasinopril über zwölf Wochen behandelt wurden, zeigten einen Abfall der Endothelin-Werte in einen normalen Bereich (GALATIUS-JENSEN et al., 1996). Auch Captopril als Angiotensin-converting Enzym Hemmer der Gruppe eins zeigte in vitro und in vivo beim Menschen, dass Endothelin-1 Konzentrationen gesenkt werden (Desideri et al., 1997). Momose und Mitarbeiter zeigten in vitro, dass die Unterdrückung der Endothelin-1 Ausschüttung durch einen Anstieg von Bradykinin durch den Angiotensin-converting Enzym Hemmer zustande kommt (Momose et al., 1993).

#### 2.6.7 Angiotensin-converting Enzym Hemmer und Glykoside

Bisherige Untersuchungen haben ergeben, dass der Anstieg der Ouabain Immunreaktivität beim Hund nach einer 13 minütigen Belastung auf einem Laufband um das 46fache durch die Gabe des Angiotensin-converting Enzym Hemmers Benazepril über 16 Tage in einer gesteigerten Dosis von 0,25 mg/kg Körpergewicht über fünf Tage und 0,5 mg/kg Körpergewicht über die restlichen elf Tage vollständig unterdrückt werden konnte (Bauer et al., 2005).

## 3 Eigene Untersuchungen

### 3.1 Material und Methoden

Die detaillierte Beschreibung der verwendeten Materialien und Methoden folgt in verschiedenen Abschnitten. Zunächst soll das Studiendesign vorgestellt werden. Anschließend werden zunächst der allgemeine, dann der detaillierte Studienablauf und schließlich die statistische Datenanalyse beschrieben.

#### 3.1.1 Studiendesign

Die Studie ist eine explorative, nicht randomisierte, nicht geblindete Laborstudie mit drei Studiengruppen in einem dreifach überkreuzten Design. Es wurden drei Behandlungsperioden mit einer Auswaschphase von etwa sechs Wochen zwischen den Perioden durchgeführt. In jeder Behandlungsperiode wurden die Hunde mit der jeweiligen Testsubstanz über 15 aufeinanderfolgende Tage behandelt. Tabelle 1 zeigt das Regime der Dosierung der Testsubstanzen.

Die Durchführung der Studie wurde vom Regierungspräsidium Gießen gemäß der letztgültigen Fassung des Tierschutzgesetzes am 12. Januar 2010 unter dem Geschäftszeichen V 54 – 19 c 20-15 (1) GI 18/17 Nr. 91/2009 genehmigt.

**Tabelle 1                    Regime der Dosierung**

Behandlungs- periode	Studiengruppe	Tiere	Testsubstanz	Zieldosis
A*	1	1 - 3	Benazepril	0.5 mg/kg KG
	2	4 - 6	Atenolol	1.0 mg/kg KG
	3	7 - 9	Bisoprolol	0.2 mg/kg KG
Auswaschphase (41 Tage)				
B*	1	1 - 3	Atenolol	1.0 mg/kg KG
	2	4 - 6	Bisoprolol	0.2 mg/kg KG
	3	7 - 9	Benazepril	0.5 mg/kg KG
Auswaschphase (41 Tage)				
C*	1	1 - 3	Bisoprolol	0.2 mg/kg KG
	2	4 - 6	Benazepril	0.5 mg/kg KG
	3	7 - 9	Atenolol	1.0 mg/kg KG

\* In jeder Behandlungsperiode wurde jeder Hund an 15 aufeinanderfolgenden Tagen behandelt.

### 3.1.2 Allgemeiner Studienablauf

Der generelle zeitliche Ablauf der Studie ist in folgender Auflistung dargestellt:

Start der Studie:	10. März 2010
Ermittlung der Basiswerte	10. März – 31. März 2010
Behandlungsperiode A	09. April – 12. Mai 2010
Behandlungsperiode B	04. Juni – 07. Juli 2010
Behandlungsperiode C	30. Juli – 01. September 2010
Ende der Studie:	03. September 2010

#### 3.1.2.1 Studientiere

Für die Studie wurden neun adulte Beagle Hunde (vier weibliche und fünf männliche) aus der Horde der Klinik für Kleintiere der Justus-Liebig-Universität verwendet. Die Hunde wurden bei den Firmen Marshall BioResources (North Rose, NY 14516, USA) und Harlan Winkelmann (33178 Borcheln, Deutschland) gezüchtet. Nach Vollendung der Studie wurden die Tiere wieder in die Horde der Klinik integriert, um an weiteren Studien teilzunehmen, beziehungsweise um vermittelt zu werden. Zur Identifikation wurden die letzten vier Ziffern der Ohrtätowierung verwendet. Bis auf eine Hündin

waren die Tiere kastriert und waren vollständig gegen Tollwut, Staupe, Hepatitis contagiosa canis, Parvovirose, Leptospirose und Parainfluenzavirus geimpft. Tabelle 2 zeigt die detaillierten Tierdaten.

**Tabelle 2**                      **Individuelle Tierdaten**

Name	Ohrtätowierung	Geschlecht	Geburtsdatum	Tag der letzten Impfung*
Sierra	9375	W^	10. Dezember 2005	23. Februar 2010
Symphonie	9213	W^	18. November 2005	23. Februar 2010
Shari	6285	W^	25. Mai 2005	23. Februar 2010
Sophie	7065	W^	14. Mai 2005	08. März 2010
Sky	5380	M^	14. März 2006	23. Februar 2010
Spock	9812	M^	09. Dezember 2005	23. Februar 2010
Emma	9059	W	06. Dezember 2007	23. Februar 2010
Flip	4596	M^	30. Oktober 2006	23. Februar 2010
Lennox	9746	M^	22. November 2007	23. Februar 2010

\*SHPPI+LT = Staupe, Hepatitis contagiosa canis, Parvovirose, Parainfluenzavirus, Leptospirose und Tollwut, ^ kastriert

Die Studientiere waren bereits seit mindestens drei Wochen an die Verhältnisse in der Klinik gewöhnt. Sie wurden in Boxen in verschiedenen Räumen untergebracht (Raum 415 mit den Hunden 9375, 9213, 6285, 7065, 5380, 9812; Raum Außenbox 1, Erdgeschoss mit den Hunden 9059, 4596, 9746). Jede Box hatte ein Mindestmaß von 2,0 mal 1,1 Meter, war gefliest und mit einer überzogenen Liegefläche, einem Futter- und einem Wassernapf ausgestattet. Außerdem hatte jeder Hund eine gepolsterte Liegefläche von 60 mal 80 Zentimetern zur Verfügung. Die Räume waren mit regulären Heizkörpern ausgestattet und wurden einmal täglich gereinigt. Die Hunde hatten täglich etwa zwei bis drei Stunden gemeinsamen Auslauf in der Gruppe im Innenhof der Klinik.

Die Tiere wurden einmal täglich zwischen 15 und 18 Uhr mit einem kommerziellen Hundetrockenfutter nach ihren individuellen Ansprüchen gefüttert (Hill's Science Plan CANINE ADULT with Chicken, Hill's Pet Nutrition GmbH, PF 760249, 22052

Hamburg, Deutschland). Ein Hund wurde aufgrund des Verdachtes einer Futtermittelunverträglichkeit ab dem 5. Juni 2010 mit einer hypoallergenen Diät gefüttert (Prescription Diet™ z/d™ ULTRA Allergen-Free, Canine, Hill's Pet Nutrition GmbH, PF 760249, 22052 Hamburg, Deutschland).

Die Futteraufnahme wurde täglich dokumentiert und die übergebliebene Futtermenge abgeschätzt. Leitungswasser der örtlichen Wasserversorgung wurde den Tieren stets zur freien Verfügung angeboten.

### 3.1.2.2 Körperliche Belastung auf dem Laufband

Die körperliche Belastung erfolgte auf einem Laufband (Quasar, H-P-Cosmos Sportgeräte GmbH, 83278 Traunstein, Deutschland, Abbildung 5) nach dem Protokoll in Tabelle 3.

**Abbildung 5 Laufband**



**Tabelle 3**                      **Belastungsprotokoll auf dem Laufband**

Belastung	Steigung des Laufbandes [%]	Dauer [min]
Ruhe	0	2
Start des Laufes	0	3
Laufen	4	2
Laufen	8	2
Laufen	12	2
Laufen	16	2
Laufen	20	2
Ruhe	0	5

Die Hunde wurden vor der Studie trainiert, freiwillig auf dem Laufband zu laufen. Während der Belastung trugen sie ein Brustgeschirr und wurden locker an einer Leine vom Studien-Tierarzt gehalten, der am Vorderende des Laufbandes saß (Abbildung 6). Die optimale Geschwindigkeit des Laufbandes (etwa 7 bis 9 km/h) wurde für jeden Hund während der Trainingsperiode festgestellt.

**Abbildung 6 Beagle auf dem Laufband**



Während der Belastung wurde die Pulsfrequenz der Hunde mit einer Pulsuhr (Polar RS400sd, Polar Electro Oy, Professorintie 5, FIN-90440 Kempele, Abbildung 7) aufgezeichnet. Der Gürtel mit dem Sensor wurde um den Brustkorb mit Klebeband befestigt, sodass der Sensor Kontakt zum Sternum hatte. Das Display der Pulsuhr wurde am Brustgeschirr befestigt. Der Anstieg der Pulsfrequenz und klinische Anzeichen der Erschöpfung wurden verwendet um den Grad der Belastung einzuschätzen. Das Laufband hatte einen Notfall Stopp Knopf, um in für die Hunde potentiell gefährlichen Situationen unmittelbar anhalten zu können.

Abbildung 7 Pulsuhr



### 3.1.2.3 Einschluss- und Ausschlusskriterien der Studie

Um in die Studie eingeschlossen zu werden, mussten die Hunde regelmäßig geimpft sein und in der klinischen Untersuchung während der Ermittlung der Basiswerte (Einschlussuntersuchung) gesund sein. Die Studientiere wurden mindestens vier Wochen vor Studienbeginn mit keinem kardialen Medikament behandelt. Außerdem wurde ihnen freiwilliges Laufen auf einem Laufband antrainiert. Hunde mit vermindertem Allgemeinzustand oder Symptomen einer Erkrankung während der Einschlussuntersuchung durften nicht in die Studie eingeschlossen werden.

Im Falle von Einschränkungen des Gesundheitszustandes, die zu offensichtlichem Unwohlsein oder lebensbedrohlichen Zuständen führten, sollte ein Studientier aus der Studie ausgeschlossen werden. Außerdem sollten Tiere ausgeschlossen werden, die einer Medikation bedurften, die mit den Ergebnissen der Studie interagiert hätten.

#### 3.1.2.4 Randomisierung und Verblindung

Die Studie wurde nicht randomisiert und nicht verblindet.

#### 3.1.2.5 Unerwünschte Ereignisse

Nach erster Applikation einer der eingesetzten Testsubstanzen wurden unerwünschte klinische Befunde als unerwünschte Ereignisse dokumentiert. Im Fall eines unerwünschten Ereignisses wurde das Studientier untersucht, gegebenenfalls behandelt und die Ergebnisse dokumentiert. Vor erster Applikation einer der eingesetzten Testsubstanzen wurden klinische Befunde als sonstige Ereignisse dokumentiert. Das Vorgehen war entsprechend dem eines unerwünschten Ereignisses.

#### 3.1.2.6 Eingesetzte Testsubstanzen

Im Folgenden werden die drei Testsubstanzen erläutert, die in der Studie zum Einsatz kamen und deren Applikation beschrieben.

### 3.1.2.6.1 Bisoprolol

Bezeichnung: Bisoprolol Hemifumarat Lösung 0,33%

Wirkstoffgehalt: 3,3 mg Bisoprolol Hemifumarat / ml

Formulierung: Lösung zur oralen Applikation

Behälter: 100 ml Braunglas Flasche

Hersteller: Bayer Animal Health GmbH  
51368 Leverkusen  
Deutschland

Datum der Herstellung: 01. März 2010

Mindestens haltbar bis: 01. März 2011

Aufbewahrung: Raumtemperatur

Eine Kopie des Sicherheitsdatenblattes befindet sich in Anhang 1.

In dieser Arbeit wird die Testsubstanz Bisoprolol Hemifumarat einfach als Bisoprolol bezeichnet.

### 3.1.2.6.2 Atenolol

Bezeichnung: Atenolol Kapseln 8 mg  
Wirkstoffgehalt: 7,4<sup>1</sup> mg Atenolol / Kapsel  
Chargennummer: R2159  
Formulierung: Gelatine Kapseln gefüllt mit Wirkstoff  
Hersteller: Schubert Apotheke  
35392 Gießen  
Deutschland  
Datum der Herstellung: 03. September 2009  
Mindestens haltbar bis: September 2012  
Aufbewahrung: Raumtemperatur

Bezeichnung: Atenolol Kapseln 4 mg  
Wirkstoffgehalt: 3,6<sup>2</sup> mg Atenolol / Kapsel  
Chargennummer: R2169  
Formulierung: Gelatine Kapseln gefüllt mit Wirkstoff  
Hersteller: Schubert Apotheke  
35392 Gießen  
Deutschland  
Datum der Herstellung: 04. September 2009  
Mindestens haltbar bis: September 2012  
Aufbewahrung: Raumtemperatur

Eine Kopie der Packungsbeilage und die Herstellungsbeschreibung befinden in Anhang 2.

---

<sup>1</sup> Mittlerer Gehalt von Atenolol pro Kapsel errechnet aus einer Probe von fünf Kapseln der Charge R2159.

<sup>2</sup> Mittlerer Gehalt von Atenolol pro Kapsel errechnet aus einer Probe von fünf Kapseln der Charge R2169.

### 3.1.2.6.3 Benazepril

Bezeichnung: Fortekor® Flavour 2,5 mg  
Wirkstoffgehalt: 2,5 mg Benazepril Hydrochlorid / Tablette  
Chargennummer: 04048119228683 31750  
Formulierung: Tablette  
Behälter: Blister mit 14 Tabletten  
Hersteller der Abgabeformulierung: Novartis Sante Animale S.A.S.  
Usine de Huningue 26, rue de la Chapelle  
68332 Huningue Cedex  
Frankreich  
Hersteller,  
verantwortlich für  
die Abgabe der  
Charge: PharmLog Pharma Logistik GmbH  
Siemensstraße 1  
59199 Bönen  
Deutschland  
Mindestens haltbar bis: Januar 2012  
Aufbewahrung: Raumtemperatur

Bezeichnung: Fortekor® Flavour 5 mg  
Wirkstoffgehalt: 5 mg Benazepril Hydrochlorid / Tablette  
Chargennummer: 04048119228706 31628  
Formulierung: Tablette  
Behälter: Blister mit 14 Tabletten  
Hersteller der Abgabeformulierung: Novartis Sante Animale S.A.S.  
Usine de Huningue 26, rue de la Chapelle  
68332 Huningue Cedex  
Frankreich  
Hersteller,  
verantwortlich für  
die Abgabe der PharmLog Pharma Logistik GmbH  
Siemensstraße 1  
59199 Bönen

Charge: Deutschland  
Mindestens haltbar bis: Dezember 2011  
Aufbewahrung: Raumtemperatur

Eine Kopie der Packungsbeilage befindet sich in Anhang 3.

#### 3.1.2.6.4 Applikation

Die Zieldosierungen der verschiedenen Testsubstanzen sind in Tabelle 1 unter Abschnitt 3.1.1 aufgelistet.

Zur Berechnung der individuellen Behandlungsdosis wurde das zuletzt ermittelte Körpergewicht des Studientieres verwendet, maximal fünf Tage vor dem Start der Behandlung. Im Falle von Benazepril und Atenolol wurden die verschiedenen Tabletten-, beziehungsweise Kapselstärken derart verwendet, dass die Zieldosierung so genau wie möglich erreicht wurde. Im Falle von Bisoprolol wurde die Lösung in Milliliter auf eine Stelle nach dem Komma genau berechnet um die Zieldosierung so genau wie möglich zu erreichen. Die berechnete und die tatsächliche Behandlungsdosierung wurden dokumentiert.

Während jeder Behandlungsperiode (A – C) wurde den Hunden einmal täglich die jeweilige Testsubstanz über 15 aufeinanderfolgenden Tagen oral verabreicht.

Zur oralen Applikation der Bisoprolol Lösung wurde der Fang des Hundes geöffnet und die Lösung wurde hinter der Zungenbasis mit einer Einzelspritze verabreicht. Das Abschlucken der gesamten Menge wurde visuell überprüft. Die Tabletten oder Kapseln wurden auf der Zungenbasis platziert und der Fang wurde geschlossen um ein komplettes Abschlucken zu gewährleisten.

### 3.1.3 Detaillierter Studienablauf

Im Folgenden werden die Einschlussuntersuchungen, die täglichen Beobachtungen, weiterführende Untersuchungen und die Ermittlung der endogenen Substanzen beschrieben.

#### 3.1.3.1 Einschlussuntersuchung

Die Einschlussuntersuchungen der Studientiere wurden zwischen dem 10. und dem 26. März 2010 durchgeführt. Dazu gehörten folgende spezielle Untersuchungen:

- Klinische Untersuchung (siehe Abschnitt 3.1.3.5)
- Hämatologie und klinisch – chemische Blutuntersuchung (siehe Abschnitt 3.1.3.6)
- Blutdruckmessung (siehe Abschnitt 3.1.3.7)
- Radiographie des Thorax (siehe Abschnitt 3.1.3.8)
- Elektrokardiogramm (siehe Abschnitt 3.1.3.9)
- Echokardiographie (siehe Abschnitt 3.1.3.10)
- 24-Stunden-Elektrokardiogramm (siehe Abschnitt 3.1.3.11)

Die Ergebnisse der Einschlussuntersuchung wurden als Basiswerte zum Vergleich mit den Ergebnissen der Untersuchungen unter Therapie mit den verschiedenen Testsubstanzen genutzt.

#### 3.1.3.2 Tägliche Beobachtungen

Der generelle Gesundheitszustand und die Futteraufnahme der Studientiere wurden täglich beobachtet. Im Falle von abnormalen Befunden wurden die Tiere untersucht und es wurde über eventuelle weiterführende Untersuchungen entschieden.

#### 3.1.3.3 Bestimmung des Körpergewichtes

Die individuellen Körpergewichte wurden am 10. März 2010 zum Einschluss, jeweils freitags vor und während der Behandlungsperioden und am 3. September 2010 zur Abschlussuntersuchung bestimmt. Die Werte wurden zur Errechnung der individuellen Behandlungsdosis und zur Überprüfung des allgemeinen Gesundheitszustandes während der Studie verwendet.

#### 3.1.3.4 Verträglichkeit der eingesetzten Testsubstanzen

Die Verträglichkeit der Testsubstanzen wurde während der täglichen Beobachtungen überprüft.

#### 3.1.3.5 Klinische Untersuchung

Die klinische Untersuchung wurde am Tag der Einschlussuntersuchung, am zehnten Behandlungstag jeder Behandlungsperiode und am 3. September 2010 zur Abschlussuntersuchung durchgeführt. Folgende Parameter wurden untersucht: Allgemeinzustand, Verhalten, Haarkleid, Haut, Schleimhäute, Respirationstrakt, Gastrointestinaltrakt, Harntrakt, Bewegungsapparat, Herz- und Kreislaufsystem und das zentralnervöse System.

#### 3.1.3.6 Hämatologie und klinisch – chemische Blutuntersuchung

Die hämatologische und klinisch – chemische Blutuntersuchung wurde am Tag der Einschlussuntersuchung und am zehnten Behandlungstag jeder Behandlungsperiode durchgeführt. Die Blutproben wurden aus der Vena cephalica antebrachii oder der Vena saphena mit einer Einmalkanüle (BD Microlance 3, Größe 20G) in entsprechende Blutsammelröhrchen (EDTA-Röhrchen, Probengefäß 1,3 ml, K3E, 1,6 mg EDTA / ml Blut und Li-Heparin-Röhrchen, Probengefäß 1,3 ml LH, 35 I.E. Heparin / ml Blood, Sarstedt Aktiengesellschaft & Co., 51588 Nümbrecht, Deutschland) abgenommen. Das Heparinplasma wurde mit 10000 U/min über eine Minute abzentrifugiert (Mikro 120, Hettich Zentrifugen, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Föhrenstraße 12, 78532 Tuttlingen, Deutschland).

Die Analyse der Proben wurde vom Zentrallabor der Studieneinrichtung durchgeführt. Im Rahmen der hämatologischen Blutuntersuchungen (analysiert mit ADVIA 2120, Hematology System, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, 65760 Eschborn, Deutschland) wurden folgende Parameter bestimmt:

- Leukozytenzahl (White Bloodcell Count = WBC)
- Erythrozytenzahl (Red Bloodcell Count = RBC)
- Hämatokrit (HKT)

Im Rahmen der klinisch-chemischen Blutuntersuchung (analysiert mit ABX pentra 400, AxonLab AG, 73262 Reichenbach/Stuttgart, Deutschland) wurden folgende Parameter bestimmt:

- Kreatinin (CREA)
- Harnstoff (UREA)
- Bilirubin (Bili)
- Alanin – Aminotransferase (ALT)
- Gesamteiweiß (TP)

Weitere Parameter wurden vom Labor gemessen, aber nicht in der Studie ausgewertet.

#### 3.1.3.7 Blutdruckmessung

Die Blutdruckmessungen wurden am Tag der Einschlussuntersuchung und am zehnten Behandlungstag jeder Behandlungsperiode durchgeführt.

Die Bestimmung des systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Blutdrucks erfolgte oszillometrisch an einer Vordergliedmaße auf Höhe des Antebrachium mit dem Gerät SurgiVet, Model 58480A1 (Serial-No 480389187, Veterinary Surgical Products, BCI International Waukesha, Wisconsin, USA). Die Messung erfolgte auf einem Tisch außerhalb der Hundeboxen mit dem Hund in Seitenlage und in einer möglichst ruhigen Situation. Es wurde eine handelsübliche Manschette für Neonaten (Critikon Soft-Cuf, GE Healthcare) der Größe 4 verwendet, deren Breite ca. 40 – 50% des Umfangs des Antebrachium betrug. Zu jedem Zeitpunkt wurden fünf Einzelmessungen durchgeführt und der Median der Messungen wurde bestimmt. In den Fällen, in denen das Blutdruckmessgerät keine Daten ausgab wurden die Messungen solange wiederholt, bis fünf Messungen vollständig waren.

#### 3.1.3.8 Radiographie des Thorax

Die röntgenologische Untersuchung des Thorax wurde am Tag der Einschlussuntersuchung und am zehnten Behandlungstag jeder Behandlungsperiode durchgeführt.

Die röntgenologische Untersuchung des Thorax erfolgte am wachen Hund in zwei Ebenen in latero-lateraler (rechtsanliegend) und in dorso-ventraler Projektion. Es wurde das Röntgengerät, der digitale Röntgendetektor und die digitale

Röntgensoftware der Klinik für Kleintiere – Innere Medizin verwendet (ASTAR<sub>x</sub>, Type XSTAR-14, Serial No: 8C353, COMET AG, 3097 Liebefeld-Bern; Schweiz; Canon CXDI-1 Digitales Radiographiesystem, Canon Europa N.V., Bovenkerkerweg 59-61, P.O. Box 2262, 1185 XB Amstelveen, The Netherlands; easyVET, Veterinärmedizinisches Dienstleistungszentrum GmbH, Seriennummer: 5253 / 6.0.1.55 / UDKJH – HCFGZ – NWARE – EFATP – JGHGJ / easyIMAGE „diagnostic“, IFS Informationssysteme GmbH, Günther-Wagner-Allee 15; 30177 Hannover).

Mit Hilfe der latero-lateralen Röntgenaufnahmen wurde die Vertebral heart size (VHS) nach Buchanan und Buecheler (1995) ermittelt. Weiterhin wurden anhand der Aufnahmen die Morphologie und das Erscheinungsbild des Herzens und der assoziierten Strukturen beurteilt.

#### 3.1.3.9 Elektrokardiogramm

Das Elektrokardiogramm wurde am Tag der Einschlussuntersuchung und am zehnten Behandlungstag jeder Behandlungsperiode aufgezeichnet.

Aufgezeichnet wurden die 6 Gliedmaßenableitungen über mindestens drei Minuten an den Studientieren in rechter Seitenlage mit dem Gerät EKG 2000 (Eickemeyer PC EKG v2.1, serial number 7/07/07, Eickemeyer Medizintechnik für Tierärzte KG Eltastraße 8 D-78532 Tuttlingen). In der zweiten bipolaren Ableitung nach Einthoven wurden die mittlere Herzfrequenz über drei Minuten, das PQ- und das QT-Intervall ermittelt. Das Vorkommen von Rhythmusstörungen sowie Besonderheiten in der Morphologie der Komplexe wurden vermerkt.

#### 3.1.3.10 Echokardiographie

Die Echokardiographie wurde am Tag der Einschlussuntersuchung und am zehnten Behandlungstag jeder Behandlungsperiode aufgezeichnet.

Für die echokardiographische Untersuchung wurde das Gerät Philips Diagnostic Ultrasound System iE33 (Serien No O2X4JW, Philips Ultrasound, Bothell WA, 98041 USA; Auswertung mittels Xcelera R2.2L1 SP1, 2.2.1.217-2008, Philips Medical Systems Nederlands B.V., Veenpluis 4-6, 5684 PC Best, The Netherlands) verwendet. Im M-Mode aus dem Vierkammerblick bzw. Fünfkammerblick und im B-Bild aus dem Querschnitt auf Papillarmuskelebene der rechts parasternalen Anschallung wurden folgende Parameter bestimmt:

- IVSd (Interventrikuläres Septum, diastolisch) (4-Kammerblick)
- LVDd (Linksventrikulärer Durchmesser, diastolisch) (4-Kammerblick)
- LVDs (Linksventrikulärer Durchmesser, systolisch) (4-Kammerblick)
- LVWd (Linksventrikuläre Wand, diastolisch) (4-Kammerblick)
- PEP (Pre ejection period) (5-Kammerblick)
- LVET (Left ventricular ejection time) (5-Kammerblick)
- LVAd (Linksventrikuläre Fläche, diastolisch) (Papillarmuskelebene)
- LVAs (Linksventrikuläre Fläche, systolisch) (Papillarmuskelebene)

Die folgenden Parameter wurden berechnet:

- FS (Fractional shortening; %)  $\left( \frac{\text{Linksventrikulärer Durchmesser, diastolisch} - \text{Linksventrikulärer Durchmesser, systolisch}}{\text{Linksventrikulärer Durchmesser, diastolisch}} \right) \times 100$
- AS (Kreisflächenverkürzung; %)  $\left( \frac{\text{Linksventrikuläre Fläche, diastolisch} - \text{Linksventrikuläre Fläche, systolisch}}{\text{Linksventrikuläre Fläche, diastolisch}} \right) \times 100$
- Prozentuale Verdickung der Wand (%)  $\left( \frac{\text{Linksventrikuläre Wand, systolisch} - \text{Linksventrikuläre Wand, diastolisch}}{\text{Linksventrikuläre Wand, systolisch}} \right) \times 100$

Alle echokardiographischen Untersuchungen wurden von einem der zwei Untersucher durchgeführt (Prof. Dr. M. Schneider, Dipl. ECVIM-CA (Cardiology) oder Dr. S. Schiller). Die Messungen wurden an drei Zyklen, wenn möglich drei konsekutiven Zyklen, zeitlich unabhängig von den Untersuchungen durch einen Untersucher (Prof. Dr. M. Schneider, Dipl. ECVIM-CA (Cardiology)) durchgeführt. Zur statistischen Analyse wurde der Mittelwert der drei Messungen genutzt.

### 3.1.3.11 24-Stunden-Elektrokardiogramm

Das 24-Stunden-Elektrokardiogramm wurde am Tag der Einschlussuntersuchung und am elften Behandlungstag jeder Behandlungsperiode aufgezeichnet. In drei Fällen stoppte die Aufzeichnung aufgrund technischer Probleme zu früh und wurde in den folgenden Tagen wiederholt.

Die Erstellung des 24-Stunden-EKGs erfolgte mit dem Gerät Televet 100 (Version 4.2.0, S/N: TV100-09040370, Telemetric ECG & Holter, Rösch & Associates, Information Engineering GmbH, Mörfelder Landstraße 17, 60598 Frankfurt am Main, Deutschland). Die durchschnittliche Herzfrequenz über 24 Stunden wurde bestimmt.

Zusätzlich wurde bei der Auswertung auf pathologische Rhythmusstörungen geachtet.

### 3.1.3.12 Bestimmung endogener Substanzen

Die Bestimmung der endogenen Substanzen Endothelin-1, big Endothelin-1, Digoxin, Noradrenalin und Adrenalin erfolgte einmalig als Basisuntersuchung vor dem Beginn der ersten Behandlungsperiode vom 15. März 2010 bis zum 31. März 2010 und anschließend jeweils am 15. Behandlungstag der drei Behandlungsperioden.

#### 3.1.3.12.1 Entnahme der Blutproben

Die Entnahme der Blutproben erfolgte aus der *V. jugularis* über einen zentralvenösen Katheter (Cavafix® Certo® mit Splittocan®, B.Braun Melsungen AG, 34209 Melsungen, Deutschland), der etwa 30 Minuten vor der körperlichen Belastung der Hunde auf dem Laufband gelegt wurde und mit einer Verlängerung (z.B. Vierwegehahn mit Schlauch, Medex Medical Ltd., St. Crispin Way, Haslingden Rossendale, Lancashire, BB4 4PW, Great Britain) verbunden war. Das Blut wurde mit Hilfe einer 20 mL Spritze (BD Discardit™ II, Becton Dickinson S.A., CTRA. Mequinenza, s/n. – 22520 – Fraga (Huesca) Espana) aufgezogen und unmittelbar in geeignete Blutentnahmeröhrchen (EDTA-Röhrchen, Probengefäß 1,3 mL K3E, 1,6 mg EDTA / ml Blut, Sarstedt Aktiengesellschaft & Co., 51588 Nümbrecht, Deutschland) überführt.

Die Blutentnahmezeitpunkte waren:

- direkt vor der Belastung auf dem Laufband
- direkt nach Ende der Belastung
- 10 Minuten nach Ende der Belastung

#### 3.1.3.12.2 Aufbereitung der Blutproben

Die Blutproben (EDTA-Röhrchen) wurden unmittelbar nach der Entnahme bei 2°C und 9500 x g (10000 U/min) über fünf Minuten zentrifugiert (MIKRO 200 R, Hettich Zentrifugen, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Föhrenstraße 12, 78532 Tuttlingen, Deutschland). Das Abzentrifugieren der Blutproben der einzelnen Entnahmezeitpunkte erfolgte nacheinander in der Zentrifuge. Direkt nach Zentrifugation wurde der EDTA-Plasmaüberstand zu Aliquots von 0,5 mL abpipettiert

und in beschriftete Proberöhrchen überführt (Mikroröhre 2 mL mit Verschuß, Sarstedt Aktiengesellschaft & Co., 51588 Nümbrecht, Deutschland).

Die Plasmaproben wurden unmittelbar in einem Kühlschrank gekühlt und sobald sämtliche Proben einer Belastung gesammelt wurden, bei -80° Celsius tiefgefroren.

Bis zur Weitergabe an das analysierende Labor für die Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin beziehungsweise bis zur Messung aller gesammelten Proben gemeinsam von Endothelin-1, big Endothelin-1 und Digoxin im Labor der Klinik wurden die Proben bei mind. -80°C in der Studieneinrichtung gelagert.

#### 3.1.3.12.3 Analyse der Blutproben

Die Analyse der Plasmaproben auf Adrenalin und Noradrenalin erfolgte mittels HPLC im Labor Biocontrol (Konrad-Adenauer-Strasse 17, 55218 Ingelheim am Rhein). Die Untersuchung erfolgte mit einem Testkit für Katecholamine (Chromsystems, Am Haag 12, D-82166 Gräfelfing/München) mit einem elektrochemischen Detektor (EC-Detektor Waters 460). Dazu wurden pro Entnahmezeitpunkt je 2 mL EDTA-Plasma an das Labor abgegeben. Die tiefgefrorenen Proben wurden von einem Fahrer des Labors abgeholt und auf Trockeneis während des Transportes gefroren. Bei Ankunft im Labor werden die Proben unmittelbar in einem Tiefkühlschrank (-20°C) bis zur Messung gefroren gehalten. Die Ergebnisse der Analysen wurden vom Labor als Fax übermittelt.

Die Analyse der Plasmaproben auf Endothelin-1, big Endothelin-1 und Digoxin erfolgte im Zentrallabor der Klinik für Kleintiere der Justus-Liebig-Universität mittels kommerziell erhältlichen Testkits.

Endothelin-1 wurde mit einem Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Endothelin 1 (EDN1), Canine (Dog) (Uscn Life Science Inc., 108 Zhuanyang Avenue, Economic & Technological Development Zone, Wuhan 430056, P.R. China) gemessen.

Big Endothelin-1 wurde mit einem Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von humanem big Endothelin (Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, A-1210 Wien, Divischgasse 4) gemessen.

Digoxin wurde mit einem Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Peroxidase-konjugierter kompetitiver ELISA) (Diagnostic Automation, Inc., 23961 Craftsman Road, Suite D/E/F, Calabasas, CA 91302) gemessen.

### 3.1.3.13 Untersuchungszeitpunkte während der Behandlungsphasen

Während der drei Behandlungsperioden wurden die Studientiere über 15 konsekutive Tage mit der jeweiligen Testsubstanz behandelt. Jeweils am 10. Behandlungstag (gilt pro Hund und Testsubstanz) wurden folgende Untersuchungen bei den Hunden durchgeführt:

- Klinische Untersuchung
- Hämatologie und klinisch – chemische Blutuntersuchung
- Blutdruckmessung
- Radiographie des Thorax
- Elektrokardiogramm
- Echokardiographie

Die Untersuchungen wurden in einem Zeitraum von ein bis zwei Stunden nach der Applikation der Testsubstanz durchgeführt.

Jeweils vom elften auf den zwölften Behandlungstag jeder Behandlungsperiode wurde das 24-Stunden-EKG aufgezeichnet. In einigen Fällen funktionierte die Aufzeichnung nicht, sodass diese an den folgenden Tagen wiederholt wurde.

Jeweils am 15. Behandlungstag wurden die Hunde auf dem Laufband körperlich belastet. Circa 2,5 Stunden nach der Applikation wurde die erste Blutprobe entnommen. Anschließend absolvierten die Hunde das beschriebene Belastungsprotokoll (siehe Abschnitt 3.1.2.2). Direkt am Ende der Belastung und 10 Minuten nach Ende der Belastung wurden die weiteren Blutproben zur Bestimmung der endogenen Substanzen gewonnen (siehe Abschnitt 3.1.3.12.1).

Tabelle 4 gibt eine Übersicht über die Zeitpunkte der verschiedenen Untersuchungen während der Studie.

**Tabelle 4 Zeitpunkte der Untersuchungen während der Behandlungsperioden**

Behandlungs- tag	Zeitpunkte**	Applikation der Testsubstanz	Aktion
--	7:30 – 9:30		<b>Einschlussuntersuchung*:</b> Klinische Untersuchung, Radiographie, Echo, EKG, Blutdruckmessung, Blutproben für Blutbild und klinisch – chemische Blutuntersuchung, Start des 24-Stunden EKG
--	9:00 – 9:30 9:00 – 10:00		<b>Basis-Untersuchung der endogenen Substanzen*:</b> Legen des zentralvenösen Katheters Blutproben für endogene Substanzen; Belastung auf dem Laufband (13 min); Blutproben für endogene Substanzen sofort und 10 Minuten nach der Belastung
1 – 9	7:00	X	
	7:00	X	
10	7:30 – 9:30		Klinische Untersuchung, Radiographie, Echo, EKG, Blutdruckmessung, Blutproben für Blutbild und klinisch – chemische Blutuntersuchung
11	7:00	X	
	7:00 – 10:00		Start des 24-Stunden EKG
12	7:00	X	
	7:00 – 11:00		Ende des 24-Stunden EKG
13 – 14	7:00	X	
	7:00	X	
15	9:00 – 9:30 9:40 – 10:15		Legen des zentralvenösen Katheters Blutproben für endogene Substanzen; Belastung auf dem Laufband (13 min); Blutproben für endogene Substanzen sofort und 10 Minuten nach der Belastung

\* Die Einschlussuntersuchungen und Basis-Untersuchungen wurden einmalig durchgeführt bevor die erste Behandlungsperiode durchgeführt wurde.

\*\* ungefähre Zeitpunkte

Echo = Echokardiographie; EKG = Elektrokardiogramm

### 3.1.4 Statistische Datenanalyse

Zur statistischen Auswertung wurde ein kommerziell erhältliches Analyseprogramm verwendet (GraphPad Prism 5.01®).

Die folgenden Parameter wurden mit Methoden der schließenden Statistik analysiert:

- Endogene Substanzen (Endothelin-1, big Endothelin-1, Digoxin, Noradrenalin, Adrenalin)
- Echokardiographische Parameter
- Vertebral Heart Size (VHS)
- Blutdruckparameter
- Elektrokardiographische Parameter
- Mittlere Herzrate des 24-Stunden EKG

Zur statistischen Analyse wurden die verschiedenen Parameter und deren Abweichung von den Basiswerten auf Normalverteilung mittels D'Agostino and Pearson omnibus normality test untersucht. Abhängig von der Verteilung wurden die Daten entweder mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit Messwiederholungen gefolgt von einem Tukey's Multiple Comparison Test untersucht oder mit einem Friedman Test gefolgt von einem Dunn's Multiple Comparison Test.

Bei den Daten mit wiederholten Messungen am selben Tag wurden die Abweichungen von den Basiswerten auf Normalverteilung überprüft und mit einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit Messwiederholungen untersucht. Zuvor wurden die Daten mit großer statistischer Verteilung (Endothelin-1, big Endothelin-1, Adrenalin, Noradrenalin) logarithmiert.

Ein Wert der explorativen Signifikanz von 0,05 wurde gewählt um einen generellen Unterschied zwischen den Gruppen festzulegen. Die Überschreitungswahrscheinlichkeit wurde mit einem p – Wert von  $p \leq 0.05$  definiert um einen generellen Unterschied zwischen den Gruppen festzulegen.

Zur graphischen Darstellung wurden Punktdiagramme mit Verbindungslinien gewählt. Unterschiede zwischen einzelnen Behandlungsgruppen wurden mit einem Balken und Sternchen markiert. Die Sternchen haben dabei folgende Bedeutung:

- \* =  $P < 0.05$
- \*\* =  $P < 0.01$
- \*\*\* =  $P < 0.005$

Die endogenen Substanzen wurden als Box and Whisker Plots dargestellt, während die Boxen das 25% und 75% Perzentil und die „Whiskers“ das 5% und 95% Perzentil darstellen.

## 3.2 Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Studie erläutert. Zunächst werden die allgemeinen Ergebnisse der Studiendurchführung dargestellt um anschließend die speziellen Ergebnisse der verschiedenen Untersuchungen und der endogenen Substanzen vorzustellen. Alle Grafiken haben englische Beschriftungen, da die Studie Teil eines pharmakologischen Forschungsprojektes ist.

### 3.2.1 Studieneinschluss und -ausschluss

Alle Hunde waren klinisch gesund in der klinischen Untersuchung zum Studieneinschluss. Es konnten keine relevanten abnormalen Befunde in den speziellen Untersuchungen festgestellt werden. Es konnten alle Hunde in die Studie inkludiert werden. Hund 9375 hatte geringgradigen Zahnstein und Hund 9213 zeigte leicht auslösbaren Husten. Hund 7065 hatte eine geschorene linke Wange aufgrund einer zurückliegenden, ausgeheilten Bissverletzung.

Keines der Studientiere wurde aus der Studie ausgeschlossen.

### 3.2.2 Körperliche Belastung auf dem Laufband

Alle Hunde absolvierten das Programm auf dem Laufband ohne Probleme, bis auf einen Hund. Der Hund 9812 sprang mehrfach vom Laufband während der drei Belastungen unter den drei verschiedenen Testsubstanzen, sodass das Laufband neu gestartet werden musste.

### 3.2.3 Behandlung mit den Testsubstanzen

Die Hunde wurden entsprechend dem Regime der Dosierung, das im Abschnitt 3.1.1 beschrieben wurde behandelt. Die Studientiere erhielten Bisoprolol mit einem Dosisbereich von 0,18 bis 0,22 mg/kg (Median 0,2 mg/kg), Atenolol mit einem Dosisbereich von 0,82 bis 1,15 mg/kg (Median 1,02 mg/kg) und Benazepril mit einem Dosisbereich von 0,46 bis 0,56 mg/kg (Median 0,5 mg/kg). Die tatsächlichen Behandlungsdosierungen werden in Anhang 4 gezeigt. Im Falle von Hund 9375 wurde die Behandlungsphase von Atenolol um zwei Tage verlängert, da das 24-Stunden EKG wiederholt werden musste. Der Hund 9213 zeigte unmittelbar nach der Applikation von Bisoprolol am dritten Behandlungstag Erbrechen. Es konnte nicht

festgestellt werden, wie viel der Testsubstanz erbrochen wurde und wie viel tatsächlich aufgenommen wurde, weshalb nicht nachdosiert wurde.

### 3.2.4 Klinischer Ablauf

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Auswertung der Werte aus den klinischen Untersuchungen beschrieben.

#### 3.2.4.1 Tägliche Beobachtungen

Während der täglichen Beobachtungen wurden geringe Auffälligkeiten gefunden. Die Hunde 9059, 7065 und 9746 nahmen einige Male nicht ihre komplette Futterration auf. Breiiger Kot wurde bei den Hunden 9746, 9213, 6285, 7065 und 4596 an einzelnen Tagen festgestellt. Die Hunde 4596, 9812, und 9375 zeigten vereinzelt Erbrechen. Husten trat bei Hund 9746 ein einziges Mal auf.

Der Hund 6285 hatte blutigen, schleimigen Kot an einem Tag (13. März 2010). Die klinische Untersuchung ergab keine auffälligen Befunde. Die Kotkonsistenz war am nächsten Tag wieder unauffällig. Eine Ursache für den blutigen Kot konnte nicht festgestellt werden.

#### 3.2.4.2 Körpergewichte

Die Schwankungen der Körpergewichte bewegten sich innerhalb enger Grenzen (Abbildung 8, Tabelle 5).

Abbildung 8 Entwicklung der Körpergewichte

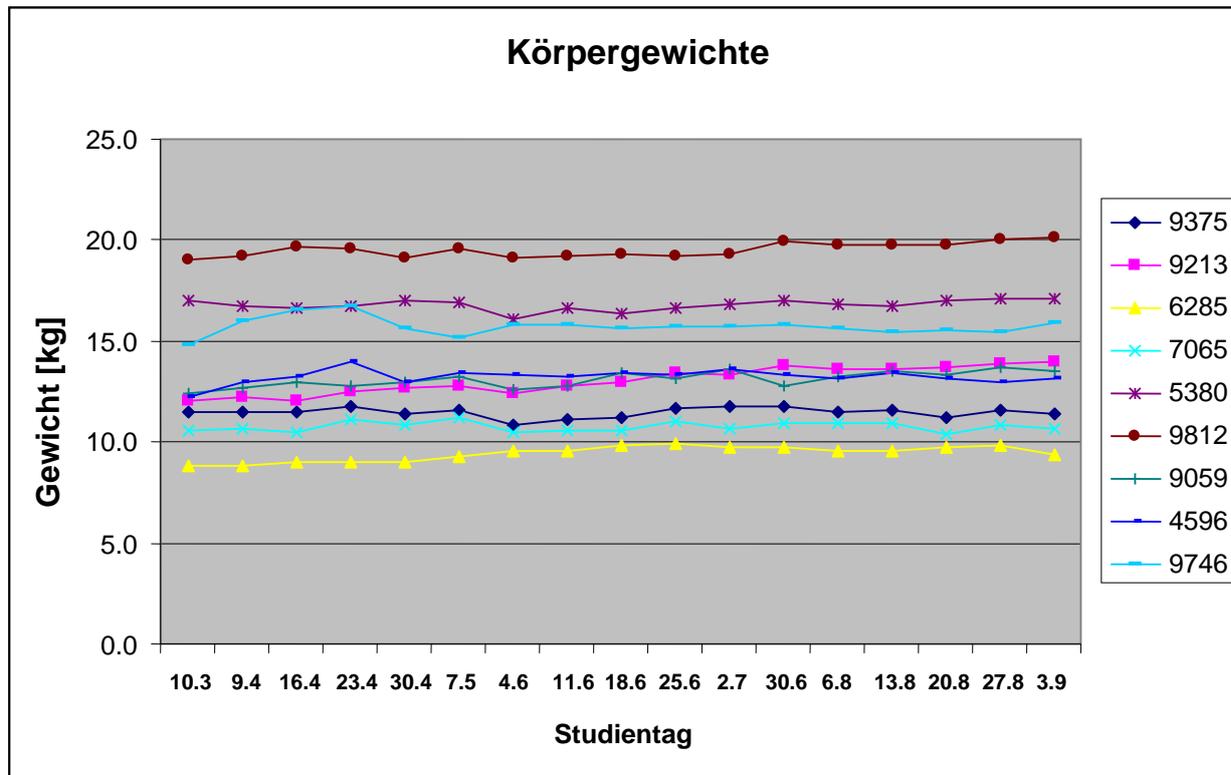


Tabelle 5 Körpergewichte (Zusammenfassung)

Hund	Studien- beginn	Studien- ende	Median	Minimum	Maximum
9375	11,5	11,4	11,5	10,8	11,8
9213	12,0	14,0	13,0	12,0	14,0
6285	8,8	9,4	9,4	8,8	9,9
7065	10,6	10,7	10,8	10,4	11,2
5380	17,0	17,1	16,8	16,1	17,1
9812	19,0	20,1	19,5	19,0	20,1
9059	12,4	13,5	13,1	12,4	13,7
4596	12,2	13,1	13,2	12,2	14,0
9746	14,8	15,9	15,7	14,8	16,7

### 3.2.4.3 Verträglichkeit der eingesetzten Testsubstanzen

Alle Behandlungen wurden von allen Studientieren gut vertragen. Es gab keine klinischen Anzeichen, die auf eine Unverträglichkeit einer Testsubstanz hingedeutet hätten.

### 3.2.4.4 Klinische Untersuchung

Während der Einschlussuntersuchungen und den klinischen Untersuchungen am jeweils zehnten Behandlungstag der Behandlungsperioden konnten keine klinisch relevanten Auffälligkeiten erhoben werden. Der Hund 9375 hatte geringgradigen Zahnstein von Beginn der Studie an. Bei Hund 9213 konnte während der ganzen Studie Husten bei leichtem Druck auf die Trachea ausgelöst werden. Der Hund 7065 hatte ein geschorenes Gesicht zu Beginn der Studie aufgrund einer Bisswunde, die der Hund vor Studienbeginn erlitten hatte. Bei dem Hund 9059 wurde am 30. Juni 2010 eine haarlose Stelle an der linken Hintergliedmaße festgestellt. Dabei handelte es sich um eine Liegeschwiele. Der Hund 4596 hatte gerötete, kahle Hautstellen an seinen Hintergliedmaßen am 6. Mai 2010. Später während der Studie (am 4. Juni 2010) zeigte er Juckreiz. Die klinische Untersuchung zeigte gerötete Haut und schuppige, purulente Stellen an der linken Seite des Rückens. Ein Hautgeschabsel wurde untersucht und ergab degenerierte neutrophile Granulozyten und Bakterien. Die Diagnose einer Pyotraumatischen Dermatitis („Hot Spot“) und einer Pyodermie konnte gestellt werden. Es wurde entschieden den Hund mit einem Antibiotikum (Cefalexin, zweimal täglich, 300 mg seit dem 4. Juni 2010 bis zum 4. Juli 2010), mit einem Antihistaminikum (zweimal täglich, Histacalmine<sup>®</sup>, 0,7 mg Chlorphéniramine und 20,9 mg Hydroxyzine, bis zum Ende der Studie) und einer hypoallergenen Diät bis auf weiteres zu behandeln. Der Hund wurde initial einmal täglich mit einem Ethyl-Laktat Shampoo gebadet über sechs Tage, anschließend zweimal wöchentlich. Ab dem 5. Juli 2010 wurde ein Shampoo mit kolloidalen Weizenextrakten und Glycerin (Allercalm<sup>®</sup>) eingesetzt. Die Therapie mit dem Antibiotikum und dem Antihistaminikum wurde während der Behandlung und Untersuchungen mit Benazepril durchgeführt. Während der Behandlung und Untersuchungen mit Atenolol wurde das Antihistaminikum gegeben.

Unter der Therapie besserten sich die Symptome zügig und während der folgenden klinischen Untersuchung konnte der Heilungsprozess festgestellt werden. Die letzte Testsubstanz, die vor Auftreten der Symptome gegeben wurde, war Bisoprolol 24 Tage zuvor. Ein Zusammenhang zwischen der Verabreichung von Bisoprolol und

den Symptomen wurde ausgeschlossen. Als Ursache für die Entwicklung der beschriebenen Symptome erschien eine Allergie hochwahrscheinlich.

#### 3.2.4.5 Hämatologie und klinisch – chemische Blutuntersuchung

Die hämatologischen und klinisch – chemischen Blutuntersuchungen während der Einschlussuntersuchung und am zehnten Tag jeder Behandlungsperiode ergaben keine klinisch relevanten Abweichungen. Die Hunde 6285, 7065, 9059 und 4596 hatten intermittierend Kreatininwerte knapp unterhalb des Referenzbereiches des Labors.

Der Hund 7056 hatte geringgradig erhöhte Werte der Erythrozytenzahl und des Hämatokrits beinahe während der gesamten Studie (maximal etwa acht Prozent über dem oberen Referenzbereich des Labors).

Der Hund 9059 hatte eine niedrige Leukozytenzahl während der Untersuchung zur Ermittlung der Basiswerte. Der Wert war geringgradig erniedrigt ( $5,4 \times 10^9 / l$  bei einem unteren Referenzbereich von  $5,5 \times 10^9 / l$ ). Der gleiche Hund hatte einen erhöhten Wert der Alanin – Aminotransferase (etwa fünffache Erhöhung des oberen Referenzbereiches) während der Untersuchung unter der Behandlung mit Atenolol.

Der Hund 6285 hatte erniedrigte Werte des Gesamteiweißes während der Untersuchung zur Ermittlung der Basiswerte und während der Behandlungsphase mit Bisoprolol.

Der Hund 9375 zeigte ebenfalls einen geringgradig erniedrigten Gesamtprotein Wert während der Untersuchung zur Ermittlung der Basiswerte.

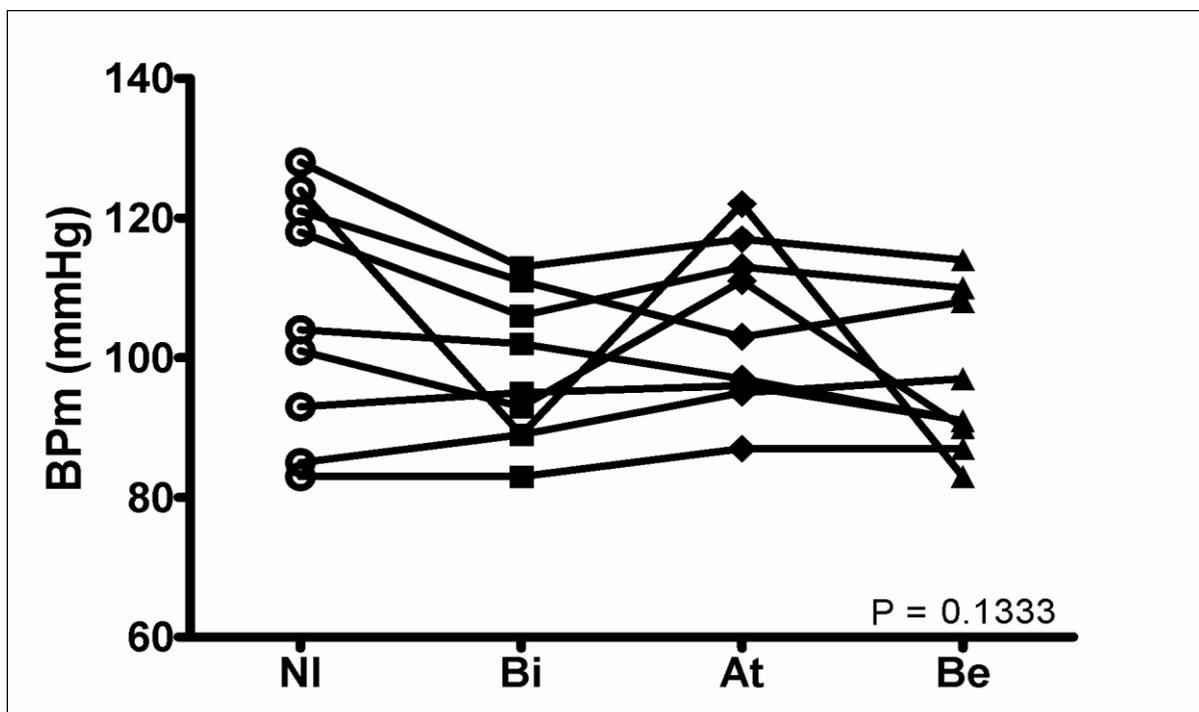
Die individuellen Ergebnisse der Hämatologie und der klinisch – chemischen Untersuchungen sind in Anhang 5 aufgelistet.

### 3.2.4.6 Blutdruckmessung

Die Blutdruckmessungen zeigten einen generellen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen in zwei Fällen, aber nur in einem Fall konnte eine relevante Differenz zwischen einzelnen Behandlungsgruppen detektiert werden.

Der mittlere Blutdruck (BPm, Abbildung 9) zeigte keinen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen ( $P = 0,1333$ , Friedman Test).

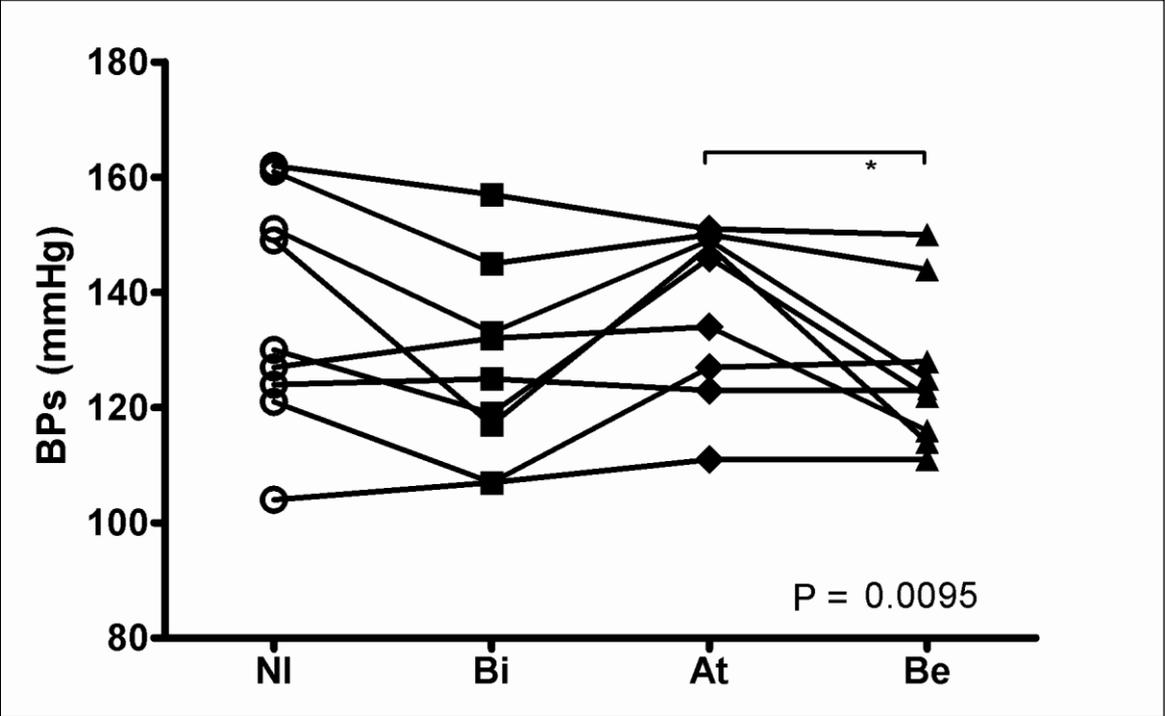
Abbildung 9 Mittlerer Blutdruck



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die Analyse der Werte des systolischen Blutdruckes (BPs, Abbildung 10) zeigte einen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen ( $P = 0,0095$ , One way ANOVA). Der folgende paarweise Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen zeigte einen relevanten Unterschied zwischen der Behandlung mit Benazepril (niedrigerer Wert des systolischen Blutdruckes) und Atenolol.

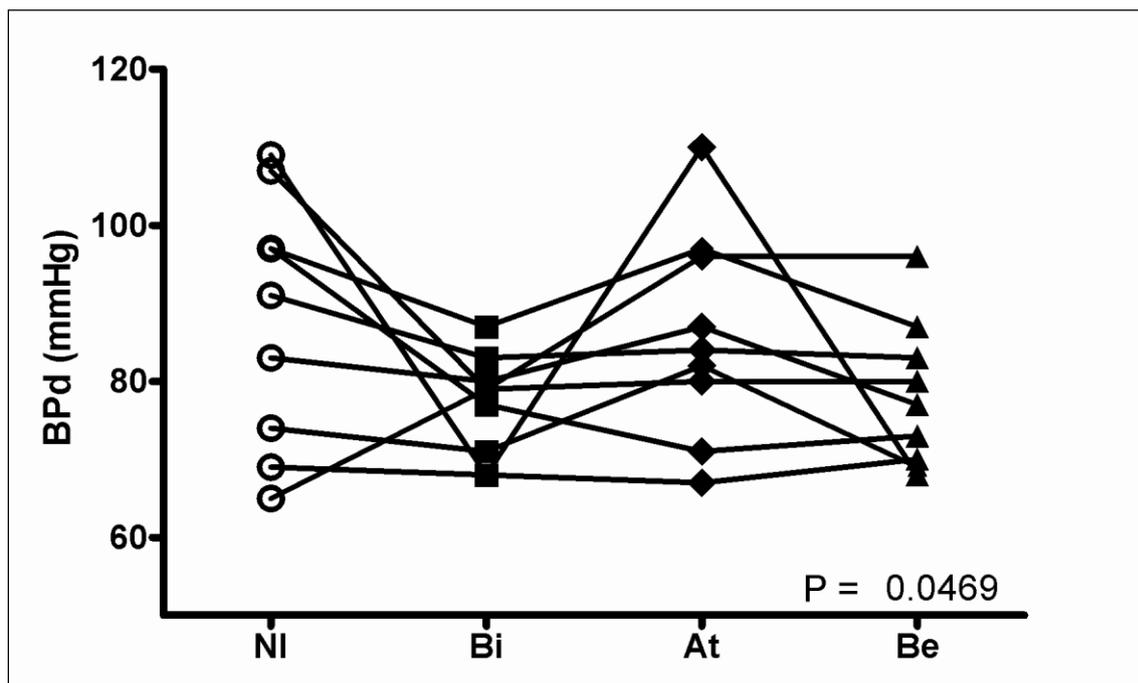
Abbildung 10 Systolischer Blutdruck



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die Analyse der Werte des diastolischen Blutdruckes (BPd, Abbildung 11) zeigte einen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen ( $P = 0,0469$ , One way ANOVA) aber es konnte kein Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen im nachfolgenden paarweisen Vergleich gefunden werden.

Abbildung 11 Diastolischer Blutdruck



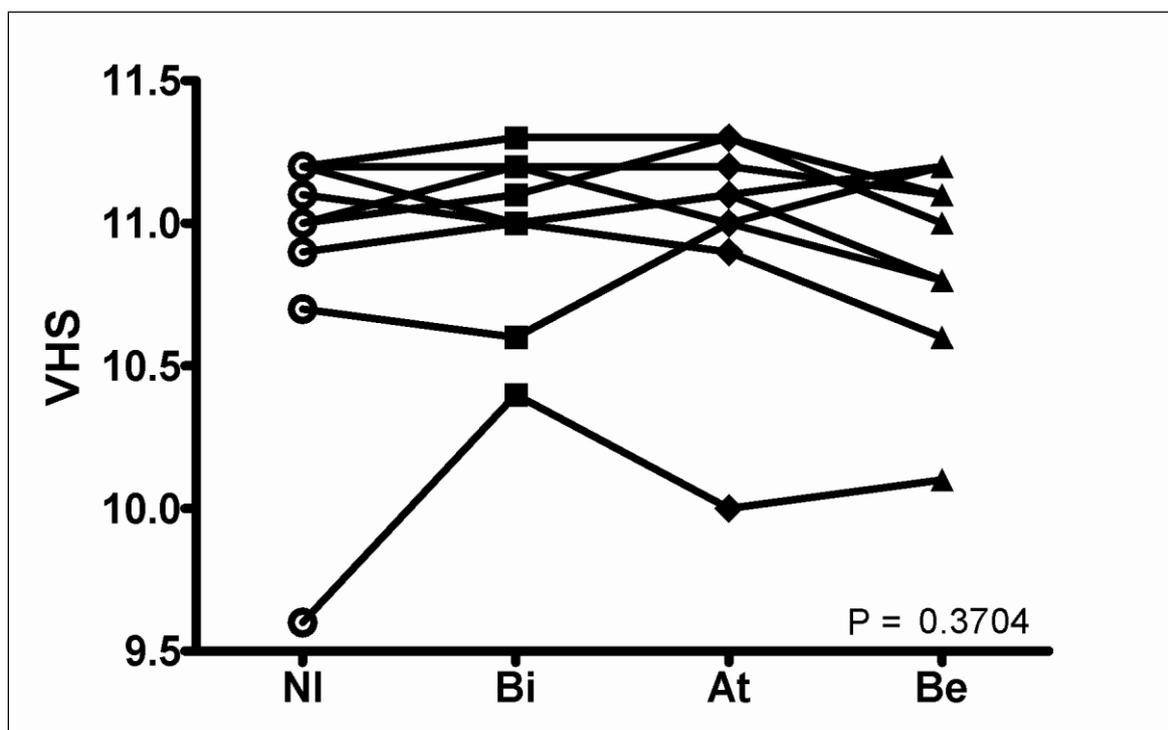
NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die individuellen Ergebnisse der Blutdruckmessungen sind in Anhang 6 aufgelistet.

### 3.2.4.7 Radiographie des Thorax

Die Röntgenaufnahmen des Thorax wurden in allen Fällen als unauffällig bewertet. Manche Röntgenbilder zeigten eine geringgradige interstitielle Lungenzeichnung. Die statistische Analyse der Vertebral heart size (VHS, Abbildung 12) ergab keine Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen ( $P = 0,3704$ , Friedman Test). Mit Ausnahme eines marginal erniedrigten Wertes von 9,6 bei Hund 6285 während der Einschlussuntersuchung lagen alle VHS Werte dieser Studie innerhalb des rassespezifischen Referenzintervall (9,7-11,3; Kraetschmer et al., 2008).

Abbildung 12 Vertebral heart size



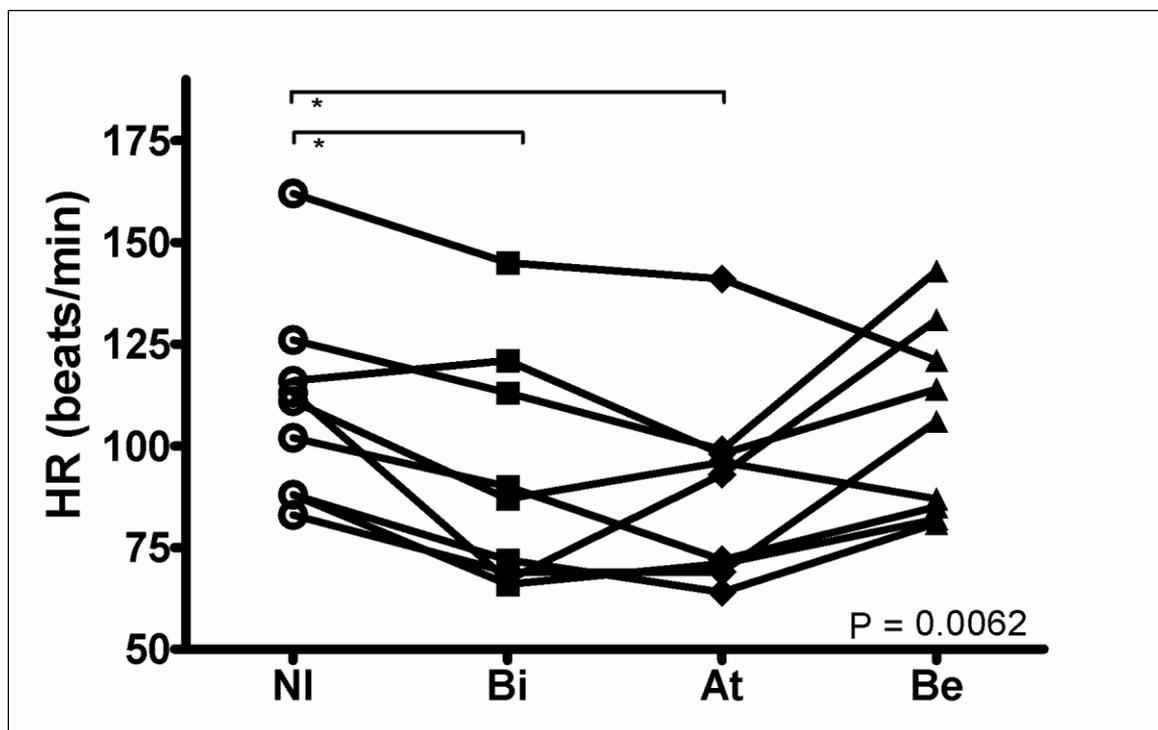
NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die individuellen Ergebnisse der Interpretation der Röntgenaufnahmen des Thorax sind in Anhang 7 aufgelistet.

### 3.2.4.8 Elektrokardiogramm

Die Ergebnisse des Elektrokardiogramms ergaben unterschiedliche Effekte zwischen den Behandlungsgruppen. Ein pauschaler Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen konnte für die mittlere Herzfrequenz (HR, Abbildung 13,  $P = 0,0062$ , One way ANOVA) gefunden werden. Der Vergleich der einzelnen Behandlungsgruppen ergab niedrigere Werte unter der Behandlung mit beiden Betablockern (Atenolol oder Bisoprolol) verglichen mit den Einschlussuntersuchungen.

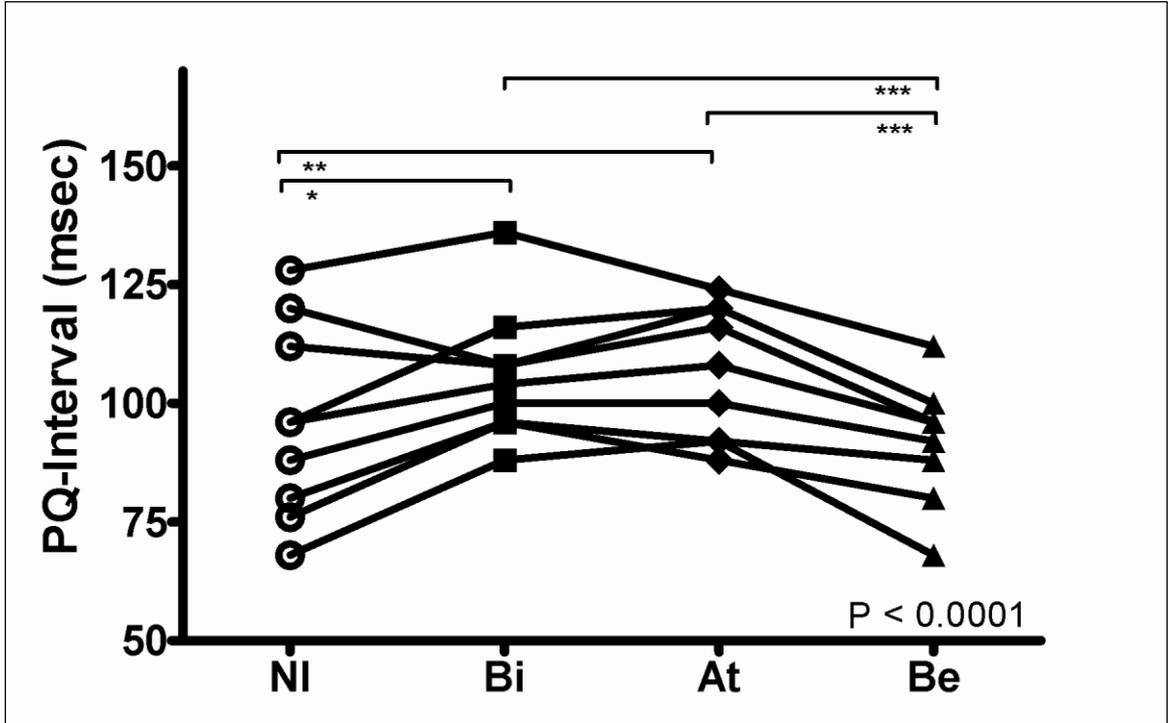
Abbildung 13 Mittlere Herzfrequenz



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Ein pauschaler Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen konnte ebenfalls für das PQ - Intervall (Abbildung 14) gefunden werden ( $P < 0,0001$ , One way ANOVA). Der Vergleich der einzelnen Behandlungsgruppen zeigte relevante Unterschiede zwischen der Behandlung mit beiden Betablockern (Bisoprolol oder Atenolol, längere PQ - Intervalle) und der Behandlung mit Benazepril und ohne Testsubstanz.

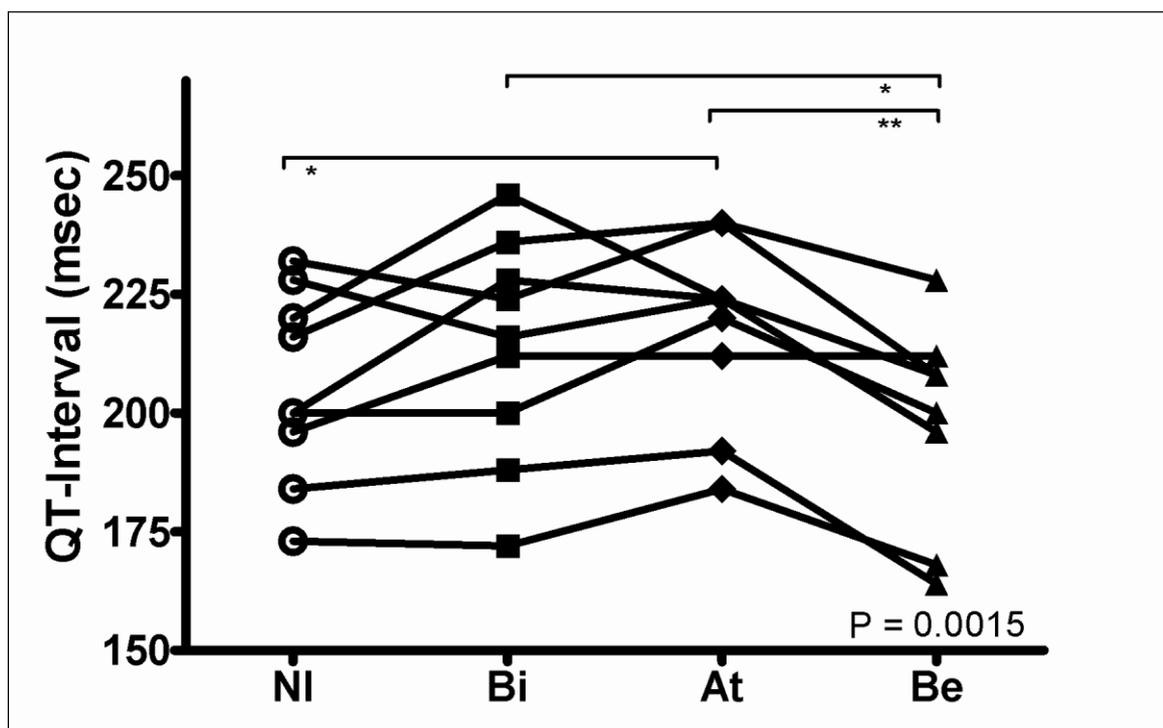
Abbildung 14 PQ - Intervall



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die Analyse der Werte des QT - Intervalls (Abbildung 15) zeigte einen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen ( $P = 0,0015$ , One way ANOVA). Der Vergleich der einzelnen Behandlungsgruppen ergab einen relevanten Unterschied zwischen der Behandlung mit Atenolol (längeres QT - Intervall) verglichen mit der Einschlussuntersuchung und der Behandlung mit Benazepril. Ein längeres QT – Intervall konnte ebenfalls mit der Behandlung mit Bisoprolol verglichen mit der Behandlung mit Benazepril gefunden werden.

Abbildung 15 QT - Intervall



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

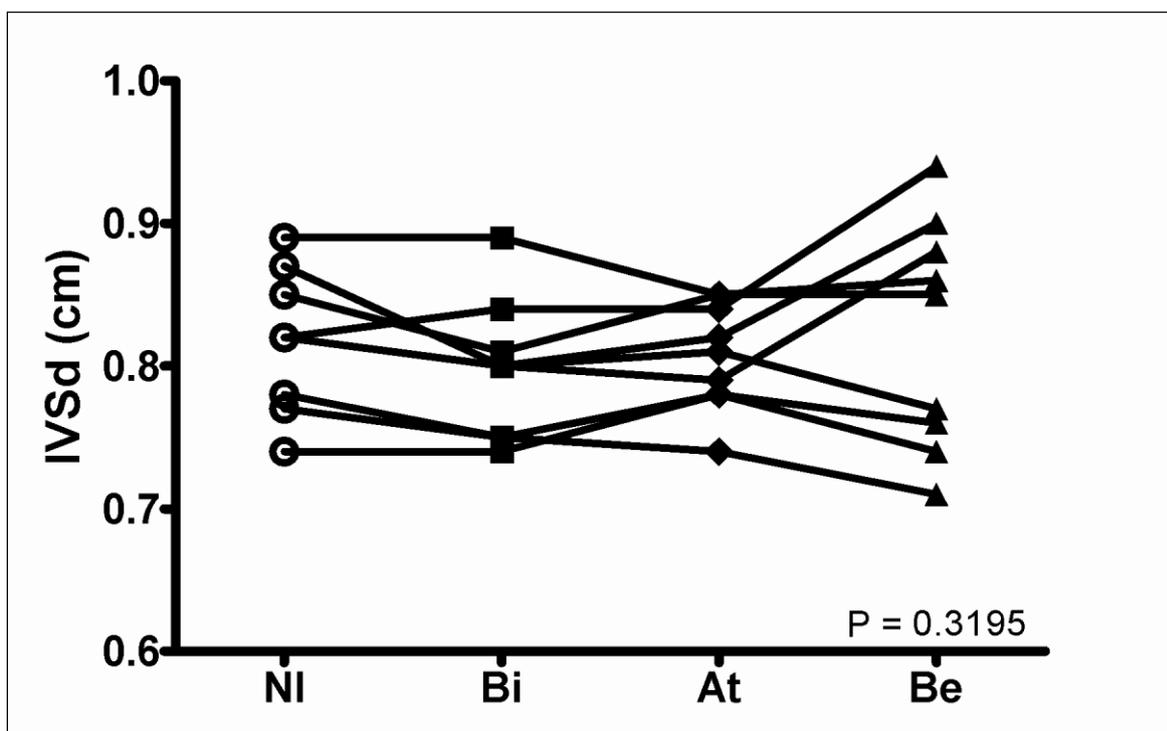
Die individuellen Ergebnisse der Messungen des Elektrokardiogramms sind in Anhang 8 aufgelistet.

### 3.2.4.9 Echokardiographie

Die echokardiographische Untersuchung ergab einige deutliche Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen.

Es konnte kein pauschaler Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen für die diastolische interventrikuläre Septumdicke (IVSd, Abbildung 16) gefunden werden (P = 0,3195, One way ANOVA).

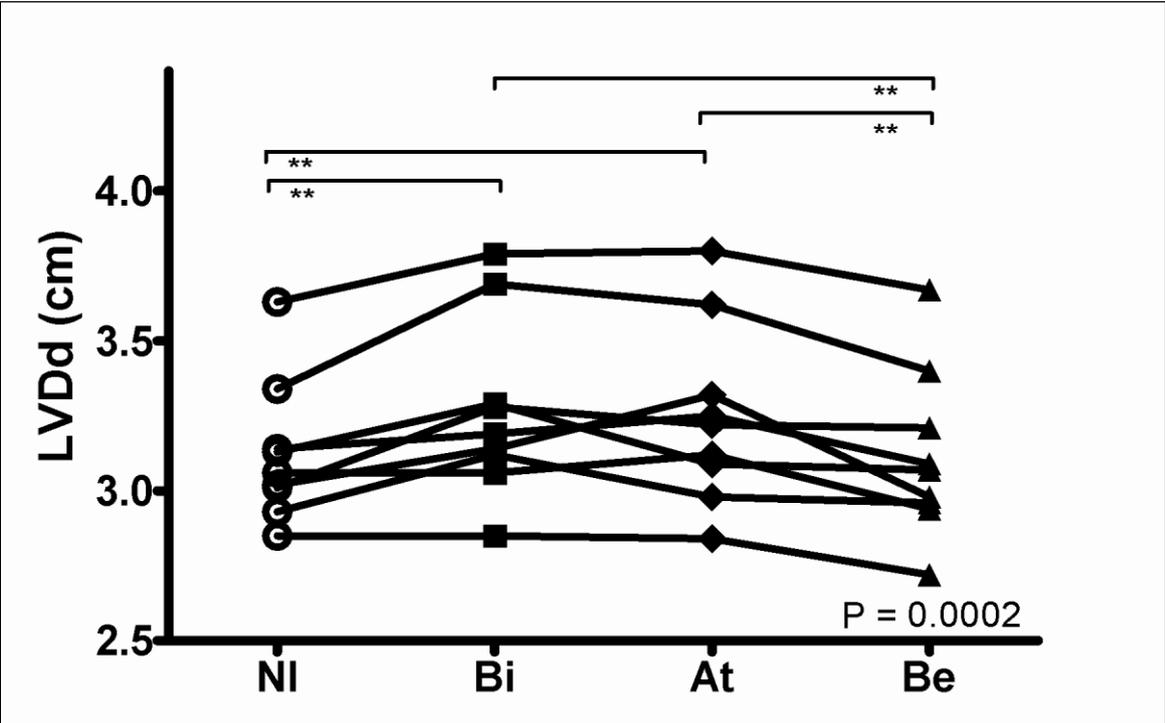
Abbildung 16 Interventrikulärer Septumdurchmesser, diastolisch (IVSd)



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die Analyse des diastolischen linksventrikulären Durchmessers (LVDd) zeigte einen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen (P = 0,0002, One way ANOVA). Der Werte waren erheblich höher während der Behandlung mit beiden Betablockern (Atenolol oder Bisoprolol) als während der Einschlussuntersuchung oder während der Behandlung mit Benazepril (Abbildung 17).

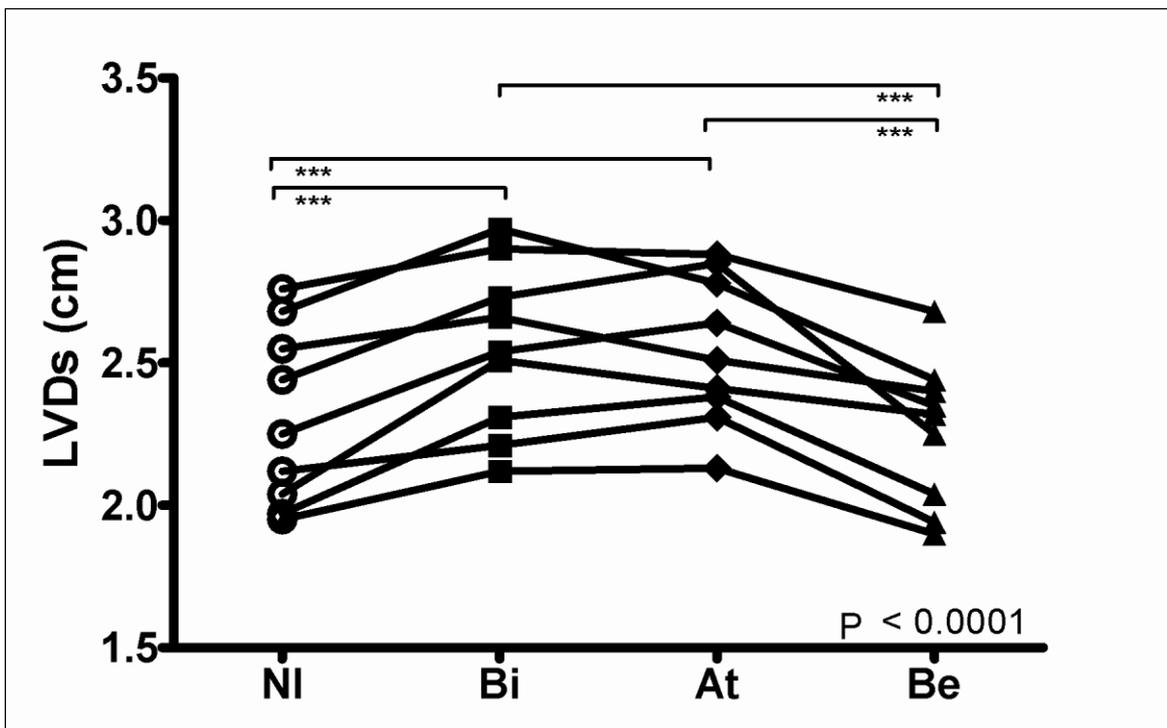
Abbildung 17 Linksventrikulärer Durchmesser, diastolisch (LVDd)



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Ein pauschaler Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen konnte ebenfalls für den systolischen linksventrikulären Durchmesser (LVDs, Abbildung 18) gefunden werden ( $P < 0,0001$ , One way ANOVA). Die Werte waren erheblich höher während der Behandlung mit beiden Betablockern (Atenolol oder Bisoprolol) als während der Einschlussuntersuchung oder während der Behandlung mit Benazepril.

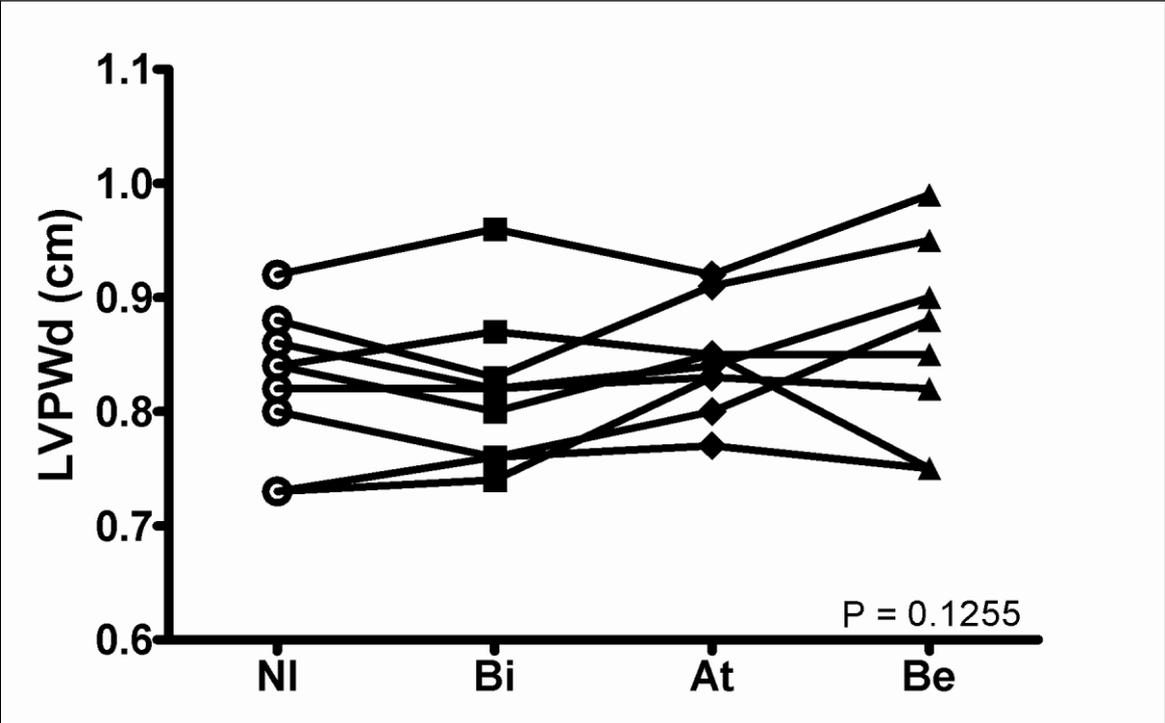
Abbildung 18      Linksventrikulärer Durchmesser, systolisch (LVDs)



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die Analyse der Werte des diastolischen linksventrikulären Wanddurchmessers (LVPWd, Abbildung 19) zeigte keinen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen (P = 0,1255, One way ANOVA).

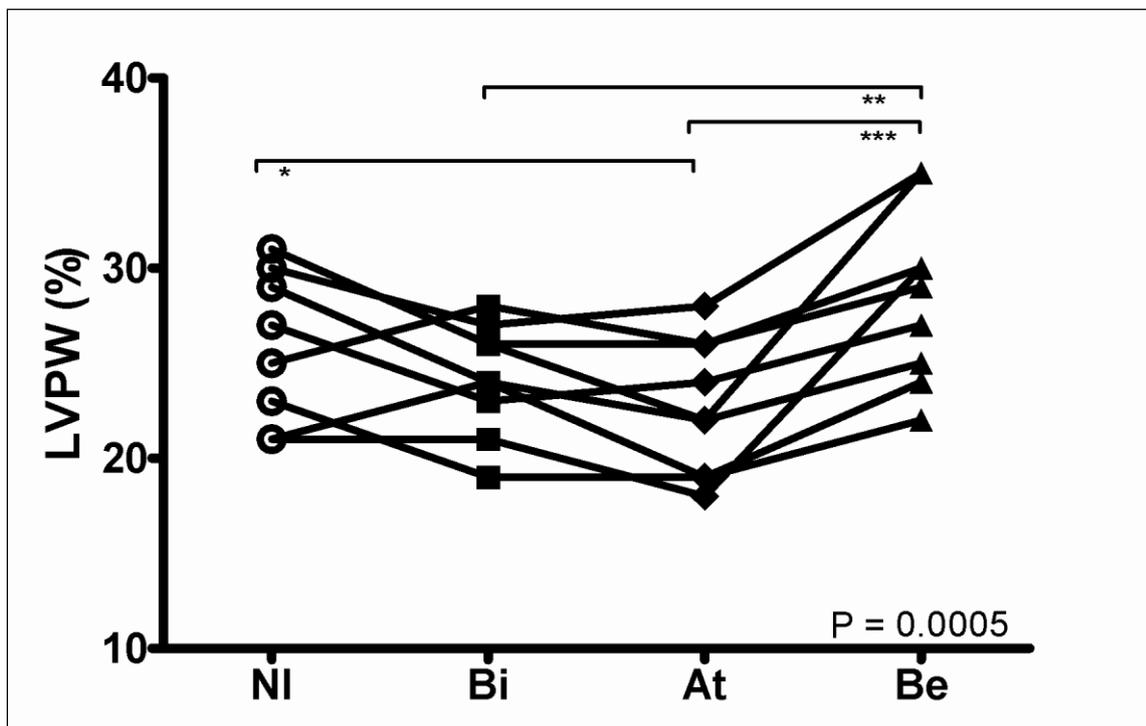
Abbildung 19      Linksventrikulärer Wanddurchmesser, diastolisch (LVPWd)



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die Analyse der Werte der prozentualen Verdickung der Wand (LVPW%, Abbildung 20) zeigte einen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen (P = 0,0005, One way ANOVA). Die Werte waren höher während der Behandlung mit Benazepril verglichen mit der Behandlung mit Atenolol oder Bisoprolol. Während der Einschlussuntersuchungen war die prozentuale Verdickung der Wand größer als unter der Behandlung mit Atenolol.

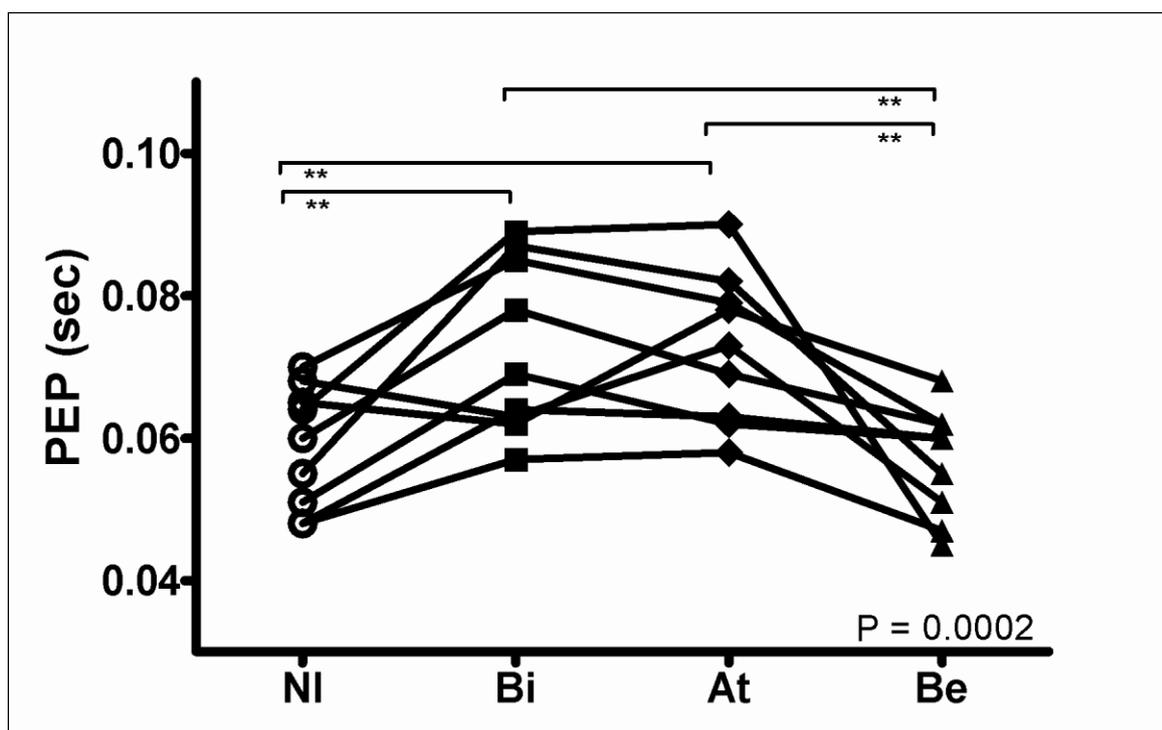
**Abbildung 20**      **Prozentuale Verdickung der linken Ventrikelwand (LVPW%)**



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die Analyse der Pre ejection period (PEP, Abbildung 21) ergab einen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen ( $P = 0,0002$ , One way ANOVA). Die Werte waren länger während der Behandlung mit beiden Betablockern (Bisoprolol oder Atenolol) verglichen mit der Einschlussuntersuchung oder der Behandlung mit Benazepril.

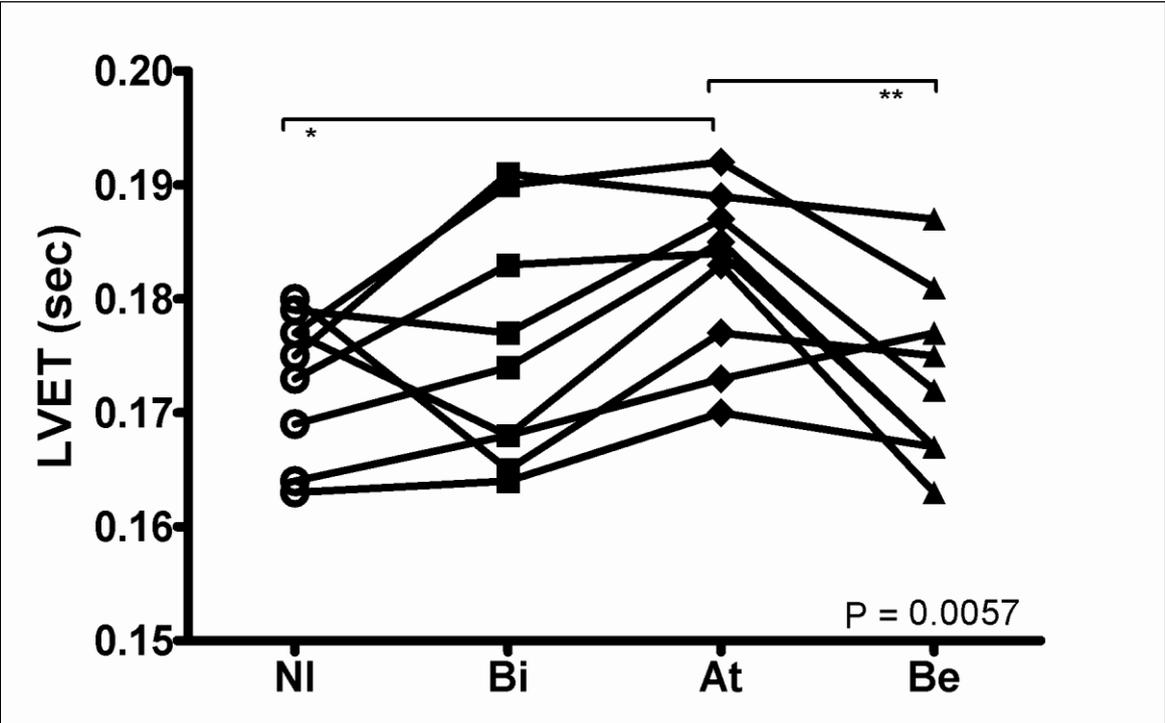
Abbildung 21 Pre ejection period (PEP)



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die Analyse der Left ventricular ejection time (LVET, Abbildung 22) zeigte einen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen (P = 0,0057, One way ANOVA). Der Vergleich zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen ergab erheblich längere Werte unter der Behandlung mit Atenolol verglichen mit der Einschlussuntersuchung oder der Behandlung mit Benazepril.

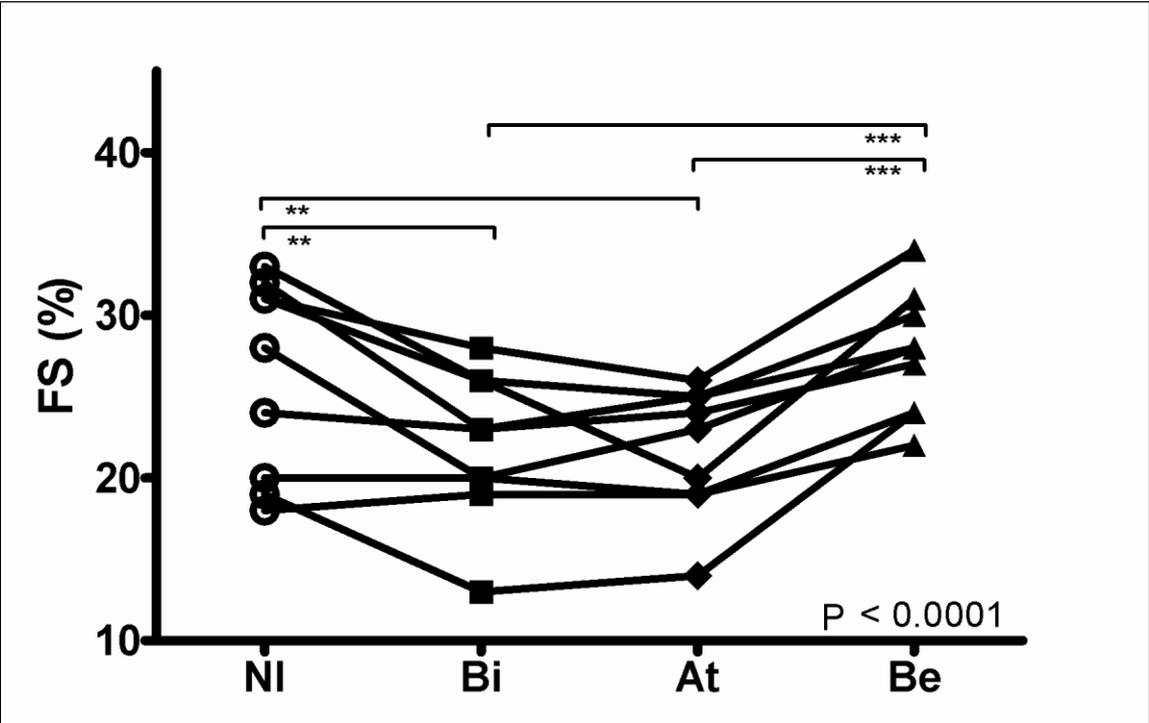
Abbildung 22 Left ventricular ejection time (LVET)



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die Analyse der Fractional shortening (FS, Abbildung 23) ergab einen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen ( $P < 0,0001$ , One way ANOVA). Die Werte waren erheblich niedriger unter der Behandlung mit beiden Betablockern (Bisoprolol oder Atenolol) verglichen mit der Einschlussuntersuchung oder der Behandlung mit Benazepril.

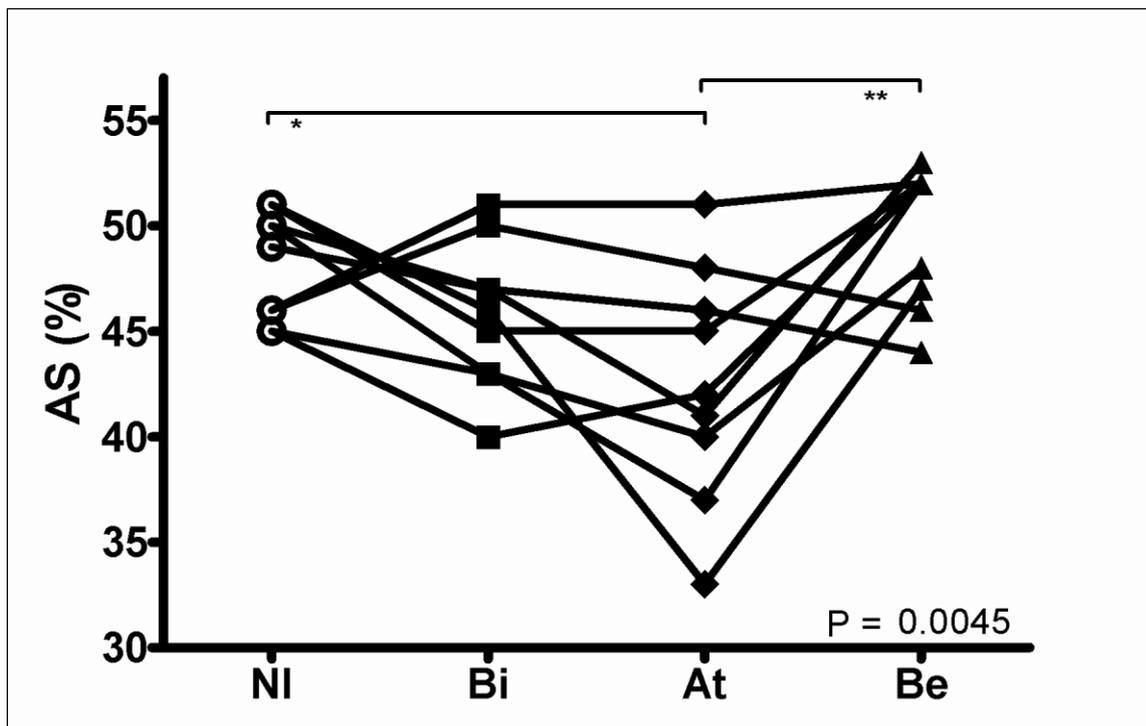
Abbildung 23 Fractional shortening (FS)



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die Analyse der Kreisflächenverkürzung (AS, Abbildung 24) zeigte einen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen ( $P = 0,0045$ , One way ANOVA). Der Vergleich der einzelnen Behandlungsgruppen zeigte relevante Unterschiede zwischen der Behandlung mit Atenolol und der Einschlussuntersuchung oder der Behandlung mit Benazepril.

Abbildung 24 Kreisflächenverkürzung (AS)



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

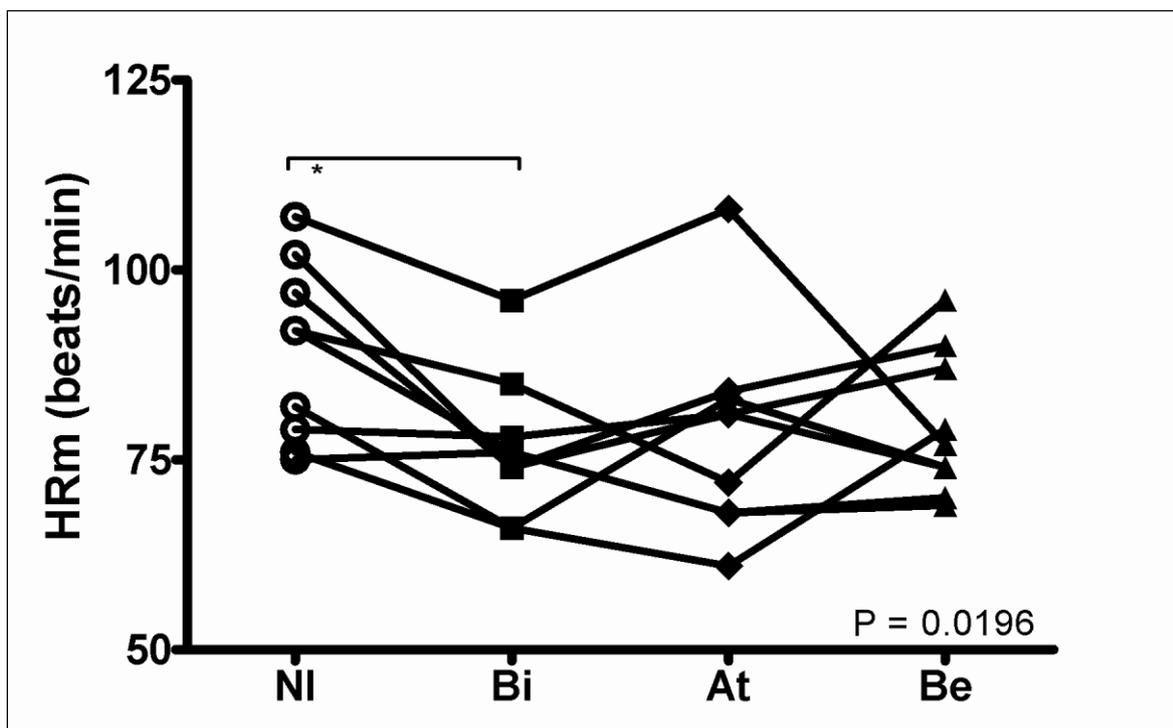
Die individuellen Ergebnisse der Messungen der Echokardiographie sind in Anhang 9 aufgelistet.

### 3.2.4.10 24-Stunden-Elektrokardiogramm

Die Aufzeichnung des 24-Stunden-Elektrokardiogramms wurde in einigen Fällen durch technische Probleme unterbrochen, sodass das EKG aus einzelnen Teilstücken bestand (Hund 7065 unter Atenolol, Hund 9059 unter Bisoprolol und Hund 9812 unter Atenolol). Bei Hund 7065 unter Bisoprolol stoppte die Aufzeichnung nach 23 Stunden und 12 Minuten aufgrund technischer Probleme.

Die Analyse der mittleren Herzfrequenz, die aus dem 24-Stunden EKG gewonnen wurde (HRm, Abbildung 25) ergab einen pauschalen Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen ( $P = 0,0196$ , One way ANOVA). Der Vergleich der einzelnen Behandlungsgruppen zeigte eine erheblich niedrigere Herzfrequenz während der Behandlung mit Bisoprolol verglichen mit der Einschlussuntersuchung.

Abbildung 25 Mittlere Herzfrequenz (HRm)



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die individuellen Ergebnisse des 24-Stunden-Elektrokardiogramms sind in Anhang 10 aufgelistet.

Abnorme Beobachtungen während des 24-Stunden-Elektrokardiogramms waren selten. Einzelne ventrikuläre Extrasystolen wurden bei Hund 9213 unter Bisoprolol, bei Hund 5380 während der Einschlussuntersuchung und unter Benazepril, bei Hund 9059 unter Atenolol, bei Hund 4596 unter Atenolol und bei Hund 9746 unter Bisoprolol gefunden. Eine supraventrikuläre Extrasystole wurde bei Hund 5380 unter Benazepril gefunden. Junktionale Ersatzsystemen wurden regelmäßig bei Hund 4596 unter Atenolol und bei Hund 9746 während der Einschlussuntersuchung und unter Bisoprolol gefunden. Hund 9213 zeigte 734 junktionale Ersatzsystemen während der Einschlussuntersuchung und 1473 unter Benazepril, dagegen nur 2 bzw. gar keine

unter der Therapie mit Bisoprolol bzw. Atenolol. Dieser Hund hatte wiederholt einen Atrioventrikulären Block zweiten Grades unter Benazepril. Alle diese Befunde wurden als klinisch nicht relevant angesehen.

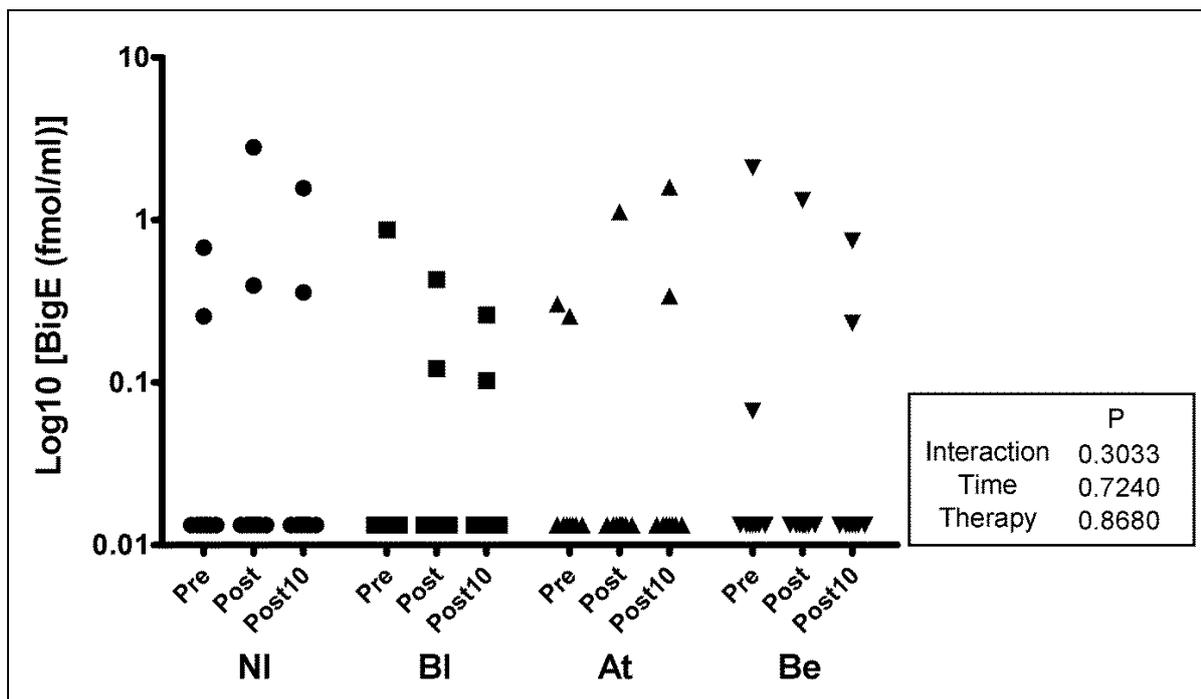
### 3.2.4.11 Endogene Substanzen

Es wurde keine statistische Analyse von Endothelin-1, big Endothelin-1 oder Digoxin aufgrund zu weniger Werte oberhalb des Detektionslimits durchgeführt.

Die Werte der **Endothelin-1** Messungen lagen unterhalb des Detektionslimits bei allen Tieren und allen Messzeitpunkten.

Die logarithmierten Werte der **big Endothelin-1** Messungen (Abbildung 26) lagen bei 7 von 9 Hunden unterhalb des Detektionslimits während jeder Behandlungsphase zu allen Messzeitpunkten. Bei den beiden Hunden, bei denen Werte gemessen werden konnten, wurde ein leichter Anstieg der big Endothelin-1 Werte direkt nach der körperlichen Belastung während der Einschlussuntersuchung gefunden. Die Ergebnisse während der verschiedenen Behandlungsperioden zeigten eine große Variabilität vor und nach körperlicher Belastung.

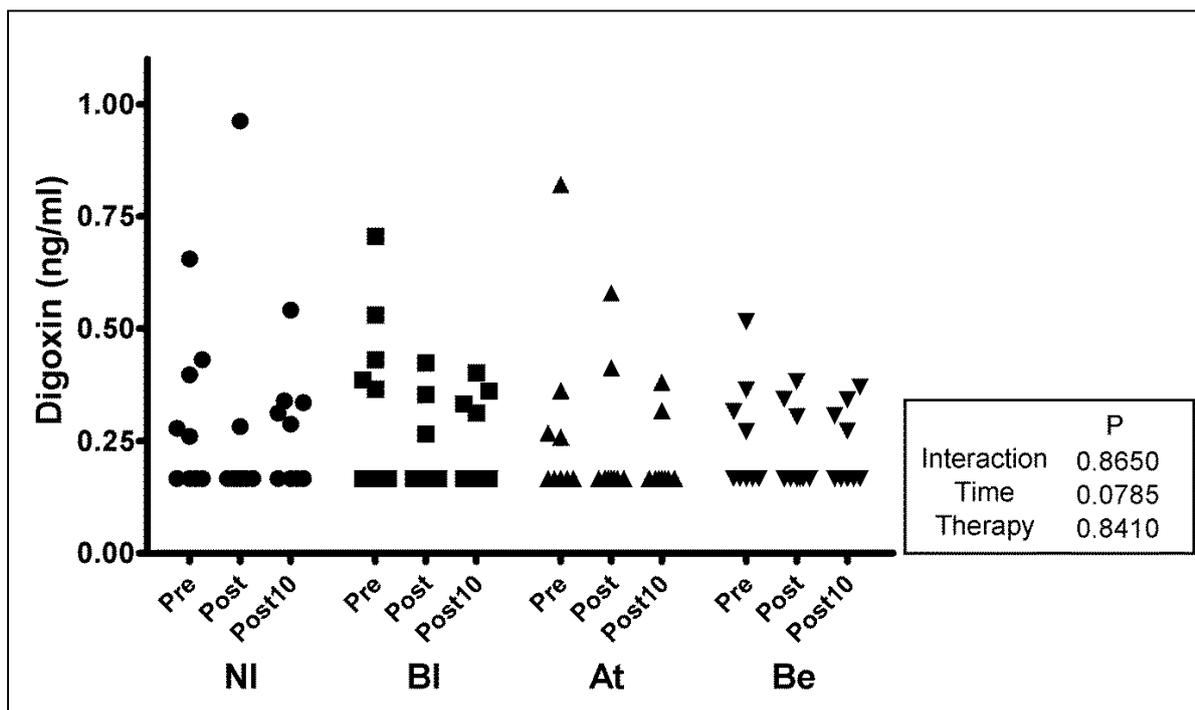
Abbildung 26 big Endothelin-1 Plasmakonzentrationen



NI: ohne Testsubstanz; BI: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die **Digoxin** Werte waren nur in wenigen Fällen detektierbar. Es konnte kein Trend während der Einschlussuntersuchungen oder während der Behandlungsperioden gefunden werden.

Abbildung 27 Digoxin Plasmakonzentrationen

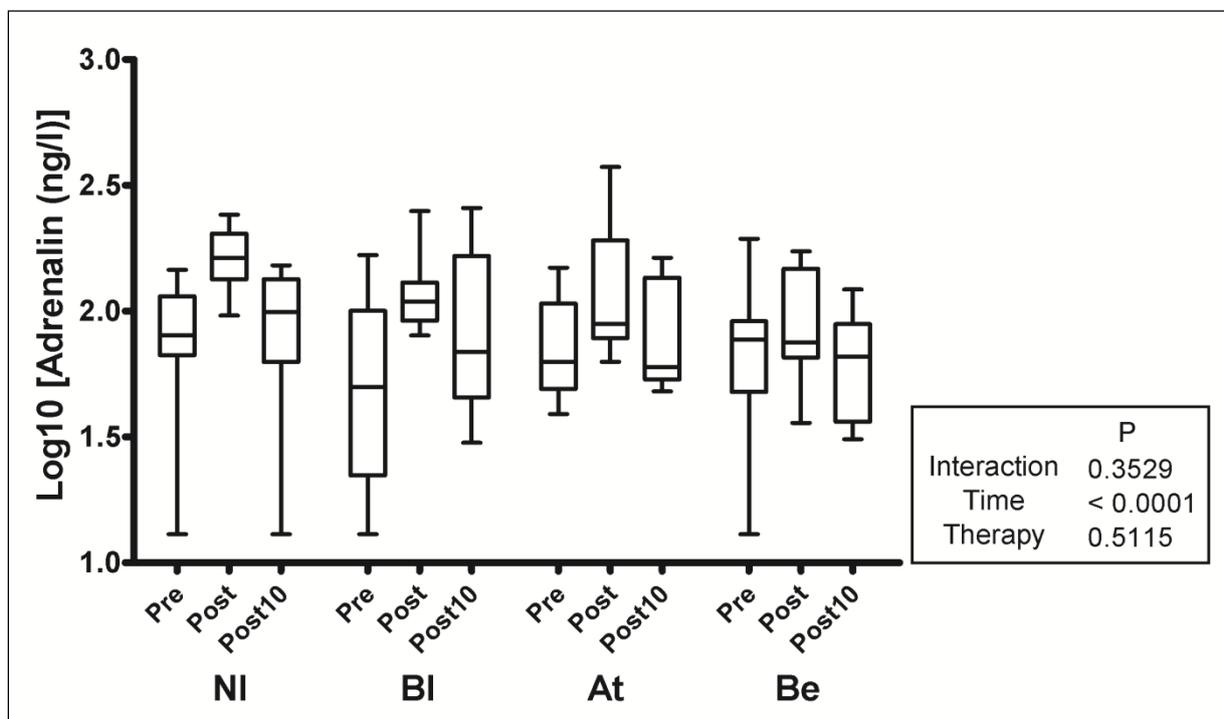


NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die individuellen Ergebnisse der Messungen von Endothelin-1, big Endothelin-1 und Digoxin sind in Anhang 11 aufgelistet.

Die logarithmierten Werte der Adrenalin Messungen (Abbildung 28) zeigten keine pauschale Interaktion zwischen den Behandlungsgruppen und den Zeitpunkten ( $P = 0,3529$ , Two way ANOVA). Ein Unterschied der Werte zwischen den Zeitpunkten der Blutentnahmen konnte deutlich gezeigt werden ( $P < 0,0001$ , Two way ANOVA). Es gab einen Anstieg unmittelbar nach der körperlichen Belastung gefolgt von einer Normalisierung nach zehn Minuten. Zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen konnte kein Unterschied gefunden werden ( $P = 0,5115$ , Two way ANOVA).

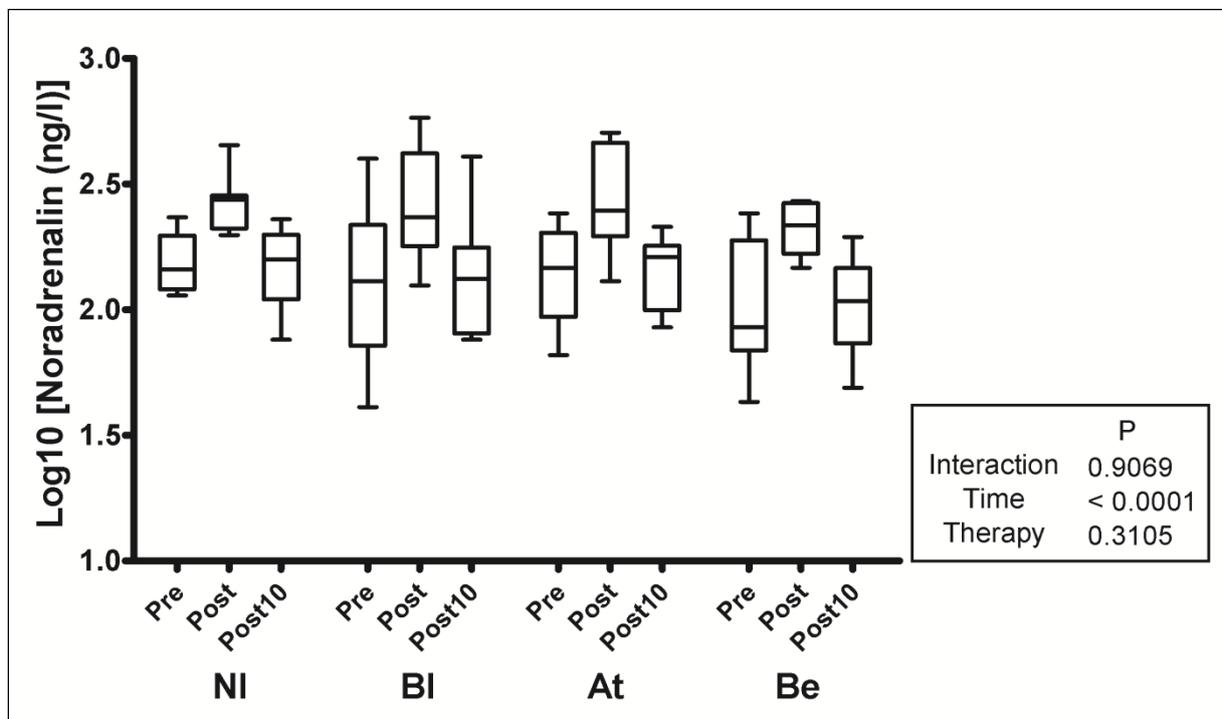
**Abbildung 28 Adrenalin Plasmakonzentrationen**



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die logarithmierten Werte der Noradrenalin Messungen (Abbildung 29) zeigten keine pauschale Interaktion zwischen den Behandlungsgruppen und den Zeitpunkten ( $P = 0,9069$ , Two way ANOVA). Ein Unterschied der Werte zwischen den Zeitpunkten der Blutentnahmen konnte deutlich gezeigt werden ( $P < 0,0001$ , Two way ANOVA). Es gab einen Anstieg unmittelbar nach der körperlichen Belastung gefolgt von einer Normalisierung nach zehn Minuten. Zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen konnte kein Unterschied gefunden werden ( $P = 0,3105$ , Two way ANOVA).

**Abbildung 29** Noradrenalin Plasmakonzentrationen



NI: ohne Testsubstanz; Bi: Bisoprolol; At: Atenolol; Be: Benazepril

Die individuellen Ergebnisse der Messungen von Adrenalin und Noradrenalin sind in Anhang 12 aufgelistet.

## 4 Diskussion

Endothelin befindet sich bereits seit seiner Entdeckung im Fokus der humanmedizinischen Forschung im Bereich der Hypertension (Davenport et al., 1990) und Herzerkrankungen (Galatius-Jensen et al., 1996; Gray und Webb, 1996). Die Rolle von Endothelin bei der Erhaltung des Gefäßtonus ist bekannt (Haynes und Webb, 1998). Beim Menschen ist ein Anstieg durch akute Belastung bereits beschrieben (Maeda et al., 1994). Ein Anstieg von endogenem Ouabain wurde beim Hund unter annähernd identischen Versuchsbedingungen wie in der vorliegenden Studie gezeigt (Bauer et al., 2005), das Verhalten von Endothelin ist bisher nicht untersucht.

### 4.1 Studieneinschluss und –ausschluss

Die Rasse Beagle wurde ausgewählt, da es die meist verwendete Hunderasse im Rahmen der Herzkreislaufforschung ist und diese auch in der Vorgängerstudie (Bauer et al., 2005) genutzt wurde.

Die Befunde der Einschlussuntersuchung (geringgradiger Zahnstein, auslösbarer Husten, geschorene Wange) wurden als nicht relevant für die Studiendurchführung eingestuft und verhinderten somit nicht den Studieneinschluss. Die 734 junktionalen Ersatzsystemen während der Einschlussuntersuchung bei Hund 9213 wurden als nicht pathologisch angesehen und führten dementsprechend nicht zum Studienausschluss. Ersatzsysteme treten bei Bradykardien auf, wenn übergeordnete Zentren, also in der Regel der Sinusknoten langsam (unter 60 Schlägen pro Minute) sind (Tilley, 1992). Da die Ersatzsysteme vor allem nachts in Ruhe auftraten, kann von einer Sinusbradykardie als Ursache ausgegangen werden. Klinische Hinweise auf einen hohen Vagotonus als Ursache für die Sinusbradykardie (Tilley, 1992) wie bei gastrointestinalen oder respiratorischen Erkrankungen lagen nicht vor.

### 4.2 Körperliche Belastung auf dem Laufband

Das Laufen auf dem Laufband wurde von allen Tieren mit einer Ausnahme durchgehend problemlos absolviert. Obwohl Hund 9812 ab dem zweiten Lauf einen gewissen Unwillen zeigte und vom Laufband absprang, sodass es neu gestartet werden musste, wurde die körperliche Belastung anhand der klinischen Anzeichen und der Herzfrequenz als adäquat eingestuft.

#### 4.3 Auswahl und Dosis der Studienmedikamente

Die Wahl der Stoffgruppen ACE-Hemmer und Betablocker ergab sich aus den im Literaturteil angeführten Regulationsmechanismen, zudem wurden diese in der Vorgängerstudie genutzt. Die Prüfung eines zweiten Betablockers (Bisoprolol) neben dem üblichen Atenolol stand vor dem Hintergrund der möglichen Zulassung dieses Wirkstoffes als Tierarzneimittel. Die Zieldosen Benazepril und Atenolol entsprachen den zugelassenen beziehungsweise üblichen Dosen. Die Dosis für Bisoprolol wurde anhand einer Studie in Hunden mit Pacing-induzierter Herzinsuffizienz festgelegt, in der bis zu einer Dosierung von 0,1 mg Bisoprolol pro kg Körpergewicht eine dosisabhängige Senkung der Herzfrequenz erreicht wurde. Höhere Dosierungen führten allerdings nicht zu einer weiteren Herzfrequenzsenkung, sodass von einer weitgehend vollständigen Blockade der  $\beta_1$ -Rezeptoren ausgegangen wurde (Bögel, 2008).

#### 4.4 Behandlung mit den Testsubstanzen

Die Behandlung konnte durchweg problemlos durchgeführt werden. Die applizierten Behandlungsdosen entsprachen den Zieldosen mit geringen Abweichungen, die auf den festgelegten Wirkstoffgehalt der Tabletten (Benazepril) bzw. Kapseln (Atenolol) zurückzuführen waren. Die Verlängerung der Behandlungsdauer mit Atenolol bei Hund 9375 wurde als problemlos und unbedeutend für die Auswertung der Studie gewertet. Die beschriebenen Halbwertszeiten für Atenolol liegen bei fünf bis sechs Stunden (McAinsh und Holmes, 1983), weshalb die großzügig angesetzte Auswaschphase mit 39 Tagen (statt 41 Tagen) lange genug war.

Das Erbrechen von Hund 9213 am dritten Behandlungstag mit Bisoprolol unmittelbar nach Applikation wurde als nicht relevant für die Studie eingestuft, da es zu Beginn der Behandlungsperiode auftrat und es wurde angenommen, dass der Dauerzustand (steady-state) von Bisoprolol an den folgenden Tagen bis zu den Untersuchungstagen und der körperlichen Belastung erreicht wurde. Da das Erbrechen unmittelbar nach Applikation und lediglich einmalig auftrat, wurde es nicht als Reaktion auf das Medikament sondern als Applikations-assoziiert eingestuft.

#### 4.5 Tägliche Beobachtungen

Die Auffälligkeiten der täglichen Beobachtungen (nicht Verzehr der vollständigen Futterration, breiiger Kot, einmaliger Husten, einmalig schleimig, blutiger Kot) traten sehr selten auf. Es waren keine weiteren Symptome festzustellen und die

Veränderungen waren selbstlimitierend. Deshalb wurden sie als unbedeutend gewertet.

#### 4.6 Körpergewichte

Die Veränderungen der Körpergewichte lagen innerhalb physiologischer Schwankungen. Das Körpergewicht ist vor allem von der Futtermittelaufnahme und der körperlichen Aktivität abhängig (German, 2006). Es konnte somit das Körpergewicht als Marker für eine adäquate Futtermittelaufnahme und Bewegung der Tiere angesehen werden. Die Behandlungen und Untersuchungen hatten keinen Einfluss auf das Körpergewicht der Studientiere.

#### 4.7 Verträglichkeit der eingesetzten Testsubstanzen

Alle Behandlungen wurden von den Studientieren gut vertragen. Es konnten keine klinischen Beschwerden beobachtet werden, die in Zusammenhang mit der Behandlung mit den Testsubstanzen zu bringen waren.

Prinzipiell können durch den Einsatz von Betablockern klinische Symptome von Schwäche, Synkopen und Husten ausgelöst werden. Die Symptome sind abhängig von der zugrunde liegenden Erkrankung und von der eingesetzten Dosierung. Beim Menschen mit Angina pectoris oder Hypertension sind Nebenwirkungen selten. Es treten vor allem kalte Extremitäten, Müdigkeit und Durchfall auf (Helen et al., 1979). In einer Untersuchung von Boxer Hunden mit familiären Ventrikulären Arrhythmien konnte unter Therapie mit Atenolol bei einzelnen Hunden vermehrt Synkopen beobachtet werden (Meurs et al., 2002). Bisoprolol wurde bei Hunden mit Pacing-induzierter Herzinsuffizienz klinisch gut vertragen (Bögel, 2008). Bei gesunden Hunden und den gewählten Dosen waren Symptome von Schwäche nicht zu erwarten (Gordon, 2010). Auch durch Angiotensin-converting Enzym Hemmer kann eine Schwächesymptomatik aufgrund einer systemischen Hypotension ausgelöst werden. Dies kommt selten vor und ist bei Patienten mit kardiovaskulärer Grunderkrankung möglich (Bulmer, 2010), bei gesunden Beagle Hunden jedoch nicht zu erwarten.

Husten ist eine Nebenwirkung die bei nicht selektiven Betablockern beschrieben ist, da durch  $\beta_2$ -Rezeptoren eine Bronchokonstriktion vermittelt wird. Von den stark  $\beta_1$ -selektiven Betablockern aus dieser Studie war dies nicht zu erwarten und trat auch nicht auf. Husten wird beim Menschen nach dem Einsatz von ACE-Hemmern beschrieben, verursacht durch die Hemmung des Abbaus des bronchokonstriktorisch

wirkenden Bradykinin (Fox et al., 1996). Dieses Phänomen ist beim Hund nur extrem selten beschrieben. Bei Hunden mit asymptomatischer Mitralklappenerkrankung, die mit Enalapril behandelt wurden, trat Husten statistisch ebenso häufig auf wie in der Placebo Gruppe (Kvart et al., 2002). Auch unter der Therapie mit Benazepril konnte bei Hunden mit erworbener Mitralklappenerkrankung kein vermehrter Husten beobachtet werden (Kitagawa et al., 1997). In der aktuellen Studie ist Husten nicht aufgetreten.

Die Pyodermie bei einem Hund (4596) fiel 24 Tage nach Applikation der letzten Testsubstanz (Bisoprolol) auf. Hautveränderungen sind als Nebenwirkung bisher nicht beschrieben (Bögel, 2008). Die dermatologische Verdachtsdiagnose lautete Allergie und wurde durch das Ansprechen auf die Therapie bestätigt. Die Art der Allergie wurde nicht genauer bestimmt, da eine Unterscheidung zwischen einer Futtermittelallergie und einer Atopie langwierig ist (Favrot et al., 2010). Das Vorkommen von atopischen Dermatitiden ist beim Beagle bekannt (Jaeger et al., 2010). Die Behandlung der sekundären bakteriellen Infektion mit einem Antibiotikum und Waschungen mit den Shampoos entsprechend beschriebener dermatologischer Leitlinien (Olivry et al., 2010) wurde durchgeführt. Um eine allergische Reaktion auf im Futter enthaltene Stoffe zu behandeln, wurde eine hydrolysierte Diät begonnen und um die klinischen Symptome des Juckreiz zu mildern und einen Rückfall zu vermeiden wurde das Antihistaminikum eingesetzt. Bei beiden Wirkstoffen des Antihistaminikums (Hydroxyzine und Chlorpheniramine) handelt es sich um H1 – Rezeptor Antagonisten. Beschriebene Nebenwirkungen sind vor allem leicht sedierende Effekte, die meist vorübergehend sind und gastrointestinale Symptome (Erbrechen, Diarrhö und Anorexie) (Plumb, 2011). Interaktionen mit den in dieser Studie eingesetzten Medikamenten sind nicht beschrieben (Plumb, 2011). Bei diesem Hund wurden die Behandlungsperioden mit Benazepril und Atenolol während des Einsatzes des Antihistaminikums durchgeführt. Schließlich konnten bei Hund 4596 keine Nebenwirkungen beobachtet werden, sodass der Einsatz des Antihistaminikums als nicht relevant für den Ablauf und die Ergebnisse der Studie interpretiert wurde.

#### 4.8 Hämatologie und klinisch – chemische Blutuntersuchung

Resultate der hämatologischen oder klinisch – chemischen Untersuchung außerhalb des Referenzintervalls des Labors waren in der Regel geringgradig und wurden als klinisch nicht relevant beurteilt.

Niedrige Kreatinin Werte (wie bei Hunden 6285, 7065, 9059 und 4596) werden häufig bei Tieren mit wenig Muskulatur gefunden und haben keine pathologische Relevanz.

Ein hoher Hämatokrit fiel bei Hund 7065 zur Einschlussuntersuchung und bei der Behandlung mit Benazepril auf. Die Werte des Gesamtproteins lagen nahe am oberen Referenzbereich. Dies deutete eher auf eine relative Erythrozytose als auf eine absolute Erythrozytose hin (Villiers, 2005) und kann infolge Dehydratation bei anhaltend geringer Wasseraufnahme auftreten. Des Weiteren kann eine Erythrozytose durch Milzkontraktion während einer Sympathikusaktivierung ausgelöst werden (Stockham und Scott, 2008). Da der Hund stets recht nervös war, er keine Auffälligkeiten in der klinischen Untersuchung zeigte, die auf eine Dehydratation hinwiesen und er keinen Durchfall oder Erbrechen zeigte, wurde eine sympathikusvermittelte Milzkontraktion als wahrscheinlich angesehen und die Werte als für diesen Hund normal interpretiert. Für diese Annahme spricht außerdem, dass der Hämatokrit bei diesem Hund während der Behandlung mit beiden Betablockern einen Hämatokrit im oberen Referenzbereich aufwies.

Die geringgradig niedrige Leukozytenzahl während der Untersuchung zur Ermittlung der Basiswerte von Hund 9059 wurde als Wert ohne klinische Relevanz gewertet, da es keine Abweichungen in der klinischen Untersuchung gab.

Für den erhöhten Wert der Alanin – Aminotransferase während der Untersuchung unter der Behandlung mit Atenolol bei Hund 9059 konnte keine Ursache gefunden werden. Die Erhöhung der Alanin – Aminotransferase ist ein sensibler Parameter zur Detektion eines hepatozellulären Schadens, wobei die Höhe des Anstieges keine Aussage über die Schwere einer Erkrankung oder die Prognose zulässt (Hall und German, 2005). Da gleichzeitig keine weiteren Hinweise auf eine Leberfunktionsstörung wie Erhöhung des Bilirubinwertes oder Abfall des Albumins vorlagen, schien die Leberfunktion nicht eingeschränkt zu sein. Eine Erhöhung der Alanin - Aminotransferase unter Atenolol ist nach bisherigem Kenntnisstand nicht beschrieben. Eine Untersuchung der klinisch – chemischen Parameter dieses Hundes mehrere Monate nach Ende der Studie ergab normale Leberenzymwerte. Eine mögliche Erklärung für die Erhöhung ist ein leichter hepatozellulärer Schaden im Rahmen eines Traumas oder einer geringgradigen Hepatitis, der zu keiner merklichen Leberfunktionsstörung führte.

Die Werte des Gesamteiweißes bei Hund 6285 während der Untersuchung zur Ermittlung der Basiswerte und während der Behandlungsphase mit Bisoprolol waren geringgradig erniedrigt. Allerdings lagen die Werte für Albumin und Globulin

innerhalb des Referenzbereiches des Labores. Deshalb wurden die Werte ohne klinische Relevanz angesehen.

Der geringgradig erniedrigte Gesamtproteinwert während der Untersuchung zur Ermittlung der Basiswerte bei Hund 9375 wurde ebenfalls als ohne klinische Relevanz angesehen. Leichtgradige Abweichung vom Referenzwert sind ab einer gewissen Anzahl an Messungen zu erwarten, da die Referenzwerte in der Regel aus dem Mittelwert und dem zwei bis dreifachen der Standardabweichung aus einer gesunden Population erstellt werden (Bellamy und Olexson, op. 2000). Ein gewisser Anteil an gesunden Individuen kann also per se außerhalb des Referenzbereiches liegen.

#### 4.9 Blutdruckmessung

Die Messung des Blutdruckes mittels Doppler Technik ist beim anästhesierten und wachen Hund als verlässliche, nicht invasive Methode beschrieben. Allerdings kann lediglich der systolische Blutdruck zuverlässig gemessen werden (Chalifoux et al., 1985), weshalb entschieden wurde, hier eine oszillometrische Messung einzusetzen. Oszillometrisch gemessene Blutdruckwerte am wachen Hund besitzen die größte Genauigkeit, wenn die Messungen in Seitenlage am proximalen Vorderbein auf Höhe des Antebrachiums oder am Schwanz durchgeführt werden (Bodey et al., 1996; Brown et al., 2007). Dabei sollten mehrere Messungen gemittelt werden um Ausreißer und Fehlmessungen zum Beispiel durch Bewegung des Tieres zu vermeiden (Bodey et al., 1996; Brown et al., 2007). Diese Empfehlungen wurden in der aktuellen Studie befolgt.

Die Blutdruckmessungen waren durch eine sehr hohe individuelle Variabilität gekennzeichnet. Insgesamt konnte kein oder nur ein minimaler Effekt der verschiedenen Behandlungen auf den Blutdruck beobachtet werden. Ein Grund für die hohe Variabilität der Blutdruckmessungen ist der Mangel an Präzision von nicht invasiven Messtechniken, vor allem bei wachen, nicht sedierten Hunden. Dies wurde unter anderem bei einem oszillometrischen Gerät (Dinamap, model 8300, Critikon, Tampa, Florida, USA) gezeigt (Haberman et al., 2006). Bei einer Untersuchung mit einem vergleichbaren Gerät (Surgivet V60046) wie es in dieser Studie eingesetzt wurde, konnte bei anästhesierten Hunden gezeigt werden, dass im Vergleich zur invasiven Messung der Blutdruck unterschätzt wird (Deflandre und Hellebrekers, 2008). Außerdem werden die Blutdruckparameter leicht beeinflusst von äußerlichen Einflüssen, die zu mehr Aufregung der Hunde und zu einem temporären Anstieg des Blutdruckes führen. So konnte mit einem anderen oszillometrischen Gerät (Dinamap

automatic oscillometric monitor, Model 1846 sx) gezeigt werden, dass Faktoren wie der Untersuchungsraum oder ein anderer Hund im Raum den Blutdruck signifikant erhöhen im Gegensatz zur Messung in einer vermeintlich ruhigen, gewohnten Umgebung (Vincent et al., 1993). Letzterer Faktor sollte in der aktuellen Studie keine Rolle spielen, da die Messung stets unter standardisierten Bedingungen stattfand. Allerdings wurde bereits 1997 gezeigt, dass die oszillometrische Messung von multiplen individuellen Faktoren der Tiere (zum Beispiel den mechanischen Eigenheiten der Arterie) abhängt (Baker et al., 1997).

Zusätzlich ist bekannt, dass die Gruppe der  $\beta$ 1-selektiven Betablocker und Angiotensin-converting Enzym Hemmer nur einen geringen Effekt auf den physiologischen Blutdruck haben. Beim gesunden Menschen ist beschrieben, dass Atenolol akut verabreicht zu keiner Änderung des arteriellen Blutdruckes in Ruhe führt (Svendsen et al., 1979). Bei gesunden Hunden ist für Enalaprilat intravenös und Ramipril per os kein beziehungsweise ein nur sehr geringer hypotensiver Effekt beschrieben (Lefebvre und Toutain, 2004).

#### 4.10 Radiographie des Thorax

Die geringgradige interstitielle Lungenzeichnung mancher Röntgenbilder war bedingt durch eine nicht maximale Inspiration während der Aufnahme und als physiologisch zu beurteilen. Bei expiratorischen Aufnahmen erscheinen aufgrund des verminderten Luftgehaltes die Strukturen der Lunge dichter (Grünbaum et al., 2007).

Der im Vergleich zum publizierten Referenzwert ( $10,5 \pm 0,4$ ) (Kraetschmer et al., 2008) marginal erniedrigte VHS von 9,6 von Hund 6285 während der Einschlussuntersuchung kann statistisch erklärt werden, da einzelne Messungen nicht immer in das Referenzintervall passen müssen, das 95 % der gesunden Hunde enthält.

Theoretisch könnte es unter dem Einsatz von Betablockern durch die Verlangsamung der Herzrate und durch die negative Inotropie zu einer radiologisch detektierbaren Herzvergrößerung kommen. Allerdings war dies bei den gewählten Dosierungen beim gesunden Hund nicht zu erwarten.

#### 4.11 Elektrokardiogramm

Die Herzfrequenz ermittelt aus dem Elektrokardiogramm war langsamer während der Behandlung mit beiden Betablockern im Vergleich zur Einschlussuntersuchung. Dies

ist zu erklären durch den bekannten negativ chronotropen Effekt dieser Medikamentengruppe (Frishman, 1983; López-Sendón et al., 2004; Opie und Horowitz, 2009). Propranolol senkt bei anästhesierten Beagle Hunden mit offenem Thorax die Herzfrequenz deutlich im Vergleich zu nicht behandelten Tieren (Bongrani et al., 1985). Auch für Bisoprolol wurde der negativ chronotrope Effekt bei Hunden mit Pacing-induzierter Herzinsuffizienz gezeigt (Bögel, 2008).

Der Effekt der negativen Chronotropie konnte auch bei der Therapie mit dem nichtselektiven Betablocker Carvedilol an subklinisch erkrankter Hunde mit degenerativer Klappenerkrankung gezeigt werden (Gordon et al., 2012).

Die Verlängerung des PQ – Intervalls die unter der Behandlung mit beiden Betablockern gesehen wurde im Vergleich zur Einschlussuntersuchung und im Vergleich zur Behandlung mit Benazepril ist ebenfalls ein bekannter Effekt der Betablocker. Die Überleitungszeit im Atrioventrikular Knoten wird durch Betablocker verlängert (López-Sendón et al., 2004). Ein Unterschied zwischen der Behandlung mit Atenolol oder Bisoprolol konnte nicht gefunden werden.

Die Verlängerung des QT- Intervalls während der Behandlung mit Atenolol im Vergleich zur Einschlussuntersuchung und zur Behandlung mit Benazepril, sowie die Verlängerung des QT – Intervalls während der Behandlung mit Bisoprolol im Vergleich zur Behandlung mit Benazepril befinden sich im Einklang mit der beobachteten langsameren Herzfrequenz. Die Herzfrequenz und die Dauer des QT – Intervalls korrelieren negativ miteinander (Eckenfels und Trieb, 1979). Außerdem wird auch die Weiterleitungsgeschwindigkeit durch Betablockade in den Ventrikeln herabgesetzt, was zur Verlängerung des QT – Intervalls führt (López-Sendón et al., 2004).

Die Tatsache, dass die Untersuchungen während des angenommenen maximalen Effektes der Medikamente durchgeführt wurden (Atenolol und Bisoprolol etwa 1 bis 2 Stunden nach Applikation (McAinsh und Holmes, 1983; Yuji et al., 1997)) führt vermutlich zu den deutlichen Unterschieden im Elektrokardiogramm. Die Veränderungen, die festgestellt wurden, sind bereits bekannt. Die Untersuchungen geben somit Aufschluss darüber, dass die Verabreichung der jeweiligen Medikamente erfolgreich war und die erwartete klinische Wirkung eingetreten ist.

#### 4.12 Echokardiographie

Alles in allem zeigten die echokardiographischen Parameter einen leichten Anstieg des Linksventrikulären diastolischen Durchmessers und eine leichte Reduktion der

systolischen Funktion, charakterisiert durch einen Anstieg des Linksventrikulären systolischen Durchmessers, reduzierte Fractional Shortening, Kreisflächenverkürzung und einer verlängerten Pre ejection period unter der Behandlung mit Bisoprolol und Atenolol im Vergleich zur Einschlussuntersuchung und zur Behandlung mit Benazepril.

Der Anstieg des Linksventrikulären diastolischen Durchmessers wird verursacht durch die Verlängerung der diastolischen Füllungszeit bedingt durch die langsamere Herzfrequenz unter Therapie mit einem Betablocker. Außerdem kann die leichte Verminderung der systolischen Funktion zum Anstieg des diastolischen Durchmessers beigetragen haben. Die leichte Reduktion der systolischen Funktionsparameter (Zunahme systolischer linksventrikulärer Durchmesser, Verlängerung der Pre ejection period, Abnahme der Fractional shortening) während der Behandlung mit Bisoprolol und Atenolol reflektiert den negativ inotropen Effekt der Betablocker vermittelt durch die Blockade der myokardialen  $\beta$ 1-Rezeptoren.

Zwei Dinge müssen bei der Interpretation der echokardiographischen Ergebnisse bedacht werden. Erstens, wie bereits erwähnt, wurden die Messungen während des maximalen Effektes der Medikamente durchgeführt, sodass es möglich ist, dass die Veränderungen zu anderen Zeitpunkten wesentlich milder oder nicht detektierbar gewesen wären. Zweitens wurde die Studie mit gesunden Hunden durchgeführt. Bei Hunden mit Herzerkrankungen könnten andere Effekte beobachtet werden. So ist bei hypertensiven Menschen bekannt, dass die langfristige Therapie mit Atenolol zur Abnahme des Linksventrikulären Masse Index führt, der aus echokardiographisch gemessenen Werten der Dicke der Linksventrikulären Wand und der Linksventrikulären Dimension kalkuliert wurde (Agabiti-Rosei et al., 2005). Auch beim subklinisch erkrankten Hund (vor allem Cavalier King Charles Spaniel) mit degenerativer Klappenerkrankung wurde unter der Therapie mit dem nichtselektiven Betablocker Carvedilol über einen Zeitraum von median 4,9 Monaten gesehen, dass die Fractional Shortening abnimmt und der systolische Linksventrikuläre Durchmesser zunimmt (Gordon et al., 2012).

#### 4.13 24-Stunden-Elektrokardiogramm

Die langsamere Herzfrequenz unter der Behandlung mit Bisoprolol zeigt den negativ chronotropen Effekt von Betablockern, was wie bereits erwähnt auch für den Hund mit degenerativer Mitralinsuffizienz unter Therapie mit Carvedilol gezeigt wurde (Gordon et al., 2012). Verwunderlich ist der fehlende merkliche Effekt unter der Therapie mit Atenolol. Dies ist zu erklären durch eine im Vergleich zu den anderen

Hunden deutlich höhere Herzfrequenz des Hundes 7065, die sich als Ausreißer auf die Höhe des Gruppenmittelwertes ausgewirkt hat, wie in Abbildung 25 zu sehen. Eine Erklärung für diesen Ausreißer konnte nicht gefunden werden, da der Hund vor und nach der Aufzeichnung des Elektrokardiogramms unauffällig war. Eine Möglichkeit diesen Ausreißer zu erklären ist das Rückschlag Phänomen, das bei plötzlichem Absetzen eines Betablockers beim Menschen beschrieben ist (Karachalios et al., 2005). Dabei kann es zu Tachykardien, Hypertension und Angina pectoris Symptomen kommen. Allerdings sind diese Symptome eher bei Menschen beschrieben, die eine Therapie mit Betablockern über einen längeren Zeitraum bekommen haben (Karachalios et al., 2005; Koracevic, 2011). In diesem Fall hätte der Hund das Atenolol am Tag des 24-Stunden-Elektrokardiogrammes nicht aufgenommen oder nicht absorbiert, zum Beispiel durch nicht beobachtetes Hervorwürgen oder Erbrechen. Dies erscheint aber sehr unwahrscheinlich, da weder Erbrechen beobachtet wurde, noch Erbrochenes gefunden wurde.

Die einzelnen Rhythmusstörungen, die bei einigen Tieren auffielen wurden als nicht klinisch relevant eingestuft. Einzelne ventrikuläre Extrasystolen sind beim gesunden Hund im 24-Stunden EKG als normal beschrieben (Hall et al., 1991; Meurs et al., 2001). Ein Atrioventrikulärer Block zweiten Grades ist bei etwa 9 Prozent männlicher und 20 Prozent weiblicher gesunder Beagle Hunde beschrieben, ebenso wie das Vorkommen von Ersatzrhythmen (Ulloa et al., 1995). Deshalb konnten auch alle Befunde mit Bradyarrhythmien als physiologisch und nicht klinisch relevant angesehen werden.

#### 4.14 Endogene Substanzen

Die Messung der Endotheline und von Digoxin ergab nicht die erwartete Ergebnisse, dass es zu einem belastungsinduzierten Anstieg gekommen wäre, der eventuell durch die medikamentelle Therapie zu unterdrücken gewesen wäre. Mit den Messungen der Katecholamine konnte gezeigt werden, dass die körperliche Belastung auch die erwünschten hormonellen Reaktionen induziert hat. Allerdings konnte der erwartete Anstieg von Endothelin-1 und big Endothelin-1 nicht gezeigt werden.

##### 4.14.1 Adrenalin und Noradrenalin

Die Adrenalin und Noradrenalin Messungen zeigten einen deutlichen Effekt der körperlichen Belastung. Der Anstieg unmittelbar nach Belastung war eine beschriebene Auswirkung (Wasserman et al., 1984; Moates et al., 1988; Bauer et al.,

2005) und sprach für eine adäquate Intensität der körperlichen Arbeit. Auch die Erholungsphase wurde mit zehn Minuten nach Ende der Belastung offenbar so ausgewählt, dass der akute Effekt der sympathischen Stimulierung wieder abgeflacht ist. Der fehlende Effekt der Therapie mit den beiden Betablockern oder des Angiotensin-converting Enzym Hemmers auf die Plasmakonzentrationen von Adrenalin und Noradrenalin zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten war bemerkenswert, da unter ähnlichen Versuchsbedingungen beschrieben ist, dass unter Therapie mit Atenolol oder Benazepril höhere Werte vor und nach Belastung vorkommen (Bauer et al., 2005). Man vermutet, dass eine Gegenregulierung des Körpers auf die blutdrucksenkende Wirkung der Medikamente dafür verantwortlich ist. Warum dieser Effekt in dieser Studie nicht beobachtet werden konnte ist unklar. Eine mögliche Erklärung wäre die leicht höhere Dosierung des Atenolol in der Studie von Bauer und Mitarbeitern (Bauer et al., 2005) von 1,4 mg/kg Tagesdosis im Vergleich zu 1,0 mg/kg in dieser Studie. Die Benazepril Dosierung zum Zeitpunkt der Belastung war aber identisch. Allerdings konnte auch keine Blutdrucksenkung bei Bauer et al. oder bei uns beobachtet werden.

#### 4.14.2 Endotheline und Digoxin

Bei der Planung der Studie wurde erwartet, dass parallel mit dem belastungsinduzierten Anstieg der Katecholamine ebenfalls ein Anstieg von Endothelin-1 und big Endothelin-1 sowie von Digoxin gesehen werden kann. Ferner wurde erwartet, dass dieser Effekt von der Medikation mit den Betablockern und dem Angiotensin-converting Enzym Hemmer zu einem gewissen Grad oder gar vollständig unterdrückt wird, wie es bereits für das endogene Herzglykosid Ouabain in der Vorgängerstudie gezeigt wurde (Bauer et al., 2005). In vitro Studien, die gezeigt haben, dass die vasokonstriktorische Wirkung von Ouabain durch Endothelin vermittelt wird, ließen diese Vermutung zu (Saunders und Scheiner-Bobis, 2004). Vergleichbare Effekte konnten in der vorliegenden Studie nicht gezeigt werden.

So konnte in der aktuellen Studie kein Anstieg von Endothelin oder big-Endothelin gefunden werden. Dies widerspricht Erkenntnissen aus Studien beim Menschen, die nach akuter Belastung einen signifikanten Anstieg von Plasmakonzentrationen von Endothelin-1 zeigen konnten, wobei die Anstiegsstärke mit der Intensität der Belastung korrelierte (Maeda et al., 1994). Erklärt werden könnte diese Diskrepanz durch die unterschiedliche Dauer der Belastung. In der Studie von Maeda und Mitarbeitern (Maeda et al., 1994) wurde eine Belastungsdauer von 30 Minuten gewählt im Gegensatz zu 13 Minuten in dieser Studie. Außerdem war der Anstieg von Endothelin nach stärkerer Belastung (130% im Vergleich zu 90% der

Ventilationsschwelle) in der genannten Studie wesentlich ausgeprägter, was den Schluss zulässt, dass in der vorliegenden Studie die Belastung der Tiere eventuell nicht ausreichend war. Allerdings ließ der starke Anstieg von Ouabain in der Vorgängerstudie den Schluss zu, dass die hier verwendete Belastungsdauer und -intensität adäquat sein müssten.

Die Tatsache, dass Endothelin-1 in keinem Fall und big Endothelin-1 bei lediglich zwei Hunden messbar war widerspricht bisherigen Erkenntnissen. In der Studie von Prošek und Mitarbeitern wurde bei 32 gesunden Hunden im geometrischen Mittelwert eine Endothelin-1 Konzentration von 1,17 fmol/ml mit einem 95% Konfidenzintervall von 1,04 - 1,32 fmol/ml gemessen, was umgerechnet in die Einheit des in dieser Studie verwendeten Tests einer Konzentration von 2,91 pg/ml (2,59 - 3,29) entspricht (Prošek et al., 2004). Die minimal detektierbare Konzentration des Tests in der vorliegenden Studie lag nach Herstellerangaben bei 2,33 pg/ml. Die Werte der Hunde in dieser Studie lagen offenbar unterhalb des Detektionslimits des Tests. Es ist möglich, dass die Aufbereitung und die Lagerung der Proben bei einer Temperatur von -80° Celsius, obwohl die unmittelbare Kühlung der Proben in der Kühlzentrifuge und das zeitnahe Einfrieren eingehalten wurden, einen Einfluss auf die messbaren Konzentrationen hatten und damit in keinem Fall ein messbarer Wert zu detektieren war. Dies erscheint aber insofern unwahrscheinlich, da in einer Studie, die den Anstieg von Plasma Endothelin-1 Konzentrationen beim Hund nach intraperikardialer Angiotensin II Applikation untersucht hat, die zu messenden Proben lediglich bei -20° Celsius gelagert wurden (Toma et al., 2006). Andererseits könnte es sein dass Beaglehunde andere Referenzwerte als andere Rassen für Endothelin besitzen. Eine weitere mögliche Ursache für die niedrigen Endothelin-1 Werte könnte das chronische Training der Hunde auf dem Laufband gewesen sein. So wurde beim jungen Mann in Ruhe sowohl nach Ausdauer- als auch nach Krafttraining über 8 Wochen eine signifikante Erniedrigung der Endothelin-1 Konzentrationen im Plasma gezeigt (Maeda et al., 2001; Maeda et al., 2004b). Außerdem könnte die Tatsache, dass es sich um junge Beagle gehandelt hat ebenfalls eine Rolle spielen. Beim Menschen konnte gezeigt werden, dass ältere Frauen höhere Endothelin-1 Plasmawerte haben als jüngere (Maeda et al., 2003), sodass der Einsatz von jungen Hunden eventuell zu niedrigeren Endothelinkonzentrationen führt.

Einen weiteren Einfluss könnte das Zusammenspiel zwischen Ausmaß der Belastung und Messzeitpunkt gehabt haben. So wurde beim Menschen bei starker Belastung ein Anstieg unmittelbar nach der Belastung dagegen bei mäßiger Belastung erst nach 30 Minuten gefunden (Maeda et al., 1994). Theoretisch könnte die Belastung in der aktuellen Studie nicht stark genug bzw. die Messung nach 10 Minuten zu früh gewesen sein, um einem Anstieg nachzuweisen. Diesen Argumenten allerdings

widersprechen die Ergebnisse aus der gleichartigen Vorgängerstudie, wobei dort ein Laktatanstieg gezeigt wurde und endogenes Ouabain bereits unmittelbar nach Belastung erhöht war und nach 10 Minuten bereits wieder deutlich abgesunken war (Bauer et al., 2005).

Bei zwei Hunden (9213 und 9059) konnten wiederholt big Endothelin-1 Werte gemessen werden. Dies könnte zum einen bedeuten, dass big Endothelin-1 eine bessere Stabilität besitzt, als Endothelin-1. Dies wird unterstützt durch die Tatsache, dass Endothelin-1 (bei Ratten) eine kurze Plasmahalbwertszeit besitzt (Giannessi et al., 2001). Außerdem wurde beim Menschen im schweren Stadium des kongestiven Herzversagens festgestellt, dass der große Anteil an vermehrt vorkommendem Gesamt-Endothelin durch big Endothelin und nicht durch Endothelin verursacht wird (Wei et al., 1994). Das heißt, dass im Rahmen körperlicher Belastung eventuell ebenfalls ein Anstieg von big Endothelin ohne einen Anstieg von Endothelin-1 auftreten kann, wie in dieser Studie zumindest bei zwei Tieren gezeigt. Die Tatsache, dass lediglich zwei Tiere messbare Ergebnisse oberhalb des Detektionslimits von 0,02 fmol/ml lieferten legt die Vermutung nahe, dass die interindividuellen Plasmakonzentrationen unterschiedlich sind. Eventuell haben manche Hunde eine höhere big Endothelin-1 Produktion als andere. Eine andere Erklärung wäre nicht die vermehrte Bildung sondern der verminderte Abbau. Ohne Medikation könnte der belastungsinduzierte Anstieg ebenfalls nicht durch eine vermehrte Produktion sondern durch eine Hemmung des Endothelin converting Enzyms bedingt sein.

Die sehr unterschiedlichen Messwerte von Digoxin zeigen, dass bei gesunden Hunden die physiologischen Plasma Konzentrationen offenbar unterhalb des Detektionslimits von 0,25 ng/ml des in der vorliegenden Studie eingesetzten Tests liegen. Bei gesunden erwachsenen Menschen sind Plasma Konzentrationen von weniger als 0,1 ng/ml Digoxin beschrieben (Valdes et al., 1983). Außerdem scheint eine körperliche Belastung über 13 Minuten keinen messbaren Anstieg zu verursachen. Dies deckt sich mit Erkenntnissen vom Menschen, bei dem nach einer einstündigen Belastung noch kein signifikanter Anstieg der Digoxin-Immunoreaktivität nachgewiesen werden konnte, nach drei Stunden allerdings schon (Valdes et al., 1988).

Die insgesamt fehlenden messbaren Werte von Endothelin-1 und Digoxin lassen weder Rückschlüsse auf einen Zusammenhang der Konzentrationen der Substanzen zu, noch kann eine Aussage über den Einfluss der eingesetzten Therapien der Studie getroffen werden. Ebenso kann kein Vergleich zu den Messungen von endogenem Ouabain aus der Vorgängerstudie angestellt werden. Es kann lediglich

festgestellt werden, dass der für Ouabain beschriebene massive Anstieg nach körperlicher Belastung so für die hier untersuchten Substanzen Digoxin und Endothelin nicht gefunden werden konnte.

#### 4.15 Schlussfolgerung

Schließend ist zu sagen, dass durch die durchgeführten Untersuchungen gezeigt werden konnte, dass alle Testsubstanzen, auch die beiden Betablocker Bisoprolol und Atenolol gut vertragen wurden. Die elektrokardiographischen und echokardiographischen Untersuchungen zeigten den erwarteten negativ chronotropen und negativ inotropen Effekt der Betablocker, ohne jedoch den Blutdruck relevant zu beeinflussen oder klinische Störungen zu verursachen.

Unter der gewählten submaximalen Belastung kam es zu einem deutlichen Anstieg der Plasmakonzentrationen von Adrenalin und Noradrenalin. Dennoch war keine Veränderung im Endothelin bzw. big Endothelin und Digoxin nachweisbar, da die Konzentrationen meist unterhalb des Detektionslimits lagen. Daher lässt sich auch keine Aussage zur Funktion und zur Regulation der Ausschüttung von Endothelin treffen.

Weitere Untersuchungen eventuell mit sensitiveren Messmethoden bzw. stärkerer Belastung sind nötig, um die Rolle von Endothelin und big Endothelin zu klären.

## 5 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss körperlicher Belastung auf die Plasmakonzentration von Endothelin-1, big Endothelin-1 und Digoxin bei gesunden Hunden zu untersuchen, und den Effekt der Therapie mit den Betablockern Bisoprolol, Atenolol und dem Angiotensin-converting Enzym Hemmer Benazepril zu überprüfen.

Neun klinisch gesunde Beagle Hunde wurden trainiert, eine Laufbandbelastung zu absolvieren. Bei jedem Hund erfolgte die Untersuchung zu vier Zeitpunkten: Basiswert vor jeglicher Therapie, Therapie mit Atenolol (1 mg/kg 1x tägl. per os), Therapie mit Bisoprolol (0,2 mg/kg 1x tägl. per os) und Therapie mit Benazepril (0,5 mg/kg 1x tägl. per os). Es wurde die klinische und labordiagnostische Verträglichkeit der Therapien beurteilt. Analysiert wurden der arterielle Blutdruck, die Herzgröße im Röntgen, Parameter des Ruhe-EKG (Herzfrequenz, PQ-Zeit, QT-Intervall) und der Echokardiographie (Linksventrikuläre Durchmesser diastolisch und systolisch, Fractional shortening und Kreisflächenverkürzung, Wandstärken diastolisch und prozentuale Wandverdickung, Systolische Zeitintervalle), sowie die mittlere Herzfrequenz und der Herzrhythmus im 24 Stunden-EKG. Folgende endokrine Substanzen wurden im Plasma vor, unmittelbar nach sowie 10 Minuten nach Ende der Belastung gemessen: Adrenalin, Noradrenalin, Digoxin, Endothelin-1 und big Endothelin-1.

Weder die klinischen noch die labordiagnostischen Untersuchungen zeigten Hinweise auf eine Unverträglichkeit der Therapien. Weder Blutdruck noch radiologische Herzgröße zeigten relevante Veränderungen. Unter Therapie mit beiden Betablockern kam es zu einer Senkung der Herzfrequenz und Verlängerung des PQ-Intervalls. Ebenfalls unter beiden Betablockern zeigte sich eine Zunahme der linksventrikulären Durchmesser diastolisch und systolisch sowie Hinweise auf eine reduzierte systolische Funktion (Zunahme der Pre ejection period, Abnahme der Fractional shortening). Die mittlere Herzfrequenz im 24 Stunden EKG war nach Therapie mit Bisoprolol niedriger als bei der Basisuntersuchung. Für Adrenalin und Noradrenalin konnte ein Anstieg unmittelbar nach der Belastung mit einem anschließenden Abfall gezeigt werden, dieser Effekt war unbeeinflusst von den Therapien. Für Digoxin bestand eine große Streuung der Messwerte, so dass weder zeitlich noch für die verschiedenen Therapien ein Trend zu erkennen war. Endothelin-1 lag bei allen Hunden stets unter der Nachweisgrenze des Testes. Bei big Endothelin-1 konnte nur bei 2 Hunden zu einigen Zeitpunkten ein Wert bestimmt werden, ein Trend war daraus nicht ableitbar.

Zusammenfassend belegt die Studie die Verträglichkeit der angewendeten Medikamente in der applizierten Dosis. Für die Gruppe der Betablocker zeigten sich die erwarteten negativ chronotropen und negativ inotropen Effekte. Die Katecholamin-Plasmakonzentrationen zeigen einen Anstieg unter der Belastung, waren allerdings unbeeinflusst von der Therapie. Ein Einfluss der Therapie auf Endothelin oder big Endothelin konnte nicht beurteilt werden, da die Messwerte stets bzw. meist zu niedrig lagen. Weitere Untersuchungen mit sensitiverem Test und intensiverer Belastung sollten erfolgen.

## 6 Summary

The aim of this study was to investigate the effect of physical exercise on the plasma concentration of endothelin-1, big endothelin-1 and digoxin in healthy dogs and to evaluate the impact of treatment with the beta-blocking agents bisoprolol and atenolol and the angiotensin converting enzyme inhibitor benazepril.

Nine clinically healthy beagle dogs were trained to exercise on a treadmill. One examination was performed on each of four treatment points: basal values before any therapy, therapy with atenolol (1 mg/kg once daily per os), therapy with bisoprolol (0.2 mg/kg once daily per os) and therapy with benazepril (0.5 mg/kg once daily per os). The tolerability of the therapies was investigated with clinical and laboratory examinations. Parameters that were analyzed were arterial blood pressure, radiographic heart size, parameters of the resting electrocardiogram (heart rate, PQ-interval, QT-interval) and of the echocardiography (left ventricular diameter in diastole und systole, fractional shortening, area shortening, wall dimensions in diastole and percentage thickening of the wall, systolic time intervals) and the mean heart rate and heart rhythm in a 24-hour electrocardiogram. The following endocrine substances were measured in plasma before, immediately after and ten minutes after the end of the physical exercise: adrenalin, noradrenalin, digoxin, endothelin-1 and big endothelin-1.

There was no sign concerning intolerance of any of the therapies with either clinical or laboratory findings. Neither blood pressure measurement nor radiographic heart size revealed relevant abnormalities. The heart rate decreased and the PQ-interval increased during therapy with both beta-blocking agents. An increase of left ventricular diameters in diastole and systole and evidence of reduced systolic function (increase of the pre-ejection period, decrease of the fractional shortening) were also observed during therapy with both beta-blocking agents. The mean heart rate in the 24-hour electrocardiogram was decreased during treatment with bisoprolol compared with the basal examination. Adrenalin and noradrenalin showed an increase immediately after physical exercise and a subsequent decrease. This effect was not affected by therapy. Digoxin values showed a great variation without detectable trends regarding the influence of time or treatment. Endothelin-1 was always below the detection limit in all dogs. Big endothelin-1 measurement revealed values above the detection limit in two dogs at some points of time without an obvious trend.

In conclusion the study proves the tolerability of the medication in the applied dosages. The beta-blocking agents showed the anticipated negative chronotropic and negative inotropic effects. The plasma concentrations of catecholamines

revealed an increase after physical exercise, but were not affected by treatment. An effect of therapy on endothelin-1 or big endothelin-1 could not be evaluated, because all or most of the values were too low. Further studies with a more sensitive test and enhanced exercise are required.

## 7 Literaturverzeichnis

**Agabiti-Rosei E, Trimarco B, Muiesan ML, Reid J, Salvetti A, Tang R, Hennig M, Baurecht H, Parati G, Mancina G, Zanchetti A (2005):** Cardiac structural and functional changes during long-term antihypertensive treatment with lacidipine and atenolol in the European Lacidipine Study on Atherosclerosis (ELSA). *Journal of Hypertension* 23: 1091–1098.

**Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S (1990):** Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature* 348: 730–732.

**Baak MA, Mooij JMV, Schiffers PMH (1992):** Exercise and the pharmacokinetics of propranolol, verapamil and atenolol. *European Journal of Clinical Pharmacology* 43: 547–550.

**Bagrov AY, Shapiro JI (2008):** Endogenous digitalis: pathophysiologic roles and therapeutic applications. *Nature Clinical Practice Nephrology* 4: 378–392.

**Baker PD, Westenskow DR, Kück K (1997):** Theoretical analysis of non-invasive oscillometric maximum amplitude algorithm for estimating mean blood pressure. *Medical and Biological Engineering and Computing* 35: 271–278.

**Bauer N, Müller-Ehmsen J, Krämer U, Hambarchian N, Zobel C, Schwinger RH G., Neu H, Kirch U, Grünbaum E, Schoner W (2005):** Ouabain-like compound changes rapidly on physical exercise in humans and dogs: effects of  $\beta$ -blockade and angiotensin-converting enzyme inhibition. *Hypertension* 45: 1024–1028.

**Bellamy JEC, Olexson DW (op. 2000):** Quality assurance handbook for veterinary laboratories. Iowa State University Press, Ames, Iowa.

**Bernstein RD, Ochoa FY, Xu X, Forfia P, Shen W, Thompson CI, Hintze TH (1996):** Function and production of nitric oxide in the coronary circulation of the conscious dog during exercise. *Circulation Research* 79: 840–848.

**Biondo AW, Wiedmeyer CE, Sisson DD, Solter PF (2003):** Comparative sequences of canine and feline endothelin-1. *Veterinary Clinical Pathology* 32: 188–194.

**Boarder MR, Marriott DB (1989):** Characterization of endothelin-1 stimulation of catecholamine release from adrenal chromaffin cells. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 13: 223–224.

**Bodey AR, Michell AR, Bovee KC, Buranakurl C, Garg T (1996):** Comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in conscious dogs. *Research in Veterinary Science* 61: 17–21.

**Bögel A (2008):** Verträglichkeit von Bisoprolol bei Hunden mit pacinginduzierter Herzinsuffizienz. Gießen, Justus-Liebig-Universität, Klinik für Kleintiere (Innere Medizin) und Abteilung Non Infectious Diseases der Bayer HealthCare AG, Dissertationsschrift.

**Bongrani S, Razzetti R, Schiantarelli P (1985):** Cardiovascular effects of nicardipine in anesthetized open-chest dogs in the absence and presence of  $\beta$ -

adrenergic receptor blockade: a comparison with nifedipine and verapamil. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 5: 899–905.

**Brehm BR, Bertsch D, von Fallois J, Wolf SC (2000):** Beta-blockers of the third generation inhibit endothelin-1 liberation, mRNA production and proliferation of human coronary smooth muscle and endothelial cells. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 36: 401–403.

**Bristow MR (1997):** Mechanism of action of beta-blocking agents in heart failure. *The American Journal of Cardiology* 80: 26L-40L.

**Brown S, Atkins C, Bagley R, Carr A, Cowgill L, Davidson M, Egner B, Elliott J, Henik R, Labato M, Littman M, Polzin D, Ross L, Snyder P, Stepien R (2007):** Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21: 542–558.

**Buehring K, Sailer H, Faro H, Leopold G, Pabst J, Garbe A (1986):** Pharmacokinetics and metabolism of bisoprolol-sup 14/C in three animal species and in humans. *Journal of Cardiovascular Pharmacology Supplement* 11: 21–28.

**Bulmer BJ (2010):** Chapter 243 angiotensin converting enzyme inhibitors and vasodilators. In: Ettinger SJ, Feldman EC (Hrsg.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Saunders / Elsevier 7. Aufl., St. Louis, Missouri 63043, 1216–1223.

**Chalifoux A, Dallaire A, Blais D, Larivière N, Pelletier N (1985):** Evaluation of the arterial blood pressure of dogs by two noninvasive methods. *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science* 49: 419–423.

**Chiou WL, Jeong HY, Chung SM, Wu TC (2000):** Evaluation of using dog as an animal model to study the fraction of oral dose absorbed of 43 drugs in humans. *Pharmaceutical Research* 17: 135–140.

**Davenport AP, Ashby MJ, Easton P, Ella S, Bedford J, Dickerson C, Nunez DJ, Capper SJ, Brown MJ (1990):** A sensitive radioimmunoassay measuring endothelin-like immunoreactivity in human plasma: comparison of levels in patients with essential hypertension and normotensive control subjects. *Clinical Science* 78: 261–264.

**de Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P, Antunes E, Walder C, Warner TD, Vane JR (1988):** Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85: 9797–9800.

**Deflandre CJ, Hellebrekers LJ (2008):** Clinical evaluation of the Surgivet V60046, a non invasive blood pressure monitor in anaesthetized dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 35: 13–21.

**Desideri G, Ferri C, Bellini C, Mattia G de, Santucci A (1997):** Effects of ACE inhibition on spontaneous and insulin-stimulated endothelin-1 secretion: in vitro and in vivo studies. *Diabetes* 46: 81–86.

**Eckenfels A, Trieb G (1979):** The normal electrocardiogram of the conscious beagle dog. *Toxicology and Applied Pharmacology* 47: 567–584.

- Farquharson CA J., Struthers AD (2000):** Spironolactone increases nitric oxide bioactivity, improves endothelial vasodilator dysfunction, and suppresses vascular angiotensin I/angiotensin II conversion in patients with chronic heart failure. *Circulation* 101: 594–597.
- Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F (2010):** A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology* 21: 23–31.
- Fox AJ, Laloo UG, Belvisi MG, Bernareggi M, Chung KF, Barnes PJ (1996):** Bradykinin–evoked sensitization of airway sensory nerves: A mechanism for ACE–inhibitor cough. *Nature Medicine* 2: 814–817.
- Frey H (2002):** Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin. Hippokrates-Verl, 2. Aufl., Stuttgart.
- Frishman WH (1983):** Multifactorial actions of beta-adrenergic blocking drugs in ischemic heart disease: current concepts. *Circulation* 67: 11-18.
- Galatius-Jensen S, Wroblewski H, Emmeluth C, Bie P, Haunso S, Kastrup J (1996):** Plasma endothelin in congestive heart failure: effect of the ACE inhibitor, fasinopril. *Cardiovascular Research* 32: 1148–1154.
- Garlichs CD, Zhang H, Mügge A, Daniel WG (1999):** Beta-blockers reduce the release and synthesis of endothelin-1 in human endothelial cells. *European Journal of Clinical Investigation* 29: 12–16.
- German AJ (2006):** The growing problem of obesity in dogs and cats. *The Journal of Nutrition* 136: 1940S-1946S.
- Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, Kimura S, Masaki T, Duguid WP, Stewart DJ (1993):** Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *New England Journal of Medicine* 328: 1732–1739.
- Giannessi D, DelRy S, Vitale RL (2001):** The role of endothelins and their receptors in heart failure. *Pharmacological Research* 43: 111–126.
- Gordon SG (2010):** Beta blocking agents. In: Ettinger SJ, Feldman EC (Hrsg.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Saunders / Elsevier 7. Aufl., St. Louis, Missouri 63043, 1207–1211.
- Gordon SG, Saunders AB, Hariu CD, Boggess MM, Miller MW (2012):** Retrospective review of carvedilol administration in 38 dogs with preclinical chronic valvular heart disease. *Journal of Veterinary Cardiology* 14: 243–252.
- Goto A, Ishiguro T, Yamada K, Ishii M, Yoshioka M, Eguchi C, Shimora M, Sugimoto T (1990):** Isolation of a urinary digitalis-like factor indistinguishable from digoxin. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 173: 1093–1101.
- Gray GA, Webb DJ (1996):** The endothelin system and its potential as a therapeutic target in cardiovascular disease. *Pharmacology & Therapeutics* 72: 109–148.

**Grünbaum E, Schneider M, Moritz A, Tacke S (2007):** Respirationsapparat. In: Grünbaum E, Schimke E (Hrsg.), Klinik der Hundekrankheiten. Enke 3. Aufl., Stuttgart, 337–371.

**Haberman CE, Kang CW, Morgan JD, Brown SA (2006):** Evaluation of oscillometric and Doppler ultrasonic methods of indirect blood pressure estimation in conscious dogs. Canadian Journal of Veterinary Research 70: 211–217.

**Hall EJ, German AJ (2005):** Chapter 12 laboratory evaluation of hepatic disease. In: Villiers E, Blackwood L (Hrsg.), BSAVA manual of canine and feline clinical pathology. British Small Animal Veterinary Association 2. Aufl., Quedgeley, Gloucester, 184–200.

**Hall L, Dunn J, Delaney M, Shapiro L (1991):** Ambulatory electrocardiography in dogs. Veterinary Record 129: 213–216.

**Haynes WG, Webb DJ (1998):** Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease. Journal of Hypertension 16: 1081–1098.

**Helen RC, Brogden RN, Speight TM, Avery GS (1979):** Atenolol: A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in angina pectoris and hypertension. Drugs 17: 425–460.

**Horn F (2003):** Biochemie des Menschen. Das Lehrbuch für das Medizinstudium. Thieme, 2. Aufl., Stuttgart ; New York.

**Hülsmann M, Stanek B, Frey B, Sturm B, Putz D, Kos T, Berger R, Woloszczuk W, Maurer G, Pacher R (1998):** Value of cardiopulmonary exercise testing and big endothelin plasma levels to predict short-term prognosis of patients with chronic heart failure. Journal of the American College of Cardiology 32: 1695–1700.

**Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K, Masaki T (1989):** The human endothelin family: Three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 86: 2863–2867.

**Jaeger K, Linek M, Power HT, Bettenay SV, Zabel S, Rosychuk RAW, Mueller RS (2010):** Breed and site predispositions of dogs with atopic dermatitis: a comparison of five locations in three continents. Veterinary Dermatology 21: 119–123.

**Jezova D, Vigas M, Tatar P, Kvetnansky R, Nazar K, Kaciuba-Uscilko H, Kozlowski S (1985):** Plasma testosterone and catecholamine responses to physical exercise of different intensities in men. European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology 1: 62–66.

**Kaiser G, Ackermann R, Sioufi A (1989):** Pharmacokinetics of a new angiotensin-converting enzyme inhibitor, benazepril hydrochloride, in special populations. American Heart Journal 117: 746–751.

**Karachalios GN, Charalabopoulos A, Papalimneou V, Kiortsis D, Dimicco P, Kostoula OK, Charalabopoulos K (2005):** Withdrawal syndrome following cessation of antihypertensive drug therapy. International Journal of Clinical Practice 59: 562–570.

**Kawanabe Y, Nauli SM (2011):** Endothelin. *Cellular and Molecular Life Sciences* 68: 195–203.

**Keck EW (1965):** Herzzeitvolumen, Herzfrequenz und Schlagvolumen, Blutdruck und peripherer Strömungs-Widerstand bei Hunden unter der Einwirkung von körperlicher Arbeit und der Gabe von Katecholaminen und Atropin. *Basic Research in Cardiology* 1-2: 78–118.

**Khouri EM, Gregg DE, Rayford CR (1965):** Effect of exercise on cardiac output, left coronary flow and myocardial metabolism in the unanesthetized dog. *Circulation Research* 17: 427–437.

**King JN, Maurer M, Morrison CA, Mauron C, Kaiser G (1997):** Pharmacokinetics of the angiotensin-converting enzyme inhibitor, benazepril, and its active metabolite, benazeprilat, in dog. *Xenobiotica* 27: 819–829.

**Kitagawa H, Wakamiya H, Kitoh K, Kuwahara Y, Ohba Y, Isaji M, Iwasaki T, Nakano M, Sasaki Y (1997):** Efficacy of monotherapy with benazepril, an angiotensin converting enzyme inhibitor, in dogs with naturally acquired chronic mitral insufficiency. *Journal of Veterinary Medical Science* 59: 513–520.

**Kohan DE, Rossi NF, Inscho EW, Pollock DM (2011):** Regulation of blood pressure and salt homeostasis by endothelin. *Physiological Reviews - American Physiological Society* 91: 1–77.

**Koracevic G (2011):** Significance of "beta blocker rebound phenomenon" and new suggestions how to avoid it. In: Rivas-Echeverria C, Allegaert K, Wainstein DE (Hrsg.), *Proceedings of the World Medical Conference*. WSEAS, [Greece], 79–84.

**Kraetschmer S, Ludwig K, Meneses F, Nolte I, Simon D (2008):** Vertebral heart scale in the beagle dog. *Journal of Small Animal Practice* 49: 240–243.

**Krum H, Gu A, Wilshire-Clement M, Sackner-Bernstein J, Goldsmith R, Medina N, Yushak M, Miller M, Packer M (1996):** Changes in plasma endothelin-1 levels reflect clinical response to  $\beta$ -blockade in chronic heart failure 10.1016/S0002-8703(96)90363-4 : *American Heart Journal* 131: 337–341.

**Kvart C, Häggström J, Pedersen HD, Hansson K, Eriksson A, Järvinen A, Tidholm A, Bsenko K, Ahlgren E, lives M, Åblad B, Falk T, Bjerkås E, Gundler S, Lord P, Wegeland G, Adolfsson E, Corfitzen J (2002):** Efficacy of enalapril for prevention of congestive heart failure in dogs with myxomatous valve disease and asymptomatic mitral regurgitation. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 16: 80–88.

**Lefebvre HP, Toutain PL (2004):** Angiotensin-converting enzyme inhibitors in the therapy of renal diseases. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 27: 265–281.

**Leopold G, Ungethüm W, Pabst J, Simane Z, Bühring KU, Wiemann H (1986):** Pharmacodynamic profile of bisoprolol, a new  $\beta$ 1-selective adrenoceptor antagonist. *British Journal of Clinical Pharmacology*: 293–300.

**López-Sendón J, Swedberg K, McMurray J, Tamargo J, Maggioni AP, Dargie H, Tendera M, Waagstein F, Kjekshus J, Lechat P, Torp-Pedersen C (2004):** Expert consensus document on  $\beta$ -adrenergic receptor blockers. *The Task Force on Beta-*

Blockers of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal* 25: 1341–1362.

**Maeda S, Iemitsu M, Miyauchi T, Goto K (2004a):** Exercise-induced tissue-specific change in gene expression of endothelin-1. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 44: S336-S340.

**Maeda S, Miyauchi T, Goto K, Matsuda M (1994):** Alteration of plasma endothelin-1 by exercise at intensities lower and higher than ventilatory threshold. *Journal of Applied Physiology* 77: 1399–1402.

**Maeda S, Miyauchi T, Iemitsu M, Sugawara J, Nagata Y, Goto K (2004b):** Resistance exercise training reduces plasma endothelin-1 concentration in healthy young humans. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 44: S443-S446.

**Maeda S, Miyauchi T, Kakiyama T, Sugawara J, Iemitsu M, Irukayama-Tomobe Y, Murakami H, Kumagai Y, Kuno S, Matsuda M (2001):** Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. *Life Sciences* 69: 1005–1016.

**Maeda S, Miyauchi T, Sakai S, Kobayashi T, Iemitsu M, Goto K, Sugishita Y, Matsuda M (1998):** Prolonged exercise causes an increase in endothelin-1 production in the heart in rats. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 275: H2105-H2112.

**Maeda S, Tanabe T, Miyauchi T, Otsuki T, Sugawara J, Iemitsu M, Kuno S, Ajisaka R, Yamaguchi I, Matsuda M (2003):** Aerobic exercise training reduces plasma endothelin-1 concentration in older women. *Journal of Applied Physiology* 95: 336–341.

**Maguire J, Davenport A (2004):** Alternative pathway to the endothelin converting enzyme for the synthesis of endothelin in human blood vessels. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 43: S1-S3.

**Matsumoto T (2003):** Chymase inhibition prevents cardiac fibrosis and improves diastolic dysfunction in the progression of heart failure. *Circulation* 107: 2555–2558.

**McAinsh J, Holmes BF (1983):** Pharmacokinetic studies with atenolol in the dog. *Biopharmaceutics & Drug Disposition* 3: 249–261.

**Meurs KM, Spier AW, Wright NA, Atkins CE, DeFrancesco TC, Gordon SG, Hamlin RL, Keene BW, Miller MW, Moise NS (2002):** Comparison of the effects of four antiarrhythmic treatments for familial ventricular arrhythmias in Boxers. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 221: 522–527.

**Meurs KM, Spier AW, Wright NA, Hamlin RL (2001):** Use of ambulatory electrocardiography for detection of ventricular premature complexes in healthy dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 218: 1291–1292.

**Moates JM, Lacy DB, Goldstein RE, Cherrington AD, Wasserman DH (1988):** Metabolic role of the exercise-induced increment in epinephrine in the dog. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 255: 428-436.

- Momose N, Fukuo K, Morimoto S, Ogihara T (1993):** Captopril inhibits endothelin-1 secretion from endothelial cells through bradykinin. *Hypertension* 21: 921–924.
- Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prélaud P (2010):** Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology* 21: 233–248.
- Opie LH, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer MA (2006):** Controversies in ventricular remodelling. *The Lancet* 367: 356–367.
- Opie LH, Gersh BJ (Hrsg.) (2009):** Drugs for the heart. Saunders / Elsevier, Philadelphia.
- Opie LH, Horowitz JD (2009):**  $\beta$ -blocking agents. In: Opie LH, Gersh BJ (Hrsg.), *Drugs for the heart*. Saunders / Elsevier 7. Aufl., Philadelphia, 1–37.
- Opie LH, Sack MN (2001):** Enhanced angiotensin II activity in heart failure. reevaluation of the counterregulatory hypothesis of receptor subtypes. *Circulation Research* 88: 654–658.
- O'Sullivan ML, O'Grady MR, Minors SL (2007):** Plasma big endothelin-1, atrial natriuretic peptide, aldosterone, and norepinephrine concentrations in normal Doberman Pinschers and Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21: 2192–2199.
- Piantedosi D, Cortese L, Loria A, Brignola G, Prisco M, Persechino A, Ciaramella P (2009):** Plasma atrial natriuretic peptide (proANP 31–67), B-type natriuretic peptide (Nt-proBNP) and endothelin-1 (ET-1) concentrations in dogs with chronic degenerative valvular disease (CDVD). *Veterinary Research Communications* 33: 197–200.
- Plumb DC (2011):** *Plumb's veterinary drug handbook*. PharmaVet; Distributed by Wiley, 7. Aufl., Stockholm, Wis, Ames, Iowa.
- Pönicke K, Vogelsang M, Heinroth M, Becker K, Zolk O, Böhm M, Zerkowski H, Brodde O (1998):** Endothelin receptors in the failing and nonfailing human heart. *Circulation - Journal of the American Heart Association* 97: 744–751.
- Prošek R, Sisson DD, Oyama MA, Biondo AW, Solter PF (2004):** Plasma endothelin-1 immunoreactivity in normal dogs and dogs with acquired heart disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18: 840–844.
- Qazzaz HM (2004):** De novo biosynthesis and radiolabeling of mammalian digitalis-like factors. *Clinical Chemistry* 50: 612–620.
- Ramel A (2004):** Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men. *British Journal of Sports Medicine* 38: e22.
- Ray S, McMurray J, Morton J, Dargie H (1992):** Circulating endothelin is not extracted by the pulmonary circulation in man. *Chest* 102: 1143–1144.

- Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwat Y, Miyazakit H, Kimura S, Goto K, Masaki T (1990):** Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 348: 732–735.
- Saunders R, Scheiner-Bobis G (2004):** Ouabain stimulates endothelin release and expression in human endothelial cells without inhibiting the sodium pump. *European Journal of Biochemistry* 271: 1054–1062.
- Schiffrin E (2001):** Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease. *American Journal of Hypertension* 14: S83.
- Schiffrin EL, Thibault G (1991):** Plasma endothelin in human essential hypertension. *American Journal of Hypertension* 4: 303–308.
- Schoner W, Scheiner-Bobis G (2007a):** Endogenous and exogenous cardiac glycosides and their mechanisms of action. *American Journal of Cardiovascular Drugs* 7: 173–189.
- Schoner W, Scheiner-Bobis G (2007b):** Endogenous and exogenous cardiac glycosides: their roles in hypertension, salt metabolism, and cell growth. *American Journal of Physiology: Cell Physiology* 293: C509–C536.
- Schoner W, Scheiner-Bobis G (2009):** Endogene herzaktive Steroide – eine neue Klasse von Steroidhormonen. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 134: 632–636.
- Seitelberger R, Guth BD, Heusch G, Lee JD, Katayama K, Ross Jr. J (1988):** Intracoronary alpha 2-adrenergic receptor blockade attenuates ischemia in conscious dogs during exercise. *Circulation Research* 62: 436–442.
- Stockham SL, Scott MA (2008):** Fundamentals of veterinary clinical pathology. Blackwell Pub., 2. Aufl., Ames, Iowa.
- Svendsen TL, Hartling O, Trap-Jensen J (1979):** Immediate haemodynamic effects of propranolol, practolol, pindolol, atenolol and ICI 89,406 in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Pharmacology* 15: 223–228.
- Szokodi I, Horkay F, Merkely B, Solti F, Geller L, Kiss P, Selmecci L, Kekesi V, Vuolteenaho O, Ruskoaho H, Juhasz-Nagy A, Toth M (1998):** Intrapericardial infusion of endothelin-1 induces ventricular arrhythmias in dogs. *Cardiovascular Research* 38: 356–364.
- Takahashi H, Soma S, Muramatsu M, Oka M, Ienaga H, Fukuchi Y (2001):** Discrepant distribution of big endothelin (ET)-1 and ET receptors in the pulmonary artery. *European Respiratory Journal* 18: 5–14.
- Tilley LP (1992):** Essentials of canine and feline electrocardiography. Interpretation and treatment. Lea & Febiger, 3. Aufl., Philadelphia.
- Toma I, Sax B, Nagy A, Entz L, [Nachname nicht vorhanden] [, Rusvai M, Juhász-Nagy A (2006):** Intrapericardial angiotensin II stimulates endothelin-1 and atrial natriuretic peptide formation of the in situ dog heart. *Experimental Biology and Medicine* 6: 847–851.

- Toth M, Solti F, Merkely B, Kekesi V, Horkay F, Szokodi I, Juhasz-Nagy A (1995):** Ventricular tachycardias induced by intracoronary administration of endothelin-1 in dogs. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 26: S153-S155.
- Ulloa HM, Houston BJ, Altrogge DM (1995):** Arrhythmia prevalence during ambulatory electrocardiographic monitoring of beagles. *American Journal of Veterinary Research* 56: 275–281.
- Vago H, Soos P, Zima E, Geller L, Keltai K, Roka A, Kekesi V, Juhasz-Nagy A, Merkely B (2004):** Changes of endothelin-1 and big endothelin-1 levels and action potential duration during myocardial ischemia-reperfusion in dogs with and without ventricular fibrillation. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 44: S376-S379.
- Valdes R, Graves SW, Brown BA, Landt M (1983):** Endogenous substance in newborn infants causing false positive digoxin measurements. *The Journal of Pediatrics* 102: 947–950.
- Valdes R, Hagberg JM, Vaughan TE, Lau BW, Seals DR, Ehsani AA (1988):** Endogenous digoxin-like immunoreactivity in blood is increased during prolonged strenuous exercise. *Life Sciences* 42: 103–110.
- Villiers E (2005):** Chapter 4 Disorders of erythrocytes. In: Villiers E, Blackwood L (Hrsg.), *BSAVA manual of canine and feline clinical pathology*. British Small Animal Veterinary Association 2. Aufl., Quedgeley, Gloucester.
- Vincent IC, Michell AR, Leahy RA (1993):** Non-invasive measurement of arterial blood pressure in dogs: a potential indicator for the identification of stress. *Research in Veterinary Science* 54: 195–201.
- Waldmeier F, Schmid K (1989):** Disposition of -benazepril hydrochloride in rat, dog and baboon. Absorption, distribution, kinetics, biotransformation and excretion. *Arzneimittelforschung* 39: 62–67.
- Wasserman DH, Lickley HL, Vranic M (1984):** Interactions between glucagon and other counterregulatory hormones during normoglycemic and hypoglycemic exercise in dogs. *Journal of Clinical Investigation* 74: 1404–1413.
- Weber KT (1999):** Aldosterone and spironolactone in heart failure. *New England Journal of Medicine* 341: 753–755.
- Webster KA (2003):** Apoptosis inhibitors for heart disease. *Circulation* 108: 2954–2956.
- Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Brandt RR, Wright S, Heublein DM, Kao PC, Edwards WD, Burnett JC (1994):** Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation* 89: 1580–1586.
- Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T (1988):** A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332: 411–415.
- Yuji H, Suzuki T, Mizobe M (1997):** Stereoselective pharmacokinetics of bisoprolol after intravenous and oral administration in beagle dogs. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 5: 560–564.

**Zolk O, Quattek J, Sitzler G, Schrader T, Nickenig G, Schnabel P, Shimada K, Takahashi M, Böhm M (1999):** Expression of endothelin-1, endothelin-converting enzyme, and endothelin receptors in chronic heart failure. *Circulation - Journal of the American Heart Association* 99: 2118–2123.

## 8 Anhang

### Anhang 1 Sicherheitsdatenblatt Bisoprolol

Animal Health



#### Sicherheitsdatenblatt

540858/01

Ausgabedatum: 6. März 2007  
überarbeitet am: 29. November 2006

Seite 01 von 04

##### 1. Stoff-/Zubereitungs- und Firmenbezeichnung

Bisoprolol hemifumarate 0,33 % w/w

Verwendung:  
Tierarzneimittel

Bayer HealthCare AG; PS-Compliance HSE  
42096 Wuppertal, Deutschland, Telefon: +49 202 367738  
E-Mail: msds@bayerhealthcare.com  
Im Notfall: +49 214 30 99300 (Sicherheitszentrale Bayer)

##### 2. Zusammensetzung/Angaben zu Bestandteilen

Wäßrige - Lösung, enthält:

Bisoprolol Fumarate  
Gew.-%: 0,33 CAS-Nr.: 104344-33-2 Gefahrensymbol: Xn  
EINECS-Nr.: ----- R-Sätze: 22  
Index-Nr.: -----

ortho-Phosphorsäure  
Gew.-%: 0,025-0,5 CAS-Nr.: 7664-38-2 Gefahrensymbol: C  
EINECS-Nr.: 231-633-2 R-Sätze: 34  
Index-Nr.: 015-011-00-6

##### 3. Mögliche Gefahren

Gefahrenbezeichnung entfällt.

##### 4. Erste-Hilfe-Maßnahmen

ALLGEMEINE HINWEISE:  
Beschmutzte, getränkte Kleidung sofort ausziehen.  
Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen (wenn möglich, Sicherheitsdatenblatt vorzeigen).

NACH HAUTKONTAKT:  
Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser und Seife.

NACH AUGENKONTAKT:  
Bei Augenkontakt die Augen bei geöffneten Lidern ausreichend lange mit Wasser spülen. Dann sofort (Augen-)Arzt konsultieren.

NACH VERSCHLUCKEN:  
Bei Verschlucken sofort ärztlichen Rat einholen und Sicherheitsdatenblatt vorzeigen.  
Mund mit viel Wasser ausspülen.  
Wasser trinken.

NACH EINATMEN:  
Für Frischluft sorgen.

nach EU-Richtlinien

(d)

## Sicherheitsdatenblatt

540858/01

Ausgabedatum: 6. März 2007  
überarbeitet am: 29. November 2006  
Bisoprolol hemifumarate 0,33 % w/w

Seite 02 von 04

**5. Maßnahmen zur Brandbekämpfung**

Löschmittel:

Geeignete: Wassersprühstrahl, Löschpulver, Schaum, CO<sub>2</sub>, Sand

Brandgase:

Bei Brand Entstehung von Kohlenmonoxid möglich.

Bei Brandbekämpfung Atemschutz mit unabhängiger Luftzufuhr erforderlich.

Weitere Angaben:

Im Brandfall muss Vorsorge zum Auffangen des Löschwassers getroffen werden.

Kontaminiertes Löschwasser nicht ins Erdreich, ins Grundwasser oder in Gewässer eindringen lassen.

**6. Maßnahmen bei unbeabsichtigter Freisetzung**

Produkt darf bei Freisetzung nicht in Kanalisation, Abwasserbehandlungsanlagen, Oberflächengewässer und/oder Grundwasser gelangen.

Mit saugfähigem Material aufnehmen und in verschließbare Behälter füllen.

Dampf/Aerosol nicht einatmen.

Bei den Arbeiten die erforderliche persönliche Schutzausrüstung verwenden.

Fußboden und verunreinigte Gegenstände mit Wasser und Detergentien reinigen.

**7. Handhabung und Lagerung**

HINWEISE ZUM SICHEREN UMGANG:

Bei Handhabung müssen behördliche Anordnungen zur Abwendung der Wassergefährdung durch das Produkt beachtet werden.

Produkt nur unter örtlicher Absaugung handhaben.

HINWEISE ZUM BRAND- UND EXPLOSIONSSCHUTZ:

Vorsorge gegen elektrostatische Aufladung, wie sie in Abhängigkeit von Apparatur, Handhabung und Verpackung des Produktes möglich ist, sollte generell getroffen werden.

Dämpfe können mit Luft explosionsfähige Gemische bilden.

Von Zündquellen fernhalten.

HINWEISE ZUR LAGERUNG:

Für die Lagerung müssen geeignete Lager mit ausreichendem Produktauffangvolumen benutzt werden.

Die Lager- und Transporttemperaturen (siehe auch Kapitel 14) können aus Qualitätsgründen länderspezifisch eingeschränkt sein.

Von Nahrungsmitteln, Getränken und Futtermitteln fernhalten.

VCI-Lagerklasse: 12

nach EU-Richtlinien

(d)

## Sicherheitsdatenblatt

540858/01

Ausgabedatum: 6. März 2007  
 überarbeitet am: 29. November 2006  
 Bisoprolol hemifumarate 0,33 % w/w

Seite 03 von 04

<b>8. Expositionsbegrenzung und persönliche Schutzausrüstungen</b> Persönliche Schutzausrüstung: Die in der pharmazeutischen Industrie übliche Arbeitskleidung verwenden. Bei offenem Umgang mit dem Produkt ist das Atemschutz-Merkblatt der Berufsgenossenschaft zu beachten. Empfohlener Atemschutz: Vollmaske mit Filter ABEK-ST (ABEK-P3) Augenschutz: Schutzbrille. Handschutz: Chemikalienschutzhandschuhe aus Baypren, Nitril-Kautschuk oder PVC tragen. Empfehlung: Nach Produktkontamination Handschuhe sofort wechseln und fachgerecht entsorgen.  Arbeitshygiene: Die bei der Arzneimittelherstellung erforderlichen Reinheitsbestimmungen (GMP) sind zu beachten!	
<b>9. Physikalische und chemische Eigenschaften</b>	geprüft nach
Form:	flüssig
Farbe:	Keine Angaben vorhanden.
Geruch:	Keine Angaben vorhanden.
Siedepunkt:	100°C
Dichte:	1,0 g/cm <sup>3</sup> bei 20 °C
Dampfdruck:	Keine Angaben vorhanden.
Löslichkeit in Wasser:	mischbar
pH-Wert:	4 bei 100 g/l Wasser
Flammpunkt:	nicht anwendbar
Zündtemperatur:	nicht anwendbar
<b>10. Stabilität und Reaktivität</b> Thermische Zersetzung: Keine Angaben vorhanden. Gefährliche Zersetzungsprodukte: Keine Angaben vorhanden. Gefährliche Reaktionen: Keine Angaben vorhanden. Weitere Angaben: Selbstentzündung nach Grewer: Keine Angaben vorhanden. Mindestzündenergie: Keine Angaben vorhanden.	
<b>11. Angaben zur Toxikologie</b> Toxikologische Daten liegen nicht vor.	
<b>12. Angaben zur Ökologie</b> Eindringen in Gewässer und Grundwasser verhindern.  Ökotoxikologische Daten liegen nicht vor.	
<b>13. Hinweise zur Entsorgung</b> Geeigneter Verbrennungsanlage zuführen. Ungereinigte Leergebinde sind wie die Inhaltsstoffe zu behandeln.	
<b>14. Angaben zum Transport</b> GGVSE: -- UN: NODG PG: -- RID/ADR: -- UN: NODG PG: --  ADN: -- UN: NODG PG: -- GGVSee/IMDG-Code: -- UN: NODG PG: -- MPO: --	

nach EU-Richtlinien

(d)

**Sicherheitsdatenblatt****540858/01**

Ausgabedatum: 6. März 2007  
überarbeitet am: 29. November 2006  
Bisoprolol hemifumarate 0,33 % w/w

Seite 04 von 04

**14. Angaben zum Transport (Fortsetzung)**

ICAO-TI/IATA-DGR: -- UN: NRES PG: --  
Deklaration Land: --  
Deklaration See: --  
Deklaration Luft: --  
Expressgut Deutschland (gem. GGVSE) zugel.: ja  
Sonstige Angaben:  
Kein gefährliches Transportgut. Getrennt von Nahrungs- und Genußmitteln halten.

**15. Vorschriften**

Keine Kennzeichnung nach Gefahrstoffverordnung und entsprechenden EG-Richtlinien erforderlich.  
Diese Kennzeichnung gilt nicht für Produkte in für den Endverbraucher bestimmter Verpackung.

Wassergefährdungsklasse (WGK): 2 - wassergefährdend  
(VwVwS 27.07.2005)

**16. Sonstige Angaben**

Wortlaut aller R-Sätze, auf die im Kapitel 2 und 3 Bezug genommen wird:  
R 22: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.  
R 34: Verursacht Verätzungen.

Literaturquellen:  
Angaben aus Sicherheitsdatenblatt Bayer Healthcare AG.

Dieses Sicherheitsdatenblatt gilt für den Umgang mit dem industriellen Produkt (Bulk-Ware) in Herstellungs-, Verarbeitungs- und Lagerbetrieben. Die auf diesem Blatt gemachten Angaben gelten nur für das Produkt, wie es in Verkehr gebracht wird. Sie gelten nicht für die durch Verwendung entstehenden Folgeprodukte.

Die Angaben stützen sich auf den heutigen Stand der Kenntnisse und Erfahrungen. Das Sicherheitsdatenblatt beschreibt Produkte im Hinblick auf Sicherheitserfordernisse. Die Angaben haben nicht die Bedeutung von Beschaffenheitsangaben, Eigenschaftszusicherungen oder Garantien.

## Anhang 2 Packungsbeilage und Herstellungsbeschreibung Atenolol

### Packungsbeilage

#### Gebrauchsinformationen

#### ATENOLOL 100 1A Pharma Filmtabl., 100 St N3

rezeptpflichtig  
1 A PHARMA GMBH

**Zusammensetzung - Was ist im Arzneimittel enthalten?**  
Bezugseinheit für angegebene Mengen: 1 Tablette

Typ	Name	Menge
Wirkstoff	Atenolol	100 mg
Hilfsstoff	Magnesiumdistearat	+
Hilfsstoff	Carboxymethylstärke, Natrium Typ A	+
Hilfsstoff	Hypromellose	+
Hilfsstoff	Magnesium carbonat, schweres, basisches	+
Hilfsstoff	Maisstärke	+
Hilfsstoff	Natrium dodecylsulfat	+
Hilfsstoff	Lactose-1-Wasser	+
Hilfsstoff	Macrogol 4000	+
Hilfsstoff	Titandioxid	+
Hilfsstoff	Hyprolose	+

**Wirkungsweise - Wie wirkt der Inhaltsstoff des Arzneimittels?**

Der Wirkstoff senkt den Blutdruck. Um das zu erreichen, blockiert er im Körper die Bindungsstellen von Botenstoffen, so genannte Beta-Rezeptoren. Außerdem ist der Arzneistoff herzwirksam: Er drosselt die Anzahl der Schläge (Frequenz) und den Sauerstoffbedarf des Herzen - die übermäßige Herzarbeit wird vermindert.

#### Anwendungsgebiete

- Vorbeugung und Langzeitbehandlung einer Angina pectoris (Hauptbeschwerde bei einer koronaren Herzkrankheit): Vor allem bei chronisch stabiler oder instabiler Angina pectoris
- Bluthochdruck
- Herzrhythmusstörungen mit beschleunigtem Puls (Tachyarrhythmien), die von den Herzkammern ausgehen (Herzrasen)
- Herzrhythmusstörungen mit beschleunigtem Puls (Tachyarrhythmien), die von den Herzvorhöfen ausgehen (Herzrasen)

**Gegenanzeigen - Was spricht gegen eine Anwendung?**

Immer:

- Überempfindlichkeit gegen die Inhaltsstoffe
- Bronchien, die überempfindlich reagieren, z.B. bei:
  - Chronisch obstruktive Atemwegserkrankung (chronische Atemwegserkrankung mit einer Verengung der Atemwege)
  - Asthma bronchiale
- Schock
- Pulserniedrigung

- Niedriger Blutdruck
- AV-Block (Störung der Erregungsleitung vom Vorhof des Herzens zur Kammer), 2. und 3. Grad
- Sinusknotensyndrom (Herzrhythmusstörungen, die durch eine Störung im Schrittmacher des Herzens, dem Sinusknoten, verursacht sind)
- Sinuatrialer Block (Störung der Erregungsleitung innerhalb des Vorhofs des Herzens)
- Durchblutungsstörungen der Peripherie (z.B. Arme, Beine), die schon sehr weit fortgeschritten sind, wie:
  - Durchblutungsstörungen der Beine (arterielle Verschlusskrankheit)
  - Raynaud-Syndrom
- Verschiebung des Säure-Basen-Gleichgewichts im Blut zur saueren Seite (Azidose)

Unter Umständen - sprechen Sie hierzu mit Ihrem Arzt oder Apotheker:

- Neigung zu schweren Überempfindlichkeitsreaktionen, auch eine gerade laufende Desensibilisierungstherapie
- Herzschwäche
- AV-Block (Störung der Erregungsleitung vom Vorhof des Herzens zur Kammer), 1. Grad
- Mögliche Gefahr einer Unterzuckerung, wie bei:
  - Diabetes mellitus (Zuckerkrankheit)
  - Längeres strenges Fasten
  - Schwere körperliche Belastung
- Schuppenflechte (Psoriasis)
- Phäochromocytom (Adrenalin produzierender Tumor)
- Schilddrüsenüberfunktion

*Welche Altersgruppe ist zu beachten?*

- Kinder und Jugendliche unter 18 Jahren: Das Arzneimittel sollte in dieser Altersgruppe in der Regel nicht angewendet werden.

*Was ist mit Schwangerschaft und Stillzeit?*

- Schwangerschaft: Wenden Sie sich an Ihren Arzt. Es spielen verschiedene Überlegungen eine Rolle, ob und wie das Arzneimittel in der Schwangerschaft angewendet werden kann.
- Stillzeit: Wenden Sie sich an Ihren Arzt oder Apotheker. Er wird Ihre besondere Ausgangslage prüfen und Sie entsprechend beraten, ob und wie Sie mit dem Stillen weitermachen können.

Ist Ihnen das Arzneimittel trotz einer Gegenanzeige verordnet worden, sprechen Sie mit Ihrem Arzt oder Apotheker. Der therapeutische Nutzen kann höher sein, als das Risiko, das die Anwendung bei einer Gegenanzeige in sich birgt.

**Nebenwirkungen** - *Welche unerwünschten Wirkungen können auftreten?*

- Magen-Darm-Beschwerden, wie:
  - Übelkeit
  - Erbrechen
  - Durchfälle
  - Verstopfung
- Mundtrockenheit
- Kopfschmerzen
- Schwindel
- Müdigkeit

- Schlafstörungen
- Benommenheit
- Delirium (Verwirrtheit)
- Halluzinationen
- Alpträume und verstärkte Traumaktivität
- Psychosen
- Depressionen
- Sehstörungen
- Missempfindungen, wie:
  - Kribbeln
  - Taubheitsgefühl in den Fingern und Zehen
  - Kältegefühl an Armen und Beinen
- Muskelschwäche
- Muskelkrämpfe, vor allem Wadenkrämpfe
- Anfälle von Atemnot
- Kollapsneigung bei evtl. zu starkem Blutdruckabfall
- Pulserniedrigung
- Störungen in der Erregungsleitung des Herzens vom Vorhof des zur Kammer (AV-Block)
- Anstieg der Blutfettwerte (Serumtriglyceride)
- Überempfindlichkeitsreaktionen der Haut, wie:
  - Juckreiz
  - Hautrötung
  - Hautausschlag
- Schwitzen
- Bindehautentzündung
- Eingeschränkte Bildung von Tränenflüssigkeit (wichtig für Kontaktlinsenträger)

Bemerken Sie eine Befindlichkeitsstörung oder Veränderung während der Behandlung, wenden Sie sich an Ihren Arzt oder Apotheker.

Für die Information an dieser Stelle werden vor allem Nebenwirkungen berücksichtigt, die bei mindestens einem von 1.000 behandelten Patienten auftreten.

**Wichtige Hinweise - Was sollten Sie beachten?**

- Das Reaktionsvermögen kann auch bei bestimmungsgemäßem Gebrauch, vor allem in höheren Dosierungen oder in Kombination mit Alkohol, beeinträchtigt sein. Achten Sie vor allem darauf, wenn Sie am Straßenverkehr teilnehmen oder Maschinen (auch im Haushalt) bedienen, mit denen Sie sich verletzen können.
- Durch plötzliches Absetzen können Probleme oder Beschwerden auftreten. Deshalb sollte die Behandlung langsam, das heißt mit einem schrittweisen Ausschleichen der Dosis, beendet werden. Lassen Sie sich dazu am besten von Ihrem Arzt oder Apotheker beraten.
- Dieses Arzneimittel enthält Stoffe, die unter Umständen als Dopingstoffe eingeordnet werden können. Fragen Sie dazu Ihren Arzt oder Apotheker.
- Vorsicht bei Allergie gegen Betablocker<sup>324</sup>
- Vorsicht bei Allergie gegen das Lösungsmittel Propylenglycol (EU-Nummer E 477)<sup>324</sup>
- Vorsicht bei Allergie gegen das Lösungsmittel Polyethylenglycol (EU-Nummer E 431)<sup>324</sup>
- Es kann Arzneimittel geben, mit denen Wechselwirkungen auftreten. Sie sollten deswegen generell vor der Behandlung mit einem neuen Arzneimittel jedes andere, das Sie bereits anwenden, dem Arzt oder Apotheker angeben. Das gilt auch für Arzneimittel, die Sie selbst kaufen, nur gelegentlich anwenden oder deren Anwendung schon einige Zeit zurückliegt.

**Dosierung und Anwendungshinweise** - Wie wird das Arzneimittel dosiert?

Da die Dosierung des Arzneimittels von verschiedenen Faktoren abhängt, sollte sie von Ihrem Arzt individuell auf Sie abgestimmt werden.

Bei Angina pectoris:

Wer	Einzel-dosis	Gesamtdosis	Zeitpunkt
Erwachsene	1/2-1 Tablette	1-mal täglich	vor der Mahlzeit

Bei Bluthochdruck:

Wer	Einzel-dosis	Gesamtdosis	Zeitpunkt
Erwachsene	1/2 Tablette	1-mal täglich	vor der Mahlzeit

Höchstdosis: Unter ärztlicher Aufsicht kann die Dosis auf 1 Tablette pro Tag erhöht werden.

Bei Herzrhythmusstörungen:

Wer	Einzel-dosis	Gesamtdosis	Zeitpunkt
Erwachsene	1/2 Tablette	1-2 mal täglich	vor der Mahlzeit

Alternativ bei Herzrhythmusstörungen:

Wer	Einzel-dosis	Gesamtdosis	Zeitpunkt
Erwachsene	1 Tablette	1-mal täglich	vor der Mahlzeit

Patienten mit einer Nierenfunktionsstörung: Sie müssen in Absprache mit Ihrem Arzt eventuell die Einzel- oder die Gesamtdosis reduzieren oder den Dosierungsabstand verlängern.

Die Gesamtdosis sollte nicht ohne Rücksprache mit einem Arzt oder Apotheker überschritten werden.

*Art der Anwendung?*

Nehmen Sie das Arzneimittel mit Flüssigkeit (z.B. 1 Glas Wasser) ein.

*Dauer der Anwendung?*

Die Anwendungsdauer richtet sich nach Art der Beschwerde und/oder Dauer der Erkrankung und wird deshalb nur von Ihrem Arzt bestimmt.

*Überdosierung?*

Es kann zu einer Vielzahl von Überdosierungserscheinungen kommen, unter anderem zu Bewusstseinsstörungen, Atembeschwerden, Erbrechen sowie zu Störungen der Herz-Kreislauf-Funktion. Setzen Sie sich bei dem Verdacht auf eine Überdosierung umgehend mit einem Arzt in Verbindung.

*Einnahme vergessen?*

Setzen Sie die Einnahme zum nächsten vorgeschriebenen Zeitpunkt ganz normal (also nicht mit der doppelten Menge) fort.

Generell gilt: Achten Sie vor allem bei Säuglingen, Kleinkindern und älteren Menschen auf eine gewissenhafte Dosierung. Im Zweifelsfalle fragen Sie Ihren Arzt oder Apotheker nach etwaigen Auswirkungen oder Vorsichtsmaßnahmen.

Eine vom Arzt verordnete Dosierung kann von den Angaben der Packungsbeilage abweichen. Da der Arzt sie individuell abstimmt, sollten Sie das Arzneimittel daher nach seinen Anweisungen anwenden.

**Quellenangabe / Haftungsausschluss**

Diese Hinweise zum Arzneimittel werden vom ABDATA Pharma-Daten-Service bereitgestellt. Die Hinweise stellen keine Empfehlung oder Werbung für das Arzneimittel dar sondern dienen lediglich zur Information. Obwohl die Inhalte nach bestem Wissen und Gewissen mit grosser Sorgfalt zusammengestellt wurden, können Fehler und Irrtümer nicht ganz ausgeschlossen werden. Deshalb wird keinerlei Haftung für die Vollständigkeit oder Richtigkeit übernommen. Die fachliche Beratung durch einen Arzt oder Apotheker kann durch diese Hinweise keinesfalls ersetzt werden.

3338858413

Zu Risiken und Nebenwirkungen lesen Sie die Packungsbeilage und fragen Sie Ihren Arzt oder Apotheker.

# Herstellungsbeschreibung

03/03/2010 18:07 06419938658

ZENTRALLABOR

S. 01/02

Von : Schubert-Apotheke

004964129640

28 Okt. 2009 12:51 S1



## Schubert Apotheke

Apotheker Matthias Lutz  
Klinikstr.22 / Ecke Frankfurter Str. - 35392 Giessen  
Tel. 0641-21942 Fax. 0641-29640 [www.dieschubertapotheke.de](http://www.dieschubertapotheke.de)

An  
Herrn Würtinger  
Veterinärmedizin  
Frankfurterstr.

D- 35392 Giessen

Herstellung Atenolol 4 mg / 8 mg

Giessen, 28.10.2009

Sehr geehrter Hr. Würtinger,

anbei erhalten Sie die gewünschte Herstellungsbeschreibung.

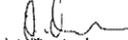
### Ausgangsprodukte

1. Atenolol Al 100 mg Tabletten, Ch.-B. 745058
2. Cellulose-Pulver, Fagron, Ch.-B. 08B12-N01
3. Gelatine-Kapseln, Größe 5

### Herstellung

1. Die jeweils benötigte Anzahl Atenolol Al 100 mg Tabletten wird zerkleinert und zu einem Pulver verrieben.
2. Das erhaltene Pulver wird mit der erforderlichen Menge Cellulose-Pulver verrieben und in Gelatine-Kapseln, Größe 5, abgefüllt.

Mit freundlichen Grüßen

  
I.A. Dr. Auch

# Anhang 3 Packungsbeilage Fortekor



**Tabletten zum Eingeben für Hunde**  
**Gebrauchsinformation**

910010 603459 GER

**Name und Anschrift des Zulassungsinhabers und, wenn unterschiedlich des Herstellers, der für die Chargenfreigabe verantwortlich ist:**

Zulassungsinhaber:  
 Novartis Tiergesundheit GmbH  
 Zielstattstraße 40  
 81379 München

Hersteller der abgabefertigen Form:  
 Novartis Santé Animale S.A.S.  
 Usine de Huningue 26, rue de la Chapelle  
 68332 Huningue Cedex  
 Frankreich

Hersteller, der für die Chargenfreigabe verantwortlich ist:  
 PharmLog Pharma Logistik GmbH  
 Siemensstr. 1  
 59199 Bönen

**Bezeichnung des Tierarzneimittels**

Fortekor® Flavour 2,5 mg, Tabletten zum Eingeben für Hunde, Benazeprilhydrochlorid

**Wirkstoffe und sonstige Bestandteile**

1 Tablette enthält:  
 Wirkstoff: Benazeprilhydrochlorid 2,50 mg

**Anwendungsgebiete**

Zur Behandlung von Herzinsuffizienz beim Hund, auch als Zusatztherapie zum Diuretikum Furosemid und/oder Antiarrhythmikum Digoxin.

**Gegenanzeigen**

Nicht anwenden bei hämodynamisch relevanter Aorten- und Mitralklappenstenose. Nicht bei Tieren anwenden, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen.

**Nebenwirkungen**

In seltenen Fällen können als Folge einer Blutdrucksenkung Müdigkeit und Teilnahmslosigkeit auftreten. Falls nötig, soll die begleitende Diuretika Therapie reduziert werden. Falls Sie eine Nebenwirkung bei Ihrem Tier / Ihren Tieren beobachten, die nicht in der Packungsbeilage aufgeführt ist, teilen Sie diese Ihrem Tierarzt oder Apotheker mit.

**Zieltierart**

Hund

**Dosierung für jede Tierart, Art und Dauer der Anwendung**

Zum Eingeben.

Die minimale Tagesdosis beträgt 0,25 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Soweit nicht anders verordnet, gelten folgende Dosierungsrichtlinien:

- Hunde mit einem Körpergewicht von 2,5 – 5 kg: ½ Tablette Fortekor® Flavour 2,5 mg
- Hunde mit einem Körpergewicht von > 5 – 10 kg: 1 Tablette Fortekor® Flavour 2,5 mg

Für Hunde mit einem Körpergewicht über 10 kg steht Fortekor® Flavour 5 mg zur Verfügung. Fortekor® Flavour 2,5 mg soll täglich in einer einmaligen Dosis möglichst zur gleichen Zeit verabreicht werden (nüchtern oder mit einer Mahlzeit). Die Dauer der Behandlung bestimmt die/der behandelnde Tierärztin/Tierarzt. Die einmalige tägliche Dosis kann auf Verordnung der Tierärztin/ des Tierarztes verdoppelt werden.

Dosierungshilfe:

Gewicht (kg)	Fortekor® Flavour 2.5 mg
2,5 – 5	½ Tablette
> 5 – 10	1 Tablette

910010 603459 GER

**Weitere Angaben**

**Packungsgrößen**

Faltpackung mit einem Blister mit 14 Tabletten  
 Faltpackung mit 28 Tabletten (2 Blister mit je 14 Tabletten)  
 Faltpackung mit 56 Tabletten (4 Blister mit je 14 Tabletten)  
 Faltpackung mit 140 Tabletten (10 Blister mit je 14 Tabletten)  
 Es werden möglicherweise nicht alle Packungsgrößen in Verkehr gebracht.

**Eigenschaften**

Fortekor® Flavour ist angezeigt für die Behandlung einer Herzinsuffizienz beim Hund. Es enthält als Wirkstoff Benazepril. Nach oraler Verabreichung wird Benazepril rasch durch den Verdauungstrakt aufgenommen. Anschließend wird es zu Benazeprilat hydrolysiert, welches ein äußerst wirksamer ACE (Angiotensin-

**Wartezeit**

Entfällt. Nicht bei Tieren anwenden, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen.

**Besondere Lagerungshinweise**

Nicht über 25°C lagern. Vor Feuchtigkeit schützen. Haltbarkeit der Tablettenhälfen bzw. der Tablette nach Entnahme aus dem Blister: 2 Tage. Das Arzneimittel nach Ablauf des auf Behältnis und äußerer Umhüllung angegebenen Verfalldatums nicht mehr anwenden. Arzneimittel unzugänglich für Kinder aufbewahren.

**Besondere Warnhinweise**

Bis zum Vorliegen weiterer klinischer Untersuchungen, sollte bei einer Niereninsuffizienz die Therapie nur nach sorgfältiger Nutzen-Risiko-Abwägung bei umfassender Überwachung nierenspezifischer Parameter erfolgen. Da keine entsprechenden Untersuchungen vorliegen, kann Fortekor® Flavour 2,5 mg nicht zur Behandlung von Zuchtstündinnen sowie tragenden und säugenden Hündinnen empfohlen werden. Eine Behandlung sollte nur nach sorgfältiger Nutzen-Risiko-Abwägung erfolgen. Folgende Wechselwirkungen zwischen Benazepril und anderen ACE-Hemmern ist beschrieben worden bei gleichzeitiger Anwendung von Kalium sparenden Diuretika (z.B. Spironolacton, Amilorid, Triamteren): Verstärkte Zunahme der Serum-Kalium-Konzentration. Vorübergehend kann eine reversible Blutdrucksenkung in Fällen versehentlicher Überdosierung auftreten. Bei Blutdruckabfall soll als Therapie die intravenöse Infusion warmer 0,9 %iger NaCl-Lösung erfolgen (Natriumchlorid- und Volumensubstitution). Benazeprilhydrochlorid weist eine geringe akute Toxizität auf. Die Toxizität während bzw. nach täglich wiederholter Gabe ist bei Hunden über ein Jahr untersucht worden. In dieser 12-Monats-Studie wurde ein NOEL von 15 mg/kg Körpergewicht ermittelt. Allerdings traten schon bei dieser Dosis in wenigen Fällen unerwünschte Effekte auf, wie morphologische Veränderungen und funktionelle Störungen der Nieren (s.u. Punkt 1 und 2), die bei höheren Dosen stärker ausgeprägt waren. Die in chronischen und subchronischen Toxizitäts-Studien infolge absichtlicher Überdosierung gesteigerte pharmakologische Wirkung von Benazeprilhydrochlorid bzw. seines aktiven Metaboliten Benazeprilat ist verantwortlich für einige meist subtile und für die Klasse der ACE-Inhibitoren charakteristische Befunde:  
 1. Hypertrophe/hyperplastische morphologische Veränderungen der Zellen des juxtaglomerulären Apparates der Nieren (> 10 mg/kg Körpergewicht, reversibel).  
 2. Leichte Erhöhung des Blutharnstoffes und des Kreatinins, ohne korrelierende morphologische Veränderungen der Nieren (> 10 mg/kg Körpergewicht, reversibel).  
 3. Verminderung des Herzgewichtes, als Ausdruck einer Nichtgebrauchs-Involution bei Benazepril-bedingtem Blutdruckabfall sonst gesunder Tiere (> 10 mg/kg Körpergewicht).

**Besondere Vorsichtsmaßnahmen für die Entsorgung von nicht verwendetem Tierarzneimittel oder von Abfallmaterialien, sofern erforderlich**  
 Nicht aufgebrauchte Tierarzneimittel sind vorzugsweise bei Schadstoffsammelstellen abzugeben. Bei gemeinsamer Entsorgung mit dem Hausmüll ist sicherzustellen, dass hierbei kein missbräuchlicher Zugriff auf diese Abfälle erfolgen kann. Tierarzneimittel dürfen nicht mit dem Abwasser bzw. über die Kanalisation entsorgt werden.

**Datum der Fassung der Packungsbeilage**

November 2006

Converting-Enzym)-Hemmer ist. Durch die hemmende Wirkung auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System verringert Benazeprilat nachhaltig die Vor- und Nachlast des Herzens. Durch die Verbesserung der Hämodynamik wird die Herzarbeit erleichtert. Benazeprilat wird im Gegensatz zu anderen ACE-Hemmern zu 50% über die Galle ausgeschieden. Klinische Versuche an Hunden zeigten, dass Fortekor® Flavour die klinischen Symptome der Herzinsuffizienz verbessert, insbesondere was Atembeschwerden und Husten in Ruhe und Bewegung angeht.

® = Registrierte Marke der Novartis AG, Basel, Schweiz

# FORTEKOR® Flavour 5mg

Benazeprilhydrochlorid

Tabletten zum Eingeben für Hunde

Gebrauchsinformation

 **NOVARTIS**  
ANIMAL HEALTH

## Name und Anschrift des Zulassungsinhabers und, wenn unterschiedlich des Herstellers, der für die Chargenfreigabe verantwortlich ist:

Zulassungsinhaber:  
Novartis Tiergesundheit GmbH  
Zielstattstraße 40  
81379 München

Hersteller der abgabefertigen Form:  
Novartis Sante Animale S.A.S.  
Usine de Huingue 26, rue de la Chapelle  
68332 Huingue Cedex  
Frankreich

Hersteller, der für die Chargenfreigabe verantwortlich ist:

PharmLog Pharma Logistik GmbH  
Siemensstr. 1  
59199 Bönen

## Bezeichnung des Tierarzneimittels

Fortekor Flavour 5 mg, Tabletten zum Eingeben für Hunde, Benazeprilhydrochlorid

## Wirkstoffe und sonstige Bestandteile

1 Tablette enthält:  
Wirkstoff: Benazeprilhydrochlorid 5,00 mg

## Anwendungsgebiete

Zur Behandlung von Herzinsuffizienz beim Hund, auch als Zusatztherapie zum Diuretikum Furosemid und/oder Antiarrhythmikum Digoxin.

## Gegenanzeigen

Nicht anwenden bei hämodynamisch relevanter Aorten- und Mitralklappenstenose. Nicht bei Tieren anwenden, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen.

## Nebenwirkungen

In seltenen Fällen können als Folge einer Blutdrucksenkung Müdigkeit und Teilnahmslosigkeit auftreten. Falls nötig, soll die begleitende Diuretika Therapie reduziert werden. Falls Sie eine Nebenwirkung bei Ihrem Tier / Ihren Tieren beobachten, die nicht in der Packungsbeilage aufgeführt ist, teilen Sie diese Ihrem Tierarzt oder Apotheker mit.

## Zieltierart

Hund

## Dosierung für jede Tierart, Art und Dauer der Anwendung

Zum Eingeben.

Die minimale Tagesdosis beträgt 0,25 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Soweit nicht anders verordnet, gelten folgende Dosierungsrichtlinien:

Hunde mit einem Körpergewicht von 5 – 10 kg:  
½ Tablette Fortekor Flavour 5 mg  
Hunde mit einem Körpergewicht von > 10 – 20 kg:  
1 Tablette Fortekor Flavour 5 mg  
Für Hunde mit einem Körpergewicht über 20 kg steht Fortekor Flavour 20 mg zur Verfügung.  
Fortekor Flavour 5 mg soll täglich in einer einmaligen Dosis möglichst zur gleichen Zeit verabreicht werden (nüchtern oder mit einer Mahlzeit). Die Dauer der Behandlung bestimmt die/der behandelnde Tierärztin/Tierarzt. Die einmalige tägliche Dosis kann auf Verordnung der Tierärztin/ des Tierarztes verdoppelt werden.  
Dosierungshilfe:

Gewicht (kg)	Fortekor Flavour 5
5 – 10	½ Tablette
> 10 – 20	1 Tablette

## Wartezeit

Entfällt. Nicht bei Tieren anwenden, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen.

## Eigenschaften

Fortekor Flavour ist angezeigt für die Behandlung einer Herzinsuffizienz beim Hund. Es enthält als Wirkstoff Benazepril. Nach oraler Verabreichung wird Benazepril rasch durch den Verdauungstrakt aufgenommen. Anschließend wird es zu Benazeprilat hydrolysiert, welches ein äußerst wirksamer ACE (Angiotensin-Converting-Enzym)-Hemmer ist. Durch die hemmende Wirkung auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System verringert Benazeprilat nachhaltig die Vor- und Nachlast des Herzens. Durch die Verbesserung der

## Besondere Lagerungshinweise

Keine. Haltbarkeit der Tablettenhälfen bzw. der Tablette nach Entnahme aus dem Blister: 2 Tage. Das Arzneimittel nach Ablauf des auf Behältnis und äußerer Umhüllung angegebenen Verfalldatums nicht mehr anwenden. Arzneimittel unzugänglich für Kinder aufbewahren.

## Besondere Warnhinweise

Bis zum Vorliegen weiterer klinischer Untersuchungen, sollte bei einer Niereninsuffizienz die Therapie nur nach sorgfältiger Nutzen-Risiko-Abwägung bei umfassender Überwachung nierenspezifischer Parameter erfolgen. Da keine entsprechenden Untersuchungen vorliegen, kann Fortekor Flavour 5 mg nicht zur Behandlung von Zuchthündinnen sowie tragenden und säugenden Hündinnen empfohlen werden. Eine Behandlung sollte nur nach sorgfältiger Nutzen-Risiko-Abwägung erfolgen. Folgende Wechselwirkungen zwischen Benazepril und anderen ACE-Hemmern ist beschrieben worden bei gleichzeitiger Anwendung von Kalium sparenden Diuretika (z.B. Spironolacton, Amilorid, Triamteren): Verstärkte Zunahme der Serum-Kalium-Konzentration. Vorübergehend kann eine reversible Blutdrucksenkung in Fällen versehentlicher Überdosierung auftreten. Bei Blutdruckabfall soll als Therapie die intravenöse Infusion warmer 0,9%iger NaCl-Lösung erfolgen (Natriumchlorid- und Volumensubstitution). Benazeprilhydrochlorid weist eine geringe akute Toxizität auf. Die Toxizität während bzw. nach täglich wiederholter Gabe ist bei Hunden über ein Jahr untersucht worden. In dieser 12-Monats-Studie wurde ein NOEL von 15 mg/kg Körpergewicht ermittelt. Allerdings traten schon bei dieser Dosis in wenigen Fällen unerwünschte Effekte auf, wie morphologische Veränderungen und funktionelle Störungen der Nieren (s.u. Punkt 1 und 2), die bei höheren Dosen stärker ausgeprägt waren. Die in chronischen und subchronischen Toxizitäts-Studien infolge absichtlicher Überdosierung gesteigerte pharmakologische Wirkung von Benazeprilhydrochlorid bzw. seines aktiven Metaboliten Benazeprilat ist verantwortlich für einige meist subtile und für die Klasse der ACE-Inhibitoren charakteristische Befunde:

1. Hypertrophe/hyperplastische morphologische Veränderungen der Zellen des juxtaglomerulären Apparates der Nieren (> 10 mg/kg Körpergewicht, reversibel).
2. Leichte Erhöhung des Blutharnstoffes und des Kreatinins, ohne korrelierende morphologische Veränderungen der Nieren (> 10 mg/kg Körpergewicht, reversibel).
3. Verminderung des Herzgewichtes, als Ausdruck einer Nichtgebrauchs-Involution bei Benazepril-bedingtem Blutdruckabfall sonst gesunder Tiere (> 10 mg/kg Körpergewicht).

## Besondere Vorsichtsmaßnahmen für die Entsorgung von nicht verwendetem Tierarzneimittel oder von Abfallmaterialien, sofern erforderlich

Nicht aufgebrauchte Tierarzneimittel sind vorzugsweise bei Schadstoffsammelstellen abzugeben. Bei gemeinsamer Entsorgung mit dem Hausmüll ist sicherzustellen, dass hierbei kein missbräuchlicher Zugriff auf diese Abfälle erfolgen kann. Tierarzneimittel dürfen nicht mit dem Abwasser bzw. über die Kanalisation entsorgt werden.

## Datum der Fassung der Packungsbeilage

Juli 2007

## Weitere Angaben

Packungsgrößen  
Faltpackung mit einem Blister mit 14 Tabletten  
Faltpackung mit 28 Tabletten (2 Blister mit je 14 Tabletten)  
Faltpackung mit 56 Tabletten (4 Blister mit je 14 Tabletten)  
Faltpackung mit 140 Tabletten (10 Blister mit je 14 Tabletten)  
Es werden möglicherweise nicht alle Packungsgrößen in Verkehr gebracht.

Hämodynamik wird die Herzarbeit erleichtert. Benazeprilat wird im Gegensatz zu anderen ACE-Hemmern zu 50% über die Galle ausgeschieden. Klinische Versuche an Hunden zeigten, dass Fortekor Flavour die klinischen Symptome der Herzinsuffizienz verbessert, insbesondere was Atembeschwerden und Husten in Ruhe und Bewegung anbelangt.

(® = Registrierte Marke der Novartis AG, Basel, Schweiz)

## Anhang 4 Tatsächliche Behandlungsdosierungen

**Tabelle 6** Tatsächliche Behandlungsdosierung von Benazepril (Zieldosierung: 0,5 mg/kg)

		Tatsächliche Behandlungsdosis [mg/kg] der Hunde									
		9375	9213	6285	7065	5380	9812	9059	4596	9746	
1	0,54	0,52	0,56	0,46	0,52	0,51	0,47	0,47	0,48	0,48	
2	0,54	0,52	0,56	0,46	0,52	0,51	0,48	0,47	0,48	0,48	
3	0,54	0,52	0,56	0,46	0,52	0,51	0,48	0,47	0,48	0,48	
4	0,54	0,52	0,56	0,46	0,52	0,51	0,48	0,47	0,48	0,48	
5	0,54	0,52	0,56	0,46	0,52	0,51	0,48	0,47	0,48	0,48	
6	0,54	0,52	0,56	0,46	0,52	0,51	0,48	0,47	0,48	0,48	
7	0,54	0,52	0,56	0,46	0,52	0,51	0,48	0,47	0,48	0,48	
8	0,54	0,50	0,56	0,46	0,51	0,51	0,48	0,46	0,48	0,48	
9	0,53	0,50	0,56	0,48	0,51	0,51	0,46	0,46	0,48	0,48	
10	0,53	0,50	0,56	0,48	0,51	0,51	0,46	0,46	0,48	0,48	
11	0,53	0,50	0,56	0,48	0,51	0,51	0,46	0,46	0,48	0,48	
12	0,53	0,50	0,56	0,48	0,51	0,51	0,46	0,46	0,48	0,48	
13	0,53	0,50	0,56	0,48	0,51	0,51	0,46	0,46	0,48	0,48	
14	0,53	0,50	0,56	0,48	0,51	0,50	0,46	0,46	0,48	0,48	
15	0,53	0,49	0,56	0,48	0,51	0,50	0,46	0,46	0,48	0,48	
Bereich		0,53 – 0,54	0,49 – 0,52	0,56	0,46 – 0,48	0,51 – 0,52	0,50 – 0,51	0,46 – 0,48	0,46 – 0,47	0,48	

Anmerkung: Die tatsächlichen Behandlungsdosen basieren auf den Körpergewichten, die an den Tagen ermittelt wurden, die den jeweiligen Behandlungstagen am nächsten lagen.

**Tabelle 7 Tatsächliche Behandlungsdosierung von Atenolol (Zieldosierung: 1 mg/kg)**

		Tatsächliche Behandlungsdosis [mg/kg] der Hunde									
		9375	9213	6285	7065	5380	9812	9059	4596	9746	
1		1,02	0,86	1,15	1,05	1,10	0,94	1,10	1,13	0,95	
2		0,99	0,86	1,15	0,99	1,10	0,94	1,11	1,13	0,95	
3		0,99	0,86	1,15	0,99	1,10	0,94	1,11	1,13	0,95	
4		0,99	0,86	1,15	0,99	1,10	0,94	1,11	1,13	0,95	
5		0,99	0,86	1,15	0,99	1,10	0,94	1,11	1,13	0,95	
6		0,99	0,86	1,15	0,99	1,10	0,94	1,11	1,13	0,95	
7		0,99	0,86	1,12	0,99	1,10	0,96	1,11	1,13	0,96	
8		0,99	0,85	1,12	0,99	1,08	0,96	1,11	1,14	0,96	
9		0,98	0,85	1,12	1,02	1,08	0,96	1,08	1,14	0,96	
10		0,98	0,85	1,12	1,02	1,08	0,96	1,08	1,14	0,96	
11		0,98	0,85	1,12	1,02	1,08	0,96	1,08	1,14	0,96	
12		0,98	0,85	1,12	1,02	1,08	0,96	1,08	1,14	0,96	
13		0,98	0,85	1,12	1,02	1,08	0,96	1,08	1,14	0,96	
14		0,98	0,85	1,11	1,02	1,08	0,94	1,08	1,14	0,93	
15		0,98	0,82	1,11	1,02	1,09	0,94	1,08	1,13	0,93	
Bereich		0,98 – 1,02	0,82 – 0,86	1,11 – 1,15	0,99 – 1,05	1,08 – 1,10	0,94 – 0,96	1,08 – 1,11	1,13 – 1,14	0,93 – 0,96	

Anmerkung: Die tatsächlichen Behandlungsdosen basieren auf den Körpergewichten, die an den Tagen ermittelt wurden, die den jeweiligen Behandlungstagen am nächsten lagen.

**Tabelle 8 Tatsächliche Behandlungsdosierung von Bisoprolol (Zieldosierung: 0,2 mg/kg)**

		Tatsächliche Behandlungsdosis [mg/kg] der Hunde									
		9375	9213	6285	7065	5380	9812	9059	4596	9746	
1	0,20	0,19	0,21	0,19	0,20	0,21	0,21	0,21	0,20	0,21	0,21
2	0,20	0,19	0,21	0,19	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,21
3	0,20	0,19	0,21	0,19	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,21
4	0,20	0,19	0,21	0,19	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,21
5	0,20	0,19	0,21	0,19	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,21
6	0,20	0,19	0,21	0,19	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,21
7	0,20	0,19	0,21	0,19	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,22
8	0,20	0,19	0,21	0,19	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,22
9	0,20	0,19	0,21	0,18	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,22
10	0,20	0,19	0,21	0,18	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,22
11	0,20	0,19	0,21	0,18	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,22
12	0,20	0,19	0,21	0,18	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,22
13	0,20	0,19	0,21	0,18	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,22
14	0,20	0,19	0,20	0,18	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,22
15	0,20	0,19	0,20	0,18	0,20	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,22
Bereich	0,20	0,19	0,20 – 0,21	0,18 – 0,19	0,20	0,21	0,21	0,20 – 0,21	0,20	0,21	0,21 – 0,22

Anmerkung: Die tatsächlichen Behandlungsdosen basieren auf den Körpergewichten, die an den Tagen ermittelt wurden, die den jeweiligen Behandlungstagen am nächsten lagen.

## Anhang 5 Hämatologie und klinische Chemie

**Tabelle 9 Hämatologie und klinische Chemie (1)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	WBC	RBC	HKT	CREA	UREA	Bili	ALT	TP
9375	---	-33	6,7	7,07	0,47	80	5,81	3,26	15	54,4
	Benazepril	9	7,6	6,58	0,43	77	8,37	1,64	17	56,0
	Atenolol	65	6,5	6,67	0,43	91	6,72	3,43	45	58,7
9213	Bisoprolol	121	8,8	6,60	0,43	84	6,67	2,62	19	59,4
	---	-32	7,5	7,58	0,51	67	6,17	3,49	27	60,9
	Benazepril	10	8,5	7,20	0,49	66	8,12	2,5	34	60,8
6285	Atenolol	66	7,0	7,27	0,49	70	7,14	2,95	31	62,3
	Bisoprolol	122	7,2	6,92	0,48	82	7,43	3,49	38	59,3
	---	-31	6,3	6,31	0,41	46	5,54	2,83	71	53,8
6285	Benazepril	11	5,9	7,07	0,47	51	6,32	2,71	38	57,1
	Atenolol	67	5,7	6,60	0,43	46	6,78	2,45	35	56,2
	Bisoprolol	123	6,3	6,95	0,46	51	7,22	2,72	60	54,0

WBC: Leukozytenzahl; RBC: Erythrozytenzahl; HKT: Hämatokrit  
 CREA: Kreatinin; UREA: Harnstoff; Bili: Bilirubin  
 ALT: Alanin – Aminotransferase; TP: Gesamteiweiß;  
 Markiert in **gelb**: Werte unterhalb des Referenzintervalls des Labors  
 Markiert in **rot**: Werte oberhalb des Referenzintervalls des Labors

**Tabelle 10** Hämатologie und klinische Chemie (2)

Hund	Testsubstanz	Studentag	WBC	RBC	HKT	CREA	UREA	Bili	ALT	TP
	---	-26	7,4	<b>9,21</b>	<b>0,60</b>	55	4,67	2,96	33	64,3
7065	Atenolol	16	7,3	8,37	0,54	<b>46</b>	5,57	2,56	29	60,8
	Bisoprolol	72	6,3	<b>8,78</b>	0,56	<b>42</b>	3,48	2,46	24	65,2
	Benazepril	128	7,9	<b>8,78</b>	<b>0,58</b>	<b>47</b>	4,41	1,94	21	67,1
	---	-25	10,5	6,59	0,45	70	5,48	2,36	34	60,3
5380	Atenolol	17	10,8	7,52	0,51	66	6,16	2,75	35	61,4
	Bisoprolol	73	10,0	7,00	0,48	77	5,04	2,09	41	63,7
	Benazepril	129	8,8	6,74	0,47	81	4,23	2,74	35	65,3
	---	-24	9,3	7,18	0,47	80	5,58	3,30	41	65,7
9812	Atenolol	18	8,4	7,02	0,46	75	6,89	2,38	36	67,2
	Bisoprolol	74	7,8	6,72	0,44	82	5,91	1,44	49	67,1
	Benazepril	130	6,5	6,83	0,47	81	4,88	2,43	44	61,9

WBC: Leukozytenzahl; RBC: Erythrozytenzahl; HKT: Hämatokrit

CREA: Kreatinin; UREA: Harnstoff; Bili: Bilirubin

ALT: Alanin – Aminotransferase; TP: Gesamteiweiß;

Markiert in **gelb**: Werte unterhalb des Referenzintervalls des Labors

Markiert in **rot**: Werte oberhalb des Referenzintervalls des Labors

**Tabelle 11 Hämатologie und klinische Chemie (3)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	WBC	RBC	HKT	CREA	UREA	Bili	ALT	TP
	---	-19	5,4	8,14	0,55	69	3,79	2,10	84	64,9
9059	Bisoprolol	23	9,6	7,78	0,52	49	5,54	1,57	53	64,2
	Benazepril	79	9,9	6,10	0,40	50	6,83	2,41	30	58,4
	Atenolol	135	10,0	7,84	0,55	60	3,17	2,10	419	62,1
	---	-18	6,0	6,83	0,45	58	4,34	3,50	25	55,3
4596	Bisoprolol	24	7,0	7,44	0,50	50	5,03	2,44	36	59,4
	Benazepril	80	6,9	7,46	0,48	48	4,51	2,10	31	58,7
	Atenolol	136	6,9	7,37	0,49	53	4,01	2,51	34	56,6
	---	-17	7,8	6,98	0,45	71	5,33	2,01	32	61,4
9746	Bisoprolol	25	6,5	6,34	0,40	70	4,24	3,00	32	56,7
	Benazepril	81	8,8	6,61	0,42	65	6,00	1,92	27	62,6
	Atenolol	137	6,5	6,36	0,42	74	4,53	2,54	36	57,2

WBC: Leukozytenzahl; RBC: Erythrozytenzahl; HKT: Hämatokrit

CREA: Kreatinin; UREA: Harnstoff; Bili: Bilirubin

ALT: Alanin – Aminotransferase; TP: Gesamteiweiß;

Markiert in **gelb**: Werte unterhalb des Referenzintervalls des Labors

Markiert in **rot**: Werte oberhalb des Referenzintervalls des Labors

Anhang 6 Blutdruckmessungen

**Tabelle 12 Blutdruckmessungen (1)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	BPs	BPd	BPm
9375	---	-33	149	109	124
	Benazepril	9	114	68	83
	Atenolol	65	148	110	122
	Bisoprolol	121	117	68	89
9213	---	-32	104	69	83
	Benazepril	10	111	70	87
	Atenolol	66	111	67	87
	Bisoprolol	122	107	68	83
6285	---	-31	121	65	85
	Benazepril	11	128	80	97
	Atenolol	67	127	80	95
	Bisoprolol	123	107	79	89

BPs: Blutdruck, systolisch;      BPd: Blutdruck, diastolisch;      BPm: Blutdruck, mittlerer

Die angegebenen Werte sind mediane Werte aus fünf Messungen.

**Tabelle 13 Blutdruckmessungen (2)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	BPs	BPd	BPm
7065	---	-26	151	97	118
	Atenolol	16	149	97	113
	Bisoprolol	72	133	87	106
	Benazepril	128	125	87	110
5380	---	-25	130	83	101
	Atenolol	17	146	87	111
	Bisoprolol	73	119	80	93
	Benazepril	129	122	77	90
9812	---	-24	161	91	121
	Atenolol	18	150	84	103
	Bisoprolol	74	145	83	111
	Benazepril	130	144	83	108

BPs: Blutdruck, systolisch;      BPd: Blutdruck, diastolisch;      BPm: Blutdruck, mittlerer

Die angegebenen Werte sind mediane Werte aus fünf Messungen.

**Tabelle 14 Blutdruckmessungen (3)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	BPs	BPd	BPm
	---	-19	127	97	104
9059	Bisoprolol	23	132	77	102
	Benazepril	79	116	73	91
	Atenolol	135	134	71	97
	---	-18	124	74	93
4596	Bisoprolol	24	125	71	95
	Benazepril	80	123	69	91
	Atenolol	136	123	82	96
	---	-17	162	107	128
9746	Bisoprolol	25	157	79	113
	Benazepril	81	150	96	114
	Atenolol	137	151	96	117

BPs: Blutdruck, systolisch;      BPd: Blutdruck, diastolisch;      BPm: Blutdruck, mittlerer

Die angegebenen Werte sind mediane Werte aus fünf Messungen.

## Anhang 7 Radiographie des Thorax

**Tabelle 15 Radiographie des Thorax (1)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	VHS	Kommentar
9375	---	-33	11	---
	Benazepril	9	11	---
	Atenolol	65	11,3	---
	Bisoprolol	121	11,1	Geringgradig vermehrte interstitielle Zeichnung des kaudalen Lungenlappens
9213	---	-32	11,2	---
	Benazepril	10	11,1	---
	Atenolol	66	11,3	---
	Bisoprolol	122	11,3	Herzsilhouette erscheint plump
6285	---	-31	9,6	Diffuse, geringgradig vermehrte interstitielle Lungenzeichnung
	Benazepril	11	10,1	---
	Atenolol	67	10	Diffuse, geringgradig vermehrte interstitielle Lungenzeichnung
	Bisoprolol	123	10,4	Geringgradig vermehrte interstitielle Zeichnung des kaudalen Lungenlappens

VHS: Vertebral Heart Size

**Tabelle 16 Radiographie des Thorax (2)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	VHS	Kommentar
7065	---	-26	10,7	Geringgradig vermehrte interstitielle Zeichnung des kaudalen Lungenlappens
	Atenolol	16	11	Geringgradig vermehrte interstitielle Zeichnung des kaudalen Lungenlappens
	Bisoprolol	72	10,6	Geringgradig vermehrte interstitielle Zeichnung des kaudalen Lungenlappens
	Benazepril	128	10,8	Geringgradig vermehrte interstitielle Zeichnung des kaudalen Lungenlappens
5380	---	-25	11,1	---
	Atenolol	17	10,9	---
	Bisoprolol	73	11	---
	Benazepril	129	10,6	---
9812	---	-24	11,2	---
	Atenolol	18	11,1	---
	Bisoprolol	74	11	---
	Benazepril	130	10,8	---

VHS: Vertebral Heart Size

**Tabelle 17 Radiographie des Thorax (3)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	VHS	Kommentar
9059	---	-19	11	---
	Bisoprolol	23	11,2	---
	Benazepril	79	11,1	---
	Atenolol	135	11,2	---
4596	---	-18	10,9	---
	Bisoprolol	24	11	---
	Benazepril	80	11,2	---
	Atenolol	136	11,1	---
9746	---	-17	11,2	---
	Bisoprolol	25	11,2	---
	Benazepril	81	11,2	---
	Atenolol	137	11	---

VHS: Vertebral Heart Size

## Anhang 8 Elektrokardiogramm

**Tabelle 18** Elektrokardiogramm (1)

Hund	Testsubstanz	Studientag	HR (Schläge/min)	PQ-Intervall (ms)	QT-Intervall (ms)	Kommentar
	---	-33	88	80	232	---
9375	Benazepril	9	82	88	208	---
	Atenolol	65	71	92	240	---
	Bisoprolol	121	66	96	224	---
	---	-32	102	128	196	---
9213	Benazepril	10	85	112	212	---
	Atenolol	66	72	124	212	---
	Bisoprolol	122	90	136	212	---
	---	-31	83	68	228	---
6285	Benazepril	11	106	68	208	---
	Atenolol	67	69	92	224	---
	Bisoprolol	123	69	88	216	---

HR: Herzfrequenz

**Tabelle 19**      **Elektrokardiogramm (2)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	HR (Schläge/min)	PQ-Intervall (ms)	QT-Intervall (ms)	Kommentar
7065	---	-26	162	120	173	---
	Atenolol	16	141	120	184	---
	Bisoprolol	72	145	108	172	---
	Benazepril	128	121	100	168	---
5380	---	-25	111	112	216	---
	Atenolol	17	96	116	240	---
	Bisoprolol	73	87	108	236	---
	Benazepril	129	87	96	228	---
9812	---	-24	116	96	200	---
	Atenolol	18	98	120	220	---
	Bisoprolol	74	121	116	200	---
	Benazepril	130	114	100	200	---

HR: Herzfrequenz

**Tabelle 20**      **Elektrokardiogramm (3)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	HR (Schläge/min)	PQ-Intervall (ms)	QT-Intervall (ms)	Kommentar
9059	---	-19	126	88	184	---
	Bisoprolol	23	113	100	188	---
	Benazepril	79	143	92	164	---
	Atenolol	135	99	100	192	---
4596	---	-18	88	76	200	---
	Bisoprolol	24	72	96	228	---
	Benazepril	80	81	80	208	---
	Atenolol	136	64	88	224	---
9746	---	-17	113	96	220	---
	Bisoprolol	25	67	104	246	---
	Benazepril	81	131	96	196	---
	Atenolol	137	93	108	224	---

HR: Herzfrequenz

## Anhang 9 Echokardiographie

**Tabelle 21 Echokardiographie (1)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	IVSd (cm)	LVDd (cm)	LWd (cm)	LVDs (cm)	PEP (ms)	LVET (ms)	FS (%)	AS (%)	LVPW (%)
9375	---	-33	0,89	3,14	0,86	2,25	64	177	28	51	29
	Benazepril	9	0,86	3,09	0,9	2,35	45	177	24	47	22
	Atenolol	65	0,85	3,25	0,84	2,64	90	173	19	33	19
	Bisoprolol	121	0,89	3,19	0,82	2,54	89	168	20	46	24
9213	---	-32	0,82	3,02	0,92	2,44	55	180	19	45	23
	Benazepril	10	0,94	2,98	0,99	2,25	55	175	24	52	24
	Atenolol	66	0,84	3,32	0,92	2,85	82	177	14	42	19
	Bisoprolol	122	0,84	3,14	0,96	2,73	87	165	13	40	19
6285	---	-31	0,74	2,93	0,73	1,97	48	175	33	50	31
	Benazepril	11	0,74	2,96	0,75	2,04	47	187	31	44	35
	Atenolol	67	0,78	2,98	0,77	2,38	58	189	20	46	22
	Bisoprolol	123	0,74	3,12	0,76	2,31	57	191	26	47	26

IVSd: Interventrikuläres Septum, diastolisch; LVDd: Linksventrikulärer Durchmesser, diastolisch; LWd: Linksventrikuläre Wand, diastolisch;  
LVDs: Linksventrikulärer Durchmesser, systolisch; PEP: Pre ejection period; LVET: Left ventricular ejection time; FS: Fractional shortening;  
AS: Kreisflächenverkürzung; LVPW%: Prozentuale Verdickung der Wand

**Tabelle 22 Echokardiographie (2)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	IVSd (cm)	LVDd (cm)	LVDd (cm)	LVDs (cm)	PEP (ms)	LIVET (ms)	FS (%)	AS (%)	LVPW (%)
7065	---	-26	0,77	2,85	0,8	1,95	48	163	31	51	31
	Atenolol	16	0,74	2,84	0,8	2,13	63	170	25	45	26
	Bisoprolol	72	0,75	2,85	0,76	2,12	64	164	26	45	26
	Benazepril	128	0,71	2,72	0,88	1,9	60	167	30	52	29
5380	---	-25	0,82	3,63	0,73	2,76	70	173	24	45	25
	Atenolol	17	0,82	3,8	0,83	2,88	79	184	24	40	26
	Bisoprolol	73	0,8	3,79	0,74	2,9	85	183	23	43	28
	Benazepril	129	0,9	3,67	0,82	2,68	62	167	27	48	30
9812	---	-24	0,87	3,34	0,88	2,68	68	179	20	46	27
	Atenolol	18	0,79	3,62	0,91	2,78	73	187	23	48	24
	Bisoprolol	74	0,8	3,69	0,83	2,97	63	177	20	50	23
	Benazepril	130	0,88	3,4	0,95	2,44	51	172	28	46	27

IVSd: Interventrikuläres Septum, diastolisch; LVDd: Linksventrikulärer Durchmesser, diastolisch; LVDs: Linksventrikuläre Wand, diastolisch; LVDs: Linksventrikulärer Durchmesser, systolisch; PEP: Pre ejection period; LIVET: Left ventricular ejection time; FS: Fractional shortening; AS: Kreisflächenverkürzung; LVPW%: Prozentuale Verdickung der Wand

**Tabelle 23 Echokardiographie (3)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	IVSd (cm)	LVDd (cm)	LVDd (cm)	LVDs (cm)	PEP (ms)	LVET (ms)	FS (%)	AS (%)	LVPW (%)
9059	---	-19	0,87	3,01	0,84	2,04	51	169	32	46	21
	Bisoprolol	23	0,8	3,28	0,87	2,51	69	174	23	51	21
	Benazepril	79	0,77	3,21	0,75	2,32	60	167	28	52	30
	Atenolol	135	0,81	3,22	0,85	2,41	62	185	25	51	18
4596	---	-18	0,85	3,06	0,82	2,12	60	164	31	49	30
	Bisoprolol	24	0,81	3,06	0,82	2,21	78	168	28	47	27
	Benazepril	80	0,85	2,94	0,82	1,94	62	163	34	53	35
	Atenolol	136	0,85	3,12	0,83	2,31	69	183	26	41	28
9746	---	-17	0,78	3,13	0,84	2,55	65	177	18	50	21
	Bisoprolol	25	0,75	3,29	0,8	2,66	62	190	19	43	24
	Benazepril	81	0,76	3,07	0,85	2,4	68	181	22	52	25
	Atenolol	137	0,78	3,09	0,85	2,51	78	192	19	37	22

IVSd: Interventrikuläres Septum, diastolisch; LVDd: Linksventrikulärer Durchmesser, diastolisch; LVDs: Linksventrikulärer Durchmesser, systolisch; PEP: Pre ejection period; LVET: Left ventricular ejection time; FS: Fractional shortening; LVDs: Linksventrikulärer Durchmesser, systolisch; PEP: Pre ejection period; LVET: Left ventricular ejection time; FS: Fractional shortening; AS: Kreisflächenverkürzung; LVPW%: Prozentuale Verdickung der Wand

## Anhang 10 24-Stunden-Elektrokardiogramm

### Tabelle 24 24-Stunden-Elektrokardiogramm (1)

Hund	Testsubstanz	Studientag	HRm (Schläge/min)	Kommentar
	---	-33	82	---
9375	Benazepril	10	74	---
	Atenolol	71	83	---
	Bisoprolol	122	66	---
<hr/>				
	---	-32	79	734 V-Ersatz, wiederholter AV-Block 2. Grades
9213	Benazepril	13	74	1473 V-Ersatz, wiederholter AV-Block 2. Grades
	Atenolol	67	81	1 V-Ersatz, kein AV-Block detektiert
	Bisoprolol	123	78	1 VES 2 V-Ersatz
<hr/>				
	---	-31	76	---
6285	Benazepril	14	79	---
	Atenolol	68	61	---
	Bisoprolol	124	66	---

SVES: Supraventrikuläre Extrasystole; EKG: Elektrokardiogramm; HRm: mittlere Herzfrequenz;

VES: Ventrikuläre Extrasystole; V-Ersatz: Ventrikuläre Ersatzsystole

**Tabelle 25**      **24-Stunden-Elektrokardiogramm (2)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	HRm (Schläge/min)	Kommentar
	---	-26	107	---
7065	Atenolol	17	108	EKG in 2 Teilen aufgrund einer kurzen Unterbrechung (Technisches Problem)
	Bisoprolol	73	96	Nur 23 Stunden und 12 Minuten wurden aufgezeichnet
	Benazepril	129	77	---
	---	-25	97	4 VES
5380	Atenolol	18	84	---
	Bisoprolol	74	74	---
	Benazepril	130	90	1 VES
	---	-24	92	1 SVES
9812	Atenolol	19	72	EKG in 5 Teilen aufgrund kurzer Unterbrechungen (Technisches Problem)
	Bisoprolol	75	85	---
	Benazepril	132	96	---

SVES: Supraventrikuläre Extrasystole; EKG: Elektrokardiogramm; HRm: mittlere Herzfrequenz;

VES: Ventrikuläre Extrasystole; VErsatz: Ventrikuläre Ersatzsystole

**Tabelle 26**      **24-Stunden-Elektrokardiogramm (3)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	HRm (Schläge/min)	Kommentar
	---	-19	102	---
9059	Bisoprolol	24	74	EKG in 4 Teilen aufgrund kurzer Unterbrechungen (Technisches Problem)
	Benazepril	80	87	---
	Atenolol	136	81	1 VES
	---	-18	92	---
	Bisoprolol	25	76	---
4596	Benazepril	81	70	---
	Atenolol	137	68	1 VES 2 V Ersatz
	---	-17	75	3 V Ersatz
	Bisoprolol	26	76	3 VES
9746	Benazepril	82	69	19 V Ersatz
	Atenolol	138	68	---

SVES: Supraventrikuläre Extrasystole; EKG: Elektrokardiogramm; HRm: mittlere Herzfrequenz;  
VES: Ventrikuläre Extrasystole; V Ersatz: Ventrikuläre Ersatzsystole

Anhang 11 Endothelin-1, big Endothelin-1 und Digoxin

**Tabelle 27** Endothelin-1 Werte (1)

Hund	Testsubstanz	Studientag	Endothelin-1 (pg/mL)		
			prä	post	10 post
9375	---	-28	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	14	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	70	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	126	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
9213	---	-27	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	15	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	71	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	127	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
6285	---	-26	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	16	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	72	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	128	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.

prä: vor körperlicher Belastung; post: direkt nach körperlicher Belastung; 10 post: 10 Minuten nach körperlicher Belastung  
 < det.lim.: unterhalb des Detektionslimits;  
 Detektionslimit von Endothelin-1: 2,33 pg/mL;

**Tabelle 28 Endothelin-1 Werte (2)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	Endothelin-1 (pg/mL)		
			prä	post	10 post
7065	---	-21	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	21	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	77	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	133	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
5380	---	-20	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	22	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	78	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	134	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
9812	---	-19	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	23	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	79	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	135	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.

prä: vor körperlicher Belastung; post: direkt nach körperlicher Belastung; 10 post: 10 Minuten nach körperlicher Belastung  
 < det.lim.: unterhalb des Detektionslimits;  
 Detektionslimit von Endothelin-1: 2,33 pg/mL;

**Tabelle 29 Endothelin-1 Werte (3)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	Endothelin-1 (pg/mL)		
			prä	post	10 post
9059	---	-14	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	28	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	84	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	140	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
4596	---	-13	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	29	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	85	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	141	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
9746	---	-12	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	30	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	86	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	142	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.

prä: vor körperlicher Belastung; post: direkt nach körperlicher Belastung; 10 post: 10 Minuten nach körperlicher Belastung  
 < det.lim.: unterhalb des Detektionslimits;  
 Detektionslimit von Endothelin-1: 2,33 pg/mL;

**Tabelle 30 big Endothelin-1 und Digoxin Werte (1)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	Digoxin (ng/mL)			Big Endothelin (fmol/mL)		
			prä	post	10 post	prä	post	10 post
9375	---	-28	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	14	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	70	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	126	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
9213	---	-27	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	0.67498	2.8034	1.5689
	Benazepril	15	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	2.098	1.3196	0.74187
	Atenolol	71	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	0.30402	1.1189	1.5933
	Bisoprolol	127	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	0.86958	0.43172	0.26145
6285	---	-26	< det.lim.	< det.lim.	0.54156	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	16	0.27104	0.38256	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	72	0.26745	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	128	0.38683	0.26566	0.33333	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.

prä: vor körperlicher Belastung; post: direkt nach körperlicher Belastung; 10 post: 10 Minuten nach körperlicher Belastung

< det.lim.: unterhalb des Detektionslimits;

Detektionslimit von big Endothelin-1: 0,02 fmol/mL;

Detektionslimit von Digoxin: 0,25 ng/mL

**Tabelle 31 big Endothelin-1 und Digoxin Werte (2)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	Digoxin (ng/mL)		Big Endothelin (fmol/mL)			
			prä	post	10 post	prä	post	10 post
7065	---	-21	0.27828	< det.lim.	0.33531	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	21	0.25855	0.41299	0.31768	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	77	0.70617	0.42419	0.36161	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	133	0.36368	0.30429	0.34129	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
5380	---	-20	0.65556	0.96246	0.28745	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	22	0.36161	< det.lim.	0.38044	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	78	0.36575	< det.lim.	0.31383	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	134	0.31575	< det.lim.	0.30619	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
9812	---	-19	0.43099	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	23	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	79	0.43099	0.35341	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	135	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.

prä: vor körperlicher Belastung; post: direkt nach körperlicher Belastung; 10 post: 10 Minuten nach körperlicher Belastung

< det.lim.: unterhalb des Detektionslimits;

Detektionslimit von big Endothelin-1: 0,02 fmol/mL;

Detektionslimit von Digoxin: 0,25 ng/mL

**Tabelle 32 big Endothelin-1 und Digoxin Werte (3)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	Digoxin (ng/mL)		Big Endothelin (fmol/mL)			
			prä	post	10 post	prä	post	10 post
9059	---	-14	0.39761	< det.lim.	0.31191	0.25537	0.39524	0.35875
	Bisoprolol	28	0.53103	< det.lim.	0.40197	< det.lim.	0.12158	0.10333
	Benazepril	84	0.51551	0.3433	0.36992	0.066845	< det.lim.	0.23104
	Atenolol	140	0.82132	0.57959	< det.lim.	0.25537	< det.lim.	< det.lim.
4596	---	-13	0.26032	0.28194	0.33929	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	29	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	85	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	141	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	0.34025
9746	---	-12	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Bisoprolol	30	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Benazepril	86	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.
	Atenolol	142	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.	< det.lim.

prä: vor körperlicher Belastung; post: direkt nach körperlicher Belastung; 10 post: 10 Minuten nach körperlicher Belastung

< det.lim.: unterhalb des Detektionslimits;

Detektionslimit von big Endothelin-1: 0,02 fmol/mL;

Detektionslimit von Digoxin: 0,25 ng/mL

Anhang 12 Adrenalin und Noradrenalin

**Tabelle 33 Adrenalin und Noradrenalin Werte (1)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	Adrenalin (ng/L)			Noradrenalin (ng/L)		
			pre	Post	10 post	pre	post	10 post
9375	---	-28	64	133	47	114	274	76
	Benazepril	14	74	74	31	172	267	76
	Atenolol	70	60	63	55	73	248	90
9213	Bisoprolol	126	38	95	30	99	233	76
	---	-27	13	96	13	134	207	167
	Benazepril	15	40	75	40	208	234	195
6285	Atenolol	71	43	71	60	120	130	110
	Bisoprolol	127	13	91	154	92	165	112
	---	-26	70	151	127	170	198	180
6285	Benazepril	16	194	134	122	242	217	156
	Atenolol	72	115	126	143	206	242	118
	Bisoprolol	128	142	109	257	273	232	190

prä: vor körperlicher Belastung; post: direkt nach körperlicher Belastung; 10 post: 10 Minuten nach körperlicher Belastung

**Tabelle 34 Adrenalin und Noradrenalin Werte (2)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	Adrenalin (ng/L)		Noradrenalin (ng/L)			
			pre	Post	10 post	pre	post	10 post
7065	---	-21	78	163	84	145	284	159
	Atenolol	21	39	88	48	242	434	162
	Bisoprolol	77	71	80	42	56	194	83
	Benazepril	133	13	63	49	58	205	81
5380	---	-20	146	242	142	233	452	229
	Atenolol	22	100	166	53	150	507	185
	Bisoprolol	78	13	92	49	130	472	133
	Benazepril	134	57	147	79	82	271	108
9812	---	-19	87	235	99	120	282	117
	Atenolol	23	63	374	129	147	493	175
	Bisoprolol	79	69	129	64	41	125	78
	Benazepril	135	80	173	100	85	147	112

prä: vor körperlicher Belastung; post: direkt nach körperlicher Belastung; 10 post: 10 Minuten nach körperlicher Belastung

**Tabelle 35 Adrenalin und Noradrenalin Werte (3)**

Hund	Testsubstanz	Studientag	Adrenalin (ng/L)		Noradrenalin (ng/L)	
			pre	Post	pre	Post
9059	---	-14	134	163	187	214
	Bisoprolol	28	50	109	150	301
	Benazepril	84	85	36	82	149
	Atenolol	140	83	89	140	212
4596	---	-13	98	176	208	233
	Bisoprolol	29	167	250	399	581
	Benazepril	85	98	148	138	264
	Atenolol	141	149	220	199	317
9746	---	-12	80	135	121	285
	Bisoprolol	30	44	131	173	373
	Benazepril	86	77	68	43	187
	Atenolol	142	56	86	66	181
				10 post		10 post
				125		155
				77		165
				66		71
				163		171
				152		220
				179		407
				76		138
				128		214
				88		103
				69		154
				33		49
				54		85

prä: vor körperlicher Belastung; post: direkt nach körperlicher Belastung; 10 post: 10 Minuten nach körperlicher Belastung

Anhang 13 Tierversuchsgenehmigung

**Die Durchführung der Versuche an Wirbeltieren in dieser Studie wurde vom Regierungspräsidium Gießen gemäß der letztgültigen Fassung des Tierschutzgesetzes am 12. Januar 2010 unter dem Geschäftszeichen V 54 – 19 c 20-15 (1) GI 18/17 Nr. 91/2009 genehmigt.**

## 9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bedanken bei all denjenigen, die an der Durchführung dieser Studie beteiligt waren.

Herrn Prof. Dr. M. Schneider möchte ich für das Anvertrauen dieser Arbeit, die unerlässliche Unterstützung und die umfassende Betreuung danken.

Besonders möchte ich mich bei Prof. Dr. A. Moritz für die stete Hilfsbereitschaft und die fachlichen Anregungen danken.

Weiterhin gilt mein expliziter Dank Prof. Dr. R. Neiger vor allem für die Schaffung der entsprechenden Voraussetzungen und für den Ansporn zur Durchführung dieser Studie.

Bedanken möchte ich mich ausdrücklich bei der Bayer Animal Health GmbH für die finanzielle Unterstützung und hier vor allem bei Frau Dr. A. Bögel für den fachlichen Rat und die kollegiale Zusammenarbeit.

Ein großer Dank gilt Frau Dr. S. Schiller für den unermüdlichen Einsatz bei den echokardiographischen Untersuchungen sowie Frau Dr. E. Henrich für die tatkräftige und mutmachende Unterstützung.

Für die praktische Hilfe bei den Untersuchungen der Beagle bedanke ich mich sehr herzlich bei den Tiermedizinischen Fachangestellten der Klinik für Kleintiere – Innere Medizin und hier ausdrücklich bei Frau A. Krämer für die geduldigen Hände.

Ebenso gilt mein Dank den Pflegern der Versuchstiere Frau L. Tauber – Mollohan, Frau N. Placht, Frau C. Momberger, Frau J. Kett und Frau C. Lenz für das gewissenhafte Umsorgen und die Beobachtung der Beagle.

Bedanken möchte ich mich ferner für die tatkräftige Unterstützung aller Mitarbeiter des Zentrallabors der Klinik für Kleintiere und hier vor allem bei Frau E. Jüngst – Carter für die geduldige und zeitaufwändige Hilfe bei den ELISA - Messungen.

Nicht zuletzt gilt mein Dank allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern und vor allem Freunden der Klinik für Kleintiere, die mir mit Kollegialität, Toleranz, Vertrauen, praktischer Hilfe, aufmunternden Worten und offenen Ohren stets Mut gemacht haben.

Insbesondere danke ich meinen Freunden und meiner Familie mir diese Arbeit, diesen Beruf und die Freude daran zu ermöglichen.

## 10 Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen abgefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**  
**STAUFENBERGRING 15**  
**D-35396 GIESSEN**

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6122-7



9 7 8 3 8 3 5 1 9 6 1 2 2 7