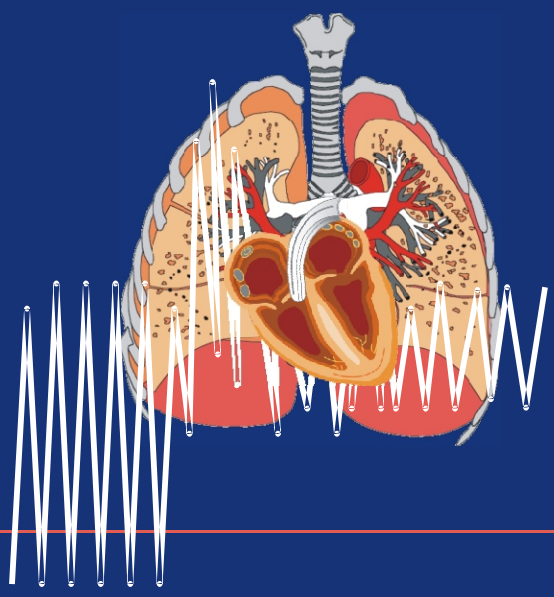
ANDREAS WEIDENBACH

EINSATZ VASOAKTIVER SUBSTANZEN IM MODELL DER ÖLSÄURE-INDUZIERTEN AKUTEN LUNGENSCHÄDIGUNG AM KANINCHEN

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.

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 2005

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.

1st Edition 2005

© 2005 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Wettenberg
Printed in Germany

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

GLEIBERGER WEG 4, D-35435 WETTENBERG
Tel: 06406-4413 Fax: 06406-72757
Email: VVB-IPS@T-ONLINE.DE

www.doktorverlag.de

Aus dem
Institut für Pharmakologie und Toxikologie des
Fachbereichs Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr.med.vet. Ernst Petzinger

und

dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik II des Universitätsklinikums Gießen

Betreuer: Prof. Dr.med. Werner Seeger

Einsatz vasoaktiver Substanzen im Modell der Ölsäure-induzierten akuten Lungenschädigung am Kaninchen

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

Eingereicht von
Andreas Weidenbach
Tierarzt aus Villingen-Schwenningen

Gießen 2005

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

Dekan:

Prof. Dr. Manfred Reinacher

Gutachter:

Prof. Dr. Ernst Petzinger

Prof. Dr. Werner Seeger

PD Dr. Kerstin Fey

Tag der Disputation: 29. Juli 2005

Meiner Ahne

Anna Weidenbach
geborene Pfau
* 13.02.1903 † 24.03.2005

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, 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.

Andreas Weidenbach

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGEN ..... A

AUFGABENSTELLUNG I

I EINLEITUNG ..... - 1 -

1 ARDS ..... - 1 -
1.1 Allgemein ..... - 1 -
1.2 Pathogenese ..... - 2 -
1.3 Therapie ..... - 4 -
1.4 Schädigungsmodelle ..... - 13 -

2 Das Fettemboliesyndrom ..... - 16 -
2.1 Definition ..... - 16 -
2.2 Epidemiologie ..... - 16 -
2.3 Pathogenese ..... - 19 -

3 Der NO-cGMP-Signaltransduktionsweg ..... - 21 -
3.1 NO-Synthasen (NOS) ..... - 22 -
3.2 Stickstoffmonoxid (NO) ..... - 24 -
3.3 Der NO-Rezeptor: Die lösliche Guanylatzyklase ..... - 25 -
3.4 Das Signalmolekül cGMP ..... - 34 -

II MATERIAL UND METHODEN ..... - 43 -

MATERIAL ..... - 43 -

1 Versuchstiere ..... - 43 -
1.1 Tierversuchsantrag ..... - 43 -

2 Verbrauchsmaterial ..... - 44 -

3 Operationsbesteck ..... - 45 -
3.1 Besteck für die Präparation des Versuchstiers ..... - 45 -
3.2 Besteck für die Entnahme der Lunge ..... - 45 -

4 Injektionslösungen ..... - 46 -
4.1 Allgemeine Injektionslösungen ..... - 46 -
4.2 Antikoagulanz ..... - 46 -
4.3 Katecholamin ..... - 46 -
4.4 Lösungsmittel ..... - 46 -
4.5 Muskelrelaxans ..... - 46 -
4.6 Narkotika/Anästhetika ..... - 46 -
4.7 Testsubstanzen ..... - 47 -

5 Gase ... - 47 -
6 Sonstige Materialien ... - 47 -
6.1 Beatmung ... - 47 -
6.2 Blutanalyse ... - 48 -
6.3 Druckmessung ... - 48 -
6.4 Sonstiges ... - 48 -

METHODEN ... - 50 -
1 Versuchsaufbau ... - 50 -
2 Versuchsvorbereitungen ... - 51 -
2.1 Allgemeine Versuchsvorbereitungen ... - 51 -
2.2 Herstellung der Injektionslösungen ... - 51 -
2.3 Vorbereitung des Versuchstiers ... - 53 -
2.4 Operation ... - 55 -
2.5 Einführen des Ballonkatheters ... - 59 -
2.6 Beatmung ... - 60 -
2.7 Heparinisierung und Muskelrelaxation ... - 61 -
2.8 Messung und Aufzeichnung der Drücke ... - 61 -
3 Versuchsablauf ... - 62 -
3.1 Allgemeiner Versuchsablauf ... - 62 -
3.2 Spezielle Versuchsabläufe ... - 63 -
4 Versuchsgruppen ... - 65 -
4.1 Kontrollgruppen ... - 65 -
4.2 Behandlungsgruppen ... - 66 -
5 Messparameter ... - 71 -
5.1 Gemessene Parameter ... - 71 -
5.2 Berechnete Parameter ... - 71 -
5.3 Sonstige Parameter ... - 74 -
6 Versuchsauswertung ... - 75 -
6.1 Datenerhebung ... - 75 -
6.2 Datenauswertung und grafische Darstellung ... - 76 -
6.3 Statistische Auswertung ... - 76 -

III ERGEBNISSE ... - 77 -
1 Ölsäure Kontrolle ... - 78 -
1.1 Hämodynamik ... - 78 -
1.2 Blutparameter ... - 82 -
1.3 Pulmonale Parameter ... - 84 -
Zusammenfassung der Ergebnisse ... - 86 -
2 Versuche mit Stickstoffmonoxid ... - 87 -
2.1 Hämodynamik ... - 87 -

2.2 Blutparameter ..... - 91 -
2.3 Pulmonale Parameter ..... - 93 -
Zusammenfassung der Ergebnisse ..... - 95 -
3 Versuche mit Sildenafil ..... - 96 -
3.1 Hämodynamik ..... - 96 -
3.2 Blutparameter ..... - 100 -
3.3 Pulmonale Parameter ..... - 102 -
Zusammenfassung der Ergebnisse ..... - 104 -
4 Versuche mit Bay 58-2667 ..... - 105 -
4.1 Hämodynamik ..... - 105 -
4.2 Blutparameter ..... - 109 -
4.3 Pulmonale Parameter ..... - 111 -
Zusammenfassung der Ergebnisse ..... - 113 -
5 Versuche mit Bay 41-2272 ..... - 114 -
5.1 Hämodynamik ..... - 114 -
5.2 Blutparameter ..... - 118 -
5.3 Pulmonale Parameter ..... - 120 -
Zusammenfassung der Ergebnisse ..... - 122 -
6 Kombinationsversuche ..... - 123 -
6.1 Hämodynamik ..... - 123 -
6.2 Blutparameter ..... - 128 -
6.3 Pulmonale Parameter ..... - 130 -
Zusammenfassung der Ergebnisse ..... - 132 -
Sildenafil NO ..... - 132 -
Bay 58-2667 NO ..... - 133 -
Bay 41-2272 NO ..... - 133 -

IV DISKUSSION ..... - 137 -

ALLGEMEINE ASPEKTE ..... - 137 -
Das Ölsäuremodell der akuten Lungenschädigung ..... - 137 -
1 Methodische Limitationen ..... - 138 -
1.1 Allgemein ..... - 138 -
1.2 Versuchsparameter ..... - 141 -

DISKUSSION DER ERGEBNISSE ..... - 143 -
1 Diskussion der Kontrollgruppen ..... - 143 -
1.1 Leerversuche ..... - 143 -
1.2 Ölsäure Kontrollen ..... - 143 -
1.3 OA-Sil/Bay-Kontrollen ..... - 159 -
2 Diskussion der Therapiegruppen ..... - 160 -
2.1 NO-Gruppen ..... - 160 -

2.2 Sildenafil-Gruppen ..... - 168 -
2.3 Bay 58-2667 -Gruppen ..... - 175 -
2.4 Bay 41-2272 -Gruppen ..... - 179 -
3 Diskussion der Kombinationsgruppen ..... - 186 -
3.1 NO-Sil-Gruppe ..... - 186 -
3.2 NO-Bay 58-2667 -Gruppe ..... - 191 -
3.3 NO-Bay 41-2272 -Gruppe ..... - 193 -

V ZUSAMMENFASSUNG ..... - 201 -

VI SUMMARY ..... - 205 -

VII AUSBLICK ..... - 207 -

VETERINÄRMEDIZINISCHE RELEVANZ ..... - 208 -

DANKSAGUNG ..... - 209 -

LITERATURÜBERSICHT ..... - 211 -

ABKÜRZUNGEN

IIN	zwei N
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
A	alveolär
a	arteriell
A.	Arterie
$AaDO_2$	Arterioalveoläre Sauerstoffdifferenz
AC	Adenylatzyklase
ADP	Adenosindiphosphat
ALI	akute Lungenschädigung
ANON.	anonymer Autor
ANP	atriales natriuretisches Peptid
AP II	Typ II Alveolarpneumozyten
ARDS	akutes Atemnotsyndrom
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Fläche unter der Kurve
$AvDO_2$	arteriovenöse Sauerstoffdifferenz
BNP	zerebrales natriuretisches Peptid
bzw.	beziehungsweise
c.v.	zentralvenös
Ca^{2+}	Kalziumionen
CaM	Calmodulin
cAMP	zyklisches 3´-5´-Adenosinmonophosphat
CaO_2	arterieller Sauerstoffgehalt
CcO_2	pulmonaler endkapillärer Sauerstoffgehalt
CI	Herzindex
CNP	natriuretisches Peptid vom C Typ
CO	Kohlenmonoxid
CO_2	Kohlendioxid
COPD	chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CvO_2	venöser Sauerstoffgehalt
DAG	Diacylglycerol
DMAEP	Dimethylaminoethylputreanin
DWH	Dreiwegehahn

ECMO	extrakorporale Membranoxygenierung
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS III)
ET	Endothelin
et al.	und andere
$ET_{A/B}$	Endothelin-Rezeptor A bzw. B
etc.	*et cetera*
EVLW	extravaskuläre Lungenflüssigkeit
FE	Fettembolie
FES	Fettemboliesyndrom
FiO_2	Sauerstoffanteil des eingeatmeten Gases
g	Gramm
GC	Guanylatzyklase
H_2O_2	Wasserstoffperoxid
HES	Hydroxyethyl-Stärke
Hb	Hämoglobin
HFJV	Hochfrequenz-Jet-Ventilation
HFOV	Hochfrequenz-Oszillations-Ventilation
HFPPV	Hochfrequenz-Ventilation mit positiven Drücken
HIV	Humanes-Immundefizienz-Virus
HZV	Herzzeitvolumen
i.c.	intrakardial
i.v.	intravenös
I/R	Ischämie/Perperfusion
IC_{50}	halbmaximale inhibitorische Konzentration
IL6	Interleukin 6
iNO	inhaliertes Stickstoffmonoxid
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS II)
IP_3	Inositoltriphosphat
IRAG	IP_3-Rezeptor-assoziertes cGMP-Kinasesubstrat
IUPAC	*international Union for pure and applied Chemistry*
K^+	Kaliumionen
kDa	Kilodalton
Kfc	kapillärer Filtrationskoeffizient
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
Konz.	Konzentration

l	Liter
L-NAME	N^{ω}-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester
mg	Milligramm
MIGET	Multiple-Inerte-Gas-Eliminationstechnik
min	Minute(n)
ml	Milliliter
MLC	leichte Kette des Myosins
MLCK	Myosin-Leicht-Ketten-Kinase
MLCP	Myosin-Leicht-Ketten-Phosphatase
MOF	Multi-Organversagen
MRP	*Multidrug-Resistance*-Protein
mSAP	mittlerer systemisch-arterieller Druck
MW	Mittelwert
N_2	Stickstoff
Na^+	Natriumionen
NaCl	Natriumchlorid
NfκB	Kernfaktor kappa B
NN	Normalnull
nNOS	neuronale Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS I)
NO	Stickstoffmonoxid
NO^-	Stickstoffmonoxid-Anion
NO^+	Stickstoffmonoxid-Kation
$NO^{\bullet}$	Stickstoffmonoxid-Radikal
NO_2^-	Nitrit
NO_3^-	Nitrat
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
NTG	Nitroglycerin
O_2	Sauerstoff
O_2^-	Superoxid-Anion
O_2-Sat	Sauerstoffsättigung
OA	Ölsäure
OAT	organische(r)-Anion-Transporter
ODQ	Quinoxalin-Derivat
p.o.	peroral
p.p.m.	*parts per Million*
PAO_2	alveoläre Sauerstoffspannung

PAP	pulmonalarterieller Druck
PAWP	pulmonalarterieller Verschlussdruck
PB	Luftdruck
pCO_2	Kohlendioxidpartialdruck
PDE	Phosphodiesterase
PEEP	positiv-endexpiratorischer Druck
PET	Polyethylenterephtalat
PFC	Perfluorkarbone
pGC	partikuläre Guanylatzyklase
PGE_1	Prostaglandin E
PGI_2	Prostazyklin
PH	pulmonale Hypertonie
pH	Wasserstoffionenkonzentration
pH_2O	Wasserdampfdruck
PKA	cAMP-abhängige Proteinkinase
PKC	Proteinkinase C
PKG	cGMP-abhängige Proteinkinase
PLC	Phospholipase C
PLV	partielle Flüssigkeitsbeatmung
pO_2	Sauerstoffpartialdruck
PPH	primäre pulmonale Hypertonie
PVR	pulmonalvaskulärer Widerstand
PVRI	pulmonalvaskulärer Widerstandsindex
Q	Perfusion
Qs	Shuntfluss
Qs/Qt	intrapulmonaler Shunt, arteriovenöse Beimischung
Qt	Gesamtdurchblutung
resp.	respektive
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
RQ	respiratorischer Quotient
RVP	rechtsventrikulärer Druck
RVSWI	rechtsventrikulärer Schlagarbeitsindex
SAP	systemisch-arterieller Druck
sec.	Sekunde(n)
sGC	lösliche Guanylatzyklase
Sil	Sildenafil

SIN	3-Morpholinosydnonimin
SNP	Natrium Nitroprussid
SP-	Surfactantprotein A, B, C und D
SR	sarkoplasmatisches Retikulum
STABWN	Standardabweichung
SVI	Schlagvolumenindex
SVR	systemisch-vaskuärer Widerstand
SVRI	systemisch-vaskulärer Widerstandsindex
t	Zeit
TLV	vollständige Flüssigkeitsbeatmung
TNFα	Tumor-Nekrose-Faktor alpha
TXA	Thromboxan A
TXB	Thromboxan B
u.a.	unter anderem
$_v$	venös
V.	Vene
VALI	Beatmungs-assoziierte Lungenschädigung
VILI	Beatmungs-induzierte Lungenschädigung
VP	Beatmungsdruck
vs.	*versus*, gegen
w/d	Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnis
z.B.	zum Beispiel

AUFGABENSTELLUNG

Im Rahmen der Dissertation sollte der Einfluss von vasoaktiven Substanzen auf verschiedene Parameter einer Ölsäure-induzierten Lungenschädigung am narkotisierten Kaninchen evaluiert werden, um mögliche neue therapeutische Ansätze einer vasodilatativen Therapie für das *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) und die Pulmonale Hypertonie (PH) aufzuzeigen.

Dazu wurde in einem ersten Schritt ein stabiles Modell der Ölsäure-induzierten Lungenschädigung etabliert. Da eine akute Lungenschädigung sowohl durch hämodynamische Veränderungen als auch durch Veränderungen der Blutgase charakterisiert werden kann, wurden die Parameter pulmonalarterieller- (PAP), systemisch-arterieller- (SAP) und zentralvenöser Druck (CVP), und die arteriellen und venösen Blutparameter Hb, O_2-Sättigung, pH, pCO_2 und pO_2 erfasst. Mit Hilfe der gemessenen Werte konnten das Herzzeitminutenvolumen, der pulmonalvaskuläre (PVR) und systemisch vaskuläre Widerstand (SVR), sowie der intrapulmonale Shunt (Qs/Qt) berechnet werden. Als Parameter der pulmonalen *Compliance* und Ödementstehung wurde der Beatmungsdruck gemessen und das Verhältnis von Nass- zu Trockengewicht der Lunge postmortal bestimmt.

In einem zweiten Schritt wurde der Einfluss vasoaktiver Substanzen auf die oben genannten Parameter untersucht. Da die Weiterentwicklung des Konzeptes der selektiven pulmonalen Vasodilatation, also der Relaxion von Gefäßen in gut belüfteten Lungenbereichen, im Vordergrund stand, wurde die Wirkung von Substanzen untersucht, die den Stickstoffmonoxid-cGMP-Signalweg beeinflussen. Im Einzelnen wurden inhaliertes Stickstoffmonoxid (iNO), der Phosphodiesterase-Inhibitor Sildenafil, der Guanylatzyklase-Aktivator Bay-58-2667 und der Guanylatzyklase-Stimulator Bay 41-2272 in unterschiedlichen Konzentrationen auf Ihren Einfluss auf die gemessenen Parameter hin überprüft. Zusätzlich wurden Kombinationsversuche mit inhaliertem Stickstoffmonoxid und den jeweiligen anderen Vasodilatoren durchgeführt.

I EINLEITUNG

1 ARDS

1.1 Allgemein

Der 1967 erstmalig von Ashbaugh et al. [11] beschriebene Begriff ARDS (*Acute Respiratory Distress Syndrome*) beschreibt ein Syndrom, bestehend aus charakteristischen klinischen Symptomen und pathophysiologischen Veränderungen, die den Eindruck eines uniformen Krankheitsgeschehens vermitteln. Neben dem Auftreten einer schweren Dyspnoe, Tachypnoe und therapieresistenter Hypoxämie, ist das akute Lungenversagen radiologisch durch bilaterale, diffuse alveoläre Infiltrate gekennzeichnet (siehe Tabelle 1). Die pathophysiologischen Merkmale des ARDS sind ein vergrößerter intrapulmonaler Rechts-Links-Shunt, ein Permeabilitätslungenödem, eine verminderte pulmonale *Compliance* und die pulmonalarterielle Hypertonie [109].

Tabelle 1: ARDS-Definition der Amerikanisch-Europäischen Konsensus-Konferenz [33]

	ALI	**ARDS**
Zeitlicher Verlauf	Akut	Akut
p_aO_2/FiO_2 (PEEP unabh.)	≤ 300mmHg	≤ 200mmHg
Thoraxröntgenbild	Bilaterale Infiltrate	Bilaterale Infiltrate
PCWP	≤ 18mmHg*	≤ 18mmHg*

* oder kein klinischer Hinweis auf linksatriale Hypertonie

Aufgrund unterschiedlicher Definitionen des ARDS und dem Zugrundelegen verschiedener Kriterien ist es schwierig, die Inzidenz exakt festzulegen, und Studien untereinander zu vergleichen [13,400]. Es werden jedoch Häufigkeiten von weltweit 3-88 Fällen pro 100.000 Einwohnern angegeben [34,51,54,129,213]. Eine kürzliche Analyse der ARDS-Netzwerk-Datenbank ergab für die USA eine geschätzte Inzidenz von 64 Fällen pro 100.000 Einwohnern [129]. Mit dieser Inzidenz und der hohen Letalität (siehe unten) stellt das ARDS ein persistierendes intensivmedizinisches Problem dar [420].

Das akute Lungenversagen tritt üblicherweise infolge von, oder im Zusammenhang mit anderen akuten Erkrankungen auf, die kausal für die Entstehung der Lungenschädigung verantwortlich gemacht werden. So gehen ca. 75% aller ARDS-Fälle auf eine der vier Ätiologien Polytrauma, Pneumonie, Sepsis oder Aspiration zurück [212].

Man unterscheidet ein ARDS nach pulmonaler, direkter Lungenschädigung (pulmonale Infektionen, Aspiration von Mageninhalt, Fettembolie, Rauchgasvergiftungen, Beinahe-Ertrinken und Lungenkontusion) von einem ARDS, das auf eine extrapulmonale, indirekte Ätiologie (Sepsis, Polytrauma, mehrfache Bluttransfusionen, akute Pankreatitis und Verbrennungen) zurückgeht [54,423]. Dabei sind Sepsis und Aspirationspneumonie mit dem höchsten Risiko assoziiert, eine akute Lungenschädigung auszulösen [13,417].

Die Mortalität wird in neuerer Zeit mit einer Rate von 40-60% angegeben [51]. Der Großteil der Betroffenen verstirbt nicht aufgrund der respiratorischen Erkrankung, sondern an Multi-Organversagen (MOF), häufig ausgelöst durch septischen Schock [423]. Vergleichsstudien weisen darauf hin, dass die Sterberate aufgrund verbesserter Therapiemöglichkeiten innerhalb der letzten zwei Jahrzehnte gesunken ist [2,10,54,172,256,281,325,417]. Als mögliche Erklärung für diesen Rückgang kommen effektivere Behandlungsmöglichkeiten, insbesondere der Sepsis, und verbesserte Beatmungsmethoden in Betracht [49].

1.2 Pathogenese

Obwohl der Entstehung des ARDS vielfältige Ursachen zugrunde liegen können, verläuft die sich an die Noxe anschließende Reaktion der Lunge stets gleichförmig, so dass sich pathologisch und histologisch stets dieselben Veränderungen finden lassen. Das ARDS kann somit pathogenetisch als stets gleich ablaufende Endstrecke verschiedener ätiologischer Faktoren betrachtet werden [109].

Eine zentrale Position für die Entstehung des ARDS stellen die massiven entzündlichen Veränderungen in der Lunge dar, die durch Aktivierung von Entzündungszellen und die Freisetzung einer Vielzahl von Mediatoren ausgelöst werden [303]. Dabei spielen insbesondere Arachidonsäure-Derivate, wie Prostaglandine und Leukotriene, Faktoren des Gerinnungs- und Komplementsystems, Histamin und Zytokine wie Interleukine und Tumor-Nekrose-Faktor eine Rolle [109].

Die Wirkung der Mediatoren bedingt eine Schädigung der alveolokapillären Membranen, woraus eine Permeabilitätserhöhung der alveolär-kapillären Barriere resultiert. Durch die Permeabilitätserhöhung kann protein- und zellreiche Flüssigkeit in das Interstitium und die Alveolen eindringen, welche zusammen mit den Produkten aktivierter neutrophiler Granulozyten zu einer Dysfunktion des Surfactants führt [18]. Zusätzlich kommt es durch die inflammatorischen Prozesse zur Schädigung und zum Verlust von Surfactant bildenden Pneumozyten des Typs II. Damit kommt es neben der Beeinträchtigung der Surfactantfunktion zu einem Surfactantmangel und in der Folge zu einer erhöhten Oberflächenspan-

nung in den Alveolen, was letztlich zur Kollabierung derselben und zur Bildung von Atelektasen führt. Bei weiter bestehender Perfusion entsteht somit eine Ventilations-Perfusions-Störung, die in einer Erhöhung des intrapulmonalen Rechts-Links-Shunt mündet (siehe Abbildung 1).

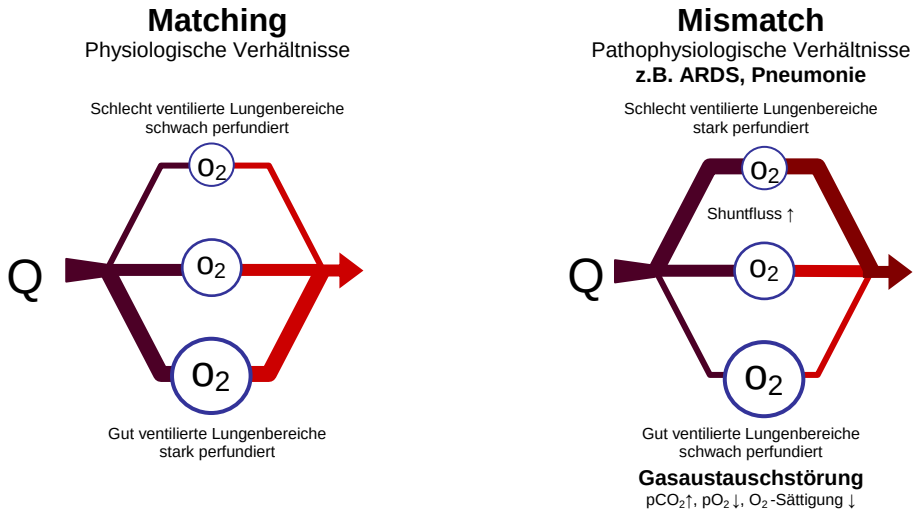


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Ventilations-Perfusions-Störung bei ARDS

Unter Matching versteht man die optimale Anpassung des transpulmonalen Blutflusses an die Ventilation, wie sie unter physiologischen Verhältnissen vorherrscht. Dabei werden gut belüftete Lungenbereiche stark, und schlecht ventilierte Lungenbereiche schwach perfundiert. Beim ARDS kommt es zu einer pathologischen Umverteilung des Blutflusses (Mismatch) zu Gunsten schlecht ventilierter, ödematöser oder atelektatischer Lungenareale mit der Folge eines intrapulmonalen Shuntflusses und konsekutiver schwerer Gasaustauschstörung.

Des Weiteren sinkt die *Compliance* ab, der alveoläre Totraum hingegen nimmt zu, da Lungenareale zwar belüftet, aber aufgrund einer pulmonalen Hypertonie nicht mehr ausreichend perfundiert werden.

Die pulmonale Hypertonie tritt u.a. durch lokale Thrombenbildung in den Gefäßen, hypoxische Vasokonstriktion und die Einwirkung verschiedener Mediatoren, wie beispielsweise Endothelin und Thromboxan auf [428,439]. Die Entstehung der pulmonalen Hypertonie ist ein Charakteristikum des ARDS, dessen Ursache noch nicht restlos erklärt werden kann.

1.3 Therapie

Eine kausale Therapie des ARDS ist bisher nicht möglich, so dass eine symptomatische, unterstützende Therapie im Vordergrund steht. Die Behandlung des auslösenden Ereignisses, wie z.B. einer Pneumonie oder Sepsis stellt einen wichtigen Aspekt der Therapie dar, um eine Perpetuierung des Geschehens zu verhindern [(419)]. Des Weiteren sollten Komplikationen wie nosokomiale Infektionen, gastrointestinale Blutungen (Ulcus-Prophylaxe mit H^+-Blockern) und Thromboembolieen ausgeschlossen werden. Die künstliche Ernährung der Patienten sollte über eine Magenschlundsonde erfolgen, da bei parenteraler Ernährung das Risiko einer Katheter-induzierten Sepsis besteht und der Effekt von intravenösen Fettemulsionen kontrovers diskutiert wird [(94,194,209,239,242,381)]. Das Hauptziel einer ARDS Therapie ist jedoch die Aufrechterhaltung der Oxygenierung und Vermeidung des Fortschreitens der Lungenschädigung.

1.3.1 Beatmung

Da beim akuten Lungenversagen der intrapulmonale Rechts-Links-Shunt, aufgrund ausgeprägter Atelektasen- und Ödembildung, die wesentliche pathophysiologische Komponente der Gasaustauschstörung darstellt, führt auch die Erhöhung der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration zu keiner adäquaten Verbesserung der Oxygenierung. Deshalb besteht eine wesentliche Therapiemaßnahme zur Aufrechterhaltung der pulmonalen Funktion in der Stabilisierung und Rekrutierung einer ausreichend großen Gasaustauschfläche durch die maschinelle Beatmung [(28,180)].

➢ Lungenprotektive Beatmung

Anfangs setzte man daher im Rahmen der konventionellen Beatmung von ARDS-Patienten hohe Atemzugvolumina von 10-15ml/kg KG und positiv-endexpiratorische Drücken von 0 bis 5cm H_2O ein, um die Lunge zu blähen und damit der Bildung von Atelektasen entgegenzuwirken und die Oxygenierung bei physiologischen pCO_2-Werten zu verbessern [(235)]. In der Folgezeit ergaben tierexperimentelle Studien (besprochen in Dreyfuss & Saumon [(86)]), dass dieses Beatmungskonzept im Rahmen eines *ventilator induced lung injury* (VILI) die Lunge durch Baro- und Volutraumen deutlich schädigt. Als Folge dieser Erkenntnisse wurde das Konzept der lungenprotektiven Beatmung mit kleinen Atemzugvolumina von 6-10ml/kg KG, niedrigen Spitzendrücken und ausreichend hohen positiv-endexpiratorischen Drücken entwickelt. Hickling et al. zeigten, dass ARDS-Patienten, die mit kleinen Tidalvolumina beatmet wurden, im Vergleich zu Kontrollgruppen eine bessere Überlebensrate aufwiesen [(146)]. Obwohl man im Vergleich zur konventionellen Beatmung schlechtere

Blutgaswerte (niedrigere Oxygenierung und Anstieg des pCO_2 im Rahmen einer permissiven Hyperkapnie auf bis zu 70mmHg) und eine damit verbundene leichte bis milde respiratorische Azidose in Kauf nehmen muss [49,211], wurde mit dem neuen Behandlungsregimen in einer Studie des amerikanischen ARDS-Netzwerks eine deutliche Reduktion der Letalität von 39,8% auf 31,9% (≙ 22%) nachgewiesen [10]. Obwohl bereits frühere Studien einen deutlichen Effekt kleiner Atemzugvolumina zeigten [7,48], gelang der Durchbruch des Konzepts der lungenprotektiven Beatmung mit niedrigen Atemzugvolumen als Standardmethode zur Behandlung des ARDS mit der ARDS-Netzwerk-Studie [10].

Die Anwendung von positiv-endexpiratorischen Drücken (PEEP) ist seit Jahrzehnten ein integraler Bestandteil in der Beatmungstherapie des ARDS. Durch die translaryngeale Intubation im Rahmen einer invasiven künstlichen Beatmung, kommt es zum Verlust der natürlichen Glottisfunktion. Dadurch fallen die endexpiratorischen Drücke auf ein Minimum ab, was zur vermehrten Atelektasenbildung führt. Um das Kollabieren der Alveolen zu vermeiden, bzw. kollabierte Lungenbläschen wieder zu eröffnen, wird in der Beatmungstherapie seit den späten sechziger Jahren [245] positiv-endexspiratorischer Druck eingesetzt. Auch in der Erstbeschreibung des ARDS durch Ashbaugh [11] wurde die Applikation von PEEP bei der Bekämpfung von Atelektasen und Hypoxie beschrieben. Durch die Verwendung von positiv-endexpiratorischen Drücken kann neben einer Verbesserung der Oxygenierung durch Reduktion des intrapulmonalen Shuntflusses und Verbesserung der V/Q-Verhältnisse aufgrund einer Erhöhung der funktionellen Residualkapazität, die Entstehung von alveolären Ödemen durch Surfactantverlust verhindert werden. Zudem kann durch die Verhinderung der alveolären De-Rekrutierung und des zyklischen Kollaps und der Wiedereröffnung von Alveolen eine Verminderung von Scherkräften und der damit verbundenen beatmungs-assozierten Lungenschädigung (VALI) erreicht werden [424]. Allerdings führen hohe positiv-endexpiratorische Drücke durch Beeinflussung der rechts- und linksventrikulären Vor- bzw. Nachlast zu hämodynamischen Störungen [298] wie vermindertem Herzzeitvolumen [171]. Des Weiteren kann es insbesondere bei Patienten mit direkter Lungenschädigung (z.B. aufgrund einer Pneumonie) durch hohe inspiratorische Spitzendrücke im Rahmen eines Barotraumas zu einer vermehrten Dehnung des Lungengewebes und der damit verbundenen Freisetzung von Zytokinen (IL6) kommen. Daher müssen bei der Wahl des PEEP die positiven Effekte gegen die möglichen negativen Folgen abgewogen werden und die optimale Höhe des PEEP individuell festgelegt werden. Die in der Studie des ARDS-Netzwerks [10] angegebenen PEEP-FiO_2-Kombinationen können jedoch im Rahmen einer Standardtherapie als Leitwerte herangezogen werden [49].

➢ Open-Lung-Konzept

Neben der lungenprotektiven Beatmung können weitere Beatmungsformen zur Verbesserung der ARDS-assoziierten Gasaustauschstörung eingesetzt werden. So stellte Lachman im Jahr 1992 das *open-lung*-Konzept zur Rekrutierung von Lungenarealen vor [(202)]. Dabei wird im Rahmen von Rekrutierungsmanövern die Lunge durch eine kurzzeitige Erhöhung des intrapulmonalen Drucks, durch einen positiven Druck von ca. 40cm H_2O für 30-60sec., kurzzeitig gebläht, um atelektatische Lungenbezirke zu eröffnen, die durch einen hohen PEEP offen gehalten werden können (siehe dazu auch Engelmann [(90)]). Ergänzend oder alternativ dazu kann im Rahmen einer *inverse ratio ventilation*, mit Inspirations- zu Expirations- Verhältnissen von 2:1 oder 3:1 ein auto- oder intrinischer PEEP erzeugt werden.

➢ Hochfrequenzventilation

Unter dem Begriff der Hochfrequenzventilation werden unterschiedliche Beatmungstechniken zusammengefasst, denen im Vergleich zu normaler Spontanatmung eine mindestens viermal höhere Atemfrequenz gemeinsam ist [(37)]. Abhängig von der Impulsfrequenz wird die *high-frequency positiv pressure ventilation* (HFPPV), die *high-frequency jet ventilation* (HFJV) und die *high-frequency oscillatory ventilation* (HFOV) unterschieden. Bei Verwendung dieser Hochfrequenzverfahren sind die Hubvolumina wesentlich kleiner (häufig kleiner als der anatomische Totraum) und die Spitzendrücke folglich niedriger als unter normaler Beatmung. Durch die kleineren Druckamplituden werden die Scherkräfte und die damit verbundene mechanische Belastung des Lungengewebes auf ein Minimum reduziert [(231)]. In der Ergänzungsausgabe vom März 2005 des offiziellen Journals der Gesellschaft für Intensivmedizin (Critical Care Medicine 33 (3) Supplement) können mehrere wissenschaftliche Beiträge zu diesem Themengebiet gefunden werden.

➢ Flüssigkeitsbeatmung

Die von Fuhrman et al. erstmals 1991 [(103)] als *perfluorocarbon-associated gas exchange* beschriebene partielle Flüssigkeitsbeatmung (PLV) ist eine relativ neue Behandlungsoption für das ARDS [(310)]. PLV beschreibt die Kombination von konventioneller Gasbeatmung mit einer partiellen Füllung des Alveolarraumes mit einer gastransportierenden Flüssigkeit. Als flüssiges Atemmedium kommen dabei Perfluorkarbone (PFC) zur Anwendung [(145)]. Diese Substanzgruppe wird in der Medizin aufgrund ihrer hohen Gaslösungseigenschaften bereits als Blutersatzstoff eingesetzt. Im Vergleich zu Wasser liegt diese für O_2 ca. 17-mal und für CO_2 ca. viermal höher [(313)]. Daneben haben Perfluorkarbone eine niedrige Oberflächenspannung und daher die Tendenz, vergleichbar mit Surfactant, sich spontan auf Ober-

flächen auszubreiten. So können Perfluorkarbone auch in den geschädigten Lungenabschnitten bis in die kleinsten Atemwege und Alveolen eindringen [145] und dort die Alveolen eröffnen und offen halten [424].

Bei der vollständigen Flüssigkeitsbeatmung (TLV) werden die Lungen vollständig mit oxygeniertem Perfluorkarbon gefüllt und die physiologische alveoläre Gas-Gewebe-Barriere vollkommen eliminiert. Die Perfluorokarbonvolumina von der Größe eines normalen Atemzugvolumens werden über den Beatmungstubus in die Lunge gepumpt, während die Drainage aus der Lunge passiv erfolgt. Die klinische Einführung der TLV wird trotz positiver Studien durch den hohen technischen Aufwand behindert [310]. Im Gegensatz dazu kam es aufgrund der einfachen Handhabung und überzeugenden experimentellen Ergebnisse der PLV schnell zum klinischen Einsatz bei Patienten mit ARDS. Obwohl die experimentell erhobenen Befunde wie Verbesserung der Oxygenierung und Normalisierung des pCO_2 [40,41] bestätigt werden konnten, ergaben randomisierte Studien bezüglich der Hauptzielparameter Mortalität und beatmungsfreie Tage keinen Vorteil gegenüber den Kontrollen [23,148]. Zurzeit kann keine eindeutige Aussage darüber getroffen werden, welche Patienten mit ARDS auf eine PLV Behandlung ansprechen [183].

➢ Extrakorporale Membranoxygenierung

In einigen medizinischen Zentren wird die extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO) zur Behandlung von ARDS-Patienten eingesetzt. Bei dieser seit den 1980er-Jahren angewendeten Therapiemaßnahme wird Blut aus dem venösen System über ein Schlauchsystem und künstliche Lungen decarboxyliert und mit Sauerstoff angereichert, bevor es wieder in den Körper eingeleitet wird. Das wesentliche Rationale dieser aufwendigen Therapieform liegt darin, eine trotz Einsatz aller konservativen Maßnahmen drohende lebensbedrohliche Hypoxie zu verhindern, und der Lunge Zeit zur Heilung zu geben [198]. Trotz zunehmenden Erfahrungen auf dem Gebiet der ECMO wird ihr Einsatz immer noch kontrovers diskutiert [199]. Neue Studien weisen jedoch auf erhöhte Überlebensraten bei der Anwendung der ECMO als *ultima ratio* bei schwersten ARDS-Formen hin [258]. Eine schwedische Forschungsgruppe konnte damit eine hohe Überlebensrate bei ARDS-Patienten erzielen [217].

➢ Lagerungstherapie

Die Beatmung in Bauchlage hat sich seit 1976 [297], aufgrund des geringen technischen Aufwands und der damit verbundenen Erfolge für den Patienten bereits fest in die ARDS-Therapie integriert [424]. Obwohl viele Erklärungsansätze, wie die Schwerkraft-vermittelte Umschichtung des Lungenödems, Veränderung des hydrostatischen Drucks, Umverteilung

der Durchblutung [149], Erhöhung der Residualkapazität und Veränderung der Ventilationsverhältnisse [424] begründet sind, gibt es bis zum heutigen Zeitpunkt keine klinischen Erhebungen, die eine Reduktion der Mortalität durch Beatmung in Bauchlage belegen [296]. Dennoch wird die Anwendung der Bauchlagerung bei schwerem ARDS im Gegensatz zum prophylaktischen Einsatz beim ALI empfohlen [199]. Als Alternative zur Beatmung in Bauchlage kommt die kontinuierliche Rotation der Patienten um die Längsachse mit bis zu 60° Seitenlage in Betracht. Aufgrund fehlender Studien können keine Empfehlungen zum Einsatz der Rotationstherapie gegeben werden [199].

1.3.2 Pharmakologische Ansätze

➢ Einsatz von Surfactant

Bereits Ashbaugh et al. [11] vermuteten, dass das Surfactantsystem eine Rolle in der Pathophysiologie des Lungenversagens spielen könnte. Da Alveolen dem Gesetz von La Place folgend dazu neigen, zu kollabieren, ist das Surfactant der Lunge (SP-B und SP-C) aufgrund seiner Eigenschaft, die Oberflächenspannung herabzusetzen und somit die Alveolen offen zu halten, für die physiologische Lungenfunktion von zentraler Bedeutung. Zudem spielen die Surfactantproteine A und D eine wichtige immunmodulatorische Rolle [199,424]. Im Rahmen eines ARDS kommt es durch die Schädigung der Surfactant produzierenden Typ II Alveolarpneumozyten (AP II), die ebenfalls eine wichtige Rolle im Ionen- und Flüssigkeitstransport der Lunge spielen, als auch durch das pulmonale Ödem zu einer Beeinträchtigung des Surfactantsystems [24,139]. Von daher wird als neuer, wenn auch nicht kausaler Therapieansatz des akuten Lungenversagens des Erwachsenen, die Substitution von natürlichem und synthetischem Surfactant diskutiert und bereits klinisch angewendet (besprochen in Lewis & Brackenbury [214] und Haitsma [139]). Eine umfangreiche Studie von Spragg et al. [383] kommt jedoch zu dem Schluss, dass die Verwendung von exogenem Surfactant in einer heterogenen Gruppe von ARDS-Patienten zu keiner verbesserten Überlebensrate führt. Dennoch konnte eine Verbesserung des Gasaustauschs innerhalb einer 24-stündigen Behandlung mit Surfactant nachgewiesen werden.

➢ Antinflammatorische Ansätze

Im pathophysiologischen Geschehen des ARDS spielen inflammatorische Prozesse eine wichtige Rolle. Neben der Rekrutierung von Neutrophilen und Monozyten wird diese Entzündungsreaktion auch durch die Freisetzung von proinflammatorischen Molekülen, Sauerstoffradikalen und Enzymen ausgelöst.

Obwohl in einigen Fallberichten positive Effekte einer Glukokortikoidtherapie bei ARDS-Patienten beschrieben wurden [246,247,248], konnten in randomisiert kontrollierten Studien keine Verbesserungen durch hohe Glukokortikoid-Gaben festgestellt werden. Aufgrund der positiven Ergebnisse der Studie von Annane et al. [8] kann die niedrigdosierte Gabe von Glukokortikoiden in der Spätphase des ARDS empfohlen werden [199]. Für die nicht-steoridalen Antiphlogistika wird Ibuprofen trotz vielfältiger positiver Ergebnisse in tierexperimentellen Studien und Fallberichten [253] nicht für die Therapie des ARDS empfohlen [199]. Die Gabe von Antioxidantien wie Azetylzystein oder Prozystein in der Therapie des ARDS ist aufgrund der widersprüchlichen Ergebnisse für unterschiedliche Dosierungen zurzeit noch nicht gesichert [199].

- **Einsatz von Vasodilatantien**

Die meisten ARDS-Patienten entwickeln im Verlauf der Erkrankung mit mittleren pulmonalarteriellen Drücken um 30mmHg eine leichte bis mittelgradige pulmonale Hypertonie (PH) [173]. Bei Patienten, die an akutem Lungenversagen versterben, kann zudem ein Anstieg des pulmonalvaskulären Widerstands beobachtet werden [49]. Der Grund für die Entwicklung einer ARDS-assoziierten pulmonalen Hypertonie ist multifaktoriell [19]. Neben pulmonalvaskulärer Obstruktion und Obliteration kommt auch die Hypoxie- bzw. inflammatorisch-vermittelte prä- und postkapilläre Vasokonstriktion und die Kompression pulmonaler Gefäße durch interstitielle Ödeme und hohen PEEP in Betracht [19,49,257,420,424]. Da die PH durch Erhöhung der Nachlast zu einer Beeinträchtigung der rechtsventrikulären Auswurfleistung und Verminderung des Herzzeitvolumens führt [63,91,97,415], kann es durch eine PH, verbunden mit einer Störung der Ventilations-Perfusions-Verhältnisse und Erhöhung des intrapulmonalen Shunts (Qs/Qt) zu einer Reduktion der systemischen O_2-Versorgung kommen, was wiederum die Gefahr eines generellen Organversagens mit sich bringt. Zudem kann ein erhöhter pulmonalvaskulärer Druck über den vermehrten hydrostatischen Druck zur Bildung oder Verstärkung eines Lungenödems führen [223]. Des Weiteren kann es durch eine manifeste Dilatation des rechten Ventrikels (*cor pulmonale*), die bei ca. 25% der Patienten vorkommt [415], zur Beeinträchtigung des linken Ventrikels kommen [171], was den Gasaustausch weiter verschlechtern [19] oder in einem akuten Herz-Kreislaufversagen resultieren kann. Da mit der Höhe und Dauer des Lungenhochdrucks auch die Letalität der Patienten zunimmt, stellt die Senkung des pulmonalarteriellen Drucks, neben der Verbesserung der Oxygenierung, ein vordringliches Therapieziel dar [452]. In einer Vielzahl von Studien wurde versucht, den pulmonalarteriellen Druck durch Einsatz von intravenösen pulmonalen Vasodilatoren zu senken. Neben Hydralazin, Nitra-

ten, Nitroprussid [307], β_2-Mimetika, Kalzium-Antagonisten und Bronchodilatatoren kamen auch die Prostanglandine PGE_1 und PGI_2 zum Einsatz, die jedoch aufgrund ihrer systemischen Wirkung in der therapeutischen Anwendung zur Senkung des PAP beschränkt waren [49,257,420]. Denn durch die gleichzeitige Vasodilatation pulmonaler und systemischer Gefäße kam es durch eine Erhöhung der Shuntfraktion zu einer weiteren Beeinträchtigung des Gasaustauschs [320] (siehe Abbildung 2).

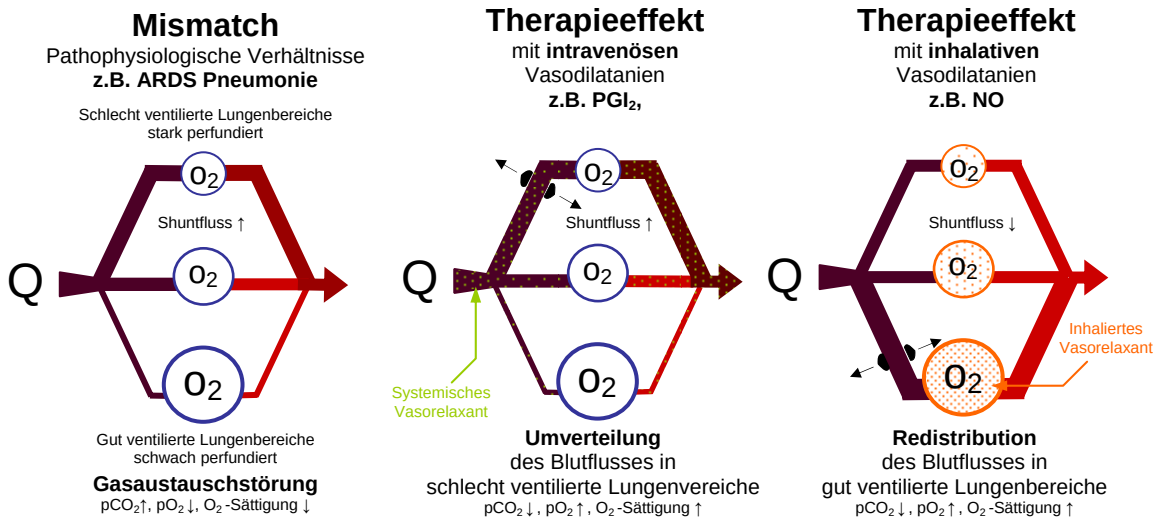


Abbildung 2: Konzept der selektiven pulmonalen Vasodilatation durch die transbronchiale, inhalative (Gas/Aerosol) Applikation eines Vasodilators

Beim ARDS erfolgt ein Teil der Perfusion durch schlecht ventilierte, ödematöse oder atelektatische Lungenareale, mit der Folge eines intrapulmonalen Shuntflusses und konsekutiver schwerer Gasaustauschstörung. Die systemische Applikation eines Vasodilators führt zu einer unselektiven Weitstellung aller Gefäßareale. Da schlecht ventilierte Lungenbereiche perfundiert werden, kommt es durch die Gefäßweitstellung in diesen Gebieten zu einer Zunahme des Shunts. Zudem kann es durch eine periphere Gefäßweitstellung zu einem systemischen Blutdruckabfall kommen. Bei inhalativer Applikation eines Vasodilators gelangt dieser nur in gut belüftete Lungenareale und bewirkt somit durch hohe lokale Konzentrationen eine selektive pulmonale Gefäßweitstellung in gut ventilierten Lungenbereichen. Es kommt zur Umverteilung des Blutflusses von schlecht zu gut belüfteten Arealen und damit zur Verbesserung der Oxygenierung. Man spricht von intrapulmonaler Selektivität eines Vasodilators.

o *Inhaliertes Stickstoffmonoxid*

Pepke-Zabe und Mitarbeiter [293] konnten 1991 mit Stickstoffmonoxid (NO) als erstem klinisch eingesetzten inhalativem Vasodilator eine selektive pulmonale Vasodilatation bei pulmonaler Hypertonie erzielen. Zwei Jahre später wurde durch Rossaint et al. [320] die inhalative Anwendung von NO bei beatmungspflichtigen Patienten mit ARDS beschrieben. Mit Hilfe der Multiplen-Inerten-Gas-Eliminationstechnik (MIGET) wurde die Vermutung bestätigt, dass inhaliertes NO (iNO) dabei vorwiegend an Gefäßen von ventilierten Lungenabschnitten dilatierend wirkt, und es konsekutiv zu einer Umverteilung des Blutstromes zu diesen Abschnitten kommt, was zu einer Verbesserung des Ventilations-Perfusions-Verhältnisses führt [186]. Somit konnte neben der pulmonalen Selektivität des inhalierten NO auch eine intrapulmonale Selektivität, in Form einer bevorzugten Vasodilatation in gut ventilierten Lungenarealen nachgewiesen werden. Dieses vorteilhafte Wirkprofil erklärt sich daraus, dass über die Ventilation Widerstandsgefäße in gut belüfteten Bezirken der Lunge von extravasal erreicht werden, die Dosierung des Vasodilators also durch die regionale Ventilation bestimmt wird und das NO unmittelbar nach seinem Übertritt in den Intravasalraum durch die Bindung an Hämoglobin inaktiviert wird [420]. Zahlreiche Folgeuntersuchungen zur Anwendung von NO bei ARDS schlossen sich an [31,36,304,305,321]. So konnte unter der Inhalation von 1-40 *parts per millio*n (ppm) NO bei einem Teil der Patienten eine Reduktion des pulmonalvaskulären Widerstands um 20-30% erreicht werden, die von einer beeindruckenden Verbesserung der arteriellen Oxygenierung ohne Beeinflussung des systemischen Drucks begleitet wurde. Die Verbesserung der Oxygenierung ermöglichte häufig eine Senkung der Intensität der Beatmung (Beatmungsdrücke, FiO_2), was mit der Hoffnung verbunden war, weitere Schädigungen durch ein Barotrauma zu verhindern [420].

Doch die zunächst sehr optimistischen Einschätzungen wurden in zweierlei Hinsicht getrübt. Zum einen sprechen zwischen 35% [321] und >50% [200] der ARDS-Patienten, als so genannte *non-responder* auf die NO-Inhalation nicht an. Eine Erklärung für diese unterschiedliche Ansprechrate der Patienten konnte bislang noch nicht sicher belegt werden, doch wird eine veränderte NO-cGMP-Signaltransduktion als verantwortlich angesehen [125,420].

Zum anderen erbrachte eine erste multizentrisch durchgeführte, Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie bei 177 Patienten keine Senkung der Letalität unter NO-Applikation (Dellinger et al. [75] zitiert aus Walmrath et al. [420]; [76]). Auch Rossaint und Mitarbeiter [321] konnten in einer retrospektiven Studie bei 87 ARDS-Patienten keinen Einfluss von iNO

auf die Überlebensrate konstatieren. Obwohl Taylor et al. [402] eine kurzzeitige Verbesserung der Oxygenierung beobachten konnten, wurde die Mortalität und Dauer der Beatmung bei ALI-Patienten durch iNO nicht beeinflusst.

Da die Ergebnisse mehrerer klinischer und tierexperimenteller Untersuchungen bezüglich der Wirkung von iNO zudem gegensätzlich sind [20], kann der unkritische Einsatz von Stickstoffmonoxid nicht empfohlen werden [199]. Aufgrund der Ergebnisse von Lundin et al. [232] ist die Inhalation von Stickstoffmonoxid als Therapieoption bei schwerem ARDS jedoch gesichert, da die Gefahr einer hypoxischen Schädigung und der Einsatz der ECMO reduziert werden konnte [199,227].

- ***Vernebeltes Prostazyklin***

Die Vernebelung von Prostazyklin (PGI_2), einem vom Endothel gebildeten endogenem Prostanoid des Zyklooxygenasewegs, ist eine weitere Möglichkeit, durch eine selektive Vasodilatation in ventilierten Lungenarealen und der damit verbundenen Reduktion des Shuntflusses, eine Verbesserung der Oxygenierung zu erzielen [225]. PGI_2 scheint bei dieser Applikationsform, im Gegensatz zur intravenösen Applikation [252,308,320], nur gering ausgeprägte systemische Wirkungen zu haben, wobei die Effekte auf den Gasaustausch mit iNO vergleichbar sind [284,421,453]. Da die applizierte Menge Prostazyklin aus der vernebelten Menge PGI_2 berechnet wird, kann die pulmonale Konzentration und die absorbierte Menge im Gegensatz zu iNO nicht genau festgelegt werden. Daher kann es bei der Anwendung hoher Dosen durch ein Übertreten von PGI_2 in den Körperkreislauf zu einem systemischen Blutdruckabfall und einer Verschlechterung des Gasaustauschs kommen. Olschewski und Mitarbeiter konnten jedoch zeigen, dass die Vernebelung des stabilen PGI_2-Analogs Iloprost bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie zu einer langandauernden Senkung des PAP führte [278,279]. Die Zulassung des stabilen PGI_2 Ventavis® zur Behandlung der pulmonalen Hypertonie bestätigt die positiven Eigenschaften der Prostazyklinprodukte. Da die Wirkung von PGI_2 durch cAMP-vermittelt wird, wird der Einsatz von spezifischen PDE-Hemmern zur Verstärkung der PGI_2-vermittelten Vasodilatation diskutiert. So konnten Schermuly et al. [341,343] im Tiermodell bei gemeinsamer Applikation von PGI_2 und PDE-Inhibitoren eine verstärkte und verlängerte Vasodilatation feststellen. Da es sich in Bezug auf das ARDS zurzeit noch um einen experimentellen Therapieansatz handelt, können hinsichtlich des Stellenwerts von PGI_2 in der Therapie des ARDS noch keine Aussagen gemacht werden [199]. Zudem muss bedacht werden, dass Prostazyklin, wie auch inhaliertes Stickstoffmonoxid, für die Behandlung des ARDS bei Erwachsenen nicht zugelassen ist.

- ***Phosphodiesterase-Hemmer***

PGI_2 wie auch NO, führt durch Bindung an seinen Rezeptor (die sGC als Rezeptor für NO, siehe Kapitel I Absatz 3.3, Seite - 25 -) zu dessen Aktivierung und damit zur Bildung eines *second messengers*. Für PGI_2 handelt es sich dabei um zyklisches Adenosin- 3´-5´-monophosphat (cAMP) und für NO um zyklisches Guanosin- 3´-5´-monophosphat (cGMP), welche wiederum durch Aktivierung von Proteinkinasen und Ionenkanälen eine Relaxation von glatten Muskelzellen und somit eine Vasodilatation vermitteln [(152)]. Die zyklischen Nukleotide werden durch eine Reihe von Phosphodiesterasen, welche die Esterbindung zwischen dem Zuckeranteil und der Nukleinsäure spalten, abgebaut.
Die Phosphodiesterase vom Typ 5 (PDE5) hydrolysiert spezifisch cGMP. Da angenommen wird, dass der basale Gefäßtonus durch das Verhältnis von cGMP-Bildung, -Elimination und -Abbau durch die Phosphodiesterase eingestellt wird, ist es möglich, durch Hemmung des cGMP-Abbaus mit spezifischen PDE5-Inhibitoren die Wirkung von NO zu verstärken und den PAP bzw. PVR zu senken [(182)]. Dipyridamol, ein solcher PDE5-Inhibitor führte in Kombination mit iNO bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie zu einem Abfall des PAP [(190)]. Auch Ziegler et al. [(447)] konnten bei der Hälfte der Patienten eine Verstärkung der iNO-vermittelten Vasodilatation durch Dipyridamol feststellen [(182)]. Der für die Therapie der erektilen Dysfunktion zugelassene PDE5-Inhibitor Sildenafil [(243)] (UK 92480 [(360)], Nachfolger der deutlich schwächeren Ursprungssubstanz Zaprinast [(408)]), wurde kürzlich bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie und Lungenfibrose angewendet und führte im Vergleich zu PGI_2 zu einer selektiveren pulmonalen Vasodilatation [(124)] und war nicht mit dem Phänomen einer *rebound*-PH [(16)] verbunden [(311)]. Zum jetzigen Zeitpunkt liegen noch keine Erkenntnisse über den Einsatz der PDE5-Hemmer bei ARDS-Patienten vor.

1.4 Schädigungsmodelle

Um die Vorgänge des ARDS zu verstehen, diagnostische Verfahren anzupassen und Therapieansätze zu entwickeln, wurden verschiedene Schädigungsmodelle, die eine dem ARDS vergleichbare Lungenschädigung erzielen sollen, entwickelt [(318)]. Dabei können grundsätzlich zwei Ansatzpunkte zur Etablierung einer Lungenschädigung unterschieden werden. Zum einen kann eine direkte Schädigung der Lunge z.B. durch saline Auswaschungen, Inhalation von Schadgasen, Instillation von Magensäure, Mekonium oder Mikroembolisation mit Glasperlen induziert werden. Zum anderen kann eine indirekte Schädigung der Lunge durch systemische Applikation von pulmonalschädigenden Substanzen wie Ölsäure, Bleomycin, Endotoxin, Paraquat oder Perilla-Keton erreicht werden.

Abgesehen davon sind operative Verfahren, wie beispielsweise das Anlegen einer Zwerchfellhernie möglich. Ein Nachteil bei allen Modellen ist das Fehlen von standardisierten Verfahrensabläufen. Zur Anwendung kommen vor allem das Ölsäure- und das Kochsalzauswaschmodell. Beim Kochsalzauswaschverfahren, das erstmals von Lachmann et al. 1980 beschrieben wurde, wird die Lunge über repetitive bronchoalveoläre Lavagen mit körperwarmer, physiologischer Kochsalzlösung geschädigt [(203)]. Hierbei kommt es zur Auswaschung des Surfactant. Dies bedingt in Verbindung mit der Bildung von Atelektasen ein Herabsinken der *Compliance* und durch alveolokapilläre Schäden ein Lungenödem. Daher ist die in diesem Modell erzeugte Schädigung der Lunge mit der Frühphase des ARDS vergleichbar [(109)].

Das Ölsäuremodell der akuten Lungenschädigung

Jefferson und Necheles [(176)] beschrieben als erste die Effekte einer zentralvenösen Injektion von reiner Ölsäure bei spontan atmenden Hunden. Sie stellten fest, dass die Tiere innerhalb einer Stunde eine Hypotension und Tachypnoe entwickelten und ein schaumig-blutiges Lungenödem auftrat, gefolgt von hämodynamischem Kollaps und Tod. Zudem traten Hämolyse, Azidose und Hypokalzämie auf [(361)]. Obwohl das Ölsäuremodell zunächst als Modell für das Fettemboliesyndrom angewendet wurde (siehe Kapitel I Absatz 2, Seite - 16 -), wurde die Ölsäure zunehmend zur Induktion einer akuten Lungenschädigung eingesetzt. Ashbaugh und Uzawa benutzten erstmalig 1968 OA zur Auslösung eines nicht kardiogenen pulmonalen Ödems im Tiermodell [(12)]. Inzwischen wird ein Einsatz der Ölsäure auch in Modellen einer beeinträchtigten Blut-Hirn-Schrankenfunktion beschrieben [(188)].
Obwohl es sich beim Ölsäuremodell um keinen ätiologischen Ansatz zur Simulation des akuten Lungenversagens handelt, ist in Bezug auf die Ätiologie des ARDS festzuhalten, dass ein Zusammenhang zwischen der Ölsäure und der Entwicklung eines ARDS besteht. So wurden bei ARDS-Patienten erhöhte OA-Spiegel im Plasma [(56,306)] und der bronchoalveolären-Lavage-Flüssigkeit [(352)] nachgewiesen. Zudem findet man bei septischen Zuständen erhöhte OA-Konzentrationen (Fuortes et al. [(105)] zitiert aus Beilman [(9,30)]).

➢ Chemie der Ölsäure

Bei der Ölsäure (IUPAC-Name: *cis 9-Octadecen-säure*) handelt es sich um eine einfach ungesättigte Fettsäure (FS) mit 18 C-Atomen (siehe Abbildung 3), wobei die Doppelbindung zwischen den C-Atomen neun und zehn liegt (ω-9 Fettsäure).

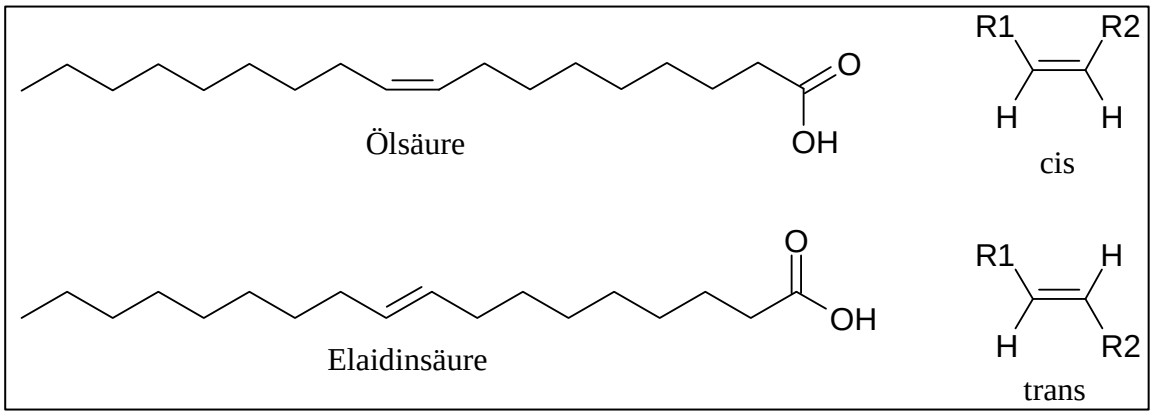


Abbildung 3: Strukturformel der Ölsäure

Natürlicherweise liegt die Doppelbindung als *cis*-Bindung vor, welche durch ihre geometrische Struktur einen Knick von ca. 40° bedingt. Dadurch wird die Anordnung der Fettmoleküle im Kristallgitter gestört, was im Vergleich zur Elaidinsäure, dem Enantiomer der Ölsäure und gesättigten Fettsäuren, zu einem mit 16,3°C niedrigen Schmelzpunkt führt. Entsprechend liegt die Ölsäure bei Raumtemperatur als Öl vor und ist mit einem spezifischen Gewicht von 0,89g/ml bei 25°C leichter als Wasser. Die Ölsäure kommt natürlicherweise in größeren Mengen vor als jede andere Fettsäure. Als Glyceride findet man sie in den meisten Fetten und Ölen tierischer und pflanzlicher Herkunft. Den höchsten Anteil an Ölsäure findet man im namensgebenden Olivenöl.

➢ Die Ölsäure-induzierte Lungenschädigung

Generell führen ungesättigte Fettsäuren wie OA im Gegensatz zu Fetten (z.B. Triolein, das Triglycerid der Ölsäure) zu einer Erhöhung der pulmonalen Permeabilität, welche zu einer extravaskulären Flüssigkeitsansammlung und dem radiologisch nachweisbaren alveolärem Ödem führt. Zudem kommt es durch eine verminderte *Compliance* der Lunge bei unveränderten Atemzugvolumen zu erhöhten Beatmungsdrücken und einer massiven Gasaustauschstörung. Der Grund für diese Störungen liegt möglicherweise in der Bindungsfähigkeit der amphophilen FS an biologische Membranen. Der genaue Wirkmechanismus ist jedoch bis heute unbekannt [(361)].

Wie auch Endotoxin vermittelt die Ölsäure die akute Lungenschädigung vorrangig über die vaskuläre Seite. Neben dem pulmonalen Permeabilitätsödem induziert OA durch Thrombusformation eine Obstruktion der Blutgefäße und führt zu einer Konstriktion von Arterien und in der Folge zu einer pulmonalarteriellen Hypertonie und einem signifikanten Anstieg des PVR [(270)].

2 DAS FETTEMBOLIESYNDROM

2.1 Definition

Unter Fettembolie (FE) wird der Verschluss von kleinen Gefäßen, insbesondere von Kapillaren und Präkapillaren der Lunge, des Gehirns oder der Nieren (so genannte arterielle oder periphere FE) von mit dem Blut transportierten Fetttropfen entsprechender Größe verstanden. Führt der Verschluss dieser Gefäße zu klinischen Symptomen, spricht man vom Fettemboliesyndrom (FES) [98]. Dieses besteht aus der Trias aus akuten respiratorischen Symptome mit Hypoxie und Lungeninfiltraten, zerebraler Dysfunktion und hämatologischen Befunden mit Thrombozytopenie und petechialen Blutungen [70].

2.2 Epidemiologie

Fettembolien sind nach ausgedehnten Traumen, insbesondere Frakturen, ein seit langem bekanntes Phänomen. 1862 beschrieb Zenker [440] Fetttropfen in den Lungen eines Bahnarbeiters, der eine thorako-abdominale Quetschung erlitten hatte. Elf Jahre später diagnostizierte Bergmann eine Fettembolie bei einem Patienten mit einer Femurfraktur [32]. Bis ins 20. Jahrhundert hinein befassten sich Arbeiten mit der Pathophysiologie und Pathogenese der Fettembolie. 1969 publizierte Peltier seine Arbeit über die pulmonalen Konsequenzen einer Fettembolie und deren Behandlung [292], bevor Gurd [136] ein Jahr später die unterschiedlichen klinischen Erscheinungsbilder unter dem Begriff des Fettemboliesyndroms zusammenfasste. Das FES ist eine Multi-System-Erkrankung, die neben der Lunge auch das Gehirn, die Augen, die Haut und das Herz betrifft [378].

Neben ausgedehnten Traumen, insbesondere Frakturen langer Röhrenknochen, Rippen, Wirbelkörpern oder der Hüfte, Marknagelungen und endoprosthetischer Chirurgie und stumpfen Traumen von Fettgewebe, kommen Fettembolien auch in Zusammenhang mit akuten Pankreatiden, Verbrennungen oder nach intraossären Infusionen vor (siehe Tabelle 2).

Die Symptome eines Fettemboliesyndroms leiten sich aus den entsprechenden Pathomechanismen ab (siehe unten). Da es sich bei den Symptomen um eher unspezifische Befunde handelt (siehe Tabelle 3) und die Hauptkriterien des FES subklinisch vorliegen oder fehlen können, ist die Diagnose eines FES schwierig.

Tabelle 2: Prädispositionen des Fettemboliesyndroms
Quelle: Forster et al. [98] und Mellor & Soni [251]

Prädisposition	
Gewebeschädigung	Weichteilschäden
	Mechanische Körperfettreduktion
	Verbrennungen
	Leberzellnekrose
	Rhabdomyelose
Knochenmarkschädigung	Frakturen
	Endoprosthetische Chirurgie
	Knochenmarkgewinnung und -transplantation
	Intraossäre Infusionen
Erkrankungen	Akute Pankreatitis
	Fettleber
	Adipositas
	Sichelzellanämie
	Höhenkrankheit
	Hämorrhagischer Schock
	Systemischer Lupus erythematodes
	Diabetes mellitus
	Virushepatitis
	Muzinöse Karzinome
	Muskeldystrophie
	Myokardinfarkt
Sonstiges	Propofol-Infusion
	Hochdosierte Chemotherapie
	Lymphangiografie
	Parenterale Ernährung
	Strangulationen
	Reanimationen
	Lipoinjektion

Am häufigsten treten bei Patienten mit Fettemboliesyndrom respiratorische Symptome auf, wobei der Schweregrad dieser Symptome unterschiedlich ausgeprägt sein kann (siehe Tabelle 3). Das akute Lungenversagen mit anschließender künstlicher Beatmung ist jedoch relativ häufig. Die petechialen Blutungen treten bei bis zu 60% der Patienten auf, wobei die Hämorrhagien meist an der Haut der Schultern, Brust und Achselhöhlen und im Subkonjunktivalgewebe auftreten. Seltener findet man sie an der Bauchdecke, den Extremitäten und dem Gaumen. Die spezifische Verteilung dieser Blutungen kann durch die Akkumulation der Fetttropfen im Aortenbogen und die Verteilung über die versorgenden Gefäße erklärt werden [399].

Neurologische Symptome findet man ebenfalls häufig (59-80%), wobei die Bandbreite von Benommenheit und Verwirrtheit bis zum Koma reichen kann. Interessanterweise werden zentralnervöse Ausfallserscheinungen auch ohne gleichzeitig auftretende pulmonale Symptomatik beschrieben [251].

Tabelle 3: Gurd [136] Kriterien für die Diagnose des Fettemboliesyndroms
Quelle: Schult et al. [357], Scherer et al. [338] und Forster et al. [98]

Symptomatik des Fettemboliesyndroms	
Hauptkriterien	
Respiratorische Symptome	Hypoxie
	Tachypnoe
	Dyspnoe
	Hämoptyse
	Lungenödem
	Beidseitige inspiratorische Rasselgeräusche
	Beidseitig fleckige Infiltrationen im Thoraxröntgenbild
Neurologische Symptome	Benommenheit/Verwirrtheit/Desorientiertheit
	Delir
	Stupor
	Koma
Hämatologische Symptome	Petechiale Blutungen in Achselhöhlen und/oder Konjunktiven
Nebenkriterien	
Kardiale Veränderungen	Tachykardie
	Hypotension
	Vermehrte Füllung der oberflächlichen Venen
	Akutes Herzversagen
Renale Veränderungen	Anurie oder Oligurie
	Fett im Urin
Retinaveränderungen	Fett oder petechiale Blutungen in der Retina
Labor	Thrombozytopenie ($<150x10^9$/l)
	Abfall des Hb um mehr als 20% des Ursprungswerts
	Blutsenkungsgeschwindigkeit (>71mm/h)
	Fettmarkglobulämie
Sonstige	Ikterus
	Fieber (>39,4°C)

2.3 Pathogenese

Der Pathomechanismus des FES ist trotz der vielen Arbeiten auf diesem Gebiet noch nicht vollständig geklärt. Die unterschiedlichen Ausprägungen und Symptome des FES können nicht durch einen einzigen pathophysiologischen Mechanismus erklärt werden. Vielmehr werden in verschiedenen Theorien mechanische und biochemische Mechanismen diskutiert, die durch ihre gemeinsamen Wirkungen zum Krankheitsbild des FES führen.

2.3.1 Embolisierung/Mechanische Obstruktion Das physikalische Modell

Die aus traumatischem Gewebe (Knochen, Weichteile) losgelösten Fettpartikel werden venös oder lymphatisch in die Strombahn eingeschwemmt und gelangen, dem Kreislauf folgend, in die Lunge. Aufgrund der geringen Durchmesser der terminalen Lungengefäße bleiben die Partikel stecken und blockieren den Blutfluss. Durch die einsetzende Stase kommt es durch Ablagerung von Fibrin und Thrombozyten zur Bildung eines Thrombus und somit zum vollständigen Verschluss des Gefäßes. Durch den physikalischen Verschluss und die hypoxisch bedingte Vasokonstriktion kommt es zu einem Anstieg des pulmonalvaskulären Drucks, was in einer erhöhten Belastung des rechten Ventrikels resultiert. Der venöse Rückstau zeigt sich in stark gefüllten Venen und einer Dilatation des rechten Herzen (*cor pulmonale*). Da eine Fettembolie experimentell durch Frakturen oder die Zerstörung der *medulla ossium* ohne Fraktur des Knochens ausgelöst werden kann, und die Fettzusammensetzung von Fettembolie in der Lunge mit der von Knochenmark übereinstimmt, kann davon ausgegangen werden, dass die Mechanismen dieser rein physikalischen Theorie an der Entstehung eines FES beteiligt sind. Als weiterer Anhaltspunkt für die Richtigkeit dieser Theorie muss auch die Tatsache gewertet werden, dass eine i.v.-Injektion von Knochenmark in Tiermodellen zu kardiorespiratorischen Symptomen führt [(337)].

Da Fettpartikel mit kleinen Durchmessern (<8µm) die Lunge passieren können oder durch einen erhöhten pulmonalvaskulären Druck durch die Lungengefäße gepresst werden können, lassen sich die nicht kardiopulmonalen Symptome des FES durch eine Mikroembolisation in den arteriell versorgten, peripheren Organen Gehirn, Haut, Nieren und Augen erklären. Als Besonderheit dieser Embolisierung in den großen Kreislauf ist das *foramen ovale persistens* zu nennen, dass mit einer Prevalenz von bis zu 35% in der Bevölkerung auftritt und unter Umgehung der Lunge zu einer systemischen Embolisierung beitragen kann [(290)].

2.3.2 Freisetzung von Fettsäuren
Das biochemische Modell

Durch die hydrolytische Aktivität von Lipasen werden Fette, vorwiegend Triglyceride, in Diacylglycerol und die entsprechenden Fettsäuren gespalten. Da freie Fettsäuren im Blut normalerweise an Albumin gebunden werden, kommt es erst bei hohen Konzentrationen zu einer toxischen Wirkung [(132)]. Dabei spielt die Wirkung der Ölsäure als Hauptfettsäure in menschlichem Fett eine entscheidende Rolle. Sie induziert über eine Zerstörung von Endothelzellen und Membranen eine Zerstörung der alveolärvaskulären Barriere und führt damit zu einem Lungenödem und einer damit verbundenen Gasaustauschstörung. Neben dieser direkten toxischen Wirkung werden auch indirekte Wirkmechanismen der Ölsäure-Freisetzung, wie die Aktivierung der Phospholipase AII und der damit verbundenen Veränderungen des Surfactants, die Bildung von Arachidonsäuremetaboliten und Prostanoiden, die Hemmung von Stickstoffmonoxid und cGMP, und immunologischen Veränderungen, insbesondere die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen diskutiert.

3 DER NO-CGMP-SIGNALTRANSDUKTIONSWEG

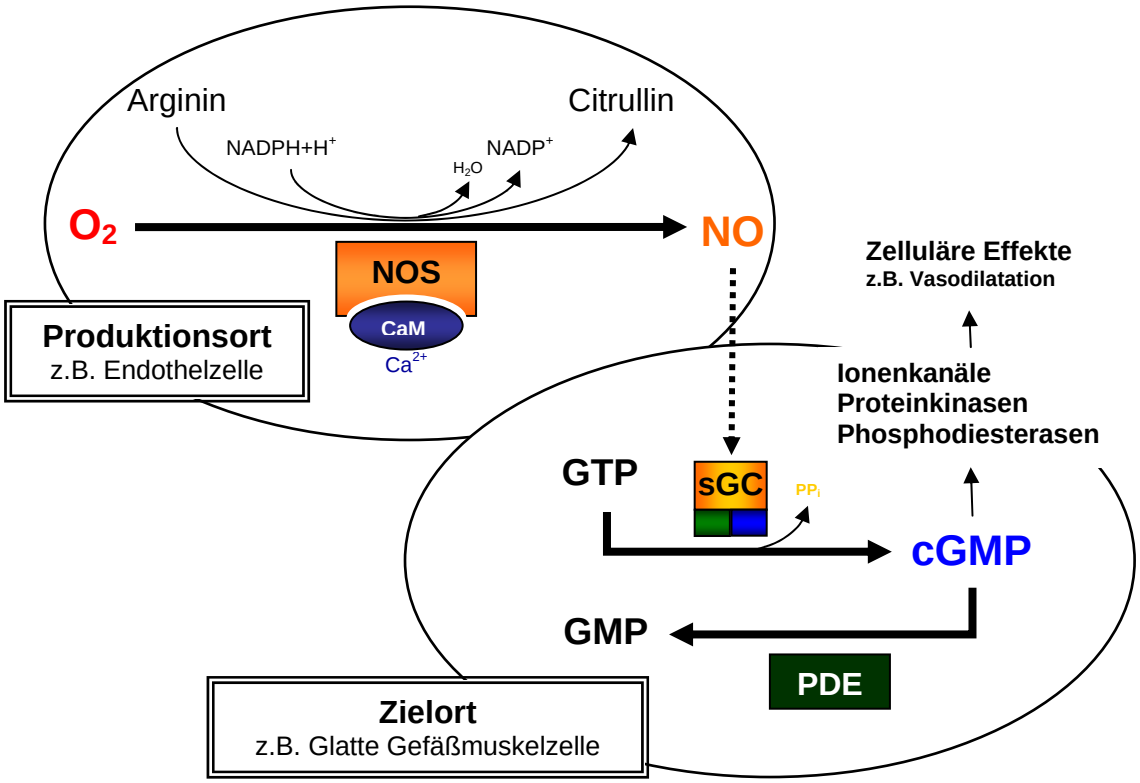


Abbildung 4: Schematische Darstellung des NO-cGMP-Signaltransduktionswegs

Durch die Aktivität von NO-Synthasen, die, mit Ausnahme der iNOS/NOS II, Calmodulin (CaM) und Kalzium (Ca^{2+}) als Kofaktoren benötigen, wird aus molekularem Sauerstoff (O_2) und Arginin Stickstoffmonoxid (NO) synthetisiert. Die Reaktion ist NADPH-abhängig. Das durch die Donorzelle freigesetzte NO bindet in den Zielzellen an das Häm der löslichen Guanylatzyklase (sGC) und führt dadurch zur katalytischen Umwandlung von Guanosintriphosphat (GTP) in das zyklische Guanosin- 3´-5´-monophosphat (cGMP). cGMP führt durch die Aktivierung von cGMP-abhängigen Ionenkanälen, Proteinkinasen (PKG) und Phosphodiesterasen zu zellulären Effekten, wie z.B. einer Vasodilatation bevor es durch cGMP- spezifische Phosphodiesterasen zum unwirksamen Guanosinmonophosphat gespalten wird.

Quelle: modifiziert nach Fielitz [96].

Zu Beginn der achtziger Jahre wurde die Entdeckung gemacht, dass die gefäßrelaxierende Wirkung bestimmter Hormone, wie z.B. Acetylcholin, Bradykinin und Histamin, von der Unversehrtheit des Gefäßendothels abhängig ist. So entdeckten Furchgott und Zawadzki

[106], dass eine Relaxation der Blutgefäße durch Acetylcholin nicht möglich war, wenn das Endothel vorher entfernt wurde, und dass dieser Effekt aufgehoben werden konnte, indem den glatten Muskelzellen endotheliale Zellen zugegeben wurden [96]. Es wurde deshalb die Existenz eines sekundär freigesetzten Transmitters postuliert, der in Endothelzellen gebildet wird und in glatten Gefäßmuskelzellen eine Relaxation herbeiführt. Da sich dieser Faktor als äußerst instabil und als schwer zu isolieren erwies, blieb die Struktur noch ungeklärt. Basierend auf dem von ihm vermittelten Effekt nannte man ihn e*ndothelium-derived relaxing factor* (EDRF) [106,259]. 1987 gelang es Palmer et al. [283] durch Chemilumineszensmessungen, Stickstoffmonoxid als EDRF zu identifizieren [236]. Die Biosynthese von NO konnte daraufhin auch in anderen Geweben und Zelltypen z.B. im ZNS und in bestimmten Zellen des Immunsystems nachgewiesen werden [265]. Weitere Untersuchungen ergaben, dass die Bildung des NO von einer Familie von Enzymen, den NO-Synthasen (NOS) katalysiert wird, und dass bestimmte Guanylatzyklasen die Effektorproteine bzw. Rezeptoren für NO darstellen und über eine Erhöhung der cGMP-Konzentration die meisten der NO-induzierten Effekte vermitteln [265] (siehe Abbildung 4).

3.1 NO-Synthasen (NOS)

NO-Synthasen zählen zu den größten (ca. 300kDa) und kompliziertesten Enzymen des Körpers [96]. Sie sind Homodimere, deren Monomere selber jeweils aus zwei Enzymen bestehen; dem Zytochrom und der Zytochromreduktase. NOS existieren in unterschiedlichen Isoformen, wobei alle Isoformen die gleiche Reaktion katalysieren und auch ähnliche Strukturen und Funktionen besitzen [255]. Sie unterscheiden sich aber in ihren Regulationsmechanismen und ihrer Lokalisation. Man unterscheidet daher die neuronale NOS (nNOS/NOS I), die induzierbare NOS (iNOS/NOS II) sowie die endotheliale NOS (eNOS/NOS III). Die nach der Lokalisation ihres Erstnachweises benannten Isoformen konnten mittlerweile auch in anderen Zelltypen nachgewiesen werden. So fand man die nNOS auch in Skelettmuskelzellen, neutrophilen Granulozyten, Pankreasinselzellen oder dem Endometrium. Andererseits konnte die eNOS auch in Neuronen nachgewiesen werden. Die iNOS kann vermutlich in allen kernhaltigen Zellen nach Stimulation synthetisiert werden [96]. Im Rahmen der unspezifischen Immunabwehr wird sie jedoch hauptsächlich in Makrophagen exprimiert und produziert wesentlich höhere, zytotoxische NO-Konzentrationen. Von daher spielt sie innerhalb der NO-cGMP-vermittelten Signaltransduktion wahrscheinlich keine Rolle [265]. Alle drei Isoformen der NO-Synthase, eNOS, iNOS und nNOS werden in der Lunge exprimiert [234].

Bereits Anfang der achtziger Jahre wurde beobachtet, dass die Aminosäure Arginin einen stimulierenden Effekt auf die cGMP-Bildung in Neuroblastomzellen hat [(74)]. Der beobachtete Effekt konnte später durch die Identifikation dieser Aminosäure als Ausgangsstoff der NO-Biosynthese erklärt werden [(265)]. Wie aus Abbildung 5 zu ersehen, wird durch NOS in zwei aufeinander folgenden Monooxygenase-Reaktionen L-Arginin zu L-Citrullin oxidiert. Hierbei wird aus einem der Guanidinostickstoffe der Aminosäure L-Arginin unter Verbrauch von Sauerstoff NO gebildet. Als Elektronendonor fungiert dabei die reduzierte Form des Nikotinamid-adenin-dinukleotidphosphats ($NADPH+H^+$).

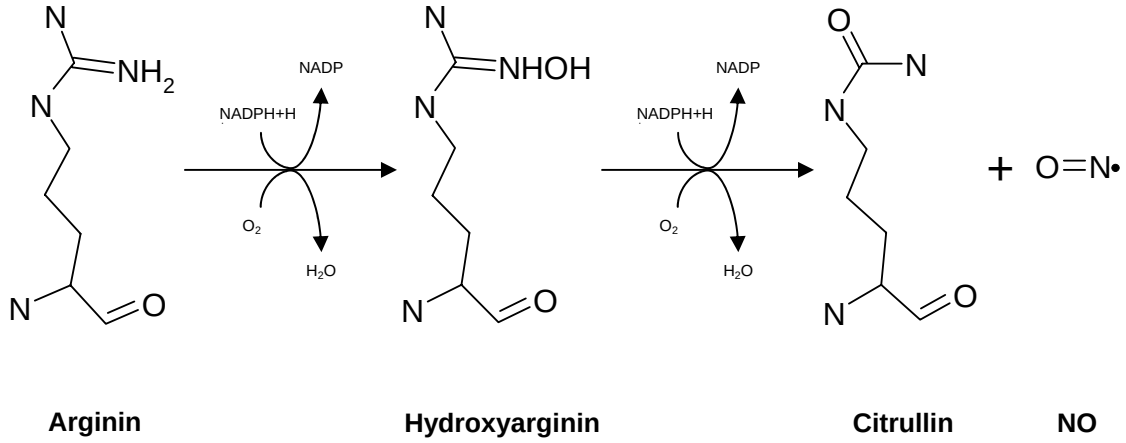


Abbildung 5: Schematische Darstellung der NO Bildung durch NO-Synthasen

Die hohe Reaktivität des Moleküls NO macht es notwendig, dass seine Synthese streng kontrolliert wird. Die Regulation der NOS-Aktivität ist daher sehr komplex. Zum einen benötigt das Enzym die drei Substrate L-Arginin, NADPH und O_2, zum anderen die fünf Kofaktoren bzw. prosthetischen Gruppen Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD), Flavin-Mono-Nukleotid (FMN), Calmodulin, Tetrahydrobiopterin und das Häm. Neben diesen Regulationsmechanismen spielt die Abhängigkeit von Kalzium eine bedeutende Rolle. So ist die Aktivität von eNOS und nNOS im Gegensatz zur iNOS, welche Kalzium-unabhängig aktiviert wird, Kalzium/Calmodulin-abhängig. Da die Stimulation der konstitutiv exprimierten NO-Synthasen eNOS und nNOS durch die Bindung eines Ca^{2+}/Calmodulin-Komplexes erfolgt [(47)], kann die Aktivierung von Signalwegen, die eine Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+}-Konzentration herbeiführen, auch eine Stimulation der NO-Synthese bewirken. So kann z.B. die Bindung bestimmter Hormone und Neurotransmitter an G-Protein-gekoppelte Rezeptoren zu einer Aktivierung der Phospholipase C führen, welche über den intrazellulären Botenstoff Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP_3) zu einer

Ca^{2+}-Freisetzung aus dem endoplasmatischen Retikulum führt, welches wiederum die NOS aktiviert [265].

3.2 Stickstoffmonoxid (NO)

Die Entdeckung von Stickstoffmonoxid (NO) als wichtigem und ubiquitärem Regulator verschiedenster physiologischer und pathophysiologischer Prozesse im menschlichen Körper ist ein äußerst fesselndes Kapitel der jüngsten Forschungsgeschichte und wurde 1998 mit dem Nobelpreis für Medizin und Physiologie an Robert Furchgott, Louis Ignarro und Ferid Murad gewürdigt. Ihre Arbeiten führten dazu, dass aus dem Atemgift und Umweltschadstoff NO eines der wichtigsten Signalmoleküle der Medizin geworden ist [384].

Stickstoffmonoxid (NO) ist unter atmosphärischen Bedingungen ein Gas, das sowohl als Radikal mit ungepaartem Elektron ($NO^{\bullet}$) als auch als Ion in den Formen NO^{+} und NO^{-} auftreten kann. Die Molekülform, die durch NO-Synthasen produziert wird, ist noch nicht identifiziert, es wird aber angenommen, dass es sich um die Form des freien Radikals handelt [96], da diese zu einer Aktivierung der NO-sensitiven GC führt [102]. In Gegenwart von Sauerstoff wird NO durch eine Reaktion zweiter Ordnung oxidiert. Daher liegt seine Halbwertszeit bei hohen NO-Konzentrationen im Sekundenbereich [141]. Aufgrund seiner geringen Molekülgröße und seines lipophilen Charakters kann $NO^{\bullet}$ ungehindert durch die Zellmembranen diffundieren und damit sowohl als intra- wie auch als interzelluläres Signalmolekül fungieren. $NO^{\bullet}$ besitzt als Radikal die Fähigkeit, sich an Proteine, insbesondere Tyrosinreste [294], anzulagern und mit ihnen eine chemische Reaktion einzugehen, wodurch viele physiologische und pathologische Prozesse reguliert werden können. Als Reaktionspartner von $NO^{\bullet}$ können hämhaltige Proteine wie die lösliche Guanylatzyklase und das Hämoglobin, andere metallhaltige Proteine sowie Sauerstoff, Superoxid-Anionen und Thiolgruppen dienen [431]. Durch Reaktion mit O_2 und H_2O reagiert NO zu einem Gemisch aus Nitrat (NO_3^-) und Nitrit (NO_2^-). Beide Verbindungen sind biologisch weitestgehend unwirksam und werden vom Körper ausgeschieden. Die Oxidation des Botenstoffs stellt einen äußerst wirksamen Metabolisierungsmechanismus dar. Neben der Reaktion mit Sauerstoff kann $NO^{\bullet}$ auch mit Sauerstoffradikalen, insbesondere zu zytotoxischen Substanzen wie dem Peroxynitrit reagieren. Die meisten physiologischen Effekte von NO werden durch das zyklische Nukleotid cGMP-vermittelt. Auch die organischen Nitrate, wie z. B. Nitroglycerin, die seit mehr als 130 Jahren erfolgreich zur Behandlung sowohl der *Angina pectoris* als auch der akuten Herzinsuffizienz eingesetzt werden, wirken im Körper über

die Freisetzung von NO [384] und eine Erhöhung der cGMP-Konzentrationen durch die Aktivierung der lösliche Guanylatzyklase.

3.3 Der NO-Rezeptor: Die lösliche Guanylatzyklase

3.3.1 Guanylatzyklasen

Die Guanylatzyklasen bilden zusammen mit den Adenylatzyklasen die Familie der Nukleotidzyklasen, welche die Umwandlung ihres jeweiligen Substrats, GTP oder ATP zum entsprechenden zyklischen Nukleotid (cGMP oder cAMP) katalysieren [229]. Allen Nukleotidzyklasen gemeinsam ist eine stark konservierte katalytische Domäne, welche sich aus zwei identischen bzw. stark homologen, in Kopf-Schwanz-Formation gegenüberliegenden Untereinheiten zusammensetzt. Die Bildung einer katalytischen Domäne aus zwei Untereinheiten scheint ein Merkmal aller Nukleotidzyklasen zu sein und deutet auf den gemeinsamen Ursprung hin. Die Homologie der katalytischen Domäne ist so hoch, dass durch den Austausch von drei Aminosäuren die Substratspezifität zwischen ATP und GTP ausgetauscht werden kann [351]. Guanylatzyklasen sind seit den sechziger Jahren bekannt und konnten in Zellen wie z.B. glatten Muskelzellen und Monozyten unterschiedlicher Herkunft nachgewiesen werden [101]. Sie katalysieren die Synthese von cGMP aus Guanosintriphosphat [236] (siehe Abbildung 6).

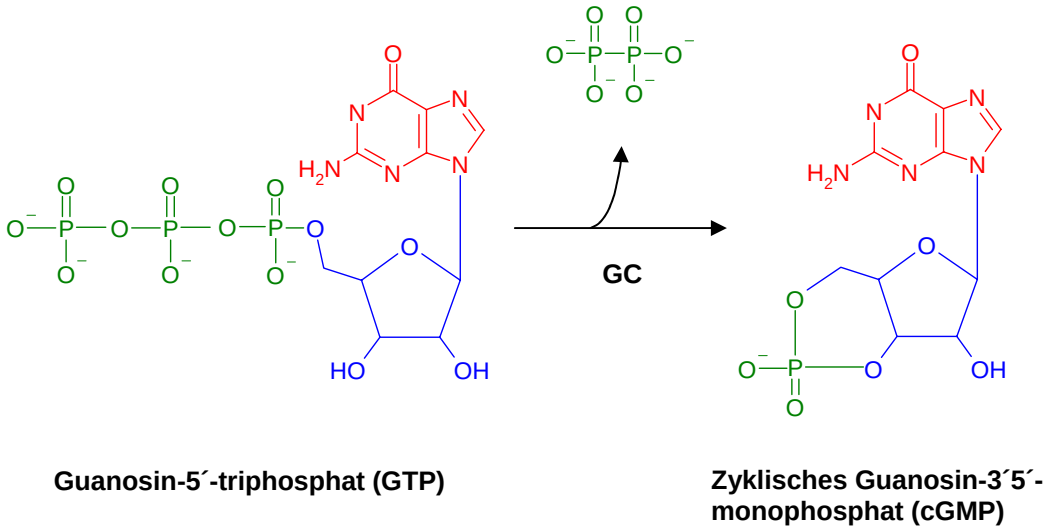


Abbildung 6: Guanylatzyklase (GC) -vermittelte Umsetzung von Guanosin- 5‘-triphosphat (GTP) in zyklisches Guanosin- 3´-5´-monophosphat (cGMP).

Aufgrund von unterschiedlichen strukturellen Merkmalen werden die Guanylatzyklasen in die membrangebundenen und in die zytosolischen Formen eingeteilt.

➢ Die membrangebundenen Guanylatzyklasen

Die membrangebundenen oder auch partikulären Guanylatzyklasen (pGC) liegen in ihrer katalytisch aktiven Form als Homodimer bzw. Oligomer vor. Insgesamt konnten bisher sieben verschiedene pGC identifiziert werden (GC-A bis GC-G). Die am besten charakterisierten Liganden der pGC sind die natriuretischen Peptide ANP, BNP und CNP [(407)], die durch Bindung an GC-A und GC-G eine Natriurese, Vasodilatation und Supprimierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems induzieren. Neben der Synthese des cGMP scheinen pGC auch in der Lage zu sein, G-Proteine zu aktivieren [(351)]. Für umfangreiche Informationen über die pGC sei auf die Publikation von Sharma [(373)] verwiesen.

➢ Die löslichen Guanylatzyklasen

Die wichtigsten Rezeptoren für NO sind die zytosolischen oder auch löslichen Guanylatzyklasen (sGC). Die Bezeichnung lösliche Guanylatzyklase ist insofern irreführend, da gezeigt werden konnte, dass die sGC zumindest teilweise membranassoziiert ist [(438)], und zwar mit den so genannten *Caveolae* [(65)], cholesterinreichen Einstülpungen der Plasmamembran [(250)]. Da die eNOS ebenfalls mit den *Caveolae* assoziiert ist [(95,112,220,374)], befindet sich der NO-Rezeptor in Endothelzellen in unmittelbarer Nähe des Bildungsortes von NO, so dass, insbesondere angesichts der kurzen Halbwertszeit von NO, ein Ablauf der Signalkaskade gewährleistet ist [(250)]. Zudem erleichtert eine Kompartimentierung der sGC und cAMP-abhängiger Proteinkinasen in endothelialen *Caveolae* eine NO-Wirkung [(218)]. Wie durch Untersuchungen an transgenen Mäusen gezeigt werden konnte, sind die *Caveolae* für eine normale Funktion der Lungen und des vaskulären Systems essentiell [(84)].

Durch immunhistologische Untersuchungen konnten die sGC in einer Reihe von Zelltypen nachgewiesen werden. Man weiß, dass die lösliche Guanylatzyklase in der Lunge stark exprimiert wird [(43,55,71,151)], weshalb bovine Lungen gerne für die Isolierung der sGC verwendet werden [(29)].

Durch die katalytische Umwandlung von Guanosintriphosphat in zyklisches Guanosinmonophosphat und dem damit verbundenen Anstieg von cGMP, regulieren die sGC verschiedene cGMP-abhängige Effektorsysteme wie Proteinkinasen, Phosphodiesterasen und Ionenkanäle [(384)]. Die Aktivierung dieser Effektorsysteme macht die sGC zu Schlüsselenzymen bei der Vasodilatation, der Plättchenreaktivität und der zentralen sowie peripheren Neurotransmission [(384)].

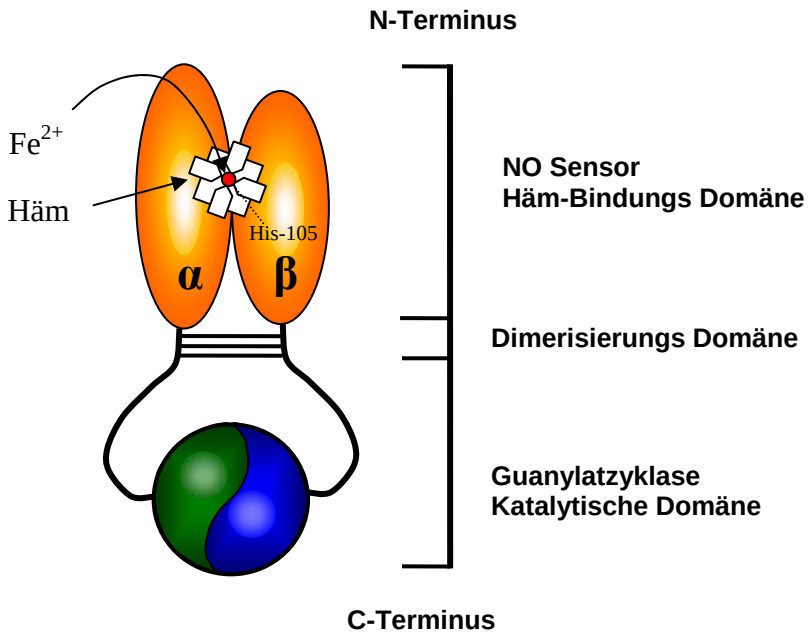


Abbildung 7: Schematische Darstellung des Aufbaus der löslichen Guanylatzyklasen
Quelle: Schmidt [351]

Die löslichen Guanylatzyklasen bestehen aus einer α- (73-82kDa) und einer β-Untereinheit (70-76kDa), die beide für die Katalyse notwendig sind, und enthalten, im Gegensatz zu den pGCs und ACs, ein Häm als prosthetische Gruppe [236,326,351] (siehe Abbildung 7). Das Häm-Gerüst der sGC mit Eisen (Fe^{2+}) als Zentralatom, das für die Aktivierung des Enzyms durch NO verantwortlich ist, ist vermutlich über die Aminosäure Histidin 105 (His-105) aus dem N-terminalen Rest der β -Untereinheit in einem fünffach-koordinierten Komplex gebunden (siehe Abbildung 8).

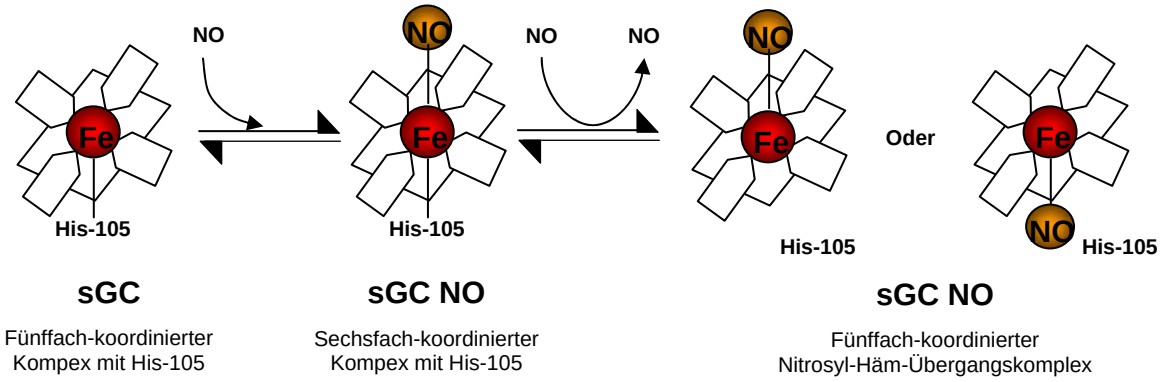


Abbildung 8: Schematische Darstellung der sGC Aktivierung
Quelle: Modifiziert nach Ballou et al. [22]

Durch die Bindung von NO als Ligand entsteht in einem ersten Aktivierungsschritt ein sechsfach-koordinierter Komplex, wobei das Eisenatom aus der Ebene des Porphyrinringes herausgehoben wird. In einem zweiten Schritt bricht unter der katalytischen Aktivität weiterer NO-Moleküle die Histidin-Eisen-Bindung auf, wodurch sich ein fünffach-koordinierter Nitrosyl-Häm-Übergangskomplex ausbildet, der aufgrund der veränderten Konformation zu einer 200-400fachen Aktivierung des Enzyms führt. GTP bindet an die lösliche Guanylatzyklase und wird vermutlich über weitere Metallionen und den Imidazol-Ring des Histidins zum cGMP umgesetzt [22,265,351,384]. Da die NO-vermittelte Umwandlung vom hexa- zum penta-koordinierten Komplex den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt darstellt, wird durch die NO-Konzentration nicht nur die Anzahl der aktivierten Enzymmoleküle reguliert, sondern auch die Geschwindigkeit der Umsetzung [236,263].

- ***NO-unabhängige Stimulatoren/Aktivatoren der löslichen Guanylatzyklase***

Die Bindung von NO an das Häm-Eisen und das daraus resultierende Aufbrechen der Histidin-Eisen-Bindung ist der bisher bekannte Hauptmechanismus der physiologischen Aktivierung der sGC [351]. Bereits in den 1970er-Jahren wurde gefunden, dass die als Standardtherapeutika zur Behandlung der *Angina pectoris* eingesetzten organischen Nitrate wie Nitroglycerin (Glyceroltrinitrat), Isosorbitdi- und -mononitrat ihre gefäßerweiternde und damit antianginöse Wirkung durch eine Aktivierung der sGC entwickeln. Doch erst durch die Arbeiten von Ignarro, Furchgott und Murrad, die 1998 den Nobelpreis für Medizin erhielten, konnte gezeigt werden, dass der Mechanismus der Nitratwirkung auf der Freisetzung von Stickstoffmonoxid und seinem intrazellulären Botenstoff cGMP basiert. Da der Einsatz dieser NO-freisetzenden Substanzen jedoch mit einer Reihe von Nachteilen, wie der Entwicklung einer Nitrattoleranz bei wiederholter Gabe (Tachyphylaxie) und dem so genannten Nitratkopfschmerz, der auf das durch Biokonversion freigesetzte NO zurückgeführt wird, verbunden ist, suchte man nach NO-unabhängigen Aktivatoren der löslichen Guanylatzyklase [351,384]. Es war zwar bekannt, dass verschiedene Substanzen wie Protoporphyrin IX [163], die eisenfreie Vorläufersubstanz des Häms [102], Endoperoxide [130], ungesättigte Fettsäuren [115,126,162,317] und Kohlenmonoxid [52,78,329,351,392] die sGC NO-unabhängig stimulierten, die chemische Instabilität und Toxizität sowie eine lediglich schwache Aktivierung der sGC verhinderte jedoch, dass diese Substanzen sowohl in experimentellen wie klinischen *in vivo* -Experimenten eingesetzt wurden [322].

Ko et al. [195] gelang es 1994 erstmals, mit YC-1 (*3-(5´-Hydroxymethyl-2´furyl)-1-benzylindazol*) eine Substanz zu synthetisieren, welche die lösliche Guanylatzyklase unab-

hängig von NO direkt aktiviert und somit zu einer Hemmung der Thrombozytenaggregation führt [236,384]. In weiteren Studien konnte nachgewiesen werden, dass YC1 über eine direkte Erhöhung des cGMP-Spiegels u.a. zu einer Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur *in vitro* [425] und einer Hemmung der Thrombozytenaggregation [432,433] führt. Zudem konnten *in vivo* antithrombotische [236,404] und vasodilative [322] Eigenschaften sowie ein positiver Effekt auf die Lernfähigkeit [62] nachgewiesen werden. Interessanter als die direkte Stimulation ist jedoch der Effekt von YC-1 auf die NO-stimulierte Aktivität der NO-sensitiven GC. So wird durch YC-1 die Konzentrations-Wirkungsbeziehung für NO um eine Größenordnung in Richtung einer niedrigeren Konzentration verschoben; eine Stimulation des Enzyms wird also schon bei einer 10-fach geringeren NO-Konzentration möglich [265]. Somit war mit YC-1 eine Substanz gefunden worden, welche die sGC über einen neuen NO-unabhängigen Mechanismus aktiviert und mit NO synergistisch wirkt. Inzwischen sind eine ganze Reihe weiterer biochemischer und pharmakologischer Arbeiten zu YC-1 erschienen [110,204,266,322,346]. Basierend auf diesen Ergebnissen wurden, ausgehend von YC-1 als chemischer Leitstruktur, weitere NO-unabhängige, aber Häm-abhängige sGC-Stimulatoren identifiziert (BAY 41-2272 und BAY 41-8543), die sowohl spezifischer als auch *in vitro* und *in vivo* deutlich potenter sind. Darüber hinaus wurde mit einem h*igh-throughput screening* [434] ein Aminodicarboxylsäure-Derivat (BAY 58-2667) gefunden, das die sGC NO- und Häm-unabhängig über einen bisher unbekannten Mechanismus aktiviert [384] (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Charakteristika der NO-unabhängigen Stimulatoren/Aktivatoren der sGC: Quelle: Schmidt [351] und Stasch [384]

Aktivator	Bindungsregion	Wirkungen an der sGC		
		± Hämgruppe	**+ODQ**	**+NO**
sGC-Stimulator Bay 41-2272	α1: 238-243	abhängig	Inhibition	Potenzierung
sGC-Aktivator Bay 58-2667	α1: 371 β1: 231-310	unabhängig	Verstärkung	Addition

Zudem aktivieren die Substanzen A-344905 und A-350619 der Pharmafirma Abbott, die sich in Ihrer Struktur deutlich von YC-1 und Bay 41-2272 unterscheiden, die sGC [268]. Die beiden Guanylatzyklase-Aktivatoren HMR1766 und 1069 der Sanofi-Aventis-Gruppe befanden sich bereits 2002 zur Behandlung von *Angina pectoris* in der Phase I der Medika-

mentenentwicklung, und werden auf ihre Fähigkeit geprüft, verengte Blutgefäße zu öffnen [1,345].

- **Häm-abhängige sGC-Stimulatoren: Bay 41-2272 und Bay 41-8543**

Auf der Suche nach im Vergleich zu YC-1 (*3-(5´-Hydroxymethyl-2´furyl)-1-benzylindazol*) wirksameren NO-unabhängigen Stimulatoren der sGC wurden aus ca. 2000 neu synthetisierten Verbindungen BAY 41-2272 (*5-Cyclopropyl-2-[1-(2-fluoro-benzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-pyrimidin-4-ylamin*) und das chemisch eng verwandte Analog BAY 41-8543 (*2-[1-[2-Fluorophenyl)methyl]-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5(4-morpholinyl)-4,6-pyrimidin-diamin*) identifiziert [384,388] (siehe Abbildung 9).

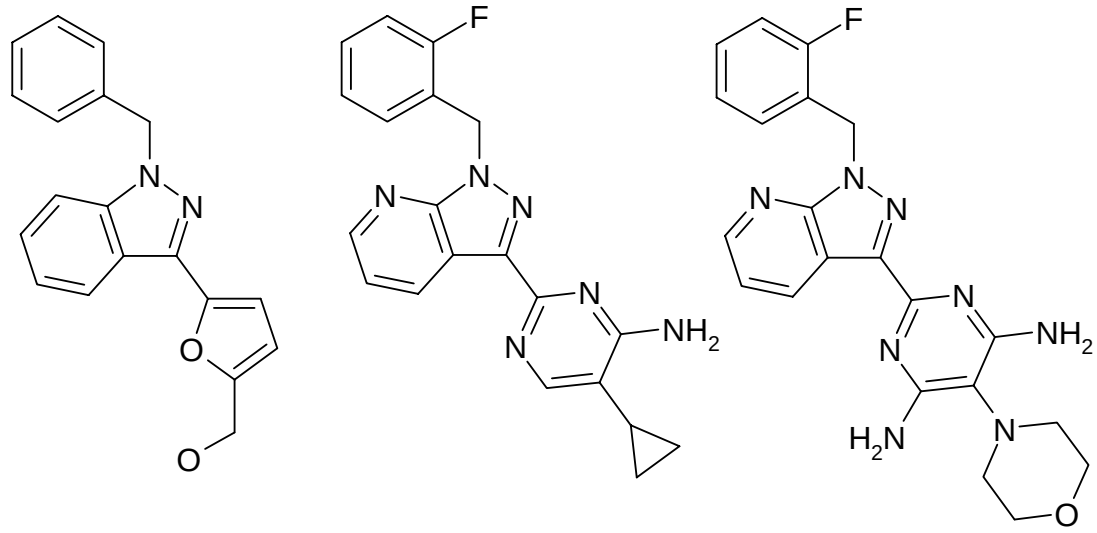


Abbildung 9: Strukturformeln der Häm-abhängigen Stimulatoren der sGC YC-1, Bay 41-2272, und Bay 41-8543

Diese um drei Größenordnungen [347,388] deutlich potenteren Pyrazolopyridin-Derivate stimulieren die sGC wie YC-1 über einen NO-unabhängigen, aber Häm-abhängigen Mechanismus, zeigen jedoch keine Inhibition metabolisierender Phosphodiesterasen [387,388]. So zeigt Bay 41-2272, trotz der strukturellen Ähnlichkeiten mit YC-1, bis zu Konzentrationen von 10^{-5}M, keine Hemmung der PDE5 [387]. Mullershausen et al. [264] diskutieren jedoch, dass die physiologischen Effekte von Bay 41-2272 in intakten Zellen oder Tiermodellen vor dem Hintergrund einer synergistischen Aktivierung der sGC und Hemmung der PDE5 gesehen werden müssen. Die Autoren argumentieren, dass es wie bei der gemeinsamen Gabe von Sildenafil und NO-Donatoren durch diese gemeinsame Wirkung zu einer poten-

zierten cGMP-Akkumulation kommt. Auf der anderen Seite stellen Bischoff und Stasch [39] dar, dass die Hemmung der PDE5 durch Bay 41-2272 in Mullershausen et al. [264] über-, und die Aktivierung der sGC unterschätzt wurde. Auch Deruelle et al. [81] konnten durch Versuche mit einem NO-Inhibitor zeigen, dass die *in vivo* Effekte von Bay 41-2272 nicht durch eine PDE5 Hemmung vermittelt werden.

BAY 41-2272 und BAY 41-8543 aktivierten nicht nur die hochgereinigte sGC, sondern führen auch an primären Endothelzellen zu einem konzentrationsabhängigen cGMP-Anstieg. Obwohl BAY 41-2272 und BAY 41-8543 die sGC nicht so stark stimulierten wie NO selbst, sind Konzentrationen von 10-100nM ausreichend, um über die sGC-Stimulation einen biologisch relevanten cGMP-Anstieg zu induzieren [384]. Im Gegensatz zu Bay 58-2667 aktiviert Bay 41-2272 die hämfreie sGC nicht [387,394] und auch in Gegenwart des sGC-Inhibitors ODQ [113], welcher zwar den Oxidationszustand des Häms verändert [53,355], aber zu keiner Beeinträchtigung der katalytischen Domäne führt [444], kommt es zu keiner Aktivierung der sGC durch Bay 41-2272 [394]. Bay 41-2272 verursacht wie auch YC1 und Bay 41-8543 in spektroskopischen Untersuchungen keine Veränderungen der Soret Bande, was darauf schließen lässt, dass Bay 41-2272 nicht an der Hämeinheit der sGC bindet und es zu keiner Wechselwirkung mit dem zentralen Eisen der prosthetischen Gruppe kommt [387]. Es gibt jedoch Hinweise, dass die Substanzen mit einer kürzlich identifizierten allosterischen Bindungsstelle der sGC interagieren. So konnten Stasch et al. [27,387,388] nachweisen, dass die Zysteine 238 und 243 in der N-terminalen Region der α_1-Untereinheit an der Bindung von Bay 41-2272 an der sGC beteiligt sind. Möglicherweise ist diese Interaktion auch für die starke synergistische Wirkung von Bay 41-2272 in Kombination mit exogenem NO (SIN-1) als auch mit endogen freigesetztem NO (induziert durch Bradykinin) verantwortlich. Zudem führen die Häm-abhängigen Stimulatoren im Vergleich zum nativen Enzym (1,6sec) zu einer um 155 (YC1) bis zu 220-fach (Bay 41-2272 und Bay 41-8543) erhöhten Halbwertszeit des Nitrosyl-Hämkomplexes [347,348].

Bay 41-8543 führte in *in vitro* -Untersuchungen zu einer starken Relaxation unterschiedlicher Arterien (Aorta, *A. saphena*, *A. coronaria*) und verminderte im Langendorff-Herz den koronaren Perfusionsdruck deutlich, ohne den linksventrikulären Druck oder die Herzfrequenz zu beeinflussen[388]. Bei anästhesierten Hunden wurde *in vivo* ein Anstieg des koronaren Blutflusses beobachtet, der mit einem Anstieg der Sauerstoffsättigung im Koronarvenensinusblut einherging [385]. Zudem induzierte Bay 41-8543 nach p.o.- (0,1-1mg/kg) und i.v. (3-100µg/kg) -Gabe einen dosisabhängigen und lang anhaltenden Abfall des Blutdrucks bei Ratten bzw. Hunden. Zusätzlich konnten in einem chronischem Hypertoniemo-

dell an Ratten, die Effekte einer NO-Inhibition mit L-NAME (Hypertonie und Herzveränderungen), durch die Gabe von Bay 41-2272 gehemmt werden [93]. Damit konnte erstmals das therapeutische Potenzial einer spezifischen sGC-Stimulation *in vitro* und *in vivo* evaluiert werden [384].

In einer kürzlich veröffentlichten Studie wird zudem ein hemmender Effekt von Bay 41-2272 auf die eosinophile Chemotaxis diskutiert [405]. Des Weiteren konnte von einer indischen Arbeitsgruppe an ovinen pulmonalarteriellen Ringpräparaten gezeigt werden, dass Bay 41-2272 Ouabain-sensitive Natriumpumpen direkt stimuliert [25].

- **Häm-unabhängige sGC-Aktivatoren: Bay 58-2667**

Neben den oben beschriebenen NO-unabhängigen aber Häm-abhängigen sGC-Stimulatoren wurde durch ein *high-throughput screening* von ca. 250.000 Verbindungen [384,434] eine weitere Struktur identifiziert, welche die sGC konzentrationsabhängig aktiviert, jedoch komplett andere Charakteristika aufweist als die oben beschriebenen Substanzen. Nach Optimierung der Leitstruktur BAY W 6044 durch die Synthese von ca. 800 Verbindungen kristallisierte sich BAY 58-2667 (*4-[((4-Carboxybutyl) 2-[(4-phenethylbenzol)oxy]phenethyl)amino) methyl [benzol] säure*) als der wirkstärkste Vertreter dieser Klasse heraus [384] (siehe Abbildung 10).

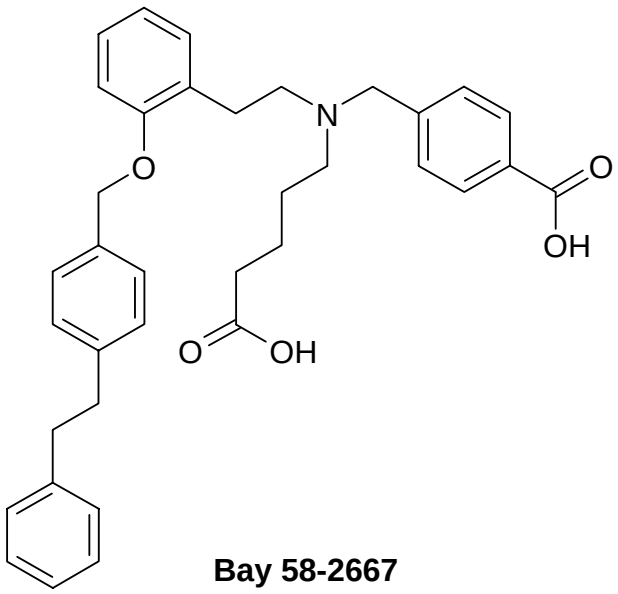


Abbildung 10: Strukturformeln des Häm-unabhängigen Stimulators Bay 58-2667

Obwohl Bay 58-2667 die sGC nicht so stark aktiviert wie NO, reichen doch Konzentrationen von 1nM aus, um die sGC zu aktivieren und einen biologisch relevanten Anstieg zu induzieren [387]. Mit anderen Worten aktiviert Bay 58-2667 die sGC bereits bei submolaren

Konzentrationen. Im Gegensatz zu den Häm-abhängigen sGC-Stimulatoren zeigt Bay 58-2667 in Kombination mit NO jedoch nur eine additive Wirkung auf die Aktivierung des Enzyms [386]. Darüber hinaus zeigt das Aminodicarboxylsäure-Derivat auch am hämfreien oder oxidierten Enzym eine stark aktivierende Wirkung [386]. Dies ist insofern von substanzieller klinischer Bedeutung, da oxidativer Stress, der bei einer Vielzahl von Erkrankungen, wie z.B. Diabetes [429], Arteriosklerose [358] und neurodegenerativen Erkrankungen [269] etc., auftritt, über eine Oxidation des Häm-Eisen zum Fe^{3+} zu einer Inaktivierung der sGC führt, und eine Aktivierung des Enzyms durch NO oder Häm-abhängige sGC-Stimulatoren nicht mehr möglich ist. Zudem aktiviert Bay 58-2667 die sGC nicht nur in Gegenwart von ODQ, sondern die aktivierende Wirkung von Bay 58-2667 wird durch ODQ sogar noch potenziert [347,348,349,350].

Im Gegensatz zu YC1, Bay 41-8543 und Bay 41-2272 führt Bay 58-2667 zu keiner Erhöhung der Halbwertszeit des Nitrosyl-Hämkomplexes [348]. Es kommt aber wie auch bei den Häm-abhängigen sGC-Stimulatoren zu keiner Verschiebung der Soret Bande, was darauf schließen lässt, dass es durch Bay 58-2667 zu keiner Wechselwirkung mit dem zentralen Eisenatom des Häms kommt. Es wird jedoch diskutiert, dass die Substanz mit Gruppen bzw. Seitenresten interagiert, die in direkter Nachbarschaft mit der Hämbindungsregion liegen, was evtl. zu Störungen in diesem Bereich führt. Schmidt et al. [350] konnten zeigen, dass neben dem Histidin 105 auch die Aminosäuren Tyrosin 135 und Arginin 139 der β_1-Untereinheit der sGC an einer Bindung der Hämgruppe an die sGC beteiligt sind, und dass Bay 58-2667 an diesen Regionen kompetitiv bindet. Dieses Aktivierungsprofil deutet darauf hin, dass diese Substanzen einen komplett neuen und bis *dato* unbekannten Wirkmechanismus besitzen [150,351,386].

BAY 58-2667 ist einer der stärksten Vasodilatoren. An der mit Phenylephrin vorkontrahierten *Arteria saphena* des Kaninchens zeigte BAY 58-2667 eine Relaxation mit einem IC_{50}-Wert von 0,4nM, während für BAY 41-2272 und die NO-Donoren, SNP und SIN-1, IC_{50}-Werte von 62nM, 620nM und 1100nM erhalten wurden. Die relative Potenz liegt 57500-fach höher als die von Nitroglycerin [150]. Auch am Langendorff-Herz steigerte BAY 58-2667 konzentrationsabhängig den koronaren Perfusionsfluss, ohne den linksventrikulären Druck und die Herzfrequenz zu beeinflussen [384]. Erstmals wurde mit BAY 58-2667 eine Substanz identifiziert, die am narkotisierten Hund das gleiche hämodynamische Wirkprofil wie organische Nitrate zeigt, indem es sowohl arterielle wie venöse Gefäße dilatiert [384]. Darüber hinaus ist die Wirkdauer von BAY 58-2667 deutlich länger als die von Nitroglycerin. An wachen, spontan hypertensiven Ratten zeigt sich eine deutliche und

lang anhaltende antihypertensive Wirkung der Substanz nach oraler Gabe. Auch Dumitrascu et al. [87,339] konnten an einem murinen Modell der hypoxischen pulmonalen Vasokonstriktion durch Bay 58-2667 einen lang anhaltenden, dosisabhängigen Abfall des SAP induzieren und zusätzlich vaskuläre Umbauprozesse aufheben.

3.4 Das Signalmolekül cGMP

Das intrazelluläre Signalmolekül cGMP wird in vielen Säugetierzellen gebildet und übernimmt dort Funktionen, die in Abhängigkeit vom Gewebetyp variieren. So ist cGMP innerhalb des Herz-Kreislaufsystems an der Relaxation der Gefäßmuskulatur und der Hemmung der Thrombozytenaggregation beteiligt. In der Niere und im Dünndarm übernimmt es Funktionen bei der Natrium- und Wasserresorption, in der Retina ist es entscheidend an der Übertragung des Lichtreizes beteiligt. Auch in verschiedenen Zellen des ZNS konnte cGMP nachgewiesen werden, jedoch ist die Funktion noch weitgehend ungeklärt [265].

3.4.1 Rolle von cGMP in der Gefäßmuskulatur

➢ Vasokonstriktion und Vasodilatation

Der Tonus der glatten Gefäßmuskulatur wird durch Signale reguliert, die den Phosphorylierungszustand der leichten Myosinkette (MLC) beeinflussen. Die Interaktion von phosphorylierter MLC mit Aktinfilamenten führt in glatten Muskelzellen zur Kontraktion. Die Relaxation glatter Muskelzellen wird durch die zyklischen Nukleotide cAMP und cGMP ausgelöst. Die Rolle von cGMP in der Gefäßmuskulatur wird, neben der Proliferation [215], hauptsächlich durch die Vasorelaxation bestimmt [265]. Der wichtigste Effektor des cGMP in der glatten Gefäßmuskulatur ist die cGMP-abhängige Proteinkinase (PKG), wie durch Versuche an Deletionsmutanten gezeigt werden konnte. PKG1$^{-/-}$-Mäuse weisen einen erhöhten arteriellen Blutdruck auf, und eine NO-cGMP-vermittelte Vasorelaxation isolierter Blutgefäße von diesen Tiere ist nicht mehr möglich. Der Mechanismus der cGMP-PKG-vermittelten Vasorelaxation besteht hauptsächlich in der Hemmung der durch vasokonstriktorische Substanzen, wie z.B. Noradrenalin, induzierten Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+}-Konzentration (siehe Abbildung 11).

So stimuliert cGMP über die PKG den transzellulären Ca^{2+}-Ausstrom und die Aufnahme von Kalzium in das endo- bzw. sarkoplasmatische Retikulum (SR) [332,420]. Darüber hinaus wird auch der transmembranöse Na^{+}- und Ca^{2+}-Austausch mit einem erhöhten Efflux von Ca^{2+} über die PKG reguliert [215]. Weiterhin wird diskutiert, dass die cGMP-abhängige Beeinflussung der Ca^{2+}-Homöostase über eine Modulation der Ca^{2+}-Kanäle und durch die

antagonistische Beeinflussung des Phospholipase C -Signaltransduktionswegs mit seinem *second messenger* IP_3 und DAG möglich sein könnte. So führt die durch PKG-vermittelte Phosphorylierung von IRAG zu einer Hemmung der IP_3-vermittelten Ca^{2+}-Freisetzung aus dem SR [265]. Ein zusätzlicher Mechanismus, der zu einer Senkung der intrazellulären Ca^{2+}-Konzentration führt, ist die PKG-vermittelte Phosphorylierung bestimmter Ca^{2+}-abhängiger K^+-Kanäle, der BK_{Ca}-Kanäle. Die Phosphorylierung erhöht die Offen-Wahrscheinlichkeit dieser Kanäle, wodurch es über einen vermehrten K^+-Ausstrom zu einer Hyperpolarisation kommt, welche wiederum zu einer Hemmung spannungsabhängiger Ca^{2+}-Kanäle, wie z.B. vom L-Typ führt, wodurch der Einstrom von Ca^{2+} vermindert wird. Dieser Mechanismus trägt, wie auch die direkte Aktivierung von K^+-Kanälen, maßgeblich zu der cGMP-vermittelten Vasorelaxation bei [255,265].

Kürzlich wurde ein weiterer cGMP-PKG-vermittelter Mechanismus vorgeschlagen, der über die Aktivierung der MLCP, dem Gegenspieler der MLCK, zu einer verminderten MLC-Phosphorylierung in glatten Muskelzellen führt. Dabei konnte eine Assoziation der PKG mit der MLCP demonstriert werden, die mit einer Phosphorylierung der MLCP einherging [265,398].

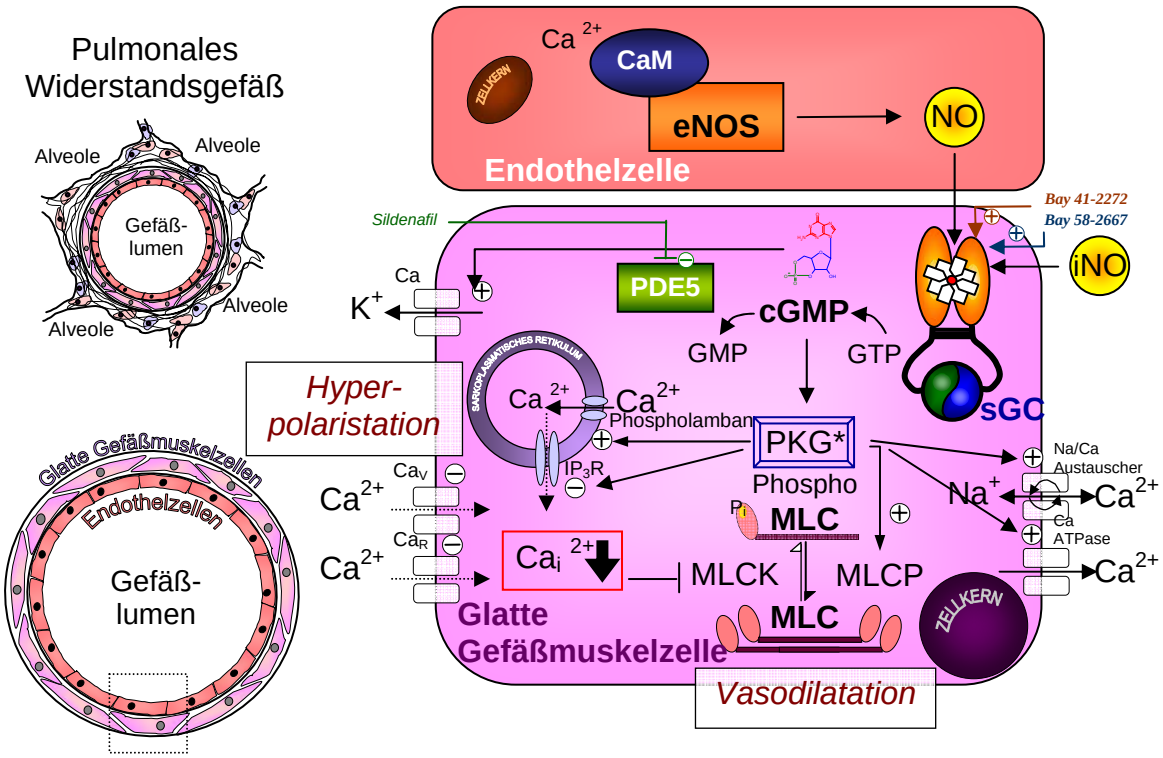


Abbildung 11: Schematische Darstellung der Rolle von cGMP in der glatten Gefäßmuskulatur

Die Aktivierung der Kalzium/Calmodulin abhängigen endothelialen NO-Synthase (eNOS) führt zur Bildung von NO. Nach Diffusion in die glatte Gefäßmuskelzelle bindet NO an seinen Rezeptor, die lösliche Guanylatzyklase und führt dadurch zur Bildung von cGMP. Dieser second messenger bewirkt durch die Aktivierung von Kaliumkanälen eine Erhöhung des Membranpotenzials, welches wiederum spannungsabhängige Ca^{2+}-Kanäle verschließt. Zudem kommt es durch cGMP über die Aktivierung von Proteinkinasen zu einer Blockierung der Kalzium-Freisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum. Die resultierende verringerte intrazelluläre Kalziumkonzentration verhindert die Aktivierung der Myosin-Leicht-Ketten-Kinase (MLCK), welche die Phosphorylierung der leichten Myosinkette (MLC) in das für die Aktin-Myosin-Interaktion notwendige PhosphoMLC katalysiert. Da zusätzlich eine cGMP-abhängige Proteinkinase zur Aktivierung der Myosin-Leicht-Ketten-Phosphatase, dem Gegenspieler der MLCK führt, wird durch cGMP eine Verschiebung des PhosphoMLC-MLC-Gleichgewichts zum inaktiven MLC verschoben. Damit kommt es unter der Wirkung von NO zu einer Vasorelaxation. Der aktive second messenger cGMP wird schließlich durch Phosphodiesterasen in das unwirksame GMP gespalten oder durch spezifische Transportprozesse unverändert aus der Zelle eliminiert.

3.4.2 Einfluss von cGMP auf die Permeabilität

Neben der Rolle von cGMP in der Gefäßmuskulatur beeinflusst cGMP auch die vaskuläre Permeabilität (siehe Abbildung 12). Das Endothel ist eine selektiv-permeable Barriere. Der Transport von Makromolekülen aus bzw. in den intravaskulären Raum kann sowohl transzellulär als auch parazellulär durch spezialisierte Strukturen des Endothels erfolgen. Aktive Transportprozesse ermöglichen eine hohe Selektivität und Spezifität für die zu transportierenden Moleküle. Für den Transport von Makromolekülen wie Albumin durch Diffusion ist der parazelluläre Weg entscheidend. Er führt durch Interzellulärspalten (so genannte *gaps*), deren mittlerer Porenradius bei 4-5nm liegt und somit den freien Übertritt von Albumin (Molekülradius 3.5nm) einschränkt. Jedoch existieren auch Poren von bis zu 20-30nm Radius, die auch größeren Makromolekülen den Durchtritt gewähren. Durch Kontraktion und Relaxation des Zytoskeletts von Endothelzellen wird die Porenöffnung der verschiedenen *gaps* bestimmt. Je stärker die Kontraktion der Zellfilamente, desto größer

die Porenöffnung und der Stoffaustausch. Daher ist es verständlich, dass cGMP, wie auch cAMP durch Relaxation von kontraktilen Elementen in Endothelzellen [353,377] und einer damit verbundenen Verbesserung der interzellulären Verbindungen, die vaskuläre Permeabilität beeinflusst.

So führt die Gabe von cGMP zu einer Wiederherstellung der Barrierefunktion von geschädigten endothelialen Zell-Einzelschichten und der Gefäße von intakten Lungen nach Lungenschädigung (besprochen in Pearse et al. [289]). Durch Erhöhung der cGMP-Konzentration kann an Endothelzellen großer Gefäße eine reduzierte endotheliale Permeabilität induziert werden [267]. Besonders erwähnenswert ist, dass dieser Effekt nur nach Schädigung z.B. mit Thrombin [85] oder Oxidantien (H_2O_2) zu beobachten ist, unter basalen Bedingungen jedoch nur minimal oder gar nicht ausgeprägt ist [85]. cGMP-Analoga verhindern eine Wasserstoffperoxid-induzierte Permeabilitätserhöhung, indem sie die Umstrukturierung des Zytoskeletts und die Bildung von interzellulären *gaps* abschwächen [288].

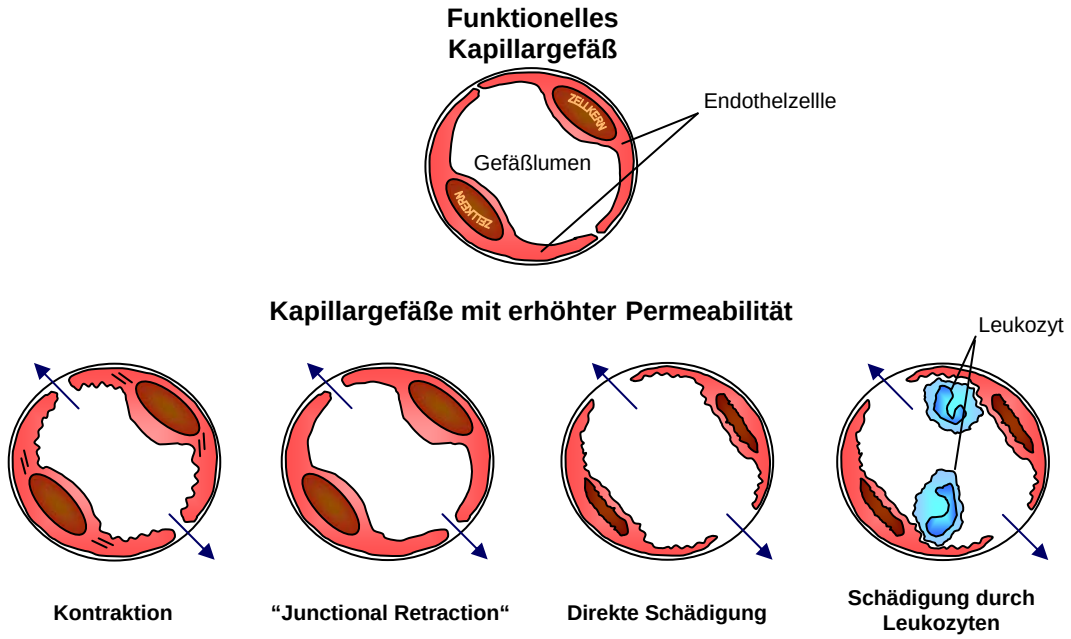


Abbildung 12: Mechanismen einer vermehrten vaskulären Permeabilität

Als möglicher *downstream* Effektor ist wie auch bei den glatten Gefäßmuskelzellen und der cGMP-vermittelten Vasorelaxation eine verminderte intrazelluläre Kalziumkonzentration zu nennen, da die Bildung von interzellulären *gaps* von einem Anstieg des intrazellulären Kalziums abhängig ist. Da durch cGMP und die damit verbundene Aktivierung der PKG und Modulation von Ionenkanälen [379] die intrazelluläre Kalziumkonzentration vermindert wird, kann eine Bildung von *gaps* und eine kalziumabhängige Kontraktion der Endothelzellen und die damit verbundene zelluläre Retraktion verhindert werden.

3.4.3 Abbau von cGMP durch Phosphodiesterasen

Der Abbau des cGMP sowie auch des verwandten cAMP wird durch so genannte Phosphodiesterasen katalysiert, welche die Phosphodiesterbindung zwischen der 3'-OH-Gruppe der Ribose und der Phosphatgruppe hydrolysieren [26] (siehe Abbildung 13). Diese Enzyme spalten die zyklischen Nukleotide cGMP und cAMP zu Guanosin- bzw. Adenosinmonophosphat (GMP und AMP), welche keine biologische Aktivität aufweisen [100].

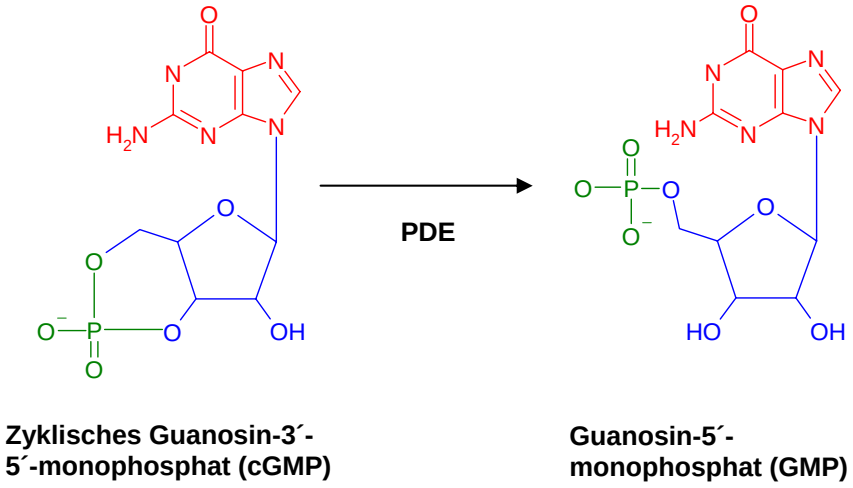


Abbildung 13: Phosphodiesterase (PDE) -vermittelte Umsetzung von zyklischem Guanosin-3‘-5‘-monophosphat (cGMP) in Guanosin-5‘-monophosphat (GMP)

In jeder Zelle, in der eines der beiden zyklischen Nukleotide gebildet werden kann, ist auch mindestens eine Phosphodiesterase für dessen Abbau zuständig. Die intrazelluläre cGMP-Konzentration zu einem gegebenen Zeitpunkt spiegelt also, neben der Elimination durch spezifische cGMP-spezifische Transporter, das Verhältnis von Syntheseaktivität durch GCs und Abbau durch PDEs wider. In der intakten Zelle wird der cGMP-Stoffwechsel durch die Regulation dieser beiden Enzymfamilien kontrolliert, was unterschiedliche pharmakologische Eingriffsmöglichkeiten bietet [265].

Die bisher bekannten Säugetier-PDEs lassen sich in 11 Genfamilien (PDE1 - PDE11) unterteilen, die sich hinsichtlich ihrer Substrat- und Inhibitorspezifität, Regulation, zellulärer Lokalisation und Gewebeverteilung unterscheiden [135,241]. Weiterhin bestehen einige der Familien aus mehreren Genen, die jeweils als verschiedene Spleissvarianten exprimiert werden können. Alle bekannten PDEs, mit Ausnahme der PDE6, liegen als Homodimere vor und bestehen aus mehreren konservierten Domänen, die jeweils für die Lokalisation, Regulation und die Katalyse verantwortlich sind. Dabei liegt die in allen Familien hoch

konservierte katalytische Domäne von 250-300 Aminosäuren in der Nähe des C-Terminus, während die regulatorischen Domänen in der N-terminalen Hälfte lokalisiert sind [68]. In den folgenden Abschnitten sind die PDE-Familien aufgrund ihrer unterschiedlichen Substratspezifität in drei Gruppen unterteilt.

- **cAMP-spezifische PDE-Familien**

Die PDE-Familien, die cAMP mit relativ hoher Spezifität gegenüber cGMP abbauen, sind die PDE4, PDE7 und PDE8. Die PDE4-Familie, die in den meisten Geweben wahrscheinlich wichtigste PDE für den cAMP-Abbau, wird durch vier verschiedene Gene kodiert (PDE4A-4D), die wiederum in jeweils bis zu elf Spleissvarianten (PDE4A1- 4A11) vorliegen. Sie spielen u.a. eine bedeutende Rolle in der glatten Muskulatur von Blutgefäßen und Bronchien. Weiterhin übernehmen sie wichtige Funktionen in neuronalen und endokrinen Geweben und spielen eine Rolle bei bestimmten inflammatorischen Prozessen. Die Induktion der PDE7-Familie ist Vorraussetzung für die Rezeptor-vermittelte Aktivierung von T-Lymphozyten. Über die Rolle der PDE8 ist bisher nur wenig bekannt, sie wird vorwiegend in Hoden, Ovarien, Dick- und Dünndarm exprimiert [265].

- **PDE-Familien mit gemischter Spezifität**

Die PDE-Familien mit gemischter Spezifität, d.h. mit ähnlicher Affinität für cAMP und cGMP an der katalytischen Domäne, sind die PDE1, PDE2, PDE3, PDE10 und PDE11. Die PDE2-Familie (auch bekannt als cGMP-stimulierte PDE) zeichnet sich durch zwei regulatorische cGMP-Bindungsstellen aus, die bei cGMP-Bindung einen stimulatorischen Effekt auf die katalytische Aktivität des Enzyms haben. In Herzmuskelzellen begrenzt die PDE2 den cAMP-stimulierten Ca^{2+}-Einstrom und damit die Kontraktilität. Auch die PDE3-Familie spielt eine zentrale Rolle bei der Begrenzung der cAMP-vermittelten Zunahme der Kontraktilität von Herzmuskelzellen, was therapeutisch durch die Applikation von spezifischen Inhibitoren zur Behandlung der akuten Herzinsuffizienz genutzt wird. Über die PDE10- und PDE11-Familie ist indessen nur wenig bekannt. Die PDE10 und PDE11 besitzen eine Domäne, die homolog zu den cGMP-bindenden Domänen der PDE2, PDE5 und PDE6 ist, eine cGMP-Bindung noch nicht demonstriert werden.

- **cGMP-spezifische PDE-Familien**

Zu den PDE-Familien mit hoher Spezifität für cGMP gegenüber cAMP gehören die PDE5, PDE6 und PDE9. Die PDE6 wird ausschließlich in Stäbchen- und Zapfenzellen der Vertebratenretina exprimiert, wo sie als Schlüsselenzym im Sehprozess fungiert. Die physio-

logische Rolle der PDE9-Familie ist noch unbekannt. Sie wird in der glatten Muskulatur des Dünndarms, in Niere, Leber, Lunge, Hirn, Skelettmuskel, Herz, Thymus und Milz exprimiert.

o *Die PDE5-Familie*

Aufgrund der Tatsache, dass die PDE5 einerseits in der Lage ist cGMP an einer regulatorischen Domäne zu binden und andererseits an der katalytischen Domäne zu hydrolysieren, wird die PDE5 auch als cGMP-bindende-cGMP-spezifische-PDE bezeichnet [(327)]. Sowohl die katalytische Domäne als auch die regulatorische Domäne weist eine hohe Spezifität für cGMP gegenüber cAMP auf. Bisher sind drei Spleissvarianten des Enzyms bekannt, PDE5A1-3, die sich jedoch funktionell nicht voneinander unterscheiden. Die humane PDE5A1 besteht aus 875 Aminosäuren und weist ein Molekulargewicht von ca. 100kDa auf; wie alle anderen PDE-Enzyme, mit Ausnahme der PDE6, liegt die PDE5 als Homodimer vor. Die PDE5 ist ein zytosolisches Enzym und wird vorwiegend in der Lunge [(226)], glatten Gefäßmuskulatur, den Thrombozyten, dem *Corpus cavernosum* und der Niere exprimiert [(265)]. Die PDE5 kann selektiv durch den Wirkstoff Sildenafil-Zitrat (Viagra®, siehe Abbildung 14) gehemmt werden [(68)].

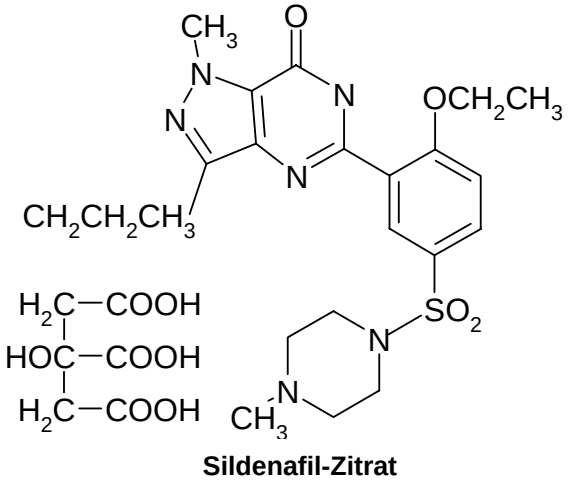


Abbildung 14: Strukturformel des PDE5-Inhibitors Sildenafil (Viagra®)

Ursprünglich als Therapeutikum für kardiovaskuläre Erkrankungen entwickelt, wird Viagra® zur medikamentösen Behandlung der erektilen Dysfunktion bei Männern eingesetzt. Dabei beruht der therapeutische Effekt von Sildenafil auf der synergistischen Wirkung auf die NO-cGMP-vermittelte Relaxation der glatten Muskulatur des *Corpus cavernosum* und der zuführenden Arterien [(265)]. Durch die Erschlaffung der Gefäßmuskulatur kommt es zu

einem vermehrten Bluteinstrom was eine Erektion ermöglicht. Auf Viagra® folgten mit der Markteinführung von Levitra® (Vardenafil) und Cialis® (Tadalafil) weitere PDE5-Hemmer, die sich in ihrer Pharmakokinetik und der Selektivität gegenüber anderen PDEs (PDE1, PDE6 und PDE 11) [38], nicht jedoch im Wirkmechanismus unterscheiden [121,131].

3.4.4 Elimination von cGMP durch Transport aus der Zelle

Neben der Spaltung von cGMP durch Phosphodiesterasen, wird die Wirkung des s*econd messengers* auch durch die Elimination des zyklischen Nukleotids durch spezifische Transportprozesse begrenzt. Da Lipiddoppelschichten für zyklische Nukleotide nahezu undurchlässig sind, cGMP und cAMP jedoch im Urin nachgewiesen werden können, musste davon ausgegangen werden, dass Transportprozesse an der Elimination der *second messenger* beteiligt sind.

Mitglieder der *Multidrug-Resistance*-Protein-Familie wurden als Transporter für amphiphile Anionen, im Besonderen für Konjugate von lipophilen Substanzen mit Glutathion, identifiziert [175]. Diese Familie, die wiederum zur Gruppe der ABC-Transporter zählt, besteht aus neun Mitgliedern [331]. Es konnte gezeigt werden, dass zwei dieser Transporter, nämlich MRP4 und MRP5, die strukturell sehr ähnlich sind, nicht nur Adenosin- und Guanosinmonophosphat-Derivate sondern auch cAMP und cGMP transportieren können. Zudem konnte eine Expression von MRP5 mit hohen Transkriptionsraten in Gehirn, Lunge, Herz und Skelettmuskel nachgewiesen werden [175]. MRP5 transportiert zwar die beiden zyklischen Nukleotide (cAMP und cGMP), aber cGMP mit einer deutlich höheren Affinität. Daher ist davon auszugehen, dass die intrazelluläre cGMP-Konzentration nicht nur von der Synthese durch Guanylatzyklasen und dem metabolischen Abbau durch Phosphodiesterasen, sondern auch von der Elimination durch MRP5 abhängt [273]. Dies ist insbesondere deshalb von Bedeutung, da klinisch relevante PDE-Inhibitoren den cGMP-Transport aus der Zelle ebenfalls hemmen. So hemmt Sildenafil nicht nur die PDE5 sondern auch das MRP5 sehr effektiv. Von daher kann spekuliert werden, dass die vasodilativen Effekte von Sildenafil nicht nur auf der Hemmung der PDE5 (PD1 und PDE6) beruhen, sondern auch auf einer Hemmung des MRP5-vermittelten cGMP-Transports resultieren [175,331].

Neben dem MRP-Transporter wird inzwischen auch die Beteiligung von organischen-Anion-Transportern (OAT), insbesondere OAT1, der im Gegensatz zum OATP ebenfalls eine hohe Affinität für cGMP aufweist, an der Exkretion von unverändertem cGMP aus der Zelle diskutiert [330].

II MATERIAL UND METHODEN

MATERIAL

1 VERSUCHSTIERE

Für die Versuche wurden männliche Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*) der Rasse Weisse-Neuseeländer, unterschiedlicher phänotypischer Ausprägung (weiß, grau, schwarz und braun), mit einem mittleren Gewicht von 3,10±0,25kg verwendet. Die Tiere wurden von den Behring-Werken Marburg bereitgestellt, nachdem sie als Versuchstiere in Pyogentests verwendet wurden. Über die Dauer und Art der Vorbehandlung der Tiere insbesondere über die gestesteten Substanzen und Testergebnisse war nichts bekannt.

Die Kaninchen wurden im Zentralen-Tierlabor der Justus-Liebig-Universität Gießen gehalten und je nach Bedarf einmal pro Woche in den Tierstall des Zentrums für Innere Medizin der Medizinischen Klinik II des Universitätsklinikums Gießen überführt.

Die Fütterung der Kaninchen erfolgte mit Altromin® Standarddiätfutter welches *ad libitum* angeboten wurde. Zudem stand den Tieren stets ausreichend Leitungswasser zur Verfügung. Die Beleuchtungsdauer im Zentralen-Tierlabor der Universität betrug 12 Stunden pro Tag, wobei die Umgebungstemperatur bei 25°C lag.

1.1 Tierversuchsantrag

Die Versuche wurden vom Regierungspräsidium Gießen genehmigt. Der für die Versuche geltende Tierversuchsantrag kann unter dem Aktenzeichen V54-19c20/1 5(1)GI20/10-Nr.51/2004 eingesehen werden.

2 VERBRAUCHSMATERIAL

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
Atemfilter	Hygrobaby®	Mallinckrod Mirandora, Italien
Entnahmekanüle	Mini-Spike Plus®	Braun Melsungen, Deutschland
Dreiwegehahn blau und rot	Discofix®	Braun, Melsungen, Deutschland
Einmalspritze 20ml, 10ml, 5ml, 2ml, 1ml	Inject Luer	Braun Melsungen, Deutschland
Einmalspritze 50ml, (Perfusor®)	Ecoject® Plus	Dispomed Witt Gelnhausen, Deutschland
Kanüle 20G, 18G	Neoinject®	Dispomed Witt Gelnhausen, Deutschland
Medizinisches Klebeband	Durapore®	3M St. Paul, MN, USA
Venenverweilkanüle 20G und 22G	Vascoscan® Braunüle®	Braun Melsungen, Deutschland
LS-2-Verbinder	Luer Lock	Braun, Melsungen, Deutschland
Zellstofftupfer 5x4cm	Purzellin®	Lohmann und Rauscher Rengsdorf, Deutschland
Einmalhandschuhe	Transaflex®	Ansell Surbiton Surrey, UK
Mulltupfer 20x20mm, Pflaumengross		Bresese Barbuttel, Deutschland
Parafilm		American National Can Greenwich, USA
Perfusor®-Leitung 150cm		Braun Melsungen, Deutschland
Combi-Stopper		Braun Melsungen, Deutschland
Zellulose Handtücher		Tork Mannheim, Deutschland
Pipettenspitzen gelb und blau		Sarstedt Nürmbrecht, Deutschland
Haushaltsbindfaden Nr. 12		
Zellulose Unterlage		

3 OPERATIONSBESTECK

3.1 Besteck für die Präparation des Versuchstiers

Abbildung 15: Operationsbesteck für die Präparation des Versuchstiers

von links nach rechts: Pinzette anatomisch, gewinkelt, spitz, 8cm; Pinzette anatomisch, gewinkelt, stumpf, 10cm; Präparierschere nach Metzenbaum, gerade, stumpf, 12cm; Pinzette chirurgisch, 1:2 Zähne, 12cm; Schere chirurgisch, gebogen, spitz, 12cm; Präparierschere nach Metzenbaum, gebogen, stumpf, 14cm (Fadenschere); Moskito-Arterienklemme gerade; Moskito-Arterienklemme gebogen

3.2 Besteck für die Entnahme der Lunge

Abbildung 16: Operationsbesteck für die Entnahme der Lunge

von links nach rechts: Caramalt-Artereinklemme; Einmalskalpell (No. 22); Darmklemmen; Knochenschere, geknöpft und gewinkelt

4 INJEKTIONSLÖSUNGEN

4.1 Allgemeine Injektionslösungen

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
Elektrolytlösung IIN1000ml		Serag Wiesner, Naila, Deutschland
Isotonische Natrium-Chlorid-Lösung (NaCl)	Perfuflac® N	Braun, Melsungen, Deutschland

4.2 Antikoagulanz

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
Heparin (5000 IE pro ml)	Liquemin®	Ratiopharm Ulm, Deutschland

4.3 Katecholamin

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
Norepinephrinhydrochlorid (1000µg pro ml)	Arterenol®	Aventis Frankfurt, Deutschland

4.4 Lösungsmittel

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
DMSO (Dimethylsulfoxid)		Merck Darmstadt, Deutschland
Isotonische Natrium-Chlorid-Lösung (NaCl)	Perfuflac® N	Braun Melsungen, Deutschland

4.5 Muskelrelaxans

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
Pancuroniumbromid 2mg/2ml	Pancuronium®	Inresa Arzneimittel Freiburg, Deutschland

4.6 Narkotika/Anästhetika

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
Ketaminhydrochlorid	Ketanest® (100mg/ml)	Pharmacia Erlangen, Deutschland

Lidocainhydrochlorid	Xylocain® (2%)	ASTRAZeneca Wedel/Holstein, Deutschland
Xylazin	Rompun® (2%)	Bayer Leverkusen, Deutschland

4.7 Testsubstanzen

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
Ölsäure	Produkt Nr.: 75092	Fluka Buhs, Deutschland
Bay 41-2272, Bay 58-2667		Bayer Wuppertal, Deutschland
Sildenafil-Zitrat		Pfizer Karlsruhe, Deutschland

5 GASE

Bezeichnung	Reinheit	Hersteller/Bezugsquelle
Sauerstoff (O_2)	4.5	Messer Griesheim Frankfurt, Deutschland
Stickstoff (N_2)	4.0	Messer Griesheim Frankfurt, Deutschland
Stickstoffmonoxid (NO) 2000ppm in N_2	NO 6.0 N_2 2,5	Messer Griesheim Frankfurt, Deutschland

6 SONSTIGE MATERIALIEN

6.1 Beatmung

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
Beatmungspumpe		Ugo Basile Comerio-Varise, Italien
Einmalpipette 10ml in 1/10ml	Falcon®	Becton Dickinson Franklin Lakes, USA
Gasmischanlage		Witt Gastechnik Witten, Deutschland
NO-Messgerät	MG 2000	Micro Gas, Dego, Medizin Elektronik, Nagold, Deutschland
PET-Schläuche mit unterschiedlichen Durchmessern		
PET-Flasche 1,5l		

6.2 Blutanalyse

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
Blutanalysegerät ABL 330		Radiometer Copenhagen, Dänemark
Blutanalysegerät OSM2	Hemoximeter®	Radiometer Copenhagen, Dänemark

6.3 Druckmessung

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Bezugsquelle
Schleuse Einführungsbesteck mit venös hämostatischem Ventil 5F	Intradyn®	Braun Melsungen, Deutschland
Ballonkatheter Berman Angiographic	4 Fr. 50cm	Arrow Erding, Deutschland
Druckschlauch zur intrakardialen und arteriellen Druckmessung 150cm	Combidyn®	Braun Melsungen, Deutschland
Verstärker Plugsys		Hugo Sachs March, Deutschland
Druckaufnehmer Combitrans Monitoring-Set Mod. II Monitoring-Set mit Einwegtransducer zur physiologischen Druckmessung mit rot markierten Druckschläuchen		Braun Melsungen, Deutschland
Computer mit Monitor		
Druckwandler		

6.4 Sonstiges

Bezeichnung	Handelsname	Bezugsquelle
Alkoholische Lösung	Softasept®	Braun Melsungen, Deutschland
Analysewaage Mettler DJ 400		Mettler Toledo Gießen, Deutschland
Pippetten 10/100/1000µl		Eppendorf
Trockenschrank		Memmert Schwabach, Deutschland
Wärmeunterlage	Thermplux®	Witte und Sutor Murrhardt, Deutschland
Perfusor®		Braun Melsungen, Deutschland

Urinbecher mit Deckel	Zur Aufbewahrung der Lunge
Personenwaage	Zur Bestimmung des Tiergewichts
Perfusor®-Spritze ohne Kolben	Zur Überstreckung des Halses
Gasflaschenkappe	Zur Fixierung des Versuchstieres
Operationsschale	Eigenbau der Werkstätten der Universität
Transportbox für Kaninchen	Eigenbau der Werkstätten der Universität

METHODEN

1 VERSUCHSAUFBAU

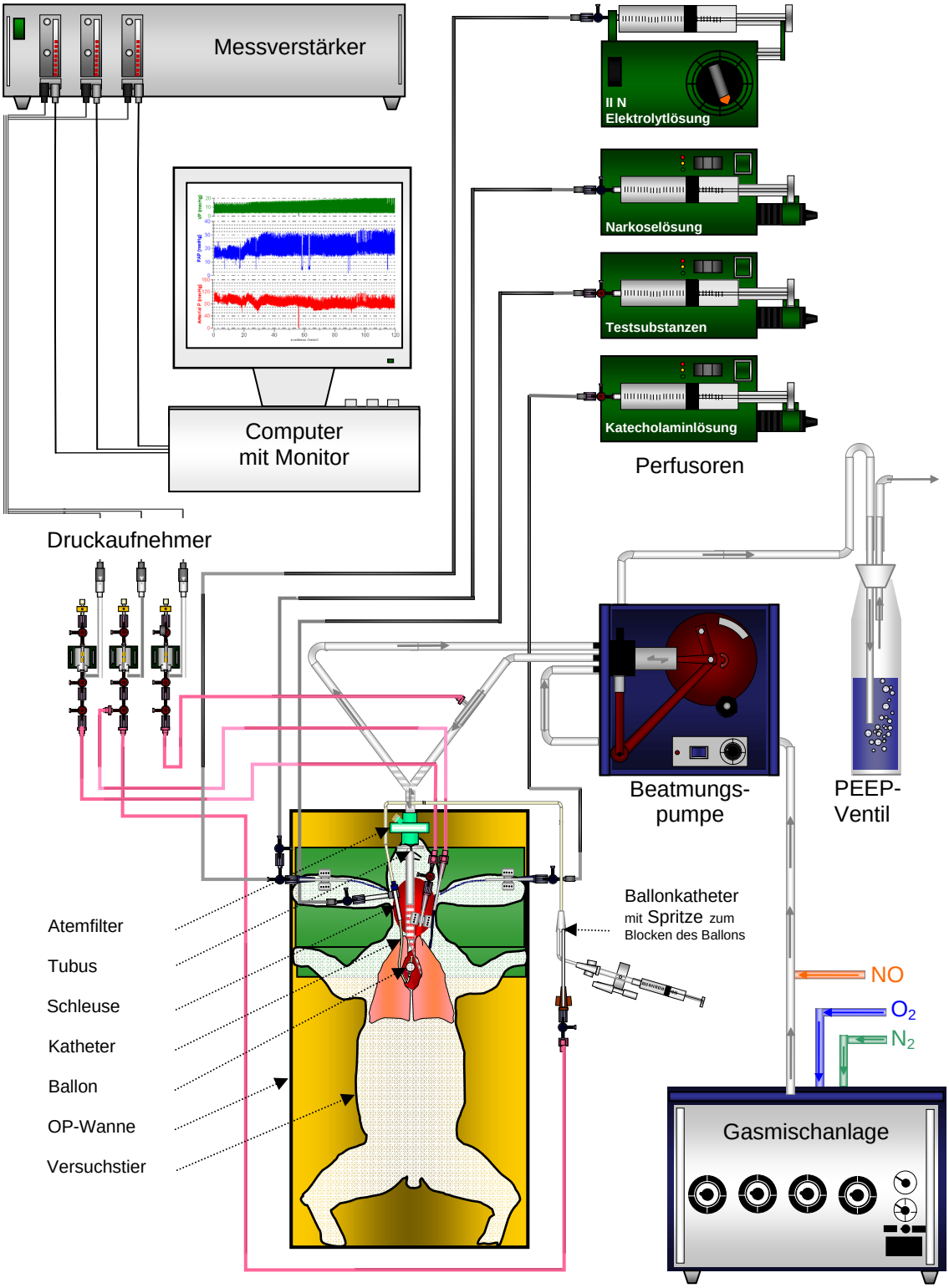


Abbildung 17: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus

Das Versuchstier befindet sich in einer mit einer Heizplatte temperierten Operationsschale. Druckaufnehmer, die sich auf Höhe des Herzens befinden, registrieren die Drücke SAP, VP, PAP/RVP und CVP. Die Signale werden nach Verstärkung und Umwandlung mittels einer Wandlerkarte im PC durch das Computerprogramm Labtech Pro® aufgezeichnet und auf dem Monitor angezeigt. Die Beatmung des Versuchstiers erfolgt über eine Beatmungspumpe. Stickstoff (N_2) und Sauerstoff (O_2) werden in der Gasmischanlage zum Beatmungsgas gemischt. Stickstoffmonoxid (NO) wird bei den entsprechenden Versuchen dem N_2-O_2-Gasgemisch noch vor der Beatmungspumpe zugesetzt. Mit einem PEEP-Ventil, das aus zwei 10ml Pipetten in einer mit Wasser gefüllten PET-Flasche besteht, wird ein positiv-endexpiratorischer Druck von 5cm Wassersäule eingestellt. Die Injektionslösungen werden mit Hilfe von Perfusoren über die venösen Zugänge rechte und linke Ohrrandvene sowie linke Vena jugularis infundiert.

2 VERSUCHSVORBEREITUNGEN

2.1 Allgemeine Versuchsvorbereitungen

Vor Beginn des Versuchs wurde der Computer hochgefahren und das Programm Labtech Pro® (Labtech Runtime Version 10.1, Laboratory Technologies Corp.) zur Aufzeichnung der Blutdrücke und des Beatmungsdrucks gestartet. Nach Spülung der Druckaufnehmer und Druckschläuche mit physiologischer Kochsalzlösung wurden die Ausgangswerte für den SAP, RVP bzw. PAP, CVP und VP durch Einstellung am Druckwandler auf Null mmHg eingestellt. Die Gasflaschen wurden voll aufgedreht und die Gasmischanlage angeschaltet. Durch kurzes Einschalten der Beatmungspumpe bei verschlossenem Tubus wurde kontrolliert, ob das Schlauchsystem für die Beatmung dicht ist und der Beatmungsdruck registriert wird.

2.2 Herstellung der Injektionslösungen

2.2.1 IIN-Elektrolytlösung zur Volumensubstitution

Zwei 50ml Perfusor®-Spritzen wurden mit Hilfe der Mini-Spike® Dispensierkanülen mit IIN-Elektrolytlösung befüllt und mit einem LS-2-Verbinder verbunden. Nach luftblasenfreiem Anschluss der Perfusor®-Leitung wurden die Spritzen in den Perfusor® eingespannt.

2.2.2 Narkoselösung

Zur Herstellung der Narkoselösung wurden 15ml isotonischer Kochsalzlösung, 15ml Ketavet® und 25ml Rompun® in einer 50ml Perfusorspritze vermischt. Das Verhältnis Ketamin/Xylazin entsprach somit 30/10mg pro ml. Nach luftblasenfreiem Anschluss der Dreiwegehähne und der Perfusor®-Leitung wurde die Spritze im Perfusor® platziert.

2.2.3 Katecholaminlösung

Eine Ampulle Arterenol® (1ml) wurde mit 49ml isotonischer Natrium-Chlorid-Lösung in einer 50ml Perfusor®-Spritze zu einer Lösung mit 20µg Norepinephrinhydrochlorid pro ml verdünnt.

2.2.4 Lösungen für die Therapieversuche

Sildenafil

Es wurden Verdünnungen mit 30µg/ml, 90µg/ml und 300µg/ml hergestellt. Aufgrund der schlechten Löslichkeit des Sildenafil-Zitrats wurde die entsprechende Menge Testsubstanz zuerst in einem ml DMSO gelöst und dann mit 49ml isotonischer Kochsalzlösung verdünnt. Die Lösungen wurden in einer Perfusor®-Spritze aufgezogen, die nach luftblasenfreiem Anschluss der Dreiwegehähne und der Perfusor®-Leitung in einen Perfusor® eingespannt wurde.

Bay 41-2272

Da die Bayersubstanz in Pulverform vorlag und schlecht löslich war, wurden 10mg Testsubstanz in 1ml DMSO gelöst. Diese Stammlösung diente, wie schon für die Sildenafilversuche beschrieben, als Ausgangslösung für drei Verdünnungen. Es wurden Lösungen mit 9µg/ml, 30µg/ml und 90µg/ml hergestellt.

Bay 58-2667

Für die Versuche mit dieser Substanz galt das Gleiche wie für Bay 41-2272. Da jedoch Versuche mit einer dreifach geringeren Konzentration durchgeführt wurden, mussten Stammlösungen mit 3µg/ml, 9µg/ml und 30µg/ml hergestellt werden.

Sonstige Injektionslösungen

Für die Initialnarkose wurden in einer 1ml Tuberkulinspritze 0,5ml der hergestellten Narkoselösung mit 0,1ml Liquemin® und 0,4ml isotonischer Kochsalzlösung gemischt. Zum Spülen der Braunülen® und des Ballonkatheters wurden 0,1ml Liquemin® in einer 1ml

Spritze mit 0,9ml NaCl-Lösung verdünnt. Als Lösung zur Muskelrelaxation wurde eine Ampulle Pancuronium® mit der gleichen Menge isotonischer Kochsalzlösung in einer 5ml Spritze aufgezogen. Zur Tötung der Versuchstiere am Versuchsende wurden 2ml der hergestellten Narkoselösung in einer 2ml Spritze aufgezogen.

2.3 Vorbereitung des Versuchstiers

2.3.1 Gewichtsbestimmung

Nach Entnahme des Versuchstiers aus dem Käfig wurde das Tier in eine vorher gewogene Transportbox gesetzt. Das Gesamtgewicht von Transportbox und Tier wurde mit einer Personenwaage auf 100g genau gemessen.

2.3.2 Initialnarkose

Das Tier wurde durch eine Gasflaschenkappe, die zwischen Tier und hinterer Wand der Transportbox platziert wurde, fixiert. Nach der Fixierung des Versuchstiers wurde das rechte Ohr durch die Öffnung nach vorne geholt. Zur Reinigung der Punktionsstelle und besseren Darstellung des Gefäßes wurde das Ohr mit einem Alkohol-getränkten Zellstofftupfer abgewischt. Durch leichtes Abwärtsziehen des Ohres über den Rand der Transportboxöffnung wurde die Ohrrandvene gestaut, was die Punktion des Gefäßes erleichterte. Nach Punktion der Vene wurde die Braunüle® vorgeschoben und mit Klebeband am Ohr fixiert. Die Injektion der Narkoselösung erfolgte zügig, aber nicht zu schnell. Der Beginn der Narkose wurde durch den Bewusstseinsverlust des Tieres und die Muskelrelaxation deutlich.

2.3.3 Lagerung des Tieres

Nach der Narkoseeinleitung wurde das Versuchstier aus der Transportbox entnommen und in Rückenlage in die mit einer Wärmematte beheizte Operationsschale gelegt. Die Vorderextremitäten wurden mit Klebeband am Rand der Operationsschale fixiert (siehe Abbildung 18). Der Hals wurde durch eine leere Perfusor®-Spritze ohne Kolben leicht überstreckt. Um ein Ersticken des Tieres vor Beginn der Beatmung zu verhindern, wurde die Zunge vorgelagert.

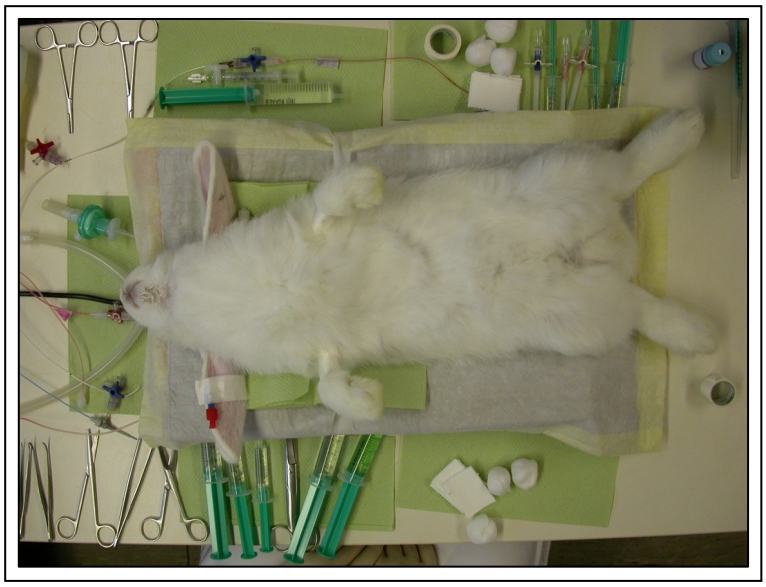


Abbildung 18: Lagerung des Versuchstiers

2.3.4 Aufrechterhaltung der Narkose und Volumensubstitution

Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde die Narkoselösung an die Braunüle® angeschlossen. Die Perfusion erfolgte mit 7ml/h. Gleichzeitig begann die Volumensubstitution mit der IIN-Elektrolytlösung. Die Perfusion erfolgte hier mit 12ml/h. Da jedoch zwei Spritzen in den Perfusor® eingespannt waren, erhielt das Tier 24ml Volumen pro Stunde. Die Narkosetiefe wurde vor Beginn der Präparation durch Test des Lid- und Corneareflexes sowie durch Kompression der Zwischenzehenhaut an den Gliedmaßen und des Schwanzes getestet.

2.3.5 Lokale Anästhesie der Präparationsstelle

Zur vollkommenen Schmerzausschaltung im Präparations- und Tracheotomiegebiet und zur Erleichterung der Präparation durch die Bildung einer Quaddel wurden ca. 6ml Xylocain® im ventralen Halsbereich subkutan injiziert. Das Fell wurde in diesem Bereich zuvor mit einem Alkohol/Leitungswassergemisch befeuchtet, um eine Kontamination des späteren Präparationsfeldes mit Haaren zu verhindern.

2.3.6 Stabilisierung mit Katecholaminen

Wie schon rechts, wurde das linke Ohr zur Reinigung der Punktionsstelle und besseren Darstellung des Gefäßes mit einem Alkohol-getränkten Zellstofftupfer abgewischt. Nach Punktion der Vene wurde die Braunüle® vorgeschoben und fixiert. Um einen Verschluss des Venenverweilkatheters durch Blutgerinnsel zu verhindern, wurde vor Anschluss der Katecholaminlösung 1ml der Spüllösung injiziert. Die Katecholamin-Infusion wurde mit

0,3ml/h begonnen. Bei Anzeichen, die auf einen niedrigen Blutdruck des Versuchstiers schließen ließen, wie z.B. schlechte Füllung der Gefäße, geringe Blutungsneigung an durchtrennten Gefäßen und schwache Pulsation der Arterien, wurde die Infusionsrate in 0,1ml/h Schritten erhöht.

2.4 Operation

2.4.1 Tracheotomie und Intubation

Nach erneuter Kontrolle der Narkosetiefe durch Kompression der Zwischenzehenhaut an den Gliedmaßen, wurde im Bereich der Quaddel ein ca. 5x4cm großes Hautstück mit einem Scherenschlag entfernt. Nach vorsichtiger Entfernung der Quaddel wurde Thymus-, Muskel- und Bindegewebe gefäßschonend abpräpariert, bis sich die Trachea mit ihren charakteristischen Knorpelspangen darstellte. Durch Anheben der Luftröhre mit der stumpfen Pinzette konnte die spitze Pinzette unter der Luftröhre hindurchgeführt werden, ohne dass Strukturen, wie z.B. die Carotiden oder der Ösophagus, perforiert wurden. Durch leichtes Spreizen der Pinzette wurde so viel Platz geschaffen, dass eine Ligatur mit einem Stück Bindfaden vorbereitet werden konnte.

Nach Anschalten der Beatmungspumpe wurde die Luftröhre ca. 2cm unterhalb des Larynx durch einen Scherenschlag zwischen zwei Knorpelspangen eröffnet und der Tubus, der über den Atemfilter mit dem Schlauchsystem der Beatmung verbunden war, eingeführt. Dabei wurde darauf geachtet, dass der Tubus vor der Bifurkation zu liegen kam, um eine gleichmäßige Belüftung beider Lungenflügel zu erreichen. Durch Zuziehen der vorbereiteten Ligatur und Umschlingung des Y-stücks der Beatmungsschläuche wurde der Tubus in seiner Lage fixiert.

2.4.2 Präparation der rechten V. jugularis und Einführen der Schleuse

Zur Darstellung des oberflächlich liegenden und durchschimmernden Gefäßes wurde lateral und medial anliegendes Binde-, Fett- und Muskelgewebe abpräpariert (siehe Abbildung 19a bis d). Nach Unterstechung der Vene mit der spitzen Pinzette wurde durch Spreizen des Instruments Platz für zwei Ligaturen geschaffen (a). Die cranial gelegene Ligatur wurde umgehend zugezogen, wohingegen die hintere vorerst nur vorbereitet wurde (b). Durch die craniale Ligierung des Gefäßes wurde der Blutfluss zum Herzen unterbrochen, was zum Leerlaufen der Vene führte. Nach Anheben der Vene mit der stumpfen Pinzette wurde das Gefäß und umliegendes Gewebe mit einem Scherenschlag durchtrennt und nach oben

gezogen um einen Blutaustritt aus dem Gefäß zu verhindern (c). Durch vorsichtiges Auseinanderziehen des Gewebes mit der spitzen Pinzette konnte die großlumige Gefäßöffnung dargestellt werden (d).

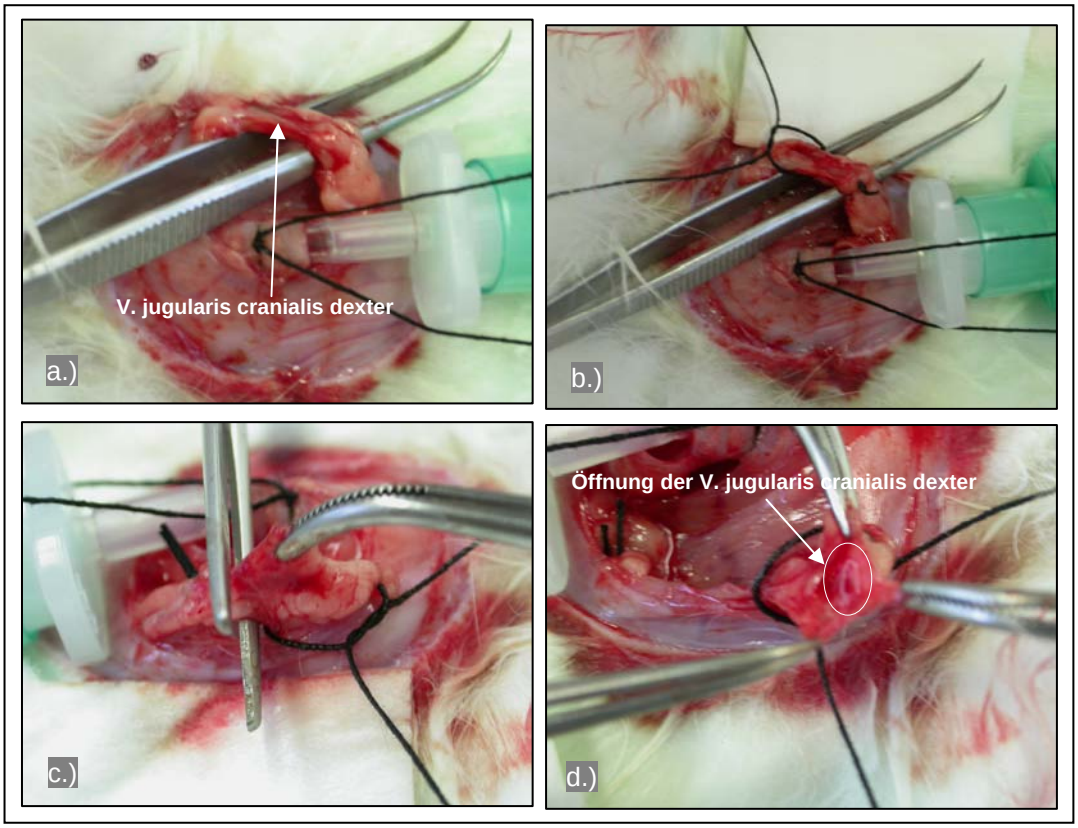


Abbildung 19: Präparation der rechten Vena jugularis

Nach anfänglicher Sondierung mit der Spitze des Mandrins wurde die Schleuse durch Vorschieben in caudo-dorsaler Richtung in das Gefäß eingeführt und durch Zuziehen der vorbereiteten caudalen Ligatur in seiner Lage fixiert (siehe Abbildung 20a und b).

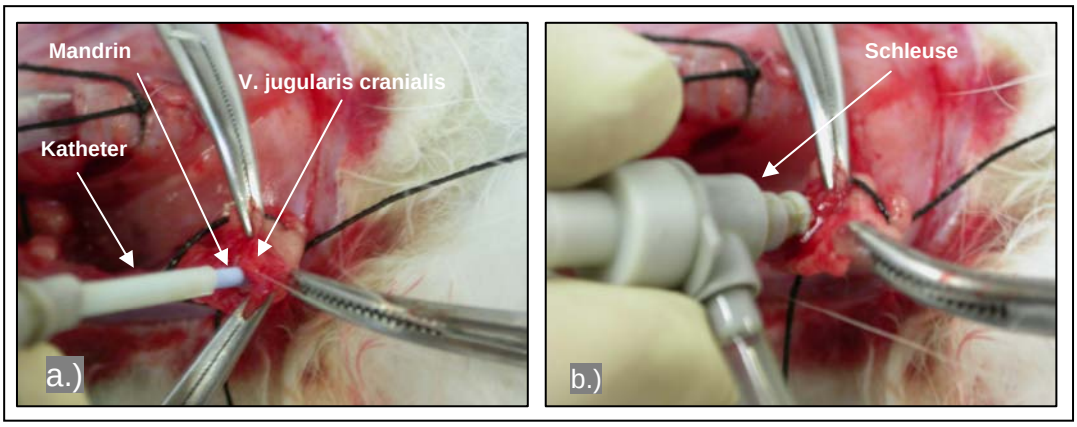


Abbildung 20: Einführen der Schleuse in die rechte Vena jugularis

Nach Entnahme des Mandrins wurden eventuell vorhandene Luftblasen durch Aspiration entfernt und die gesamte Schleuse mit 2ml physiologischer NaCl-Lösung gespült.

2.4.3 Präparation der linken V. jugularis und Einführen der Braunüle®

Bei der Präparation der linken *Vena jugularis* wurde wie auf der rechten Seite verfahren (siehe Abbildung 21a bis d). Es wurde jedoch keine Schleuse sondern eine 20G Braunüle®, durch die der zentralvenöse Druck abgeleitet wurde, in das Gefäß eingeführt. Daher musste das Gefäß nicht vollständig durchtrennt, sondern lediglich mit der Kanüle punktiert werden (b). Zur Erleichterung der Punktion wurde die craniale Ligatur nicht vorzeitig zugezogen um eine ausreichende Füllung des Gefäßes zu garantieren. Nach Vorschieben des Katheters wurden die Ligaturen zugezogen und der Katheter somit in seiner Lage fixiert (d). Nachfolgend wurde der flüssigkeitsgefüllte Druckschlauch angeschlossen.

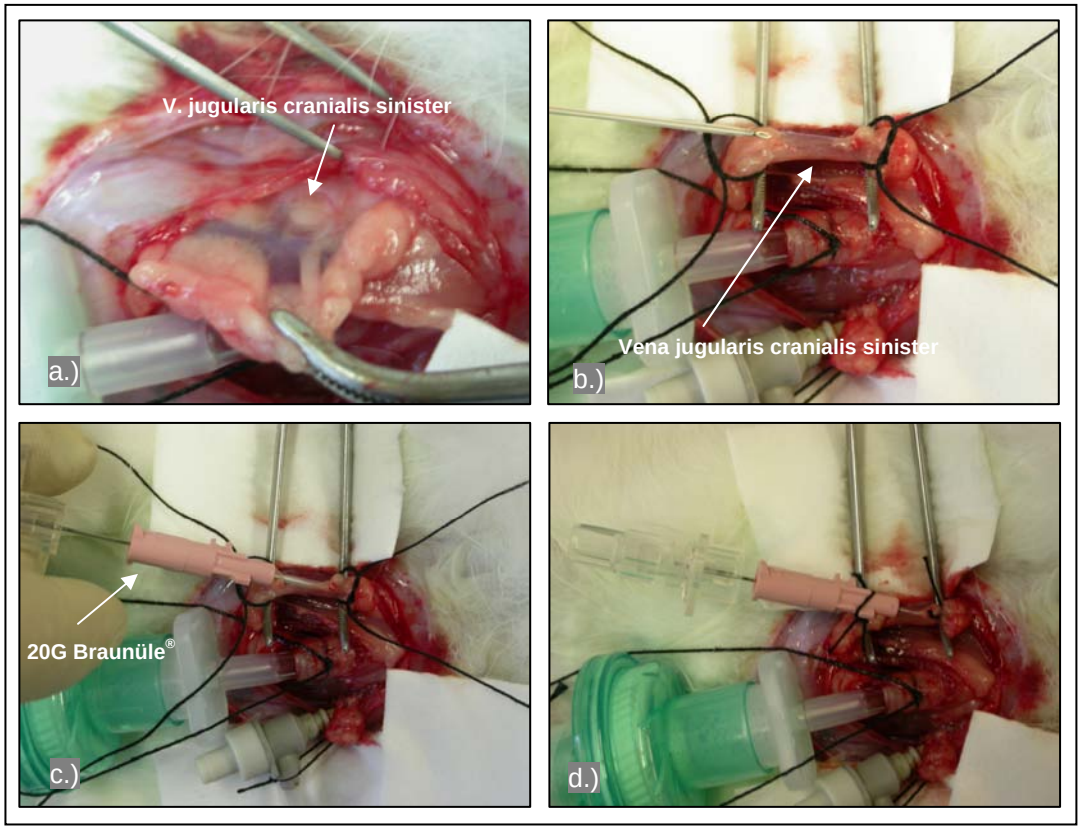


Abbildung 21: Präparation der linken Vena jugularis und Einführen des Verweilkatheters

2.4.4 Präparation der linken Arteria carotis und Einführen der Braunüle®

Aufgrund ihrer Lage, direkt neben der Trachea, konnte die Arterie durch leichtes Auseinanderziehen des Gewebes in der Tiefe durch die Pulsation und hellrot-schimmernde Farbe

deutlich ausgemacht werden (siehe Abbildung 22a). Durch vorsichtiges Ergreifen mit der stumpfen Pinzette (siehe Abbildung 22b) wurde die Arterie vorgelagert und von Bindegewebe und dem darin verlaufenden Nervus vagus freipräpariert. Durch Unterfahren mit der spitzen Pinzette wurde das Gefäß vorgelagert (siehe Abbildung 22c). Es wurden drei Ligaturen vorbereitet; zwei caudale zur späteren Fixation des Venenverweilkatheters und eine zum Verschluss des cranial gelegen Gefäßabschnitts, welche unmittelbar zugezogen wurde. Nach vorübergehender Unterbrechung des vom Herzen kommenden Blutflusses durch Kompression der Arterie mit einer Arterienklemme zwischen den beiden hinteren Ligaturen (siehe Abbildung 22d), wurde das Gefäß mit der Kanüle punktiert und der Katheter bis zur Arterienklemme vorgeschoben (siehe Abbildung 23a).

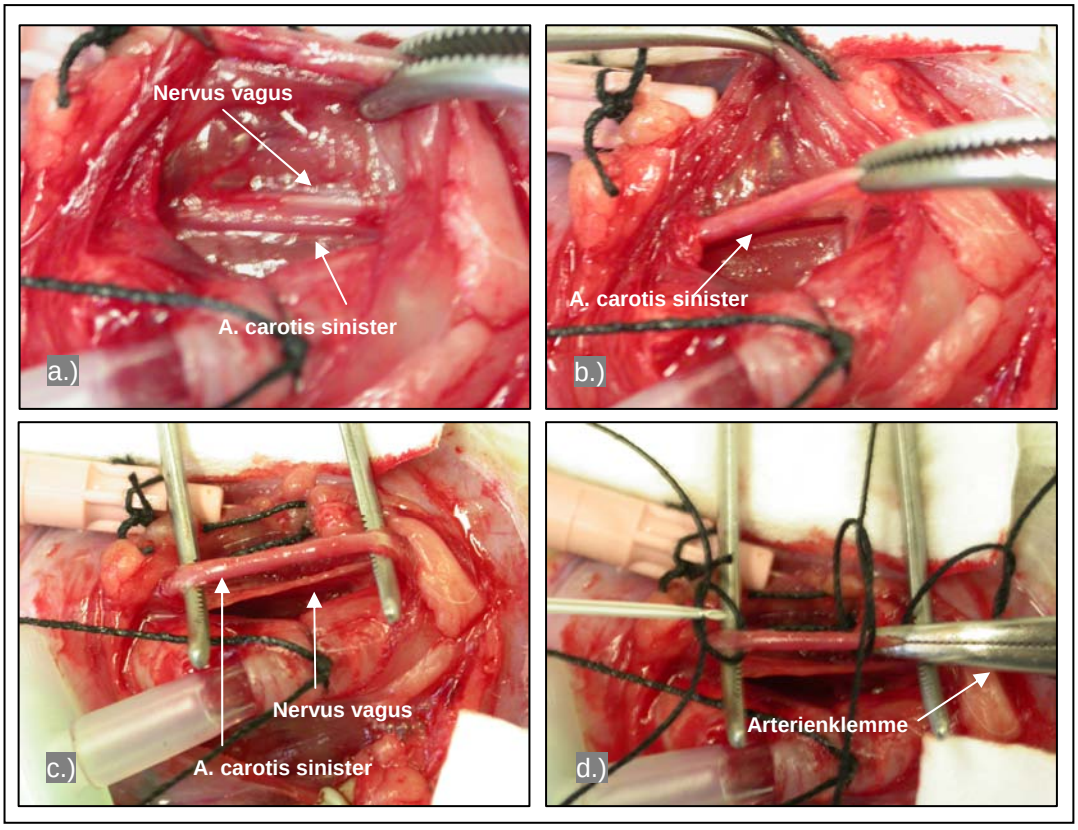


Abbildung 22: Präparation der linken Arteria carotis

Nach Anschluss des mit dem Druckschlauch verbundenen Dreiwegehahns (siehe Abbildung 23b) und vorsichtigem Zuziehen der vorderen der beiden caudalen Ligaturen wurde die Arterienklemme wieder gelöst und der Katheter vollständig in das Gefäß eingeführt (siehe Abbildung 23c). Die Fixation des Katheters erfolgte durch Zuziehen der letzten offenen Ligatur und Verknotung mit den Flügeln der Braunüle® (siehe Abbildung 23d).

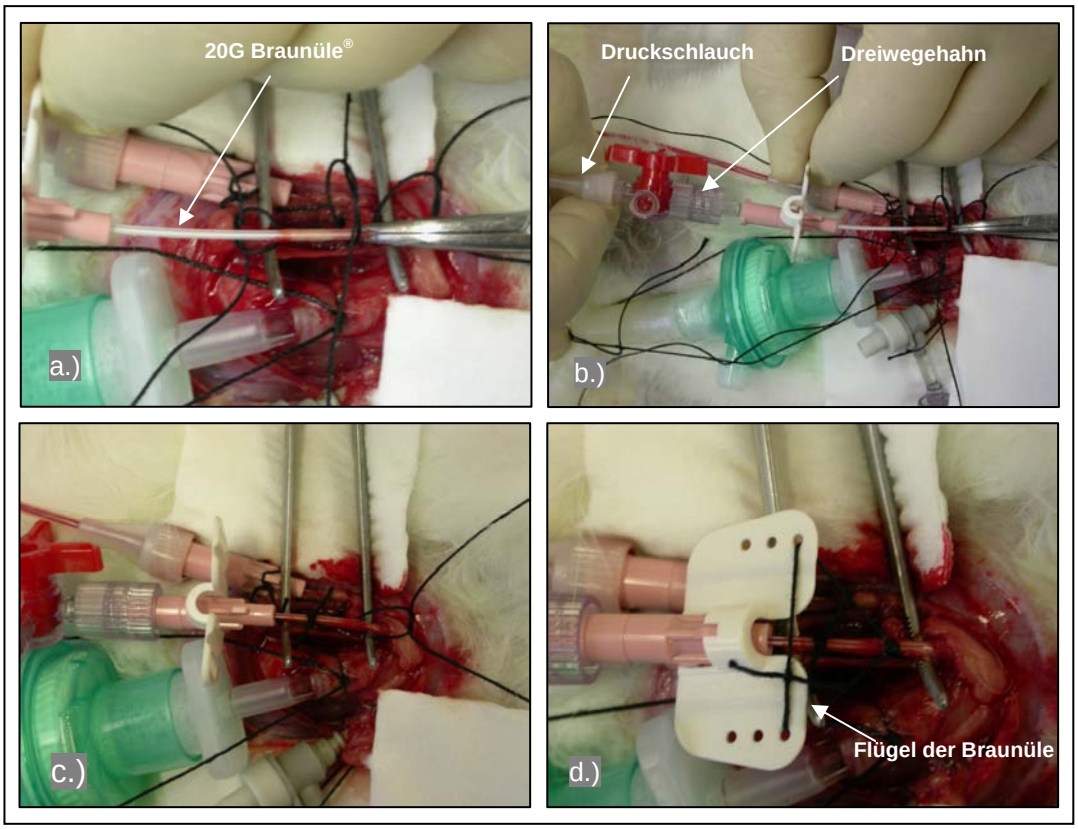


Abbildung 23: Einführen der Braunüle® und Fixation

2.5 Einführen des Ballonkatheters

Zur Erfassung des pulmonalarteriellen Drucks resp. rechtsventrikulären Drucks wurde ein 4Fr. Ballonkatheter über das Rückschlagventil der Schleuse intravenös eingeführt (siehe Abbildung 24) und über den rechten Vorhof bis in den rechten Ventrikel (1. Markierung) resp. die *Arteria pulmonalis* (2. Markierung) vorgeschoben.

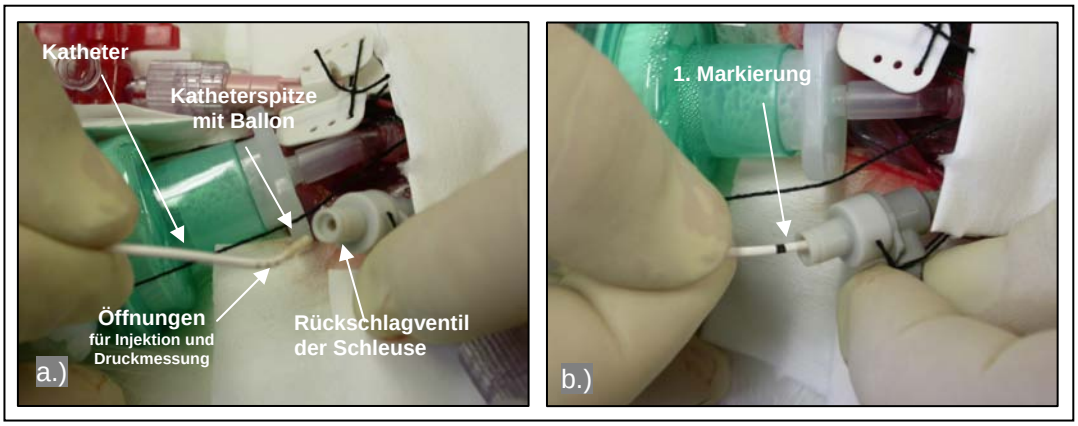


Abbildung 24: Einführen des Ballonkatheters

Durch die kontinuierliche Druckaufzeichnung während des Vorschiebens konnte die Position des Katheters kontrolliert werden (siehe Abbildung 25).

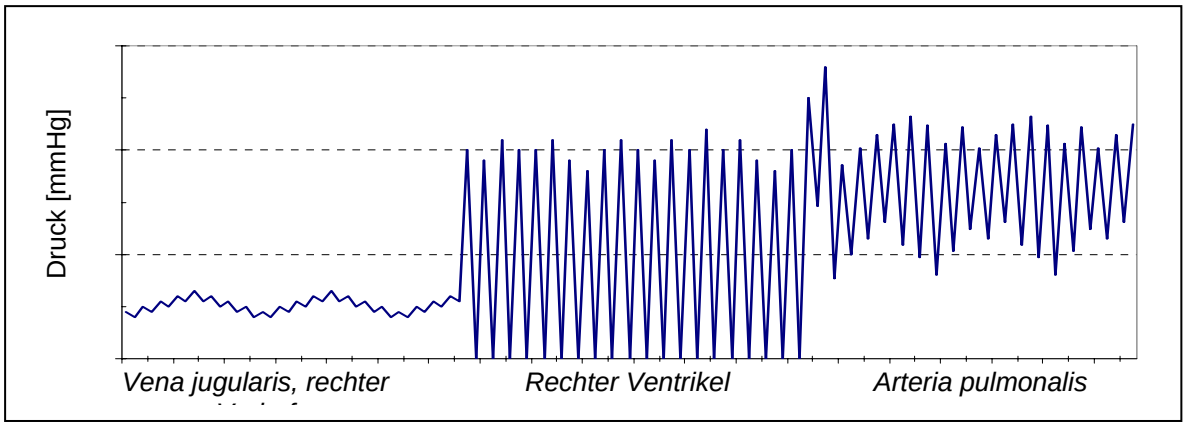


Abbildung 25: Darstellung der unterschiedlichen Druckkurvenprofile

Bei Lage innerhalb der Vena jugularis bzw. des rechten Vorhofs imponiert eine typische dreigipfelige und atemverschiebliche Druckkurve. Sobald die Katheterspitze die Trikuspidalklappe überwunden hat, erscheint die pulsatile Druckkurve des rechten Ventrikels mit systolischen Spitzenwerten von 15-25mmHg. Nach Passage der Pulmonalklappe wird die Pulmonalarterie erreicht, und der diastolische Druck (im Ventrikel 0mmHg) steigt abrupt auf Werte von 6-12mmHg an, wohingegen der systolische Druck sich nicht wesentlich verändert [(449)].

Nach Platzierung im rechten Ventrikel wurde der Ballon an der Spitze des Katheters geblockt und damit der Widerstand erhöht. Durch die Strömung des Blutes wurde der Katheter bei gleichzeitigem Vorschieben vor der *Arteria pulmonalis* platziert, was in einem charakteristischen Druckanstieg resultierte. Nach Entblocken des Ballons wurde der Katheter in die Pulmonalarterie eingeschoben. Während des ganzen Vorgangs wurde der systolische Blutdruck simultan aufgezeichnet und beobachtet, um bei bedrohlichen Herz-Rhythmusstörungen durch Zurückziehen des Katheters sofort intervenieren zu können.
Da manche Versuchstiere sehr empfindlich auf die Manipulation am Herzen reagierten, wurde der Katheter bei diesen Tieren im rechten Ventrikel belassen. Als häufigste Komplikation die zu einem Abbruch des PA-Katheter-Monitorings führte, sind Herz-Rhythmusstörungen und massiver Blutdruckabfall zu nennen.

2.6 Beatmung

Die Beatmung der Versuchstiere erfolgte mit einer Frequenz von 28 Zügen pro Minute und einem konstanten Atemzugvolumen von 32ml. Um den Verlust der Glottisfunktion durch die Intubation auszugleichen, wurde ein positiv-endexpiratorischer Druck (PEEP) von 5cm

Wassersäule angelegt. Als PEEP-Ventil diente dabei eine mit Wasser gefüllte PET-Flasche und zwei 10ml Pipetten. In der Gasmischanlage wurde durch Mischung von N_2 und O_2 ein FiO_2 von 0,5 eingestellt.

Bei den Versuchen mit Stickstoffmonoxid wurde dem Gasgemisch, noch vor der Beatmungspumpe, zusätzlich NO zugegeben. Zur Kontrolle der entsprechenden Einstellungen wurde die NO-Konzentration im Gemisch mit einem NO-Messgerät, das in den Inspirationsschenkel der Beatmung geschaltet wurde, gemessen. Der Beatmungsdruck wurde ebenfalls im Inspirationsschenkel abgeleitet und mit dem Programm Labtech Pro® aufgezeichnet.

2.7 Heparinisierung und Muskelrelaxation

Nach Platzierung des PA-Katheters wurde dieser mit 1ml Spüllösung gespült, um eine Blutgerinnung, insbesondere an den Öffnungen der Katheterspitze, zu verhindern. Zudem wurde den Tieren 2ml Muskelrelaxans als Bolus i.v. verabreicht.

2.8 Messung und Aufzeichnung der Drücke

Die während der Präparation des Tieres und Platzierung des Ballonkatheters gemessenen Drücke VP, CVP, SAP und RVP/PAP wurden als analoge Signale durch Druckaufnehmer registriert, verstärkt, mit einer Wandlerkarte im PC in digitale Signale umgewandelt und durch das Programm Labtech Pro® aufgezeichnet. Nach erneutem Abgleich der Druckabnehmer gegen den Luftdruck wurden sie als Vorlauf abgespeichert.

3 VERSUCHSABLAUF

3.1 Allgemeiner Versuchsablauf

Nach Beendigung der Versuchsvorbereitungen und Neustart des Programms zur kontinuierlichen Aufzeichnung der Drücke begann bei allen Versuchen eine 20minütige Leerlaufphase zur Erfassung der Ausgangswerte für die unterschiedlichen Messparameter. Die gesamte Versuchsdauer betrug 120min. Zu den Zeitpunkten t=0, 10, 20, 30, 60, 90 und 120min wurde jeweils eine gemischtvenöse* und arterielle Blutprobe entnommen. Während des gesamten Versuchs wurde die zur Konstanthaltung des SAP eingesetzte Arterenol®-Menge protokolliert. Am Ende des Versuchs wurde das Tier durch eine Überdosis Narkoselösung getötet und die Lunge zur Bestimmung des *wet-to-dry weight ratio* entnommen (siehe Abbildung 26).

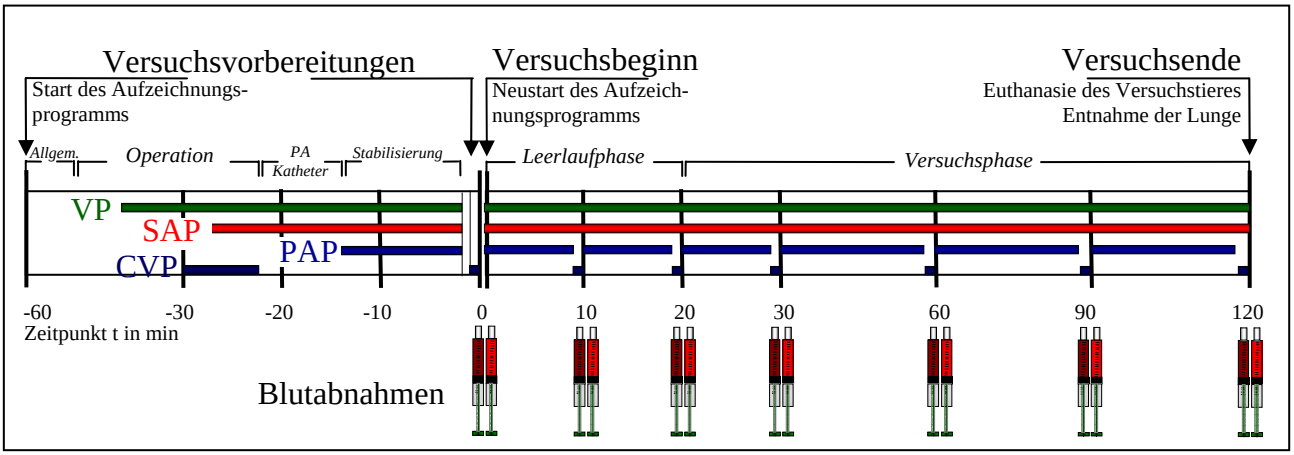


Abbildung 26: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs

3.1.1 Blutprobenentnahme

Gemischtvenöses* Blut wurde nach Umstellung des Dreiwegehahns, und der damit verbundenen Unterbrechung der Druckableitung, über den Ballonkatheter und somit aus der *Arteria pulmonalis* resp. dem rechten Ventrikel entnommen. Um eine Verdünnung der Probe durch im Katheter befindliche NaCl-Lösung zu verhindern, wurde 1ml vorgezogen. Für die Analyse wurden anschließend 0,5ml abgenommen, bevor das vorgezogene Volumen zurückgegeben wurde. Um einen Verschluss des Katheters durch Blutbestandteile zu verhindern wurde nach Entnahme der arteriellen Blutprobe mit 2ml isotonischer Kochsalzlösung nachgespült.

* Da das Blut aus der *Arteria pulmonalis* entnommen wurde, handelte es sich *per definitionem* um arterielles, aber sauerstoffarmes Blut. Für das bessere Verständnis und in Übereinstimmung mit der einschlägigen Literatur wurde jedoch der Begriff “gemischtvenös“ verwendet.

Die arterielle Blutprobenentnahme erfolgte an der *Arteria carotis*. Nach Umstellung des Dreiwegehahns und der damit verbundenen Unterbrechung der Druckableitung wurden 0,5ml Blut in einer 1ml Spritze vorgezogen. Für die Blutgasanalyse wurden ebenfalls 0,5ml entnommen und bereitgehalten. Nach Entnahme der Blutprobe wurde das vorgezogene Blut zurückgegeben und der Katheter mit 0,5ml NaCl-Lösung gespült.

3.1.2 Entnahme der Lunge

Nach Befeuchtung des Thorax und cranialem Abdomen mit einem Alkohol-Wasser-Gemisch wurde ein medianer Hautschnitt vom Präparationsgebiet bis zur *Regio xiphoidea* angebracht. Nach sorgfältiger Präparation der Haut wurde der *Processus xiphoideus* mit einer Klemme fixiert und das Abdomen im epigastrischen Winkel eröffnet. Anschließend wurde die Thoraxhöhle durch Durchtrennung des Diaphragmas eröffnet und das Sternum mit einer Knochenschere in der Medianen durchtrennt. Nach Auseinanderspreizen der Rippenbögen und Verschluss der Trachea mit einer Klemme, wurde die Lunge *en bloc* aus der Brusthöhle entnommen. Zur Gewichtsbestimmung des Organs wurden beide Lungenflügel an den Hauptbronchien abgetrennt und in einem Urinbecher gewogen.

3.2 Spezielle Versuchsabläufe

3.2.1 Versuche mit Ölsäure

Für die Versuche mit Ölsäure (positiv-Kontrollen) wurden 0,1ml OA pro kg KG in einer Tuberkulinspritze aufgezogen und mit isotonischer NaCl-Lösung auf 1ml aufgefüllt. Dabei bildeten sich zwei Phasen, wobei sich die hydrophobe, leichtere Ölsäure oben befand.
Die intravenöse Injektion erfolgte zum Zeitpunkt t=20min über die Schleuse (siehe Abbildung 27). Anschließend wurde mit 2ml NaCl-Lösung gespült.

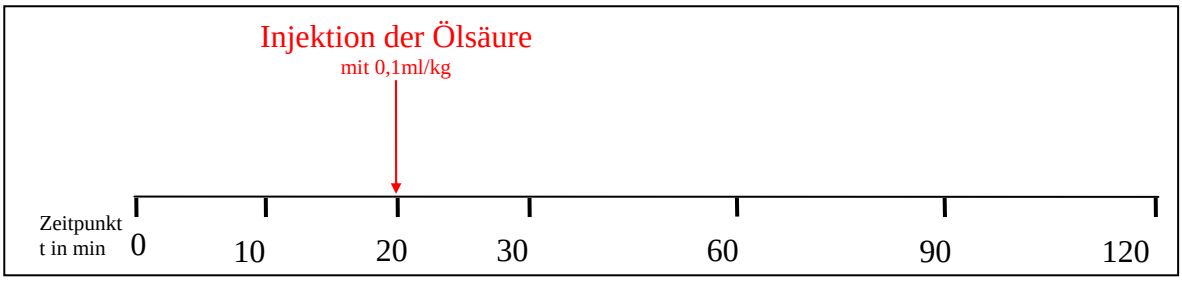


Abbildung 27: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs für die Ölsäureversuche

Als Kontrollen für die Versuche mit Ölsäure-induzierter Lungenschädigung (positiv-Kontrolle) dienten Versuche, bei denen zum Zeitpunkt t=20min 3ml isotonische Kochsalzlösung über die Schleuse injiziert wurden (Leerversuche).

3.2.2 Versuche mit NO

Bei den Versuchen mit NO wurde kurz vor Injektion der Ölsäure die NO-Gasflasche aufgedreht und dadurch dem Gasgemisch NO zugesetzt. Die Einstellung der NO-Konzentration erfolgte durch Feinregulation des NO-Flusses am Druckminderer. Die Konzentrationen wurden durch ein NO-Messgerät kontrolliert. Die Inhalation wurde bis zum Versuchsende aufrecht gehalten (siehe Abbildung 28).

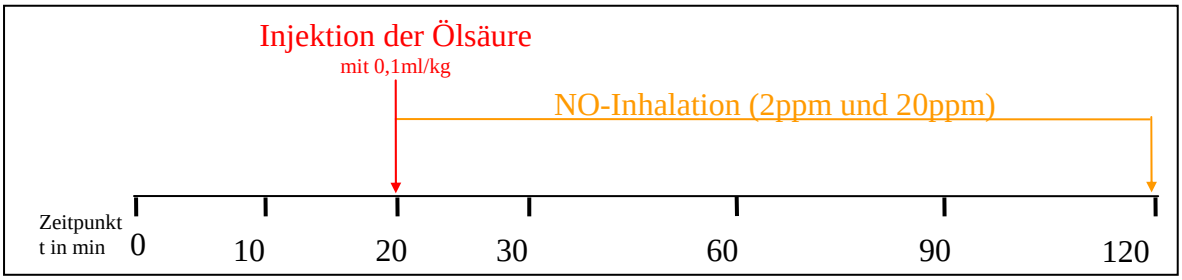


Abbildung 28: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs für die Versuche mit NO

3.2.3 Versuche mit Sildenafil, Bay 41-2272 und Bay 58-2667

Bei diesen drei Versuchsreihen wurden unterschiedliche Medikamentendosierungen (siehe Versuchsgruppen) mit einer Perfusionsrate von 20ml/kg/h direkt nach der Ölsäure Injektion für 10min i.v. über die Schleuse infundiert (siehe Abbildung 29).

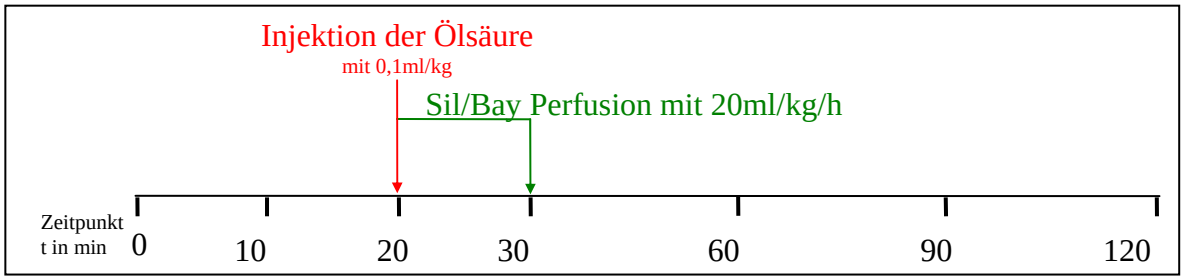


Abbildung 29: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs für die Versuche mit den Testsubstanzen Sildenafil, Bay 41-2272 und Bay 58-2667

3.2.4 Kombinationsversuche

Bei den Kombinationsversuchen wurde je eine Medikamentenkonzentration für 10min intravenös infundiert und zusätzlich NO in der Konzentration von 2ppm inhalativ über 100min verabreicht (siehe Abbildung 30).

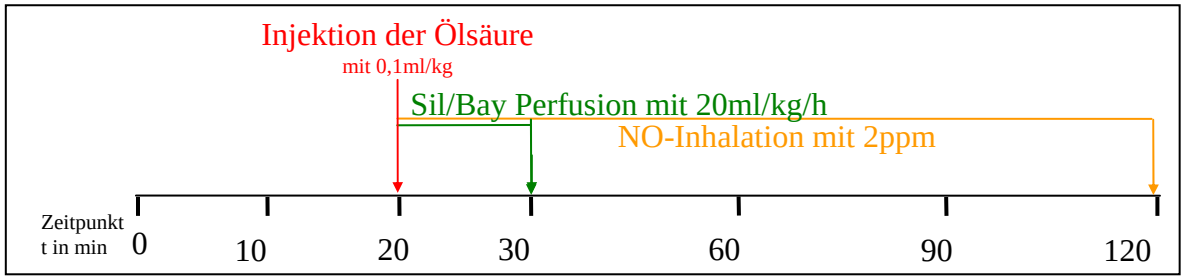


Abbildung 30: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs für die Kombinationsversuche mit Sildenafil/Bay 41-2272/Bay 58-2667 und NO

4 VERSUCHSGRUPPEN

4.1 Kontrollgruppen

4.1.1 Leerversuche

Für die Leerversuche (negativ-Kontrolle) wurden fünf Versuche durchgeführt, bei denen keine akute Lungenschädigung induziert wurde. Anstelle einer Ölsäureinjektion wurden zum Zeitpunkt t=20min 3ml NaCl-Lösung über die Schleuse intravenös appliziert

4.1.2 Ölsäure Kontrollen

Ölsäure Kontrolle

Bei fünf Versuchstieren wurde zum Zeitpunkt t=20min eine akute Lungenschädigung induziert (positiv-Kontrolle). Dazu wurden 0,1ml OA pro kg KG über die Schleuse zentralvenös appliziert. Die Injektion wurde über einen Zeitraum von ca. 1 min durchgeführt. Nach erfolgter Injektion wurde die Schleuse mit 2ml istotonischer Kochsalzlösung gespült. Diese Versuchsreihe diente als Kontrolle für die Therapieversuche mit NO, bei denen kein zusätzliches Volumen infundiert wurde.

Sildenafil, Bay 41-2272 und Bay 58-2667 -Kontrollen

Da bei den Versuchen mit Sildenafil und den Bay-Substanzen zusätzliches Volumen infundiert wurde, wurden fünf Versuchstiere direkt nach der Ölsäureinjektion für 10min mit 20ml/kg/h NaCl-Lösung perfundiert.

4.2 Behandlungsgruppen

4.2.1 NO-Gruppen

OA-NO 2ppm

In den Versuchen dieser Gruppe (n=5) wurde ab der Induktion der akuten Lungenschädigung durch Ölsäure Stickstoffmonoxid dem Beatmungsgas zugesetzt. Durch Kontrolle des NO-N_2-O_2-Gasgemischs mit einem NO-Messgerät, wurde die Konzentration durch Feinregulation am Druckminderer auf 2ppm eingestellt. Als positiv-Kontrollen dienten die Ölsäure Kontrollversuche.

OA-NO 20ppm

Gleiches galt für die Versuchsgruppe NO 20ppm. Die Inhalation erfolgte hier jedoch mit einer NO-Konzentration von 20ppm in der Beatmungsluft.

4.2.2 Sildenafil-Gruppen

OA-Sildenafil 100µg

Um eine gesamte Infusionsmenge von 100µg/kg/10min zu erhalten, wurde in fünf Versuchen eine Sildenafillösung mit 30µg/ml und einer Perfusionsrate von 20ml/kg/h für 10min infundiert.

OA-Sildenafil 300µg

Um das Perfusionvolumen gleich zu halten, wurde für diese Versuchsreihe (n=5) eine Sildenafillösung mit 90µg/ml verwendet.

OA-Sildenafil 1000µg

Bei den fünf Versuchen dieser Versuchsreihe ergab sich die Gesamtmenge des Pharmakon aus einer Stammlösung mit 300µg/ml. Für alle drei Konzentrationen des Wirkstoffs wurden die Volumenkontrollen als positiv-Kontrollen herangezogen.

4.2.3 Bay 58-2667 -Gruppen

OA-Bay 58-2667 10µg

Da bei diesen Versuchen die gleichen Perfusoreinstellungen verwendet wurden wie für die Sildenafilversuche, wurden für eine Gesamtmenge von 10µg/kg/10min eine Stammlösung 3µg Bay 58-2667 pro ml angesetzt. Auch hier wurden die Ergebnisse mit den Volumenkontrollen (Sil/Bay-Kontrolle) verglichen.

OA-Bay 58-2667 30µg

Entsprechend wurde für eine Gesamtmenge von 30µg/kg/10min eine Stammlösung 9µg Bay 58-2667 pro ml verwendet.

OA-Bay 58-2667 100µg

Für die fünf Versuche dieser Versuchsreihe ergab sich die Gesamtmenge des Pharmakon aus einer Stammlösung mit 30µg/ml.

4.2.4 Bay 41-2272 -Gruppen

OA-Bay 41-2272 30µg

Da bei diesen Versuchen die gleichen Perfusoreinstellungen verwendet wurden wie für die Sildenafilversuche, wurde für eine Gesamtmenge von 30µg/kg/10min eine Stammlösung mit 9µg Bay 41-2272 pro ml angesetzt. Die Ergebnisse wurden mit den Volumenkontrollen (Sil/Bay-Kontrolle) verglichen.

OA-Bay 41-2272 100µg

Für die fünf Versuche dieser Versuchsreihe ergab sich die Gesamtmenge des Pharmakon aus einer Stammlösung mit 30µg/ml.

OA-Bay 41-2272 300µg

Entsprechend wurde für eine Gesamtmenge von 300µg/kg/10min eine Stammlösung 90µg Bay 41-2272 pro ml verwendet.

4.2.5 Kombinationsgruppen

OA-Sildenafil 100µg und NO 2ppm

Bei den Kombinationsversuchen wurde eine Sildenafil Stammlösung von 30µg/ml mit einer Perfusionsrate von 20ml/kg/h für 10min infundiert und zusätzlich NO in der Konzentration von 2ppm vom Zeitpunkt t=120min bis zum Versuchsende inhalativ verabreicht.

OA-Bay 58-2667 30µg und NO 2ppm

Bei den Kombinationsversuchen für Bay 58-2667 und NO wurde eine Stammlösung von 9µg Bay 58-2667 pro ml mit einer Perfusionsrate von 20ml/kg/h für 10min infundiert und zusätzlich NO in der Konzentration von 2ppm inhalativ verabreicht.

OA-Bay 41-2272 100µg und NO 2ppm

Für diese Versuche wurde eine Ausgangslösung von 30µg Bay 41-2272 verwendet. Ansonsten wurde wie für Bay 58-2667 verfahren.

Tabelle 5: Übersicht über die einzelnen Versuchsgruppen

Gruppenname	Zielparameter	OA	Versuchsreihe	Konz.	Infusion	Zeitpunkt	Kontrollgruppe	n=
Kontrollgruppen								
Kontrolle	Nachweis versuchsbedingter Störungen	nein		NaCl	3ml	20		5
OA-Kontrolle	Nachweis der Ölsäure-induzierten Lungenschädigung	ja		OA	0,1ml/kg	20	Kontrolle	5
OA-Sil/Bay-Kontrolle	Nachweis der Volumenapplikation bei den Versuchen mit Sil und Bay	ja		NaCl	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Kontrolle	5
Behandlungsgruppen								
OA-NO	Nachweis der NO-Wirkung nach OA-Gabe	ja	NO 2ppm	2ppm	Inhalation	20 - 120	OA-Kontrolle	5
		ja	NO 20ppm	20ppm	Inhalation	20 - 120	OA-Kontrolle	5
OA-Sildenafil	Nachweis der Sildenafilwirkung nach OA-Gabe	ja	100µg/kg/10min	30µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Sil-Kontrolle	5
		ja	300µg/kg/10min	90µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Sil-Kontrolle	5
		ja	1000µg/kg/10min	300µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Sil-Kontrolle	5
OA-Bay 58-2667	Nachweis der Bay 58-2667-Wirkung nach OA-Gabe	ja	10µg/kg/10min	3µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Bay-Kontrolle	5
		ja	30µg/kg/10min	9µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Bay-Kontrolle	5
		ja	100µg/kg/10min	30µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Bay-Kontrolle	5
OA-Bay 41-2272	Nachweis der Bay 41-2272-Wirkung nach OA-Gabe	ja	30µg/kg/10min	9µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Bay-Kontrolle	5
		ja	100µg/kg/10min	30µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Bay-Kontrolle	5
		ja	300µg/kg/10min	90µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Bay-Kontrolle	5
Kombinationsgruppen								
OA, Sildenafil und NO	Nachweis der Kombinationswirkung von Sildenafil und NO nach OA-Gabe	ja	100µg/kg/10min	30µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Sil/Bay-Kontrolle	5
			NO 2ppm	2ppm	Inhalation	20 - 120		
OA, Bay 58-2667 und NO	Nachweis der Kombinationswirkung von Bay 58-2667 und NO nach OA-Gabe	ja	30µg/kg/10min	9µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Sil/Bay-Kontrolle	5
			NO 2ppm	2ppm	Inhalation	20 - 120		
OA, Bay 41-2272 und NO	Nachweis der Kombinationswirkung von Bay 41-2272 und NO nach OA-Gabe	ja	100µg/kg/10min	30µg/ml	20ml/kg/h	20 - 30	OA-Sil/Bay-Kontrolle	5
			NO 2ppm	2ppm	Inhalation	20 - 120		

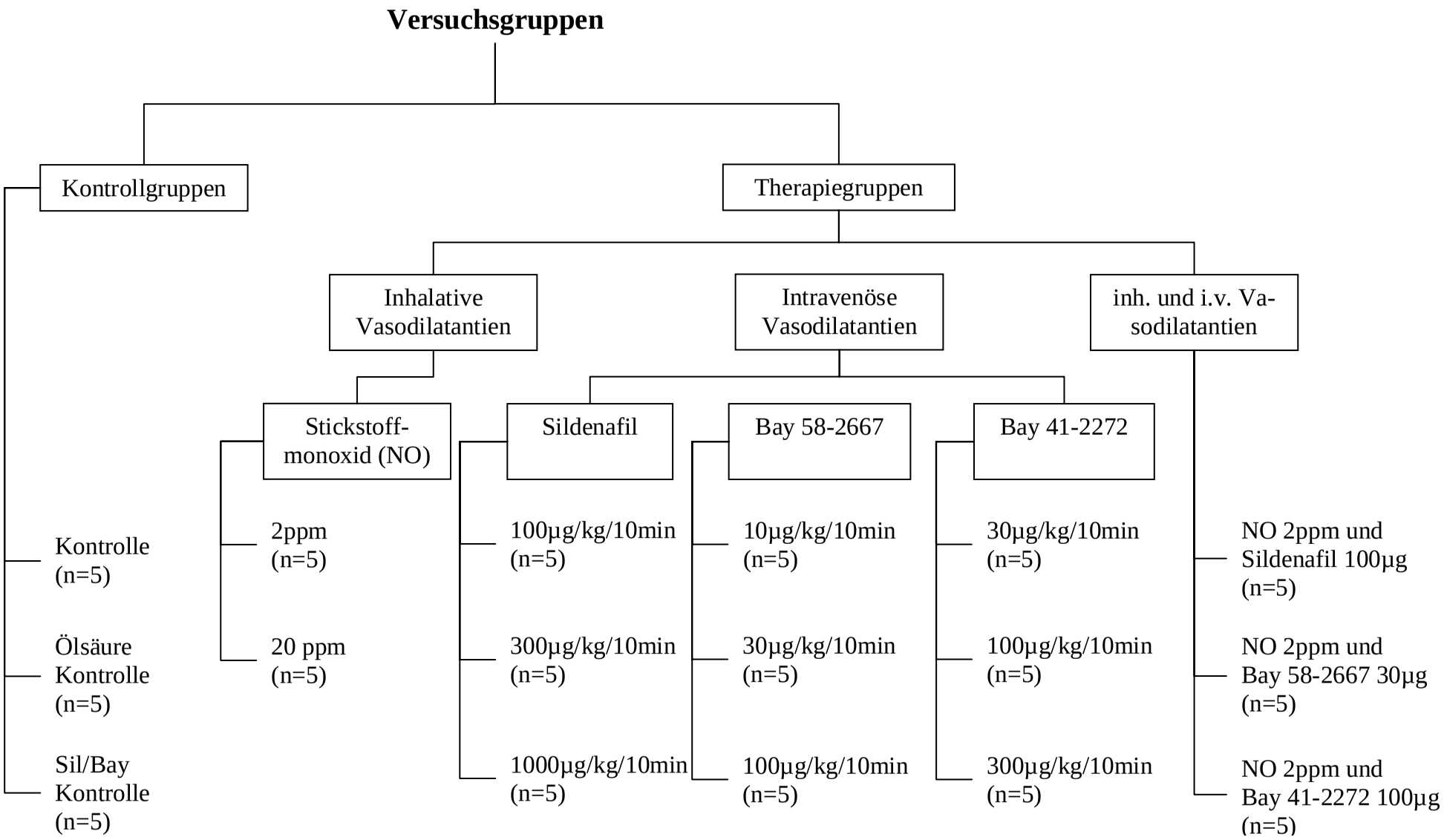


Abbildung 31: Schematische Darstellung der einzelnen Versuchsgruppen

5 MESSPARAMETER

5.1 Gemessene Parameter

5.1.1 Beatmungsdruck

Während des gesamten Versuchs wurden die Beatmungsdrücke der volumenkonstanten Beatmung gemessen und aufgezeichnet.

5.1.2 Hämodynamische Parameter

Über den gesamten Versuchszeitraum wurde der systemisch-arterielle Blutdruck aufgezeichnet. Gleiches gilt für den pulmonalarteriellen- bzw. rechtsventrikulären Druck mit der Besonderheit, dass 2min vor Abnahme der Blutproben der Dreiwegehahn am Druckaufnehmer für den PAP/RVP kurzzeitig umgestellt wurde, um die Werte für den zentralvenösen Druck abzulesen. Dies war nötig, da am Verstärker nur drei Kanäle freigeschaltet waren. Der mittlere systemisch- bzw. pulmonalarterielle Druck, der für die Auswertung herangezogen wurde, berechnete sich nach:

$$mSAP = \frac{(2 \times SAP_{diastolisch}) + (SAP_{systolisch})}{3}$$

$$mPAP = \frac{(PAP_{diastolisch}) + (PAP_{systolisch})}{2}$$

5.1.3 Blutparameter

Arterielles und venöses Blut wurde unmittelbar nach der Probennahme analysiert. Die arteriellen und venösen Blutparameter pO_2, pCO_2 und pH-Wert wurden mit einem ABL 330 gemessen. Für die Analyse wurden 0,2ml Blut benötigt. Von den verbleibenden 0,3ml wurden 0,1ml pro Probe zur spektrometrischen Bestimmung der Parameter Hb und O_2-Sättigung mit dem Hemoximeter benötigt. Demzufolge verblieben 0,2ml je Probe als Reserve, um bei Bedienungsfehlern die Probe erneut aufzugeben.

5.2 Berechnete Parameter

5.2.1 Herzzeitvolumen

Das Herzzeitvolumen (HZV), als die vom Herzen ausgeworfene Blutmenge in ml/min, ist eine wichtige kreislaufphysiologische Messgröße. Neben dem Hb und der Sauerstoffsättigung ist es einer der wesentlichen Faktoren für die Sauerstoffversorgung des Organismus.

Die Berechnung des HZV erfolgt nach dem Fick´schen Prinzip. Danach lässt sich der Blutfluss aus dem Quotient einer zugeführten Substanz und dem Konzentrationsunterschied zwischen zu- und abführendem Gefäß errechnen. Der Lungendurchfluss ergibt sich somit aus dem aufgenommen Sauerstoff geteilt durch die arteriovenöse O_2-Differenz. Unter Ausschluss eines Shunts [280] entspricht dieser Fluss gleich dem Herzzeitvolumen*.

$$HZV = \frac{19{,}64 \times 100}{\frac{(Hb_a + Hb_v)}{2} \times O_2\,Sättigung_a \times 0{,}0134 - \frac{(Hb_a + Hb_v)}{2} \times O_2\,Sättigung_v \times 0{,}0134}$$

5.2.2 PVR

Der pulmonalvaskuläre Perfusionswiderstand (PVR) in dyn×sec×cm^{-5} ist Ausdruck des Widerstands im Lungengefäßbett und somit das Maß für die rechtsventrikuläre Auswurfbehinderung. Er ist in der Regel relativ niedrig (ca. ein Zehntel des systemisch-vaskulären Widerstands) und kann nach folgender Formel berechnet werden.

$$PVR = \frac{PAP - PAWP}{HZV} \times 80$$

Da der Wedge-Pressure (PAWP), also der Druck „hinter“ einer durch einen Ballon okkludierten Pulmonalarterie -entspricht dem Druck der Pulmonalvenen und somit dem linksventrikulären Füllungsdruck- in diesem Versuchsmodell nicht gemessen werden konnte, wurde der PAWP gleich sieben gesetzt. Daraus folgt:

$$PVR = \frac{PAP - 7}{HZV} \times 80$$

Der Faktor 80 ergibt sich aus der Umrechnung der physikalischen Einheiten des PAP bzw. PAWP von mmHg in dyn×cm^{-2} (1mmHg = 1333,22 dyn×cm^{-2}) und des HZV von l/min in cm^3×sec^{-1} (1l = 1000cm^3 und 1min = 60sec).

5.2.3 SVR

Der systemischvaskuläre Widerstand (SVR) ist entsprechend das Maß der linksventrikulären Auswurfbehinderung und berechnet sich aus der folgenden Formel.

$$SVR = \frac{SAP - CVP}{HZV} \times 80$$

* Die Faktoren 1,34 bzw. 0,0134 und 0,0031 ergeben sich aus den Bindungseigenschaften von Sauerstoff im Blut. So werden 1,34ml O_2 von einem Gramm Hb chemisch gebunden, und 0,0031ml O_2 pro mmHg pO_2 physikalisch gelöst.

5.2.4 Intrapulmonaler Shunt (Qs/Qt)

Nicht das gesamte Blut, das die Lunge durchströmt, kommt gleichmäßig mit der Alveolarluft in Kontakt. Nur der Anteil des Blutes, der ausreichend lange mit normaler Alveolarluft in Kontakt ist, kann seinen Partialdruck durch Diffusion angleichen. Das restliche Blut strömt ohne ausreichende Sauerstoffaufnahme durch die Lunge. In den Lungenvenen vereinigt sich alles Blut zum "arteriellen" Mischblut*. Der nicht ausreichend oxygenierte Anteil heißt "venöse Beimischung" oder intrapulmonaler Rechts-Links-Shunt, kurz Shunt genannt (siehe Abbildung 32). Das Verhältnis der venösen Beimischung (Qs) zum gesamten Blutfluss (Qt) kann durch folgende Formel aus der Blutgasanalyse berechnet werden:

$$Qs/Qt = \frac{CcO_2 - CaO_2}{CcO_2 - CvO_2}$$

Dabei berechnet sich der pulmonale endkapilläre Sauerstoffgehalt (CcO_2 in ml O_2 pro dl Blut) aus:

$$CcO_2 = (1{,}34 \times \frac{Hb_a + Hb_v}{2} \times 1) + (PAO_2 \times 0{,}0031)$$

Die alveoläre Sauerstoffspannung (PAO_2 in mmHg) wiederum lässt sich aus dem Sauerstoffanteil des eingeatmeten Gases (FiO_2), der Differenz aus Lufdruck (PB) und Wasserdampfdruck bei Körpertemperatur (PH_2O), sowie dem arteriellen pCO_2 und dem respiratorischen Quotient (RQ) wie folgt berechnen:

$$PAO_2 = FiO_2 \times \left[\left(PB - PH_2O\right) - \frac{p_aCO_2}{RQ} \right]$$

Dabei geht der PB mit 760mmHg, der PH_2O mit 47mmHg und der RQ mit 0,9 als Konstanten in die Formel ein.

Der arterielle Sauerstoffgehalt (CaO_2 in ml O_2 pro dl Blut) berechnet sich aus folgender Gleichung:

$$CaO_2 = \frac{\left(Hb_a + Hb_v\right)}{2} \times O_2\,Sättigung_a \times 0{,}0134 + (p_aO_2 \times 0{,}0031)$$

Der venöse Sauerstoffgehalt (CvO_2 in ml O_2 pro dl Blut) entsprechend aus:

$$CvO_2 = \frac{\left(Hb_a + Hb_v\right)}{2} \times O_2\,Sättigung_v \times 0{,}0134 + (p_vO_2 \times 0{,}0031)$$

* Da das Blut aus den *Venae pulmonalis* stammt, handelte es sich *per definitionem* um venöses, aber sauerstoffreiches Blut.

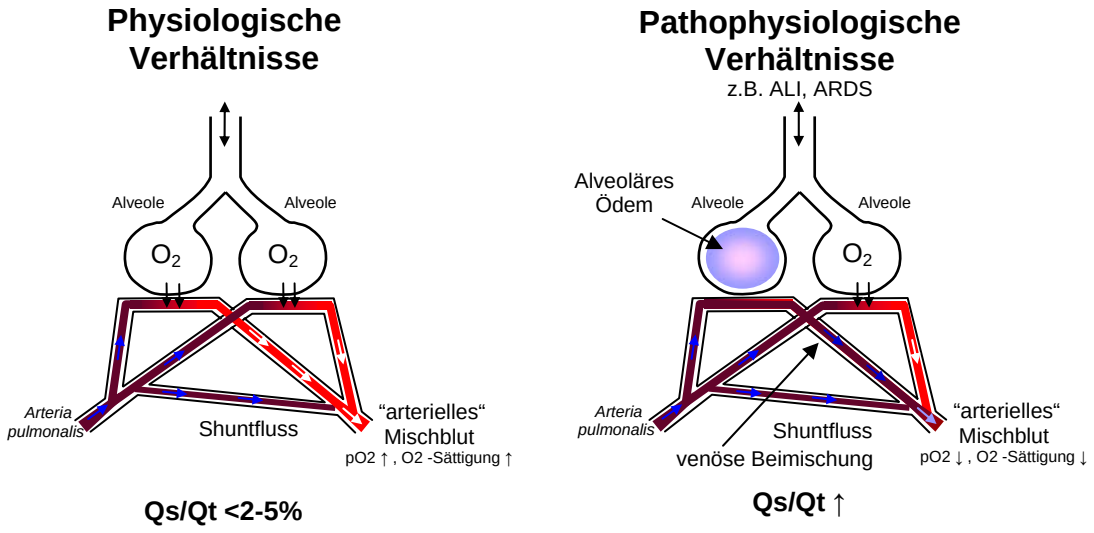


Abbildung 32: Schematische Darstellung des intrapulmonalen Shunts

5.3 Sonstige Parameter

5.3.1 Arterenol Mengen

Da zur Stabilisierung des systemischen Blutdrucks Katecholamine eingesetzt wurden, wurde die benötigte Menge Arterenol® protokolliert.

5.3.2 Wet-to-dry weight ratio

Die nach Tötung des Tieres entnommene Lunge wurde zur Bestimmung des Nassgewichts (*wet weight*) mit der Analysewaage gewogen. Nach Trocknung der Lunge bis zur Gewichtskonstanz im Wärmeschrank bei 60°C wurde das Trockengewicht (*dry weight*) bestimmt. Aus diesen beiden Werten wurde, als Parameter der extravaskulären pulmonalen Flüssigkeitseinlagerung, das Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnis der Lungen (*wet-to-dry weight ratio)* berechnet.

6 VERSUCHSAUSWERTUNG

6.1 Datenerhebung

6.1.1 Beatmungsdruck und hämodynamische Parameter

Die mit zwei Hertz (Hz) aufgezeichneten Drücke für die Parameter VP SAP und RVP/PAP wurden zur besseren Datenverarbeitung einer Datenreduktion unterzogen. Dazu wurden die Originalwerte aus dem Aufzeichnungsprogramm Labtech Pro® im Tabellenkalkulationsprogramm Excel® zu 2min Mittelwerten zusammengefasst, welche als Grundlage für die Auswertung der Versuche dienten. Die Werte zu den Zeitpunkten t=0, 10, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 und 120min wurden unter Berücksichtigung eventueller Ausreißer in das Versuchsprotokoll übernommen. Sowohl die Originaldaten als auch die Mittelwerte wurden mit Hilfe des Programms PlotIt® grafisch dargestellt.

6.1.2 Zentralvenöser Druck

Der zentralvenöse Druck für die Zeitpunkte t=0, 10, 20, 30, 60, 90 und 120min wurden nach Umstellen des Druckaufnehmers direkt abgelesen und in das Versuchsprotokoll übernommen.

6.1.3 Blutparameter

Die Werte für die gemessenen Parameter pH, pO_2, PcO_2, Hb und O_2Sättigung der arteriellen und venösen Blutproben wurden ohne weitere Modifikationen für die entsprechenden Zeitpunkte in das Versuchsprotokoll übertragen.

6.1.4 Berechnete Parameter

Die Werte für die Parameter HZV, PVR und SVR wurden durch Formeln im Tabellenkalkulationsprogramm Excel® berechnet und automatisch in das Versuchsprotokoll eingefügt. Für den Parameter Qs/Qt in Prozent wurde als Ausgangswert (prä-OA) der Mittelwert der Zeitpunkte t=0 bis t=20 berechnet und für die Auswertung herangezogen. Als Endwert nach Lungenschädigung (post-OA) diente der Wert zum Zeitpunkt t=120min.

6.1.5 Protokollierung der Katecholamingaben

Die Perfusoreinstellungen, mit denen die Katecholamin-Infusion erfolgte, wurden kontinuierlich protokolliert. Die verbrauchte Norepinephrinmenge berechnete sich entsprechend

und wurde zu zwei-Minuten-Werten zusammengefasst. Der Gesamtverbrauch ergab sich aus der Addition der Teilmengen und entsprach der Fläche unter der Kurve (AUC).

6.1.6 Wet weight, dry weight und wet-to-dry weight ratio

Nach Wägung der Lunge im Urinbecher direkt nach der Entnahme der Lunge wurde der Wert für das *wet weight* durch Abzug des Bechergewichts errechnet und protokolliert. Nach Trocknung der Lunge bis zur Gewichstkonstanz im Trockenschrank bei 60°C wurden das *dry weight* bestimmt und der *wet-to-dry weight ratio* berrechnet.

6.2 Datenauswertung und grafische Darstellung

Zur Beschreibung der Daten wurden mit dem Tabellenkalkulatiosprogramm Excel® Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (STABWN) berechnet und grafisch dargestellt.

6.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde unter Verwendung des Statistikprogramms SPSS® 12.0 durchgeführt. Dabei wurden die Daten, ausgenommen der für die Parameter *wet weight*, *dry weight*, *wet-to-dry weight ratio* und Arterenol®-Gesamtverbrauch, zur statistischen Prüfung des Gruppen- und Zeiteinflusses sowie der Wechselwirkungen Zeit*Gruppe mit einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (MANOVA) mit Messwiederholungen im Faktor „Zeit“ analysiert. Bei Gruppenvergleichen mit Kontrolle wurden die post-hoc Tests TUKEY HSD, Q nach R-E-G-W, GAMES-HOWELL, und DUNNETT angewendet, wohingegen bei Gruppenvergleichen ohne Kontrolle der DUNNETT-Test nicht durchgeführt wurde. Zusätzlich wurde bei Vergleichen von drei Gruppen, unabhängig ob mit oder ohne Kontrolle, der LSD post-hoc Test ausgeführt. Es wurden folgende Merkmale untersucht: SAP, PAP/RVP, VPmax und VPmean, als „kontinuierliche“ Parameter (siebzehn Zeitpunkte) und CVP, arterieller und venöser pH, pO_2, pCO_2, Hb, O_2-Sättigung, HZV, PVR und SVR als „nicht kontinuierliche“ Parameter (sieben Zeitpunkte).

Die Daten für die Parameter *wet weight*, *dry weight*, *wet-to-dry weight ratio*, Arterenol®-Gesamtverbrauch und Qs/Qt prä- und post-OA wurden mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) analysiert, da bei diesen Parametern kein Zeitverlauf vorhanden war.

Bei der Bewertung der statistischen Signifikanzen (Greenhouse-Geisser und Huynh-Feldt) wurde das Signifikanzniveau $\alpha \leq 0{,}05$ zugrunde gelegt. Das heißt, dass Ergebnisse mit $p \leq 0{,}05$ als statistisch signifikant angesehen wurden. Zusätzlich wurden die Werte der jeweiligen Parameter zwischen den Kontrollgruppen und Therapiegruppen mit einem T-Test direkt miteinander verglichen.

III ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Untersuchungen wurden nach Berechnung der Mittelwerte, Standardabweichungen und der statistischen Auswertung für die Parameter SAP, PAP, PVR, arterieller pCO_2, pO_2, O_2-Sättigung, Norepinephrinverbrauch und VP_{max} als Zeitverläufe grafisch dargestellt. Die Parameter Norepinephrin-Gesamtverbrauch, *wet-to-dry weight ratio* und Qs/Qt für den Zeitpunkt t=120min wurden in Form von Balkendiagrammen abgebildet, wohingegen die Parameter CVP, HZV und arterieller pH-Wert in Tabellenform wiedergegeben wurden.

Obwohl die statistische Auswertung sowohl die Vergleiche der Therapiegruppen mit den entsprechenden Kontrollen als auch den Vergleich der Therapiegruppen untereinander einschloss, stand der Vergleich der Therapiegruppe mit der Kontrolle im Vordergrund und wurde auch vornehmlich bei der Darstellung und Diskussion der Ergebnisse berücksichtigt. Obgleich durchaus signifikante Unterschiede in den unterschiedlichen Parametern zwischen den einzelnen Therapiegruppen auftraten, wurden diese hier nicht weiter erläutert, da der Schwerpunkt der Untersuchungen auf dem Therapieeffekt des jeweiligen Vasodilators auf die Ölsäure-induzierte Lungenschädigung lag. Demzufolge beziehen sich die Angaben von Signifikanzen, falls nicht anderweitig erwähnt, stets auf die Unterschiede zwischen der Therapiegruppe und der entsprechenden Kontrollgruppe.

Obwohl in der zweifaktoriellen Varianzanalyse sowohl Berechnungen für den Faktor Zeit (Unterschiede im zeitlichen Verlauf) als auch im Faktor Zeit*Gruppe (Unterschiede in den Zeitverläufen der jeweiligen Gruppen) und Gruppe (Unterschiede im zeitlichen Mittel) durchgeführt wurden, stehen Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe im Vordergrund der Erläuterungen.

Das Symbol † steht entsprechend für signifikante Unterschiede in der zweifaktoriellen Varianzanalyse im Faktor Zeit*Gruppe. Dabei wurde ein Unterschied erst als signifikant angenommen, wenn der Wert sowohl im Test nach Greenhouse-Geisser als auch nach Huynh-Feld kleiner als 0,05 war. Die * Symbole repräsentieren in der Farbe der jeweiligen Versuchsgruppe signifikante Unterschiede des Parameters im T-Test bzw. der einfaktoriellen Varianzanalyse (*wet-to-dry weight ratio*, Qs/Qt) für den jeweiligen Zeitpunkt im Vergleich der Therapiegruppe gegen die Kontrolle.

1 ÖLSÄURE KONTROLLE

1.1 Hämodynamik

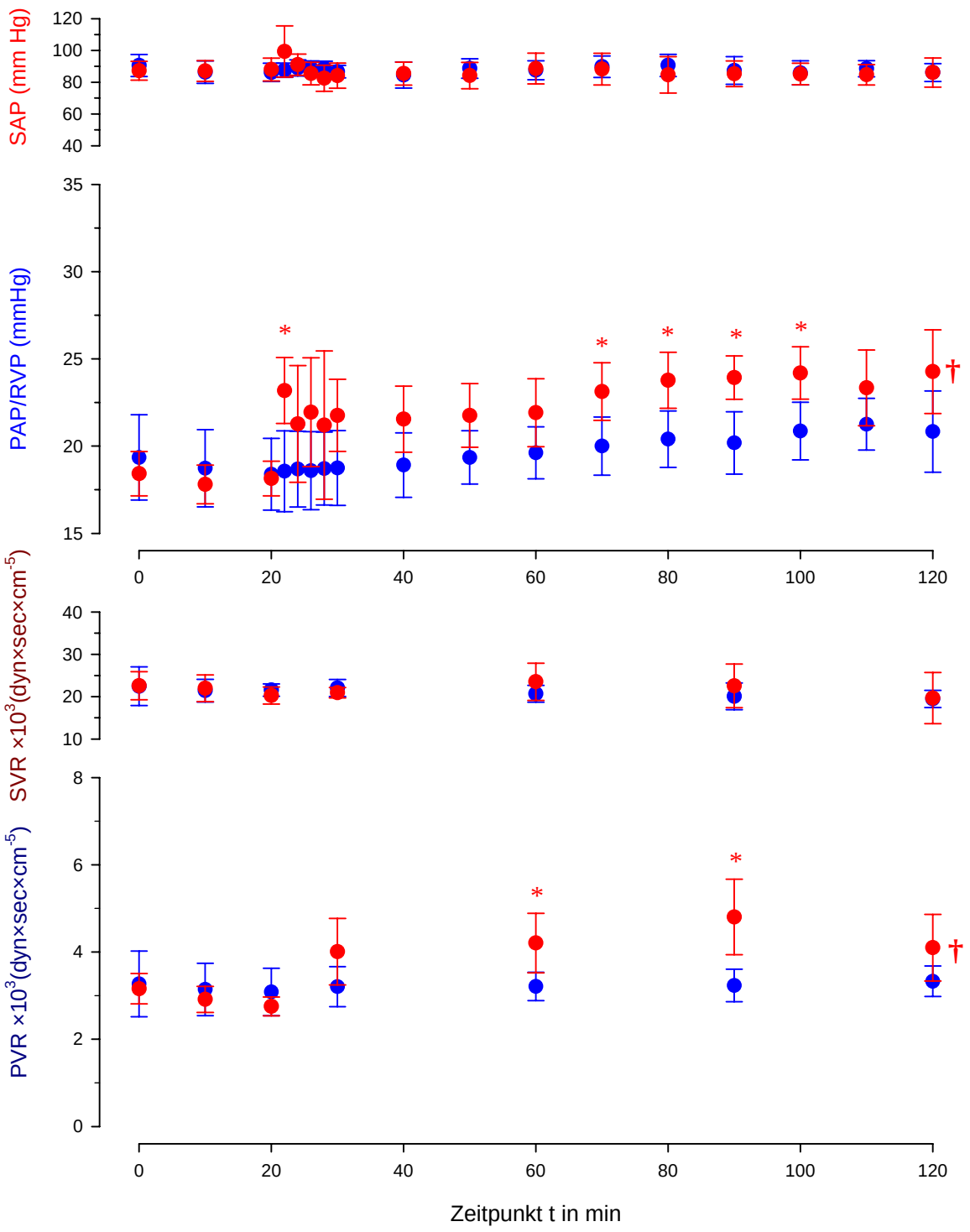


Diagramm 1: Zeitliche Verläufe der Parameter SAP, PAP/RVP, SVR und PVR für die Versuchsgruppen Kontrolle (●) und Ölsäure Kontrolle (●)

➢ Systemisch-arterieller Druck (SAP)

Der mSAP konnte bei den Tieren der Versuchsreihe Kontrolle und Ölsäure Kontrolle nahezu konstant gehalten werden. Die zweifaktorielle Varianzanalyse für die beiden Versuchsgruppen ergab keine signifikanten Unterschiede in den Faktoren Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe. Auch der direkte Vergleich der Werte mit dem T-Test ergab keine signifikanten Unterschiede (siehe Diagramm 1).

➢ Pulmonalarterieller Druck (PAP)

Sowohl in den Leerversuchen, als auch in den Versuchen mit Ölsäure konnte ein Anstieg des PAP beobachtet werden. Der gemittelte Druckanstieg von 18,42±1,27mmHg auf 24,27±2,39mmHg für die OA-Kontrollen lag mit einem relativen Anstieg von 30% deutlich über dem der Kontrollen, bei denen der PAP nur um knapp 10% anstieg. Dieser Unterschied konnte auch in der zweifaktoriellen Varianzanalyse durch Signifikanzen im Faktor Zeit und Zeit*Gruppe nachgewiesen werden. Im direkten Vergleich der pulmonalarteriellen Drücke mit dem T-Test konnten signifikante Unterschiede für die Zeitpunkte t=22, 70, 80,90,und 100min festgestellt werden (siehe Diagramm 1).

➢ Systemisch-vaskulärer Widerstand (SVR)

Sowohl die zweifaktorielle Varianzanalyse als auch der T-Test ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen für den Parameter SVR. Mit Werten um 21,1±2,6 $\times 10^3$ (MW Kontrolle) und 21,6±3,6 $\times 10^3$ dynsec$\times$cm^{-5} (MW OA-Kontrolle) lagen beide Gruppen im physiologischen Bereich (siehe Diagramm 1).

➢ Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)

Die zweifaktorielle Varianzanalyse für den pulmonalvaskulären Widerstand ergab signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen im Faktor Zeit und Zeit*Gruppe. Der PVR in der Gruppe Ölsäure Kontrolle stieg im Vergleich zu der Kontrolle nach OA-Gabe zum Zeitpunkt t=20min deutlich an. Mit einem maximalen Wert von 4,57±0,82 $\times 10^3$ dynsec$\times$cm^{-5} zum Zeitpunkt t=90min lag der PVR rund 78% über dem minimalen Wert zum Zeitpunkt t=20min. Im T-Test traten Signifikanzen zu den Zeitpunkten t=60 und 90min auf (siehe Diagramm 1).

➢ Zentralvenöser Druck (CVP)

Der zentralvenöse Druck blieb sowohl in der Versuchsreihe Kontrolle als auch in der Ölsäure Kontrolle nahezu konstant, obgleich in beiden Gruppen über die Dauer des Versuchs ein leichter aber nicht signifikanter Abfall des CVP zu beobachten war (Kontrolle 6%, OA-

Kontrolle 11%). Die Werte unterschieden sich jedoch weder im T-Test, noch in der zweifaktoriellen Varianzanalyse (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Zentralvenöser Druck (CVP) in mmHg für die Versuchsgruppen Kontrolle und Ölsäure Kontrolle zu den jeweiligen Zeitpunkten

Versuchsreihe	**Kontrolle**			**Ölsäure Kontrolle**		
Zeitpunkt t in min	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**6,66**	±	0,37	**6,30**	±	0,54
10	**6,62**	±	0,40	**6,14**	±	0,43
20	**6,68**	±	0,34	**6,14**	±	0,37
30	**6,68**	±	0,39	**5,96**	±	0,48
60	**6,52**	±	0,48	**5,74**	±	0,63
90	**6,46**	±	0,41	**6,30**	±	0,70
120	**6,26**	±	0,56	**5,60**	±	0,64

- **Herzzeitvolumen (HZV)**

Das Herzzeitvolumen zeigte zwar leichte Schwankungen (Kontrolle 39,98ml/min ≙ 14% Min/Max; OA-Kontrolle 58,31ml/min ≙ 20% Min/Max) aber in der zweifaktoriellen Varianzanalyse und dem T-Test konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7: Herzzeitvolumen (HZV) in ml/min für die Versuchsgruppen Kontrolle und Ölsäure Kontrolle zu den jeweiligen Zeitpunkten

Versuchsreihe	**Kontrolle**			**Ölsäure Kontrolle**		
Zeitpunkt t in min	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**306,69**	±	43,14	**291,05**	±	34,88
10	**300,97**	±	35,29	**298,63**	±	33,85
20	**296,81**	±	33,69	**324,26**	±	23,79
30	**292,45**	±	28,38	**300,62**	±	45,20
60	**317,28**	±	47,65	**289,68**	±	56,57
90	**329,09**	±	51,05	**289,70**	±	45,89
120	**332,43**	±	46,01	**347,99**	±	73,43

- **Katecholamingaben**

Obwohl die OA-Kontrollen mit 184,8±130,1µg gegenüber den Kontrollen mit 49,2±48,3µg einen nahezu viermal so hohen Gesamtverbrauch an Norepinephrin zeigten

(siehe Diagramm 3), unterschieden sich die Werte weder in der ANOVA noch im T-Test. Auch in der statistischen Auswertung der Zeitverläufe (siehe Diagramm 2) konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

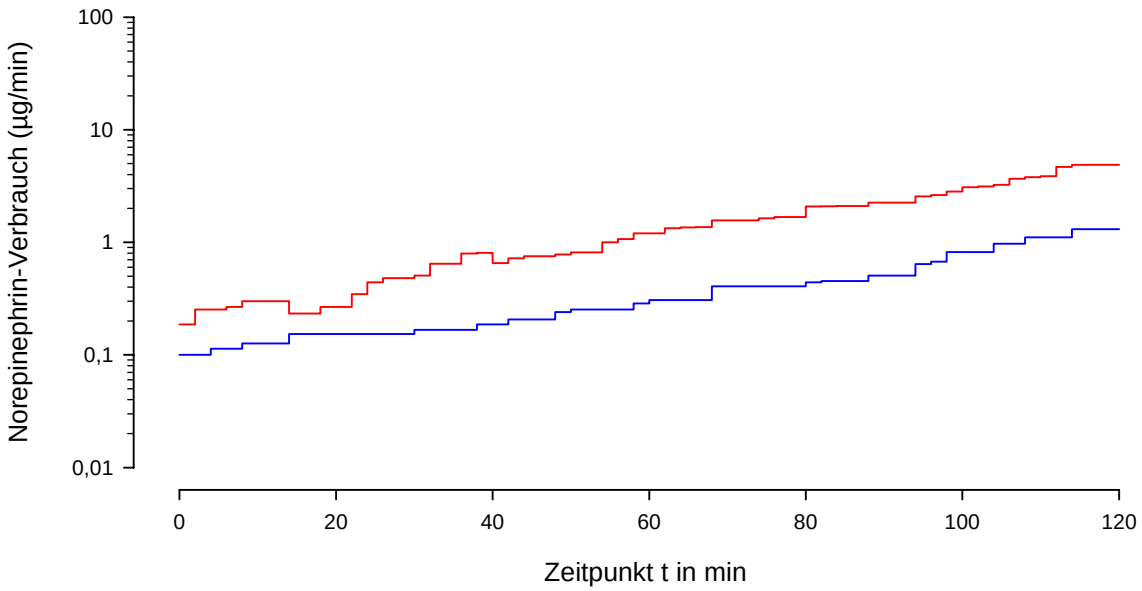


Diagramm 2: Zeitliche Verläufe des gemittelten Norepinephrinverbrauchs zur Stabilisierung des SAP für die Versuchsgruppen Kontrolle (—) und Ölsäure Kontrolle (—)

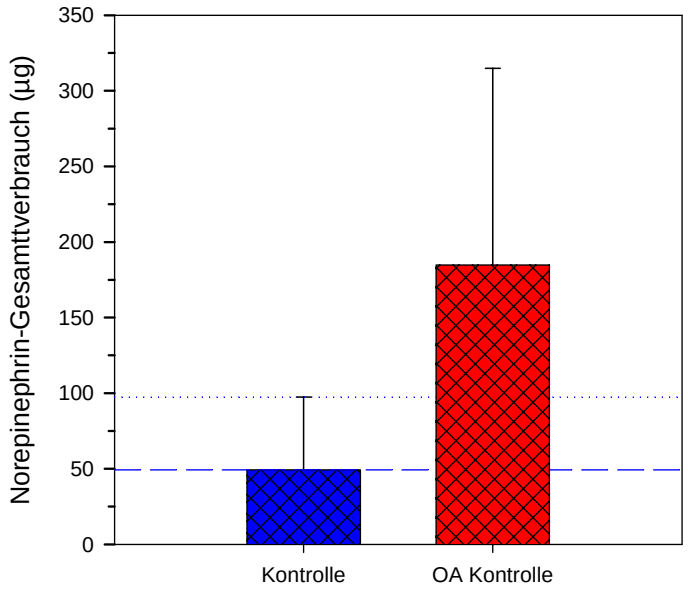


Diagramm 3: Norepinephrinverbrauch der Versuchsgruppen Kontrolle und Ölsäure Kontrolle

1.2 Blutparameter

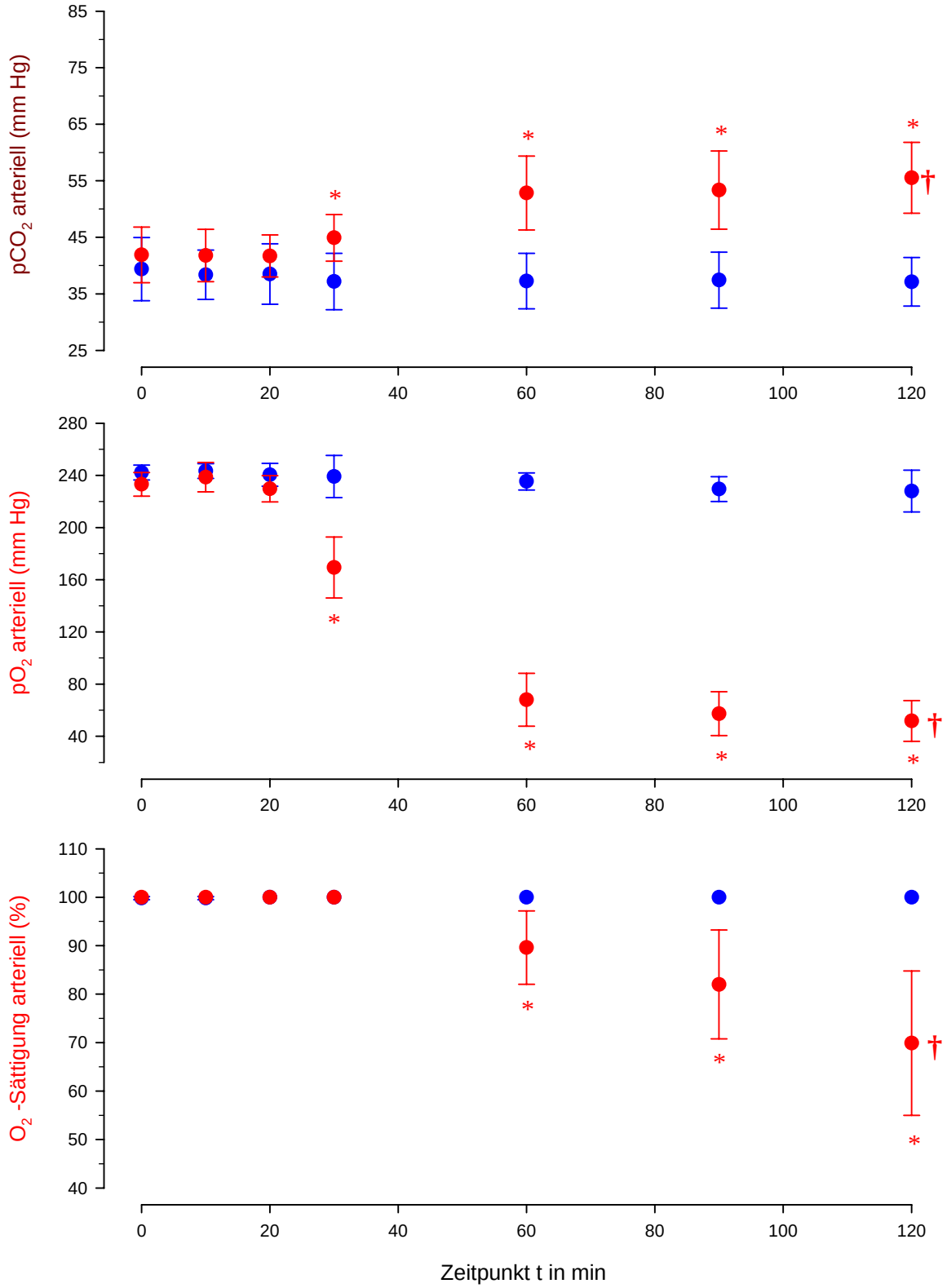


Diagramm 4: Zeitliche Verläufe der Parameter pCO_2, pO_2 und O_2-Sättigung für die Versuchsgruppen Kontrolle (●) und Ölsäure Kontrolle (●)

➢ Arterielle pCO2-Werte

In den OA-Kontrollen konnte ein deutlicher Anstieg des pCO_2 von 41,88±4,91mmHg (t=0min) auf 55,52±6,27mmHg (t=120min) festgestellt werden. Demgegenüber fiel der pCO_2 in der Kontrollgruppe von 39,36±5,60mmHg (t=0min) auf 37,12±4,29mmHg (t=120min) leicht ab. Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab für diese Unterschiede zwischen den Gruppen Signifikanzen im Faktor Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe. Der T-Test ergab signifikante Unterschiede für die Zeitpunkte t=30, 60, 90 und 120min (siehe Diagramm 4).

➢ Arterielle pO2-Werte

Auch für die pO_2-Werte ergab der Vergleich der Gruppen Kontrolle und OA-Kontrolle mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse Unterschiede im Faktor Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe. Wie in Diagramm 4 zu sehen ist, fiel der arterielle pO_2 nach der OA-Gabe zum Zeitpunkt t=20min von 229,70±10,11mmHg auf 51,80±15,57mmHg zum Zeitpunkt t=120min ab. Der direkte Vergleich mit dem T-Test ergab signifikante Unterschiede für die Zeitpunkte t=30, 60, 90 und 120min (siehe Diagramm 4).

➢ Arterielle O2-Sättigung

Die arterielle O_2-Sättigung fiel in der Versuchsgruppe OA-Kontrolle von 100±0% (t=0min bis t=20min) auf 69,90±14,91% (≙ 30%) ab, wohingegen die Werte für die Kontrollgruppe nahezu konstant blieben (+0,2%). Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen in den Faktoren Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe. Der T-Test ergab signifikante Unterschiede für die Zeitpunkte t=60 bis 120min (siehe Diagramm 4).

➢ Arterielle pH-Werte

Der pH-Wert fiel, wie in Tabelle 8 zu sehen ist, in der OA-Kontrollgruppe um 0,209 ≙ ca. 3% leicht ab, wohingegen er in der Kontrollgruppe nur um 0,107 ≙ ca. 1,5% fiel. Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in den Faktoren Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe. Der T-Test ergab Signifikanzen zu den Zeitpunkten t=90 und 120min.

Tabelle 8: pH-Werte für die Versuchsgruppen Kontrolle und Ölsäure Kontrolle zu den jeweiligen Zeitpunkten

Versuchsreihe	**Kontrolle**			**Ölsäure Kontrolle**		
Zeitpunkt t in min	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**7,397**	±	0,04	**7,361**	±	0,04
10	**7,431**	±	0,04	**7,377**	±	0,04
20	**7,431**	±	0,05	**7,379**	±	0,04
30	**7,424**	±	0,07	**7,359**	±	0,05
60	**7,380**	±	0,09	**7,269**	±	0,06
90	**7,357**	±	0,07	**7,225**	±	0,05*
120	**7,324**	±	0,06	**7,170**	±	0,06*†

1.3 Pulmonale Parameter

➢ **Beatmungsdruck**

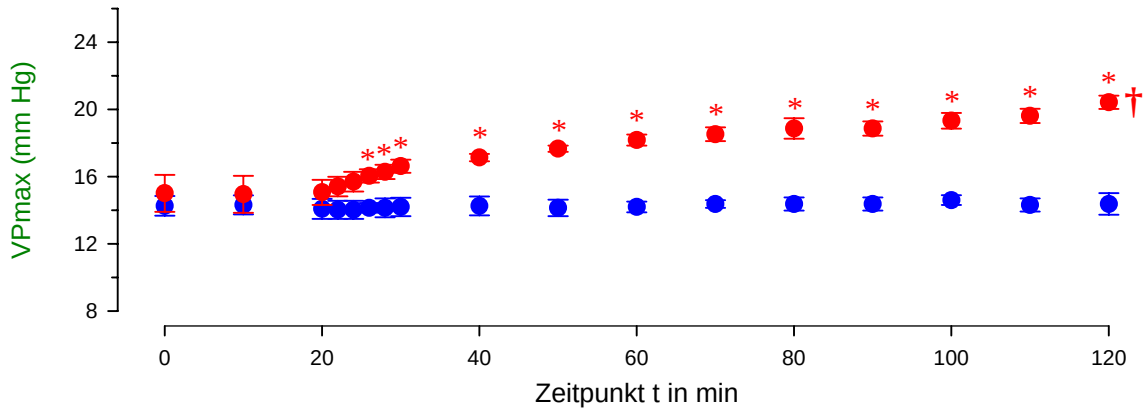


Diagramm 5: Zeitliche Verläufe des Beatmungsdrucks (VP) für die Versuchsgruppen Kontrolle (●) und Ölsäure Kontrolle (●)

Der maximale Beatmungsdruck stieg bei den Tieren der OA-Gruppe von 15,0±1,0mmHg auf 20,4±0,4mmHg an, wohingegen die Kontrolltiere mit einem relativ konstanten Beatmungsdruck von 14,0 bis 14,6 (min/max) beatmet wurden (siehe Diagramm 5). Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in den Faktoren Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe. Im T-Test traten Signifikanzen für die Zeitpunkte t=26 bis t=120min auf.

➢ Wet-to-dry weight ratio

Das Verhältnis von Nass- zu Trockengewicht der Lungen lag bei den OA-Kontrollen mit 8,5±0,4 signifikant (ANOVA und T-Test) höher als bei den Kontrollversuchen mit 4,7±0,8 (siehe Diagramm 6).

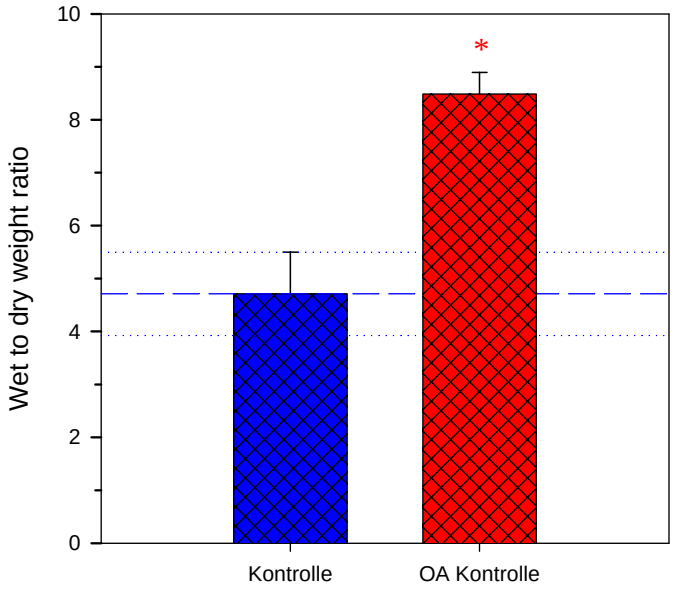


Diagramm 6: Wet-to-dry weight ratio der Versuchsgruppen Kontrolle und Ölsäure Kontrolle

➢ Intrapulmonaler Shunt (Qs/Qt)

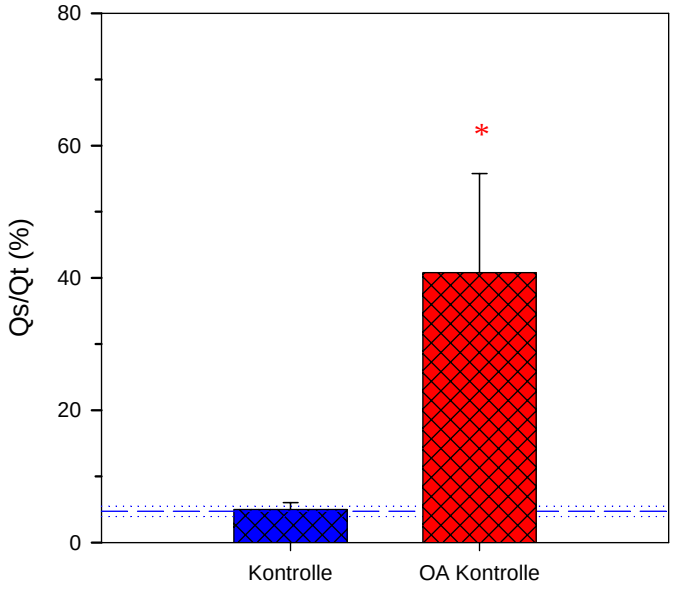


Diagramm 7: Intrapulmonaler Shunt der Versuchsgruppen Kontrolle und Ölsäure Kontrolle zum Zeitpunkt t=120min

Der intrapulmonale Shunt lag für den Zeitpunkt t=120min bei den OA-Kontrollen mit 40,79±14,96% deutlich (ca. achtmal) und signifikant (ANOVA und T-Test) höher als bei den Kontrollversuchen mit 4,99±1,04% (siehe Diagramm 7).

Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Versuche mit Ölsäure zeigten, dass die intravenöse Injektion von 0,1ml/kg OA zu einem deutlichen Anstieg des PAP/RVP führt. Dabei konnte bereits 2min nach der Gabe im Vergleich zu den Kontrollen ein deutlich höherer PAP festgestellt werden. Der mittlere systemisch-arterielle Druck blieb während der gesamten Versuchsdauer nahezu konstant, obgleich zur Stabilisierung mehr Norepinephrin benötigt wurde als in den Kontrollen. In Korrelation dazu konnte der SVR in der OA-Gruppe konstant gehalten werden, während der PVR deutlich anstieg. In den OA-Kontrollversuchen stieg der pCO_2 unmittelbar nach OA-Gabe deutlich an, wohingegen der arterielle pO_2 und die O_2-Sättigung massiv abfielen. Des Weiteren führte die Injektion von 0,1ml OA zum Zeitpunkt t=20min bereits nach 6min zu signifikant höheren Beatmungsdrücken, was einen *Compliance*-Abfall widerspiegelte, da die Beatmungsvolumen konstant blieben. Zudem wiesen die OA-Kontrolltiere nach Versuchsende deutlich höhere Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnisse auf. Der intrapulmonalen Shuntfluss stieg bei diesen Versuchstieren ebenfalls stark an.

2 VERSUCHE MIT STICKSTOFFMONOXID

2.1 Hämodynamik

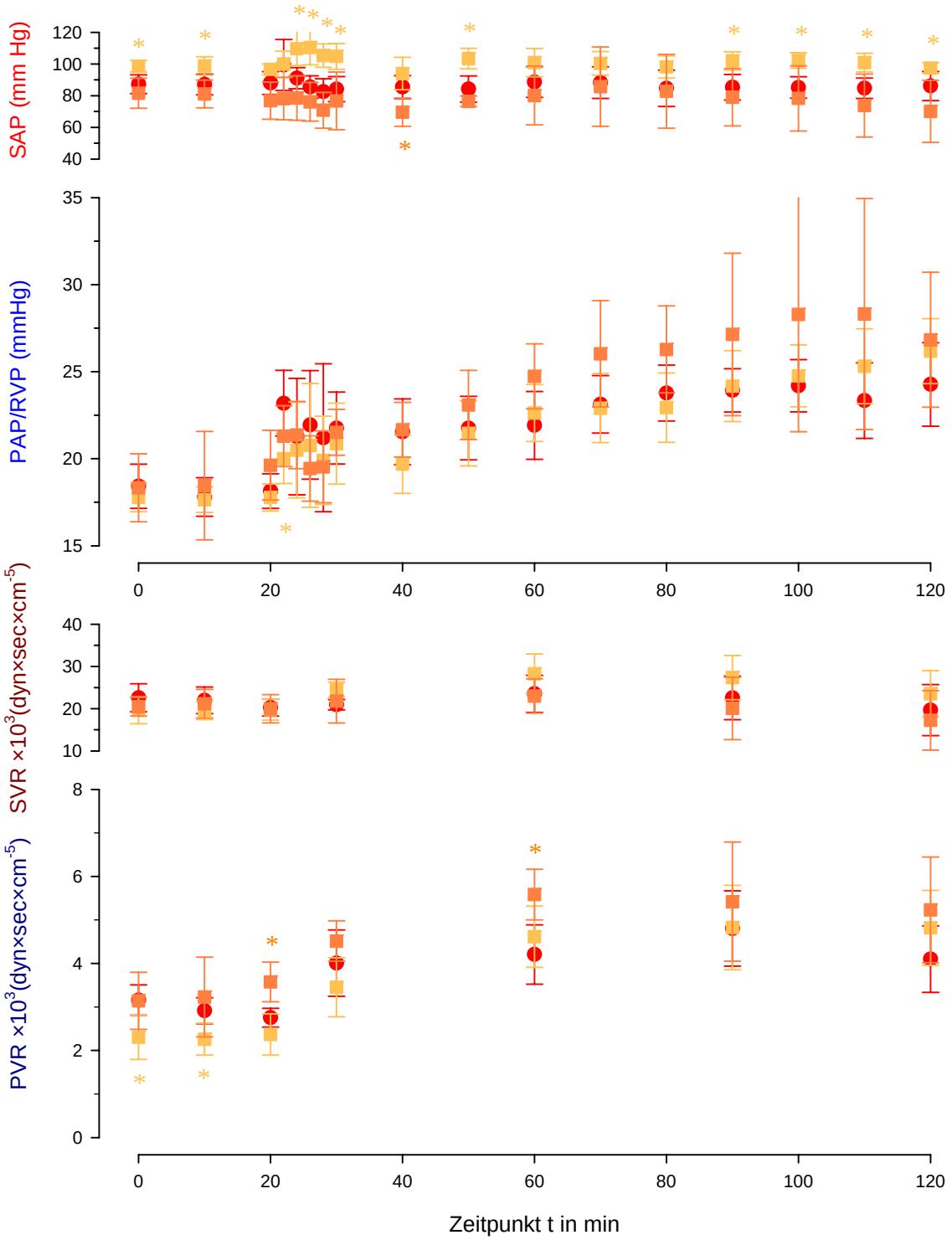


Diagramm 8: Zeitliche Verläufe der Parameter SAP, PAP/RVP, SVR und PVR für die Versuchsgruppen OA-Kontrolle (●), OA-NO 2ppm (■) und OA-NO 20ppm (■)

➢ Systemisch-arterieller Druck (SAP)

Der SAP konnte bei den Tieren der Versuchsreihen Ölsäure Kontrolle, OA-NO 2ppm und OA-NO 20ppm nahezu konstant gehalten werden. Die Werte für OA-NO 2ppm liegen jedoch stets leicht über, und die für OA-NO 20ppm leicht unter denen der OA-Kontrolle Die zweifaktorielle Varianzanalyse für die drei Versuchsgruppen ergab keine signifikanten Unterschiede in den Faktoren Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe. Im direkten Vergleich der Gruppen mit dem T-Test traten jedoch signifikante Unterschiede zwischen OA-Kontrolle und OA-NO 2ppm für die Zeitpunkte t=0, 10, 24, 26, 28, 30, 50, 90 100, 110 und 120min auf. Beim Vergleich der OA-Kontrolle mit NO 20ppm trat für den SAP ein signifikanter Unterschied für den Zeitpunkt t=40min auf (siehe Diagramm 8).

➢ Pulmonalarterieller Druck (PAP)

Keine der beiden Versuchsgruppen mit NO ergab in der zweifaktoriellen Varianzanalyse im Vergleich zu der OA-Kontrollgruppe, als auch im Vergleich untereinander, keine Signifikanzen in den Faktoren Zeit*Gruppe und Gruppe. Im T-Test trat im Vergleich von OA-NO 2ppm und der OA-Kontrolle ein signifikanter Unterschied zum Zeitpunkt t=22min auf. Für den Vergleich von NO 20ppm mit der OA-Kontrolle und NO 20ppm mit NO 2ppm wurden für den Parameter PAP keine signifikanten Unterschiede festgestellt, obwohl der Verlauf der Kurve mit einem maximalen Unterschied von 5mmHg (t=110min) deutlich über dem der OA-Kontrollgruppe lag (siehe Diagramm 8).

➢ Systemisch-vaskulärer Widerstand (SVR)

Sowohl die zweifaktorielle Varianzanalyse als auch der T-Test ergab für den Parameter SVR keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Versuchsgruppen (siehe Diagramm 8).

➢ Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)

Auch für den pulmonalvaskulären Widerstand wurden mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt, obgleich im T-Test für OA-NO 2ppm *vs.* die OA-Kontrolle Signifikanzen für die Zeitpunkte t=0 und 10min und für OA-NO 20ppm für die Zeitpunkte t=20 und 60min festgestellt wurden (siehe Diagramm 8).

➢ Zentralvenöser Druck (CVP)

Der zentralvenöse Druck fiel in allen Gruppen über die Dauer des Versuchs leicht ab (9,8-13,7%). In der zweifaktoriellen Varianzanalyse konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Im T-Test für die Versuchsgruppen OA-NO 2ppm gegen die OA-Kontrolle trat eine Signifikanz zum Zeitpunkt t=90min auf (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: Zentralvenöser Druck (CVP) in mmHg für die Versuchsgruppen OA-Kontrolle, OA-NO 2ppm und OA-NO 20ppm zu den jeweiligen Zeitpunkten

Versuchsreihe	Ölsäure Kontrolle			OA-NO 2ppm			OA-NO 20ppm		
Zeitpunkt t in min	MW		STABWN	MW		STABWN	MW		STABWN
0	**6,30**	±	0,54	**5,84**	±	0,49	**6,92**	±	0,59
10	**6,14**	±	0,43	**5,68**	±	0,46	**6,68**	±	0,53
20	**6,14**	±	0,37	**5,62**	±	0,53	**6,60**	±	0,40
30	**5,96**	±	0,48	**5,68**	±	0,33	**6,52**	±	0,83
60	**5,74**	±	0,63	**5,44**	±	0,61	**6,24**	±	1,11
90	**6,30**	±	0,70	**5,18**	±	0,52*	**6,26**	±	1,22
120	**5,60**	±	0,64	**5,04**	±	0,50	**6,34**	±	1,42

➢ Herzzeitvolumen (HZV)

Auch für das Herzzeitvolumen konnten mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen im Faktor Zeit*Gruppe festgestellt werden. Der T-Test für OA-NO 2ppm und OA-Kontrolle zeigte jedoch einen signifikanten Unterschied zwischen den Werten zum Zeitpunkt t=0 und 10min und für OA-NO 20ppm gegen OA-Kontrolle für den Wert zum Zeitpunkt t=20min (siehe Tabelle 10).

Tabelle 10: Herzzeitvolumen (HZV) in ml/min für die Versuchsgruppen OA-Kontrolle, OA-NO 2ppm und OA-NO 20ppm zu den jeweiligen Zeitpunkten

Versuchsreihe	**Ölsäure Kontrolle**			**OA-NO 2ppm**			**OA-NO 20ppm**		
Zeitpunkt t in min	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**291,05**	±	34,88	**389,53**	±	74,73*	**294,20**	±	38,36
10	**298,63**	±	33,85	**385,98**	±	59,64*	**284,32**	±	27,14
20	**324,26**	±	23,79	**375,40**	±	60,65	**281,48**	±	10,55*
30	**300,62**	±	45,20	**325,64**	±	39,75	**258,01**	±	17,89
60	**289,68**	±	56,57	**274,97**	±	36,83	**254,32**	±	15,20
90	**289,70**	±	45,89	**293,84**	±	61,52	**302,23**	±	39,02
120	**347,99**	±	73,43	**332,00**	±	79,54	**307,54**	±	35,15

➢ Katecholamingaben

Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab keine signifikanten Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe und Gruppe für den Norepinephrinverbrauch der Versuchsgruppen (siehe Diagramm 9). Dennoch lag der Gesamtverbrauch für OA-NO 2ppm mit 146,5±73,4µg leicht unter und für OA-NO 20ppm mit 256,9±284,9µg leicht über dem der OA-Kontrolle 184,8±130,1µg (siehe Diagramm 10).

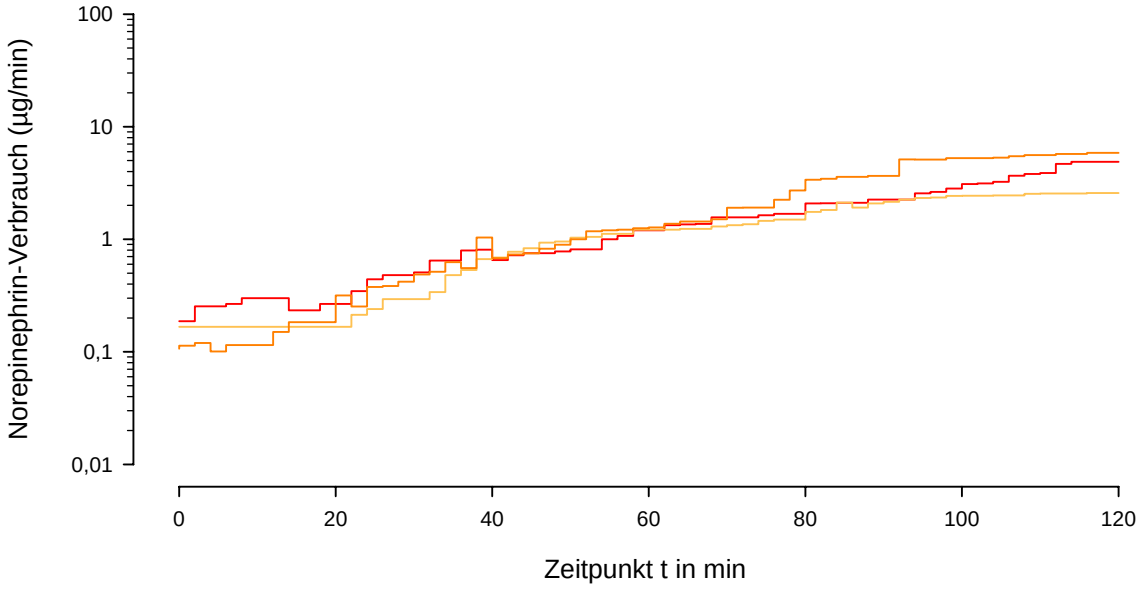


Diagramm 9: Zeitliche Verläufe des gemittelten Norepinephrinverbrauchs zur Stabilisierung des SAP für die Versuchsgruppen OA-Kontrolle (—), OA-NO 2ppm (—) und OA-NO 20ppm (—)

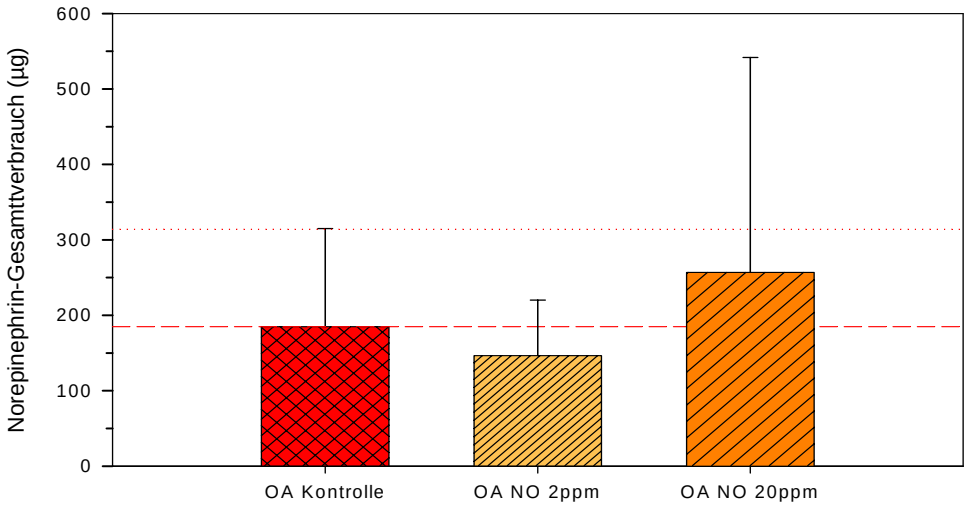


Diagramm 10: Norepinephrinverbrauch der Versuchsgruppen OA Kontrolle, OA-NO 2ppm und OA-NO 20ppm

2.2 Blutparameter

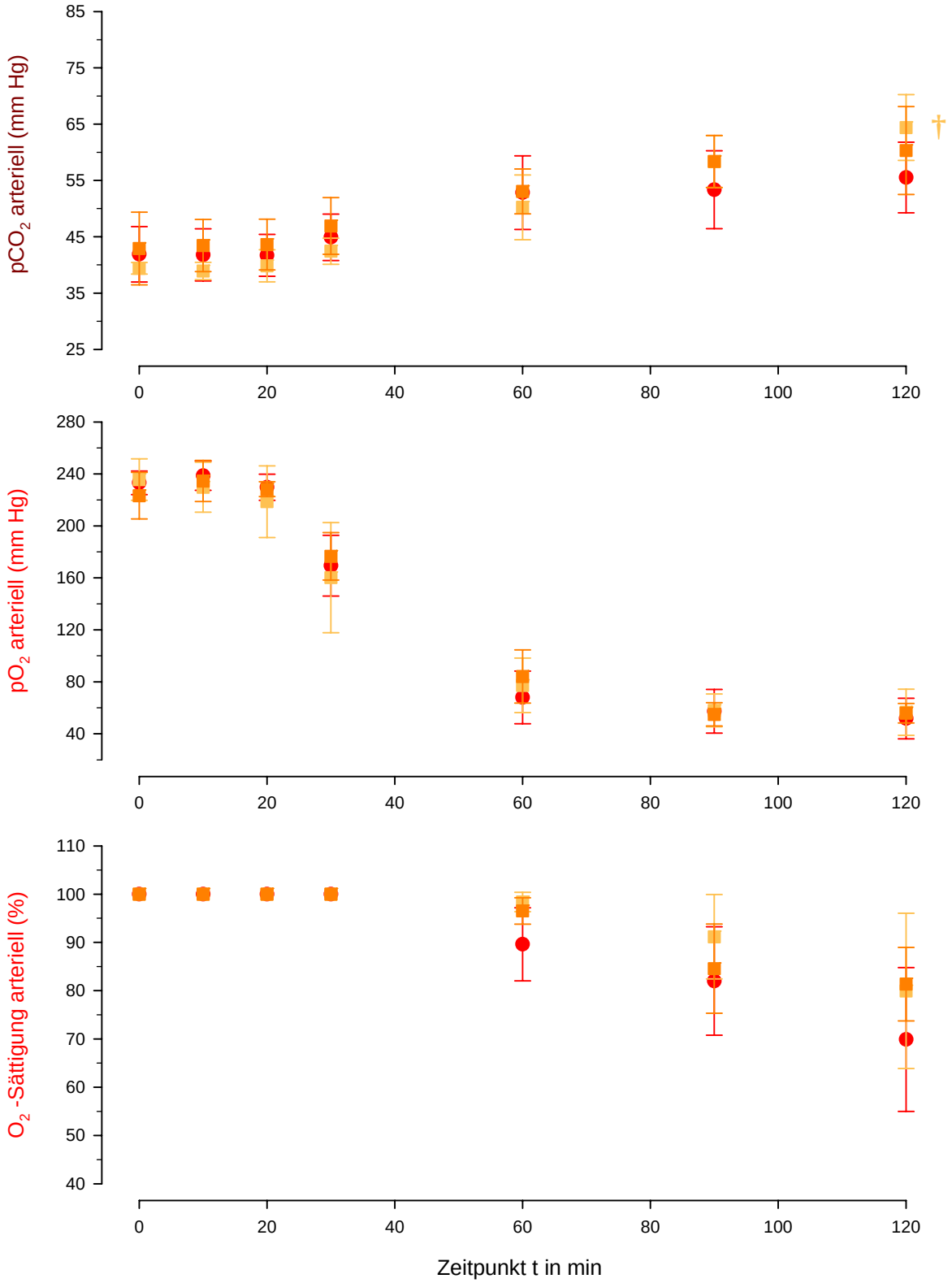


Diagramm 11: Zeitliche Verläufe der Parameter pCO_2, pO_2 und O_2-Sättigung für die Versuchsgruppen OA-Kontrolle (●), OA-NO 2ppm (■) und OA-NO 20ppm (■)

➢ Arterielle pCO_2-Werte

Die Versuchsgruppe OA-NO 2ppm unterschied sich in der zweifaktoriellen Varianzanalyse im Faktor Zeit*Gruppe signifikant von der OA-Kontrollgruppe. Im T-Test traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Werten der beiden Versuchsgruppen auf, obwohl die Gruppe OA-NO 2ppm zum Zeitpunkt t=120min mit 64,4±5,8mmHg ca. 16% höher lag als die OA-Kontrolle (55,5±6,3mmHg). Die Gruppe OA-NO 20ppm unterschied sich für den Parameter pCO_2 weder im T-Test noch in der zweifaktoriellen Varianzanalyse signifikant von der OA-Kontrolle (siehe Diagramm 11).

➢ Arterielle pO_2-Werte

Der Verlauf der pO_2-Werte der drei Gruppen war nahezu identisch. Der Vergleich der Gruppen OA-Kontrolle, OA-NO 2ppm und NO 20ppm mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse ergab keine Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe. Auch im direkten Vergleich der Werte mit dem T-Test traten keine signifikanten Unterschiede auf (siehe Diagramm 11).

➢ Arterielle O_2-Sättigung

Gleiches gilt auch für die arterielle O_2-Sättigung, obwohl die Werte der NO-Gruppen über die Dauer des Versuchs über denen der Kontrolle lagen (siehe Diagramm 11). Zum Zeitpunkt t=120min lagen die Therapiegruppen mit 80,0±16,1% (OA-NO 2ppm) und 81,4±7,6% (OA-NO 20ppm) deutlich über der OA-Kontrolle (69,9±14,9%).

➢ Arterielle pH-Werte

Tabelle 11: pH-Werte für die Versuchsgruppen OA-Kontrolle, OA-NO 2ppm und OA-NO 20ppm zu den jeweiligen Zeitpunkten

Versuchsreihe	**Ölsäure Kontrolle**			**OA-NO 2ppm**			**OA-NO 20ppm**		
Zeitpunkt t in min	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**7,361**	±	0,04	**7,453**	±	0,05*	**7,318**	±	0,07
10	**7,377**	±	0,04	**7,472**	±	0,03*	**7,342**	±	0,06
20	**7,379**	±	0,04	**7,465**	±	0,02*	**7,354**	±	0,06
30	**7,359**	±	0,05	**7,445**	±	0,03*	**7,336**	±	0,05
60	**7,269**	±	0,06	**7,390**	±	0,05*	**7,283**	±	0,04
90	**7,225**	±	0,05	**7,316**	±	0,05*	**7,208**	±	0,07
120	**7,170**	±	0,06	**7,262**	±	0,06	**7,130**	±	0,10

Der pH-Wert fiel in allen Gruppen leicht ab (±0,21). Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab keine Unterschiede zwischen den Gruppen im Faktor Zeit*Gruppe, obwohl sich im T-Test für OA-NO 2ppm und OA-Kontrolle alle Werte bis auf t=120min signifikant unterschieden (siehe Tabelle 11).

2.3 Pulmonale Parameter

➢ Beatmungsdruck

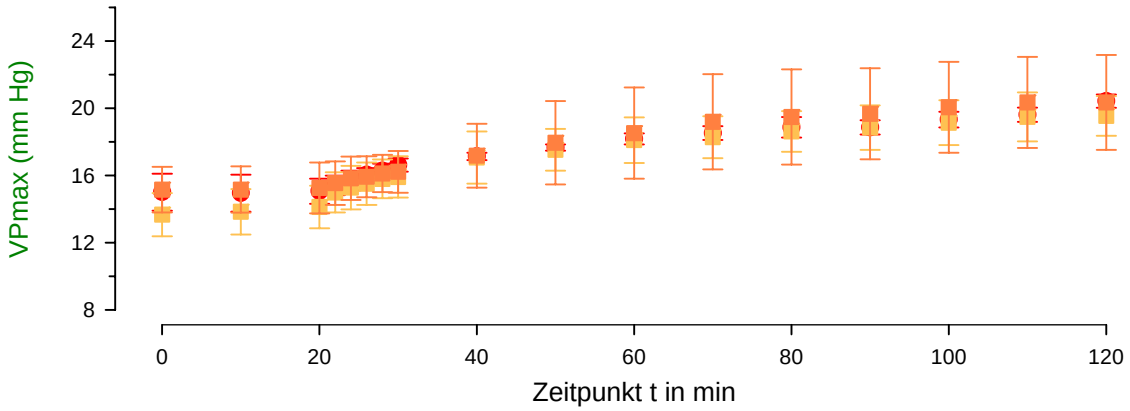


Diagramm 12: Zeitliche Verläufe des Beatmungsdrucks (VP) für die Versuchsgruppen OA-Kontrolle (●), OA-NO 2ppm (■) und OA-NO 20ppm (■)

Der maximale Beatmungsdruck stieg bei den Tieren aller Gruppen vergleichbar stark an. Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen im Faktor Zeit*Gruppe und Gruppe (siehe Diagramm 12).

➢ Wet-to-dry weight ratio

Die Verhältnisse von Nass- zu Trockengewicht der Lungen der drei Versuchsgruppen unterschieden sich in der einfaktoriellen Varianzanalyse und dem T-Test nicht signifikant voneinander (siehe Diagramm 13). Dennoch lagen beide Therapiegruppen mit 7,7±1,0 (OA-NO 2ppm) und 8,0±0,5 (OA-NO 20ppm) leicht unter der OA-Kontrolle (8.5±0.4)

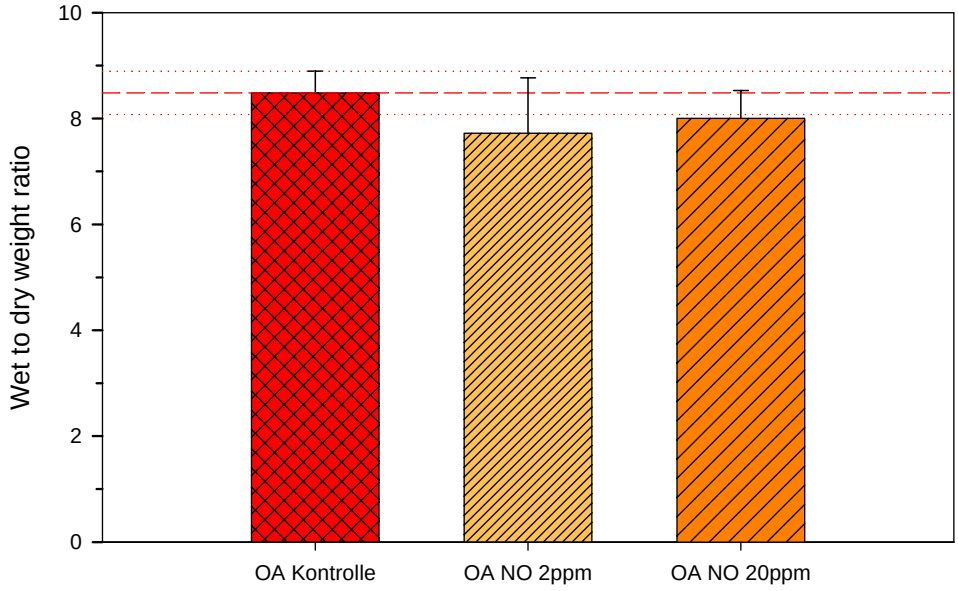


Diagramm 13: Wet-to-dry weight ratio der Versuchsgruppen OA-Kontrolle, OA-NO 2ppm und OA-NO 20ppm

- **Intrapulmonaler Shunt (Qs/Qt)**

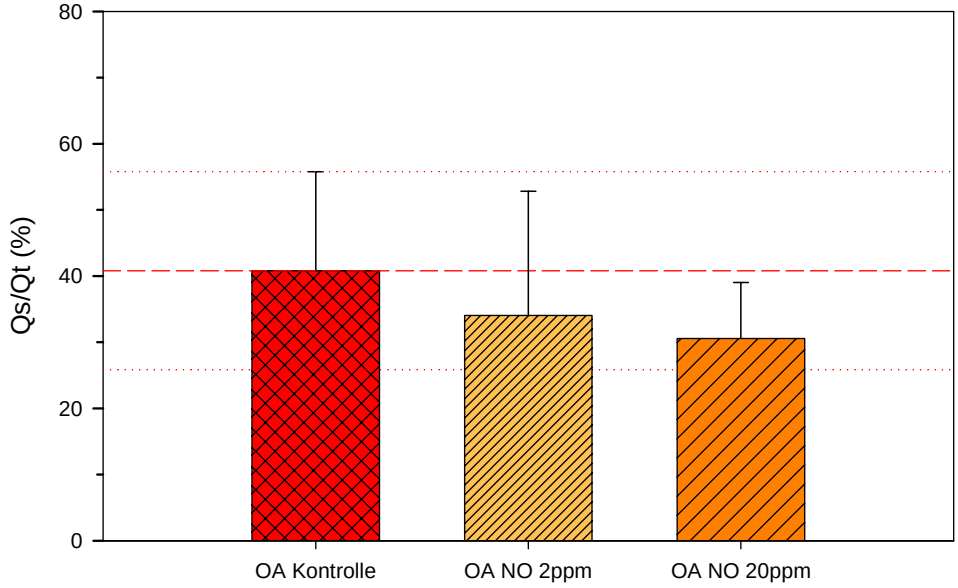


Diagramm 14: Intrapulmonaler Shunt der Versuchsgruppen OA-Kontrolle, OA-NO 2ppm und OA-NO 20ppm zum Zeitpunkt t=120min

In beiden Therapiegruppen mit Stickstoffmonoxid, lag der intrapulmonale Shunt mit 34,05±18,75% für NO 2ppm und 30,55±8,47% für NO 20ppm, leicht unter dem der Kontrollgruppe (siehe Diagramm 14).

Zusammenfassung der Ergebnisse

In den Versuchen mit Stickstoffmonoxid als inhalativem Vasodilator konnte keine Verbesserung der OA-induzierten pulmonalen Hypertonie beobachtet werden. Vielmehr wurden in der Versuchsgruppe OA-NO 20ppm bei nahezu gleich bleibendem SAP im Vergleich zu der OA-Kontrolle höhere pulmonalarterielle Drücke gemessen. Auch der PVR in der OA-NO 20ppm -Gruppe lag leicht höher.

Obwohl der Verlauf der pCO2-Werte für die Gruppe OA-NO 2ppm nicht deutlich höher zu liegen scheint als der der anderen Gruppen, wurde mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse ein signifikanter Unterschied zu der Kontrollgruppe berechnet. Da auch in der arteriellen Oxygenierung keine positiven Effekte beobachtet werden konnten, bleibt festzuhalten, dass NO in den Konzentrationen 2 und 20ppm zu keiner Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung führte, obwohl beide Therapiegruppen in der arteriellen Sättigung leicht über und die berechneten Shuntflüsse leicht unter den Kontrollen lagen. Unter NO-Therapie konnte auch keine Verbesserung der OA-vermittelten Azidose beobachtet werden. Des Weiteren führte die Gabe von NO zu keiner Verminderung der Beatmungsdrücke und der Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen. Obwohl sich die Werte der Therapiegruppen für den Parameter Qs/Qt nicht signifikant von dem der Kontrolle unterschieden, kann eine leichte dosisabhängige Verminderung des intrapulmonale Shuntflusses unter NO-Therapie konstatiert werden.

3 VERSUCHE MIT SILDENAFIL

3.1 Hämodynamik

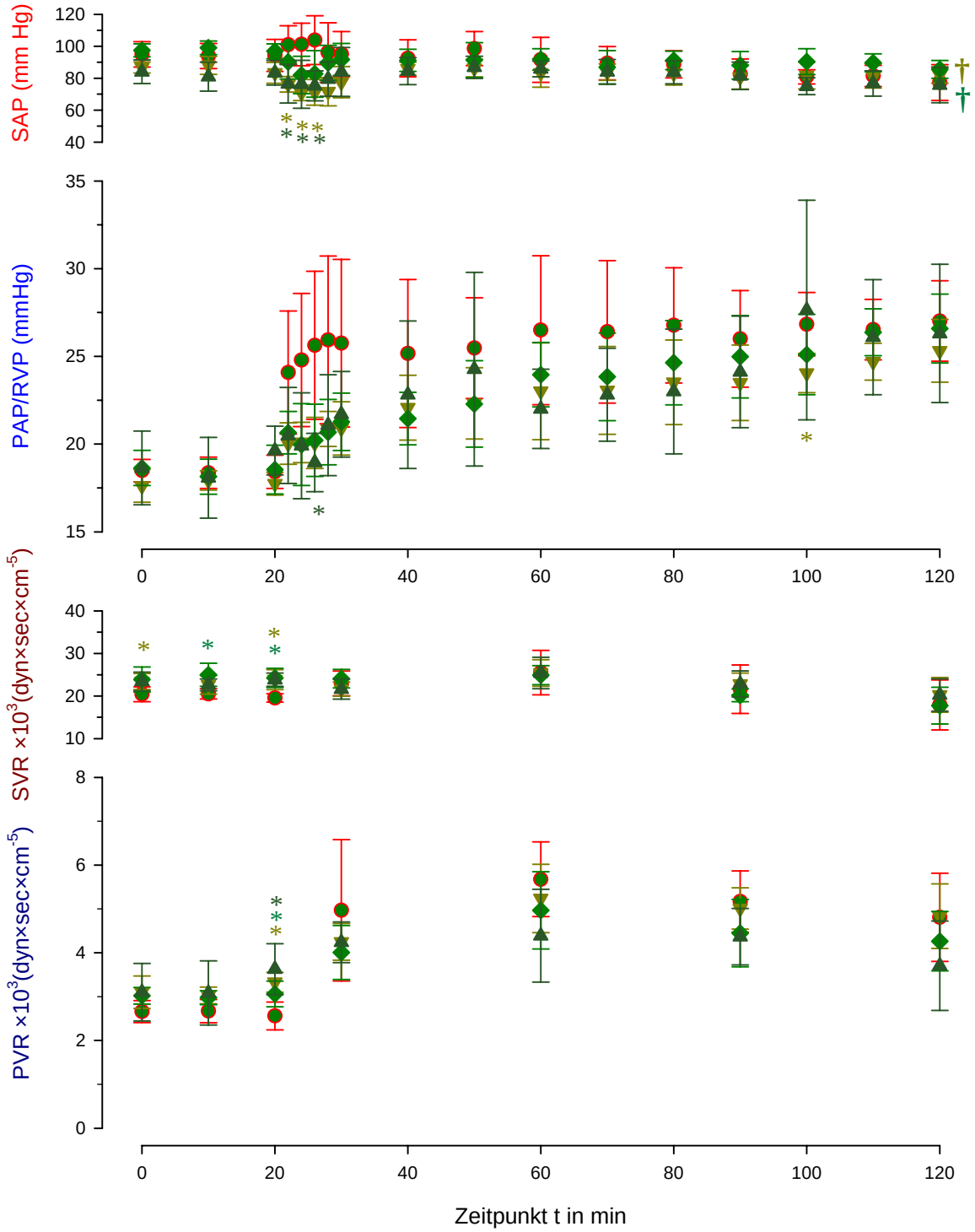


Diagramm 15: Zeitliche Verläufe der Parameter SAP, PAP/RVP, SVR und PVR für die Versuchsgruppen OA-Sildenafil-Kontrolle (●), OA-Sil 100µg (▼), OA-Sil 300µg (◆) und OA-Sil 1000µg (▲)

➢ Sytemisch-arterieller Druck (SAP)

Der SAP konnte bei den Tieren der Sildenafil Versuchsreihen relativ konstant gehalten werden. Direkt nach der OA-Gabe fiel der SAP in allen Therapiegruppen jedoch leicht ab. Die zweifaktorielle Varianzanalyse für die Vergleiche der Versuchsgruppen OA-Sil 100µg und OA-Sil 300µg mit der Sildenafil-Kontrolle ergab signifikante Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe. Im direkten Vergleich der Werte für OA-Sil 100µg und OA-Sil 1000µg mit der Kontrolle im T-Test ergaben sich Signifikanzen für die Zeitpunkte t=22, 24 und 26min (siehe Diagramm 15).

➢ Pulmonalarterieller Druck (PAP)

Obwohl die Kurve für die Sildenafil-Kontrolle für den Parameter PAP direkt nach Infusionsbeginn deutlich über denen der Sildenafil-Versuchsgruppen lag, konnten mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse keine Unterschiede zwischen den Kurvenverläufen festgestellt werden. Im T-Test trat lediglich im Vergleich von OA-Sil 1000µg gegen die OA-Sil-Kontrolle ein signifikanter Unterschied für den Zeitpunkt t=26min auf (siehe Diagramm 15).

➢ Systemisch-vaskulärer Widerstand (SVR)

Auch für den Parameter SVR zeigte die zweifaktorielle Varianzanalyse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf (siehe Diagramm 15). Im T-Test ergaben sich Signifikanzen für die Gruppen OA-Sil 100µg und OA-Sil 300µg gegen die Sildenafil-Kontrolle für die Zeitpunkte t=20min (100µg und 300µg) und t=0min (Sil 100µg) und t=10min (Sil 300µg).

➢ Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)

Für den pulmonalvaskulären Widerstand ergab die zweifaktorielle Varianzanalyse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen mit Sildenafil und der Kontrolle. Im T-Test für den Zeitpunkt t=20min wiesen alle Therapiegruppen im Vergleich mit der Kontrolle jedoch signifikant unterschiedliche Werte auf´(siehe Diagramm 15).

➢ Zentralvenöser Druck (CVP)

Obgleich bei allen Gruppen über die Dauer des Versuchs ein leichter Abfall des CVP zu beobachten war, unterschieden sich die Werte weder in der zweifaktoriellen Varianzanalyse noch im T-Test signifikant voneinander (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Zentralvenöser Druck (CVP) in mmHg für die Versuchsgruppen OA-Sildenafil-Kontrolle, Sil 100µg, Sil 300µg und Sil 1000µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Sil-Kontrolle			OA-Sil 100µg			OA-Sil 300µg			OA-Sil 1000µg		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**6,46**	±	0,31	**6,54**	±	0,50	**6,22**	±	0,50	**6,28**	±	0,52
10	**6,38**	±	0,35	**6,42**	±	0,47	**6,18**	±	0,55	**6,28**	±	0,52
20	**6,24**	±	0,45	**6,40**	±	0,43	**5,96**	±	0,63	**6,32**	±	0,50
30	**5,94**	±	0,70	**6,34**	±	0,56	**5,38**	±	0,58	**5,68**	±	0,52
60	**5,50**	±	0,61	**6,18**	±	1,08	**5,94**	±	0,71	**5,46**	±	0,48
90	**5,56**	±	0,39	**6,06**	±	1,12	**5,78**	±	0,80	**5,22**	±	0,53
120	**5,58**	±	0,35	**6,24**	±	1,34	**5,64**	±	0,88	**5,42**	±	0,49

➢ Herzzeitvolumen (HZV)

Auch für den Parameter HZV ergab die zweifaktorielle Varianzanalyse im Faktor Zeit*Gruppe keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen und der Sil-Kontrolle. Im T-Test traten jedoch für den Vergleich OA-Sil 100µg gegen OA-Sil-Kontrolle Signifikanzen zu den Zeitpunkten t= 0, 10, 20 und 60min und für OA-Sil 300µg und OA-Sil 1000µg gegen Sil-Kontrolle zu den Zeitpunkten t=20min auf. In allen drei Therapiegruppen war ein leichter Anstieg des HZV zu beobachten (siehe Tabelle 13).

Tabelle 13: Herzzeitvolumen (HZV) in ml/min für die Versuchsgruppen OA-Sildenafil-Kontrolle, Sil 100µg, Sil 300µg und Sil 1000µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Sil-Kontrolle			OA-Sil 100µg			OA-Sil 300µg			OA-Sil 1000µg		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**349,0**	±	43,0	**275,4**	±	20,7*	**310,3**	±	40,7	**306,7**	±	53,0
10	**342,4**	±	32,3	**290,1**	±	24,9*	**300,8**	±	36,9	**292,3**	±	44,2
20	**359,5**	±	28,9	**258,5**	±	10,3*	**302,4**	±	31,8*	**281,9**	±	29,9*
30	**312,9**	±	51,6	**262,3**	±	23,4	**287,0**	±	21,7	**278,0**	±	38,1
60	**272,7**	±	19,2	**243,6**	±	12,7*	**277,6**	±	30,7	**282,5**	±	45,7
90	**305,2**	±	90,9	**263,2**	±	23,2	**327,1**	±	31,4	**312,8**	±	32,3
120	**348,4**	±	90,8	**310,9**	±	60,3	**377,4**	±	75,5	**427,5**	±	75,7

➢ **Katecholamingaben**

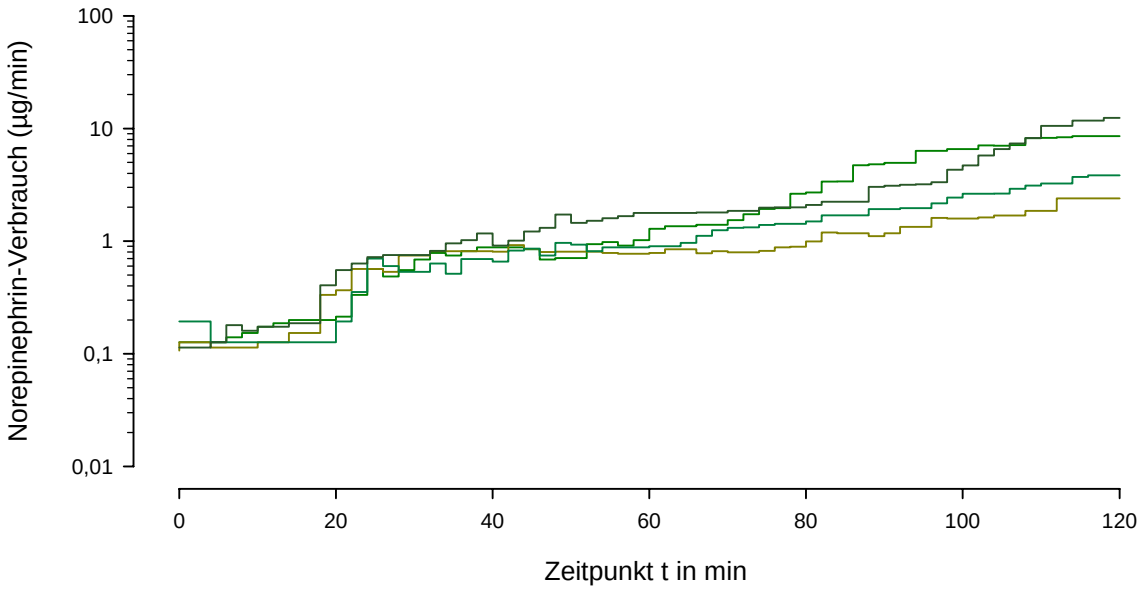


Diagramm 16: Zeitliche Verläufe des gemittelten Norepinephrinverbrauchs zur Stabilisierung des SAP für die Versuchsgruppen OA-Sildenafil-Kontrolle (—), OA-Sil 100µg (—), OA-Sil 300µg (—) und OA-Sil 1000µg (—)

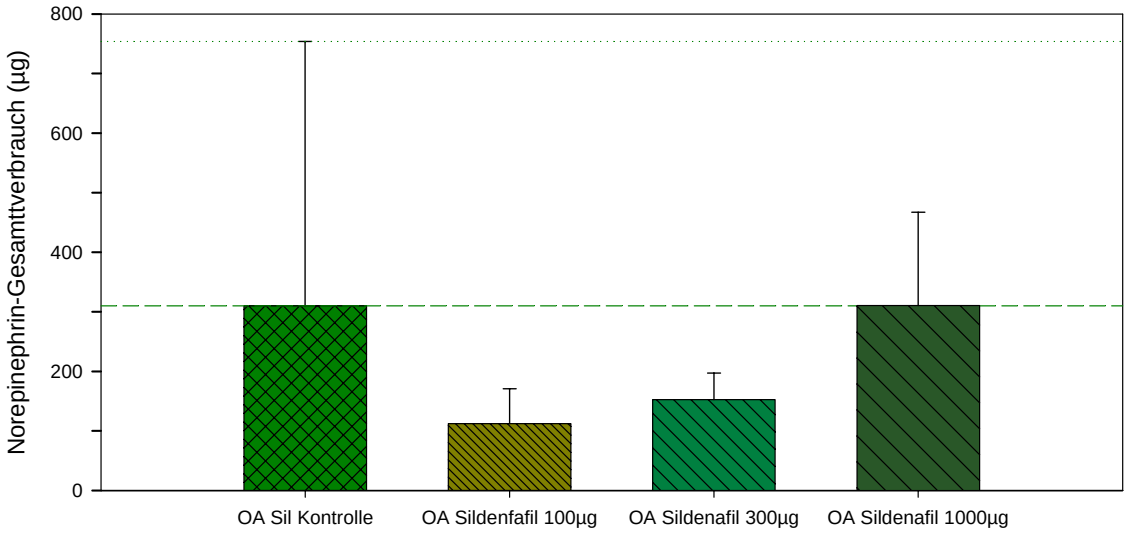


Diagramm 17: Norepinephrinverbrauch der Versuchsgruppen OA-Sildenafil-Kontrolle, OA-Sil 100µg, OA-Sil 300µg und OA-Sil 1000µg

Die Gesamtmenge verbrauchten Norepinephrins war mit 112,1±58,7µg für die OA-Sil 100µg Gruppe und 152,6±44,5µg für OA-Sil 300µg deutlich niedriger als die der Sil-Kontrolle (309,9±443,7µg) und der mit 310,5±156,8µg vergleichbar hohen OA-Sil 1000µg -Gruppe. Dennoch unterschieden sich die Norepinephrinverbräuche der Therapiegruppen nicht signifikant von denen der Kontrolle (siehe Diagramm 16 und Diagramm 17).

3.2 Blutparameter

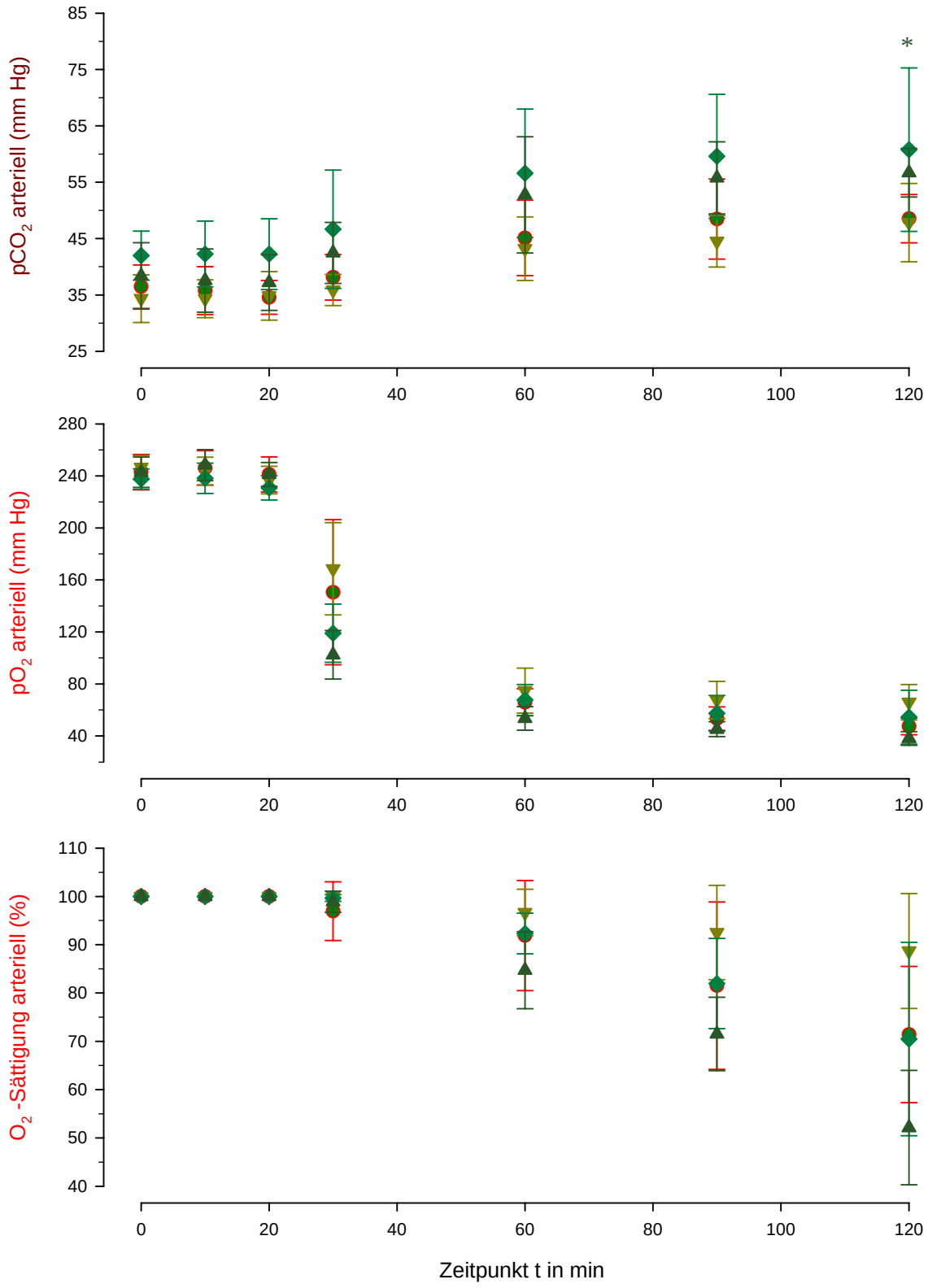


Diagramm 18: Zeitliche Verläufe der Parameter pCO_2, pO_2 und O_2-Sättigung für die Versuchsgruppen OA-Sildenafil-Kontrolle (●), OA-Sil 100µg (▼), OA-Sil 300µg (◆) und OA-Sil 1000µg (▲)

➢ Arterielle pCO_2-Werte

Die arteriellen pCO_2-Werte für die Gruppen OA-Sil 300µg und OA-Sil 100µg lagen deutlich über denen der OA-Sil-Kontrolle, wohingegen die Gruppe OA-Sil 100µg nahezu gleiche pCO_2-Werte zeigte wie die Kontrolle (siehe Diagramm 18). Mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen und der Kontrolle im Faktor Zeit*Gruppe festgestellt werden. Im T-Test unterschied sich lediglich der Wert zum Zeitpunkt t=120min für Sil 1000µg (56,58±4,31) signifikant von dem der Sil-Kontrolle (48,52±4,28).

➢ Arterielle pO_2-Werte

Der Vergleich der Sildenafil-Gruppen mit der Kontrolle ergab keine signifikanten Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe. Im direkten Vergleich mit dem T-Test traten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede auf. Zum Zeitpunkt t=30min lagen die Werte für OA-Sil 300µg (119,0±22,3mmHg) und 1000µg (102,4±18,7mmHg) jedoch deutlich unter der Kontrolle (150,5±55,8mmHg), während die Werte der Gruppe OA-Sil 100µg zu diesem Zeitpunkt (168,5±35,5mmHg) wie auch über den gesamten Versuchszeitraum über denen der Kontrolle lagen (siehe Diagramm 18).

➢ Arterielle O_2-Sättigung

Ähnliche Verhältnisse waren auch bei der O_2-Sättigung zu beobachten. Während die Werte der Gruppe OA-Sil 300µg nahezu deckungsgleich mit denen der OA-Sil-Kontrolle verliefen, lagen die Werte der OA-Sil 100µg Gruppe deutlich über (17,3% t=120min), und die der OA-Sil 1000µg deutlich unter (19,3% t=120min) denen der OA-Sil-Kontrolle. Dennoch konnten weder mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse noch mit dem T-Test signifikante Unterschiede nachgewiesen werden (siehe Diagramm 18).

➢ Arterielle pH-Werte

Der pH-Wert fiel, wie in Tabelle 14 zu sehen ist, in allen Gruppen vergleichbar stark ab. Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen in den Faktoren Zeit*Gruppe und Gruppe. Der T-Test ergab nur im Vergleich der Gruppe OA-Sil 300µg gegen Sil-Kontrolle einen signifikanten Unterschied zum Zeitpunkt t=60min.

Tabelle 14: pH-Werte für die Versuchsgruppen Sildenafil OA-Kontrolle, Sil 100µg, Sil 300µg und Sil 1000µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Sil-Kontrolle			OA-Sil 100µg			OA-Sil 300µg			OA-Sil 1000µg		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**7,473**	±	0,05	**7,503**	±	0,05	**7,413**	±	0,06	**7,446**	±	0,07
10	**7,502**	±	0,06	**7,514**	±	0,47	**7,432**	±	0,06	**7,480**	±	0,06
20	**7,515**	±	0,06	**7,502**	±	0,43	**7,434**	±	0,07	**7,484**	±	0,06
30	**7,470**	±	0,04	**7,497**	±	0,56	**7,386**	±	0,08	**7,433**	±	0,05
60	**7,360**	±	0,05	**7,384**	±	1,08	**7,270**	±	0,06*	**7,303**	±	0,06
90	**7,263**	±	0,10	**7,326**	±	1,12	**7,221**	±	0,04	**7,237**	±	0,06
120	**7,187**	±	0,15	**7,254**	±	1,34	**7,183**	±	0,07	**7,144**	±	0,08

3.3 Pulmonale Parameter

➢ **Beatmungsdruck**

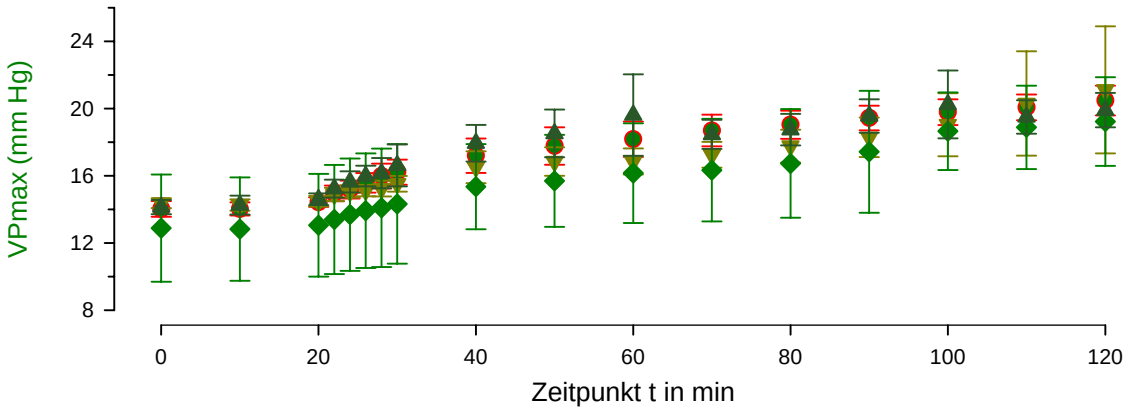


Diagramm 19: Zeitliche Verläufe des Beatmungsdrucks (VP) für die Versuchsgruppen OA-Sildenafil-Kontrolle (●), OA-Sil 100µg (▼), OA-Sil 300µg (◆) und OA-Sil 1000µg (▲)

Der maximale Beatmungsdruck stieg bei den Tieren aller Gruppen deutlich an (siehe Diagramm 19). Die Werte unterschieden sich weder in der zweifaktoriellen Varianzanalyse (Faktor Zeit*Gruppe) noch im direkten Vergleich mit dem T-Test signifikant voneinander.

➢ Wet-to-dry weight ratio

Auch die Verhältnisse von Nass- zu Trockengewicht der Lungen unterschieden sich nicht signifikant voneinander (siehe Diagramm 20). Die Gruppe OA-Sil 100µg wies mit 7,8±0,2 das geringste Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnis auf. Die anderen Versuchsgruppen lagen mit 8,3±0,4 (OA-Sil 300µg) und 8,5±0,8 (OA-Sil 1000µg) leicht über der Kontrollegruppe (8,0±0,4).

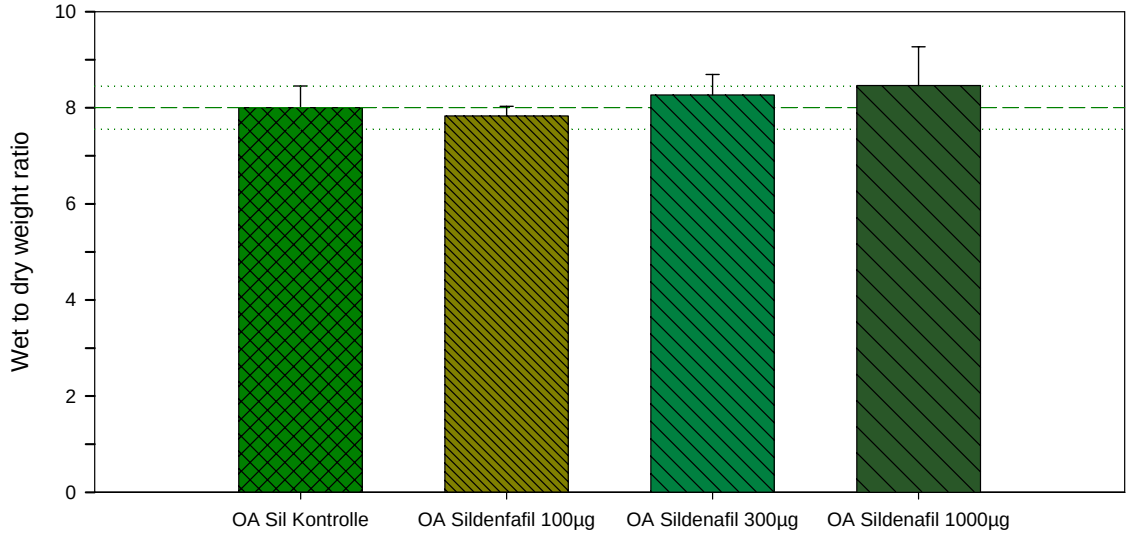


Diagramm 20: Wet-to-dry weight ratio der Versuchsgruppen OA-Sildenafil-Kontrolle, OA-Sil 100µg, OA-Sil 300µg und OA-Sil 1000µg

➢ Intrapulmonaler Shunt (Qs/Qt)

Wie auch bei den Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnissen der Lungen lag der intrapulmonale Shunt für die Versuchsgruppe OA-Sil 100µg mit 23,58±13,43% am niedrigsten und deutlich, aber nicht signifikant, unter der Kontrolle. Die anderen beiden Therapiegruppen lagen minimal unter (OA-Sil 300µg) und deutlich, aber ebenfalls nicht signifikant, über (OA-Sil 1000µg) der Kontrollgruppe (siehe Diagramm 21).

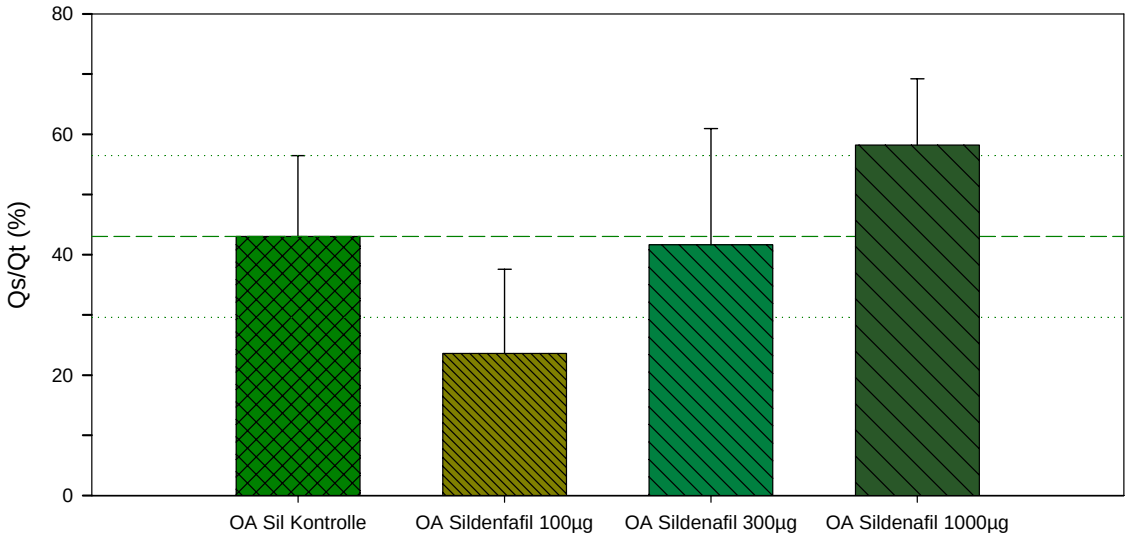


Diagramm 21: Intrapulmonaler Shunt der Versuchsgruppen OA-Sildenafil-Kontrolle, OA-Sil 100µg, OA-Sil 300µg und OA-Sil 1000µg zum Zeitpunkt t=120min

Zusammenfassung der Ergebnisse

Auffallend bei den Sildenafilversuchen war ein leichter Abfall des SAP während der Sildenafil-Infusion, wohingegen bei den Volumenkontrollen ein leichter Anstieg zu beobachten war. In Korrelation mit diesem Abfall wurden zu den Zeitpunkten t=20 bis t=30min vergleichsweise niedrige pulmonalarterielle Drücke gemessen. Dennoch lagen die Sildenafil-Gruppen im zeitlichen Verlauf wie auch im zeitlichen Mittel nicht signifikant unter der OA-Sil-Kontrolle. Gleiches galt auch für den PVR. In den Versuchgruppen Sil 300 und 1000µg traten im Vergleich zur Kontrollgruppe und OA-Sil 100µg deutlich höhere pCO_2-Werte auf. Die Tiere der Gruppe OA-Sil 100µg zeigten eine etwas bessere O_2-Sättigung, die der OA-Sil 1000µg eine im Vergleich zu der Kontrollgruppe verminderte arterielle Oxygenierung. Gleiches gilt auch für den intrapulmonalen Shunt. Die Unterschiede konnten jedoch statistisch nicht untermauert werden. Ebenfalls nicht statistisch signifikant waren die Unterschiede im Norepinephrinverbrauch und dem *wet-to-dry weight ratio*.

4 VERSUCHE MIT BAY 58-2667

4.1 Hämodynamik

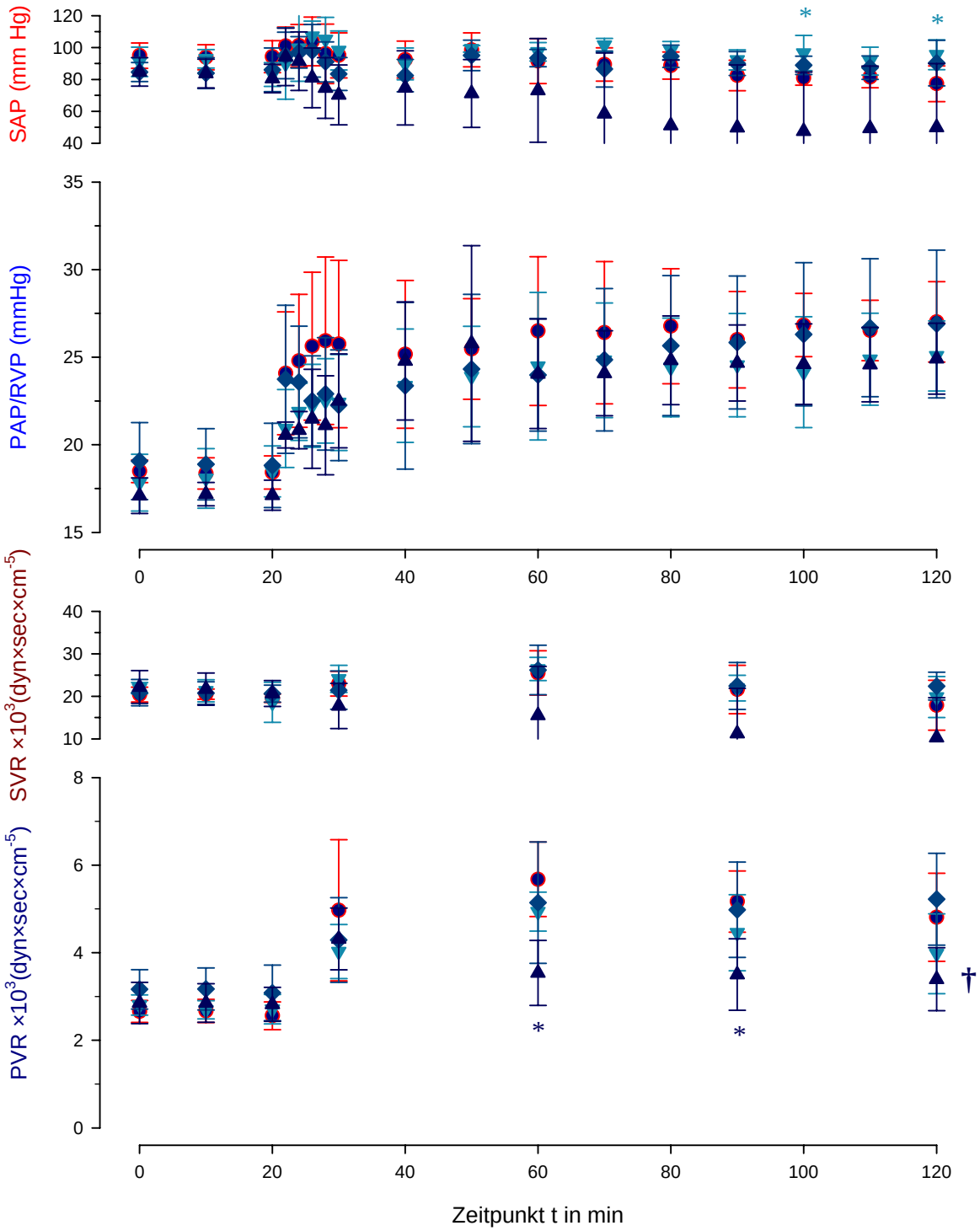


Diagramm 22: Zeitliche Verläufe der Parameter SAP, PAP/RVP, SVR und PVR für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle (●), OA-Bay 58-2667 10µg (▼), OA-Bay 58-2667 30µg (◆) und OA-Bay 58-2667 100µg (▲)

In der Versuchsgruppe OA-Bay 58-2667 100µg verstarben drei Tiere während des Versuchs, und zwar nach 62, 76 und 84 Minuten. Für die Auswertung wurden die jeweils zuletzt gemessenen Werte (t=60, 70 und 80min für die kontinuierlichen Parameter bzw. t=60 für die nicht kontinuierlichen Parameter) als *last value carried forward* übernommen.

- **Sytemisch-arterieller Druck (SAP)**

Bei allen drei Therapiegruppen stieg der SAP während der Bay 58-2667 -Infusion zuerst leicht an, bevor er wieder abfiel. Bei den Tieren der Versuchsreihe OA-Bay 58-2667 10µg und 30µg konnte dieser Abfall abgefangen und der SAP auf Ausgangsniveau nahezu konstant gehalten werden. In der Versuchsgruppe OA-Bay 58-2667 100µg hingegen war ein massiver Abfall des SAPs von Ausgangswerten über 80mmHg (81-85mmHg) auf bis zu 47,57±37,07mmHg (t=100min) zu beobachten. Die zweifaktorielle Varianzanalyse der Versuchsgruppen gegen die Kontrolle ergab jedoch keine signifikanten Unterschiede in den Faktoren Zeit*Gruppe und Gruppe. Im T-Test traten lediglich für den Vergleich der Gruppe OA-Bay 58-2667 10µg gegen OA-Bay-Kontrolle Signifikanzen für die Zeitpunkte t=100 und 120min auf (siehe Diagramm 22).

- **Pulmonalarterieller Druck (PAP)**

Der pulmonalarterielle Druck der Bay 58-2667 Gruppen unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe (siehe Diagramm 22).

- **Systemisch-vaskulärer Widerstand (SVR)**

Der SVR der Versuchsgruppe OA-Bay 58-2667 100µg lag nach der Therapie deutlich unter dem der anderen Gruppen. Die Werte unterschieden sich jedoch nicht signifikant (siehe Diagramm 22).

- **Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)**

Auch der pulmonalvaskuläre Widerstand der Gruppe OA-Bay 58-2667 100µg lag zu den Zeitpunkten t=60 90 und 120min deutlich unter dem der anderen Gruppen. Mit einem Wert von 3,5±0,7 $\times 10^3$ dyn×sec×cm^{-5} zum Zeitpunkt t=60min lag die OA-Bay 100µg -Gruppe 38,6% unter dem der Bay-Kontrolle (5,7±0,9 $\times 10^3$ dyn×sec×cm^{-5}). Im direkten Vergleich mit dem T-Test unterschieden sich diese, wie auch die Werte zum Zeitpunkt t=90min, signifikant. Zudem ergab die zweifaktorielle Varianzanalyse für den pulmonalvaskulären Widerstand der Gruppe OA-Bay 58-2667 100µg und OA-Bay-Kontrolle signifikante Unterschiede im Faktor Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe. Obwohl die Gruppe OA-Bay 58-2667

10µg einen deutlich niedrigeren PVR als die Kontrolle aufwies, ergab die statistische Auswertung keine signifikanten Unterschiede (siehe Diagramm 22).

➢ Zentralvenöser Druck (CVP)

Der zentralvenöse Druck fiel in allen Gruppen über die Dauer des Versuchs ab. Am deutlichsten war der Abfall in der Gruppe OA-Bay 58-2667 100µg mit 54,5% im Gegensatz zu 14,9% in der OA-Bay-Kontrolle. Die Werte unterschieden sich jedoch weder im T-Test noch konnten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in der zweifaktoriellen Varianzanalyse festgestellt werden (siehe Tabelle 15).

Tabelle 15: Zentralvenöser Druck (CVP) in mmHg für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 58-2667 10µg, OA-Bay 58-2667 30µg und OA-Bay 58-2667 100µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Bay Kontrolle			**OA-Bay 58-2667 10µg**			**OA-Bay 58-2667 30µg**			**OA-Bay 58-2667 100µg**		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**6,46**	±	0,31	**6,64**	±	0,29	**6,40**	±	0,30	**6,28**	±	0,96
10	**6,38**	±	0,35	**6,58**	±	0,23	**6,48**	±	0,22	**6,20**	±	1,03
20	**6,24**	±	0,45	**6,58**	±	0,29	**6,36**	±	0,28	**6,24**	±	1,08
30	**5,94**	±	0,70	**6,14**	±	0,42	**6,12**	±	0,38	**6,14**	±	1,34
60	**5,50**	±	0,61	**5,96**	±	0,52	**6,06**	±	0,39	**5,42**	±	1,60
90	**5,56**	±	0,39	**5,96**	±	0,53	**6,02**	±	0,30	**2,88**	±	2,35
120	**5,58**	±	0,35	**5,76**	±	0,61	**5,86**	±	0,35	**2,86**	±	2,34

➢ Herzzeitvolumen (HZV)

Tabelle 16: Herzzeitvolumen (HZV) in ml/min für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 58-2667 10µg, OA-Bay 58-2667 30µg und OA-Bay 58-2667 100µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Bay Kontrolle			**OA-Bay 58-2667 10µg**			**OA-Bay 58-2667 30µg**			**OA-Bay 58-2667 100µg**		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**349,0**	±	43,0	**309,6**	±	45,0	**305,5**	±	36,7	**289,4**	±	47,0
10	**342,4**	±	32,3	**331,6**	±	60,7	**300,6**	±	29,5	**292,6**	±	46,5
20	**359,5**	±	28,9	**347,3**	±	75,8	**311,5**	±	43,6	**292,3**	±	46,6*
30	**312,9**	±	51,6	**311,0**	±	59,2	**287,6**	±	26,2	**288,6**	±	29,7
60	**272,7**	±	19,2	**280,3**	±	42,8	**271,9**	±	38,7	**419,5**	±	171,9
90	**305,2**	±	90,9	**318,6**	±	30,8	**306,7**	±	45,4	**436,6**	±	157,1
120	**348,4**	±	90,8	**380,0**	±	76,9	**314,1**	±	85,1	**449,9**	±	147,3

Das HZV in den Versuchsgruppen mit 10µg und 30µg Bay 58-2667 variierte zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten deutlich. Dennoch unterschieden sich die Werte gegenüber der OA-Bay-Kontrolle weder in der zweifaktoriellen Varianzanalyse noch im T-Test signifikant voneinander, mit der Ausnahme des Zeitpunkts t=20min für die Gruppe OA-Bay 41-2272 100µg. Dennoch ist in dieser Gruppe mit 35,9% eine deutliche, wenn auch nicht signifikante Zunahme des HZVs über die Versuchsdauer zu verzeichnen (siehe Tabelle 16).

- **Katecholamingaben**

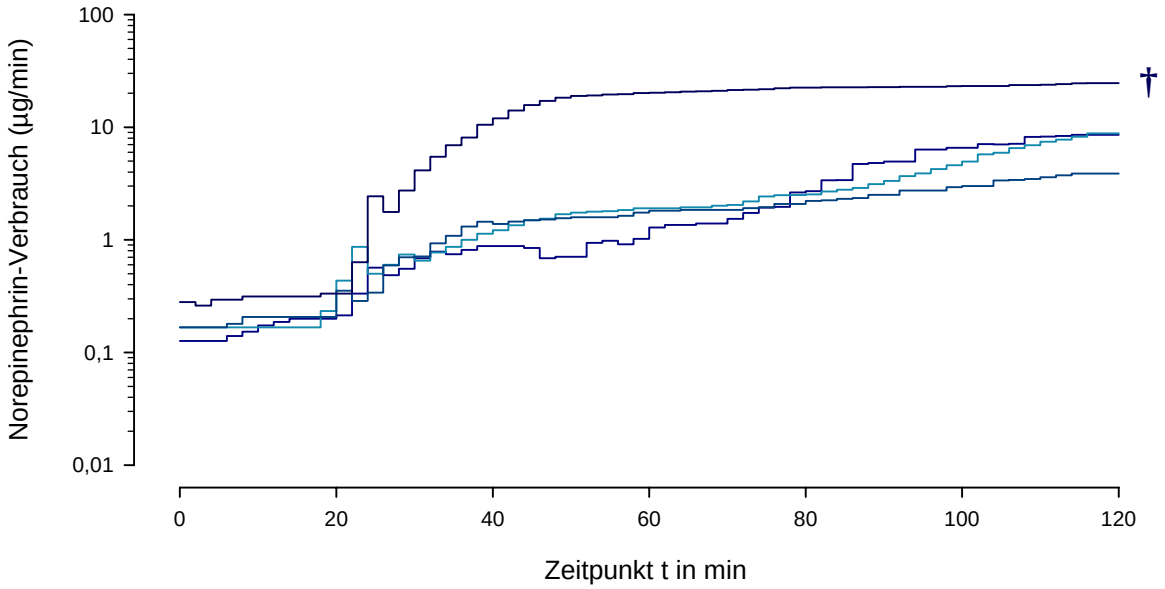


Diagramm 23: Zeitliche Verläufe des gemittelten Norepinephrinverbrauchs zur Stabilisierung des SAP für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle (—), OA-Bay 58-2667 10µg (—), OA-Bay 58-2667 30µg (—) und OA-Bay 58-2667 100µg (—)

In allen Versuchsgruppen war ein Anstieg des Norepinephrinverbrauchs nach OA-Gabe zu beobachten. Am deutlichsten war der Anstieg, wie auch der Gesamtverbrauch, in den OA-Bay 58-2667 100µg –Versuchen (siehe Diagramm 23). Mit 1,7±1,0mg lag der Verbrauch dieser Gruppe 5,7mal und statistisch signifikant höher als der der OA-Bay-Kontrolle (309,9±443,7µg). Den niedrigsten Verbrauch mit 112,1±58,7µg zeigte die Gruppe OA-Bay 58-2667 10µg (siehe Diagramm 24).

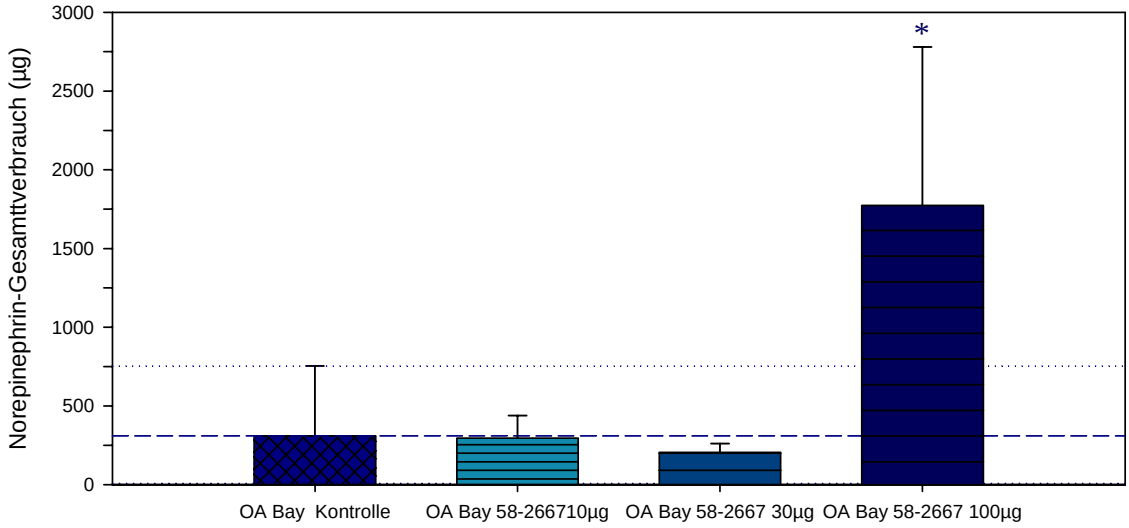


Diagramm 24: Norepinephrinverbrauch der Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 58-2667 10µg, OA-Bay 58-2667 30µg und OA-Bay 58-2667 100µg

4.2 Blutparameter

➢ Arterielle pCO_2-Werte

Die pCO_2-Werte der Bay 58-2667 -Versuchsgruppen unterschieden sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe (siehe Diagramm 25).

➢ Arterielle pO_2-Werte

Auch für die pO_2-Werte ergab der Vergleich der Gruppen Kontrolle und OA-Kontrolle mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse keine Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe und Gruppe. Dennoch lagen die Werte der Therapiegruppen zu Beginn des Versuchs deutlich unter denen der OA-Bay-Kontrolle. Der direkte Vergleich der Gruppen OA-Bay 58-2667 100µg und Bay-Kontrolle mit dem T-Test ergab signifikante Unterschiede für die Zeitpunkte t=10, 20, 60 und 90min (siehe Diagramm 25).

➢ Arterielle O_2-Sättigung

Die arterielle O_2-Sättigung fiel in allen Gruppen ab. In der OA-Bay 58-2667 Gruppe war der Abfall von 100,0±0,0% (t=20min) auf 52,9±7,1% (t=120min) jedoch deutlich verschärft. Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen in den Faktoren Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe. Der T-Test ergab signifikante Unterschiede zu den Zeitpunkten t= 60, 90 und 120min. Die anderen Therapiegruppen, unterschieden sich nicht signifikant von den Kontrollen (siehe Diagramm 25).

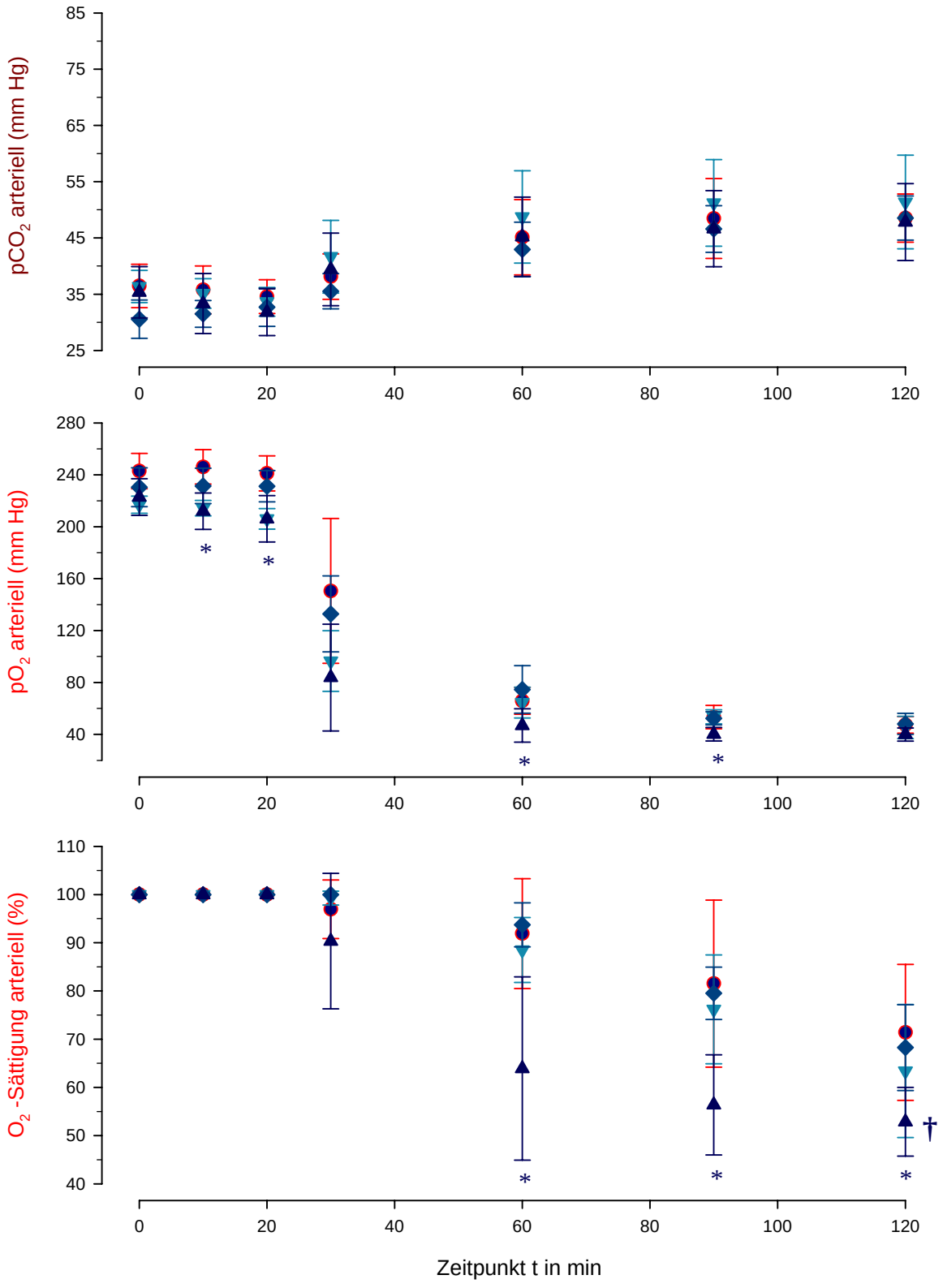


Diagramm 25: Zeitliche Verläufe der Parameter pCO_2, pO_2 und O_2-Sättigung für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle (●), OA-Bay 58-2667 10µg (▼), OA-Bay 58-2667 30µg (◆) und OA-Bay 58-2667 100µg (▲)

➢ Arterielle pH-Werte

Der pH-Wert fiel in allen Gruppen leicht ab, die zweifaktorielle Varianzanalyse und der T-Test ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen und der Kontrolle (siehe Tabelle 17).

Tabelle 17: pH-Werte für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 58-2667 10µg, OA-Bay 58-2667 30µg und OA-Bay 58-2667 100µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Bay-Kontrolle			OA-Bay 58-2667 10µg			OA-Bay 58-2667 30µg			OA-Bay 58-2667 100µg		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**7,473**	±	0,05	**7,437**	±	0,05	**7,494**	±	0,07	**7,466**	±	0,07
10	**7,502**	±	0,06	**7,455**	±	0,05	**7,503**	±	0,08	**7,498**	±	0,06
20	**7,515**	±	0,06	**7,483**	±	0,05	**7,503**	±	0,09	**7,524**	±	0,06
30	**7,470**	±	0,04	**7,437**	±	0,02	**7,472**	±	0,08	**7,468**	±	0,06
60	**7,360**	±	0,05	**7,353**	±	0,02	**7,396**	±	0,06	**7,290**	±	0,10
90	**7,263**	±	0,10	**7,291**	±	0,04	**7,322**	±	0,07	**7,259**	±	0,07
120	**7,187**	±	0,15	**7,236**	±	0,07	**7,249**	±	0,09	**7,231**	±	0,04

4.3 Pulmonale Parameter

➢ Beatmungsdruck

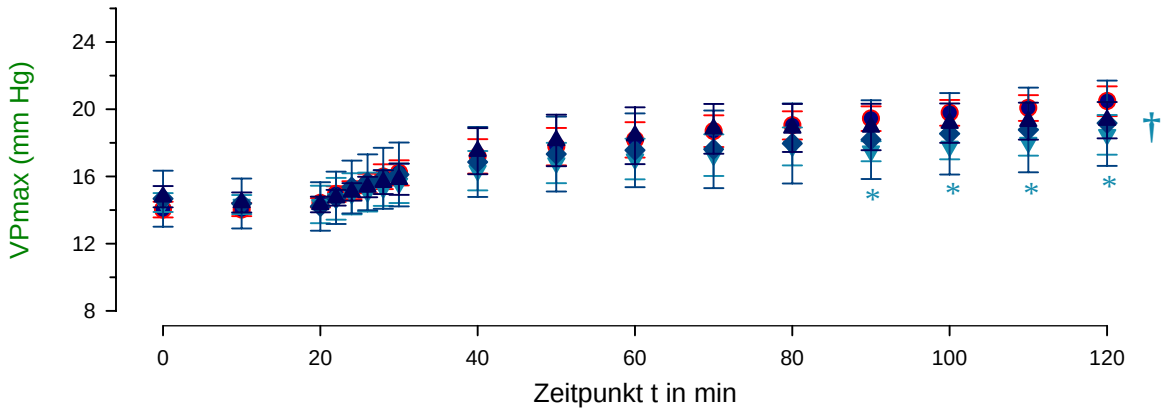


Diagramm 26: Zeitliche Verläufe des Beatmungsdrucks (VP) für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle (●), OA-Bay 58-2667 10µg (▼), OA-Bay 58-2667 30µg (◆) und OA-Bay 58-2667 100µg (▲)

Der maximale Beatmungsdruck stieg bei den Tieren aller Gruppen an. Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab lediglich für den Vergleich der Gruppen OA-Bay 58-2667 10µg und OA-Bay-Kontrolle signifikante Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe. Im T-Test traten Signifikanzen für die Zeitpunkte t=90 bis t=120min auf (siehe Diagramm 26).

➢ Wet-to-dry weight ratio

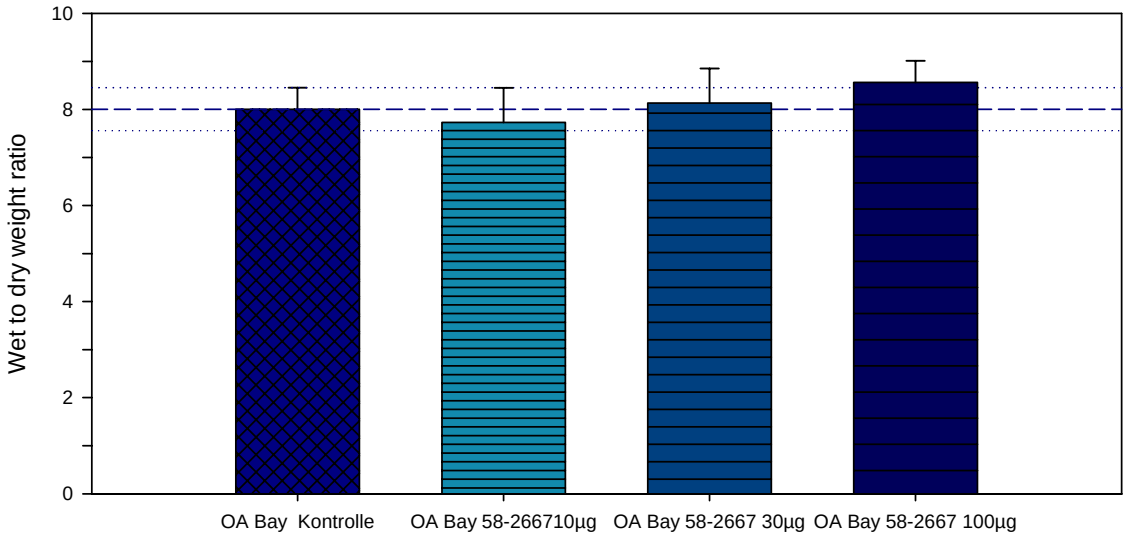


Diagramm 27: Wet-to-dry weight ratio der Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 58-2667 10µg, OA-Bay 58-2667 30µg und OA-Bay 58-2667 100µg

Die Verhältnisse von Nass- zu Trockengewicht der Lungen unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Die Gruppe mit der niedrigsten Konzentration des Therapeutikums mit 7,7±0,4 wies das geringste Nass- zu Trockengewicht Verhältnis auf (siehe Diagramm 27).

➢ Intrapulmonaler Shunt (Qs/Qt)

Der intrapulmonale Shunt lag in der OA-Bay 58-2667 100µg mit 59,78±0,01% deutlich über dem der Kontrolle. Die anderen Therapiegruppen lagen leicht (Bay 58-2667 10µg) und minimal (Bay 58-2667 30µg) über der Kontrollgruppe (siehe Diagramm 28).

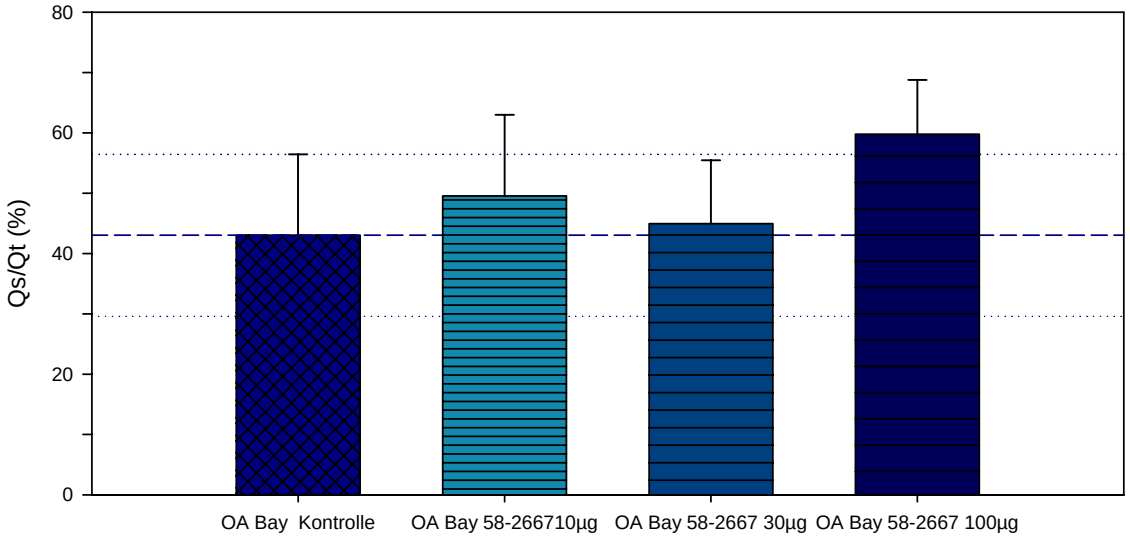


Diagramm 28: Intrapulmonaler Shunt der Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 58-2667 10µg, OA-Bay 58-2667 30µg und OA-Bay 58-2667 100µg zum Zeitpunkt t=120min

Zusammenfassung der Ergebnisse

Bei den Tieren der Versuchsreihe OA-Bay 58-2667 10µg und 30µg konnte der SAP nahezu konstant auf Ausgangsniveau gehalten werden. Bei den Versuchen mit Bay-58-2667 in der Konzentration von 100µg/kg/10min wurde jedoch nach der Therapie trotz maximaler Norepinephringaben ein drastischer Abfall des SAP beobachtet. Drei von fünf Versuchstieren verstarben in dieser Gruppe vor Versuchsende. Das HZV, wie auch der intrapulmonaler Shunt, stieg deutlich an. Zudem wurden für diese Gruppe niedrigere systemisch-vaskuläre Widerstände und deutlich niedrigere O_2-Sättigungs-Werte berechnet. Der PVR dieser Versuchsreihe lag deutlich unter denen der anderen Gruppen. Obwohl die Gruppe OA-Bay 58-2667 10µg im Vergleich mit der Kontrolle ebenfalls deutlich niedrigere PVR-Werte aufwies, unterschieden sich diese nicht signifikant voneinander. Die maximalen Beatmungsdrücke lagen jedoch minimal aber signifikant unter denen der OA-Bay-Kontrolle.

5 VERSUCHE MIT BAY 41-2272

5.1 Hämodynamik

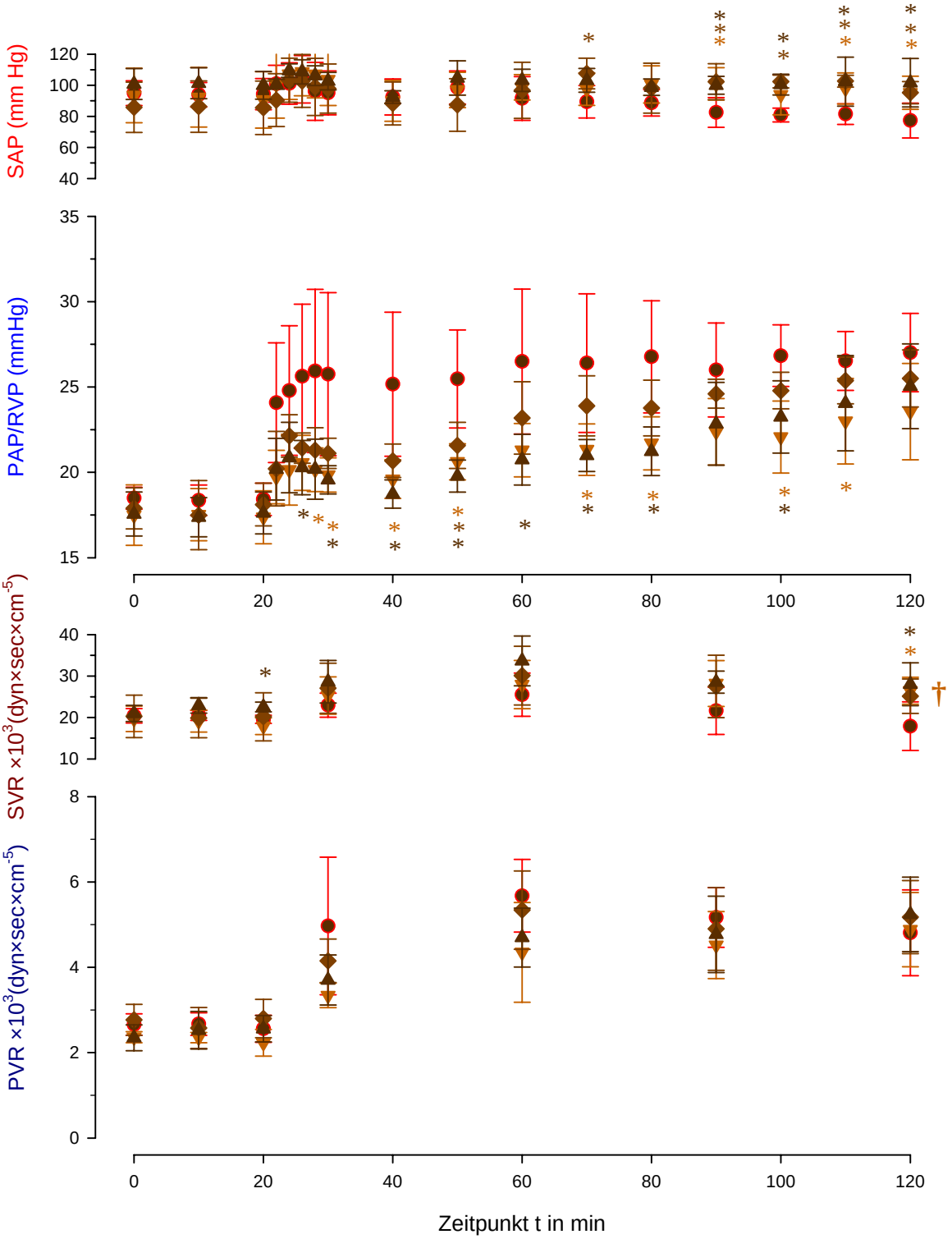


Diagramm 29: Zeitliche Verläufe der Parameter SAP, PAP/RVP, SVR und PVR für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle (●), OA-Bay 41-2272 30µg (▼), OA-Bay 41-2272 100µg (◆) und OA-Bay 41-2272 300µg (▲)

➢ Sytemisch-arterieller Druck (SAP)

Der SAP konnte bei den Tieren aller Versuchsreihen relativ konstant gehalten werden. In den Versuchsgruppen mit Bay 41-2272 lag der SAP zum Ende des Versuchs höher als in der Kontrollgruppe. Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab keine signifikanten Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe, aber im T-Test traten für die Zeitpunkte t=90, 110 und 120min Signifikanzen der Therapiegruppen gegen die Kontrolle auf. Zudem unterschieden sich im direkten Vergleich von OA-Bay 41-2272 100µg gegen die Bay-Kontrolle die Werte zu den Zeitpunkten t=70 und 100min, und von OA-Bay 41-2272 300µg gegen die Bay-Kontrolle zum Zeitpunkt t=100 signifikant (siehe Diagramm 29).

➢ Pulmonalarterieller Druck (PAP)

Der PAP der Bay 41-2272 Gruppen lag deutlich unter dem der Bay-Kontrollen. Wie auch für den SAP wurden mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen und der Kontrolle berechnet. Im direkten Vergleich mit dem T-Test gegen die Kontrolle ergaben sich jedoch folgende Signifikanzen: OA-Bay 41-2272 30µg t=28, 30, 40, 50, 70, 80, 100 und 110min; OA-Bay 41-2272 100µg t=50; OA-Bay 41-2272 300µg t=26, 30-80 und 100min (siehe Diagramm 29).

➢ Systemisch-vaskulärer Widerstand (SVR)

In den Therapiegruppen mit Bay 41-2272 lag der SVR höher als in der Kontrolle. Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab einen signifikanten Unterschied zwischen der Versuchsgruppe OA-Bay 41-2272 30µg und der Bay-Kontrolle. Der T-Test für diesen Vergleich ergab einen signifikanten Unterschied für den Zeitpunkt t=120min. Für den Vergleich von OA-Bay 41-2272 300µg gegen die Bay-Kontrolle traten signifikante Unterschiede für die Zeitpunkte t=20 und 120min auf (siehe Diagramm 29).

➢ Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)

Im Gegensatz dazu ergab die statistische Auswertung des pulmonalvaskulären Widerstands keine signifikanten Unterschiede. Dennoch lag der PVR der Therapiegruppen teilweise deutlich unter dem der Kontrolle. So lag zum Zeitpunkt t=30min der Wert für die Gruppe OA-Bay 41-2272 30µg mit $3{,}4 \pm 0{,}3 \times 10^3$ dyn×sec×cm^{-5} um 32% niedriger als der der Kontrolle ($5{,}0 \pm 1{,}6 \times 10^3$ dyn×sec×cm^{-5}).

Auch zum Zeitpunkt t=60min betrug der OA-Bay 41-2272 30µg noch etwa ein Viertel des Kontrollwerts (23,3%). Zum Ende des Versuchs näherten sich die Werte jedoch stark an (siehe Diagramm 29).

➢ Zentralvenöser Druck (CVP)

Der CVP fiel in allen Gruppen über die Dauer des Versuchs leicht ab (siehe Tabelle 18). Der stärkste Abfall von 6,20mmHg auf 4,98mmHg (19,7%) war in der Gruppe OA-Bay 41-2272 300µg zu verzeichnen, wohingegen der CVP in der OA-Bay 41-2272 30µg - Gruppe nur um 10,4% fiel. Die Werte unterschieden sich jedoch weder im T-Test, noch in der zweifaktoriellen Varianzanalyse signifikant voneinander.

Tabelle 18: Zentralvenöser Druck (CVP) in mmHg für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 41-2272 30µg, OA-Bay 41-2272 100µg und OA-Bay 41-2272 300µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Bay-Kontrolle			OA-Bay 41-2272 30µg			OA-Bay 41-2272 100µg			OA-Bay 41-2272 300µg		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**6,46**	±	0,31	**6,16**	±	0,48	**6,16**	±	0,57	**6,20**	±	0,46
10	**6,38**	±	0,35	**6,08**	±	0,56	**6,08**	±	0,69	**6,02**	±	0,44
20	**6,24**	±	0,45	**6,12**	±	0,64	**6,14**	±	0,65	**6,08**	±	0,44
30	**5,94**	±	0,70	**6,14**	±	0,68	**6,18**	±	0,83	**5,90**	±	0,74
60	**5,50**	±	0,61	**5,76**	±	0,22	**5,44**	±	0,62	**5,40**	±	0,54
90	**5,56**	±	0,39	**5,62**	±	0,20	**5,54**	±	0,52	**4,98**	±	0,60
120	**5,58**	±	0,35	**5,52**	±	0,40	**5,60**	±	0,59	**4,98**	±	0,53

Herzzeitvolumen (HZV)

Tabelle 19: Herzzeitvolumen (HZV) in ml/min für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 41-2272 30µg, OA-Bay 41-2272 100µg und OA-Bay 41-2272 300µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Bay-Kontrolle			OA-Bay 41-2272 30µg			OA-Bay 41-2272 100µg			OA-Bay 41-2272 300µg		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**349,0**	±	43,0	**354,2**	±	45,8	**325,7**	±	84,9	**363,9**	±	51,6
10	**342,4**	±	32,3	**358,9**	±	57,7	**332,2**	±	78,9	**334,1**	±	40,5
20	**359,5**	±	28,9	**377,8**	±	71,1	**324,4**	±	59,9	**332,4**	±	17,1
30	**312,9**	±	51,6	**309,7**	±	32,9	**274,7**	±	26,4	**276,5**	±	35,1
60	**272,7**	±	19,2	**273,5**	±	41,3	**244,4**	±	15,9	**236,9**	±	28,2
90	**305,2**	±	90,9	**275,4**	±	28,4	**302,6**	±	80,2	**267,5**	±	13,6
120	**348,4**	±	90,8	**271,9**	±	16,2	**290,3**	±	32,9	**277,3**	±	18,1

In den Versuchsgruppen zeigte das HZV einen leichten Abwärtstrend (siehe Tabelle 19).

Im Vegleich mit der Kontrolle traten jedoch keine Signifikanzen auf.

➢ **Katecholamingaben**

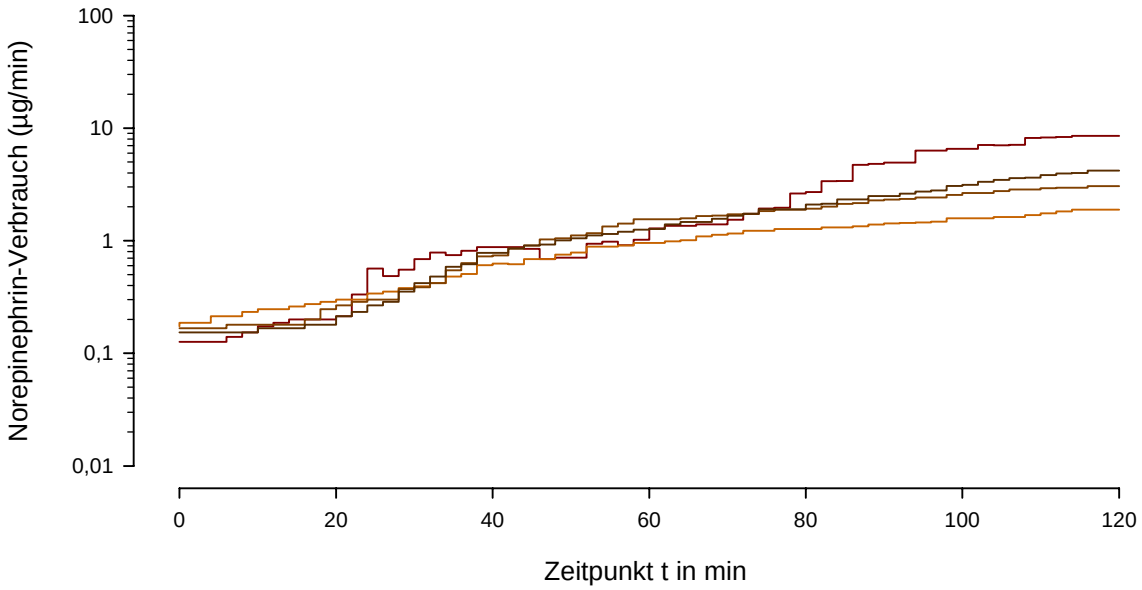


Diagramm 30: Zeitliche Verläufe des gemittelten Norepinephrinverbrauchs zur Stabilisierung des SAP für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle (—), OA-Bay 41-2272 30µg (—), OA-Bay 41-2272 100µg (—) und OA-Bay 41-2272 300µg (—)

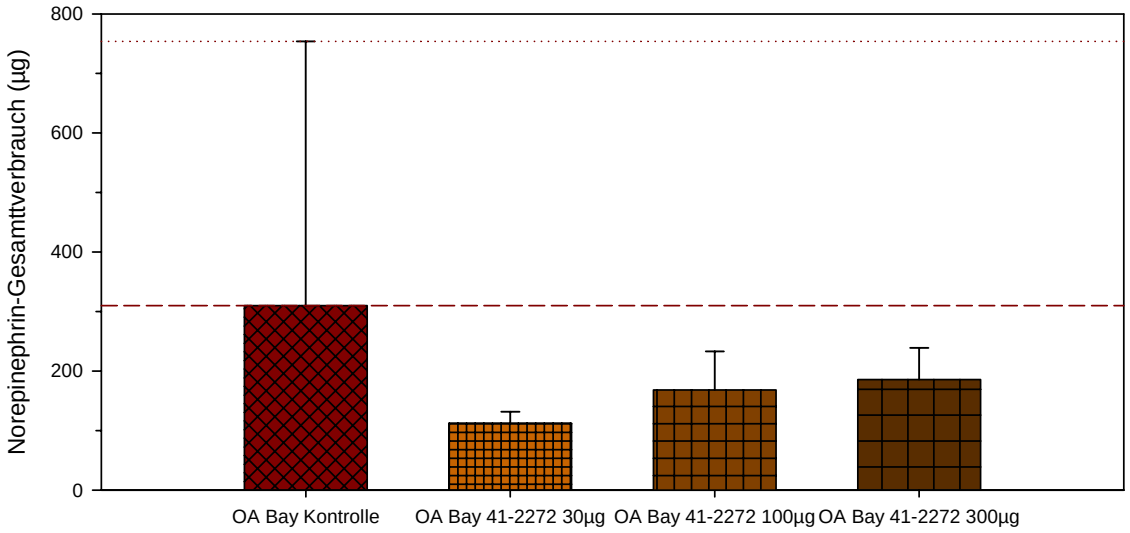


Diagramm 31: Norepinephrinverbrauch der Versuchsgruppen Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 41-2272 30µg, OA-Bay 41-2272 100µg und OA-Bay 41-2272 300µg

Sowohl der zeitliche Verlauf (siehe Diagramm 30) als auch der Gesamtverbrauch an Norepinephrin in den Bay 41-2272 100µg -Versuchen (siehe Diagramm 31) ließen einen geringeren Verbrauch vermuten. Die Werte unterschieden sich jedoch nicht signifikant von den Kontrollen. Mit einem Wert von 112,1±19,7µg lag der Verbrauch der OA-Bay 41-2272 30µg -Gruppe jedoch deutlich (63%) unter dem der OA-Bay-Kontrolle (309,9±443,7µg). Auch die anderen Bay-Gruppen benötigten zur Stabilisierung des SAP nur die Hälfte bzw. drei Fünftel der in den Bay-Kontrollen verwendeten Norepinephrinmenge.

5.2 Blutparameter

➢ Arterielle pCO_2-Werte

Der Verlauf der pCO_2-Werte der Versuchsgruppen war nahezu identisch. Die Therapiegruppen unterschieden sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe (siehe Diagramm 32).

➢ Arterielle pO_2-Werte

Auch für die pO_2-Werte ergab der Vergleich der Bay-Gruppen mit der Bay-Kontrolle keine signifikanten Unterschiede, obwohl der Wert für OA-Bay 41-2272 100µg zum Zeitpunkt t=30min mit 211,0±27,0mmHg noch 28,9% höher lag als der der Kontrolle (150,5±55,8mmHg). Zum Zeitpunkt t=60min unterschieden sich die beiden Versuchsgruppen jedoch nur noch um 1,8mmHg (siehe Diagramm 32).

➢ Arterielle O_2-Sättigung

Die arterielle O_2-Sättigung fiel in allen Gruppen ab. In der OA-Bay 41-2272 30µg -Gruppe war der Abfall von 100,0±0,0% (t=20min) auf 82,8±9,0% (t=120min) am geringsten. Sowohl die zweifaktorielle Varianzanalyse als auch der T-Test ergaben im Vergleich mit der Kontrolle jedoch keine signifikanten Unterschiede. Auch die Vergleiche mit den anderen Versuchsgruppen ergaben keine signifikanten Unterschiede (siehe Diagramm 32).

➢ Arterielle pH-Werte

Der pH-Wert fiel in allen Gruppen leicht und in der Gruppe OA-Bay 41-2272 30µg mit einer Differenz von 0,157 am geringsten ab. Im Vergleich mit der OA-Bay-Kontrolle (Differenz von 0,328), ergab die zweifaktorielle Varianzanalyse einen signifikanten Unterschied im Faktor Zeit*Gruppe. Der T-Test ergab jedoch keine Signifikanzen zwischen diesen Gruppen. Im Vergleich der anderen Therapiegruppen mit der Kontrolle traten keine Signifikanzen auf (siehe Tabelle 20).

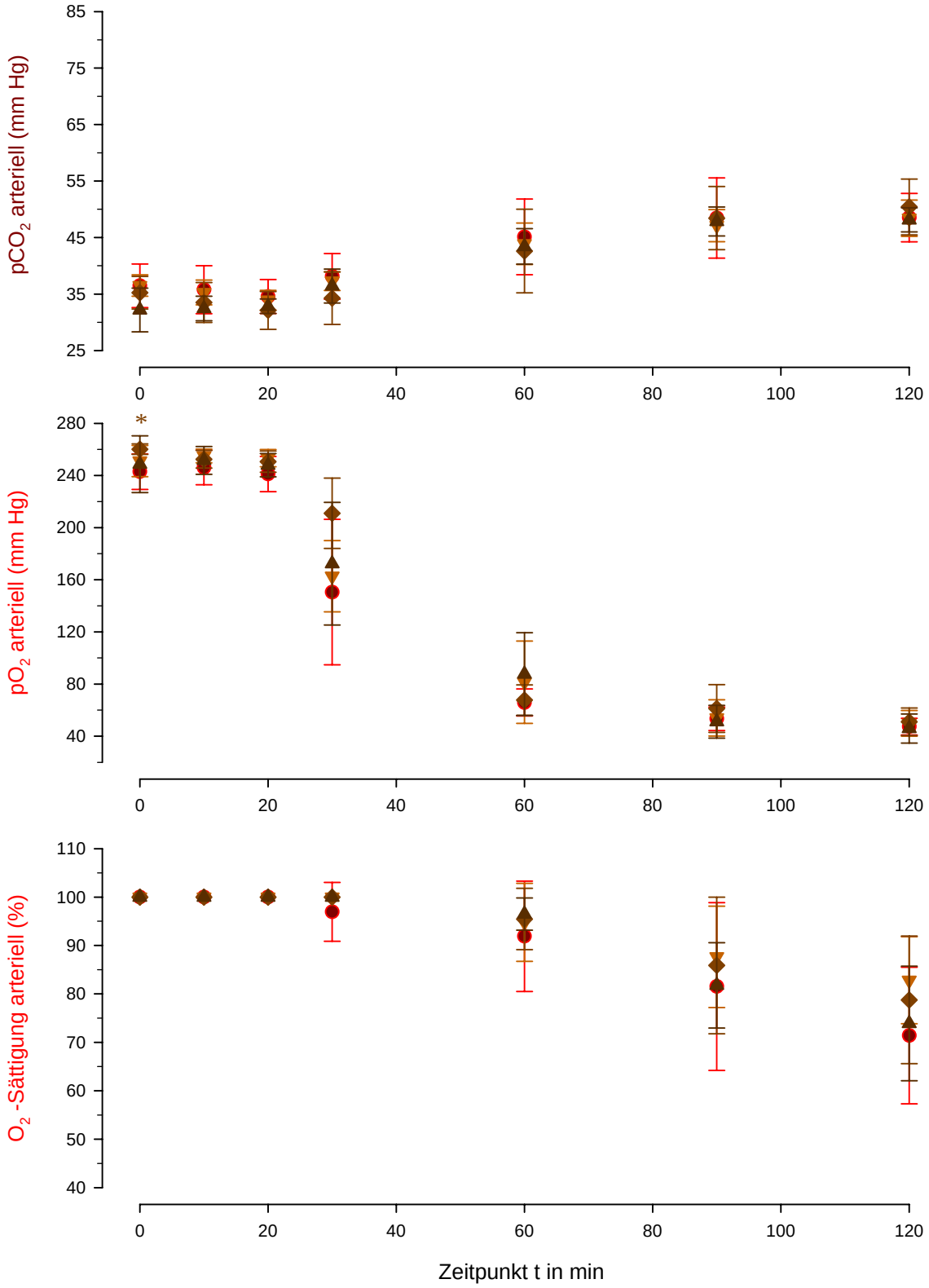


Diagramm 32: Zeitliche Verläufe der Parameter pCO_2, pO_2 und O_2-Sättigung für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle (●), OA-Bay 41-2272 30µg (▼), OA-Bay 41-2272 100µg (◆) und OA-Bay 41-2272 300µg (▲)

Tabelle 20: pH-Werte für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 41-2272 30µg, OA-Bay 41-2272 10µg und OA-Bay 41-2272 300µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Bay-Kontrolle			OA-Bay 41-2272 30µg			OA-Bay 41-2272 100µg			OA-Bay 41-2272 300µg		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**7,473**	±	0,05	**7,447**	±	0,05	**7,475**	±	0,04	**7,471**	±	0,03
10	**7,502**	±	0,06	**7,484**	±	0,05	**7,511**	±	0,05	**7,496**	±	0,04
20	**7,515**	±	0,06	**7,504**	±	0,05	**7,536**	±	0,06	**7,496**	±	0,04
30	**7,470**	±	0,04	**7,479**	±	0,05	**7,522**	±	0,07	**7,476**	±	0,03
60	**7,360**	±	0,05	**7,437**	±	0,06	**7,441**	±	0,09	**7,365**	±	0,05
90	**7,263**	±	0,10	**7,379**	±	0,04	**7,336**	±	0,08	**7,342**	±	0,02
120	**7,187**	±	0,15	**7,347**	±	0,04†	**7,275**	±	0,09	**7,291**	±	0,02

5.3 Pulmonale Parameter

➢ **Beatmungsdruck**

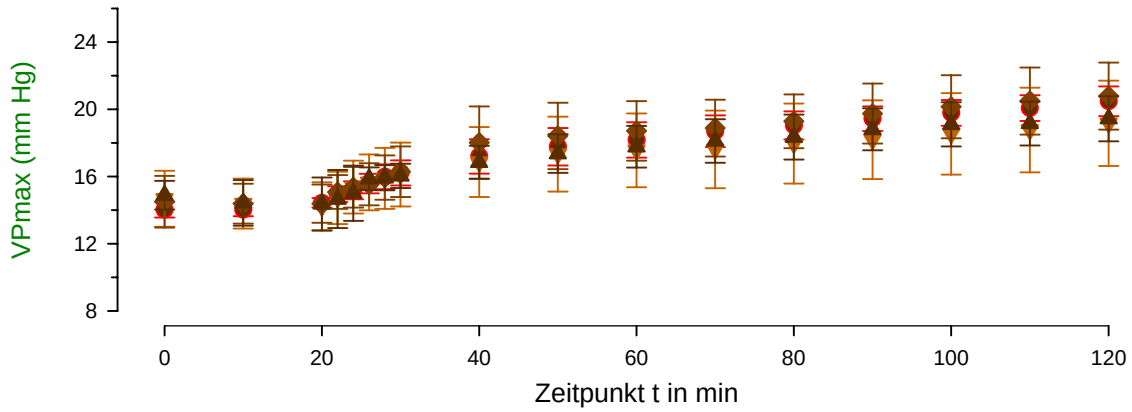


Diagramm 33: Zeitliche Verläufe des Beatmungsdrucks (VP) für die Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle (●), OA-Bay 41-2272 30µg (▼), OA-Bay 41-2272 100µg (◆) und OA-Bay 41-2272 300µg (▲)

Der maximale Beatmungsdruck stieg bei den Tieren aller Gruppen vergleichbar stark an (siehe Diagramm 33). Die Tiere der Versuchsgruppe OA-Bay 41-2272 30µg zeigten minimal niedrigere Beatmungsdrücke als die Kontrollen. Die zweifaktorielle Varianzanalyse wie auch der T-Test ergab jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den verglichenen Gruppen.

➢ Wet-to-dry weight ratio

Das Verhältnis von Nass- zu Trockengewicht der Lungen für die Gruppe OA-Bay 41-2272 300µg lag mit 7,1±0,4 signifikant (ANOVA und T-Test) niedriger (11,25%) als das der Kontrollgruppe (8,0±0,4). Obwohl die anderen beiden Therapiegruppen mit Werten von 7,3±0,4 (OA-Bay 41-2272 30µg) und 7,4±0,4 (OA-Bay 100µg) nur geringfügig höhere wet-to-dry *weight ratios* aufwiesen, unterschieden sich diese nicht mehr signifikant von der OA-Bay-Kontrolle (siehe Diagramm 34).

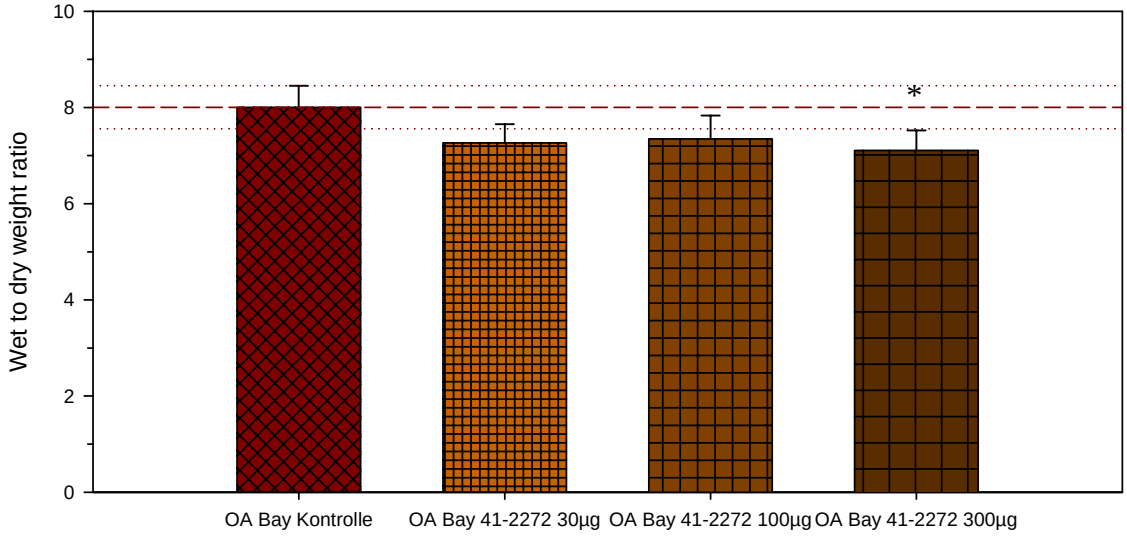


Diagramm 34: Wet-to-dry weight ratio der Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 41-2272 30µg, OA-Bay 41-2272 100µg und OA-Bay 41-2272 300µg

➢ Intrapulmonaler Shunt (Qs/Qt)

In allen Therapiegruppen lag der Qs/Qt-Wert unter dem der Kontrollgruppe. Für die Versuchsgruppe OA-Bay 41-2272 30µg wurde gegenüber der OA-Bay-Kontrolle (43,02±13,43%) ein mit 29,13±9,37% um ein Drittel niedrigerer intrapulmonaler Shunt berechnet, der sich jedoch nicht signifikant von der Kontrolle unterschied. Auch die Qs/Qt-Werte der beiden anderen Gruppen, die ebenfalls deutlich unter dem der Kontrolle lagen, unterschieden sich nicht signifikant (siehe Diagramm 35).

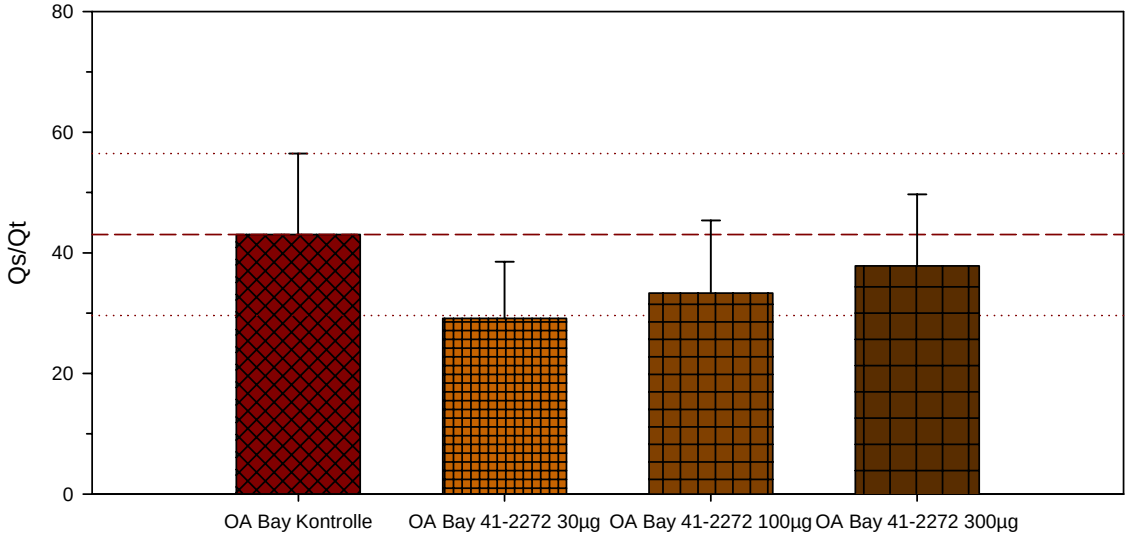


Diagramm 35: Intrapulmonaler Shunt der Versuchsgruppen OA-Bay-Kontrolle, OA-Bay 41-2272 30µg, OA-Bay 41-2272 100µg und OA-Bay 41-2272 300µg zum Zeitpunkt t=120min

Zusammenfassung der Ergebnisse

Bei allen Tieren der Versuchsgruppen mit Bay 41-2272 lag der SAP trotz geringerer Norepinephringaben auf einem höheren Niveau als bei den Kontrolltieren. Im Gegensatz dazu lagen die pulmonalarteriellen Drücke der Therapiegruppen mit 30 und 300µg bis zum Zeitpunkt t=100min deutlich unter den Kontrollen. Auch der PVR dieser Gruppen lag bis zu 30min nach Therapieende deutlich, wenn auch nicht signifikant, niedriger als der der Kontrollen. Der systemisch vaskuläre Widerstand der Bay 41-2272 30µg -Gruppe unterschied sich in der zweifaktoriellen Varianzanalyse signifikant von den Kontrollen. Das HZV, wie auch der pH-Wert der Therapiegruppen, wies einen deutlichen Abwärtstrend auf. In der Gruppe Bay 41-2272 30µg fiel der pH jedoch am schwächsten ab, was sich auch in einem signifikanten Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe widerspiegelt. Die *wet-to-dry weight ratios* der Therapiegruppen lagen deutlich und für Bay 41-2272 100µg signifikant unter denen der Kontrollen, ohne dass die Beatmungsdrücke zurückgingen. Der intrapulmonale Shunt lag für Bay 41-2272 30µg deutlich unter dem der Kontrolle.

6 KOMBINATIONSVERSUCHE

6.1 Hämodynamik

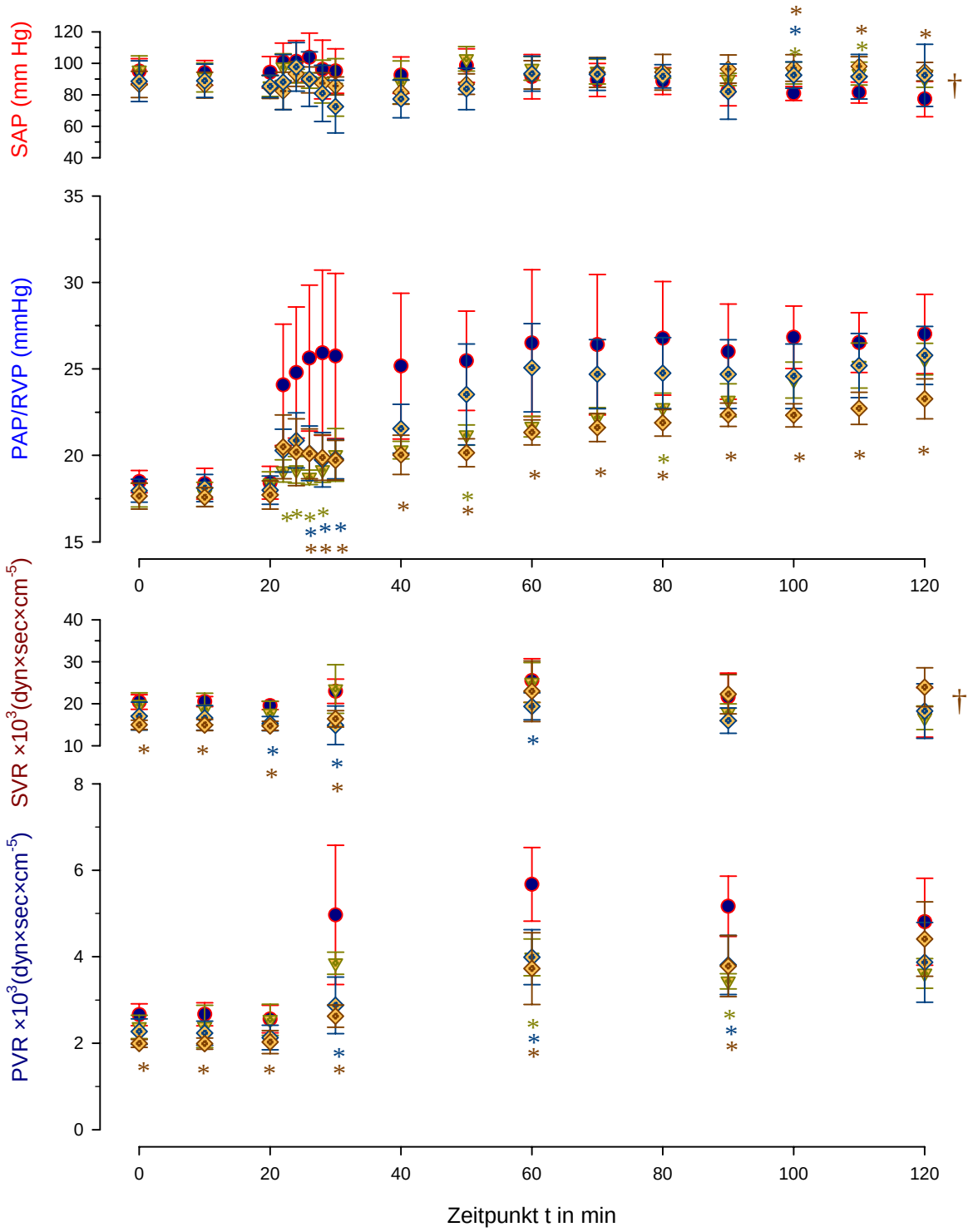


Diagramm 36: Zeitliche Verläufe der Parameter SAP, PAP/RVP, SVR und PVR für die Versuchsgruppen Sil/Bay-Kontrolle (●), OA-NO 2ppm-Sil 100 (▼), OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg (◇) und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg (◇)

➢ Systemisch-arterieller Druck (SAP)

Der SAP konnte bei den Tieren aller Versuchsreihen nahezu konstant gehalten werden. Nur in der Gruppe OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg fiel der SAP während der Bay-Infusion auf 72,5±16,7mmHg ab Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab für den Vergleich der Versuchsgruppe OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg gegen die Sil/Bay-Kontrolle Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe. Im T-Test für diesen Vergleich traten signifikante Unterschiede für die Zeitpunkte t=100, 110 und 120min auf. Der Vergleich der OA-NO 2ppm-Sil 100µg -Gruppe mit der Kontrolle ergab Signifikanzen für die Zeitpunkte t=100 und 110, und der Vergleich von OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg gegen die Kontrolle einen signifikanten Unterschied für den Zeitpunkt t=100min. Bei all diesen Zeitpunkten lagen die Therapiegruppen leicht über der Kontrolle (siehe Diagramm 36).

➢ Pulmonalarterieller Druck (PAP)

Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab im Vergleich der OA-NO-Sil/Bay-Gruppen mit der Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe. Im direkten Vergleich der Werte mit dem T-Test ergaben sich jedoch eine Reihe von signifikanten Unterschieden. So unterschieden sich im Vergleich OA-NO 2ppm-Sil 100µg gegen die Kontrolle die Werte zu den Zeitpunkten t=22, 24, 26, 28, 50 und 80min signifikant voneinander. Im Vergleich OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg gegen die Kontrolle unterschieden sich die Werte der Zeitpunkte t=26, 18, 30 und 100min. In der Gruppe NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg lagen alle Werte ab dem Zeitpunkt t=26min signifikant unter denen der Kontrolle (siehe Diagramm 36).

➢ Systemisch-vaskulärer Widerstand (SVR)

Der SVR der Versuchsgruppe OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg unterschied sich im T-Test für die Zeitpunkte t=0, 10, 20 und 30min signifikant von den Kontrollen. Im direkten Vergleich der Versuchsgruppe OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg gegen die Kontrollen, traten im T-Test Signifikanzen für die Zeitpunkte t=20 und 30min auf. Die Kombinationsgruppen mit Sildenafil und Bay 58-2667 unterschieden sich in der zweifaktoriellen Varianzanalyse im Faktor Zeit*Gruppe jedoch nicht voneinander. Für die Versuchsgruppe OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg wurde mit der zweifaktorielle Varianzanalyse signifikanten Unterschiede im Faktor Zeit und Zeit*Gruppe berechnet (siehe Diagramm 36).

➢ Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)

Die zweifaktorielle Varianzanalyse für den pulmonalvaskulären Widerstand ergab keine signifikanten Unterschiede im Vergleich aller Therapiegruppen gegen die Kontrolle. Im T-Test traten jedoch signifikante Unterschiede für die Zeitpunkte t=60 und 90min auf. Zusätzlich lag die Gruppe OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg zum Zeitpunkt t=30min und die Gruppe OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg zu den Zeitpunkten t=0, 10, 20 und 30min signifikant unter der Kontrolle (siehe Diagramm 36).

➢ Zentralvenöser Druck (CVP)

Der zentralvenöse Druck fiel in allen Gruppen über die Dauer des Versuchs ab. Am geringsten war der Abfall von 6,5mmHg auf 6,2mmHg (4,6%) in der Gruppe OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg, obwohl die gemittelten Ausgangswerte in dieser Gruppe mit 6,56±0,05mmHg nur geringfügig höher waren als in der OA-Sil/Bay-Kontrolle (6,36±0,09mmHg). Die Werte für die Zeitpunkte t=90 und 120min lagen im Vergleich mit der Kontrolle im T-Test signifikant höher. In der zweifaktoriellen Varianzanalyse konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden (siehe Tabelle 21).

Tabelle 21: Zentralvenöser Druck (CVP) in mmHg für die Versuchsgruppen OA-Sil/Bay-Kontrolle, OA-NO 2ppm-Sil 100µg, OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Sil/Bay Kontrolle			**OA-NO 2ppm Sil 100µg**			**OA-NO 2ppm Bay 58 30µg**			**OA-NO 2ppm Bay 41 100µg**		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**6,46**	±	0,31	**6,20**	±	0,62	**6,44**	±	0,35	**6,50**	±	0,23
10	**6,38**	±	0,35	**6,14**	±	0,46	**6,36**	±	0,35	**6,56**	±	0,25
20	**6,24**	±	0,45	**6,18**	±	0,39	**6,34**	±	0,31	**6,62**	±	0,31
30	**5,94**	±	0,70	**5,62**	±	0,60	**6,12**	±	0,65	**6,48**	±	0,34
60	**5,50**	±	0,61	**5,42**	±	0,45	**5,90**	±	0,36	**6,22**	±	0,31
90	**5,56**	±	0,39	**5,52**	±	0,41	**5,80**	±	0,55	**6,16**	±	0,19*
120	**5,58**	±	0,35	**5,48**	±	0,46	**4,86**	±	2,45	**6,20**	±	0,14*

➢ Herzzeitvolumen (HZV)

Das HZV war in allen Gruppen vor der Injektion der Ölsäure mit anschließender Therapie nahezu konstant. Die Ausgangswerte der Gruppe OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 und OA-NO 2ppm-Sil 100µg waren deutlich (22,6±0,2% und 15,4±3,2%) höher als die der Kontrolle.

Der leichte Abfall des HZV über die Versuchsdauer war bei der OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg -Gruppe nicht so deutlich, wie in der Kontrolle. In den Gruppen OA-NO 2ppm-Sil 100µg und OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg konnte nach einem anfänglichen Abfall des HZV sogar ein Anstieg beobachtet werden. Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab für die Vergleiche der Therapiegruppen mit der Kontrolle jedoch keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 22).

Tabelle 22: Herzzeitvolumen (HZV) in ml/min für die Versuchsgruppen OA-Sil/Bay-Kontrolle, OA-NO 2ppm-Sil 100µg, OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Sil/Bay Kontrolle			**OA-NO 2ppm Sil 100µg**			**OA-NO 2ppm Bay 58 30µg**			**OA-NO 2ppm Bay 41 100µg**		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**349,0**	±	43,0	**367,3**	±	64,7	**389,9**	±	28,2	**428,1**	±	37,2*
10	**342,4**	±	32,3	**380,6**	±	105,0	**401,5**	±	30,9*	**427,1**	±	33,7*
20	**359,5**	±	28,9	**367,9**	±	69,9	**416,8**	±	40,7	**428,6**	±	54,5
30	**312,9**	±	51,6	**270,6**	±	26,5	**370,0**	±	64,9	**389,2**	±	33,7*
60	**272,7**	±	19,2	**299,2**	±	44,7	**364,7**	±	29,1	**327,0**	±	89,5*
90	**305,2**	±	90,9	**379,0**	±	39,4*	**385,2**	±	84,2*	**336,7**	±	65,8*
120	**348,4**	±	90,8	**415,6**	±	54,6*	**407,3**	±	87,0*	**308,3**	±	68,8

➢ Katecholamingaben

Sowohl der zeitliche Verlauf (siehe Diagramm 37) als auch der Gesamtverbrauch an Norepinephrin in den OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg -Versuchen (siehe Diagramm 38) unterschieden sich nicht signifikant von den Kontrollen, obwohl diese Gruppe mit einem Wert von 72,5±13,8µg den niedrigsten Verbrauch überhaupt aufwies.

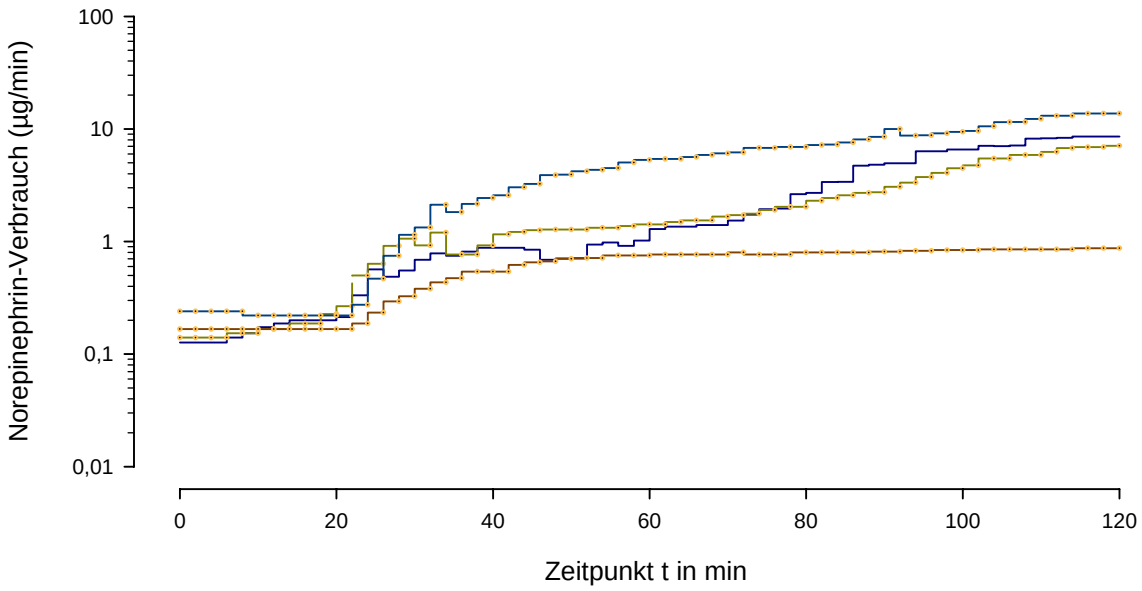


Diagramm 37: Zeitliche Verläufe des gemittelten Norepinephrinverbrauchs zur Stabilisierung des SAP für die Versuchsgruppen OA-Sil/Bay-Kontrolle (—), OA-NO 2ppm-Sil 100µg (—), OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg (—) und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg (—)

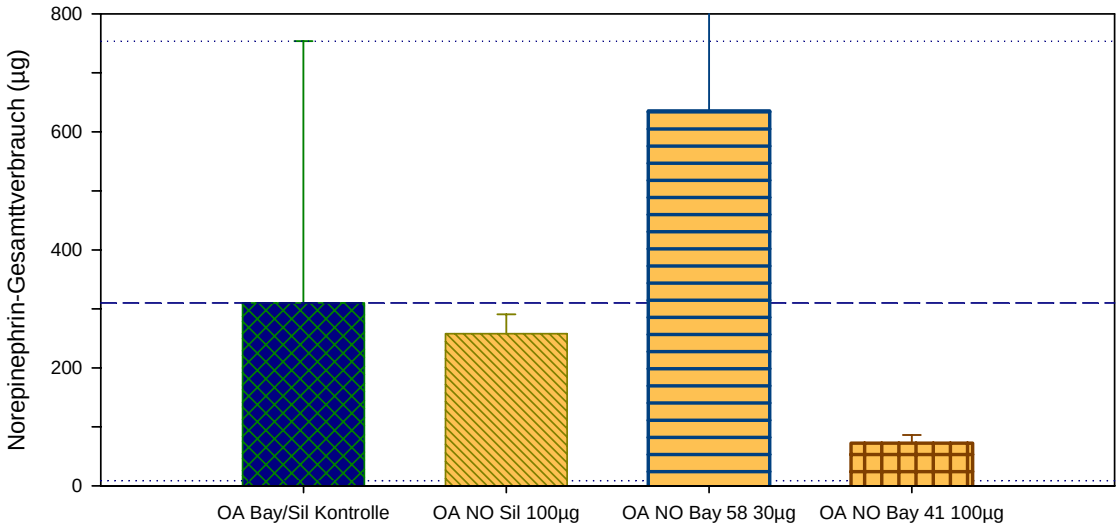


Diagramm 38: Norepinephrinverbrauch der Versuchsgruppen OA-Sil/Bay-Kontrolle, OA-NO 2ppm-Sil 100µg, OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg

6.2 Blutparameter

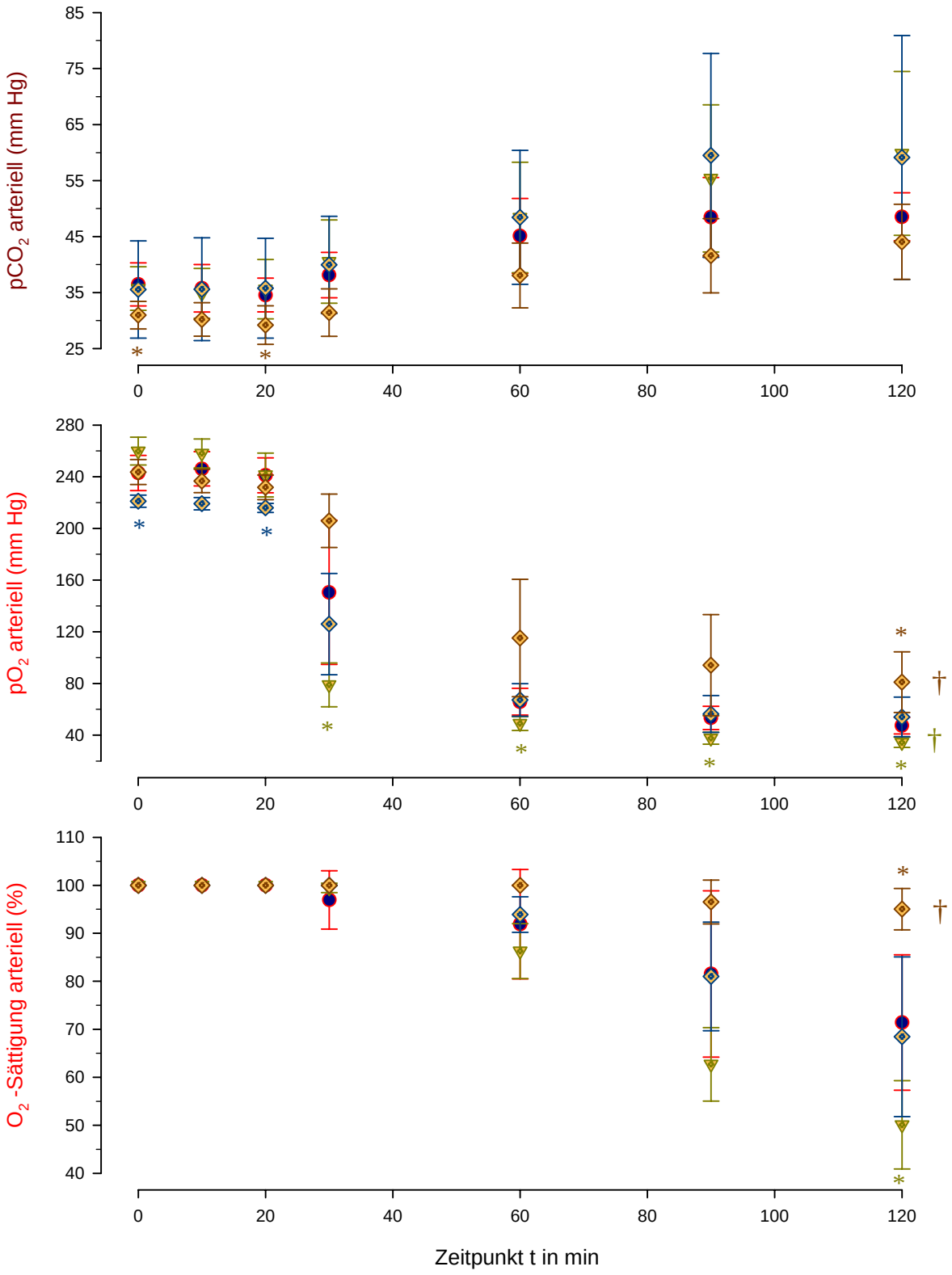


Diagramm 39: Zeitliche Verläufe der Parameter pCO_2, pO_2 und O_2-Sättigung für die Versuchsgruppen Sil/Bay-Kontrolle (●), OA-NO 2ppm-Sil 100µg (▽), OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg (◇) und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg (◇)

➢ Arterielle pCO_2-Werte

Die pCO_2-Werte der OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg -Gruppe lagen deutlich unter denen der anderen Gruppen. Die Ausgangswerte zu den Zeitpunkten t=0 und 10min unterschieden sich im T-Test signifikant von den Kontrollen. Im Verlauf der pCO_2-Werte konnte mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachgewiesen werden. Gleiches galt auch für die Vergleiche der Kontrolle mit den anderen Therapiegruppen, deren pCO_2-Werte ab dem Zeitpunkt t=60min deutlich über denen der Kontrollen lagen. So war der Wert zum Zeitpunkt t=120min für OA-NO 2ppm-Sil 100µg um 23,4% und für OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg um 21,8% höher als der der OA-Sil/Bay-Kontrolle (siehe Diagramm 39).

➢ Arterielle pO_2-Werte

Beim Vergleich der pO_2-Werte ergab die zweifaktorielle Varianzanalyse signifikante Unterschiede zwischen der Kontrolle und den Gruppen OA-NO 2ppm-Sil 100µg und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg. Dabei zeigte die Gruppe OA-NO 2ppm-Sil 100µg einen deutlich stärkeren Abfall des pO_2 wohingegen der Verlauf des pO_2 in der OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg -Gruppe nicht so stark abfiel. Im T-Test für OA-NO 2ppm-Sil 100µg unterschieden sich alle nach Therapiebeginn gemessenen Werte signifikant von denen der Kontrolle. Bei der OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg -Gruppe nur die zum Zeitpunkt t=120min (siehe Diagramm 39).

➢ Arterielle O_2-Sättigung

Ähnlich verhielt sich auch der Verlauf der arteriellen O_2-Sättigung, wobei in der zweifaktoriellen Varianzanalyse nur ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg und der Kontrolle festgestellt wurde. Beide Versuchsgruppen unterschieden sich im T-Test für den Zeitpunkt t=120min signifikant von der Kontrolle (siehe Diagramm 39).

➢ Arterielle pH-Werte

Der pH-Wert fiel in allen Gruppen leicht ab (siehe Tabelle 23). Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab für die Gruppe OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg, die den geringsten pH-Abfall aufwies, im Vergleich mit der Kontrolle einen signifikanten Unterschied im Faktor Zeit*Gruppe. Der T-Test ergab keine Signifikanzen zwischen den Gruppen, obwohl der Wert zum Zeitpunkt t=120 mit 7,375±0,06 um 0,188 deutlich höher lag als der der Kontrolle (7,187±0,15).

Tabelle 23: pH-Werte für die Versuchsgruppen OA-Sil/Bay-Kontrolle, OA-NO 2ppm-Sil 100µg, OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg zu den jeweiligen Zeitpunkten

	OA-Sil/Bay Kontrolle			**OA-NO 2ppm Sil 100µg**			**OA-NO 2ppm Bay 58 30µg**			**OA-NO 2ppm Bay 41 100µg**		
	MW		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN	**MW**		STABWN
0	**7,473**	±	0,05	**7,493**	±	0,03	**7,434**	±	0,06	**7,468**	±	0,04
10	**7,502**	±	0,06	**7,517**	±	0,03	**7,449**	±	0,05	**7,496**	±	0,04
20	**7,515**	±	0,06	**7,511**	±	0,04	**7,464**	±	0,04	**7,516**	±	0,03
30	**7,470**	±	0,04	**7,464**	±	0,07	**7,450**	±	0,03	**7,511**	±	0,05
60	**7,360**	±	0,05	**7,404**	±	0,06	**7,351**	±	0,04	**7,460**	±	0,06
90	**7,263**	±	0,10	**7,315**	±	0,07	**7,214**	±	0,08	**7,409**	±	0,06
120	**7,187**	±	0,15	**7,241**	±	0,07	**7,179**	±	0,08	**7,375**	±	0,06†

6.3 Pulmonale Parameter

➢ Beatmungsdruck

Der maximale Beatmungsdruck stieg bei den Tieren aller Gruppen an. In der Gruppe OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg war dieser Anstieg jedoch am schwächsten. Die zweifaktorielle Varianzanalyse ergab für den Vergleich dieser Gruppen mit der Kontrolle einen signifikanten Unterschied in den Faktoren Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe. Im T-Test traten Signifikanzen für die Zeitpunkte t=90 bis t=120min auf (siehe Diagramm 40).

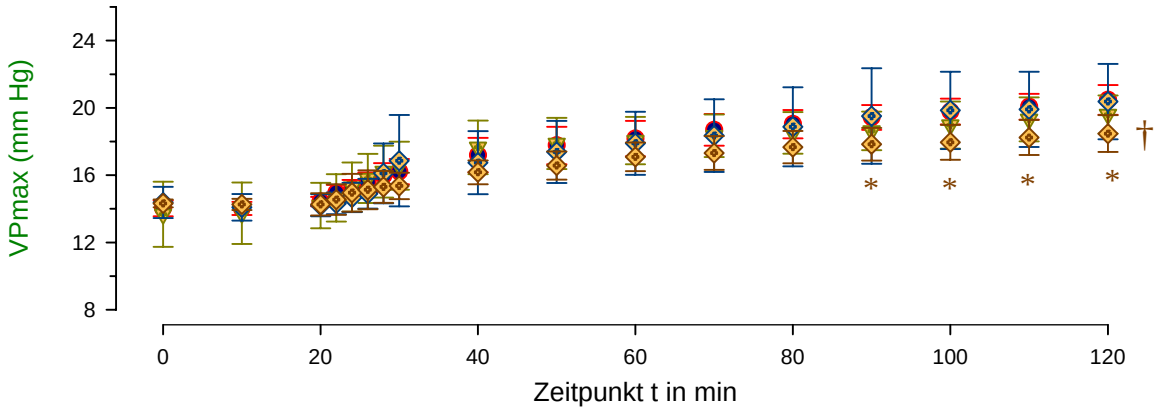


Diagramm 40: Zeitliche Verläufe des Beatmungsdrucks (VP) für die Versuchsgruppen OA-Sil/Bay-Kontrolle (●), OA-NO 2ppm-Sil 100µg (▼), OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg (◆) und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg (◆)

➢ **Wet-to-dry weight ratio**

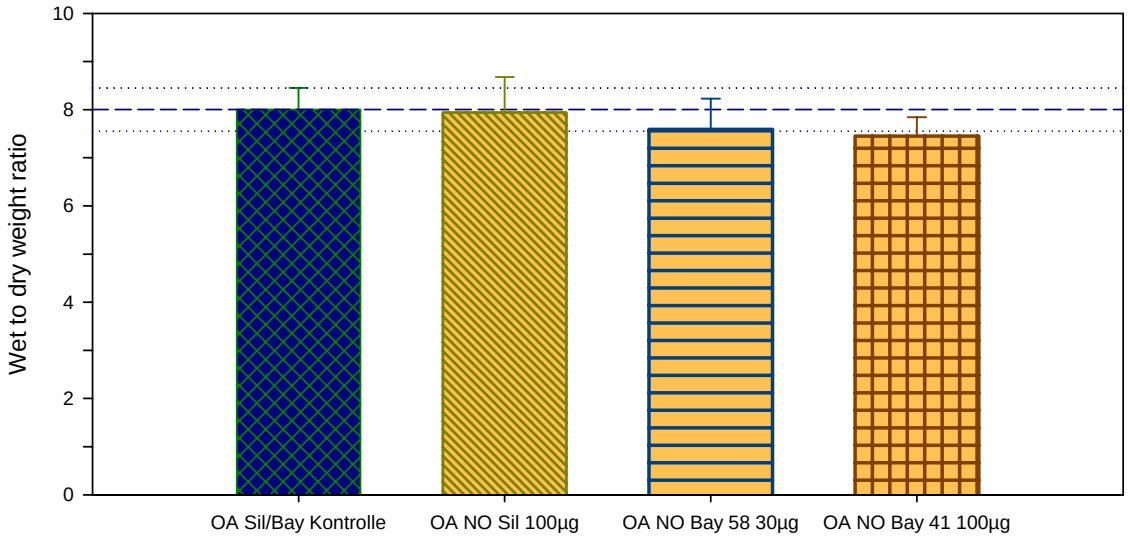


Diagramm 41: Wet-to-dry weight ratio der Versuchsgruppen OA-Sil/Bay-Kontrolle, OA-NO 2ppm-Sil 100µg, OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg

Die Verhältnisse von Nass- zu Trockengewicht der Lungen unterschieden sich nicht signifikant (ANOVA und T-Test) voneinander (siehe Diagramm 41). Mit 7,5±0,4 lag der *wet-to-dry weight ratio* der Gruppe OA-NO Bay 41-2272 jedoch deutlich unter dem der OA-Bay/Sil-Kontrolle (7,94±0,7).

➢ Intrapulmonaler Shunt (Qs/Qt)

Der intrapulmonale Shunt lag in der Gruppe OA-NO 2ppm-Sil 100µg mit 59,78±0,01% deutlich und signifikant über dem der Kontrolle (43,02±13,43%). Die Therapiegruppe mit NO 2ppm und Bay 58-2667 30µg lag nur geringfügig über der Kontrolle, wohingegen in der Versuchsgruppe OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg mit einem Wert von 16,87±5,39% ein deutlich und signifikant unter der Kontrolle liegender Wert berechnet wurde (siehe Diagramm 42).

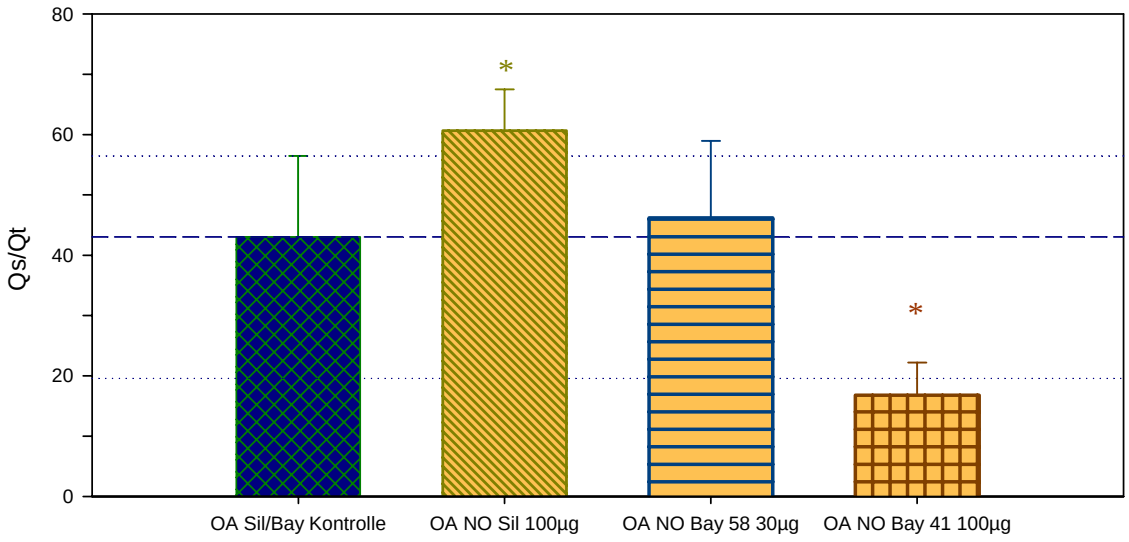


Diagramm 42: Intrapulmonaler Shunt der Versuchsgruppen OA-Sil/Bay-Kontrolle, OA-NO 2ppm-Sil 100µg, OA-NO 2ppm-Bay 58-2667 30µg und OA-NO 2ppm-Bay 41-2272 100µg zum Zeitpunkt t=120min

Zusammenfassung der Ergebnisse

Sildenafil NO

Der SAP konnte in der Kombinationsgruppe Sildenafil und NO mit relativ geringen Norepinephringaben konstant gehalten werden. Der PAP, wie auch SVR, wurde durch die Kombinationstherapie nicht beeinflusst. Der PVR lag leicht unter dem der Kontrollen, wobei das HZV anstieg. Die pCO_2-Werte stiegen deutlich an, wobei die pO_2-Werte und die O_2-Sättigung im Gegensatz dazu deutlich abfielen. Der pH-Wert und der CVP wiesen einen mit den Kontrollen vergleichbaren Abwärtstrend auf. Der intrapulmonale Shunt stieg in der Kombinationsgruppe mit Sildenafil und NO gegenüber der Kontrolle signifikant an.

Bay 58-2667 NO

In der Kombinationsgruppe mit Bay 58-2667 und NO konnte der SAP nur mit hohen Katecholamingaben stabil gehalten werden. Der PAP wurde nicht merklich gesenkt, obwohl bei nahezu konstantem HZV ein leicht verminderter PVR zu beobachten war. Die Blutgase unterschieden sich nicht deutlich von den Kontrollen. Lediglich der pCO_2 war im Vergleich zu den Kontrollen leicht erhöht. Das Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnis der Lungen dieser Gruppe war leicht vermindert, der intrapulmonale Shunt geringfügig erhöht.

Bay 41-2272 NO

Die gemeinsame Gabe von Bay 41-2272 und NO führte bei minimalen Katecholamingaben zu einer deutlichen Senkung des pulmonalarteriellen Drucks. Der SAP und SVR lag geringfügig, aber signifikant über den Kontrollen, wohingegen der PVR leicht unter den Kontrollen lag. Der CVP wie auch der pH-Wert fiel im Gegensatz zum HZV nur geringfügig ab. Die pulmonalen Parameter VP und *wet-to-dry weight ratio* lagen deutlich (Signifikanz für den VP) unter denen der unbehandelten, OA-geschädigten Tiere. Im Gegensatz dazu konnten in der Therapiegruppe signifikant höhere pO_2 - und O_2-Sättigungs -Werte festgestellt werden. Die pCO_2 Werte hingegen verliefen leicht unter den Kontrollen. Die Qs/Qt-Werte lagen signifikant unter denen der Kontrollen.

Tabelle 24: Zeitlicher Verlauf der verschiedenen Parameter der Versuchsgruppen

Gruppenname	Versuchsreihe	SAP	PAP	SVR	PVR	CVP	HZV	Norepi	p_aCO_2	p_aO_2	Sat_a	pH_a	VP	w/d	Qs/Qt
Kontrollgruppen															
Kontrolle		±	±↑	±	±	±↓	±	↑	±	±	±	±↓	±		±↑
OA-Kontrolle		±	↑↑	±	↑	±↓	±↑	↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓	↑↑		↑↑↑
OA-Sil/Bay-Kontrolle		±	↑↑↑	±	↑↑	↓	±	↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓	↑↑		↑↑↑
Behandlungsgruppen															
OA-NO	NO 2ppm	±	↑↑	±	↑	↓	±	↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓	↓↓	↑↑		↑↑
	NO 20ppm	±	↑↑	±	↑	↓	±↓	↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓	↓↓	↑↑		↑
OA-Sildenafil	100µg/kg/10min	±↓*	↑	±	↑↑	±↓	±	↑↑	↑	↓↓↓	↓	↓↓	↑↑		↑
	300µg/kg/10min	±↓*	↑↑	±	↑↑	↓	±	↑↑	↑↑↑	↓↓↓	↓↓	↓↓	↑↑		↑↑
	1000µg/kg/10min	±↓*	↑↑↑	±	↑	↓	±	↑↑	↑↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓	↑↑		↑↑↑
OA-Bay 58-2667	10µg/kg/10min	±	↑↑	±	↑↑	↓	±	↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓	↑		↑↑↑
	30µg/kg/10min	±	↑↑	±	↑↑	↓	±	↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓	↑↑		↑↑↑
	100µg/kg/10min	↓↓	↑↑↑	↓↓	↓↓	↓↓↓	↑	↑↑↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓	↑↑		↑↑↑↑
OA-Bay 41-2272	30µg/kg/10min	±↑	↑	±↑	↑	↓	↓	↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓	±↓	↑↑		↑
	100µg/kg/10min	±↑	↑↑	±↑	↑↑	↓	↓	↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓	↑↑		↑↑
	300µg/kg/10min	±↑	↑↑	±↑	↑↑	↓	↓	↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓	↑↑		↑↑
Kombinationsgruppen															
OA, Sildenafil und NO	100µg/kg/10min		↑↑	±	↑↑	↓	±	↑↑↑	↑↑↑	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓	↑↑		↑↑↑
OA, Bay 58-2667 und NO	30µg/kg/10min		↑↑	±	↑↑	↓	±	↑↑↑	↑↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓	↑↑		↑↑
OA, Bay 41-2272 und NO	100µg/kg/10min		↑	±↑	↑↑	±↓	±	↑	↑	↓↓	±↓	↓	↑↑		↑

± = kein Unterschied; ±↑/±↓ = minimaler Anstieg/Abfall; ↑/↓ = leichter Ansteig/Abfall; ↑↑/↓↓ = deutlicher Anstieg/Abfall; ↑↑↑/↓↓↓ = starker Anstieg/Abfall; ↑↑↑↑/↓↓↓↓ = massiver Anstieg/Abfall; Farbige Symbole repräsentieren Signifikante Unterschiede

Tabelle 25: Unterschiede der verschiedenen Parameter der Versuchsgruppen im Vergleich mit der jeweiligen Kontrollgruppe

Gruppenname	Versuchsreihe	SAP	PAP	SVR	PVR	CVP	HZV	Norepi	p_aCO_2	p_aO_2	Sat_a	pH_a	VP	w/d	Qs/Qt
Kontrollgruppen															
OA-Kontrolle *vs.* Kontrolle		±	↑↑	±	↑↑	±	±	↑	↑↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑
OA-Sil/Bay-Kontrolle *vs.* OA-Kontrolle		±	↑	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Behandlungsgruppen															
OA-NO *vs.* OA-Kontrolle	NO 2ppm	±	±	±	±	±	±	±↓	±↑	±	±↑	±	±	↓	↓
	NO 20ppm	±	±↑	±	±↑	±	±	±↑	±	±	±↑	±	±	±↓	↓↓
OA-Sildenafil *vs.* OA-Sil-Kontrolle	100µg/kg/10min	±↑	↓	±	±	±	±	↓	±↓	±↑	↑	±	±	±↓	↓
	300µg/kg/10min	±↑	±↓	±	±↓	±	±	±↓	±↑	±	±↑	±	±	±↑	±
	1000µg/kg/10min	±	±↓	±	↓	±	±	±	±↑	±	±↓	±	±	↑	↑
OA-Bay 58-2667 *vs.* OA-Bay-Kontrolle	10µg/kg/10min	±	±	±	↓	±	±↑	±↓	±	±	±	±	↓	±↓	↑
	30µg/kg/10min	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±↓	±↑	±↑
	100µg/kg/10min	↓↓	±	↓↓	↓↓	±↓	↑	↑↑↑↑	±	±↓	↓↓	±	±↓	↑	↑↑
OA-Bay 41-2272 *vs.* OA-Bay-Kontrolle	30µg/kg/10min	±↑	↓	±↑	±↓	±	↓	↓	±	±	±↑	↑	±↓	↓	↓↓↓
	100µg/kg/10min	±↑	±↓	±↑	±	±	↓	±↓	±	±	±	±	±	±↓	↓↓
	300µg/kg/10min	±↑	±↓	±↑	±	±	↓	±↓	±	±	±	±	±	↓↓	↓
Kombinationsgruppen															
OA, Sildenafil und NO *vs.* OA-Sil/Bay-Kontrolle	100µg/kg/10min	±	±	±	±↓	±	±	±	↑	↓	↓	±	±	±	↑↑↑
OA, Bay 58-2667 und NO *vs.* OA-Sil/Bay-Kontrolle	30µg/kg/10min	±	±↓	±	±	±	±↑	↑	↑	±	±	±	±	±↓	±↑
OA, Bay 41-2272 und NO *vs.* OA-Sil Bay-Kontrolle	100µg/kg/10min	±↑	↓↓	±↓	↓	±	±↓	↓↓↓	↓	↑↑	↑↑↑	↑↑	↓	↓	↓↓↓

± = kein Unterschied; ±↑/±↓ = minimaler Anstieg/Abfall; ↑/↓ = leichter Ansteig/Abfall; ↑↑/↓↓ = deutlicher Anstieg/Abfall; ↑↑↑/↓↓↓ = starker Anstieg/Abfall; ↑↑↑↑/↓↓↓↓ = massiver Anstieg/Abfall; Farbige Symbole repräsentieren Signifikante Unterschiede

IV DISKUSSION

ALLGEMEINE ASPEKTE

Das Ölsäuremodell der akuten Lungenschädigung

In der hier durchgeführten Studie wurde zur Simulation der Frühphase des *Acute Respiratory Distress Syndrom* (ARDS) die Lunge durch die intravenöse Injektion von Ölsäure geschädigt. Obwohl es sich bei diesem Modell, mit Ausnahme eines FES-assoziierten ARDS, um keinen ätiologischen Ansatz zur Simulation des akuten Lungenversagens handelt, und die Ölsäure-induzierte Lungenschädigung nicht vollständig das klinische ARDS repräsentiert, weisen beide Konditionen eine große Anzahl pathologischer und physiologischer Ähnlichkeiten auf [(361)].

So findet man sowohl beim OA-induzierten Lungenversagen als auch in der exsudativen Phase des ARDS ein nicht kardial-bedingtes Lungenödem, intravaskuläre Kongestion und Koagulation, endotheliale und epitheliale Zellnekrosen sowie alveoläre Blutungen. Obwohl die Veränderungen wie beim ARDS diffus auftreten, sind sie im OA-induzierten Lungenversagen nicht homogen verteilt. Als ein weiterer Index steigt das EVLW sowohl im OA-Modell als auch bei ARDS-Patienten um das Zwei- bis Dreifache an. Milder bis moderater pulmonaler Hochdruck wird sowohl im OA-Modell als auch bei ARDS-Patienten gefunden. Ob es sich bei den Mechanismen, die für die pulmonale Hypertonie verantwortlich sind, um die gleichen handelt, ist fraglich, da Studien zu dieser pathologischen Veränderung noch nicht vorliegen. Durch die Ölsäure kommt es jedoch zu einer direkten Lungenschädigung ohne die Beteiligung von inflammatorischen Zellen oder deren Produkte, wohingegen das ARDS häufig mit Sepsis und damit verbundenen Entzündungsvorgängen assoziiert ist [(282)]. Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass durch die Injektion von OA kein gleichmäßiges Schädigungsmuster erzielt werden kann. Die histopathologischen Veränderungen durch das Ölsäuremodell sind in den dorsalen, Schwerkraft-abhängigen Lungenbezirken ausgeprägter als in den ventralen Arealen [(109)]. Zudem induziert eine Ölsäure-Infusion zwar eine profunde Hypoxämie, aber sie verursacht gleichzeitig eine deutliche kardiovaskuläre Instabilität mit pulmonaler Hypertonie des Versuchstieres [(318)]. Dennoch wird das OA-Modell der akuten Lungenschädigung in der ARDS-Forschung häufig verwendet. Neben der Evaluierung verschiedener Beatmungsstrategien wird das OA-Modell auch zur Beurteilung von hämodynamischen Effekten und der Wirkung von Vasodilatantien auf die Hämodynamik und den Gasaustausch eingesetzt. Es muss jedoch betont werden, dass es sich bei der Schädigung durch die Injektion von OA nur um ein Modell han-

delt, das weder Hinweise auf die Ätiologie des ARDS, noch über die sich an die Frühphase anschließenden pathophysiologischen Veränderungen der geschädigten Lunge gibt. Das Verfahren gewährt des Weiteren nur den Einblick in ein kurzes Zeitfenster von dynamisch ablaufenden Prozessen [109].

Studien zum Einsatz von Vasodilatantien

Der Effekt von Vasodilatantien auf eine OA-induzierte Lungenschädigung wurde bereits in mehreren Studien untersucht. Obwohl der direkte Vergleich der Studien untereinander aufgrund unterschiedlicher Versuchsprotokolle und der Verwendung unterschiedlicher Substanzen nicht möglich ist, kommt Schuster [361] zu dem Schluss, dass die Gabe von Vasodilatantien im OA-Modell der akuten Lungenschädigung zu einer Steigerung des HZV führt und keinen oder nur einen leicht erniedrigenden Einfluss auf den pulmonalkapillären Verschlussdruck, den PAP und den PVR hat. Zudem stellt Schuster fest, dass Vasodilatantien in den OA-Modellen zu keiner Verbesserung der Oxygenierung führen. Als Begründung für die beobachteten Phänomene wird der Effekt von Vasodilatantien sowohl pulmonal, als auch systemisch vasorelaxierend zu wirken angegeben. Neuere Studien zeigen jedoch, dass durch die Gabe von selektiv pulmonal vasodilatierenden Substanzen wie NO oder durch eine Vernebelung von Vasodilatantien positive Effekte erzielt werden können.

1 METHODISCHE LIMITATIONEN

1.1 Allgemein

Da die Kaninchen bereits für Pyrogentests der Behring-Werke Marburg verwendet wurden und über die Dauer und Art der Vorbehandlung der Tiere, insbesondere über die gestesteten Substanzen und Testergebnisse, nichts bekannt war, konnte eine Beeinflussung der eigenen Versuchsergebnisse, z.B. durch septische Tiere, nicht ausgeschlossen werden. Der gute Allgemeinzustand und die Ergebnisse der Leerversuche bzw. die physiologischen Ausgangswerte lassen jedoch den Schluss zu, dass die Tiere gesund waren.

Mit einer Gruppengröße von n=5 wurde eine Versuchsgruppengröße gewählt, die sich auf das unerlässliche Maß beschränkte und eine biometrische Interpretation der Ergebnisse noch zuließ. Dennoch ist die Aussagekraft der statistischen Auswertung zur Abschätzung der Wahrscheinlichkeiten leicht eingeschränkt. Aufgrund der Richtlinien zu Tierversuchen und ethischer Handlungsprinzipien wurde jedoch auf größere Versuchsgruppen verzichtet.

Die Lagerung der Versuchstiere in Rückenlage führte möglicherweise zu einer Aggravierung der Ölsäure-induzierten Lungenschädigung [430,436].

Die Verwendung einer Ketamin-Xylazin-Narkose stellt eine Standardmethode dar, die häufig bei Klein- und Labortieren eingesetzt wird. Dabei wirkt Ketamin als Analgetikum und Anästhetikum mit hypnotischen Eigenschaften. Sein Effekt, die Muskelspannung zu erhöhen, wird durch die muskelrelaxierende Wirkung des Sedativums, Anästhetikums und Analgetikums Xylazin aufgehoben. Zudem kann durch die gemeinsame Verwendung die Dosis Ketamin um ein Drittel reduziert werden. Jedoch kann es durch alpha-agonistische Wirkung des Xylazins zu einer Beeinträchtigung des Gefäßtonus kommen (Hypotension). Zudem kommt es aufgrund einer abnehmenden sympathischen Aktivierung, Steigerung des vagalen Tonus und verminderter Norepinephrin-Freisetzung der sympathischen Nervenendigungen zu einer Bradykardie.

Die Verwendung von Katecholaminen diente, neben der Volumensubstitution mit IIN-Elektrolytlösung, zur Stabilisierung der systemischen Zirkulation. Es kann, insbesondere da Norepinephrin vorwiegend an alpha-Rezeptoren wirkt, nicht ausgeschlossen werden, dass es durch die Gabe der Katecholamine neben einer systemischen Vasokonstriktion auch zu einer Konstriktion in den pulmonalen Gefäßen kam. Die Anwendung von Katecholaminen wird in mehreren Studien zur Stabilisierung des Blutdrucks angegeben. So wurde in einer Studie von Rylander et al. [328] einer Hypotension mit Epinephrindosen von 0,21-1,15µg/kg entgegengewirkt. Auch Neumann und Hedenstierna [271] setzten Katecholamine zur Kreislaufstabilisierung ein.

Die Infusion mit IIN-Elektrolytlösung diente der Kompensation der Volumenverluste durch die Blutentnahmen und der aufgrund der Perfusionsstörung auftretenden Plasmaverluste in die Lunge. Zudem erhöht die in der IIN-Lösung enthaltene Hydroxyethyl-Stärke (100/0,5; 50g/l) den kolloidosmotischen Druck, wodurch eine vermehrte Ödembildung verhindert und zusätzlich ein positiver Effekt auf die Membranintegrität erreicht werden kann [184,196], was sich positiv auf die OA-induzierte Lungenschädigung auswirkt. So konnte auch gezeigt werden, dass sich HES bei der Therapie von ARDS-Patienten positiv auswirkt [5,299,362].

1.1.1 OA-Dosierung

Mit einer Dosis von 0,1ml/kg OA wurde eine relativ hohe Dosis gewählt, die jedoch in einer Vielzahl von Studien verwendet wird. Wie Vorversuche mit niedrigeren Dosen und verschiedenen Applikationsarten zeigten, wurden mit der zentralvenösen Injektion von 0,1ml/kg, die deutlichsten pulmonalen Veränderungen erzielt. Insbesondere der unmittelbare Anstieg des PAP war der Beweggrund, diese Applikationsweise zu wählen. Obwohl die Applikationsdauer mit ca. 1min im Vergleich mit anderen Studien relativ kurz ist, konnte damit eine stabile Schädigung erzielt werden.
Wie Beilman et al. [30] an Ratten zeigen konnten, werden durch die Injektion von 0,071ml/kg *in vivo* Konzentrationen erreicht, die eine Größenordnung über den toxischen *in vitro* -Konzentrationen liegen. Zudem entspricht eine Dosis von 0,1ml/kg näherungsweise der Menge an Fett in den Lungen von Patienten mit schwerwiegendem FES. Mit 0,1ml/kg beträgt die Dosis ein Drittel der LD_{50} bei Kaninchen [178]. Durch die schnelle Injektion wurde gewährleistet, dass es zu einer progradienten Entwicklung der akuten Lungenschädigung kommt. Als Nachteil muss jedoch gewertet werden, dass es zu einer nicht homogenen Verteilung der Lungenschädigung kommt, die sich in fokalen fleckigen nekrotischen und hämorrhagischen Läsionen zeigt [179].

1.1.2 Beatmung

Die Beatmung erfolgte volumenkontrolliert, was die Gefahr einer zusätzlichen Lungenschädigung durch ein Volu- bzw. Barotrauma in sich birgt. Mit einer Frequenz von 28 Zügen pro Minute und einem konstanten Atemzugvolumen von 32ml wurde mit einem FiO_2 von 0,5 eine ausreichende Oxygenierung bei physiologischen pCO_2-Werten erzielt. Rechnet man das Atemzugvolumen auf das Körpergewicht der Versuchstiere um, so ergibt sich bei einem mittleren Gewicht von 3,1kg ein AZV von 10,32ml/kg. Dies entspricht, wie auch die Atemfrequenz von 28 Zügen pro Minute, den Beatmungsregimen anderer OA-Studien mit Kaninchen. So beatmeten Furue et al. [107] die Kaninchen mit einer Frequenz von 30 Atemzügen pro min und einem Atemzugvolumen von 10ml/kg.

1.1.3 PEEP

Die Anwendung eines positiv-endexpiratorischen Drucks diente zur Kompensation der durch die Intubation der Versuchstiere aufgehobenen Glottisfunktion. Zudem wird durch den PEEP ein positiver Effekt auf die zyklische Kollabierung und Wiedereröffnung der Alveolen erzielt und selbige endexpiratorisch offen gehalten. Zudem kann der regionale

pulmonale Blutfluss und eine extravaskuläre Flüssigkeitseinlagerung durch einen positiv-endexpiratorischen Druck positiv beeinflusst werden [192,233]. Da es durch einen hohen PEEP, assoziiert mit hohen endinspiratorischen Drücken, ebenfalls zu einem VALI (Überdehnung belüfteter Lungenbereiche) kommen kann [216], wurde mit 5cm H_2O ein relativ niedriger PEEP gewählt. Dadurch wurde zudem verhindert, dass es durch eine Kompression von Lungengefäßen zu einem reduzierten pulmonalen Blutfluss und zu einer systemischen Depression kommen konnte [208].

1.2 Versuchsparameter

1.2.1 Versuchsablauf

Eine mögliche Limitation der angewendeten Methode könnte darin liegen, dass direkt nach Injektion der Ölsäure mit der entsprechenden Therapie begonnen wurde, ein stabiler Zustand der akuten Lungenschädigung jedoch erst nach einer Stunde erreicht wurde. Von daher können die Ergebnisse nicht unmittelbar auf die klinische Situation projiziert werden, da die Therapie dort meist erst in einem manifesten, mit deutlichen Symptomen assoziierten Krankheitsstadium angewendet wird. Zudem erfolgen in einer Reihe von Studien die therapeutischen Interventionen erst nach einer gewissen Zeitspanne, in der es zu einer Stabilisierung der Lungenschädigung kommt [328], was die Vergeichbarkeit der Studien untereinander einschränkt. Da die pulmonale Ödembildung bzw. Einlagerung von extravaskulärer Flüssigkeit in der Regel innerhalb von 90min erfolgt [364] und sich die hämodynamischen Störungen normalerweise innerhalb von 60-90min stabilisieren [132,140], sollte durch den frühen Einsatz der Vasodilatoren in der vorliegenden Arbeit eine OA-induzierte Lungenschädigung schon während der Entstehung unterbunden werden.

1.2.2 Messparameter

Die Berechnung der Parameter HZV, PVR und SVR stellt eine nicht zu unterschätzende Einschränkung für die Interpretation der Ergebnisse dar. Es muss bedacht werden, dass das HZV nicht wie in anderen Studien durch Thermodilution oder elektromagnetisch gemessen wurde, sondern aus der im Material- und Methodenteil dieser Arbeit angegebenen Formel nach dem Fick´schen Prinzip aus der arteriovenösen Sauerstoffdifferenz und dem mittleren Hb-Wert berechnet wurde. Da beim Fick´schen Prinzip eine gleich bleibende O_2-Aufnahme eine Grundvoraussetzung ist, kann in diesem Versuchsmodell das HZV nur als Näherungswert gewertet werden. Denn obwohl der FiO_2 konstant gehalten wurde, kann eine durch die Ölsäure-Injektion induzierte Lungenschädigung zu einer verminderten Sau-

erstoffaufnahme führen. Auch die beobachtete Azidose resultiert mit Sicherheit in veränderten Sauerstoffbindungseigenschaften des Blutes. Zudem gilt dieses Prinzip nur bei Ausschluss eines Shunts [280], was in unserem Fall ebenfalls nicht gewährleistet war. Andererseits korrelieren in zwei Studien nach dem Fick´schen Prinzip berechnete HZVs mit denen, die mit Hilfe der Gas-Reinhalation und Thermodilution gemessen wurden [108,314].

Da das HZV auch in die Berechnung der Parameter PVR und SVR einfloss, können diese Parameter ebenfalls nur bedingt in die Interpretation der Ergebnisse einbezogen werden. Für den Parameter PVR kommt zudem hinzu, dass der PAWP nicht gemessen werden konnte, sondern als Konstante in die Gleichung einging. Daher muss der PVR als PVRI betrachtet werden, der zwar eine Aussage über die pulmonalen Druck- und Flussverhältnisse zulässt, aber nicht die eigentlichen pulmonalvaskulären Druckverhältnisse widerspiegelt, insbesondere da der pulmonalkapilläre Verschlussdruck im Rahmen einer OA-induzierten Lungenschädigung variieren kann [77,237].

1.2.3 Bestimmung der cGMP-Konzentrationen

In einer Vielzahl von Studien zum Einsatz von Pharmaka, die den NO-cGMP-Signaltransduktionsweg beeinflussen, wird als weiterer Parameter die cGMP-Konzentration im Plasma oder Urin angegeben. Da es sich bei cGMP jedoch um einen intrazellulären *second-messenger* handelt, der auch über spezifische Transportsysteme wie den MRP-Transporter unverändert aus der Zelle eliminiert wird, repräsentieren die cGMP-Plasma- oder Urinspiegel nicht unbedingt die intrazellulären Verhältnisse. So kann z.B. eine Hemmung der cGMP-Transporter, wie für den MRP-Transporter durch Sildenafil in hohen Konzentrationen nachgewiesen [175,331], bei hohen intrazellulären cGMP-Konzentrationen zu niedrigen Plasmaspiegeln führen. Da nicht ausgeschlossen werden kann, dass, insbesondere bei der systemischen Applikation von PDE5-Inhibitoren oder sGC-Aktivatoren, hohe Plasmaspiegel aus einer vermehrten cGMP-Produktion in anderen Geweben (z.B. dem *Corpus cavernosum*) resultieren, kann durch die Messung der cGMP-Plasma- und/oder Urinspiegel des Weiteren keine Aussage über die Situation in der Lunge getroffen werden. Zudem kann, obwohl eine Reihe von Studien eine Beziehung zwischen cGMP-Plasmaspiegeln und einer pulmonalen Vasodilatation aufzeigen, nicht gefolgert werden, dass hohe cGMP-Konzentrationen auch zu einer pulmonalen Vasodilatation führen. Daher wurde auf die Bestimmung dieses Parameters verzichtet.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

1 DISKUSSION DER KONTROLLGRUPPEN

1.1 Leerversuche

In den Kontrollversuchen, in denen den Tieren zum Zeitpunkt t=20min anstatt der 0,1ml/kg OA die gleiche Menge Kochsalzlösung über die Schleuse zentralvenös injiziert wurde, traten keine signifikanten Veränderungen über die Versuchsdauer auf. Zwar fiel der CVP, arterielle pO_2 und pH leicht ab, wohingegen der PAP leicht anstieg, dennoch unterschieden sich die Daten am Versuchsende nicht signifikant von den Ausgangswerten und lagen über den gesamten Beobachtungszeitraum im physiologischen Bereich. Dies lässt den Schluss zu, dass trotz der erforderlichen Katecholamingaben zur systemischen Kreislaufstabilisierung das Versuchsdesign zur Beurteilung der OA-induzierten Lungenschädigung und der Wirkung von Vasodilatantien nach OA-Gabe geeignet war.

1.2 Ölsäure Kontrollen

➢ Hämodynamik

o Systemisch-arterieller Druck (SAP)

Der SAP konnte sowohl in der Kontroll- als auch OA-Kontrollgruppe durch Gabe von Norepinephrin auf konstantem Niveau gehalten werden. Die für die Aufrechterhaltung erforderlichen Katecholamingaben lagen für die OA-Kontrollgruppe deutlich, wenn auch nicht signifikant höher als die der Kontrollen. Als möglicher Grund hierfür kommt neben der Azidose [(336)] eine durch OA vermittelte Beeinträchtigung der kardialen Funktion in Frage [(362)]. So berichten mehrere Studien von einer OA-induzierten Verminderung des HZV und der Herzfrequenz (besprochen in Schuster [(361)]). Dennoch beobachten Bleyl et al. [(40)], obwohl sie keine Katecholamine zur Stabilisierung einsetzten, bei Schafen, die 0,1ml/kg OA i.v. injiziert bekamen, keine signifikanten Veränderung des mittleren systemischen Blutdrucks. Auch eine Vielzahl andere Studien, in denen keine Katechecholamine eingesetzt wurden, konstatieren keine Veränderungen des SAP. Im Gegensatz dazu berichten Zhou et al. [(445)] von erhöhten Mortalitätsraten bei OA-geschädigten Kaninchen. Sie konstatieren, dass die Tiere vorwiegend an kardialer Depression, die mit massiver Hypoxämie und Azidose assoziiert war, verstarben. Sha et al. [(372)] berichten ebenfalls, dass fünf Schweine innerhalb von einer Stunde nach OA-Gabe (0,11ml/kg i.v. über 15min) verstarben. Wie auch

in der vorliegenden Studie setzten Rylander et al. [328] sowie Neumann und Hedenstierna [271] Katecholamine zur Kreislaufstabilisierung ein, um eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch eine hämodynamische Instabilität vorzubeugen.

- **Pulmonalarterieller Druck (PAP)**

Der signifikante Anstieg des PAP/RVP in den OA-Kontrollen steht grundsätzlich im Einklang mit den erhöhten pulmonalarteriellen Drücken nach OA-Gabe in einer Vielzahl anderer Studien. So konnten Pagnamenta et al. [282] in einer Studie an Hunden, 90min nach OA-Gabe (0,07ml/kg, i.c. über 5min) einen signifikanten Anstieg des PAP von 16±1 auf 20±1mmHg feststellen. Ebenfalls bei Hunden stieg der systolische PAP nach intraatrialer Injektion von 0,09mg/kg OA (verteilt auf drei Aliquots) innerhalb von 90min bei den Tieren in Rückenlage von 14,7±1,5 auf 21,3±3,7mmHg an. Julien et al. [179] konnten über einen Zeitraum von 2-4 Stunden nach OA-Gabe in Konzentrationen von 0,02-0,12ml/kg (i.c. innerhalb von einer Stunde) einen dosisabhängigen Anstieg des PAP bei Schafen beobachten. Dabei stieg bei einem Tier mit der höchsten OA-Dosierung innerhalb des Beobachtungszeitraums der PAP von 11,8±3,7 auf 19,9mmHg an. In einem chronischen Modell von Schoene et al. [354] mit Hunden stieg der PAP nach Injektion der Ölsäure (0,09mg/kg) am ersten Tag von 16,9±2,5 auf 22,3±4,4mmHg an. Bei Schweinen, denen 0,1ml/kg OA langsam über den Zentralvenenkatheter injiziert wurde, stieg der PAP innerhalb von 60 resp. 120min von 23±5 auf 37±5 resp. 35±7mmHg an [328]. Neumann und Hedenstierna [271] beobachteten bei Schweinen, denen über einen Zeitraum von 20min 0,1ml/kg OA zentralvenös verabreicht wurde, innerhalb von 120min einen Anstieg des PAP von 18±3 auf 39±6mmHg. Gust et al. [137] verzeichneten bei Hunden 90min nach OA-Infusion (0,08ml/kg c.v.) einen Anstieg des PAP um 46±32%. Die Infusion von 20mg OA/kg pro Stunde (≙ 0,023ml OA) führte in einer Studie von Kruse-Elliot und Olson [201] innerhalb von zwei Stunden zu einem massiven Anstieg des PAP von 16,7±0,7 auf 37,6±1,2mmHg. An der isolierten und mit Blut perfundierten Kaninchenlunge konnten Goff et al. [127] nach der Gabe von 0,12ml einer 50%igen OA/Ethanol-Lösung innerhalb von 60min einen signifikanten Anstieg des PAP um 47,6±20,6mmHg feststellen. Durch die Injektion von 1,0±0,3ml/kg OA pro kg, welche in heparinisiertem Blut gelöst wurde, konnte an Schweinen ein Anstieg des PAP von 22±2 auf 44±4mmHg erzielt werden [127].

Der Mechanismus der OA-induzierten pulmonalen Hypertonie ist bis heute ungeklärt. Es werden drei unterschiedliche Mechanismen, die zu einem Anstieg des pulmonalarteriellen Drucks führen diskutiert. Neben der Vasokontraktion wird die Kompression und Verlegung, also Obiteration von Gefäßen diskutiert, was für den therapeutischen Ansatz einer OA-induzierten Lungenschädigung von Bedeutung ist [207].

- ***Vasokonstriktion***

▪ **Thromboxan**

Thromboxan ist eine stark vasokonstriktorische Substanz, die als Folge einer vermehrten Arachidonsäure-Verstoffwechselung gebildet wird. Es konnte gezeigt werden, dass TXB_2-Konzentrationen nach OA-Gabe ansteigen [166,185,277,363,389]. Als weiterer Anhaltspunkt für eine Beteiligung von TXA an der OA-induzierten pulmonalen Hypertonie muss der positive Effekt einer TXA-Rezeptorblockade auf die OA-induzierte Lungenschädigung gewertet werden. So konnten Goff et al. [127] durch Blockade von TXA-Rezeptoren in isolierten und mit Blut perfundierten Kaninchenlungen eine Reduktion der OA-induzierten pulmonalen Hypertonie und Hypoxämie erreichen. Ishitsuka et al. [166] konnten durch eine Vorbehandlung mit dem TXA-Synthasehemmer Ozagrel positive Effekte auf die OA-induzierte Gasaustauschstörung und Perfusionsstörung erreichen. Kruse-Elliot et al. [201] kommen zu dem Schluss, dass Leukotriene in der Pathogenese der OA-induzierten Lungenschädigung nicht involviert sind. Sie konstatieren jedoch, das Zyklooxygenaseprodukte, deren Bildung durch die Gabe von Indomethazin unterdrückt werden kann, durchaus eine Rolle spielen. So konnten sie zeigen, dass die Gabe des nicht-steroidalen Antiphlogistikums zu einer Abschwächung der frühen OA-induzierten pulmonalen Hypertonie führte. Auch Selig et al. [370] beschreiben, dass die Gabe von Ibuprofen zu einer verminderten Freisetzung vasokonstriktiver Prostanoide und zu abgeschwächten Druckanstiegen führt. Im Gegensatz dazu konnten Gust et al. [137] keinen Anstieg der Konzentrationen des stabilen TXA_2-Metaboliten TXB_2 im Plasma von OA-geschädigten Hunden nachweisen. Auch Julien et al. [179] schließen aus, das die OA-induzierte pulmonale Hypertonie durch Zyklooxygenase-Metaboliten der Arachidonsäure ausgelöst wird.

▪ **Endothelin**

Neben Thromboxan sind möglicherweise auch Endotheline [128] an einer OA-induzierten pulmonalen Vasokonstriktion beteiligt. So konnten erhöhte ET-Lavage- und Plasmaspiegel nach OA-Gabe nachgewiesen werden [221,380]. Park et al. [287] führten eine erhöhte ET-1

Expression auf eine OA-vermittelte Hemmung der PKC zurück. Des Weiteren führt eine Endothelin-Rezeptorblockade durch Tezosentan zu einer deutlichen Senkung einer OA-induzierten pulmonalen Hypertonie [422]. Auch eine Vorbehandlung mit Bosentan führte in einer Studie von Hubloue et al. [156] zu einer pulmonalen Vasodilatation, die aufgrund der systemischen Applikation jedoch nicht selektiv, und damit auch nicht mit einer Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung verbunden war. Auch Guimaraes et al. [133,134] stellen nach Versuchen mit dem ET_A und ET_B -Rezeptor-Antagonist Bosentan fest, dass endogene Endotheline eine Schlüsselrolle in der OA-induzierten Lungenschädigung einnehmen. Interessanterweise konnten die Autoren bereits in einer früheren Studie nachweisen, dass die Blockade von ET_B-Rezeptoren auch zu einer Reduktion einer OA-induzierten pulmonalen, mikrovaskulären Plasma-Extravasion führt [133].

- **Hypoxische Vasokonstriktion**

Als weiterer Mechanismus einer Vasokonstriktion im OA-Modell der akuten Lungenschädigung kommt die hypoxische Vasokonstriktion in Frage. So konnte durch computertomografische Untersuchungen von Gust et al. [137] gezeigt werden, dass es im Rahmen einer OA-vermittelten Lungenschädigung zu einer hypoxischen pulmonalen Vasokonstriktion kommt. Kafi et al. [181] berichten bei Hunden, die nach OA-Gabe zwar einen erhöhten PVR, aber keinen vermehrten PAP aufwiesen, von einer reduzierten Ölsäure-vermittelten HPV. Die Autoren folgern, dass OA zu einer Störung sowohl der Endothel-abhängigen als auch -unabhängigen Gefäßtonusregulierung führt. Ishitsuka et al. [166] machen eine HPV für die schnelle Regeneration (innerhalb von 75min) einer OA-induzierten Lungenschädigung nach i.v Injektion von 15µg/kg OA bei Hamstern mit verantwortlich.

- **Hemmung der sGC durch O_2^-**

Möglicherweise führt auch eine direkte Hemmung der sGC durch Superoxid-Anionen (O_2^-) zu verringerten cGMP-Konzentrationen und damit zu einer Vasokonstriktion. So konnten Mulsch et al. [266] eine Hemmung der sGC durch O_2^- nachweisen. Auch Cherry et al. [61] machen O_2^- für die Hemmung der cGMP-vermittelten Relaxation von bovinen Pulmonalarterien verantwortlich. Zwar wird der Stellenwert von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) kontrovers diskutiert [244,361], dennoch konnten einige Studien eine Beteiligung von ROS, insbesondere Superoxid-Anionen, an der OA-induzierten Lungenschädigung nachweisen [167,219,228,262,435]. Zudem konnte gezeigt werden, dass *cis*-ungesättigte Fettsäuren durch Aktivierung von neutrophilen Granulozyten *per se* zu hohen Leveln an Superoxid-Anionen führen [17].

- **Direkte Effekte**

Des Weiteren bewirkt die i.v.-Injektion von Ölsäure möglicherweise durch eine direkte Aktivierung der Proteinkinase C (PKC) [(187)] eine Hemmung der Myosin-Leicht-Ketten-Phosphatase. Dieses Enzym führt durch die Spaltung des Myosinphosphats in Myosin zu einer Muskelrelaxation. Zudem deutet eine kürzlich veröffentlichte Studie von Köcksel et al. [(197)] auf eine Beteiligung der Rho-Kinase (ROCK-1 und ROCK-2) an der OA-induzierten Lungenschädigung hin. Dieses Enzym spielt eine wichtige Rolle in der Ca^{2+}-unabhängigen Regulation der Kontraktion glatter Muskelzellen. So moduliert der Rho-Rho Kinase-Signalweg durch Hemmung der MLCP den Phosphorylierungszustand der MLC des Mysoin II und trägt zu einer Agonisten-induzierten Ca^{2+}-Sensibilisierung bei (besprochen in Fukata et al. [(104)]). Auch die direkte Hemmung der endothelialen NO-Synthase wird als Ursache einer OA-induzierten Hypertonie diskutiert [(72)].

- ***Kompression***

Es ist fraglich, ob eine Ödementwicklung, so wie sie im OA-Modell der akuten Lungenschädigung zu beobachten ist, einen Anstieg des pulmonalvaskulären Widerstands zur Folge hat. So diskutieren Velasquez und Schuster [(412)], dass der Anstieg des PAP/PVR noch vor einer Flüssigkeitseinlagerung in die Lunge anstieg. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass es durch massive Flüssigkeitseinlagerungen in die Lunge zu einer mechanischen Kompression der Widerstandsgefäße kommt [(361)]. Da der Anstieg des PAP zu einer Erhöhung der mikrovaskulären Filtrationsfläche sowie des kapillären hydrostatischen Drucks und der transvaskulären Flüssigkeitsfiltration führen kann [(201)], besteht die Gefahr eines *circulus vitiosus*, der in einer weiteren Erhöhung des PAP resultiert und in einem Rechtsherzversagen münden kann.
Auch eine Kompression von Lungengefäßen durch eine Überblähung der Lunge im Zusammenhang mit hohen positiv-endexpiratorischen und maximalen Beatmungsdrücken wird diskutiert.

- ***Obliteration***

Wie Derks und Jacobovitz-Derks [(79)] in einer umfassenden, systematisch morphologischen Studie zeigen konnten, kommt es bei Hunden innerhalb von einer Stunde nach OA-Injektion zu einer thrombotischen Obstruktion von Lungenkapillaren durch Fibrin, Thrombozyten und Zelldebris. Ragaller und Mitarbeiter [(309)] konnten zeigen, dass die OA-induzierte pulmonale Hypertonie durch eine pulmonale Mikroembolisation verursacht

wird. Zu ähnlichen Schlussfolgerungen kommen auch Bleyl et al. [42]. Im Gegensatz dazu kann nach Julien et al. [179] die OA-induzierte pulmonalarterielle Hypertonie nicht durch eine vaskuläre Obstruktion erklärt werden.

Des Weiteren kann es nach Gabe von freien Fettsäuren im Rahmen einer Mikroembolisation zu einer Verlegung von Gefäßen durch die hydrophilen Partikel kommen. Neben dieser Mirkoembolisation wird auch die Verlegung der pulmonalen Gefäße durch endotheliale Schwellung diskutiert. Da durch Mannitol eine Reduktion des berechneten PVR erreicht werden konnte, folgern Powers et al. [300], dass der Effekt des Diuretikums durch eine verminderte Schwellung vermittelt wurde.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die OA-induzierte pulmonale Hypertonie nicht durch einen einzigen Mechanismus bedingt wird, sondern dass mehrere, nicht klar abgrenzbare, unterschiedlich gewichtete Ursachen zur PH beitragen. Dies ist insofern von entscheidender Relevanz für die Evaluierung von Therapeutika, da oftmals nur ein bestimmter Pathomechanismus beeinflusst wird und durch ein Fortbestehen der anderen eine Verschattung des Effekts erfolgt. Es ist jedoch davon auszugehen, dass es sich bei der Vasokonstriktion um den Hauptmechanismus der OA-induzierten pulmonalen Hypertonie handelt und die anderen Mechanismen auf die Erhöhung des PAP aufgesetzt sind, aber diese wiederum beeinflussen [361].

o Systemisch-vaskulärer Widerstand (SVR)

Der SVR der OA-Kontrollgruppe wies in seinem zeitlichen Verlauf keine signifikanten Unterschiede zu der Kontrollgruppe auf. Dieser Effekt ist auf den stabilen SAP und CVP, sowie ein unverändertes HZV zurückzuführen. Auch in Kafi et al. [181] wurde bei Hunden 90min nach OA-Gabe keine signifikante Veränderung des SVR beobachtet. Neumann und Hedenstierna [271] konnten durch OA ebenfalls keine Veränderung des SVR feststellen.

o Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)

Auch der Anstieg des PVR über die Versuchsdauer im Vergleich zu den Kontrollen ist ein vielfach beschriebener Effekt einer OA-induzierten Lungenschädigung.
In einer Studie von Beyl et al. [40] stieg der PVR in der Schädigungsgruppe im Vergleich zu scheinbehandelten Tieren über eine Versuchsdauer von 60min deutlich von 175±85 auf 506±277 $dyn \times sec \times cm^{-5} \times m^2$ an. Vergleichbare Ergebnisse werden auch in anderen Veröffentlichungen dieser Arbeitsgruppe angegeben [41,42,309]. Kafi et al. [181] fanden innerhalb von 90min nach OA-Gabe einen signifikanten Anstieg des PVR von 118±11 auf 251±47 $\times 10^3$ $dyn \times sec \times cm^{-5} \times m^2$. Auch Julien et al. [179] fanden bei einem Schaf nach 120 min einen Anstieg des PVR von 241±56 auf 502 $dyn \times sec \times cm^{-5}$. Neumann und Hedenstierna [271] konnten durch OA-Injektion einen Anstieg des PVR von 185±52 auf 469±154 $dyn \times sec \times cm^{-5}$ induzieren.

Es muss jedoch bedacht werden, dass die Parameter HZV und PAWP, die in die Berechnung des PVR eingeflossen sind, in der vorliegenden Studie nicht gemessen, sondern ebenfalls berechnet wurden bzw. als Konstante eingingen. Von daher muss der Anstieg des PVR bei gleich bleibendem HZV und konstantem PAWP als direkte Folge eines PAP-Anstiegs betrachtet werden. Da in mehreren Studien gezeigt wurde, dass der PAWP nach OA-Gabe nicht konstant bleibt [77,237], liegt eine zusätzliche Fehlerquelle, neben dem berechneten HZV, in dem konstanten PAWP (siehe oben).

o Zentralvenöser Druck (CVP)

Der CVP unterschied sich in der OA-Kontrollgruppe nicht signifikant von den Kontrollen, was darauf schließen lässt, dass in beiden Gruppen vergleichbare Volumen-Verhältnisse vorlagen und es zu keiner De-Kompensation des rechten Herzens gekommen ist. Dies kann dadurch erklärt werden, dass es trotz der extravaskulären Flüssigkeitseinlagerung in die Lunge nach OA-Gabe durch die ausreichende Volumensubstitution zu keinem Volumen-

verlust gekommen ist. Ein nach OA-Gabe ebenfalls konstanter CVP wurde auch in anderen Studien gefunden [77]. Im Gegensatz dazu stieg in Neumann und Hedenstierna [271] der CVP zwei Stunden nach Induktion der Lungenschädigung von 3,7± 2,2 auf 5,9±1,5mmHg an.

o Herzzeitvolumen (HZV)

Obwohl in einer Reihe von Studien von einer kardialen Depression, die sich in Form einer Senkung des HZV nach OA-Gabe auswirkt, berichtet wird (besprochen in Schuster [361], [216,372,396]), konnte in der vorliegenden Studie nach OA-Gabe im Vergleich zur Kontrolle keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Auch Bleyl et al. [40,41,42,309] konnten in Ihren Studien keine Beeinträchtigung des HZV nach OA-Gabe nachweisen. In Martynowicz et al. fiel das HZV von 3,5±0,2 auf 2,2±0,6 l/min nicht signifikant ab, obwohl sich die Herzfrequenz nach OA-Gabe signifikant von den prä OA-Werten unterschied [237]. Im Gegensatz dazu fanden Rylander et al. [328] eine Steigerung des HZV nach OA-Gabe. Grund für diesen mit der Thermodilution Methode gemessenen Anstieg war möglicherweise der signifikante Anstieg der Herzfrequenz.

o Katecholamingaben

Wie schon in der Diskussion des SAP angesprochen, wurde für die Aufrechterhaltung eines stabilen SAP in den OA-Kontrollversuchen im Vergleich mit den Kontrollen deutlich, wenn auch nicht signifikant mehr Arterenol® benötigt. Der Grund könnte in einer OA-induzierten kardialen Funktionsbeeinträchtigung liegen.

➢ Blutparameter

o Arterielle pCO_2-Werte

Der in der OA-Kontrollgruppe gegenüber der Kontrolle signifikante Anstieg des pCO_2 ist ein weiteres Charakteristikum des OA-Modells der akuten Lungenschädigung. So stieg der pCO_2 in einer Studie von Bleyl von 43±3 auf über 60mmHg [40]. In Julien et al. [179] wird ein dosisabhängiger Anstieg von 34±6 auf bis zu 52mmHg gezeigt. Auch Rylander et al. [328] konnten bei Schweinen innerhalb von 60min einen Anstieg des pCO_2 von 39,7±6,0 auf 52,5±7,5mmHg feststellen. Der pCO_2 stieg auch in einer Studie von Dembinski et al. [77] deutlich an. Neumann und Hedenstierna [271] fanden zwei Stunden nach OA-Gabe einen mit 31,6±5,1mmHg gegenüber dem Ausgangswert (26,5±1,5mmHg) signifikant erhöhten pCO_2. Bei Hunden, die mit einem FiO_2 von 0,4 beatmet wurden, stieg der pCO_2 von 39±1 auf 45±4mmHg an [206].

Der Anstieg des pCO_2 kann durch die Kombination höherer Ventilations-Perfusions-Verhältnisse, eines intrapulmonalen Rechts-Links-Shunts, und einer höheren CO_2-Produktion verbunden mit einem gesteigerten O_2-Verbrauch erklärt werden [271].

- **Arterielle pO_2-Werte**

In der OA-Kontrollgruppe fällt im Vergleich mit der Kontrollgruppe der arterielle pO_2-Wert signifikant ab; ein Effekt der Ölsäure, der ebenfalls häufig beschrieben wird. So wurde bei Schafen durch die Gabe von 0,1ml/kg OA ein pO_2 Abfall von 540±63 auf 106±19mmHg erzielt. Über eine Versuchsdauer von 60min fiel dieser weiter auf Werte um 50mmHg ab [40]. Bei Hunden konnten Martynowicz et al. einen Abfall von 526±76 auf 122±90mmHg feststellen. Julien et al. [179] fanden bei einem Schaf innerhalb von 120min nach OA-Gabe einen Abfall des pO_2 von 106±15 auf 38mmHg. Bei Schweinen konnten Rylander et al. [328] einen Abfall des pO_2 von 247,5± 82,0 auf 105,0±48,0mmHg beobachten. In Goff et al. [127] lag bei den OA-behandelten Tieren der 60min-pO_2 mit 37,4±12,6mmHg signifikant unter dem der Kochsalzkontrollen (113,2±25,7mmHg). In einer Studie von Dembinski et al. [77] fiel der pO_2 durch die Gabe OA von 547±29 auf 63±15mmHg. Auch in Leeman et al. [206] fiel der pO_2 von 202±6 auf 77±9mmHg signifikant ab.

Mit pO_2-Werten um 60mmHg handelt es sich bei den hier besprochenen Versuchen bereits um eine Hypoxämie. Der Grund für diesen pO_2 Abfall wird in gestörten Ventilations-Perfusions-Verhältnissen gesehen. Das heißt, dass gut belüftete Lungenareale schlecht perfundiert, und schlecht belüftete gut perfundiert werden. Neumann und Hedenstierna [271] geben den intrapulmonalen Shunt als Hauptgrund des beeinträchtigten Gasaustauschs im Ölsäuremodell der akuten Lungenschädigung an. Als ein weiterer Grund für die schlechte Oxygenierung muss die massive Ödementstehung im OA-Modell gewertet werden. Durch diese mechanische Beeinträchtigung des Gasaustauschs kommt es zu einer verminderten Oxygenierung und reduzierten Abgabe von CO_2.

- **Arterielle O_2-Sättigung**

In Korrelation zum pO_2 fällt auch die arterielle O_2-Sättigung, also der Anteil des Hämoglobins der mit Sauerstoff gesättigt ist, in den OA-Kontrollversuchen im Vergleich zu den Kontrollen signifikant ab. Als Erklärungsansatz für diesen Effekt können die bereits für den Parameter pO_2 angegeben Gründe angeführt werden. Des Weiteren kann diskutiert werden, dass es durch den Anstieg der H^+-Ionen (Abfall des pH-Wertes) zu einer Affini-

tätsabnahme des Hämoglobins und damit zu einer Rechtsverschiebung der Hb-Bindungskurve kommt (Bohr-Effekt).

o Arterielle pH-Werte

Der signifikante Abfall des pH in der OA-Kontrollgruppe ist möglicherweise auf eine durch die permissive Hyperkapnie vermittelte respiratorische Azidose zurückzuführen. Für jeden Anstieg des pCO_2 um 1mmHg erwartet man einen Anstieg des Plasmabikarbonats um 0,10-0,25mmol/l [73]. Martynowicz et al. zeigten bei Hunden die nach OA-Gabe deutlich hyperkapnisch waren, einen Abfall des pH innerhalb von 90min von 7,32±0,06 auf 7,12±0,12 [237]. In einer Studie von Ito et al. [168] konnten hingegen keine Veränderungen der pCO_2- und pH-Werte festgestellt werden. In der vorliegenden Arbeit führen möglicherweise auch die hohen Katecholamingaben zu einer weiteren Absenkung des pH in der OA-Kontrollgruppe. Obwohl in einer Studie von Casals et al. [59] weder Katecholamine zur Stabilisierung von OA-geschädigten Kaninchen (0,1ml/kg i.v.) eingesetzt wurden, noch erhöhte pCO_2-Werte aufgeführt werden, beobachteten die Autoren dennoch einen deutlichen Abfall des pH-Wertes. Von daher ist möglicherweise auch eine metabolische Komponente an der OA-induzierten Azidose beteiligt. In der Studie von Zhu et al. [446] sank der pH nach OA-Gabe ebenfalls in allen Versuchsgruppen ab und konnte auch durch massive Bikarbonatgaben nicht angehoben werden.

➢ Pulmonale Parameter

o Beatmungsdruck

Der Ölsäure-induzierte Anstieg des maximalen Beatmungsdrucks wird ebenfalls in einer Vielzahl von Studien beschrieben. So kommt es bei Schafen zu einem Anstieg von 17,6±1,5 auf über 30mmHg nach OA-Injektion [40]. In einer Studie von Ludwigs et al. [230] wurde die OA-induzierte Lungenschädigung (0,15-0,2ml/kg in EtOH, über 30min) durch einen Anstieg des maximalen Beatmungsdrucks von 16 auf 32mmHg charakterisiert. Rylander et al. [328] berichten von einem Anstieg des maximalen Atemdrucks von 15,4±4,3 auf 25,0±6,1mmHg. Ähnliche Ergebnisse fanden auch Neumann und Hedenstierna mit einem Anstieg von 14,0±2,2 auf 27,2±8,1mmHg [271].

Der in der OA-Kontrollgruppe zu beobachtende Anstieg des Beatmungsdrucks ist Ausdruck einer verminderten *Compliance* der Lunge. So konnten Bleyl et al. [40]zeigen, dass die *Compliance* 60min nach OA-induzierter Lungenschädigung von 0,59±0,06 auf 0,24±0,04ml/cmH_2O/kg abfiel. In Korrelation dazu fanden Martynowicz et al. einen deut-

lichen Anstieg der *Elastance* nach OA-Gabe [237]. Auch Jones et al. [178] fanden 45min nach OA-Gabe eine um annähernd 50% reduzierte *Compliance* in der OA-Gruppe. In Neumann und Hedenstierna [271] betrug die *Compliance* 2h nach OA-Gabe nur noch 17,5ml/cmH_2O, anstatt der zu Beginn gemessenen 28,4±4,0ml/cmH_2O.

Obwohl anfangs davon ausgegangen wurde, dass vorwiegend atelektatische Lungenbezirke für den Abfall der *Compliance* verantwortlich sind, geht man inzwischen davon aus, dass die Füllung von abhängigen Lungenbereichen mit Flüssigkeit und Schaum zur Reduktion rekrutierbarer Lungenbereiche und damit zur verringerten *Compliance* führt [69,237,238].

Ein weiterer Ansatzpunkt wäre eine Bronchokonstriktion, insbesondere da ein Thromboxananstieg nach OA-Gabe nachgewiesen wurde und dieses Zyklooxygenase-Produkt in hohen Konzentrationen bronchokonstriktorische Eigenschaften besitzt [276]. Zudem konnte durch das Thromboxanmimetikum U46619, in einem vergleichbaren Tiermodell ebenfalls ein deutlicher Anstieg des VPmax induziert werden, ohne dass die *wet-to-dry weight ratios* merklich anstiegen [340,426]. Auch Inoue et al. [164,165] erörtern, dass U46619 bei Meerschweinchen zwar zu einer mikrovaskulären Perfusionsstörung führt, dieser Effekt aber, im Gegensatz zu STA_2, einem Thromboxanmimetikum mit höherer Affinität zu den Thromboxan-Rezeptoren, weit hinter dem der Bronchokonstriktion zurücksteht. Chelucci et al. [60] konnten jedoch nachweisen, dass eine Vorbehandlung von OA-geschädigten Schafen mit Aspirin® nur einen kurzzeitigen Einfluss auf die TXB_2-induzierte Bronchokonstriktion hatte. Sie folgern, wie auch Ishitsuka et al. [166], dass eine Thromboxan-vermittelte Bronchokonstriktion nur im Anfangsstadium einer OA-induzierten Lungenschädigung von Bedeutung ist. Als ein weiterer Faktor, der neben einer Vasokonstriktion auch eine Bronchokonstriktion vermittelt, wurde das vorwiegend von pulmonalen Mastzellen freigesetzte Histamin in der OA-induzierten Lungenschädigung identifiziert. So konnten Selig et al. [369] nachweisen, dass Histaminspiegel in isolierten und blutfrei-perfundierten Meerschweinchenlungen nach OA-Gabe deutlich anstiegen. Des Weiteren kommt noch eine mechanische Kompression der Luftwege durch das OA-induzierte pulmonale Ödem als Grund für den beobachteten Anstieg der Beatmungsdrücke in Frage.

- **Wet-to-dry weight ratio**

Der Grund für die höheren *wet-to-dry weight ratios* lag in höheren Nassgewichten der Lungen Ölsäure-geschädigter Versuchstiere. So konnten auch Selig et al. [369] innerhalb von 25min nach OA-Gabe einen ≈45%igen Anstieg der Lungengewichte vor Trocknung

feststellen. Hedlund et al. [143] konstatieren, dass 0,5ml/kg OA innerhalb von 75min zu einem Anstieg der extravaskulären Lungenflüssigkeit um etwa 4ml/kg führt.
Der im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höhere *wet-to-dry weight ratio* der OA-Kontrollen steht im Einklang mit Ergebnissen aus anderen Studien. Furue et al. [107] konnten bei Kaninchen, die 0,1ml/kg/h OA für zwei Stunden erhalten hatten, nach sechs Stunden Versuchsdauer im Vergleich zu den Kontrolltieren (≈ 4,75±0,10) mit ≈6,50±0,25 signifikant höhere *wet-to-dry weight ratio*s ermitteln. Mit 7,32±0,46 konnten Zhou et al. [445] ebenfalls bei Kaninchen nach sechs Stunden annähernd vergleichbare *wet-to-dry weight ratio*s der OA (60µl einer 1:10 OA/BSA 1% Lsg. pro kg KG) -geschädigten Lungen berechnen. Die Kaninchen der Versuchgruppe Control zeigten in einer Studie von Zhu et al. [446] nach OA-Gabe mit 7,93±0,14 ebenfalls vergleichbare Nass- zu Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen. Martynowicz et al. fanden 90min nach OA-Schädigung *wet-to-dry weight ratio*s von 7,5 bis 16,0 [237]. Des Weiteren kam es zu einem deutlichen Abfall der dynamischen *Compliance* und zu einem massiven Anstieg der alveolär-arteriellen O_2-Differenz. Ähnliche Ergebnisse fanden auch Sugerman et al. [397] durch Untersuchungen an Hunden mit radioaktiv markiertem Albumin [178]. Ebenfalls bei Hunden führte die Gabe von 0,09ml/kg innerhalb von sechs bis sieben Stunden zu *wet-to-dry weight ratio*s von ≈7,35 [396]. In den meisten Studien werden nach OA-Gabe ca. doppelt so hohe *wet-to-dry weight ratio*s gefunden wie in den Kontrollen.

Es ist bekannt, dass die Ölsäure durch eine Erhöhung der extravaskulären Flüssigkeit der Lunge ein nicht kardial-bedingtes Ödem induziert [274,361]. Das Ölsäure-induzierte pulmonale Ödem ist durch lobuläre, vorwiegende periphere Ansammlung von extravaskulärer Flüssigkeit charakterisiert [144]. Radiologisch stellt sich dies durch fleckige, lobäre Bereiche mit erhöhter Dichte vorwiegend in den peripheren Gebieten dar [83]. Die histologische Untersuchung dieser Bereiche zeigt Anzeichen eines perivaskulären, peribronchulären und alveolären Ödems [144]. In einer histologischen Studie von Derks und Jacobovitz-Derks [79] berichten die Autoren ebenfalls von einer irregulären Verteilung des Ödems in der Lunge. So zeigten die Lungen von Tieren, die mit einer einzelnen Ölsäureinjektion behandelt wurden, geschädigte Bereiche, die durch gesunde, nicht geschädigte Bereiche unterteilt waren. Hunde, die nach einer Stunde getötet wurden, zeigten ungleichmäßig verteilte, ödematös veränderte Lungenbereiche, wobei die alveolären Kapillaren diffus verstopft waren. Nach zwei und drei Stunden zeigte sich eine deutlichere Kongestion der Kapillaren. Zudem waren polymorphkernige Leukozyten in die alveolären Septen eingewandert und eine Sudan-

Färbung ergab eine Reihe von intravaskulären Fettemboli. In einer Studie an Ratten, die mit umgerechnet 0,1ml/kg OA (in EtOH, i.v. über 5min) geschädigt wurden, konnten Hilkner-Silva et al. [147] durch die histologische Beurteilung von Lungenschnitten vier Stunden post-OA feststellen, dass die Präparate der OA-behandelten Tiere verhältnismäßig mehr ödematöse Lungenbereiche aufwiesen als die Kochsalzkontrollen. Neben dieser Erhöhung des alveolären Ödemindexes, stellten die Autoren eine deutliche Erhöhung der Distensions- und Kollabierungsindices in den Präparaten der OA-behandelten Tiere fest. Vergleichbar damit führte die i.v.-Injektion von 0,11ml/kg OA (in 0,1% BSA) innerhalb von einer Stunde zu einem deutlichen Anstieg der *Evans blue* -Akkumulation in den Lungen von Mäusen und zeigte somit eine erhöhte pulmonale Permeabilität [134]. Jones et al. [178] konnten mit radioaktiven Markern zeigen, dass in einem vergleichbaren Modell am Kaninchen (0,11ml OA pro kg i.v.) die alveoläre Diffusion direkt nach OA-Gabe ansteigt. Über einen Versuchszeitraum nach OA-Gabe von 45 min konnten sie einen Anstieg des *wet-to-dry weight ratio*s von 4,4±0,1 auf 5,1±0,1 beobachten. Brown et al. [50] konnten an OA-geschädigten Ziegen (0,07ml/kg, i.v. über 10min) mit Hilfe tomografischer Untersuchungen innerhalb von 90min einen Anstieg der EVLW von 5,07±0,77 auf 9,13±1,7ml/kg ermitteln.

Die Entstehung des OA-induzierten, nicht kardial-bedingten Ödems wird auf unterschiedliche Ursachen zurückgeführt. Zum einen kommt es, neben der Integration von OA in die Membrandoppelschicht und der damit verbundenen Störung der Struktur, auch aufgrund der direkten Toxizität von freien Fettsäuren auf pulmonale Zellen, zu einer Zerstörung der alveokapillären Membranintegrität, was zu einer massiven Perfusionstörung führt [79]. Zum anderen kommt es nach Selig et al. [370] durch einen pulmonalen Druckanstieg durch Arachidonsäure-Metaboliten (TXB_2) zu einem vermehrten hydrostatischen Druck, der eine evtl. bestehende Permeabilitätsstörung weiter aggraviert. In diesem Zusammenhang konnten Furue et al. [107] durch Hemmung der Phospholipase A_2 (PLA_2) eine dosisabhängige Reduktion der *wet-to-dry weight ratio*s der Lungen sechs Stunden nach OA-Gabe (0,1ml/kg/h für 2h i.v.) feststellen.
Ein weiterer Aspekt ist eine direkte durch ET_B-Rezeptoren vermittelte, erhöhte pulmonale, mikrovaskuläre Permeabilität, da durch Studien von Guimaraes et al. [133] gezeigt werden konnte, dass die Blockade dieser Rezeptoren zu einer Reduktion der OA-vermittelten -*Evans blue* -Akkumulation führt. Eine Thromboxan-vermittelte Erhöhung der Permeabilität kommt eher nicht in Betracht. So konnte in einem vergleichbaren U46619-Modell kein

Anstieg der postmortalen *wet-to-dry weight ratio*s nachgewiesen werden [340]. Auf der anderen Seite kam es durch die Infusion von U46619 in isolierten Kaninchenlungen zu einem kontinuierlichen Anstieg der Organgewichte, sodass die Lungen am Versuchsende 17,1±2,2g schwerer waren als am Anfang [342]. Da eine Reduktion der Gewichtszunahme mit einer PGI_2-vermittelten Verminderung der pulmonalarteriellen Drücke einherging, kann gefolgert werden, dass der Anstieg der Lungengewichte aus erhöhten hydrostatischen Drücken resultiert. Im Gegensatz dazu konnten jedoch Yoshimura et al. [437] zwar eine Thromboxan ($sTXA_2$) -induzierte pulmonale Venokonstriktion durch PGI_2 abschwächen, die Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen stiegen aber an. Walkerlin et al. [418] wiederum konnten zeigen, dass U46619 die vaskuläre Permeabilität nicht beeinflusst und eine Venokonstriktion, die zu erhöhten pulmonalkapillären hydrostatischen Drücken führt, den Hauptmechanismus eines TXB_2-induzierten pulmonalen Ödems darstellt. Neben seinen vaso- und bronchokonstriktorischen Eigenschaften wurde Histamin auch als ein wichtiger Modulator der pulmonalen Permeabilität identifiziert. So konnte durch Blockade von H_1-Rezeptoren ein OA-induzierter Anstieg der Lungengewichte und des alveolärkapillären Proteinfluxes verhindert werden. Selig et al. [369] folgern daher, dass ein Zusammenhang zwischen der OA-induzierten Mastzellendegranulation und damit verbundener Histamin Freisetzung, und der OA-induzierten Ödembildung besteht.

In einer kürzlich veröffentlichten Studie von Vadász et al. [410] (siehe dazu auch Matalon & Ji [240]) konnte zudem nachgewiesen werden, dass OA in isolierten und blutfreiperfundierten Kaninchenlungen durch eine direkte Bindung von OA an Natriumkanäle zu einer Hemmung des transepithelialen aktiven Na^+-Transports führt, und somit die Bildung eines alveolären Ödems induziert und gleichzeitig die Auflösung des Ödems verhindert. Wie durch Untersuchungen mit radioaktivem Mannitol und fluoreszenzmarkiertem Albumin gezeigt werden konnte, führte OA zudem nicht zu einer erhöhten epithelialen, sondern endothelialen Permeabilität.

Zuletzt wären noch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) als Faktoren einer erhöhten Membranpermeabilität zu nennen. ROS, wie Hydoxylradikale und Wasserstoffperoxid, können durch eine direkte Zellschädigung, Hemmung von endothelialen Natriumkanälen [410] oder die Aktivierung von NfκB und der damit verbundenen Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen (siehe dazu auch Su et al. [396] und Ito et al. [168]) zu einer alveolärkapillären Perfusionsstörung führen, die in einem Lungenödem und dadurch verminderten Gasaustausch resultieren kann [435,441]. Durch Auslöschung dieser hochreaktiven Moleküle, z.B. durch Prifenidon [249] oder Tranilast [167] kann eine durch OA-induzierte Erhöhung der

pulmonalvaskulären Permeabilität vermindert werden. Auch der protektive Effekt von NO an der alveolär-kapillären Barriere wird bei oxidativem Stress auf die Fähigkeit von Stickstoffmonoxid mit ROS zu reagieren zurückgeführt [403].

Wie auch für den OA-vermittelten Anstieg des PAP kann festgestellt werden, dass die OA-induzierte Permeabilitätsstörung nicht durch einen einzigen Mechanismus bedingt wird, sondern dass mehrere Faktoren und Mediatoren an der Ödementstehung beteiligt sind.

- **Intrapulmonaler Shunt**

Der intrapulmonale Shunt stieg in der OA-Kontrollgruppe gegenüber der Kontrollgruppe deutlich und signifikant an. Obwohl der arterielle Sauerstoffgehalt ebenfalls absank, ergaben sich die höheren Qs/Qt-Verhältnisse aus einer deutlich niedrigeren Differenz des pulmonal endkapillären und venösen Sauerstoffgehalts. Interessanterweise bleib der berechnete CcO_2, der dem aus der Inspirationsluft entnommene Sauerstoffanteil entspricht, auch nach OA-Schädigung nahezu konstant.

Der Anstieg des Qs/Qt steht in Einklang mit einer Reihe von anderen Studien. So konnte Bleyl et al. [40] bei Schafen, die mit 0,1ml/kg OA geschädigt wurden, einen Anstieg des Shunts von 17±6% vor Schädigung auf 60% 60min nach OA-induzierter Lungenschädigung nachweisen. Dembinski et al. [77] fanden eine Erhöhung des Shuntflusses von 7±4 auf 48±14%. Auch Pellet et al. [291] konnten bei OA-geschädigten Hunden einen Anstieg des intrapulmonale Shunts feststellen. In einem unilobulärem Schädigungsmodell konnte durch die Injektion von Ölsäure ein deutlicher Anstieg des Shunts in dem geschädigten Lungenflügel nachgewiesen werden [6]. Auch Neumann et al. [272] konnten durch die Injektion von 0,1ml/kg bei Schweinen innerhalb von 120min einen Anstieg des intrapulmonalen Shunts (V/Q <0,0005) von 6,3±6,4 auf 25,1±8,1% induzieren. In Tanaka et al. [401] kam es durch die Injektion von OA bei Hunden ebenfalls zu einem Anstieg des intrapulmonalen Shunts. Hübler et al. [155] gaben einen Anstieg des Sauerstoff-Shunts von 3,7±1,5 auf 62,4±22,1% 120min nach Lungenschädigung mit Ölsäure an. Im Vergleich dazu ergab die Berechnung des Shunts mit Hilfe der MIGET einen Anstieg von 0,7±0,8 auf 53,2 ±13,6%. Sha et al. konnten bei Schweinen durch die Gabe von OA einen annähernd sechsfachen Anstieg der Qs/Qt-Werte dokumentieren[372]. In Coffey et al.[64] stieg der Shunt innerhalb von 3h nach OA-Gabe von 1,8±2,0 auf 39,6±6,5%. Leeman et al. [206] konnten in der Gruppe mit Ölsäure gegenüber dem Ausgangswert einen Anstieg des Qs/Qt um das 12fache erzeugen.

Durch die Berechnung des Qs/Qt konnte die in der Diskussion für die Parameter des Gasaustauschs geäußerte Vermutung, dass die OA-induzierte Hypoxämie durch einen vermehrten Shunt vermittelt wurde, bestätigt werden. Auch Neumann und Hedenstierna [271] gaben den intrapulmonalen Shunt als Hauptgrund des beeinträchtigten Gasaustauschs im Ölsäuremodell der akuten Lungenschädigung an. Schöne et al. [354] fanden mit Hilfe der Multiplen-Inerten-Gas-Eliminationstechnik heraus, dass ein erhöhter Shunt vorwiegend eine Hypoxämie induziert, und die OA-induzierte Gasaustauschstörung weniger mit den pulmonalen hämodynamischen Parametern korreliert. Auch Schulmann et al. [356] bestätigten, dass es sich bei der OA induzierten Erhöhung des intrapulmonalen Shunts um die Hauptursache der Gasaustauschstörung handelt.

Als Gründe für einen erhöhten Shunt ist vornehmlich das OA-induzierte pulmonale Ödem zu nennen. Der Anstieg der venösen Beimischung kann durch einen Blutfluss durch ödematöse oder atelektatische bzw. mit Flüssigkeit und Schaum gefüllte Lungenbereiche erklärt werden, woraus konsekutiv eine arterielle Hypoxie resultiert [354]. Dafür spricht auch, dass der Shunt nach Auflösung des pulmonalen Ödems zu einer Normalisierung des Shunts und der Blutgaswerte führt [354]. Auf der anderen Seite kann durch die Blockade der Zyklooxygenase und durch die Inhalation von NO der intrapulmonalen Shunt bei OA-geschädigten Versuchstieren reduziert werden und der pO_2 erhöht werden [257]. Von daher sind neben der OA-induzierten Perfusionsstörung möglicherweise auch andere Mechanismen wie eine aufgehobene HPV oder Freisetzung von vasoaktiven Substanzen und einem damit verbundenen Ungleichgewicht von pulmonaler Vasokonstriktion und -Dilatation über einer Ventilations-Perfusionsstörung an der Erhöhung des intrapulmonalen Shunts beteiligt, was für die therapeutische Intervention von Bedeutung ist.
Zudem muss bedacht werden, dass ein Anstieg des Herzzeitvolumens zu einem Anstieg des Shunts führen kann [291]. Da in den Versuchen das HZV jedoch nahezu konstant blieb, kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei dem Anstieg des Qs/Qt-Wertes jedoch um einen reellen Effekt der OA-Injektion handelte.

❖ **Zusammenfassung**

Mit der zentralvenösen Injektion von 0,1ml OA pro kg KG konnte innerhalb des Versuchszeitraums von 120min ein stabiles Modell einer akuten Lungenschädigung am Kaninchen induziert werden. Dieses war durch eine gering- bis mittelgradige pulmonale Hypertonie, massive Hypoxämie, Hyperkapnie und Azidose gekennzeichnet. Zudem konnte eine deutliche Zunahme des *wet-to-dry weight ratio* als Parameter einer extravasalen Flüssigkeitseinlagerung in die Lunge und eine verminderte Lungen-*Compliance* (Anstieg des VP) induziert werden. Der intrapulmonale Shunt stieg infolge der Ölsäure-Injektion massiv an.
Die hämodynamischen Störungen als auch die OA-induzierte Gasaustauschstörung manifestierten sich innerhalb der ersten Stunde und persistierten über die verbleibende Versuchsdauer.

1.3 OA-Sil/Bay-Kontrollen

In den Kontrollversuchen zur Evaluierung der zusätzlichen Volumeninfusion für die Versuche mit Sildenafil und den Bay-Substanzen unterschied sich keiner der Parameter signifikant von den OA-Kontrollen. Daher kann gefolgert werden kann, dass die zusätzliche Volumeninfusion von 20ml/kg/h NaCl-Lösung für 10min direkt nach der Ölsäureinjektion keinen Effekt auf die OA-induzierte Lungenschädigung hatte.

2 DISKUSSION DER THERAPIEGRUPPEN

2.1 NO-Gruppen

2.1.1 Rationale

Durch die Inhalation von NO sollte durch Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase und dem damit verbundenen cGMP-Anstieg, eine selektive pulmonale Vasodilatation erzielt werden. Durch die intrapulmonale Selektivität des iNO sollte eine Verbesserung der Ventilations-Perfusions-Verhältnisse und des intrapulmonalen Shunts erreicht werden, was sich in einer Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung auswirken sollte. Durch einen erniedrigten pulmonalarteriellen Druck und die protektive Wirkung von NO auf das Gefäßendothel sollte die OA-vermittelte Perfusionsstörung zudem positiv beeinflusst werden, was neben einer weiteren Reduktion des Shuntflusses in einer Erniedrigung der Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen und Beatmungsdrücke resultieren sollte.

2.1.2 Eigene Ergebnisse

- **Hämodynamik**

Die Inhalation von NO führte im Vergleich zur OA-Kontrollgruppe, bei vergleichbaren Katecholamingaben, zu keinen signifikanten Veränderungen der hämodynamischen Messparameter. Von besonderer Bedeutung ist, dass NO weder in der Konzentration von 2ppm noch in der von 20ppm zu einer Senkung der OA-induzierten pulmonalen Hypertonie führte.

- **Blutparameter**

In Bezug auf die Ölsäure-induzierte Gasaustauschstörung konnte in den Versuchen mit NO ebenfalls kein positiver Effekt beobachtet werden. Für den Parameter pCO_2 trat zwar eine Signifikanz zwischen der OA-NO 2ppm und OA-Kontrollgruppe auf, der Unterschied war jedoch nicht unmittelbar ersichtlich. Dies wurde auch dadurch deutlich, dass im T-Test zwischen den beiden Gruppen keine Signifikanzen für die einzelnen Zeitpunkte auftraten und sich die Verläufe lediglich im Faktor Zeit*Gruppe unterschieden. Da für OA-NO 2ppm niedrigere Ausgangswerte gemessen wurden und der Wert zum Zeitpunkt t=120 min deutlich, wenn auch nicht signifikant über dem der OA-Kontrollgruppe lag, führte die Berechnung einer größeren Steigung der Therapiegruppe möglicherweise zu der Signifikanz. Dennoch bleibt festzuhalten, dass selbst wenn es sich bei der Signifikanz um einen Effekt

des NO handeln sollte, durch die Inhalation von NO in der Konzentration von 2ppm keine Verbesserung der OA-induzierten Hyperkapnie erreicht wurde.

- **Pulmonale Parameter**

Auch die durch die OA-Injektion erhöhten pulmonalen maximalen Beatmungsdrücke konnten durch die inhalative Gabe von NO nicht signifikant gesenkt werden. Gleiches gilt auch für die *wet-to-dry weight ratio*s obwohl die Werte für NO 2ppm deutlich und für NO 20ppm leicht unter den Kontrollen lagen. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass NO keinen Einfluss auf das EVLW hat [(89,312,371)]. Auch in Protamin geschädigten Rattenlungen konnte kein Effekt von NO bzw. cGMP auf den Flüssigkeitsfluss festgestellt werden [(89)]. Man kann jedoch argumentieren, dass es durch die ausbleibende pulmonalarterielle Vasodilatation zu keiner Verminderung des hydrostatischen Drucks gekommen ist, aber möglicherweise protektive Effekte von NO auf die alveolär-kapilläre Barrierefunktion zu den niedrigeren Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnissen der Lungen geführt haben [(365,366,367,403)]. Dabei spielt neben der Wirkung von NO als Radikalfänger und Mastzellenstabilisator, möglicherweise auch eine, aufgrund der Aktivierung der sGC vermittelten Erhöhung der cGMP-Konzentration eine Rolle. Besonders interessant ist, dass mit dem leichten Abfall der *wet-to-dry weight ratio* eine leichte aber ebenfalls nicht signifikante dosisabhängige Reduktion des intrapulmonalen Shunts zu beobachten war, welche sich jedoch nicht positiv auf die OA-induzierte Gasaustauschstörung auswirkte.

- **Zusammenfassung**

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass iNO, trotz der leicht verminderten *wet-to-dry weight ratios* und des reduzierten intrapulmonalen Shunts, in beiden Konzentrationen zu keiner signifikanten Verbesserung der OA-induzierten Lungenschädigung führte.

2.1.3 Andere Studien

Obwohl eine Senkung der OA-induzierten pulmonalen Hypertonie mit einer Verbesserung des intrapulmonalen Shunts und Verbesserung der Gasaustauschstörung erwartet wurde, konnten diese Effekte durch iNO in den Konzentrationen von 2 und 20ppm nicht erzielt werden. Auch ein deutlicher Effekt auf die vaskuläre Permeabilität und den Qs/Qt-Wert konnte nicht nachgewiesen werden. Damit stehen die beobachteten Ergebnisse im Gegensatz zu einer Vielzahl klinischer und experimentellen Studien.

Verbesserung der pulmonalen Hypertonie und der Oxygenierung

So konnten Sha et al. [371] nach OA-induzierter Lungenschädigung (0,09ml/kg, i.v. über 15min) bei Schweinen durch die repetitive Gabe von iNO in Konzentrationen von 10 bis 80ppm (jeweils für 10min) eine dosisabhängige Senkung der pulmonalen Hypertonie herbeiführen. Dieser pulmonal vasodilative Effekt des NO ging mit einer Reduktion des Shuntflusses und signifikanten Verbesserung der pO_2-Werte einher. In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, dass die Tiere mit einem FiO_2 von 0,28 beatmet wurden, was in pO_2 Ausgangswerten von 140-160mmHg resultierte. Dies ist insofern von Bedeutung, da die Bildung von toxischen NO-Spezies neben der Reaktionsdauer auch von der NO- und Sauerstoffkonzentration abhängig ist. Daher wurde das Stickstoffmonoxid auch unmittelbar vor dem endotrachealen Tubus zugeführt, um die Reaktionszeit mit dem O_2 zu minimieren. So wurde verhindert, dass trotz der relativ hohen NO-Konzentrationen die NO_2-Werte nicht über 2ppm stiegen. Ein weiterer Faktor, der die Versuchsergebnisse beeinflusst haben könnte ist die Tatsache, dass die Tiere nach OA-Gabe nur eine milde Hypoxämie mit pO_2-Werten von 77±5mmHg entwickelten und der mPAP mit Werten um 30mmHg relativ hoch war. So wird in mehreren Studien beschrieben, dass der vasodilative Effekt von NO auch von der Höhe der pulmonalen Hypertonie abhängig ist. Interessanterweise berichten die Autoren von einem Versuchstier, bei dem die OA-Injektion zu deutlich schlechteren Shunt- und pO_2-Werten führte und das nicht auf die NO-Behandlungen ansprach. Von daher ist es möglich, dass die Wirkung des NO negativ mit der OA-induzierten Gasaustauschstörung korreliert ist. So konnten die Autoren in einer neueren Studie [372], in der durch die Injektion von 0,11ml/kg OA eine schwere Lungenschädigung mit pO_2-Werten um 60mmHg induziert wurde, zwar noch eine dosisabhängige Senkung der OA-induzierten pulmonalen Hypertonie durch iNO erzielen, die Oxygenierung und den Shuntfluss jedoch nicht mehr positiv beeinflussen. Sie machen eine verminderte Diffusion des NO durch die alveolär-kapilläre Membran aufgrund von hämorrhagischen Stauungen auf der luminalen Seite für die ausbleibenden Effekte verantwortlich. In Übereinstimmung mit den eigenen Ergebnissen konnte durch iNO keine Verbesserung der durch die Injektion von OA erhöhten Beatmungsdrücke, bzw. der verminderten Lungen-*Compliance* erreicht werden. Auch der OA-induzierte Anstieg der extravaskulären Flüssigkeitsansammlung in der Lunge unterschied sich in der Behandlungsgruppe nicht von der der Kontrollgruppe. Die Autoren folgern daraus, dass NO zu keiner Abschwächung der OA-induzierten Permeabilitätsstörung führt. Auch Eichinger et al. [89] konnten in isolierten Rattenlungen keinen

Einfluss von NO auf den vermehrten Flüssigkeitsverlust nach Endothelschädigung nachweisen.

Im Gegensatz dazu konnten Stubbe et al. [395] in einem Ölsäure-Endotoxin-Modell an Schafen einen Rückgang der extravaskulären Flüssigkeit nach NO-Gabe beobachten. Die Autoren erklären die konträren Ergebnisse von Sha et al. [372] mit der kurzen Inhalationsdauer von 10min und der nicht prophylaktischen Anwendung. Die Gabe von NO (2-40ppm) führte auch in Germann et al. [114] zu einer dosisabhängigen Senkung der PVRI und einem Anstieg der pO_2/FiO_2-Verhältnisse. Zobel et al. [450] konnten in einem OA-Lavage-Modell an Ferkeln ebenfalls eine Reduktion des PAP mit gleichzeitiger Verbesserung der Oxygenierung durch die Inhalation von NO erreichen. Neben iNO sind auch NO-Donatoren (NONOates) in der Lage, die OA-induzierte Gasaustauschstörung zu verbessern. So konnten Jacobs et al. [169] durch Vernebelung von DMAEP/NO eine Verbesserung der Oxygenierung um über 30% erzielen. Auch der PVRI fiel in der Behandlungsgruppe deutlicher ab als in den Kontrollgruppen. In einer späteren Studie konnten die Autoren [170] jedoch einen positiven Effekt von DMAEP/NO auf die OA-induzierte Gasaustauschstörung nur noch in Zusammenhang mit einer Surfactant Vorbehandlung erzielen. DMAEP/NO führte allein innerhalb von 180min post-OA lediglich zu einer Senkung des PAP und PVRI ohne den Shunt oder die Oxygenierung signifikant zu beeinflussen.

Verbesserung der Oxygenierung ohne eine Verbesserung der pulmonalen Hypertonie

In einer Studie von Gust et al. [138] wurde durch die Gabe von 10 und 40ppm iNO 120min nach OA-induzierter Lungenschädigung (0,09ml/kg) nur ein leichter, nicht signifikanter Abfall des PAP von 25±4 auf 23±5mmHg (40ppm) beobachtet. Dennoch stieg das pO_2/FiO_2-Verhältnis durch die Inhalation von NO zwar marginal aber signifikant von 437±67 auf 467±41mmHg (10ppm) bzw. 471±52mmHg (40ppm) an. Im Gegensatz zu Shah et al. [372] machen die Autoren nicht die Schwere der Lungenschädigung, sondern eine OA-induzierte Umverteilung des pulmonalen Blutflusses, die auf eine intakte HPV zurückgeht, für die minimalen Effekte des NO verantwortlich. Des Weiteren diskutieren die Autoren, dass es durch NO vorrangig zu einer Vasodilatation der pulmonalen postkapillären Venen kommt und es somit zu einer Umverteilung des Blutflusses mit Verbesserung der Oxygenierung kommen kann, ohne dass die pulmonalarteriellen Drücke beeinflusst werden.

Auch Zhou et al. [445] konnten in einem Ganztiermodell an Kaninchen mit der Inhalation von 20ppm NO eine signifikante Reduktion des OA (60µl einer 1:10 OA/BSA 1% Lsg. pro kg KG) -induzierten Shuntflusses, verbunden mit einer Verbesserung der pO_2/FiO_2-

Verhältnisse feststellen. Die Lungen-*Compliance* und Mortalitätsrate über 12 Stunden konnte jedoch nicht positiv beeinflusst werden. Besonders interessant ist, dass die Tiere der NO-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe einen nahezu gleichen *lung injury score* aufwiesen, sich die *wet-to-dry weight ratio*s der Lungen jedoch signifikant unterschieden. Leider umfasste die Studie nicht die Messung der pulmonalvaskulären Drücke, so dass keine Aussage darüber gemacht werden kann, ob die NO-vermittelte Verbesserung des Shunts und der Oxygenierung sowie die Verminderung des *wet-to-dry weight ratio* mit einer Senkung des PAP/PVR assoziiert war. Auch Zhu et al. [446] kommen in einem vergleichbaren Schädigungsmodell zu ähnlichen Ergebnissen, jedoch unterschied sich hier das Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnis der Kaninchenlungen nach sechs Stunden Versuchsdauer und Inhalation von 20ppm NO nicht signifikant von den Kontrollen. Dennoch konnten die Autoren eine Verbesserung des pO_2 und intrapulmonalen Shuntflusses ohne Beeinflussung der Lungenmechanik beobachten.

Verbesserung der pulmonalen Hypertonie ohne eine Verbesserung der Oxygenierung

Auch Uchida et al. [409] konnten in der Versuchsgruppe, die mit Gas und NO (10ppm für 30min, 90min post-OA, 0,08ml/kg c.v.) beatmet wurden, gegenüber der Gasgruppe eine Reduktion des PVR, jedoch ohne eine Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung erreichen. Die Autoren diskutieren, dass die pulmonale Vasodilatation und die Verbesserung der Gasaustauschstörung zwar zusammenhängen, aber auf unterschiedlichen anatomischen Ebenen der Lunge ablaufen. Die arterielle Oxygenierung hängt im akuten Lungenversagen von der Distribution der V/Q-Verhältnisse auf der alveolären Ebene ab, wohingegen NO pulmonale Arterien und Venen dilatiert, die unabhängig vom Ventilationsgrad des von ihnen versorgten Alveolargebiets, von ventiliertem Lungengewebe umgeben sind. Daher ist es möglich, dass Pulmonalarterien dilatiert werden, die schlecht belüftete Areale versorgen, und somit die Perfusion in diesen Gebieten ansteigt, was zu einer Verschlechterung der arteriellen Oxygenierung führt. Zu diesen Zuständen kann es insbesondere dann kommen, wenn die pulmonalen Läsionen nicht homogen verteilt sind, wie es im OA-Modell der akuten Lungenschädigung der Fall ist. In einem Mekonium-Aspirationsmodell konnten Shekerdemian et al. [376] ebenfalls einen positiven Effekt von NO (20ppm für 2h) auf den PAP zeigen, der jedoch nicht mit einer Verbesserung der Oxygenierung verbunden war.

Keine Verbesserung weder der pulmonalen Hypertonie noch der Oxygenierung

Rayhrer et al. [312] berichten in einem isolierten Kaninchenlungenmodell von keiner Verbesserung der OA-induzierten Lungenschädigung durch NO. So führte die kontinuierliche Inhalation von 20ppm NO noch während der OA-Gabe (0,4ml einer 50%igen OA-EtOH-Lösung über 20min) innerhalb von 60min zu keinen signifikanten Unterschieden im pulmonalvaskulären Widerstand, dem Oxygenierungsgrad und dem *wet-to-dry weight ratio*. Vielmehr sank in der NO-Behandlungsgruppe die *Compliance* sogar signifikant stärker als in der OA- und NO-Kontrollgruppe. Die Autoren machen den frühen Einsatz des NO für die ausbleibenden bzw. negativen Effekte des NO auf die OA-induzierte Lungenschädigung verantwortlich. Sie diskutieren, dass es während des Frühstadiums der Lungenschädigung durch die vasodilative Wirkung zu einer Einschwemmung von OA und toxischen Metaboliten in Lungenbereiche kam, die ursprünglich durch eine Vasokonstriktion geschützt wurden. Sie folgern, dass es durch diese verstärkte Schädigung zu einer Verschattung der positiven Effekte des NO gekommen sein kann. In der Tat erfolgt in den meisten Studien der Einsatz von möglichen Therapeutika erst nach einer Stabilisierung der akuten Lungenschädigung (Sha et al. [372] 45min; Gust et al. [138] 120min; Uchida et al. [409] 90min). Von daher ist es möglich, dass es durch den frühen Einsatz, bzw. eine Vorbehandlung mit NO zu einer Aufhebung der OA-induzierten HPV kommt, was in einer Aggravierung der Lungenschädigung resultiert. Da in den eigenen Versuchen die NO-Inhalation nahezu gleichzeitig mit der OA-Gabe begann, ist nicht auszuschließen, dass das Nichtansprechen auf die NO-Therapie auf dieses Phänomen zurückzuführen ist. Dafür würde auch sprechen, dass in den Versuchen mit der höheren NO-Konzentration gegenüber der niedrigen, mit Ausnahme des Shunts, eher eine Verschlechterung der OA-induzierten Lungenschädigung zu beobachten war.

Es bleibt festzuhalten, dass in den experimentellen Untersuchungen zur Wirkung von NO auf die OA-induzierte Lungenschädigung keine konsistenten Ergebnisse erzielt werden. So berichten einige Autoren von einer Verbesserung der pulmonalen Hämodynamik und der Oxygenierung, wohingegen andere nur einen oder keinen Parameter durch die Inhalation von NO positiv beeinflussen konnten. Ähnlich verhält es sich, ganz abzusehen von anderen Schädigungsmodellen (z.B. Mekonium-Aspiration [154], Lungenlavage [323], Mikroembolisation [448]), bei den klinischen Studien zum Einsatz von iNO. Wie Hopkins et al. [153] diskutieren, sind die unterschiedlichen Wirkungen von iNO auf die jeweiligen pathologischen

Zustände zurückzuführen. So kommt es bei Hunden, bei denen ein intrapulmonaler Shunt das grundlegende Problem der Gasaustauschstörung darstellt, durch iNO zu einer Reduktion der PVR in normalen, ventilierten Lungenbereichen und damit zu einer Umverteilung des Blutflusses in diese Regionen, verbunden mit einer Verbesserung der Oxygenierung (siehe dazu auch Ross et al. [319]). In Lungen jedoch, in denen Bereiche mit niedrigen Ventilations-Perfusions-Verhältnissen vorliegen, stellte sich die Situation komplexer dar. So führte iNO lediglich bei drei von acht Versuchstieren zu einer Verbesserung des Gasaustauschs. Bei den übrigen Tieren kam es sowohl in den normalen, als auch abnormalen Bereichen zu einer Vasodilatation, was in einem vermehrten Blutfluss in den Gebieten mit niedrigen V/Q-Verhältnissen führte. Die Folge war eine Steigerung des Ventilations-Perfusions-*Mismatchs* und damit eine Verschlechterung des Gasaustauschs.

Als Erklärungsansatz für die in dieser Arbeit beobachteten Ergebnisse können eine Reihe von Thesen aufgestellt werden. So kam es möglicherweise durch den frühen Einsatz des NO zu einer Aufhebung der HPV und damit zur Aggravierung der OA-induzierten Lungenschädigung. Des Weiteren ist es möglich, dass es trotz eines FiO_2 von 0,5 und maximalen NO-Konzentrationen von 20ppm zur Bildung von toxischen NO-Spezies gekommen ist, da das NO noch vor der Beatmungspumpe dem Beatmungsgas zugemischt wurde. In diesem Zusammenhang kann erwähnt werden, dass Peroxynitrit, das Produkt einer Reaktion von NO-Radikalen mit Superoxid-Anionen [302], zu einer Inaktivierung der Prostazyklinsynthase und damit zu niedrigen PGI_2 Synthese führt [451], was wiederum in einer verminderten Vasorelaxation resultieren kann. Womöglich war die OA-induzierte Gasaustauschstörung auch so gravierend, dass eine positive Wirkung von NO auf die Oxygenierung gar nicht möglich war. In diesem Zusammenhang verhindert möglicherweise eine hämorrhagische Kongestion den Übertritt von NO in den Intravasalraum. Zum anderen führte möglicherweise die OA-induzierte Bildung von ROS, insbesondere von O_2^- [219] durch Hemmung der sGC zu einer Hemmung der NO-vermittelten vaskulären Relaxation [61]. Die pulmonalvasodilativen Effekte wurden eventuell auch nur nicht deutlich, da die OA-induzierte pulmonale Hypertonie nicht stark genug war. Durch die starke Ödembildung oder freie Sauerstoffradikale [219] könnte es zu einer Inaktivierung von NO im Alveolarraum gekommen sein, noch bevor die gefäßrelaxierende Wirkung einsetzen konnte. Eventuell waren die Konzentrationen auch zu niedrig, obwohl in einer Vielzahl von Studien mit 20ppm positive Effekte erreicht wurden. Ein mit hohen NO-Konzentrationen verbundenens *spill over* in nicht ventilierte Lungenbereiche, wurde für Konzentrationen von 2

und 20ppm noch nicht beschrieben. Des Weiteren wirkt NO eher vasodilatierend auf pulmonale postkapilläre Venen. Von daher kann es zu einer Umverteilung des Blutflusses ohne Beeinflussung der pulmonalarteriellen Drücke kommen. Die Vasoaktivität der pulmonalen Venen ist bei Kaninchen wie auch bei Hunden aufgrund der starren Gefäßwand jedoch eher gering [(111)]. Möglicherweise kommt es im OA-Modell der akuten Lungenschädigung auch zu einer Herunterregulation der sGC-Proteinexpression und Aktivität oder einer Hochregulation der PDE5 Aktivität, wobei ein solcher Effekt bei einer Versuchsdauer von 90min eher nicht in Frage kommt. Zuletzt wäre noch anzuführen, dass der Anstieg des PAP durch die Injektion von OA nicht nur durch eine Vasokonstriktion vermittelt wird, sondern auch eine Kompression und Verlegung von Gefäßen diskutiert wird. Von daher wird ein tatsächlicher vasodilativer Effekt durch NO möglicherweise auch nur deshalb nicht deutlich, weil der PAP durch die anderen Faktoren erhöht bleibt.

Was den nicht signifikanten Effekt von NO auf die *wet-to-dry weight ratio*s betrifft, so kann angeführt werden, dass die erhöhte Permeabilität nicht ausschließlich durch eine endotheliale Kontraktion sondern durch die direkte Toxizität von OA auf pulmonale Zellen und die damit verbundene Zerstörung der alveokapillären Membranintegrität zurückzuführen ist. Somit kann es möglicherweise durch hohe cGMP und niedrige Ca^{2+}-Konzentrationen zwar zu einer verminderten zellulären Retraktion gekommen sein, aber durch die OA-vermittelte Schädigung von Endothelzellen blieb die Perfusionsstörung weiter bestehen.

2.1.4 Schlussfolgerung

Inhalatives NO wird inzwischen bei einer Vielzahl von Erkrankungen zur pulmonalen Vasodilatation eingesetzt. Aus der vorliegenden Arbeit können jedoch keine positiven Effekte von iNO auf eine OA-induzierte Lungenschädigung abgeleitet werden.

2.2 Sildenafil-Gruppen

2.2.1 Rationale

Sildenafil ist ein Inhibitor der cGMP-abbauenden Phosphodiesterase vom Typ 5. Durch Hemmung dieses Enzyms können intrazelluläre cGMP-Spiegel erhöht werden, was sich in einer Verstärkung einer cGMP-vermittelten Vasorelaxation auswirkt. Durch die pulmonale Selektivität des Sildenafils sollte selbst bei systemischer Applikation, ein positiver Effekt auf die OA-induzierte PH erreicht werden. Aufgrund einer damit verbundenen intrapulmonalen Umverteilung des Blutflusses sollten die Ventilations-Perfusions-Verhältnisse verbessert, und die OA-induzierte Gasaustauschstörung positiv beeinflusst werden.

2.2.2 Eigene Ergebnisse

- **Hämodynamik**

Die i.v.-Gabe von Sildenafil führte zu keiner Verbesserung der OA-induzierten hämodynamischen Störungen. Vielmehr trat während der Infusion des PDE5-Inhibitors in allen Konzentrationen ein leichter systemischer Blutdruckabfall auf, der sich, da der Verlauf der OA-Sil-Kontrolle während der NaCl-Kontrollinfusion direkt nach OA-Gabe leicht anstieg, auch auf die Berechung von signifikanten Unterschieden auswirkte. Die systemischen Veränderungen spiegeln sich zu einem gewissen Masse in den Kurvenverläufen für den pulmonalarteriellen Druck wider. Dennoch konnte durch die Gabe von Sildenafil keine signifikante Verbesserung der OA-induzierten pulmonalen Hypertonie herbeigeführt werden. Bemerkenswert ist, dass das HZV in den Therapiegruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe, wie auch in anderen Studien [119,161,376] leicht, wenn auch nicht signifikant anstieg, was zum einen durch den leichten Abfall des mSAP, und zum anderen durch die Berechnung des HZV aus einer erhöhten arteriovenösen O_2-Differenz erklärt werden kann. Ein weiterer Ansatz wäre, dass Sildenafil, durch Erhöhung der kardialen cGMP-Konzentrationen, im Rahmen eines cGMP-cAMP *cross talks*, zu einem verminderten PDE3-vermittelten myokardialen cAMP-Abbau führt [26,142,241,332], oder durch eine direkte Hemmung der PDE1 [66,67,260] zu erhöhten cAMP-Konzentrationen führt, was wiederum eine verstärkte Auswurfleistung nach sich zieht [376,390]. Dafür könnte auch sprechen, dass in den Sildenafilversuchen trotz des leichten Abfalls des systemischen Blutdrucks nicht mehr, sondern eher weniger Katecholamine zur Aufrechterhaltung des SAPs aufgewendet werden mussten. Zu-

dem wurde an gesunden Probanden gezeigt, dass Sildenafil zu einer Aktivierung des sympathischen Systems führt [295].

➢ **Blutparameter**

Auch in Bezug auf die gemessenen Blutparameter konnte mit der Gabe von Sildenafil keine Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung erzielt werden. Dennoch kann konstatiert werden, dass die Infusion von 100µg Sil/kg/10min zu einer leichten, wenn auch nicht signifikanten Erhöhung der Oxygenierung geführt hat, weshalb diese Konzentration auch in den Kombinationsversuchen mit NO eingesetzt wurde.

➢ **Pulmonale Parameter**

Da sich die Parameter VPmax und *wet-to-dry weight ratio* und Qs/Qt, der Behandlungsgruppen, trotz einer deutlichen Reduktions des Shunts für OA-Sil 100µg, nicht signifikant von der Kontrollgruppe unterschieden, muss gefolgert werden, dass die Gabe von Sildenafil zu keiner Verbesserung der OA-induzierten Perfusionsstörung und der verminderten Lungen-*Compliance* geführt hat.

❖ **Zusammenfassung**

Es bleibt festzuhalten, dass die Therapie mit Sildenafil in den drei verwendeten Konzentrationen, in diesem Versuchsmodell zu keiner Verbesserung der OA-induzierten Lungenschädigung führte, sich jedoch in einer kurzzeitigen Absenkung des systemisch-arteriellen Blutdrucks auswirkte.

2.2.3 Andere Studien

Aufgrund des gut erforschten Wirkmechanismus des Sildenafils und der bereits in experimentellen und klinischen Studien zur pulmonalen Hypertonie evaluierten Effekte von PDE5-Inhibitoren, konnte theoretisch davon ausgegangen werden, dass sich die Gabe positiv auf eine OA-induzierte pulmonale Hypertonie auswirken würde.

Experimentell

So zeigten Schermuly et al. [341,343,344] in einem Modell, der durch das Thromboxanminetikum U46619 ausgelösten PH, dass Dipyridamol zu einer dosisabhängigen Vasodilatation führt. Ichinose et al. [159,161] zeigten an Lämmern, dass die Inhalation von Sildenafil und Zaprinast, der Vorläufersubstanz des Sildenafils, ebenfalls eine Senkung der durch das Thromboxanmimetikum induzierten PH herbeiführte. Weimann et al. [427] konnten an einem vergleichbaren ovinen Modell, eine U46619-induzierte pulmonale Hypertonie durch

kumulative Dosen von Sildenafil senken. In einer neueren Studie von Bonnell et al. [46] führte die Gabe des Sildenafil-Analogons UK 343-664 zu einer deutlichen Senkung einer bei Schweinen durch U46619-induzierten PH.

In einer Studie von Adrie et al. [3], in der bei Schafen eine akute Lungenschädigung durch saline Auswaschungen induziert wurde, führte die Gabe von Zaprinast, verbunden mit erhöhten cGMP-Plasmaspiegeln, zu einer Senkung der PH aber auch zu einer Verschlechterung der arteriellen Oxygenierung. Zudem schien der arterielle Blutdruck abzufallen, ohne sich signifikant von den Ausgangswerten zu unterscheiden. Auch Shekerdemian et al. [376] konnten in einem Modell des Mekonium-Aspirationssyndroms an Ferkeln zeigen, dass die i.v.-Gabe von Sildenafil (2mg/kg über 2h) zu einer selektiven pulmonalen Vasodilatation führte, aber keinen signifikanten Effekt auf die Oxygenierung hatte.

Zhao et al. [442,443] konnten zeigen, dass Sildenafil zur Unterdrückung einer experimentellen, Hypoxie-induzierten PH führt. In einer Studie von Sebkhi [368] führte die Gabe von Sildenafil bei Ratten ebenfalls zu einer dosisabhängigen Reduktion der Hypoxie-induzierten pulmonalen Hypertonie und vermehrten Muskularisierung.

Inoue et al. [164] konnten mit T-1032, einem neuen PDE5-Inhibitor, welcher ein vergleichbares PDE5 Selektivitätsprofil wie Sildenafil aufweist, zeigen, dass sich die Gabe positiv auf eine Monokrotalin-induzierte PH auswirkt, und die Mortalität in einem chronischen Modell gesenkt werden kann.

In einem Modell der akuten pulmonalen Embolisation (APE) durch Mikropartikel konnten Dias-Junior et al. [82] durch Sildenafil ebenfalls eine selektive pulmonale Vasodilatation erzielen, die mit einer partiellen Verbesserung der APE-assoziierten Hypoxämie einherging.

Klinisch

Neben diesen experimentellen Versuchsansätzen wurde Sildenafil bereits auch klinisch eingesetzt (besprochen in Humbert et al. [157]).

So konnten Stocker et al. [391] in einer Studie zum Einsatz von Sildenafil und inhaliertem Stickstoffmonoxid bei Kleinkindern nach Herzoperationen zeigen, dass Sildenafil in einer Dosis von 0,35mg/kg zu einer mit iNO (20ppm) vergleichbaren Reduktion des pulmonalvaskulären Widerstands führt, der jedoch mit einem Abfall des arteriellen Blutdrucks und des SVR assoziiert ist. Die Autoren folgern, auch unter dem Verweis auf andere Studien, dass intravenös verabreichtes Sildenafil keine pulmonal selektiven, vasodilatorischen Eigenschaften besitzt. Eine kürzlich publizierte Studie von Trachte et al. [406] konnte jedoch

zeigen, dass oral verabreichtes Sildenafil bei acht Patienten mit postoperativer PH zu einer deutlichen Reduktion des PAP führt.

Michelakis et al. [254] konnten an Patienten mit primärer PH nachweisen, dass die orale Gabe von Sildenafil in einer pulmonalen Vasodilatation resultiert, und die Effekte mit denen von iNO vergleichbar sind. Zudem führte Sildenafil zu einer tendenziellen Senkung des PAWP. In einer Studie zum Vergleich der hämodynamischen Profile von Vardenafil und Tadalafil bei Patienten mit chronischer pulmonalarterieller Hypertonie konnten Ghofrani et al. [121,122] nach oraler Gabe von Sildenafil (50mg) einen signifikanten Abfall des PAP beobachten. Trotz der systemischen Applikation ging der pulmonal vasodilatorische Effekt mit einer Reduktion des PVR/SVR-Verhältnisses einher. Zudem kam es, wie auch durch die Inhalation von NO (20-40ppm), aber im Gegensatz zu Vardenafil und Tadalafil, zu einem Anstieg der pO_2-Werte. Die Autoren diskutieren, dass es durch Sildenafil nicht zu einer direkten, unspezifischen Vasodilatation im Gefäßbett, sondern zu einer Verstärkung lokaler cGMP-vermittelter, vasoregulatorischer Kreisläufe kommt, was zu einer verbesserten Anpassung der Ventilations-Perfusions-Verhältnisse führt. In einer randomisierten, kontrollierten Studie an Patienten mit sekundärer PH ,aufgrund einer Lungenfibrose, führte Sildenafil zu einer pulmonalen Vasodilatation und durch die Verbesserung des Ventilations-Perfusions-*Matchings* zu Verbesserungen des Gasaustauschs [124]. In einer Studie zum Vergleich von iNO, inhaliertem Iloprost und Sildenafil [123] bei 30 Patienten mit PH, führte Sildenafil zu einer dosisabhängigen Senkung des PAP und PVR. Die arterielle Oxygenierung stieg jedoch nicht an. Interessanterweise kam es durch die Inhalation von Iloprost, eine Stunde nach Sildenafil Einnahme zu einer verstärkten Vasodilatation. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch Leuchte et al. [210]. Auch bei Patienten mit nicht operablen, thromboembolischen Erkrankungen der Lunge, und damit assoziierter PH, konnte durch Sildenafil eine Verbesserung der PH erreicht werden [123]. Sildenafil zeigte bei einer HIV-assoziierten PH eine vergleichbare Senkung des pulmonalvaskulären Widerstands wie bei einer PPH [58]. Interessanterweise kam es in einer Studie von Ghofrani et al. [119] durch Sildenafil unter akuten experimentellen, wie auch chronisch hypoxischen Bedingungen, wie dem Aufenthalt in großen Höhen, zu einer Abschwächung der Hypoxie-induzierten PH und zu einer Erhöhung der Leistungsfähigkeit (siehe dazu auch Ghofrani et al. [120], Richalet et al. [316] und Ricart et al. [315]). Im Gegensatz zu der experimentell ausgelösten Hypoxie, kam es in großer Höhe (5400m über NN) durch Sildenafil jedoch zu keiner Verbesserung des Gasaustauschs. Die Autoren machen eine optimierte Ventilations-Perfusions-Abstimmung während des Akklimatisierungsprozesses für diesen Effekt verantwortlich.

Auch in einer früheren Arbeit von Zhao et al. [442], konnte Sildenafil bereits eine Hypoxie-induzierte pulmonale Hypertonie bei zehn Probanden eindrucksvoll antagonisieren.

Wie aus den aufgeführten experimentellen und klinischen Studien zum Einsatz des Sildenafils zur Behandlung einer PH zu ersehen ist, führten PDE5-spezifische Phosphodiesterase-Inhibitoren wie Sildenafil, selbst bei systemischer Applikation zu einer selektiven pulmonalen Vasodilatation. Als Grundlage für diese Selektivität wird angegeben, dass die PDE5 in der Lunge schon unter physiologischen Bedingungen hoch exprimiert ist [4] und bei Patienten mit chronischer PH aufgrund permanenter NO-Produktion und zirkulierender natriuretischer Peptide wie ANP und BNP dauerhaft stimuliert wird [122].

2.2.4 Erklärungsansätze

Warum es in der vorliegenden Arbeit zu keiner pulmonalarteriellen Vasodilatation gekommen ist, bleibt ungewiss. Es ist möglich, dass im OA-Modell und evtl. auch bei interstitiellen Lungenerkrankungen keine vermehrte PDE-Aktivierung durch hohe cGMP-Konzentrationen vorliegt. Mit wenig cGMP kann durch eine Blockierung der PDE folglich auch nur eine marginale Steigerung der cGMP-Konzentrationen verbunden mit einer geringfügigen Vasodilatation erreicht werden. Dafür würde sprechen, dass eine OA-vermittelte endotheliale Dysfunktion mit einer Erniedrigung der cGMP-Konzentrationen assoziiert ist [275] und eine direkte Hemmung der eNOS durch OA nachgewiesen wurde [72]. Des Weiteren wurde in einer Studie von Moreno et al. [261] der vasorelaxierende Effekt von Sildenafil durch ODQ (sGC-Inhibitor) stark gehemmt, was darauf schließen lässt, dass eine Aktivierung der sGC z.B. durch natriuretische Peptide für eine Wirkung von PDE-Hemmern mitverantwortlich ist, obwohl Sildenafil seine Wirkung auch ohne funktionelles Endothel und exogenes NO entfalten kann. Gegen den Erklärungsansatz, dass Sildenafil in der vorliegenden Arbeit zu keiner Vasodilatation führte, weil zu niedrige cGMP-Konzentrationen vorlagen, spricht jedoch, dass nach Schädigung von Lungen durch das Kochsalzauswaschverfahren zwar keine erhöhten cGMP-Spiegel gemessen wurden [3,323], Sildenafil aber dennoch zu einer Senkung der PH führte.

Weil keine Plasmakonzentrationen des Medikaments gemessen wurden, kann zudem nicht ausgeschlossen werden, dass es aufgrund eines niedrigen Wirkstoffspiegels zu keiner Hemmung der PDE5, und damit zu keinem Anstieg der cGMP-Konzentrationen gekommen ist. Da jedoch *in vitro* -Studien zeigen konnten, dass Plasmakonzentrationen von 40, 120 und 360ng/ml eine 50%, 75% und 90%ige Hemmung der PDE5 induzieren [408] und

eine i.v.-Infusion von 0,33 bzw. 0,66mg/kg Sildenafil bei Kindern zu Plasmaspiegeln von 946±333 bzw. 2198±979 ng/ml führten [359], kann, unter Ausschluss von Speziesunterschieden, jedoch davon ausgegangen werden, dass es wenigstens in den hohen Dosierungen zu einer ausreichenden Hemmung der PDE5 gekommen ist. Da die Halbwertszeit von Sildenafil mit ca. vier Stunden angegeben wird, ist zudem davon auszugehen, dass es trotz der nur 10minütigen Infusion während der 90min Versuchsdauer zu keinem massiven Abfall der Plasmaspiegel kam. Zudem konnten systemische Effekte beobachtet werden, was dafür spricht, dass es durch die Infusion von Sildenafil zu einer Wirkung gekommen ist.

Wie auch schon im Zusammenhang mit der ausbleibenden vasodilativen Wirkung von NO in diesem Schädigungsmodell angesprochen, führt vermutlich nicht nur eine pulmonalarterielle Vasokonstriktion sondern auch eine Kompression und/oder Obstruktion zur OA-induzierten PH. Von daher kann eine ausschließlich vasodilative Therapie sich möglicherweise gar nicht in einer Senkung des PAP auswirken.

Im Gegensatz zur pulmonalen Vasodilatation unterscheiden sich die Effekte von Sildenafil auf den Shuntfluss und die Oxygenierung in den einzelnen Studien deutlich. So diskutieren einige Autoren, bei denen die Gabe von Sildenafil zu einer Verbesserung der Oxygenierung führte, dass Sildenafil neben einer Selektivität im Sinne einer Senkung des pulmonalen Gefäßwiderstands, auch eine intrapulmonale Selektivität besitzt, welche sich in einer Verbesserung des Gasaustauschs auswirkt [116,117,122]. Andere Autoren, wie Lowson et al. [227] die keine positiven Effekte von Sildenafil auf die Oxygenierung beobachten konnten, konstatieren, dass es durch die systemische Applikation eines Vasodilators theoretisch zu einer Hemmung der hypoxischen Vasokonstriktion und damit zu einer Verschlechterung des intrapulmonalen Shuntflusses kommen kann. Die Autoren, wie auch Schulze-Neick et al. [359], folgern, dass der Einsatz von PDE5-Inhibitoren in der Therapie der akuten und chronischen PH zwar vielversprechend, aber aufgrund der fraglichen pulmonalen Selektivität nicht unkritisch zu bewerten ist. Sie kommen zu dem Schluss, dass sowohl die intrapulmonale Selektivität als auch der Effekt auf den intrapulmonalen Shuntfluss möglicherweise vom klinischen Zustand des Patienten, von der Dosierung des Medikaments und dem Alter abhängt, und letztlich der intrapulmonale Shunt die Anwendung von Sildenafil begrenzt. Auch Kleinsasser et al. [193] betonen, dass die Anwendung von Sildenafil bei Patienten mit COPD, aufgrund des bestehenden Shunts, mit erheblichen Risiken verbunden ist.

Greift man den Ansatz auf, dass die Wirkung von Sildenafil vom klinischen Zustand des Patienten abhängig ist, so kann man feststellen, dass ein positiver Effekt von Sildenafil auf den Shunt und die Oxygenierung in Versuchsmodellen erzielt wurde, bei denen die PH mit keiner akuten Lungenschädigung assoziiert ist (z.B. U46619, Hypoxie). Im Gegensatz dazu führte Sildenafil in Versuchsmodellen, in denen eine PH durch eine akute Lungenschädigung ausgelöst wurde bzw. mit dieser assoziiert war (z.B. Mekonium-Aspiration, Lavage) zu keiner Verbesserung der Gasaustauschstörung. Auch Ghofrani et al. [118] diskutieren, dass es durch die systemische Applikation von Vasodilatoren bei interstitiellen Lungenerkrankungen zu einer Umverteilung des Blutflusses zu nichtventilierten Lungenbereichen kommt, was zu einer Störung der hypoxischen Vasokonstriktion führt, welche wiederum eine Verschlechterung des Ventilations-Perfusions-*Mismatchs* und des Shuntflusses nach sich zieht. Die Folge sind eine verminderte arterielle Oxygenierung und die Verschwendung der kleinen Beatmungsreserven dieser Patienten. Zudem haben Kleinsasser et al. [193] 2001 bereits beschrieben, dass orale Dosen von 50 und 100mg Sildenafil bei gesunden Schweinen zu verminderten pO_2-Weren führen. Sie konnten mit Hilfe der MIGET feststellen, dass es durch Sildenafil zu einer vermehrten Perfusion von Lungenbereichen mit niedrigen V/Q-Verhältnissen kam und der intrapulmonale Shunt zunahm.

Daraus lässt sich ableiten, dass es im OA-Modell der akuten Lungenschädigung, durch das Vorliegen eines massiven Shuntflusses und eines hochgradigen alveolären Ödems durch Sildenafil zu keiner Verbesserung des Gasaustauschs kommen kann. Dem widerspricht jedoch, dass es in den Versuchen mit der niedrigsten Sildenafilkonzentration zu einem deutlichen aber nicht signifikanten Abfall des intrapulmonalen Shunt kam der zudem mit einer geringfügigen Verbesserung der arteriellen Oxygenierung assoziiert war.

2.2.5 Schlussfolgerungen

Die Publikation der oben beschriebenen und anderer Studien hat mittlerweile zu einer breiten und erfolgreichen Anwendung von Sildenafil zur Behandlung verschiedener Formen der pulmonalen Hypertonie geführt. Dies äußert sich auch in dem bereits im Dezember 2004 gestellten Antrag auf Zulassung von Viagra® zur Behandlung der pulmonalarteriellen Hypertonie unter dem Namen Revatio® bei der amerikanischen und europäischen Arzneimittel-Zulassungsbehörde. Dennoch: aus der vorliegenden Arbeit kann kein positiver Effekt von Sildenafil auf die OA-Induzierte Lungenschädigung abgeleitet werden. Daher, und aufgrund anderer Studien, muss der Einsatz von PDE5-Inhibitoren bei parenchymatösen Lungenerkrankungen wie dem ARDS kritisch gewertet werden.

2.3 Bay 58-2667 -Gruppen

2.3.1 Rationale

Bei der Substanz Bay 58-2667 handelt es sich um einen NO- und Häm-unabhängigen Aktivator der sGC. Durch die intravenöse Gabe sollte durch Aktivierung, auch von möglicherwiese durch ROS oxidierten und damit inaktiven sGC-Molekülen, über eine Erhöhung der intrazellulären cGMP-Konzentrationen ein selektiv pulmonaler, gefäßrelaxierender Effekt erzielt werden. Dieser sollte sich wiederum positiv auf die OA-induzierte Gasaustauschstörung auswirken und somit zu einer Verbesserung der Perfusionsstörung führen.

2.3.2 Eigene Ergebnisse

- **Hämodynamik**

Die Infusion von Bay 58-2667 in den Konzentrationen von 10 und 30µg/kg/10min nach OA-Gabe hatte keine deutlichen Effekte auf den SAP bzw. SVR. In der Versuchsgruppe mit der höchsten Konzentration konnte der SAP, trotz massiver Arterenol® Gaben, jedoch nicht konstant gehalten werden. Entsprechend wurden in dieser Versuchsgruppe auch niedrigere systemisch-vaskuläre Widerstände berechnet, was neben dem verminderten SAP auch auf die niedrigen zentralvenösen Drücke und das leicht erhöhte HZV zurückzuführen ist. Aufgrund der gravierenden systemischen Vasodilatation verstarben während der Versuchsdauer drei von fünf Versuchstieren.
Der OA-induzierte Anstieg des PAP konnte durch die Gabe von Bay 58-2667 nicht gesenkt werden. Der pulmonalvaskuläre Widerstand fiel in der Bay 58-2667 100µg -Gruppe jedoch signifikant ab, was möglicherweise auf das erhöhte HZV zurückgeht.

- **Blutparameter**

Was die Blutparameter betrifft, so muss festgestellt werden, dass die Infusion von Bay 58-2667 zu keiner Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung führte. Vielmehr kam es in der Versuchsgruppe mit der höchsten Konzentration des Therapeutikums zu einer deutlichen Verschlechterung der arteriellen Oxygenierung. Als möglicher Grund dafür kann angeführt werden, dass es aufgrund einer nicht selektiven pulmonalen Vasodilatation möglicherweise zu einer weiteren Verschlechterung der Ventilations-Perfusions-Verhältnisse und des intrapulmonalen Shunts gekommen ist.

➢ Pulmonale Parameter

In Bezug auf die pulmonalen Parameter kann konstatiert werden, dass es durch Bay 58-2667 zu einem leichten, wenn auch nicht signifikanten, Anstieg der Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen und des intrapulmonalen Shunts gekommen ist. Besonders erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang, dass die Lungen der vorzeitig verstorbenen Tiere in der Bay 58-2667 100µg, unmittelbar postmortal entnommen und in die Berechnung der *wet-to-dry weight ratio*s einbezogen wurden.

Interessant ist, dass für die Gruppe OA-Bay 58-2667 10µg im Vergleich mit der OA-Bay Kontrollgruppe keine signifikant niedrigeren *wet-to-dry weight ratio*s gemessen wurden, sich der Verlauf der maximalen Beatmungsdrücke jedoch signifikant von den Kontrollen unterschied. Warum es zu diesen signifikanten Unterschieden kam, ist nicht unmittelbar ersichtlich. Die *wet-to-dry weight ratio*s lagen zwar tendenziell unter denen der Kontrollen, aber dennoch lassen sich keine Anhaltspunkte für eine Erhöhung der *Compliance* ausmachen. Vergleicht man die Ergebnisse zudem mit denen der NO-Gruppen, so kann festgestellt werden, dass die Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnisse dieser Gruppen noch deutlicher unter denen der Kontrollen lagen, ohne dass sich die Beatmungsdrücke veränderten. Führt man an, dass der Anstieg der Beatmungsdrücke durch OA möglicherweise auf einer Bronchokonstriktion beruhen, kann man diskutieren, dass es durch Bay 58-2667 in der Konzentration von 10µg/kg/10min eventuell zu einer Bronchodilatation gekommen ist. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass eine Bronchodilatation durchaus durch cGMP-vermittelt werden kann. So konnten Cardell et al. [57] durch Kohlenmonoxid (CO), welches ebenfalls die sGC durch Bindung an der prosthetischen Hämgruppe aktiviert [52,78,329,351,392], eine dosisabhängige Verminderung einer durch Histamin vermittelten pulmonalen Widerstandserhöhung nachweisen. Dennoch bleibt es fraglich, warum in der vorliegenden Arbeit gerade Bay 58-2667 und nur in dieser Konzentration zu einer Erhöhung der Lungen-*Compliance* führte.

❖ Zusammenfassung

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die 10minütige Infusion von 100µg Bay 58-2667 pro kg zu einer deutlichen systemischen Vasodilatation führte, was trotz massiver Katecholamiongaben zum vorzeitigen Tod von drei von fünf Versuchstieren noch vor Versuchsende führte. Zudem trat in dieser Versuchsgruppe eine deutliche Verschlechterung der arteriellen Oxygenierung auf. In allen Therapiegruppen konnte kein positiver Effekt von Bay 58-2667 auf die OA-induzierte Lungenschädigung beobachtet werden. Die signi-

fikant niedrigen Beatmungsdrücke in der Versuchsgruppe OA-Bay 58-2667 können nicht schlüssig erklärt werden.

2.3.3 Andere Studien

Bisher liegen noch nicht viele Studien über den Einsatz von Bay 58-2667 als Vasodilator in experimentellen Versuchsansätzen vor. Lediglich Boerrigter et al. [45] konnten in einem experimentellen Herzinsuffizienzmodell, Schrittmacher Tachykardie bei Hunden, nachweisen, dass Bay 58-2667 in i.v.-Konzentrationen von 0,1-0,3µg/kg/min zu einer Reduktion des mSAP, RAP, PAP, PAWP, SVR und des vaskulären Widerstands der Niere führte. Im Gegensatz dazu stiegen das HZV und der renale Blutfluss an. Die Autoren folgern, dass Bay 58-2667 zu einer Entlastung des Herzens und einer systemischen bzw. renalen Vasodilatation führt. Stasch et al. [386] beschreiben, dass Bay 58-2667 starke vasorelaxierende Wirkungen auf isolierte arterielle Ringpräparate zeigt. Mit IC_{50} Werten im subnanomolaren Bereich war Bay 58-2667 dabei ca. 160mal potenter als Bay 41-2272. Zudem reduzierte Bay 58-2667 in Langendorff-Präparaten von Rattenherzen den koronaren Perfusionsdruck in einer konzentrationsabhängigen Weise. Die orale Gabe von Bay 58-2667 führte in einer radiotelemetrischen Untersuchung an Ratten zu einer dosisabhängigen und lang anhaltenden Senkung des Blutdrucks und einem reflektorischen Anstieg der Herzfrequenz. Das hämodynamische Profil von Bay 58-2667 sowohl auf das arterielle Hoch- und venöse Niederdruck-System war mit dem von organischen Nitrovasodilatoren vergleichbar. Neben dem Abfall des arteriellen Butdrucks induzierten beide Substanzen eine Verminderung der diastolischen pulmonalarteriellen Drücke und des rechtsatrialen Drucks.

2.3.4 Schlussfolgerungen

Bei Bay 58-2667 handelt es sich nach Stasch [386] um die erste Substanz, die ein ähnliches hämodynamisches Profil aufweist wie organische Nitrate, indem es sowohl eine arterielle als auch venöse Vasodilatation erzeugt. Dennoch sind die pharmakokinetischen Profile der Substanzen verschieden. Bay 58-2667 hat im Vergleich mit den organischen Nitraten eine niedrigere Clearance, höhere Halbwertszeit und eine deutlich niedrigere freie Plasmaverfügbarkeit. Daher sind höhere Plasmakonzentrationen nötig, um vergleichbare Effekte zu erzielen. Dennoch ist die Wirkdauer von Bay 58-2667 länger als die von Nitroglycerin [384]. Wie aus den Ergebnissen für Bay 58-2667 100µg zu sehen ist, führt Bay 58-2667 nicht zu einer selektiven pulmonalen Vasodilatation, sondern vielmehr zu einer systemischen Gefäßerweiterung, was in einer Verschlechterung der OA-induzierten Gasaustauschstörung und dem vorzeitigen Tod von drei von fünf Versuchstieren resultierte. Es kann zwar argu-

mentiert werden, dass diese Effekte in einer zu hohen Dosierung des NO- und Häm-unabhängigen sGC-Aktivators begründet waren, insbesondere da die Effekte bei den niedrigen Konzentrationen nicht zu beobachten waren, aber dennoch führte auch die niedrigste Konzentration zu keiner selektiven pulmonalen Vasodilatation und Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung. Bedenkt man, dass Bay 58-2667 auch die oxidierte inaktive Form der sGC aktiviert, so kann diskutiert werden, dass der massive Abfall des SAP in den Versuchen mit der höchsten Konzentration Bay 58-2667 möglicherweise auf große Mengen inaktivierter sGC in der systemischen Zirkulation zurückzuführen ist. Dies ist besonders deshalb interessant, da erstens die Bildung von ROS, die zu einer Inaktivierung der sGC durch Oxidation des Häm-Eisens zum Fe^{3+} führen können, im OA-Modell der akuten Lungenschädigung nachgewiesen wurde, und zweitens die Versuche mit NO möglicherweise aufrund einer ausgeprägten Hemmung der sGC durch ROS diskutiert werden kann.
Von daher kann gefolgert werden, dass Bay 58-2667 für die Therapie einer OA-induzierten Lungenschädigung bzw. einer mit einer pulmonalen Hypertonie assoziierten parenchymatösen Lungenerkrankung nicht in Frage kommt. Aufgrund seines systemisch vasorelaxierenden Effekts kann Bay 58-2667 aber möglicherweise für die Therapie der systemischen Hypertonie eingesetzt werden. Insbesonder sein therapeutisches Potential, hämfreie oder durch Oxidation inaktivierte sGC zu aktivieren bietet die völlig neue Möglichkeit, eine Vasorelaxation durch Aktivierung der sGC, auch bei Erkrankungen die mit oxidativem Stress assoziiert sind zu erreichen. Zu nennen wären hier der systemische Bluthochdruck, Diabetes, Arteriosklerose und neurodegenerativen Erkrankungen wie die Alzheimer- oder Parkinson-Krankheit.

2.4 Bay 41-2272 -Gruppen

2.4.1 Rationale

Bei Bay 41-2272 handelt es sich wie auch bei Bay 58-2667 um einen NO-unabhängigen Aktivator der lösliche Guanylatzyklase. Im Gegensatz zu Bay 58-2667 stimuliert Bay 41-2272 die sGC jedoch Häm-abhängig. Durch die Infusion in drei unterschiedlichen Konzentrationen sollte eine selektive pulmonale Vasodilatation erreicht werden, die sich positiv auf die OA-induzierte Lungenschädigung und Perfusionsstörung auswirken sollte.

2.4.2 Eigene Ergebnisse

- **Hämodynamik**

Der SAP lag trotz niedrigerer Katecholamingaben insbesondere zum Versuchsende hin deutlich höher als in den Kontrollgruppen. Betrachtet man diese Ergebnisse vor dem Hintergrund der Versuche mit Bay 58-2667, so kann festgestellt werden, dass Bay 41-2272, trotz der höheren i.v.-Dosierungen, zu keiner systemischen Vasodilatation führte. Dies wird auch dadurch deutlich, dass der SVR der Bay 41-2272 30µg -Gruppe signifikant über dem der Kontrolle lag. Dieser Effekt kann jedoch auch auf das deutlich niedriger HZV zurückgeführt werden. In diesem Zusammenhang ist zu bemerken, dass das HZV der Bay 41-2272 -Gruppen einen leichten Abwärtstrend aufwies, wohingegen bei den Bay 58-2667 -Versuchen eine Tendenz zu höheren Herzzeitvolumina zu beobachten war.
Was den PAP betrifft, so kann festgestellt werden, dass Bay 41-2272 in den Konzentrationen von 30 und 300µg/kg/10min zu einer deutlichen, wenn auch nicht signifikanten Senkung des PAP geführt hat. Der PVR lag für diese Konzentrationen zwar unter den Kontrollen, aber auch hier wurden keine signifikanten Unterschiede berechnet. Als mögliche Ursache kann das verminderte HZV der Therapiegruppen angebracht werden.

- **Blutparameter**

In Bezug auf die Blutparameter kann festgestellt werden, dass Bay 41-2272, trotz des leicht pulmonal vasodilativen Effekts und des reduzierten Shunts, in keiner Konzentration zu einer Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung führte. Lediglich in der Gruppe Bay 41-2272 100µg fiel der pO_2 während der Infusion nicht so dramatisch ab wie in der Kontroll- und den anderen Therapiegruppen. Dies ist, möglicherweise auf den erhöhten pH-Wert dieser Versuchsgruppe zum Zeitpunkt t=30min zurückzuführen (Bohr-Effekt). Der pH-Wert fiel in der Gruppe OA-Bay 41-2272 30µg am schwächsten ab, was

sich auch in einer Signifikanz der zweifaktoriellen Varianzanalyse und leicht erhöhten O_2-Sättigungs-Werten widerspiegelt. Als mögliche Ursache kommt die geringe Katecholaminmenge in Betracht, da sich der pCO_2-Wert dieser Gruppe nicht von dem der Kontrolle und den anderen Therapiegruppen unterschied.

- **Pulmonale Parameter**

Auch hinsichtlich der pulmonalen Parameter konnte durch die Infusion von Bay 41-2272 keine Verbesserung der Beatmungsdrücke erreicht werden. Dies ist insbesondere deshalb verwunderlich, da die Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnisse der Therapiegruppen deutlich unter denen der Kontrollen lagen. Für die Gruppe OA-Bay 300µg wurde sogar ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe berechnet. Als eine mögliche Begründung für die geringeren *wet-to-dry weight ratio*s können die verminderten pulmonalarteriellen Drücke angebracht werden. So waren in der Gruppe OA-Bay 41-2272 300µg die niedrigsten *wet-to-dry weight ratios* auch mit den deutlichsten vasodilativen Effekten korreliert. Möglicherweise kam es jedoch auch durch eine verminderte Vasokonstriktion zu der verminderten pulmonalvaskulären Leckage. Auch ein direkter protektiver Effekt von hohen cGMP-Konzentrationen kommt in Betracht. So konnten Egemnazarov et al. [88] an isolierten Kaninchenlungen eine Ischämie/Reperfusion-induzierte Perfusionsstörung durch Vorbehandlung mit Bay 41-2272 (3µM) deutlich abschwächen und den kapillären Filtrationskoeffizient (Kfc) reduzieren. Des Weiteren ist nicht auszuschließen, dass eine direkte Wirkung von Bay 41-2272 auf Ouabain sensitive Natriumpumpen [25] einen Effekt auf die OA-induzierte Permeabilitätsstörung vermittelte.
Nicht zu erklären ist jedoch, dass der deutlichste Abfall des intrapulmonalen Shunts in den Versuchen mit der niedrigsten Dosis zu beobachten war, obwohl die Nass- zu Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen in den Versuchen mit der höchsten Konzentration am niedrigsten waren.

Zusammenfassung

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die i.v.-Gabe von Bay 41-2272 ohne Senkung der systemisch-arteriellen Drücke zwar zu einer leichten pulmonalen Vasodilatation und Verbesserung des intrapulmonalen Shunts führte, sich die OA-induzierte Gasaustauschstörung durch diese Effekte jedoch nicht verbesserte. Im Gegensatz dazu konnten in den Therapiegruppen deutlich niedrigere *wet-to-dry weight ratio*s ermittelt werden, die sich jedoch nicht positiv auf die OA-induzierte Verminderung der *Compliance* auswirkten.

2.4.3 Andere Studien

Bay 41-2272 zeigte an mit Phenylephrin kontrahierten Aortenringen von Kaninchen eine konzentrationsabhängige Relaxation mit einer IC_{50} die ca. viermal bzw. über 30mal geringer war als die von YC1 bzw. Glyceroltrinitrat (NTG). Bay 41-2272 ist um mehr als eine Größenordnung potenter als SNP und SIN-1 [387].

Die perorale (0,3, 1,0 und 3,0mg/kg) wie auch die intravenöse (0,01, 0,03 und 0,1mg/kg) Gabe von Bay 41-2272 führte bei anästhesierten Ratten zu einem dosisabhängigen und lang anhaltenden Abfall des mittleren Blutdrucks [393,394]. Interessanterweise zeigte auch das Hydroxypropyl-Stoffwechselprodukt von Bay 41-2272, dessen Plasmakonzentration innerhalb von zwei Stunden nach Infusion von Bay 41-2272 (1,0mg/kg) auf ein annähernd gleiches Niveau anstieg, ein mit Bay 41-2272 vergleichbares *in vivo* -Aktivitätsprofil, so dass davon ausgegangen werden kann, dass dieser Metabolit zu einer Vasodilatation *in vivo* beiträgt. Die orale Gabe von Bay 41-2272 (1-10mg/kg) bei hypertensiven Ratten führte ebenfalls zu einem dosisabhängigen und lang anhaltenden Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks. In einer Langzeituntersuchung an transgenen Renin-Ratten konnte ein Anstieg des systolischen Blutdrucks durch die Gabe von Bay 41-2272 ohne Anzeichen einer Toleranz verhindert werden. Die positiven Effekte manifestierten sich neben der Vasodilatation auch in einer antiaggregatorischen Wirkung und verminderten Mortalität [387].
Boerrigter et al. [44] konnten wie auch schon für Bay 58-2667 in einem caninen Herzinsuffizienzmodell mit Bay 41-2272 (2 und 10µg/kg/min i.v. für 15min) eine arterielle Vasodilatation erzeugen. So fiel sowohl der PAP, PAWP und SAP als auch der systemische und renale Gefäßwiderstand ab. Zudem führte die Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase zu einer mit NTG vergleichbaren Steigerung des Herzzeitvolumens. Wie in Evgenov et al. [92] erwähnt, erörtern Boerrigter et al., dass der Anstieg des HZV durch den Abfall des SVR bedingt wird, oder aber durch einen positiv-inotropen Effekt des Bay 41-2272 -vermittelt wird (siehe dazu auch Satoh und Makino [332]). Auch der Abfall des PAWP ohne eine Verminderung des rechtsatrialen Drucks kann nach Meinung der Autoren möglicherweise auf eine reduzierte Nachlast zurückgeführt werden, aber auch aus einem positiv-lusitropen Effekt (Verbesserung der kardialen Relaxation) resultieren, insbesondere da eine Phosphorylierung von Troponin I durch eine cGMP-abhängige Proteinkinase zu einer verbesserten diastolischen Dehnbarkeit führt [205]. Es bleibt festzuhalten, dass Bay 41-2272 zu einer reinen arteriellen Vasodilatation führte, ohne dass der rechtsatriale Druck oder der pulmonalvaskuläre Widerstand gesenkt wurde.

In einer kürzlich erschienen Studie von Evgenov et al. [92], wurden die Effekte von Bay 41-2272 auf den pulmonalen Kreislauf untersucht. Dazu wurde an Lämmern evaluiert, ob erstens die direkte Stimulation der sGC durch Bay 41-2272 zu einer Senkung einer U46619-induzierten pulmonalen Hypertonie führt, und zweitens, ob die Substanz die pulmonalen vasodilativen Effekte einer NO-Inhalation beeinflussen (siehe dazu Diskussion Bay 41-2272 NO). Durch die jeweils 30minütige i.v.-Infusion von 0,03, 0,1 und 0,3mg/kg/h Bay 41-2272 konnte eine dosisabhängige Reduktion des PAP und PVRI erreicht werden, wobei die maximale pulmonale Vasodilatation 15min nach Beginn der Infusion zu beobachten war. In den beiden höheren Dosierungen kam es zusätzlich zu einer Verringerung des PAWP, SAP, SVR und PVRI/SVRI und zu einem Anstieg des CI und SVI. Zudem führte Bay 41-2272 in der höchsten Konzentration zu einer Verbesserung der Oxygenierung und der arterioalveolären Sauerstoffdifferenz ($AaDO_2$). Bei den Versuchen korrelierten die Bay 41-2272 -Plasmaspiegel mit der transpulmonalen cGMP-Freisetzung und mit der Reduktion der hämodynamischen Parameter PAP, PVRI, MAP und SVRI. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass Bay 41-2272 höchstwahrscheinlich durch einen NO-Synthase unabhängigen Anstieg der pulmonalen cGMP-Produktion, zu einer Verminderung einer U46619-induzierten pulmonalen Hypertonie bei Lämmern führt. Obwohl hohe Dosen Bay 41-2272 zu einer systemischen, von endogenem NO-abhängigen Vasodilatation führen, folgern die Autoren vor dem Hintergrund eines erniedrigten PVRI/SVRI und gegenüber dem SAP und SVRI signifikant größeren prozentualen Abfalls des PAP und PVR, dass der pulmonal vasodilatative Effekt von Bay 41-2272 gegenüber der systemischen Vasodilatation überwiegt. In Bezug auf Mullershausen et al. [264], die eine Hemmung der PDE5 durch Bay 41-2272 nachweisen konnten, schließen Evgenov et al. aufgrund der gemessenen niedrigen Bay 41-2272 -Konzentrationen und der Versuche mit L-NAME aus, dass die beobachteten pulmonal vasodilatorischen Effekte durch eine Hemmung der PDE5 vermittelt wurden. Als mögliche Erklärung für die Anstiege im CI und SVI geben die Autoren eine erniedrigte rechts- und linksventrikuläre Nachlast an, aber schließen, unter Verweis auf Boerrigter et al. [44] nicht aus, dass die Effekte durch eine positiv-inotrope Wirkung von Bay 41-2272 vermittelt werden.

Deruelle et al. [80] untersuchten ebenfalls die Effekte einer Bay 41-2272 -Infusion, jedoch an einem fetalen Lamm-Modell. Um die akuten Effekte auf die pulmonale Hämodynamik zu untersuchen, infundierten sie 100µg, 500µg, 1mg und 2,5mg Bay 41-2272 für 10min i.v. über einen pulmonalarteriellen Katheter. Zusätzlich wurden Versuche mit einer Dauerinfusion Bay 41-2272 (0,1mg/ml für 120min mit 0,1ml/min ≙ 1,2mg Gesamtdosis) mit und

ohne NOS-Inhibition sowie mit Sildenafil in der gleichen Dosierung durchgeführt. In den akuten Behandlungsgruppen konnte ein deutlicher Rückgang des PVR beobachtet werden, obwohl der pulmonale Blutfluss anstieg. Die Blutgase, wie auch die linksatrialen Drücke, wurden durch die kurzzeitige Infusion von Bay 41-2272 nicht beeinflusst. Auch durch die kontinuierliche Infusion von Bay 41-2272 wurde trotz einem nahezu dreieinhalbfachen Anstieg des pulmonalen Blutflusses eine deutliche pulmonale Vasodilatation erzeugt. Dabei war der Abfall des berechneten pulmonalvaskulären Widerstands in einem Abfall der pulmonalarteriellen Drücke von 46±2 auf 41±2mmHg begründet. Interessant ist, dass der maximale pulmonal vasodilative Effekt 40min nach Beginn der Infusion zu beobachten war und über die gesamte Infusionsdauer anhielt. Erst 30min nach Beendigung der Infusion stieg der PAP wieder an. Auch hier veränderten sich die arteriellen Blutgase nicht, obwohl die Herzfrequenz um acht Prozent anstieg und die systemisch-arteriellen Drücke um sechs Prozent abfielen. Zudem führte eine Hemmung der NOS zu keiner Veränderung der durch Bay 41-2272 -vermittelten Effekte. Durch die Infusion von Sildenafil konnte zwar ebenfalls ein Anstieg des pulmonalen Blutflusses und ein Abfall des PVR erzeugt werden, jedoch konnten die Autoren keine Effekte auf die pulmonalarteriellen Drücke, die arteriellen Blutgase, die Herzfrequenz und die systemisch-arteriellen Blutgase feststellen. Im Vergleich mit Bay 41-2272 führte Sildenafil zu einer kürzeren und nicht so lang anhaltenden pulmonalen Vasodilatation. Die Autoren diskutieren, dass Bay 41-2272 zu einer selektiven pulmonalen Vasodilatation führt, wobei systemische Effekte erst bei höheren Dosen oder einer Langzeitinfusion auftraten. Durch die Versuche in denen die NOS gehemmt wurden, konnten sie zudem zeigen, dass die Effekte nicht durch eine Hemmung der PDE5 vermittelt werden (siehe dazu auch Stasch et al. [387], Mullershausen et al. [264] und Bischoff und Stasch [39])

2.4.4 Erklärungsansätze

Wie auch in Evgenov et al., in dessen Studie vergleichbare i.v.-Dosen Bay 41-2272 verwendet wurden, konnte in der vorliegenden Arbeit ein positiver Effekt von Bay 41-2272 auf den pulmonalarteriellen Druck beobachtet werden. Es kann jedoch festgestellt werden, dass der pulmonal vasodilatative Effekt gegenüber der systemischen Vasodilatation überwiegt. Im Gegensatz zum Einsatz von Bay 41-2272 im U46619-Modell, konnte in der vorliegenden Arbeit jedoch kein positiver Effekt auf den Gasaustausch beobachtet werden. Dies ist möglicherweise darin begründet, dass im OA-Modell der akuten Lungenschädigung die massive Gasaustauschstörung durch verschiedene Mechanismen ausgelöst wird

und es nicht nur aufgrund einer pulmonalen Hypertonie zu einer verminderten Oxygenierung kommt. Möglicherweise war der Abfall des pulmonalarteriellen Drucks, aufgrund einer Deaktivierung der sGC durch ROS auch nicht stark genug, um die Ventilations-Perfusionsverhältnisse und den intrapulmonaler Shunt dahingehend zu verbessern, dass einer keine Verbesserung des Gasaustauschs erreicht werden konnte, obwohl die Qs/Qt-Werte deutlich niedriger waren als in den Kontrollen. Die Reduktion der Nass- zu Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen ist möglicherweise auf die, aufgrund des leicht pulmonalvasodilativen Effekts von Bay 41-2272 verminderten hydrostatische Drücke, oder einem positiven Effekt höhere cGMP-Konzentrationen zurückzuführen.

Aufgrund der kürzlich erschienenen Studie von Bawankule et al. [(25)] muss diskutiert werden, ob dieser Effekt ausschließlich durch eine Erhöhung der cGMP-Konzentrationen infolge einer Aktivierung der sGC vermittelt wurde, oder ob möglicheweise auch eine Aktivierung Ouabain sensitiver Natriumpumpen durch Bay 41-2272 zu der pulmonalen Vasodilatation beigetragen hat. Wie die Autoren in der noch im Druck befindlichen Publikation zeigen konnten, wird der Effekt von Bay 41-2272 durch ODQ nur teilweise aufgehoben, was den Schluss nahe legt, dass neben der Aktivierung der sGC ein weiterer Mechanismus an der Bay 41-2272 -vermittelten Relaxation von mit 5-Hydroxytryptamin (5HT, Serotonin) vorkontrahierten, endothelfreien pulmonalarteriellen Ringpräparaten beteiligt ist. Da durch Versuche mit Ouabain (g-Strophantin), einem selektiven Blocker der Na^+/K^+-ATPase, und kaliumfreier Pufferlösung der Effekt von Bay 41-2272 nahezu aufgehoben werden konnte, folgern Bawankule et al., dass die Stimulierung der sarkolemnalen Natriumpumpe ein wichtiger Mechanismus der Bay 41-2272 -vermittelten Relaxation von ovinen pulmonalarteriellen Ringpräparaten darstellt.

Da das gemessene HZV in mehreren Studien durch die Gabe von Bay 41-2272 anstieg, wird ein positiv-inotroper bzw. lusitroper Effekt von Bay 41-2272 erörtert. Obwohl in der vorliegenden Arbeit im Gegensatz dazu ein leichter Abwärtstrend des HZV beobachtet wurde, kann vor dem Hintergrund niedrigerer Katecholamingaben und der Berechnung des HZV diskutiert werden, dass sich die Gabe von Bay 41-2272 ebenfalls positiv auf die kardiale Leistung auswirkte, durch erhöhte arteriovenöse Sauerstoffsättigungsdifferenzen jedoch niedrigere HZVs berechnet wurden. Auf der anderen Seite wird jedoch auch angeführt, dass das erhöhte HZV auch durch eine Reduktion der Nachlast, die aus einem Abfall des SAPs resultierte, begründet sein kann. Da in unseren Versuchen eine systemische Vasodilatation durch Katecholamingabe verhindert wurde, so dass es zu keiner Entlastung des Herzens kommen konnte, wurde ein Anstieg des HZV möglicherweise auch dadurch un-

terbunden. Zudem muss bedacht werden, dass die Wirkung von Bay 41-2272 an der sGC unterschiedlicher Spezies verschieden stark ausfallen kann [27]. Bei Hunden steigt der Bay 41-2272 -Plasmaspiegel nach i.v.-Gabe von 1,0mg/kg innerhalb von zwei Stunden auf nahezu 100µg/l an. Da es sich bei Bay 41-2272 um ein *high-clearance*-Medikament handelt, liegt die Halbwertszeit bei den Spezies Ratte (i.v. 0,5h, p.o. 1h) und Hund (i.v. 1h; p.o. 2h) relativ niedrig [393].

2.4.5 Schlussfolgerungen

Mit den Bay 41-2272 -Versuchen konnte in der vorliegenden Arbeit zum ersten Mal ein leichter pulmonal vasodilativer Effekt nachgewiesen werden, der mit einer Verbesserung des intrapulmonalen Shunts verbunden war, sich jedoch nicht positiv auf die OA-induzierte Gasaustauschstörung auswirkte. Im Gegensatz zu anderen Studien wurde keine systemische Vasodilatation beobachtet, da der SAP, trotz geringer Norepinephringaben, nicht abfiel. Das HZV zeigte zwar einen leichten Abwärtstrend, aber aufgrund der niedrigen Norepinephringaben und der Berechnung des HZV kann ein bereits nachgewiesener positiver Effekt auf die kardiale Leistung nicht ausgeschlossen werden. Wie auch der Shunt, lagen die Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen deutlich niedriger, auch wenn die Beatmungsdrücke dadurch nicht beeinflusst wurden. Aufgrund des bekannten Wirkmechanismus können die Effekte auf eine Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase und damit verbundene Steigerung der intrazellulären cGMP-Konzentrationen zurückgeführt werden.

3 DISKUSSION DER KOMBINATIONSGRUPPEN

3.1 NO-Sil-Gruppe

3.1.1 Rationale

Da in den Einzelversuchen mit Sildenafil und NO keine deutlichen Verbesserungen der OA-induzierten Lungenschädigung erreicht werden konnte, sollten die Effekte einer gemeinsamen Applikation der beiden Substanzen evaluiert werden. Dabei sollte die sGC durch die inhalative Gabe von NO in gut ventilierten Lungenbereichen aktiviert werden und die cGMP-Konzentration in diesen Gebieten durch Hemmung der PDE5 zusätzlich erhöht werden. Als Resultat sollte eine pulmonale und intrapulmonal selektive Vasodilatation erreicht werden, die sich positiv auf die OA-induzierte Lungenschädigung auswirken sollte.

3.1.2 Eigene Ergebnisse

- **Hämodynamik**

Durch die gemeinsame Applikation von iNO (2ppm) und Sildenafil in einer Konzentration von 100µg/kg(10min) konnte keine Verbesserung der OA-induzierten hämodynamischen Veränderungen erreicht werden. Auch im Vergleich mit den Versuchsgrupppen OA-NO 2ppm und OA-Sil 100µg konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Lediglich der Parameter PVR unterschied sich in der Kombinationsgruppe signifikant von der OA-Sil 100µg -Gruppe. Interessant ist jedoch, dass der leichte Abfall des SAP während der Sildenafil-Infusion bei den Kombinationsversuchen mit iNO nicht so deutlich ausgeprägt war, wie bei alleiniger Infusion von Sildenafil. Der leichte Anstieg des HZV, der schon in den Sildenafil-Gruppen zu beobachten war, war auch in der Kombinationsgruppe mit NO zu sehen.

- **Blutparameter**

Was die Blutparameter betrifft, so kann festgestellt werden, dass die Kombination von i.v. Sildenafil und inhaliertem NO zu einer Verschlechterung der OA-induzierten Gasaustauschstörung führte. Dies wurde insbesondere dadurch deutlich, dass die arteriellen pO_2-Werte und die O_2-Sättigung massiv abfielen, und der pCO_2 leicht anstieg. Vergleicht man die Werte der Kombinationsgruppe mit denen der Versuchsgruppen, in denen die Vasodilatantien separat voneinander eingesetzt wurden, so kann man ebenfalls feststellen, dass

die Kombination der beiden Substanzen zu einer Verschlechterung der Oxygenierung geführt hat. So unterschieden sich die Kurvenverläufe für die Parameter pO_2 und O_2-Sättigung von NO 2ppm und Sil 100µg signifikant von dem der OA-Sil-NO-Gruppe.

- **Pulmonale Parameter**

Da weder der Beatmungsdruck, noch das Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnis der Lungen durch die gemeinsame Gabe von iNO und Sildenafil beeinflusst wurden, kann gefolgert werden, dass es durch die Kombinationstherapie zu keiner Verbesserung aber auch zu keiner Verschlechterung der OA-induzierten Perfusionsstörung und verringerten *Compliance* gekommen ist. Was den intrapulmonaler Shunt betrifft, so führte die gemeinsame Gabe von NO und Sildenafil nicht nur zu einer signifikanten Verschlechterung der Qs/Qt-Werte gegenüber der Kontrolle, sondern auch gegenüber den Versuchsgruppen, in denen die Substanzen allein gegeben wurden.

- **Zusammenfassung**

Es bleibt festzuhalten, dass die gemeinsame Gabe von iNO und Sildenafil im Vergleich zur Kontrolle aber auch zur alleinigen Gabe der beiden Vasodilatoren zu einer Verschlechterung des Shunts und der Oxygenierung führte und die pulmonalarteriellen Drücke nicht gesenkt wurden.

3.1.3 Andere Studien

Der gemeinsame Einsatz von inhaliertem Stickstoffmonoxid und Sildenafil, sowie anderen PDE5-Inhibitoren wurde bereits in einer Reihe von Studien untersucht.

Experimentell

Vernebeltes Sildenafil und intravenöses Zaprinast führte in Studien von Ichinose et al. zu einer Potenzierung der gefäßrelaxierenden Eigenschaften von iNO [160,161]. Auch in einem Endotoxinmodell an isolierten Rattenlungen kam es durch Zaprinast zu einer Verstärkung des vasodilativen Effekts von NO. In einer Studie von Adrie et al. [3], in der bei Schafen eine akute Lungenschädigung durch saline Auswaschungen induziert wurde, führte die Gabe von Zaprinast jedoch zu einer Aufhebung der NO-vermittelten Senkung der PH und einer Verschlechterung der arteriellen Oxygenierung. Auch Shekerdemian et al. [375] konnten in einem Modell des Mekonium-Aspirationssyndroms an Ferkeln zeigen, dass die i.v.-Gabe von Sildenafil (2mg/kg über 2h) zwar die Abschwächung der PH durch iNO verstärkte, dieser positive Effekt jedoch mit einer massiven Verschlechterung der Gasaus-

tauschstörung einherging. Sie folgern, dass Sildenafil in einer i.v.-Dosis von mehr als 0,5mg/kg in Kombination mit NO zwar zu einer pulmonalen Vasodilatation führt, aber mit unvereinbaren Auswirkungen auf die arterielle O_2-Sättigung und die systemischen Zirkulation verbunden ist und diskutieren, dass es aufgrund der eher systemischen Wirkung des Sildenafils in Kombination mit iNO zu einer allgemeinen pulmonalen Vasodilatation kommt, durch die der Blutfluss von durch iNO selektiv dilatierten ventilierten Lungenbereichen zu nicht belüfteten Bezirken umgeleitet wird. Die Folge ist ein Anstieg im intrapulmonalen Shunt, was eine Verschlechterung des Gasaustauschs nach sich zieht.

Klinisch

In einer Studie zum Einsatz von Sildenafil und inhaliertem Stickstoffmonoxid bei Kleinkindern nach Herzoperationen, konnten Stocker et al. [(391)] zeigen, dass der kombinierte Einsatz von NO (20ppm) und Sildenafil (0,35mg/kg i.v.) zu einer Senkung des PAP führte. Neben diesem positiven Effekt wurden jedoch auch eine Reduktion des systemischen Blutdrucks und eine Verschlechterung der Oxygenierung durch die Gabe von Sildenafil beobachtet, welche durch iNO nicht behoben werden konnte. Atz et al. [(14)] konnten zeigen, dass oral verabreichtes Sildenafil (0,3mg/kg) bei einem pädiatrischen Patienten mit postoperativer PH die pulmonal vasodilatorischen Effekte von iNO verstärkte. In einer früheren Publikation berichten Atz und Wessel [(15)] von drei pädiatrischen Fällen mit PH unterschiedlicher Genese, bei denen eine Sildenafil Therapie einen positiven Effekt auf das *Rebound*-Phänomen einer iNO-Therapie hatte. Die Kombination von iNO und Sildenafil führte bei einem neun Jahre alten Kind mit PH infolge eines Septumdefekts, zu einer deutlichen Senkung des PAP und ermöglichte eine Reduktion und Beendigung der NO-Inhalation ohne Auftreten eines *Rebound*-Phänomens [(335)]. In einem Fallbericht von Bigatello et al. [(35)] führte Sildenafil und NO zu einer verstärkten Senkung des PAP und gleichzeitig zu einer Verbesserung des arteriellen pO_2 und Shunts. Michelakis et al. [(254)] konnten an Patienten mit primärer PH zeigen, dass die Kombination von oralem Sildenafil und iNO zu keinem stärkeren Abfall des PAP führte als Sildenafil allein. Der PVR lag in der Kombinationsgruppe aber deutlich unter dem der NO-Gruppe.

3.1.4 Erklärungsansätze

Als Erklärungsansatz für die ausbleibenden pulmonal vasodilatorischen Effekte der Kombinationstherapie mit iNO und i.v. Sildenafil können die bereits in der Diskussion der Sildenafil- und NO-Versuche angeführten Begründungen angebracht werden.

In Bezug auf die intrazellulären cGMP-Konzentrationen muss jedoch theoretisch davon ausgegangen werden, dass die Inhalation von NO, über eine Aktivierung der sGC, zu ausreichend hohen cGMP-Spiegel geführt haben müsste, und eine zusätzliche Hemmung der PDE5 somit auch eine Steigerung der intrazellulären cGMP-Konzentration hätte bewirken müssen. So konnte Michelakis et al. [254] zeigen, dass sich die cGMP-Konzentrationen in Patienten mit PPH nach Sildenafil bzw. iNO-Gabe nahezu verdreifachten bzw. verdoppelten und bei gemeinsamer Gabe versechsfachten. Durch Zaprinast kam es in Adrie et al. [3] während der Inhalation von NO ebenfalls zu erhöhten cGMP-Konzentrationen. Auch Schulze-Neick [359] dokumentieren, dass es durch Gabe von Sildenafil zu einer Potenzierung der durch iNO angestiegenen cGMP-Plasmakonzentrationen kam. Ichinose et al. [159] berichten ebenfalls von einem signifikant größeren Anstieg der cGMP-Konzentrationen nach Inhalation von NO und Zaprinast als nach Inhalation der Substanzen allein.

Dennoch kann, obwohl eine Reihe von Studien eine Beziehung zwischen cGMP-Plasmaspiegeln und einer pulmonalen Vasodilatation aufzeigen [3,159], nicht gefolgert werden, dass hohe cGMP-Konzentrationen auch zu einer pulmonalen Vasodilatation führen [125,254].

Was die Verschlechterung der arteriellen Oxygenierung betrifft, so fällt es relativ schwer, schlüssige Argumente für die beobachteten Ergebnisse zu finden. Shekerdemian et al. [375], die ebenfalls von einer Verschlechterung der Gasaustauschstörung berichten, diskutieren zwar, dass es aufgrund der eher systemischen Wirkung des Sildenafils in Kombination mit iNO zu einer allgemeinen, nichtselektiven pulmonalen Vasodilatation kommt, welche durch einen Anstieg des intrapulmonalen Shunts zu einer Verschlechterung des Gasaustauschs führt. Dieser Ansatz kann für die vorliegenden Ergebnisse jedoch nicht angewandt werden, da in den Kombinationsversuchen zwar ein erhöhter Shunt, aber weder eine systemische noch pulmonalarterielle Vasodilatation beobachtet werden konnte. Zudem lag die verwendete i.v.-Dosis unter 0,5mg/kg. Auch eine mögliche Verschlechterung der Barrierefunktion kommt nicht unmittelbar in Betracht, da sich das Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnis der Lungen gegenüber den Kontrollen kaum veränderte. Auch die Beatmungsdrücke deuteten nicht auf eine verminderte *Compliance* hin. Das HZV stieg eher an, als dass die niedrigen pO_2-Werte durch eine reduzierte Auswurfleistung des Herzens erklärt werden könnten. Auch der pH-Wert fiel nicht stärker ab, so dass die verminderte Oxygenierung nicht durch eine weitere Affinitätsabnahme des Hämoglobins zurückgeführt werden kann. Es bleibt also ungeklärt, wodurch die Verschlechterung der OA-induzierten Gasaustauschstörung durch die Kombination von NO und Sildenafil zustande kommt.

3.1.5 Schlussfolgerungen

Die gemeinsame Applikation von iNO und Phosphodiesterase-Inhibitoren erlangt, insbesondere vor dem Hintergrund der mit Risiken verbundenen und teuren iNO-Therapie, für die klinische Praxis immer mehr an Relevanz. So wird nicht nur die Halbwertszeit von iNO nach Beendigung der Inhalation erhöht, was die Anwendung von PDE-Hemmern, insbesondere im Zusammenhang mit der Reduktion und Entwöhnung von einer NO-Therapie, nützlich sein kann, sondern auch die Wirkung von iNO in bestimmten Fällen potenziert und Ventilations-Perfusions-Störungen sowie Gasaustauschstörung positiv beeinflusst. Dennoch muss als wichtiges Ergebnis der vorliegenden Arbeit festgehalten werden, dass der Einsatz von iNO in Kombination mit Sildenafil im OA-Modell des ARDS keine positiven Effekte zeigte, sondern den Shuntfluss und die arterielle Oxygenierung verschlechterte.

3.2 NO-Bay 58-2667 -Gruppe

3.2.1 Rationale

Wie durch *in vitro* -Versuche gezeigt werden konnte, führt die gemeinsame Gabe von Bay 58-2667 und NO zu einer additiven Aktivierung der sGC. Durch gemeinsame Gabe von Bay 58-2667 und Stickstoffmonoxid sollte ein selektiv pulmonaler, gefäßrelaxierender Effekt von iNO durch die i.v.-Infusion von Bay 58-2667 verstärkt werden und die OA-induzierte Lungenschädigung verbessert werden. Zudem ermöglicht die Gabe von NO und Bay 58-2667 als Häm-unabhängiger sGC-Aktivator, die sGC sowohl in ihrer physiologischen, als auch in der durch ROS möglicherweise oxidierten und durch NO nicht aktivierbaren Form zu aktivieren.

3.2.2 Eigene Ergebnisse

- **Hämodynamik**

Der SAP fiel während der gleichzeitigen Inhalation von NO und Infusion von Bay 58-2667 in der Konzentration von 30µg/kg leicht ab, was möglicherweise auf einen additiven Effekt der beiden Substanzen zurückgeht, denn bei alleiniger Gabe des i.v.-Vasodilators war ein solcher Abfall nicht zu beobachten. Zudem war mehr Arterenol® erforderlich, um den SAP über die verbleibende Versuchsdauer konstant zu halten.

Der Verlauf des PAP korrelierte in gewisser Weise mit diesem SAP Abfall, unterschied sich aber nicht signifikant von den Kontrollen. Der SVR wie auch der PVR der Kombinationsgruppe lag zwar deutlich aber nicht signifikant unter dem der Kontrolle. Insbesondere für den Parameter SVR kann für diesen Effekt der verminderte SAP und das deutlich höhere HZV verantwortlich gemacht werden. Letzteres trifft auch für die relativ niedrigen PVR Werte zu. Der niedrige Wert zum Zeitpunkt t=30min geht aber sicherlich auch auf den niedrigen PAP zu diesem Zeitpunkt zurück.

Das HZV steigt in der Kombinationsgruppe stärker an als in der Kontrollgruppe und der Bay 58-2667 30µg -Gruppe allein.

- **Blutparameter**

Durch die gemeinsame Gabe von iNO und Bay 58-2667 konnte ebenfalls kein Effekt auf die OA-induzierte Gasaustauschstörung erzielt werden. Es kann diskutiert werden, dass es aufgrund der ausbleibenden Vasodilatation zu keiner Verbesserung der Ventilations-

Perfusionsverhältnisse und damit zu keiner Verringerung des intrapulmonalen Shunts gekommen ist, was folglich in unveränderten Blutparametern resultiert.

- **Pulmonale Parameter**

Auch der Beatmungsdruck, das Nass-zu-Trockengewicht-Verhältnis der Lungen und der intrapulmonaler Shunt wurde durch die gemeinsame Inhalation von 2ppm NO und Infusion von 30µg/kg/10min Bay 58-2667 nicht beeinflusst.

- **Zusammenfassung**

Es kann zusammengefasst werden, dass die Kombination von iNO und Bay 58-2667 in einer Dosierung von 30µg/kg/10min zu keinen Verbesserungen der OA-induzierten Lungenschädigung führte. Dabei unterschied sich die Kombinationsgruppe in keinem Parameter nicht nur nicht signifikant von den Kontrollen sondern auch von den Gruppen, in denen die Vasodilatoren allein gegeben wurden. Dies lässt den Schluss zu, dass die i.v.-Infusion von Bay 58-2667 keinen Einfluss auf die iNO-vermittelten Effekte hatte und auch im Umkehrschluss es durch iNO zu keiner Beeinflussung der Bay 58-2667 Wirkung kam.

3.2.3 Andere Studien

Es liegen zum jetzigen Zeitpunkt noch keine Studien zum kombinierten Einsatz von Bay 58-2667 und iNO vor.

3.2.4 Erklärungsansätze

Aus Untersuchungen zum Aktivitätsprofil von Bay 58-2667 ist bekannt, dass Bay 58-2667 mit NO zusammen, im Gegensatz zu den Häm-abhängigen sGC-Stimulatoren nur eine additive Wirkung zeigt [(347)]. Bay 58-2667 und NO steigern die Reaktionsgeschwindigkeit in einer additiven Art und Weise, wohingegen Bay 41-8543 und Bay 41-2272 als Häm-abhängige sGC-Aktivatoren in Kombination mit NO zu einem überadditiven, synergistischen Anstieg der V_{max} führen [(348)]. Von daher kann diskutiert werden, dass die Ergebnisse auf eine zu geringe Aktivierung sGC zurückgehen. Zudem kann man erörtern, dass eine Aktivierung sowohl von physiologischen als oxidierten, durch NO nicht aktivierbaren sGC-Molekülen, zu keinen ausreichend hohen cGMP-Konzentrationen führt.

3.2.5 Schlussfolgerungen

Der gemeinsame Einsatz von iNO und Bay 58-2667 führte zu keiner Verbesserung der OA-induzierten Lungenschädigung.

3.3 NO-Bay 41-2272 -Gruppe

3.3.1 Rationale

Nachdem die Versuche mit Bay 41-2272 vielversprechend verliefen, sollten vor dem Hintergrund einer starken synergistischen Wirkung, die Effekte einer kombinierten Gabe von Bay 41-2272 und NO auf die OA-induzierte Lungenschädigung evaluiert werden. Es erschien möglich, dass es durch eine überadditive Aktivierung der sGC und dem damit verbundenen massiven Anstieg der cGMP-Konzentrationen in gut ventilierten Lungenbereichen, zu einer selektiven pulmonalen Vasodilatation kommt, was sich wiederum positiv auf die OA-induzierte Gasaustausch- und Perfusionsstörung auswirken sollte.

3.3.2 Eigene Ergebnisse

- **Hämodynamik**

o ***Systemisch-arterieller Druck (SAP)***

Der SAP der Bay 41-2272 NO-Gruppe konnte mit minimalen Katecholamingaben konstant gehalten werden und lag sogar signifikant höher als der der Kontrollgruppe.

o ***Pulmonalarterieller Druck (PAP)***

Im Gegensatz dazu konnten mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse für den PAP keine signifikanten Unterschiede im Faktor Zeit*Gruppe berechnet werden, aus der grafischen Darstellung wird jedoch deutlich, dass der PAP der Bay 41-2272 -NO-Gruppe deutlich unter den Kontrollen lag, was sich auch in den Signifikanzen des direkten Vergleichs mit dem T-Test und einem signifikanten Unterschied der zweifaktoriellen Varianzanalyse im Faktor Gruppe widerspiegelte. Somit muss man davon ausgehen, dass es sich bei den verminderten pulmonalarteriellen Drücken um einen reellen Effekt handelte, die wahrscheinlich auf hohe lokale cGMP-Konzentrationen zurückzuführen sind. Der Aspekt einer Bay 41-2272 -vermittelten Hemmung der Na^+/K^+-ATPase kann jedoch auch hier angeführt werden.

o ***Systemisch-vaskulärer Widerstand (SVR)***

Da das HZV für die Therapiegruppe, insbesondere zu Beginn des Versuchs, deutlich über den Kontrollen lag, können die trotz des stabilen SAP niedrigen systemischen Widerstände

durch die Berechnung des Parameters erklärt werden. Dies wird vor allem dadurch deutlich, dass auch die Ausgangswerte (t=0 bis t=20min) deutlich niedriger lagen als die der Kontrollen. Zudem fiel der CVP, der in die Berechnung des SVR einging, über die Versuchsdauer nicht so deutlich ab wie in den Kontrollversuchen.

- ***Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)***

Auch für den PVR kann festgestellt werden, dass die hohen Herzzeitvolumina für die Berechnung der niedrigen pulmonalvaskulären Widerstände mit verantwortlich sind. Auch hier lagen die Ausgangswerte deutlich unter den Kontrollen. Dennoch trug der verminderte PAP sicherlich zu den niedrigen PVR-Werten bei, insbesondere da das HZV in der Bay 41-2272 -Gruppe über die Versuchsdauer abfiel. Zum Zeitpunkt t=120min lag der PVR, trotz relativ niedrigem PAP, sogar deutlich über den anderen Therapiegruppen, was auf dem niedrigen berechneten HZV für diesen Zeitpunkt zurückzuführen war.

- ***Zentralvenöser Druck (CVP)***

Der zentralvenöse Druck fiel in der Kombinationsgruppe nicht so stark ab wie in der Kontrollgruppe, so dass im direkten Vergleich mit dem T-Test für die letzten beiden Messpunkte signifikante Unterschiede berechnet wurden. In der zweifaktoriellen Varianzanalyse wurden jedoch keine Signifikanzen berechnet. Möglicherweise kam dieser verminderte Abfall des CVP durch eine arterielle Vasodilatation zustande, so dass es zu einem vermehrten Blutfluss von den arteriellen in die venösen Kompartimente kam [(191)]. Dagegen spricht jedoch, dass der SAP eher anstieg. Als weiterer Grund könnte auch ein vermehrtes Blutvolumen angeführt werden. Da sich die Flüssigkeitsverluste in die Lunge, aufgrund der leicht verminderten *wet-to-dry weight ratio*s, nur geringfügig von den Kontrollen unterschieden, kann ein erhöhtes Blutvolumen als Grund für den verminderten Abfall des CVP nicht unbedingt in Erwägung gezogen werden. Insbesondere wenn man bedenkt, dass in der Gruppe Bay 300µg signifikant niedrigere *wet-to-dry weight ratio*s errechnet wurden, ohne dass ein Anstieg bzw. verminderter Abfall des CVP zu beobachten war.

- ***Herzzeitvolumen (HZV)***

Das HZV lag bereits vor Beginn der Therapie deutlich über den Kontrollen. Bis zum Zeitpunkt t=20min waren die Werte jedoch nahezu konstant. Als Grund für die Berechnung des hohen HZV können neben einer niedrigen arterieovenösen O_2-Sättigungsdifferenz auch niedrige Hb Mittelwerte genannt werden. So lag die mittlere venöse O_2-Sättigung in der Therapiegruppe zu den Zeitpunkten t=0 bis 20min um ±4,4mmHg höher als die der

Kontrollgruppe, während sich die mittlere arterielle O_2-Sättigung nicht unterschied. Zudem lag der gemittelte Hb in der Bay 41-2272 NO-Gruppe um durchschnittlich 0,9 niedriger als in der Kontrollgruppe. Mit Beginn der Therapie sank das HZV deutlich und zwar stärker als in der Kontrollgruppe und den Gruppen mit den Substanzen allein ab. Dennoch wurden mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse keine Signifikanzen berechnet. Wie in Satoh et al. [332] besprochen, führen kleine Anstiege der NO- oder cGMP-Konzentration über die Hemmung der PDE3 und dem damit verbundenen Anstieg der cGMP-Konzentrationen zu einem positiv-inotropen Effekt, wohingegen bei höheren Konzentrationen ein eher negativer Inotropismus zu beobachten ist, was auf die Aktivierung der PKC und den vermehrten Abbau von cAMP durch die Aktivierung von cGMP-abhängigen PDE (PDE2) zurückzuführen ist (siehe dazu auch Hassan und Ketat [142], Balligand [21], Vila-Petroff et al. [416] und Maurice [241]). Möglicherweise ergaben sich die niedrigeren HZV-Werte auch aus der Berechnung des Parameters.

- ***Katecholamingaben***

Der Verlauf der Katecholamingaben wie auch der Gesamtverbrauch für die Gruppe Bay 41-2272 -NO lag zwar deutlich unter dem der Kontrollgruppe, aber dennoch wurden keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe berechnet. Im Gegensatz dazu unterschied sich der Zeitverlauf und Gesamtverbrauch der Kombinationsgruppe signifikant von dem der Gruppen Bay 41-2272 100µg und NO 2ppm, so dass festgestellt werden kann, dass der SAP in der Kombinationsgruppe mit deutlich weniger Arterenol® konstant gehalten werden konnte, als in den Gruppen, in denen die Substanzen allein gegeben wurden. Insofern kann diskutiert werden, dass sich die Therapie mit iNO und Bay 41-2272, trotz des niedrigeren berechneten HZVs, positiv auf die kardiale Leistungsfähigkeit auswirkte. Ein bereits angesprochener positiv-inotroper und lusitroper Effekt des Bay 41-2272 kann hier ebenfalls angeführt werden, obwohl das HZV deutlich absank.

➢ Blutparameter

- ***Arterielle pCO_2-Werte***

Die arteriellen pCO_2-Werte lagen während der gesamten Versuchsdauer deutlich unter den Kontrollen, obgleich mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse keine signifikanten Unterschiede berechnet wurden, was möglicherweise darauf zurückzuführen ist, dass die Werte noch vor Beginn der Therapie deutlich niedriger lagen als in der Kontrollgruppe. Im Ver-

gleich mit der NO 2ppm -Gruppe traten jedoch signifikante Unterschiede in den Faktoren Zeit, Zeit*Gruppe und Gruppe auf.

- ***Arterielle pO_2-Werte***

Was die pO_2-Werte betrifft, so kann festgestellt werden, dass die gemeinsame Applikation von Bay 41-2272 und NO 2ppm zu einer deutlichen Verbesserung der arteriellen Oxygenierung führte. So lagen die pO_2-Werte für Bay 41-2272 NO nicht nur signifikant über denen der Kontrollen, sondern auch über denen der Bay 41-2272 100µg -Gruppe. Als Grund können die verminderten pulmonalarteriellen Drücke angegeben werden, die durch eine Reduktion des Shuntflusses zu einer verbesserten Oxygenierung geführt haben könnten.

- ***Arterielle O_2-Sättigung***

Auch in Bezug auf die arterielle O_2-Sättigung führte NO und Bay 41-2272 zu einer Verbesserung der Oxygenierung. Im Gegensatz zu den pO_2-Werten unterschied sich der Verlauf der O_2-Sättigungskurve jedoch nur signifikant von der Kontrolle, nicht aber von den Gruppen, in denen die Substanzen allein gegeben wurden. Neben einer Verbesserung der Ventilations-Perfusions-Verhältnisse kommt auch eine, aufgrund höherer pH-Werte verbesserte Sauerstoffbindungskapazität des Hämoglobins, als Erklärung für die höhere O_2-Sättigung in Betracht.

- ***Arterielle pH-Werte***

Der arterielle pH-Wert sank in der Bay 41-2272 -NO-Gruppe nicht so stark ab wie in der Kontrollgruppe, was durch Berechnung der Signifikanz deutlich wird. Als Ursache kommen neben der verminderten Katecholamingabe auch die erniedrigten pCO_2-Werte in Frage. In diesem Zusammenhang ist es erwähnenswert, dass der pH zu den Zeitpunkten t=0 bis t=30 nicht über dem der Kontrollen lag, obwohl die pCO_2-Werte für diese Zeitpunkte deutlich unter denen der Kontrollen lagen.

➢ Pulmonale Parameter

- ***Beatmungsdruck***

Durch die Inhalation von NO (2ppm) und Infusion von Bay 41-2272 (100µg/kg/10min) konnte eine deutliche und signifikante Senkung der Beatmungsdrücke insbesondere im letzten Drittel des Versuchs erzielt werden. Als Ursache für diesen Effekt, kann eine durch hohe cGMP-Konzentrationen verminderte Bronchokonstriktion angeführt werden. Zusätz-

lich kann eine verminderte mechanische Kompression der unteren Luftwege angeführt werden, da die Nass- zu Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen dieser Versuchsgruppe deutlich niedriger lagen, als die der Kontrollen. Dagegen würde jedoch sprechen, dass in den Versuchen mit Bay 41-2272 in der Konzentration von 300µg/kg/10min, in denen eine signifikante Reduktion der *wet-to-dry weight ratios* zu beobachten war, die *Compliance* nicht anstieg.

- ***Wet-to-dry weight ratio***

Die *wet-to-dry weight ratio*s lagen zwar deutlich, aber nicht signifikant unter den Kontrollen. Dies ist insofern interessant, da auch schon bei alleiniger Gabe von Bay 41-2272 deutliche Effekte auf die OA-induzierte Perfusionsstörung beobachtet werden konnten. Insofern scheint die gemeinsame Gabe von iNO und Bay 41-2272 keinen additiven Effekt auf die OA-induzierte Perfusionsstörung zu haben. Auch Egemnazarov et al. [88] konnten an isolierten Lungen durch die Kombination von Bay 41-2272 und iNO im Vergleich zu Bay 41-2272 allein keinen additiven Effekt auf eine Ischämie/Reperfusion-induzierte Lungenschädigung beobachten.

- ***Intrapulmonaler Shunt***

Der intrapulmonale Shunt für die Bay 41-2272 -NO-Gruppe lag deutlich und signifikant unter der Kontrolle und unter der Gruppe, in der Bay 41-2272 in der Konzentration von 100mg/kg/10min ohne iNO gegeben wurde. Der Grund für diese Verbesserung des intrapulmonalen Shunts kann in der deutlichen selektiven pulmonalen Vasodilatation gesehen werden. Durch die Dilatation von Gefäßen in gut belüfteten Lungenarealen kam es voraussichtlich zu einer Umverteilung des Blutflusses in diese Gebiete, was konsekutiv wiederum eine Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung nach sich zog. Es muss jedoch bedacht werden, dass das verminderte HZV ebenfalls zur Reduktion des intrapulmonaler Shunts beigetragen haben kann.

- **Zusammenfassung**

Die kombinierte Therapie mit NO 2ppm und Bay 41-2272 100µg/kg/10min führte bei konstantem SAP zu einer deutlichen Reduktion der OA-induzierten pulmonalen Hypertonie und verbesserte durch eine Reduktion des Shuntflusses die arterielle Oxygenierung. Zudem konnte ein Anstieg der Lungen-*Compliance* erreicht werden, obwohl sich die *wet-to-dry weight ratio*s nicht signifikant unterschieden. Das HZV fiel zwar deutlich, der pH und CVP jedoch nur geringfügig ab. Bemerkenswert ist, dass trotz des erniedrigten HZV deut-

lich weniger Norepinephrin zur Aufrechterhaltung des SAP verwendet wurde, als in der Kontrollgruppe und den Gruppen in denen die Vasodilatantien allein verabreicht wurden.

3.3.3 Andere Studien

Im zweiten Teil der Studie von Evgenov et al. [92] wurde untersucht, ob Bay 41-2272 die pulmonalen vasodilativen Effekte einer NO-bzw. CO-Inhalation beeinflussen. Dazu wurden während einer kontinuierlichen Infusion von 0,1mg Bay 41-2272 pro kg und Stunde, wie schon im ersten Teil, drei NO-Konzentrationen für jeweils 10min inhalativ verabreicht, wobei zwischen den Inhalationen 15minütige NO-freie Perioden lagen. Dabei kam es im Vergleich mit der alleinigen Gabe von iNO in allen drei Konzentrationen zu einer stärkeren Senkung des PAP, PVRI und PVRI/SVRI. Zudem stiegen die pulmonalarteriellen Drücke nach Unterbrechung der NO-Inhalation nicht so schnell auf Ausgangsniveau an, wie in den Versuchen mit iNO allein. In Kombination mit Bay 41-2272 führte iNO in den beiden hohen Konzentrationen zudem zu einem leichten Abfall des PAWP, SVRI, RVSWI und zu einem Anstieg des CI und SVI. Des Weiteren steigerte die Inhalation von iNO in den Konzentrationen 10 und 20ppm während der Bay 41-2272 -Infusion das pO_2/FiO_2-Verhältnis, was bedeutet, dass bei gleichbleibendem FiO_2 der pO_2 angestiegen sein muss, und reduzierte die arterioalveoläre Sauerstoffdifferenz und den Shuntfluss. Die Autoren folgern, dass in diesem U46619-Modell der pulmonalen Hypertonie Bay 41-2272 durch eine Sensibilisierung der sGC für NO zu einer Verstärkung und Verlängerung, der durch iNO-vermittelten vasodilatorischen Effekte führt. Des Weiteren stellen sie fest, dass mit der gemeinsamen Applikation von Bay 41-2272 und iNO bereits bei niedrigeren iNO-Dosierungen eine Verbesserung der Oxygenierung erreicht werden kann, was den Schluss nahe legt, dass die intrapulmonale Selektivität von iNO durch Bay 41-2272 weiter verstärkt wird, und es durch eine verbesserte Ventilations-Perfusions-Anpassung zu einem verringerten Shuntfluss kommt.

3.3.4 Erklärungsansätze

Wie schon in der Diskussion der Bay 41-2272 Gruppen angesprochen, führt Bay 41-2272 zu einer Stimulation der sGC, was bei gemeinsamer Applikation von Bay 41-2272 und NO *in vitro* zu einer potenzierten Aktivierung der sGC führt. In den Versuchen der vorliegenden Arbeit wurde durch die gemeinsame Applikation von NO und Bay 41-2272 eine selektive pulmonale Vasodilatation erreicht. Im Gegensatz zu den besprochenen Studien konnte jedoch keine systemische Vasodilatation beobachtet werden. Der Grund hierfür könnte darin liegen, dass die Selektivität vorwiegend durch das inhalierte Stickstoffmonoxid ver-

mittelt wurde und die intravenöse Injektion die selektiven Effekte noch verstärkte. Neben der pulmonalen Selektivität konnte auch eine intrapulmonale Selektivität beobachtet werden, da der Abfall des PAP auch mit einer Verbesserung der arteriellen Oxygenierung assoziiert war. Wie bereits angesprochen, geht der verbesserte Gasaustausch neben der erhöhten Lungen-*Compliance* und verminderten Ödembildung vorwiegend auf die Verbesserung des intrapulmonalen Shunts zurück.

3.3.5 Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Arbeit konnte mit der Kombination von Bay 41-2272 und NO zum ersten Mal eine deutliche, selektive pulmonale Vasodilatation erreicht werden, die zudem mit einer Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung einherging. Aufgrund des *in vitro* gut erforschten Wirkmechanismus´ von Bay 41-2272 und der bekannten synergistischen Wirkung von Bay 41-2272 mit NO ist davon auszugehen, dass der selektiv pulmonal vasodilative Effekt der Kombinationstherapie auf eine Stimulation der sGC und einer damit verbundenen Erhöhung der cGMP-Konzentrationen zurückzuführen ist. Die Verbesserung der Oxygenierung kann als Folge verbesserter Ventilations-Perfusions-Verhältnisse und eines reduzierten intrapulmonalen Shuntflusses gewertet werden, so dass man schlussfolgern kann, dass durch die gemeinsame Gabe von iNO und Bay 41-2272 nicht nur eine pulmonale, sondern auch intrapulmonale Selektivität erreicht werden kann. Es erscheint nahe liegend, dass die intrapulmonale Selektivität vorrangig durch das inhalierte Stickstoffmonoxid vermittelt wird, und diese Selektivität durch das i.v. verabreichte Bay 41-2272 gesteigert wurde.

V ZUSAMMENFASSUNG

Obwohl das *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) bereits 1967 beschrieben wurde und seitdem eine Vielzahl von Therapieansätzen entwickelt wurden, stellt das akute Lungenversagen mit einer Letalität von bis zu 60% noch immer ein persistierendes intensivmedizinisches Problem dar. Die pathophysiologischen Merkmale des ARDS sind eine, aufgrund eines erhöhten intrapulmonalen Rechts-Links-Shunts therapieresistente Hypoxämie, ein Permeabilitätslungenödem, eine verminderte pulmonale Compliance und die pulmonalarterielle Hypertonie (PH).
Da eine Hypoxie bzw. inflammatorisch vermittelte Vasokonstriktion als Ursache der ARDS-assoziierten PH diskutiert wird, und die Höhe der PH mit der Schwere der Lungenschädigung korreliert ist, sowie sich negativ auf die Prognose auswirkt, besteht ein Ansatzpunkt der ARDS-Therapie, neben verschiedenen Beatmungsstrategien, in einer pulmonalen Vasodilatation.
Das Ölsäuremodell, welches ursprünglich als Modell für das Fettemboliesyndrom verwendet wurde, weist, obwohl es sich um keinen ätiologischen Ansatz zur Simulation des akuten Lungenversagens handelt, eine große Anzahl von pathologischen und physiologischen Ähnlichkeiten mit dem ARDS auf.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde in einem ersten Schritt durch die intravenöse Injektion von Ölsäure (OA) ein stabiles und reproduzierbares Lungenschädigungsmodell etabliert. In einem zweiten Schritt wurde der Einfluss von Vasodilatoren auf die OA-induzierte Lungenschädigung untersucht werden. Da die Weiterentwicklung des Konzeptes der selektiven pulmonalen Vasodilatation im Vordergrund stand, wurde die Wirkung von Substanzen untersucht, die den NO-cGMP-Signalweg beeinflussen. Daher wurden Versuche mit inhalativem Stickstoffmonoxid (iNO), dem Phosphodiesterase-Inhibitor Sildenafil, dem Guanylatzyklase-Aktivator Bay-58-2667 und dem Guanylatzyklase-Stimulator Bay 41-2272 in unterschiedlichen Konzentrationen durchgeführt. Zusätzlich wurde iNO und jeweils einer der anderen, intravenös verabreichten Vasodilatoren miteinander kombiniert.

Durch die zentralvenöse Injektion von 0,1 ml/kg OA, wurde innerhalb eines Versuchszeitraums von 120min eine stabile Lungenschädigung erzielt, die durch eine gering- bis mittelgradige pulmonale Hypertonie, massive Hypoxämie, Hyperkapnie und Azidose gekenn-

zeichnet war. Zudem konnte durch die OA vermittelte Perfusionsstörung eine deutliche Zunahme der Nass- zu Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen und eine Verminderung der Lungen-*Compliance* induziert werden. Der intrapulmonale Shunt stieg massiv an.

Obwohl inhaliertes Stickstoffmonoxid als selektiv pulmonaler Vasodilator, der durch eine Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase (sGC) zu erhöhten intrazellulären cGMP-Spiegeln und damit zu einer Vasorelaxation führt, therapeutisch eingesetzt wird, wird sein Einsatz bei ARDS-Patienten, insbesondere wegen einer Reihe von negativen Effekten, wie der *rebound*-PH, kontrovers diskutiert. Zudem führte eine Vielzahl von Studien zur Wirkung von iNO auf eine experimentell induzierte Lungenschädigung zu widersprüchlichen Ergebnissen. In der vorliegenden Arbeit konnte kein positiver Effekt von iNO in den Konzentrationen von zwei und zwanzig ppm auf die OA-induzierte Lungenschädigung abgeleitet werden.

Auch die Gabe des PDE5-Inhibitors Sildenafil, dessen Zulassung als Therapeutikum zur Behandlung der PH bereits beantragt wurde, beeinflusste die durch die Injektion von Ölsäure ausgelöste Lungenschädigung nicht positiv. Die gemeinsame Gabe von iNO und Sildenafil führte über eine Erhöhung des intrapulmonalen Shunts sogar zu einer Verschlechterung der OA-vermittelten Gasaustauschstörung.

Die Infusion von Bay 58-2667, einem NO- und Häm-unabhängigen Aktivator der löslichen Guanylatzyklase führte ebenfalls zu keiner Verbesserung der OA-induzierten Lungenschädigung. In den Versuchen mit der höchsten Konzentration wurde jedoch eine massive systemische Vasodilatation beobachtet, die mit einer deutlichen Verschlechterung der arteriellen Oxygenierung assoziiert war. Durch die zusätzliche Gabe von iNO wurde die Wirkung von Bay 58-2667 nicht beeinflusst.

In den Versuchen mit dem NO-unabhängigen aber Häm-abhängigen sGC-Stimulator Bay 41-2272 wurde ein leichter pulmonal vasodilativer Effekt und eine deutliche Reduktion der Nass- zu Trockengewicht-Verhältnisse der Lungen beobachtet. Diese wirkte sich aber nicht positiv auf die OA-induzierte Gasaustauschstörung aus. Allerdings führte die gemeinsame Gabe von Bay 41-2272 und iNO zu einer deutlich selektiven pulmonalen Vasodilatation, die durch eine Reduktion des intrapulmonalen Shunts mit einer maßgeblichen Verbesserung der OA-induzierten Gasaustauschstörung einherging.

Somit konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass die pharmakologische Beeinflussung des NO-cGMP-Signaltransduktionswegs durch die synergistische Aktivierung der sGC durch iNO und Bay 41-2272, und die damit verbundene Senkung des pulmonalarteriellen Drucks und intrapulmonalen Shunts, einen potentiellen Ansatz zur Verbesserung einer OA-induzierten Lungenschädigung und möglicherweise auch zur Behandlung des ARDS darstellt. Aus den Versuchen mit Bay 58-2667 lässt sich folgern, dass sich diese Substanz, insbesondere aufgrund ihres Potentials, auch oxidierte sGC-Moleküle zu aktivieren, möglicherweise als systemischer Vasodilator eingesetzt werden kann. Dies ist insbesondere für Krankheiten relevant, die mit einer reduzierten cGMP-Produktion und der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies assoziiert sind. Somit stehen mit diesen beiden Substanzen zwei völlig neue Therapeutika zur Verfügung, die aufgrund des bekannten und hoch spezifischen Wirkmechanismus eine Vielzahl von Einsatzmöglichkeiten bieten.

Die Ergebnisse der Versuche mit iNO und Sildenafil entsprachen nicht den Erwartungen. Gleichwohl lässt sich aus diesen Versuchen ableiten, dass der Einsatz von iNO im OA-Modell weiterhin kontrovers diskutiert werden muss und der klinische Einsatz nicht ohne kritische Abwägung erfolgen darf. Ähnliches gilt auch für den Einsatz von Sildenafil und der Kombination von iNO mit Sildenafil bei parenchymatösen Lungenerkrankungen.

Dennoch muss angeführt werden, dass es sich bei der durchgeführten Studie um einen experimentellen Ansatz handelt. Um die Ergebnisse auf die klinische Situation übertragen zu können, müssen die gewonnen Erkenntnisse in weiteren experimentellen Studien verifiziert und erweitert werden.

VI SUMMARY

Vasoactive substances in the oleic acid model of acute lung injury in rabbits

The acute respiratory distress syndrome (ARDS), first described in 1967, remains a persistent problem in intensive care medicine, despite a range of therapeutic options. Pathophysiological features of ARDS include refractory hypoxia, due to increased intrapulmonary right to left shunting, non-cardiogenic pulmonary edema, decreased lung compliance and pulmonary hypertension (PH). Since a hypoxic respectively inflammatory mediated vasoconstriction is an underlying mechanism of ARDS-associated PH, and the magnitude of PH correlates with the severity of lung injury, as well as outcome in patients with ARDS, one candidate therapeutic approach is pulmonary vasodilatation.

The oleic acid model of acute lung injury, originally developed as a model for fat embolism syndrome, shares a number of pathological and physiological similarities with ARDS, the clinical manifestation of severe, acute lung injury.

The aim of this study was to establish a steady and reproducible model of acute lung injury by the intravenous injection of oleic acid (OA). Subsequently, the impact of various vasodilators on OA-induced lung injury was investigated. Because the ultimate aim of the study was the induction of selective pulmonary vasodilatation, the effect of substances which modulate the NO-cGMP-signal transduction pathway was examined. Therefore experiments were conducted with inhaled nitric oxide (iNO), the phosphodiesterase inhibitor Sildenafil, the guanylate cyclase activator Bay 58-2667, and the guanylate cyclase stimulator Bay 41-2272. In addition iNO was combined with one of the intravenously applied vasodilators.

A stable lung injury was achieved by the injection of OA at a concentration of 0.1 ml/kg via the central venous route. The injury was characterized by a low to moderate pulmonary hypertension, severe hypoxaemia, hypercapnia and acidosis. Furthermore, the OA-mediated disturbance to lung perfusion resulted in an increase in the lung wet-to-dry weight ratio and a decrease in lung compliance. Moreover the intrapulmonary shunt was massively increased.

Inhaled NO is a selective pulmonary vasodilator, which acts by activating soluble guanylate cyclase (sGC) and elevating intracellular cGMP levels that consequently mediate vasorelaxation. Although iNO is used therapeutically, its use in ARDS patients is controversial due to the negative side-effects that include rebound PH. In addition a number of studies dealing with the effect of iNO on experimentally induced acute lung injury are contradictory. In the present study, no positive effect of inhaled nitric oxide on OA-induced lung injury was observed with iNO concentrations of 2 and 20 ppm.

The administration of the PDE5 inhibitor Sildenafil, whose approval for the treatment of PH has already been proposed, also failed to positively influence the acute lung injury induced by OA. The combined administration of iNO and Sildenafil even worsened gas exchange by increasing the intrapulmonary shunt.

Similarly, Bay 58-2667, a NO- and haem-independent activator of sGC, did not demonstrate any beneficial effect after OA administration. At the highest concentrations applied, a dramatic systemic vasodilatation was observed, which was associated with a distinct deterioration of the arterial oxygenation. The additional inhalation of NO had no impact on the effect of Bay 58-2667.

In the experiments with the NO-independent but Haem-dependent sGC stimulator Bay 41-2272, a moderate pulmonary vasodilatation was observed, together with a clear reduction in wet-to-dry weight ratio. However, these effects did not influence the OA-induced deterioration in gas exchange. With the combined administration of iNO and Bay 41-2272, however, a distinct pulmonary vasodilatation was achieved, which was associated with an improved gas exchange through a reduction of intrapulmonary shunting.

Consequently, we illustrate here that the pharmacological modulation of the cGMP signal transduction pathway by the synergistic activation of sGC by iNO and Bay 41-2272, represents a potential approach for the improvement of OA induced lung injury and the treatment of ARDS. With respect to the experiments with Bay 58-2667 we conclude that this substance, by virtue of its ability to activate oxidized sGC molecules, can be employed as a systemic vasodilator. This may be of particular relevance to diseases which are associated with reduced cGMP production and the formation of reactive oxygen species. Hence these substances represent two novel agents, which offer, due to a highly specific mechanism of action, a multitude of therapeutic applications.

VII AUSBLICK

Mit den NO-unabhängigen Aktivatoren der löslichen Guanylatzyklase steht eine völlig neue Klasse von Medikamenten zur Verfügung, deren Einsatz nicht auf einer beobachteten Wirkung, sondern auf einem durch biochemische und molekularbiologische Untersuchungen ermittelten Wirkmechanismus beruht.

Da zur Wirkung von Bay 41-2272 auf die pulmonale Zirkulation zum heutigen Zeitpunkt bisher nur zwei Veröffentlichungen vorliegen, sollte der Effekt von Bay 41-2272 in anderen ARDS-Modellen weiter untersucht werden, um einen möglichen Einsatz bei Patienten weiter abzusichern.

Neben der weiteren Evaluierung und Charakterisierung von Bay 41-2272 allein bietet die Kombination mit unterschiedlichen Vasodilatantien ein viel versprechendes Forschungsfeld. Wie gezeigt werden konnte, führt die gemeinsame Gabe von iNO und Bay 41-2272 zu deutlichen Effekten auf den pulmonalen Kreislauf. Aufgrund des bekannten Wirkmechanismus von PDE5-Inhibitoren wäre ein kombinierter Einsatz von Sildenafil und Bay 41-2272 insbesondere vor dem Hintergrund einer klinischen Stickstoffmonoxid-Entwöhnung interessant.

Aufgrund der Ergebnisse mit Bay 58-2667 kann ein Einsatz dieser Substanz als systemischer Vasodilator bei Erkrankungen, bei denen aufgrund oxidativen Stress´ eine Vielzahl der sGC-Moleküle in einer durch NO inaktivierbaren Form vorliegt, angedacht werden. Daher sollte dieser Ansatz weiter verfolgt werden.

VETERINÄRMEDIZINISCHE RELEVANZ

Obwohl sich die vorliegende Arbeit vor dem Hintergrund der klinischen Relevanz des ARDS vorrangig mit der humanmedizinischen Situation beschäftigt, können die Fragestellungen und Aspekte dieser Arbeit grundsätzlich auch auf die Veterinärmedizin angewendet werden. So treten prädispositionierenden Erkrankungen, wie die vier Ätiologien Polytrauma, Pneumonie, Sepsis oder Aspiration, auf die 75% der humanen ARDS Fälle zurückgehen, auch bei den verschiedenen Tierspezies auf.
Daher wird ein natürlich vorkommendes, also nicht experimentell erzeugtes und mit dem humanen ALI/ARDS vergleichbares akutes Lungenversagen bei Hunden [158,174,224,285,286,301,324,382] und Katzen [333,334] beschrieben. Bei Pferden kann im Zusammenhang mit einer Perilla-Keton-Intoxikation, ein ARDS-ähnliches Krankheitsbild, das aufgrund der entsprechenden pathomorphologischen Befunde auch als „interstitielle proliferative Pneumonie“ bezeichnet wird, diagnostiziert werden [413,414]. Bei Rindern kann ein ARDS im Zusammenhang mit einer Bovinen-Synzytial-Virus-Infektion auftreten [177].

Aufgrund der immer besseren Diagnose- und Therapiemöglichkeiten, insbesondere auf dem Gebiet der Kleintiermedizin, erlangen schwerwiegende und lebensbedrohliche Erkrankungen wie das ARDS immer mehr klinische Bedeutung [99,222]. So werden inzwischen Hunde und Katzen mit akutem Lungenversagen, verursacht z.B. durch Polytraumen (Autounfälle), Pneumonien, Beinahe-Ertrinken, Stromschlag oder Rauchgasvergiftungen in veterinärmedizinischen Intensivstationen standardmäßig künstlich beatmet. Neben dem klinischen Einsatz neuer Beatmungsstrategien wie der partiellen Flüssigkeitsbeatmung[189] oder der positiven Druckbeatmung [411] werden auch pharmakologische Therapieansätze in der veterinärmedizinischen Praxis evaluiert.

Daher können die Erkenntnisse dieser Arbeit nicht nur für die Therapie des humanen ARDS von Nutzen sein, sondern sich auch positiv auf veterinärmedizinisch relevante Lungenerkrankungen auswirken, obwohl eine umfangreiche Therapie durch die hohen Kosten, die durch die Patientenbesitzer getragen werden müssen, zurzeit noch begrenzt wird.

DANKSAGUNG

Ich danke Herrn Prof. Dr. W. Seeger für die Überlassung des Themas, die Betreuung und Finanzierung der Arbeit sowie die Bereitstellung der Räumlichkeiten, Geräte und Materialien.

Herrn Prof. Dr. E. Petzinger danke ich herzlich für die Vertretung dieser Arbeit im Fachbereich Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen und die Förderung meiner persönlichen und wissenschaftlichen Entwicklung.

Dr. Ralph Schermuly danke ich für die Hilfe bei der Durchführung und Auswertung der Experimente sowie der Durchsicht der Arbeit.

Bei Herrn Dr. Hollenhorst, Hochschulrechenzentrum der Justus-Liebig-Universität Gießen möchte ich mich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Versuche bedanken.

Nicht zuletzt danke ich ganz besonders meinen Eltern und meinem Bruder, die durch ihren liebevollen Rückhalt diese Arbeit unterstützt und mich immer, besonders auch in schwierigen Lagen begleitet, wieder aufgebaut und motiviert haben.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei meiner Freundin Melanie Helm, die mich voller Verständnis bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützte und mir stets zur Seite stand.

LITERATURÜBERSICHT

1. ANON. (2002)
AVENTIS R&D DAY 2002: Sieben potenzielle Blockbuster bis 2006. Die Fortschritte der Pipeline tragen zum nachhaltigen Wachstum bei
Presseinformation vom 25. Juni 2002
http://www.pharma-aventis.de/mc/Fachpresse/index.php?ID=110

2. ABEL, S.J., FINNEY, S.J., BRETT, S.J., KEOGH, B.F., MORGAN, C.J. und E-VANS, T.W. (1998)
Reduced mortality in association with the acute respiratory distress syndrome (ARDS)
Thorax 53/4: 292 - 294

3. ADRIE, C., HOLZMANN, A., HIRANI, W.M., ZAPOL, W.M. und HURFORD, W.E. (2000)
Effects of intravenous Zaprinast and inhaled nitric oxide on pulmonary hemodynamics and gas exchange in an ovine model of acute respiratory distress syndrome
Anesthesiology 93/2: 422 - 430

4. AHN, H.S., FOSTER, M., CABLE, M., PITTS, B.J. und SYBERTZ, E.J. (1991)
Ca/CaM-stimulated and cGMP-specific phosphodiesterases in vascular and non-vascular tissues
Adv. Exp Med Biol 308/191 - 197

5. ALI, J., CHERNICKI, W. und WOOD, L.D. (1979)
Effect of furosemide in canine low-pressure pulmonary edema
J Clin. Invest 64/5: 1494 - 1504

6. ALI, J. und DUKE, K. (1987)
Does indomethacin affect shunt and its response to PEEP in oleic acid pulmonary edema?
J Appl Physiol 62/6: 2187 - 2192

7. AMATO, M.B.P., BARBAS, C.S.V., MEDEIROS, D.M., MAGALDI, R.B., SCHETTINO, G.P., LORENZI-FILHO, G., KAIRALLA, R.A., DEHEINZELIN, D., MUNOZ, C., OLIVEIRA, R., TAKAGAKI, T.Y. und CARVALHO, C.R.R. (1998)
Effect of a Protective-Ventilation Strategy on Mortality in the Acute Respiratory Distress Syndrome
N Engl J Med 338/6: 347 - 354

8. ANNANE, D., SEBILLE, V., CHARPENTIER, C., BOLLAERT, P.E., FRANCOIS, B., KORACH, J.M., CAPELLIER, G., COHEN, Y., AZOULAY, E., TROCHE, G., CHAUMET-RIFFAUT, P. und BELLISSANT, E. (2002)
Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock
JAMA 288/7: 862 - 871

9. ARBIBE, L., KOUMANOV, K., VIAL, D., ROUGEOT, C., FAURE, G., HAVET, N., LONGACRE, S., VARGAFTIG, B.B., BEREZIAT, G., VOELKER, D.R., WOLF, C. und TOUQUI, L. (1998)
Generation of lyso-phospholipids from surfactant in acute lung injury is mediated by type-II phospholipase A2 and inhibited by a direct surfactant protein A-phospholipase A2 protein interaction
J Clin. Invest 102/6: 1152 - 1160

10. ARDS NETWORK (2000)
Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network
N Engl J Med 342/18: 1301 - 1308

11. ASHBAUGH, D.G., BIGELOW, D.B., PETTY, T.L. und LEVINE, B.E. (1967)
Acute respiratory distress in adults
Lancet 2/319 - 323

12. ASHBAUGH, D.G. und UZAWA, T. (1968)
Respiratory and hemodynamic changes after injection of free fatty acids
J Surg Res. 8/9: 417 - 423

13. ATABAI, K. und MATTHAY, M.A. (2002)
The pulmonary physician in critical care • 5: Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: definitions and epidemiology
Thorax 57/5: 452 - 458

14. ATZ, A.M., LEFLER, A.K., FAIRBROTHER, D.L., UBER, W.E. und BRADLEY, S.M. (2002)
Sildenafil augments the effect of inhaled nitric oxide for postoperative pulmonary hypertensive crises
J Thorac Cardiovasc. Surg 124/3: 628 - 629

15. ATZ, A.M. und WESSEL, D.L. (1999)
Sildenafil ameliorates effects of inhaled nitric oxide withdrawal
Anesthesiology 91/1: 307 - 310

16. AUGOUSTIDES, J.G., CULP, K. und SMITH, S. (2004)
Rebound pulmonary hypertension and cardiogenic shock after withdrawal of inhaled prostacyclin
Anesthesiology 100/4: 1023 - 1025

17. BADWEY, J.A., CURNUTTE, J.T. und KARNOVSKY, M.L. (1981)
cis-Polyunsaturated fatty acids induce high levels of superoxide production by human neutrophils
J. Biol. Chem. 256/24: 12640 - 12643

18. BAKER, C.S., EVANS, T.W., RANDLE, B.J. und HASLAM, P.L. (1999)
Damage to surfactant-specific protein in acute respiratory distress syndrome
Lancet 353/9160: 1232 - 1237

19. BALDAUF, M., SILVER, P. und SAGY, M. (2001)
Evaluating the validity of responsiveness to inhaled nitric oxide in pediatric patients with ARDS: an analytic tool
Chest 119/4: 1166 - 1172

20. BALDUS, S., CASTRO, L., EISERICH, J.P. und FREEMAN, B.A. (2001)
Is •NO news bad news in acute respiratory distress syndrome?
Am J Respir. Crit Care Med 163/2: 308 - 310

21. BALLIGAND, J.L. (1999)
Regulation of cardiac beta-adrenergic response by nitric oxide
Cardiovasc. Res 43/3: 607 - 620

22. BALLOU, D.P., ZHAO, Y., BRANDISH, P.E. und MARLETTA, M.A. (2002)
Revisiting the kinetics of nitric oxide (NO) binding to soluble guanylate cyclase: The simple NO-binding model is incorrect
PNAS 99/19: 12097 - 12101

23. BARTLETT, R., CROCE, M., HIRSCHL, R., GORE, D., WIEDEMANN, H., DAVIS, K. und ZWISCHENBERGER, J. (1997)
A phase II randomized, controlled trial of partial liqid ventilation (PLV) in adult patients with acute hypoxemic respiratory failure (AHRF)
Crit Care Med 25/[Suppl]: A35

24. BAUDOUIN, S.V. (2004)
Exogenous surfactant replacement in ARDS--one day, someday, or never?
N. Engl. J Med 351/9: 853 - 855

25. BAWANKULE, D.U., SATHISHKUMAR, K., SARDAR, K.K., CHANDRA, D., KRISHNA, A.V., PRAKASH, R.V. und MISHRA, S.K. (2005)
BAY 41-2272-Induced Dilation in Ovine Pulmonary Artery: Role of Sodium Pump
J Pharmacol Exp Ther jpet

26. BEAVO, J.A. (1995)
Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms
Physiol Rev 75/4: 725 - 748

27. BECKER, E.M., ONSO-ALIJA, C., APELER, H., GERZER, R., MINUTH, T., PLEISS, U., SCHMIDT, P., SCHRAMM, M., SCHRODER, H., SCHROEDER, W., STEINKE, W., STRAUB, A. und STASCH, J.P. (2001)
NO-independent regulatory site of direct sGC stimulators like YC-1 and BAY 41-2272
BMC. Pharmacol 1/1: 13

28. BECKER, H.F. und JERRENTRUP, A. (2001)
Beatmungstherapie bei akuter respiratorischer Insuffizienz- gegenwärtiger Stand
Internist 42/3: 342 - 348

29. BEHRENDS, S., KEMPFERT, J., MIETENS, A., KOGLIN, M., SCHOLZ, H. und MIDDENDORFF, R. (2001)
Developmental changes of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase expression in pulmonary arteries
Biochem. Biophys. Res Commun. 283/4: 883 - 887

30. BEILMAN, G. (1995)
Pathogenesis of oleic acid-induced lung injury in the rat: distribution of oleic acid during injury and early endothelial cell changes
Lipids 30/9: 817 - 823

31. BENZING, A. und GEIGER, K. (1994)
Inhaled nitric oxide lowers pulmonary capillary pressure and changes longitudinal distribution of pulmonary vascular resistance in patients with acute lung injury
Acta Anaesthesiol. Scand. 38/7: 640 - 645

32. BERGMANN, E.B. (1873)
Ein Fall tödlicher Fettembolie
Klin Wochenschr 10/385 - 387

33. BERNARD, G.R., ARTIGAS, A., BRIGHAM, K.L., CARLET, J., FALKE, K., HUDSON, L., LAMY, M., LEGALL, J.R., MORRIS, A. und SPRAGG, R. (1994)
The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination
Am. J. Respir. Crit. Care Med. 149/3: 818 - 824

34. BEYER, St. und RAGALLER, M. (2000)
Akutes Lungenversagen Pathophysiologie und Therapie
in: Dresdner online Anästhesiemanual, Skripte zu den Klinikfortbildungen 1997-99, Krankheitsbilder und Organsysteme: pp. 62 - 71
Koch, T. und Größle, R. (Eds.), Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Dresden
http://www.tu-dresden.de/medkai/ddmanual.htm

35. BIGATELLO, L.M., HESS, D., DENNEHY, K.C., MEDOFF, B.D. und HURFORD, W.E. (2000)
Sildenafil can increase the response to inhaled nitric oxide
Anesthesiology 92/6: 1827 - 1829

36. BIGATELLO, L.M., HURFORD, W.E., KACMAREK, R.M., ROBERTS, J.D., Jr. und ZAPOL, W.M. (1994)
Prolonged inhalation of low concentrations of nitric oxide in patients with severe adult respiratory distress syndrome. Effects on pulmonary hemodynamics and oxygenation
Anesthesiology 80/4: 761 - 770

37. BIRO, P. und WIEDEMANN, K. (1999)
Jetventilation und Anästhesie für diagnostische und therapeutische EIngriffe an den Atemwegen
Anaesthesist 48/9: 669 - 685

38. BISCHOFF, E. (2004)
Potency, selectivity, and consequences of nonselectivity of PDE inhibition
Int. J Impot. Res 16 Suppl 1/S11 - S14

39. BISCHOFF, E. und STASCH, J.P. (2004)
Effects of the sGC stimulator BAY 41-2272 are not mediated by phosphodiesterase 5 inhibition
Circulation 110/12: e320 - e321

40. BLEYL, J.U., RAGALLER, M., TSCHO, U., REGNER, M., HUBLER, M., KANZOW, M., VINCENT, O. und ALBRECHT, M. (2002)
Changes in pulmonary function and oxygenation during application of perfluorocarbon vapor in healthy and oleic acid-injured animals
Crit Care Med 30/6: 1340 - 1347

41. BLEYL, J.U., RAGALLER, M., TSCHO, U., REGNER, M., KANZOW, M., HUBLER, M., RASCHE, S. und ALBRECHT, M. (1999)
Vaporized perfluorocarbon improves oxygenation and pulmonary function in an ovine model of acute respiratory distress syndrome
Anesthesiology 91/2: 461 - 469

42. BLEYL, J.U., TSCHO, U., REGNER, M., VICENT, O., HUBLER, M., DE ABREU, M.G., KOCH, T., ALBRECHT, D.M. und RAGALLER, M. (2004)
[Reduction in the aggressiveness of ventilation by inhalation of perfluorohexane after therapy of oleic acid-induced respiratory failure]
Anaesthesist 53/2: 137 - 143

43. BLOCH, K.D., FILIPPOV, G., SANCHEZ, L.S., NAKANE, M. und DE LA MONTE, S.M. (1997)
Pulmonary soluble guanylate cyclase, a nitric oxide receptor, is increased during the perinatal period
Am J Physiol 272/3 Pt 1: L400 - L406

44. BOERRIGTER, G., COSTELLO-BOERRIGTER, L.C., CATALIOTTI, A., TSURUDA, T., HARTY, G.J., LAPP, H., STASCH, J.P. und BURNETT, J.C., Jr. (2003)
Cardiorenal and humoral properties of a novel direct soluble guanylate cyclase stimulator BAY 41-2272 in experimental congestive heart failure
Circulation 107/5: 686 - 689

45. BOERRIGTER, G., COSTELLO-BOERRIGTER, L.C., HARTY, G.J., LAPP, H. und BURNETT, J.C., Jr. (2003)
Cardiorenal actions of the new heme-independent direct soluble guanylate cyclase stimulator BAY 58-2667 in experimental congestive heart failure
http://www.biomedcentral.com/abstracts/CGMP/1/p0008/

46. BONNELL, M.R., URDANETA, F., KIRBY, D.S., VALDEZ, N.R., BEAVER, T.M. und LOBATO, E.B. (2004)
Effects of sildenafil analogue UK 343-664 on a porcine model of acute pulmonary hypertension
Ann Thorac Surg 77/1: 238 - 242

47. BREDT, D.S. und SNYDER, S.H. (1990)
Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme
Proc Natl. Acad. Sci. U. S. A 87/2: 682 - 685

48. BROWER, R.G., SHANHOLTZ, C.B., FESSLER, H.E., SHADE, D.M., WHITE, P., Jr., WIENER, C.M., TEETER, J.G., DODD-O JM, ALMOG, Y. und PIANTADOSI, S. (1999)
Prospective, randomized, controlled clinical trial comparing traditional versus reduced tidal volume ventilation in acute respiratory distress syndrome patients
Crit Care Med 27/8: 1492 - 1498

49. BROWER, R.G., WARE, L.B., BERTHIAUME, Y. und MATTHAY, M.A. (2001)
Treatment of ARDS
Chest 120/4: 1347 - 1367

50. BROWN, B.H., FLEWELLING, R., GRIFFITHS, H., HARRIS, N.D., LEATHARD, A.D., LU, L., MORICE, A.H., NEUFELD, G.R., NOPP, P. und WANG, W. (1996)
EITS changes following oleic acid induced lung water
Physiol Meas. 17 Suppl 4A/A117 - A130

51. BRUN-BUISSON, C., MINELLI, C., BERTOLINI, G., BRAZZI, L., PIMENTEL, J., LEWANDOWSKI, K., BION, J., ROMAND, J.A., VILLAR, J., THORSTEINSSON, A., DAMAS, P., ARMAGANIDIS, A. und LEMAIRE, F. (2004)
Epidemiology and outcome of acute lung injury in European intensive care units. Results from the ALIVE study
Intensive Care Med 30/1: 51 - 61

52. BRUNE, B., SCHMIDT, K.U. und ULLRICH, V. (1990)
Activation of soluble guanylate cyclase by carbon monoxide and inhibition by superoxide anion
Eur J Biochem. 192/3: 683 - 688

53. BRUNNER, F., SCHMIDT, K., NIELSEN, E.B. und MAYER, B. (1996)
Novel guanylyl cyclase inhibitor potently inhibits cyclic GMP accumulation in endothelial cells and relaxation of bovine pulmonary artery
J Pharmacol Exp Ther 277/1: 48 - 53

54. BUCHARDI, H. (2000)
Definitions and epidemiology of ARDS
in: First Dresdner postgraduate course on mechanical ventilatilation, 22nd and 23nd September 2000, 1 - 7
Koch, T. und Albrecht, D.M. (Eds.), Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und

Intensivtherapie, Dresden
http://www.tu-dresden.de/medkai/ardssy.htm

55. BUDWORTH, J., MEILLERAIS, S., CHARLES, I. und POWELL, K. (1999)
Tissue distribution of the human soluble guanylate cyclases
Biochem. Biophys. Res Commun. 263/3: 696 - 701

56. BURSTEN, S.L., FEDERIGHI, D.A., PARSONS, P., HARRIS, W.E., ABRAHAM, E., MOORE, E.E., Jr., MOORE, F.A., BIANCO, J.A., SINGER, J.W. und REPINE, J.E. (1996)
An increase in serum C18 unsaturated free fatty acids as a predictor of the development of acute respiratory distress syndrome
Crit Care Med 24/7: 1129 - 1136

57. CARDELL, L.O., UEKI, I.F., STJARNE, P., AGUSTI, C., TAKEYAMA, K., LINDEN, A. und NADEL, J.A. (1998)
Bronchodilatation in vivo by carbon monoxide, a cyclic GMP related messenger
Br J Pharmacol 124/6: 1065 - 1068

58. CARLSEN, J., KJELDSEN, K. und GERSTOFT, J. (2002)
Sildenafil as a successful treatment of otherwise fatal HIV-related pulmonary hypertension
AIDS 16/11: 1568 - 1569

59. CASALS, C., HERRERA, L., GARCIA-BARRENO, P. und MUNICIO, A.M. (1990)
Association of changes in lysophosphatidylcholine metabolism and in microsomal membrane lipid composition to the pulmonary injury induced by oleic acid
Biochim. Biophys. Acta 1023/2: 290 - 297

60. CHELUCCI, G.L., BONCINELLI, S., MARSILI, M., LORENZI, P., ALLEGRA, A., LINDEN, M., CHELUCCI, A., MERCIAI, V., CRESCI, F. und ROSTAGNO, C. (1993)
Aspirin effect on early and late changes in acute lung injury in sheep
Intensive Care Med 19/1: 13 - 21

61. CHERRY, P.D., OMAR, H.A., FARRELL, K.A., STUART, J.S. und WOLIN, M.S. (1990)
Superoxide anion inhibits cGMP-associated bovine pulmonary arterial relaxation
Am J Physiol 259/4 Pt 2: H1056 - H1062

62. CHIEN, W.L., LIANG, K.C., TENG, C.M., KUO, S.C., LEE, F.Y. und FU, W.M. (2005)
Enhancement of learning behaviour by a potent nitric oxide-guanylate cyclase activator YC-1
Eur J Neurosci. 21/6: 1679 - 1688

63. COETZEE, A., ROUSSEAU, H. und LAHNER, D. (1996)
Acute pulmonary hypertension and right ventricular failure in adult respiratory

distress syndrome
S. Afr. Med J 86 Suppl 3/C147 - C151

64. COFFEY, R.L., ALBERT, R.K. und ROBERTSON, H.T. (1983)
Mechanisms of physiological dead space response to PEEP after acute oleic acid lung injury
J Appl Physiol 55/5: 1550 - 1557

65. COHEN, A.W., HNASKO, R., SCHUBERT, W. und LISANTI, M.P. (2004)
Role of caveolae and caveolins in health and disease
Physiol Rev 84/4: 1341 - 1379

66. CORBIN, J.D. und FRANCIS, S.H. (2002)
Pharmacology of phosphodiesterase-5 inhibitors
Int. J Clin. Pract. 56/6: 453 - 459

67. CORBIN, J.D., FRANCIS, S.H. und WEBB, D.J. (2002)
Phosphodiesterase type 5 as a pharmacologic target in erectile dysfunction
Urology 60/2 Suppl 2: 4 - 11

68. CORBIN, J.D. und FRANCIS, S.H. (1999)
Cyclic GMP Phosphodiesterase-5: Target of Sildenafil
J. Biol. Chem. 274/20: 13729 - 13732

69. CROOKE, P.S., KONGKUL, K., LENBURY, Y., ADAMS, A.B., CARTER, C.S., MARINI, J.J. und HOTCHKISS, J.R. (2005)
Mathematical models for pressure controlled ventilation of oleic acid-injured pigs
Math Med Biol 22/1: 99 - 112

70. CURTIS, A.M., KNOWLES, G.D., PUTMAN, C.E., McLOUD, T.C., RAVIN, C.E. und SMITH, G.J. (1979)
The three syndromes of fat embolism: pulmonary manifestations
Yale J Biol. Med 52/2: 149 - 157

71. D'ANGELIS, C.A., NICKERSON, P.A., STEINHORN, R.H. und MORIN, F.C., III (1998)
Heterogeneous distribution of soluble guanylate cyclase in the pulmonary vasculature of the fetal lamb
Anat. Rec. 250/1: 62 - 69

72. DAVDA, R.K., STEPNIAKOWSKI, K.T., LU, G., ULLIAN, M.E., GOODFRIEND, T.L. und EGAN, B.M. (1995)
Oleic Acid Inhibits Endothelial Nitric Oxide Synthase by a Protein Kinase C-Independent Mechanism
Hypertension 26/5: 764 - 770

73. DE TORRENTÉ und KRAPF, R. (2004)
Azidosen: akut und chronisch, respiratorisch und metabolisch
Schweizer Med Forum 4/707 - 712

74. DEGUCHI, T. und YOSHIOKA, M. (1982)
L-Arginine identified as an endogenous activator for soluble guanylate cyclase from neuroblastoma cells
J Biol Chem. 257/17: 10147 - 10151

75. DELLINGER, R.P., ZIMMERMAN, G.A., HYERS, T.M., TAYLOR, R.W., STRAUE, R.C., HAUSER, D.L., DAMASK, M.C., DAVIS, K. und CRINER, G.J. (1996)
Inhaled nitric oxide in ARDS: preliminary results of a multicenter clinical trial
Crit Care Med 24/A29

76. DELLINGER, R.P., ZIMMERMAN, J.L., TAYLOR, R.W., STRAUBE, R.C., HAUSER, D.L., CRINER, G.J., DAVIS, K., Jr., HYERS, T.M. und PAPADAKOS, P. (1998)
Effects of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome: results of a randomized phase II trial. Inhaled Nitric Oxide in ARDS Study Group
Crit Care Med 26/1: 15 - 23

77. DEMBINSKI, R., MAX, M., BENSBERG, R., BICKENBACH, J., KUHLEN, R. und ROSSAINT, R. (2002)
High-frequency oscillatory ventilation in experimental lung injury: effects on gas exchange
Intensive Care Med 28/6: 768 - 774

78. DENNINGER, J.W. und MARLETTA, M.A. (1999)
Guanylate cyclase and the .NO/cGMP signaling pathway
Biochim. Biophys. Acta 1411/2-3: 334 - 350

79. DERKS, C.M. und JACOBOVITZ-DERKS, D. (1977)
Embolic pneumopathy induced by oleic acid. A systematic morphologic study
Am J Pathol. 87/1: 143 - 158

80. DERUELLE, P., GROVER, T.R., STORME, L. und ABMAN, S.H. (2004)
Effects of BAY 41-2272, a soluble Guanylate Cyclase Activator, on pulmonary vascular reactivity in the ovine fetus
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol December 2004/10.1152/ajplung.00409.2004: 00409

81. DERUELLE, P., GROVER, T.R., STORME, L. und ABMAN, S.H. (2004)
Effects of BAY 41-2272, a soluble Guanylate Cyclase Activator, on pulmonary vascular reactivity in the ovine fetus
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol December 2004/10.1152/ajplung.00409.2004: 00409

82. DIAS-JUNIOR, C.A., VIEIRA, T.F., MORENO, H., Jr., EVORA, P.R. und TANUS-SANTOS, J.E. (2005)
Sildenafil selectively inhibits acute pulmonary embolism-induced pulmonary hypertension
Pulm. Pharmacol Ther 18/3: 181 - 186

83. DON, S., HILDEBOLT, C.F., SHARP, T.L., SHACKELFORD, G.D., LAU, D.M., HERMAN, T.E. und MCALISTER, W.H. (1999)
Computed Radiography versus Screen-Film Radiography: Detection of Pulmonary Edema in a Rabbit Model That Simulates Neonatal Pulmonary Infiltrates
Radiology 213/2: 455 - 460

84. DRAB, M., VERKADE, P., ELGER, M., KASPER, M., LOHN, M., LAUTERBACH, B., MENNE, J., LINDSCHAU, C., MENDE, F., LUFT, F.C., SCHEDL, A., HALLER, H. und KURZCHALIA, T.V. (2001)
Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice
Science 293/5539: 2449 - 2452

85. DRAIJER, R., ATSMA, D.E., VAN DER LAARSE, A. und VAN HINSBERGH, V.W.M. (1995)
cGMP and Nitric Oxide Modulate Thrombin-Induced Endothelial Permeability : Regulation via Different Pathways in Human Aortic and Umbilical Vein Endothelial Cells
Circ Res 76/2: 199 - 208

86. DREYFUSS, D. und SAUMON, G. (1998)
Ventilator-induced Lung Injury. Lessons from Experimental Studies
Am. J. Respir. Crit. Care Med. 157/1: 294 - 323

87. DUMITRASCU, R. (2005)
Bay 58-2667 and Bay 41-2272 in the mouse model of hypoxic vasoconstriction
Unveröffentlichte Arbeit

88. EGEMNARZAROV, B., SYDYKOV, A., WEISSMANN, N., SCHERMULY, R., SEEGER, W., GRIMMINGER, F. und GHOFRANI, H.A. (2005)
The soluble guanylate cyclase activator BAY 41-2272 attenuates ischemia-reperfusion injury of the lung
In: Posterabstracts zum 111.Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin (DGIM), Wiesbaden, 2.4 2005 bis 6.4.2005

89. EICHINGER, M.R. und WALKER, B.R. (1996)
Nitric oxide and cGMP do not affect fluid flux in isolated rat lungs
J Appl. Physiol 80/1: 69 - 76

90. ENGELMANN, L. (2000)
[The open-lung concept]
Internist (Berl) 41/10: 985 - 4

91. ENGER, E.L. und O'TOOLE, M.F. (1991)
Noncardiogenic mechanisms of right heart dysfunction
J Cardiovasc Nurs. 6/1: 54 - 69

92. EVGENOV, O.V., ICHINOSE, F., EVGENOV, N.V., GNOTH, M.J., FALKOWSKI, G.E., CHANG, Y., BLOCH, K.D. und ZAPOL, W.M. (2004)
Soluble guanylate cyclase activator reverses acute pulmonary hypertension and augments the pulmonary vasodilator response to inhaled nitric oxide in awake lambs
Circulation 110/15: 2253 - 2259

93. FARO, R., ZANFOLIN, M., GONCALVES DE ARAUJO, E., GUARALDO, A.AM., ANTUNES, E. und NUCCI, G.D. (2003)
Protective effect of Bay 41-2272 (sGC stimulator) on hypertension and heart hypertrophy induced by chronic L-NAME treatment in rats
In: Posterabstracts of the 1st International Conference on cGMP.NO/cGMP Interactions and its Therapeutic Implications, Leipzig, 2.4 2005 bis 16.06.2003

94. FAUCHER, M., BREGEON, F., GAINNIER, M., THIRION, X., AUFFRAY, J.P. und PAPAZIAN, L. (2003)
Cardiopulmonary effects of lipid emulsions in patients with ARDS
Chest 124/1: 285 - 291

95. FERON, O., BELHASSEN, L., KOBZIK, L., SMITH, T.W., KELLY, R.A. und MICHEL, T. (1996)
Endothelial nitric oxide synthase targeting to caveolae. Specific interactions with caveolin isoforms in cardiac myocytes and endothelial cells
J Biol Chem. 271/37: 22810 - 22814

96. FIELITZ, K. (2004)
Untersuchungen zum Neuritenwachstum von Spinalganglienneuronen unter Einfluss des Botenstoffs Stickstoffmonoxid (NO) und zyklischer Nukleotide
Dissertation: Tierärztliche Hochschule Hannover

97. FOEX, P. (1991)
Right ventricular function during ARDS
Acta Anaesthesiol. Scand. Suppl 95/72 - 79

98. FORSTER, C., JÖHR, M. und GEBBERS, J.O. (2002)
Fettembolie und Fettembolie Syndrom
Schweizer Med Forum 28/673 - 678

99. FREVERT, C.W. und WARNER, A.E. (1992)
Respiratory distress resulting from acute lung injury in the veterinary patient
J Vet. Intern. Med 6/3: 154 - 165

100. FRIEBE, A., MULLERSHAUSEN, F., SMOLENSKI, A., WALTER, U., SCHULTZ, G. und KOESLING, D. (1998)
YC-1 potentiates nitric oxide- and carbon monoxide-induced cyclic GMP effects in

human platelets
Mol. Pharmacol. 54/6: 962 - 967

101. FRIEBE, A., MULLERSHAUSEN, F., SMOLENSKI, A., WALTER, U., SCHULTZ, G. und KOESLING, D. (1998)
YC-1 potentiates nitric oxide- and carbon monoxide-induced cyclic GMP effects in human platelets
Mol. Pharmacol. 54/6: 962 - 967

102. FRIEBE, A. und KOESLING, D. (2003)
Regulation of Nitric Oxide-Sensitive Guanylyl Cyclase
Circ Res 93/2: 96 - 105

103. FUHRMAN, B.P., PACZAN, P.R. und DEFRANCISIS, M. (1991)
Perfluorocarbon-associated gas exchange
Crit Care Med 19/5: 712 - 722

104. FUKATA, Y., AMANO, M. und KAIBUCHI, K. (2001)
Rho-Rho-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells
Trends Pharmacol Sci. 22/1: 32 - 39

105. FUORTES, M., POLLOCK, T.W., HOLMAN, M.J., MCMILLEN, M.A., JAFFE, B.M. und SCALEA, T.M. (1988)
Changes in extravascular lung water and fatty acids in a hyperdynamic canine model of sepsis
J Trauma 28/10: 1455 - 1459

106. FURCHGOTT, R.F. und ZAWADZKI, J.V. (1980)
The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine
Nature 288/5789: 373 - 376

107. FURUE, S., KUWABARA, K., MIKAWA, K., NISHINA, K., SHIGA, M., MAEKAWA, N., UENO, M., CHIKAZAWA, Y., ONO, T., HORI, Y., MATSUKAWA, A., YOSHINAGA, M. und OBARA, H. (1999)
Crucial role of group IIA phospholipase A(2) in oleic acid-induced acute lung injury in rabbits
Am J Respir. Crit Care Med 160/4: 1292 - 1302

108. GABRIELSEN, A., VIDEBAEK, R., SCHOU, M., DAMGAARD, M., KASTRUP, J. und NORSK, P. (2002)
Non-invasive measurement of cardiac output in heart failure patients using a new foreign gas rebreathing technique
Clin. Sci. (Lond) 102/2: 247 - 252

109. GAERTNER, S. (2004)
Pulmonale Pharmaka-Applikation mittels Flüssigkeitsbeatmung am ARDS-Modell

des Kaninchens
Dissertation: Justus-Liebig-Universität Giessen

110. GALLE, J., ZABEL, U., HUBNER, U., HATZELMANN, A., WAGNER, B., WANNER, C. und SCHMIDT, H.H.H.W. (1999)
Effects of the soluble guanylyl cyclase activator, YC-1, on vascular tone, cyclic GMP levels and phosphodiesterase activity
Br. J. Pharmacol. 127/1: 195 - 203

111. GAO, Y. und RAJ, J.U. (2005)
Role of veins in regulation of pulmonary circulation
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 288/2: L213 - L226

112. GARCIA-CARDENA, G., OH, P., LIU, J., SCHNITZER, J.E. und SESSA, W.C. (1996)
Targeting of nitric oxide synthase to endothelial cell caveolae via palmitoylation: implications for nitric oxide signaling
Proc Natl. Acad. Sci. U. S A 93/13: 6448 - 6453

113. GARTHWAITE, J., SOUTHAM, E., BOULTON, C.L., NIELSEN, E.B., SCHMIDT, K. und MAYER, B. (1995)
Potent and selective inhibition of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase by 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one
Mol Pharmacol 48/2: 184 - 188

114. GERMANN, P., BALASSA, A., ROEDER, G., KAIDER, A., SCHLAG, G., ZIMPFER, M. und SLADEN, R. (1997)
Effects of inhaled nitric oxide and extracorporeal membrane oxygenation on pulmonary hemodynamics and lymph flow in oleic acid lung injury in sheep
Crit Care Med 25/11: 1881 - 1887

115. GERZER, R., HAMET, P., ROSS, A.H., LAWSON, J.A. und HARDMAN, J.G. (1983)
Calcium-induced release from platelet membranes of fatty acids that modulate soluble guanylate cyclase
J Pharmacol Exp Ther 226/1: 180 - 186

116. GHOFRANI, A., WIEDEMANN, R., ROSE, F., SCHERMULY, R., OLSCHEWSKI, H., WEISSMANN, N., GUNTHER, A., WALMRATH, D., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2002)
Sildenafil is a pulmonary vasodilator and improves gas exchange in patients with sever lung fibrosis and secondary pulmonary hypertension
Lancet 360/9337: 895 - 890

117. GHOFRANI, H.A., OLSCHEWSKI, H., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2002)
[Sildenafil for treatment of severe pulmonary hypertension and commencing right-heart failure]
Pneumologie 56/11: 665 - 672

118. GHOFRANI, H.A., PEPKE-ZABA, J., BARBERA, J.A., CHANNICK, R., KEOGH, A.M., GOMEZ-SANCHEZ, M.A., KNEUSSL, M. und GRIMMINGER, F. (2004)
Nitric oxide pathway and phosphodiesterase inhibitors in pulmonary arterial hypertension
J Am Coll. Cardiol. 43/12 Suppl S: 68S - 72S

119. GHOFRANI, H.A., REICHENBERGER, F., KOHSTALL, M.G., MROSEK, E.H., SEEGER, T., OLSCHEWSKI, H., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2004)
Sildenafil increased exercise capacity during hypoxia at low altitudes and at Mount Everest base camp: a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial
Ann Intern. Med 141/3: 169 - 177

120. GHOFRANI, H.A., ROSE, F., SCHERMULY, R.T., OLSCHEWSKI, H., WIEDEMANN, R., KRECKEL, A., WEISSMANN, N., GHOFRANI, S., ENKE, B., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2003)
Oral sildenafil as long-term adjunct therapy to inhaled iloprost in severe pulmonary arterial hypertension
J Am Coll. Cardiol. 42/1: 158 - 164

121. GHOFRANI, H.A., VOSWINCKEL, R., REICHENBERGER, F., OLSCHEWSKI, H., HAREDZA, P., KARADAS, B., SCHERMULY, R., WEISSMANN, N., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2005)
Unterschiedliche Wirkung der PDE5-Hemmer Sildenafil, Vardenafil und Tadalafil auf die Hämodynamik und den Gasaustausch von Patienten mit Pulmonalarterieller Hypertonie
In: Posterabstracts zum 111.Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin (DGIM), Wiesbaden, 2.4 2005 bis 6.4.2005

122. GHOFRANI, H.A., VOSWINCKEL, R., REICHENBERGER, F., OLSCHEWSKI, H., HAREDZA, P., KARADAS, B., SCHERMULY, R.T., WEISSMANN, N., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2004)
Differences in hemodynamic and oxygenation responses to three different phosphodiesterase-5 inhibitors in patients with pulmonary arterial hypertension: a randomized prospective study
J Am Coll. Cardiol. 44/7: 1488 - 1496

123. GHOFRANI, H.A., WIEDEMANN, R., ROSE, F., OLSCHEWSKI, H., SCHERMULY, R.T., WEISSMANN, N., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2002)
Combination therapy with oral sildenafil and inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension
Ann Intern. Med 136/7: 515 - 522

124. GHOFRANI, H.A., WIEDEMANN, R., ROSE, F., SCHERMULY, R.T., OLSCHEWSKI, H., WEISSMANN, N., GUNTHER, A., WALMRATH, D., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2002)
Sildenafil for treatment of lung fibrosis and pulmonary hypertension: a randomised controlled trial
Lancet 360/9337: 895 - 900

125. GHOFRANI, H.A., WIEDEMANN, R., ROSE, F., WEISSMANN, N., SCHERMULY, R.T., QUANZ, K., GRIMMINGER, F., SEEGER, W. und OLSCHEWSKI, H. (2002)
Lung cGMP release subsequent to NO inhalation in pulmonary hypertension: responders versus nonresponders
Eur Respir J 19/4: 664 - 671

126. GLASS, D.B., FREY, W., CARR, D.W. und GOLDBERG, N.D. (1977)
Stimulation of human platelet guanylate cyclase by fatty acids
J Biol Chem. 252/4: 1279 - 1285

127. GOFF, C.D., CORBIN, R.S., THEISS, S.D., FRIERSON, H.F., Jr., CEPHAS, G.A., TRIBBLE, C.G., KRON, I.L. und YOUNG, J.S. (1997)
Postinjury thromboxane receptor blockade ameliorates acute lung injury
Ann. Thorac. Surg. 64/3: 826 - 829

128. GORACA, A. (2002)
New views on the role of endothelin (minireview)
Endocr. Regul. 36/4: 161 - 167

129. GOSS, C.H., BROWER, R.G., HUDSON, L.D. und RUBENFELD, G.D. (2003)
Incidence of acute lung injury in the United States
Crit Care Med 31/6: 1607 - 1611

130. GRAFF, G., STEPHENSON, J.H., GLASS, D.B., HADDOX, M.K. und GOLDBERG, N.D. (1978)
Activation of soluble splenic cell guanylate cyclase by prostaglandin endoperoxides and fatty acid hydroperoxides
J Biol Chem. 253/21: 7662 - 7676

131. GRESSER, U. und GLEITER, C.H. (2002)
Erectile dysfunction: comparison of efficacy and side effects of the PDE-5 inhibitors sildenafil, vardenafil and tadalafil--review of the literature
Eur J Med Res 7/10: 435 - 446

132. GROTJOHAN, H.P., VAN DER HEIJDE, R.M., JANSEN, J.R., WAGENVOORT, C.A. und VERSPRILLE, A. (1996)
A stable model of respiratory distress by small injections of oleic acid in pigs
Intensive Care Med 22/4: 336 - 344

133. GUIMARAES, C.L., DA-SILVA, S., COUTURE, R. und RAE, G.A. (2000)
Mixed endothelin ET(A) and ET(B) antagonist bosentan inhibits oleic acid-induced lung plasma extravasation in mouse
J Cardiovasc. Pharmacol 36/5 Suppl 1: S371 - S373

134. GUIMARAES, C.L., TRENTIN, P.G. und RAE, G.A. (2002)
Endothelin ET(B) receptor-mediated mechanisms involved in oleic acid- induced acute lung injury in mice
Clin. Sci. (Lond) 103 Suppl 48/340S - 344S

135. GUPTA, R., KUMAR, G. und KUMAR, R.S. (2005)
An update on cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) inhibitors: phosphodiesterases and drug selectivity
Methods Find. Exp Clin. Pharmacol 27/2: 101 - 118

136. GURD, A. (1970)
Fat embolism: an aid to diagnosis
J Bone Joint Surg [Br] 52/732

137. GUST, R., KOZLOWSKI, J., STEPHENSON, A.H. und SCHUSTER, D.P. (1998)
Synergistic hemodynamic effects of low-dose endotoxin and acute lung injury
Am J Respir. Crit Care Med 157/6 Pt 1: 1919 - 1926

138. GUST, R., MCCARTHY, T.J., KOZLOWSKI, J., STEPHENSON, A.H. und SCHUSTER, D.P. (1999)
Response to inhaled nitric oxide in acute lung injury depends on distribution of pulmonary blood flow prior to its administration
Am J Respir. Crit Care Med 159/2: 563 - 570

139. HAITSMA, J.J., PAPADAKOS, P.J. und LACHMANN, B. (2004)
Surfactant therapy for acute lung injury/acute respiratory distress syndrome
Curr. Opin. Crit Care 10/1: 18 - 22

140. HALDEN, E., HEDSTRAND, U. und TORSNER, K. (1982)
Oleic acid lung damage in pigs
Acta Anaesthesiol. Scand. 26/2: 121 - 125

141. HAMPL, V. und HERGET, J. (2000)
Role of nitric oxide in the pathogenesis of chronic pulmonary hypertension
Physiol Rev 80/4: 1337 - 1372

142. HASSAN, M.A. und KETAT, A.F. (2005)
Sildenafil citrate increases myocardial cGMP content in rat heart, decreases its hypertrophic response to isoproterenol and decreases myocardial leak of creatine kinase and troponin T
BMC. Pharmacol 5/1: 10

143. HEDLUND, L.W., EFFMANN, E.L., BATES, W.M., BECK, J.W., GOULDING, P.L. und PUTMAN, C.E. (1982)
Pulmonary edema: a CT study of regional changes in lung density following oleic acid injury
J Comput. Assist. Tomogr. 6/5: 939 - 946

144. HEDLUND, L.W., VOCK, P., EFFMANN, E.L. und PUTMAN, C.E. (1985)
Morphology of oleic acid-induced lung injury. Observations from computed tomography, specimen radiography, and histology
Invest Radiol. 20/1: 2 - 8

145. HEUSSEL, C.P. (2003)
^{19}F-Magnetresonanztomographie zur Messung des lokalen Sauerstoffpartialdruckes bei Flüssigkeitsbeatmung
Dissertation: Universität Mainz

146. HICKLING, K.G., WALSH, J., HENDERSON, S. und JACKSON, R. (1994)
Low mortality rate in adult respiratory distress syndrome using low-volume, pressure-limited ventilation with permissive hypercapnia: a prospective study
Crit Care Med 22/10: 1568 - 1578

147. HILKNER-SILVA, M., LEME, A.S., RANTES-COSTA, F.M., SALDIVA, P.H., LICHTENSTEIN, A. und MARTINS, M.A. (2001)
Effects of mannitol on the acute lung injury induced by oleic acid in rats
Shock 16/6: 415 - 418

148. HIRSCHL, R.B., CROCE, M., GORE, D., WIEDEMANN, H., DAVIS, K., ZWISCHENBERGER, J. und BARTLETT, R.H. (2002)
Prospective, randomized, controlled pilot study of partial liquid ventilation in adult acute respiratory distress syndrome
Am J Respir Crit Care Med 165/6: 781 - 787

149. HLASTALA, M.P. (2000)
New insights into the mechanism of pulmonary blood flow distribution
in: First Dresdner postgraduate course on mechanical ventilatilation, 22nd and 23nd September 2000, Koch, T. und Albrecht, D.M. (Eds.), Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Dresden
http://www.tu-dresden.de/medkai/ardssy.htm

150. HOBBS, A.J. (2002)
Soluble guanylate cyclase: an old therapeutic target re-visited
Br J Pharmacol. 136/5: 637 - 640

151. HOBBS, A.J. (1997)
Soluble guanylate cyclase: the forgotten sibling
Trends Pharmacol Sci. 18/12: 484 - 491

152. HOBBS, A.J. und IGNARRO, L.J. (1997)
The nitric oxide-cyclicGMP signal transduction system
in: Nitric Oxide and the Lung, 1 - 57
Zapol, W.M. und Bloch, K.D. (Eds.), Marcel Dekker, Inc, New York, Basel, Hong Kong

153. HOPKINS, S.áR., JOHNSON, E.áC., RICHARDSON, R.á., WAGNER, H., DEÁROSA, M. und WAGNER, P.á. (1997)
Effects of Inhaled Nitric Oxide on Gas Exchange in Lungs with Shunt or Poorly Ventilated Areas
Am. J. Respir. Crit. Care Med. 156/2: 484 - 491

154. HU, X., CAO, L., LAM, L.K., ZHU, L., GUO, C. und SUN, B. (2004)
Mitigation of Meconium-Induced Lung Injury by Surfactant and Inhaled Nitric Oxide Is Associated with Suppression of Nuclear Transcription Factor Kappa B
Biol Neonate 87/2: 73 - 81

155. HUBLER, M., SOUDERS, J.E., SHADE, E.D., POLISSAR, N.L., SCHIMMEL, C. und HLASTALA, M.P. (2001)
Effects of vaporized perfluorocarbon on pulmonary blood flow and ventilati-on/perfusion distribution in a model of acute respiratory distress syndrome
Anesthesiology 95/6: 1414 - 1421

156. HUBLOUE, I., BIARENT, D., KAFI, S.A., BEJJANI, G., MÉLOT, C., NAEIJE, R. und LEEMAN, M. (2003)
Endothelin receptor blockade in canine oleic-acid-induced lung injury
Intensive Care Med 29/1003 - 1006

157. HUMBERT, M., SITBON, O. und SIMONNEAU, G. (2004)
Treatment of pulmonary arterial hypertension
N Engl J Med 351/14: 1425 - 1436

158. HUNTER, T.L. (2001)
Acute respiratory distress syndrome in a 10-year-old dog
Can. Vet. J 42/9: 727 - 729

159. ICHINOSE, F., ADRIE, C., HURFORD, W.E., BLOCH, K.D. und ZAPOL, W.M. (1998)
Selective pulmonary vasodilation induced by aerosolized zaprinast
Anesthesiology 88/2: 410 - 416

160. ICHINOSE, F., ADRIE, C., HURFORD, W.E. und ZAPOL, W.M. (1995)
Prolonged pulmonary vasodilator action of inhaled nitric oxide by Zaprinast in awa-ke lambs
J Appl. Physiol 78/4: 1288 - 1295

161. ICHINOSE, F., ERANA-GARCIA, J., HROMI, J., RAVEH, Y., JONES, R., KRIM, L., CLARK, M.W., WINKLER, J.D., BLOCH, K.D. und ZAPOL, W.M. (2001)
Nebulized sildenafil is a selective pulmonary vasodilator in lambs with acute pulmo-nary hypertension
Crit Care Med 29/5: 1000 - 1005

162. IGNARRO, L.J. und WOOD, K.S. (1987)
Activation of purified soluble guanylate cyclase by arachidonic acid requires ab-sence of enzyme-bound heme
Biochim. Biophys. Acta 928/2: 160 - 170

163. IGNARRO, L.J., WOOD, K.S. und WOLIN, M.S. (1982)
Activation of purified soluble guanylate cyclase by protoporphyrin IX
Proc Natl. Acad. Sci. U. S A 79/9: 2870 - 2873

164. INOUE, H., YANO, K., NOTO, T., TAKAGI, M., IKEO, T. und KIKKAWA, K. (2002)
Acute and chronic effects of T-1032, a novel selective phosphodiesterase type 5 inhibitor, on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats
Biol. Pharm. Bull. 25/11: 1422 - 1426

165. INOUE, Y., TOKUYAMA, K., NISHIMURA, H., ARAKAWA, H., KATO, M., MOCHIZUKI, H. und MORIKAWA, A. (2002)
Effects of STA_2, a thromboxane A_2 mimetic, in inducing airflow obstruction and airway microvascular leakage in guinea pigs
Pharmacology 65/2: 62 - 68

166. ISHITSUKA, Y., MORIUCHI, H., HATAMOTO, K., YANG, C., TAKASE, J., GOLBIDI, S., IRIKURA, M. und IRIE, T. (2004)
Involvement of thromboxane A_2 (TXA_2) in the early stages of oleic acid-induced lung injury and the preventive effect of ozagrel, a TXA_2 synthase inhibitor, in guinea-pigs
J Pharm. Pharmacol 56/4: 513 - 520

167. ISHITSUKA, Y., MORIUCHI, H., YANG, C., KURITA, S., GOLBIDI, S., IRIKURA, M. und IRIE, T. (2004)
Preventive effect of tranilast on oleic acid-induced lung injury in guinea pigs
Biol Pharm. Bull 27/9: 1451 - 1454

168. ITO, K., MIZUTANI, A., KIRA, S., MORI, M., IWASAKA, H. und NOGUCHI, T. (2005)
Effect of Ulinastatin, a human urinary trypsin inhibitor, on the oleic acid-induced acute lung injury in rats via the inhibition of activated leukocytes
Injury 36/3: 387 - 394

169. JACOBS, B.R., BRILLI, R.J., BALLARD, E.T., PASSERINI, D.J. und SMITH, D.J. (1998)
Aerosolized soluble nitric oxide donor improves oxygenation and pulmonary hypertension in acute lung injury
Am J Respir. Crit Care Med 158/5 Pt 1: 1536 - 1542

170. JACOBS, B.R., SMITH, D.J., ZINGARELLI, B., PASSERINI, D.J., BALLARD, E.T. und BRILLI, R.J. (2000)
Soluble nitric oxide donor and surfactant improve oxygenation and pulmonary hypertension in porcine lung injury
Nitric. Oxide. 4/4: 412 - 422

171. JARDIN, F., FARCOT, J.C., BOISANTE, L., CURIEN, N., MARGAIRAZ, A. und BOURDARIAS, J.P. (1981)
Influence of positive end-expiratory pressure on left ventricular performance
N Engl J Med 304/7: 387 - 392

172. JARDIN, F., FELLAHI, J.L., BEAUCHET, A., VIEILLARD-BARON, A., LOUBIERES, Y. und PAGE, B. (1999)

Improved prognosis of acute respiratory distress syndrome 15 years on
Intensive Care Med 25/9: 936 - 941

173. JARDIN, F., GURDJIAN, F., DELILLE, F. und MARGAIRAZ, A. (1979)
Pulmonary hypertension in the adult respiratory distress syndrome (ARDS)
Intensive Care Med 5/3: 155 - 156

174. JARVINEN, A.K., SAARIO, E., ANDRESEN, E., HAPPONEN, I., SAARI, S. und RAJAMAKI, M. (1995)
Lung injury leading to respiratory distress syndrome in young Dalmatian dogs
J Vet. Intern. Med 9/3: 162 - 168

175. JEDLITSCHKY, G., BURCHELL, B. und KEPPLER, D. (2000)
The multidrug resistance protein 5 functions as an ATP-dependent export pump for cyclic nucleotides
J Biol Chem. 275/39: 30069 - 30074

176. JEFFERSON, N.C. und NECHELES, H. (1948)
Oleic acid toxicity and fat embolism
Proc Soc Exp Biol 248 - 250

177. JOLLY, S., GÉRARDINS, J. und DESMECHT, D. (2002)
Bovine Respiratory Syncytial Virus-associated ARDS in cattle: Serum Tryptase levels suggest extensive mast call degranulation
http://the-vcrs.org/2002/abstracts/Gerardin.Abstract.7.doc

178. JONES, J.G., MINTY, B.D., BEELEY, J.M., ROYSTON, D., CROW, J. und GROSSMAN, R.F. (1982)
Pulmonary epithelial permeability is immediately increased after embolisation with oleic acid but not with neutral fat
Thorax 37/3: 169 - 174

179. JULIEN, M., HOEFFEL, J.M. und FLICK, M.R. (1986)
Oleic acid lung injury in sheep
J Appl Physiol 60/2: 433 - 440

180. JÜRGENS, E., KUHLEN, R., MAX, M. und ROSSAINT, R. (2001)
Beatmungsstrategie beim akuten Lungenversagen
Intensivmed 38/7: 601 - 610

181. KAFI, S.A., SCILLIA, P., MELOT, C., GEVENOIS, P.A., PAGNAMENTA, A. und NAEIJE, R. (2002)
Abnormal pulmonary vascular tone in canine oleic acid lung injury
Crit Care Med 30/7: 1565 - 1569

182. KAISERS, U., BUSCH, T., DEJA, M., DONAUBAUER, B. und FALKE, K.J. (2003)

Selective pulmonary vasodilation in acute respiratory distress syndrome
Crit Care Med 31/4 Suppl: S337 - S342

183. KAISERS, U., KELLY, K.P. und BUSCH, T. (2003)
Liquid ventilation
Br J Anaesth. 91/1: 143 - 151

184. KALBHEIM-GABB, E.M. (1998)
Gibt es das "ideale Kolloid"? Neue Aspekte der Volumentherapie
Anaesthesist 47/956

185. KATZ, S.A., HALUSHKA, P.V., WISE, W.C. und COOK, J.A. (1987)
Oleic acid induces pulmonary injury independent of eicosanoids in the isolated, perfused rabbit lung
Circ Shock 22/3: 221 - 230

186. KEMPS, C. (2000)
Dosisabhängige Effekte von Almitrindimesilat auf Hämodynamik und pulmonalen Gasaustausch beim experimentell induzierten akuten Lungenversagen am Schwein
Dissertation: Humboldt-Universität Berlin

187. KHAN, W.A., BLOBE, G.C. und HANNUN, Y.A. (1992)
Activation of protein kinase C by oleic acid. Determination and analysis of inhibition by detergent micelles and physiologic membranes: requirement for free oleate
J Biol Chem. 267/6: 3605 - 3612

188. KIM, H.J., PYEUN, Y.S., KIM, Y.W., CHO, B.M., LEE, T.H., MOON, T.Y., SUH, K.T. und PARK, B.R. (2005)
A Model for Research on the Blood-Brain Barrier Disruption Induced by Unsaturated Fatty Acid Emulsion
Invest Radiol 40/5: 270 - 276

189. KING, L. (2005)
Partial Liquid ventilation with decalin (sterile perfluorocarbon liquid) in client-owned dogs and cats with naturally occurring severe diffuse lung disease
http://www.vet.upenn.edu/departments/csp/criticalcare/icu/trials/decalin.html

190. KINSELLA, J.P., TORIELLI, F., ZIEGLER, J.W., IVY, D.D. und ABMAN, S.H. (1995)
Dipyridamole augmentation of response to nitric oxide
Lancet 346/8975: 647 - 648

191. KLABUNDE, R.E. (2004)
Cardiovascular Physiology Concepts
http://www.oucom.ohiou.edu/CVPhysiology/BP020.htm

192. KLEEN, M., ZWISSLER, B. und MESSMER, K. (1998)
PEEP only partly restores disturbed distribution of regional pulmonary blood flow in

lung injury
Am J Physiol 274/1 Pt 2: H209 - H216

193. KLEINSASSER, A., LOECKINGER, A., HOERMANN, C., PUEHRINGER, F., MUTZ, N., BARTSCH, G. und LINDNER, K.H. (2001)
Sildenafil modulates hemodynamics and pulmonary gas exchange
Am J Respir. Crit Care Med 163/2: 339 - 343

194. KLÖR, H.U. (2002)
Freie Fettsäuren/freie Ölsäure und ARDS: für ClinOleic® 20% nicht relevant
http://www.baxter.de/loesungen/prot/ARDSClinOleic.pdf

195. KO, F.N., WU, C.C., KUO, S.C., LEE, F.Y. und TENG, C.M. (1994)
YC-1, a novel activator of platelet guanylate cyclase
Blood 84/12: 4226 - 4233

196. KOHLER, P. (1997)
Das kapilläre Leck
HAES-infu 1/1 - 4

197. KOKSEL, O., YILDIRIM, C., TIFTIK, R.N., KUBAT, H., TAMER, L., CINEL, L., KAPLAN, M.B., DEGIRMENCI, U., OZDULGER, A. und BUYUKAFSAR, K. (2005)
Rho-kinase (ROCK-1 and ROCK-2) upregulation in oleic acid-induced lung injury and its restoration by Y-27632
Eur J Pharmacol 510/1-2: 135 - 142

198. KOPP, R., HENZLER, D., DEMBINSKI, R. und KUHLEN, R. (2004)
[Extracorporeal membrane oxygenation by acute respiratory distress syndrome]
Anaesthesist 53/2: 168 - 174

199. KOPP, R., KUHLEN, R., MAX, M. und ROSSAINT, R. (2003)
Evidenzbasierte Medizin des akuten Lungenversagens
Anaesthesist 52/495 - 203

200. KRAFFT, P., FRIDRICH, P., FITZGERALD, R.D., KOC, D. und STELTZER, H. (1996)
Effectiveness of nitric oxide inhalation in septic ARDS
Chest 109/2: 486 - 493

201. KRUSE-ELLIOTT, K. und OLSON, N.C. (1990)
Role of leukotrienes during oleic acid-induced lung injury in pigs
J Appl Physiol 68/4: 1360 - 1367

202. LACHMANN, B. (1992)
Open up the lung and keep the lung open
Intensive Care Med 18/6: 319 - 321

203. LACHMANN, B., ROBERTSON, B. und VOGEL, J. (1980)
In vivo lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome
Acta Anaesthesiol. Scand. 24/3: 231 - 236

204. LAMOTHE, M., CHANG, F.J., BALASHOVA, N., SHIROKOV, R. und BEUVE, A. (2004)
Functional characterization of nitric oxide and YC-1 activation of soluble guanylyl cyclase: structural implication for the YC-1 binding site?
Biochemistry 43/11: 3039 - 3048

205. LAYLAND, J., LI, J.M. und SHAH, A.M. (2002)
Role of cyclic GMP-dependent protein kinase in the contractile response to exogenous nitric oxide in rat cardiac myocytes
J Physiol (Lond) 540/2: 457 - 467

206. LEEMAN, M., DELCROIX, M., VACHIERY, J.L., MELOT, C. und NAEIJE, R. (1992)
Blunted hypoxic vasoconstriction in oleic acid lung injury: effect of cyclooxygenase inhibitors
J Appl Physiol 72/1: 251 - 258

207. LEEMAN, M., LEJEUNE, P., CLOSSET, J., VACHIERY, J.L., MELOT, C. und NAEIJE, R. (1990)
Nature of pulmonary hypertension in canine oleic acid pulmonary edema
J Appl Physiol 69/1: 293 - 298

208. LEEMAN, M., LEJEUNE, P., CLOSSET, J., VACHIERY, J.L., MELOT, C. und NAEIJE, R. (1990)
Effects of PEEP on pulmonary hemodynamics in intact dogs with oleic acid pulmonary edema
J Appl Physiol 69/6: 2190 - 2196

209. LEKKA, M.E., LIOKATIS, S., NATHANAIL, C., GALANI, V. und NAKOS, G. (2004)
The Impact of Intravenous Fat Emulsion Administration in Acute Lung Injury
Am. J. Respir. Crit. Care Med. 169/5: 638 - 644

210. LEUCHTE, H.H., SCHWAIBLMAIR, M., BAUMGARTNER, R.A., NEUROHR, C.F., KOLBE, T. und BEHR, J. (2004)
Hemodynamic response to sildenafil, nitric oxide, and iloprost in primary pulmonary hypertension
Chest 125/2: 580 - 586

211. LEWANDOWSKI, K. (1998)
[Diseases of acid-base imbalance]
Anaesthesist 47/3: 261 - 262

212. LEWANDOWSKI, K. (2000)
Einfluss verschiedener Ätiologien auf die Überlebensraten von Patienten mit akutem

Lungenversagen (ARDS)
Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung 1. Quartal/112 - 115

213. LEWANDOWSKI, K. (2004)
Epidemiologie und Pathophysiologie des akuten Lungenversagens
http://www.mcn-nuernberg.de/ipt-abstracts-2004/Lewandowski.pdf

214. LEWIS, J.F. und BRACKENBURY, A. (2003)
Role of exogenous surfactant in acute lung injury
Crit Care Med 31/4 Suppl: S324 - S328

215. LI, S.J. und SUN, N.L. (2005)
Regulation of intracellular Ca(2+) and calcineurin by NO/PKG in proliferation of vascular smooth muscle cells
Acta Pharmacol Sin. 26/3: 323 - 328

216. LIM, S.C., ADAMS, A.B., SIMONSON, D.A., DRIES, D.J., BROCCARD, A.F., HOTCHKISS, J.R. und MARINI, J.J. (2004)
Transient hemodynamic effects of recruitment maneuvers in three experimental models of acute lung injury
Crit Care Med 32/12: 2378 - 2384

217. LINDEN, V., PALMER, K., REINHARD, J., WESTMAN, R., EHREN, H., GRANHOLM, T. und FRENCKNER, B. (2000)
High survival in adult patients with acute respiratory distress syndrome treated by extracorporeal membrane oxygenation, minimal sedation, and pressure supported ventilation
Intensive Care Med 26/11: 1630 - 1637

218. LINDER, A.E., MCCLUSKEY, L.P., COLE III, K.R., LANNING, K.M. und WEBB, R.C. (2005)
Dynamic association of Nitric Oxide downstream signaling molecules with endothelial Caveolin-1 in Rat Aorta
J Pharmacol Exp Ther

219. LIU, H., ZHANG, D., ZHAO, B. und ZHAO, J. (2004)
Superoxide anion, the main species of ROS in the development of ARDS induced by oleic acid
Free Radic. Res 38/12: 1281 - 1287

220. LIU, J., GARCIA-CARDENA, G. und SESSA, W.C. (1996)
Palmitoylation of endothelial nitric oxide synthase is necessary for optimal stimulated release of nitric oxide: implications for caveolae localization
Biochemistry 35/41: 13277 - 13281

221. LIU, X. und HUANG, C. (1999)
The changes of plasma endothelin in oleic acid-induced acute lung injury and their implication
J Tongji Med Univ 19/2: 93 - 95

222. LIUM, B. (1983)
Adult respiratory distress syndrome (ARDS). Incidence, clinical findings, pathomorphology and pathogenesis. A review
Nord. Vet. Med 35/1: 38 - 47

223. LOHBRUNNER, H., DEJA, M., BUSCH, T., SPIES, C.D., ROSSAINT, R. und KAISERS, U. (2004)
Stellenwert von inhaliertem Stickstoffmonoxid bei der Behandlung des schweren akuten Lungenversagens
Anaesthesist 53/8: 771 - 783

224. LOPEZ, A., LANE, I.F. und HANNA, P. (1995)
Adult respiratory distress syndrome in a dog with necrotizing pancreatitis
Can. Vet. J 36/4: 240 - 241

225. LOWSON, S.M. (2005)
Inhaled alternatives to nitric oxide
Crit Care Med 33/3: S188 - S195

226. LOWSON, S.M. (2002)
Inhaled alternatives to nitric oxide
Anesthesiology 96/6: 1504 - 1513

227. LOWSON, S.M. (2004)
Alternatives to nitric oxide
Br Med Bull 70/1: 119 - 131

228. LU, G., GREENE, E.L., NAGAI, T. und EGAN, B.M. (1998)
Reactive Oxygen Species Are Critical in the Oleic Acid-Mediated Mitogenic Signaling Pathway in Vascular Smooth Muscle Cells
Hypertension 32/6: 1003 - 1010

229. LUCAS, K.A., PITARI, G.M., KAZEROUNIAN, S., RUIZ-STEWART, I., PARK, J., SCHULZ, S., CHEPENIK, K.P. und WALDMAN, S.A. (2000)
Guanylyl Cyclases and Signaling by Cyclic GMP
Pharmacol Rev 52/3: 375 - 414

230. LUDWIGS, U., KLINGSTEDT, C., BAEHRENDTZ, S., WEGENIUS, G. und HEDENSTIERNA, G. (1995)
Volume-controlled inverse ratio ventilation in oleic acid induced lung injury. Effects on gas exchange, hemodynamics, and computed tomographic lung density
Chest 108/3: 804 - 809

231. LUECKE, T., HERRMANN, P. und QUINTEL, M. (2000)
[High frequency oscillatory ventilation as therapy for acute lung injury and ARDS]
Anaesthesist 49/11: 972 - 980

232. LUNDIN, S., MANG, H., SMITHIES, M., STENQVIST, O. und FROSTELL, C. (1999)
Inhalation of nitric oxide in acute lung injury: results of a European multicentre study. The European Study Group of Inhaled Nitric Oxide
Intensive Care Med 25/9: 911 - 919

233. MALO, J., ALI, J. und WOOD, L.D. (1984)
How does positive end-expiratory pressure reduce intrapulmonary shunt in canine pulmonary edema?
J Appl. Physiol 57/4: 1002 - 1010

234. MARCZIN, N. und ROYSTON, D. (2001)
Nitric oxide as mediator, marker and modulator of microvascular damage in ARDS
Br. J. Anaesth. 87/2: 179 - 183

235. MARINI, J.J. (1996)
Evolving concepts in the ventilatory management of acute respiratory distress syndrome
Clin. Chest Med 17/3: 555 - 575

236. MÄRSCHENZ, K. (2003)
Neue Purine mit gerinnungsphysiologischer Aktivität
Dissertation: Freien Universität Berlin

237. MARTYNOWICZ, M.A., MINOR, T.A., WALTERS, B.J. und HUBMAYR, R.D. (1999)
Regional expansion of oleic acid-injured lungs
Am J Respir. Crit Care Med 160/1: 250 - 258

238. MARTYNOWICZ, M.A., WALTERS, B.J. und HUBMAYR, R.D. (2001)
Mechanisms of recruitment in oleic acid-injured lungs
J Appl. Physiol 90/5: 1744 - 1753

239. MASCLANS, J.R., IGLESIA, R., BERMEJO, B., PICO, M., RODRIGUEZ-ROISIN, R. und PLANAS, M. (1998)
Gas exchange and pulmonary haemodynamic responses to fat emulsions in acute respiratory distress syndrome
Intensive Care Med 24/9: 918 - 923

240. MATALON, S. und JI, H.L. (2005)
Oleic Acid Damages Ion Transport and Promotes Alveolar Edema: The Dark Side of Healthy Living
Am. J. Respir. Crit. Care Med. 171/5: 424 - 425

241. MAURICE, D.H. (2005)
Cyclic nucleotide phosphodiesterase-mediated integration of cGMP and cAMP signaling in cells of the cardiovascular system
Front Biosci. 10/1221 - 1228

242. MAYER, K. (2004)
Fettemulsionen während SIRS, fulminantem SIRS und Sepsis
http://www.dgem.de/termine/irsee2004/mayer.pdf

243. MCCULLOUGH, A.R. (2002)
Four-Year Review of Sildenafil Citrate
Reviews in Urology 4/Suppl. 3: 26 - 38

244. MCGUIGAN, R.M., MULLENIX, P., NORLUND, L.L., WARD, D., WALTS, M. und AZAROW, K. (2003)
Acute lung injury using oleic acid in the laboratory rat: establishment of a working model and evidence against free radicals in the acute phase
Curr. Surg 60/4: 412 - 417

245. MCINTYRE, R.W., LAWS, A.K. und RAMACHANDRAN, P.R. (1969)
Positive expiratory pressure plateau: improved gas exchange during mechanical ventilation
Can. Anaesth. Soc. J 16/6: 477 - 486

246. MEDURI, G.U. und CHINN, A. (1994)
Fibroproliferation in late adult respiratory distress syndrome. Pathophysiology, clinical and laboratory manifestations, and response to corticosteroid rescue treatment
Chest 105/3 Suppl: 127S - 129S

247. MEDURI, G.U., CHINN, A.J., LEEPER, K.V., WUNDERINK, R.G., TOLLEY, E., WINER-MURAM, H.T., KHARE, V. und ELTORKY, M. (1994)
Corticosteroid rescue treatment of progressive fibroproliferation in late ARDS. Patterns of response and predictors of outcome
Chest 105/5: 1516 - 1527

248. MEDURI, G.U., HEADLEY, A.S., GOLDEN, E., CARSON, S.J., UMBERGER, R.A., KELSO, T. und TOLLEY, E.A. (1998)
Effect of prolonged methylprednisolone therapy in unresolving acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial
JAMA 280/2: 159 - 165

249. MEI, S., YAO, W., ZHU, Y.j. und ZHAO, J.y. (2005)
Protection of Pirfenidone against an early phase of Oleic acid induced acute lung injury in rats
J Pharmacol Exp Ther 313/1: 379 - 388

250. MELICHAR, V.O. (2002)
Einfluß der Atherosklerose auf den NO:cGMP Signalweg am Modell des cholesterin-gefütterten Kaninchen
Dissertation: Universität Würzburg

251. MELLOR, A. und SONI, N. (2001)
Fat embolism
Anaesthesia 56/2: 145 - 154

252. MELOT, C., LEJEUNE, P., LEEMAN, M., MORAINE, J.J. und NAEIJE, R. (1989)
Prostaglandin E1 in the adult respiratory distress syndrome. Benefit for pulmonary hypertension and cost for pulmonary gas exchange
Am Rev Respir. Dis. 139/1: 106 - 110

253. METZ, C. und SIBBALD, W.J. (1991)
Anti-inflammatory therapy for acute lung injury. A review of animal and clinical studies
Chest 100/4: 1110 - 1119

254. MICHELAKIS, E., TYMCHAK, W., LIEN, D., WEBSTER, L., HASHIMOTO, K. und ARCHER, S. (2002)
Oral sildenafil is an effective and specific pulmonary vasodilator in patients with pulmonary arterial hypertension: comparison with inhaled nitric oxide
Circulation 105/20: 2398 - 2403

255. MICHELAKIS, E.D. (2003)
The role of the NO axis and its therapeutic implications in pulmonary arterial hypertension
Heart Fail. Rev 8/1: 5 - 21

256. MILBERG, J.A., DAVIS, D.R., STEINBERG, K.P. und HUDSON, L.D. (1995)
Improved survival of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): 1983-1993
JAMA 273/4: 306 - 309

257. MOLONEY, E.D. und EVANS, T.W. (2003)
Pathophysiology and pharmacological treatment of pulmonary hypertension in acute respiratory distress syndrome
Eur Respir J 21/4: 720 - 727

258. MOLS, G., LOOP, T., GEIGER, K., FARTHMANN, E. und BENZING, A. (2000)
Extracorporeal membrane oxygenation: a ten-year experience
Am J Surg 180/2: 144 - 154

259. MONCADA, S., PALMER, R.M. und HIGGS, E.A. (1991)
Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology
Pharmacol Rev. 43/2: 109 - 142

260. MORELAND, R.B., BRIONI, J.D. und SULLIVAN, J.P. (2004)
Emerging pharmacologic approaches for the treatment of lower urinary tract disorders
J Pharmacol Exp Ther 308/3: 797 - 804

261. MORENO, L., LOSADA, B., COGOLLUDO, A., LODI, F., LUGNIER, C., VILLAMOR, E., MORO, M., TAMARGO, J. und PEREZ-VIZCAINO, F. (2004)
Postnatal maturation of phosphodiesterase 5 (PDE5) in piglet pulmonary arteries: activity, expression, effects of PDE5 inhibitors, and role of the nitric oxide/cyclic

GMP pathway
Pediatr. Res 56/4: 563 - 570

262. MORIUCHI, H., ZAHA, M., FUKUMOTO, T. und YUIZONO, T. (1998)
Activation of polymorphonuclear leukocytes in oleic acid-induced lung injury
Intensive Care Med 24/7: 709 - 715

263. MULLERSHAUSEN, F., KOESLING, D. und FRIEBE, A. (2005)
NO-sensitive guanylyl cyclase and NO-induced feedback inhibition in cGMP signaling
Front Biosci. 10/1269 - 1278

264. MULLERSHAUSEN, F., RUSSWURM, M., FRIEBE, A. und KOESLING, D. (2004)
Inhibition of phosphodiesterase type 5 by the activator of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase BAY 41-2272
Circulation 109/14: 1711 - 1713

265. MULLERSHAUSEN, F. (2003)
Desensitisierung der NO/cGMP-vermittelten Signaltransduktion
Dissertation: Ruhr-Universität Bochum

266. MULSCH, A., BAUERSACHS, J., SCHAFER, A., STASCH, J.P., KAST, R. und BUSSE, R. (1997)
Effect of YC-1, an NO-independent, superoxide-sensitive stimulator of soluble guanylyl cyclase, on smooth muscle responsiveness to nitrovasodilators
Br. J Pharmacol 120/4: 681 - 689

267. MUNDY, A.L. und DORRINGTON, K.L. (2000)
Inhibition of nitric oxide synthesis augments pulmonary oedema in isolated perfused rabbit lung
Br. J. Anaesth. 85/4: 570 - 576

268. NAKANE, M. (2003)
Soluble guanylyl cyclase: physiological role as an NO receptor and the potential molecular target for therapeutic application
Clin. Chem. Lab Med 41/7: 865 - 870

269. NAPOLI, C. und PALINSKI, W. (2005)
Neurodegenerative diseases: insights into pathogenic mechanisms from atherosclerosis
Neurobiol. Aging 26/3: 293 - 302

270. NEUMANN, P., BERGLUND, J.E., ANDERSSON, L.G., MARIPU, E., MAGNUSSON, A. und HEDENSTIERNA, G. (2000)
Effects of inverse ratio ventilation and positive end-expiratory pressure in oleic acid-induced lung injury
Am J Respir. Crit Care Med 161/5: 1537 - 1545

271. NEUMANN, P. und HEDENSTIERNA, G. (2001)
Ventilation-perfusion distributions in different porcine lung injury models
Acta Anaesthesiol. Scand. 45/1: 78 - 86

272. NEUMANN, P. und HEDENSTIERNA, G. (2001)
Ventilatory support by continuous positive airway pressure breathing improves gas exchange as compared with partial ventilatory support with airway pressure release ventilation
Anesth. Analg. 92/4: 950 - 958

273. NIES, A.T., SPRING, H., THON, W.F., KEPPLER, D. und JEDLITSCHKY, G. (2002)
Immunolocalization of multidrug resistance protein 5 in the human genitourinary system
J Urol. 167/5: 2271 - 2275

274. NIRMALAN, M., NIRANJAN, M., WILLARD, T., EDWARDS, J.D., LITTLE, R.A. und DARK, P.M. (2004)
Estimation of errors in determining intrathoracic blood volume using thermal dilution in pigs with acute lung injury and haemorrhage
Br J Anaesth. 93/4: 546 - 551

275. NIU, X.L., LIU, L.Y., HU, M.L. und CHEN, X. (1995)
Some similarities in vascular effects of oleic acid and oxidized low-density lipoproteins on rabbit aorta
J Mol Cell Cardiol. 27/1: 531 - 539

276. OGLETREE, M.L. (1987)
Overview of physiological and pathophysiological effects of thromboxane A2
Fed. Proc 46/1: 133 - 138

277. OLANOFF, L.S., REINES, H.D., SPICER, K.M. und HALUSHKA, P.V. (1984)
Effects of oleic acid on pulmonary capillary leak and thromboxanes
J Surg Res 36/6: 597 - 605

278. OLSCHEWSKI, H., SIMONNEAU, G., GALIE, N., HIGENBOTTAM, T., NAEIJE, R., RUBIN, L.J., NIKKHO, S., SPEICH, R., HOEPER, M.M., BEHR, J., WINKLER, J., SITBON, O., POPOV, W., GHOFRANI, H.A., MANES, A., KIELY, D.G., EWERT, R., MEYER, A., CORRIS, P.A., DELCROIX, M., GOMEZ-SANCHEZ, M., SIEDENTOP, H. und SEEGER, W. (2002)
Inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension
N Engl J Med 347/5: 322 - 329

279. OLSCHEWSKI, H., WALMRATH, D., SCHERMULY, R., GHOFRANI, H.A., GRIMMINGER, F. und SEEGER, W. (1996)
Aerosolized Prostacyclin and Iloprost in Severe Pulmonary Hypertension
Ann Intern Med 124/9: 820 - 824

280. PAEHLER, J. (2000)
Kontinuierliche Messung des Herzzeitvolumens aus der rechtsventrikulären Druckkurve Validierung einer neuen Methode
Dissertation: Humboldt-Universität Berlin

281. PAGE, B., VIEILLARD-BARON, A., BEAUCHET, A., AEGERTER, P., PRIN, S. und JARDIN, F. (2003)
Low stretch ventilation strategy in acute respiratory distress syndrome: eight years of clinical experience in a single center
Crit Care Med 31/3: 765 - 769

282. PAGNAMENTA, A., BOUCKAERT, Y., WAUTHY, P., BRIMIOULLE, S. und NAEIJE, R. (2000)
Continuous versus pulsatile pulmonary hemodynamics in canine oleic acid lung injury
Am J Respir. Crit Care Med 162/3 Pt 1: 936 - 940

283. PALMER, R.M., FERRIGE, A.G. und MONCADA, S. (1987)
Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor
Nature 327/6122: 524 - 526

284. PAPPERT, D., BUSCH, T., GERLACH, H., LEWANDOWSKI, K., RADERMACHER, P. und ROSSAINT, R. (1995)
Aerosolized prostacyclin versus inhaled nitric oxide in children with severe acute respiratory distress syndrome
Anesthesiology 82/6: 1507 - 1511

285. PARENT, C., KING, L.G., VAN WINKLE, T.J. und WALKER, L.M. (1996)
Respiratory function and treatment in dogs with acute respiratory distress syndrome: 19 cases (1985-1993)
J Am Vet. Med Assoc. 208/9: 1428 - 1433

286. PARENT, C., KING, L.G., WALKER, L.M. und VAN WINKLE, T.J. (1996)
Clinical and clinicopathologic findings in dogs with acute respiratory distress syndrome: 19 cases (1985-1993)
J Am Vet. Med Assoc. 208/9: 1419 - 1427

287. PARK, J.Y., KIM, Y.M., SONG, H.S., PARK, K.Y., KIM, Y.M., KIM, M.S., PAK, Y.K., LEE, I.K., LEE, J.D., PARK, S.J. und LEE, K.U. (2003)
Oleic acid induces endothelin-1 expression through activation of protein kinase C and NF-kappa B
Biochem. Biophys. Res Commun. 303/3: 891 - 895

288. PEARSE, D.B., SHIMODA, L.A., VERIN, A.D., BOGATCHEVA, N., MOON, C., RONNETT, G.V., WELSH, L.E. und BECKER, P.M. (2003)
Effect of cGMP on lung microvascular endothelial barrier dysfunction following hydrogen peroxide
Endothelium 10/6: 309 - 317

289. PEARSE, D.B., WAGNER, E.M. und PERMUTT, S. (1999)
Effect of ventilation on vascular permeability and cyclic nucleotide concentrations in ischemic sheep lungs
J Appl Physiol 86/1: 123 - 132

290. PELL, A.C., HUGHES, D., KEATING, J., CHRISTIE, J., BUSUTTIL, A. und SUTHERLAND, G.R. (1993)
Brief report: fulminating fat embolism syndrome caused by paradoxical embolism through a patent foramen ovale
N Engl J Med 329/13: 926 - 929

291. PELLETT, A.A., LORD, K.C., CHAMPAGNE, M.S., DEBOISBLANC, B.P., JOHNSON, R.W. und LEVITZKY, M.G. (2002)
Pulmonary capillary pressure during acute lung injury in dogs
Crit Care Med 30/2: 403 - 409

292. PELTIER, L.F. (1969)
Fat embolism. A current concept
Clin. Orthop. 66/241 - 253

293. PEPKE-ZABA, J., HIGENBOTTAM, T.W., NH-XUAN, A.T., STONE, D. und WALLWORK, J. (1991)
Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension
Lancet 338/8776: 1173 - 1174

294. PFEIFFER, S., MAYER, B. und HEMMENS, B. (1999)
Stickstoffmonoxid: die rätselhafte Chemie eines biologischen Botenstoffes
Angew. Chem. 111/1824-1844

295. PHILLIPS, B.G., KATO, M., PESEK, C.A., WINNICKI, M., NARKIEWICZ, K., DAVISON, D. und SOMERS, V.K. (2000)
Sympathetic activation by sildenafil
Circulation 102/25: 3068 - 3073

296. PIEDALUE, F. und ALBERT, R.K. (2003)
Prone positioning in acute respiratory distress syndrome
Respir. Care Clin. N Am 9/4: 495 - 509

297. PIEHL, M.A. und BROWN, R.S. (1976)
Use of extreme position changes in acute respiratory failure
Crit Care Med 4/13 - 14

298. PINSKY, M.R. (1990)
The effects of mechanical ventilation on the cardiovascular system
Crit Care Clin. 6/3: 663 - 678

299. POPP, M., RAGALLER, M. und ALBRECHT, D.M. (2000)
Haes und Humanalbumin
in: Dresdner online Anästhesiemanual, Skripte zu den Klinikfortbildungen 1997-99, Pharmaka: pp. 48 - 61
Koch, T. und Größle, R. (Eds.), Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Dresden
http://www.tu-dresden.de/medkai/ddmanual.htm

300. POWERS, S.R., Jr., SHAH, D., RYON, D., NEWELL, J., RALPH, C., SCOVILL, W. und DUTTON, R. (1977)
Hypertonic mannitol in the therapy of the acute respiratory distress syndrome
Ann Surg 185/6: 619 - 625

301. PRITTIE, J. (2004)
Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention
J Veter Emer Crit 14/3: 167 - 176

302. PRYOR, W.A. und SQUADRITO, G.L. (1995)
The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide
Am J Physiol 268/5 Pt 1: L699 - L722

303. PUNEET, P., MOOCHHALA, S. und BHATIA, M. (2005)
Chemokines in acute respiratory distress syndrome
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 288/1: L3 - 15

304. PUYBASSET, L., ROUBY, J.J., MOURGEON, E., CLUZEL, P., SOUHIL, Z., LAW-KOUNE, J.D., STEWART, T., DEVILLIERS, C., LU, Q. und ROCHE, S. (1995)
Factors influencing cardiopulmonary effects of inhaled nitric oxide in acute respiratory failure
Am J Respir Crit Care Med 152/1: 318 - 328

305. PUYBASSET, L., STEWART, T., ROUBY, J.J., CLUZEL, P., MOURGEON, E., BELIN, M.F., ARTHAUD, M., LANDAULT, C. und VIARS, P. (1994)
Inhaled nitric oxide reverses the increase in pulmonary vascular resistance induced by permissive hypercapnia in patients with acute respiratory distress syndrome
Anesthesiology 80/6: 1254 - 1267

306. QUINLAN, G.J., LAMB, N.J., EVANS, T.W. und GUTTERIDGE, J.M. (1996)
Plasma fatty acid changes and increased lipid peroxidation in patients with adult respiratory distress syndrome
Crit Care Med 24/2: 241 - 246

307. RADERMACHER, P., HUET, Y., PLUSKWA, F., HERIGAULT, R., MAL, H., TEISSEIRE, B. und LEMAIRE, F. (1988)
Comparison of ketanserin and sodium nitroprusside in patients with severe ARDS
Anesthesiology 68/1: 152 - 157

308. RADERMACHER, P., SANTAK, B., BECKER, H. und FALKE, K.J. (1989)
Prostaglandin E1 and nitroglycerin reduce pulmonary capillary pressure but worsen ventilation-perfusion distributions in patients with adult respiratory distress syndrome
Anesthesiology 70/4: 601 - 606

309. RAGALLER, M., BLEYL, J., TSCHO, U., WINKLER, T., REGNER, M., RASCHE, S., KOCH, T. und ALBRECHT, M. (2001)
Effects of inhalation of perfluorocarbon aerosol on oxygenation and pulmonary function compared to PGI2 inhalation in a sheep model of oleic acid-induced lung injury
Intensive Care Med 27/5: 889 - 897

310. RAGALLER, M., BLEYL, J.U., KOCH, T. und ALBRECHT, D.M. (2000)
[From isoflurane to perfluorohexane? Perfluorocarbons--therapeutic strategies in acute lung failure]
Anaesthesist 49/4: 291 - 301

311. RAJA, S.G. (2004)
Treatment of rebound pulmonary hypertension: why not sildenafil?
Anesthesiology 101/6: 1480

312. RAYHRER, C.S., EDMISTEN, T.D., CEPHAS, G.A., TRIBBLE, C.G., KRON, I.L. und YOUNG, J.S. (1998)
Nitric oxide potentiates acute lung injury in an isolated rabbit lung model
Ann Thorac Surg 65/4: 935 - 938

313. REICKERT, C., PRANIKOFF, T., OVERBECK, M., KAZEROONI, E., MASSEY, K., BARTLETT, R. und HIRSCHL, R. (2001)
The pulmonary and systemic distribution and elimination of perflubron from adult patients treated with partial liquid ventilation
Chest 119/2: 515 - 522

314. REUTERSHAN, J., SCHMITT, A., DIETZ, K. und FRETSCHNER, R. (2004)
Non-invasive measurement of pulmonary blood flow during prone positioning in patients with early acute respiratory distress syndrome
Clin. Sci. (Lond) 106/1: 3 - 10

315. RICART, A., MARISTANY, J., FORT, N., LEAL, C., PAGES, T. und VISCOR, G. (2005)
Effects of sildenafil on the human response to acute hypoxia and exercise
High Alt. Med Biol 6/1: 43 - 49

316. RICHALET, J.P., GRATADOUR, P., ROBACH, P., PHAM, I., DECHAUX, M., JONCQUIERT-LATARJET, A., MOLLARD, P., BRUGNIAUX, J. und CORNOLO, J. (2005)
Sildenafil Inhibits Altitude-induced Hypoxemia and Pulmonary Hypertension
Am. J. Respir. Crit. Care Med. 171/3: 275 - 281

317. RILLEMA, J.A. (1978)
Activation of guanylate cyclase by arachidonic acid in mammary gland homogenates from mice
Prostaglandins 15/5: 857 - 865

318. ROSENTHAL, C., CARONIA, C., QUINN, C., LUGO, N. und MAYER, S. (1998)
A comparison among animal models of acute lung injury
Crit Care Med 26/5: 912 - 916

319. ROSS, G.A., OISHI, P., AZAKIE, A., FRATZ, S., FITZGERALD, R.K., JOHENGEN, M.J., HARMON, C., HENDRICKS-MUNOZ, K., XU, J., BLACK, S.M. und FINEMAN, J.R. (2005)
Endothelial alterations during inhaled NO in lambs with pulmonary hypertension: implications for rebound hypertension
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 288/1: L27 - L35

320. ROSSAINT, R., FALKE, K.J., LOPEZ, F., SLAMA, K., PISON, U. und ZAPOL, W.M. (1993)
Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome
N Engl J Med 328/6: 399 - 405

321. ROSSAINT, R., GERLACH, H., SCHMIDT-RUHNKE, H., PAPPERT, D., LEWANDOWSKI, K., STEUDEL, W. und FALKE, K. (1995)
Efficacy of inhaled nitric oxide in patients with severe ARDS
Chest 107/4: 1107 - 1115

322. ROTHERMUND, L., FRIEBE, A., PAUL, M., KOESLING, D. und KREUTZ, R. (2000)
Acute blood pressure effects of YC-1-induced activation of soluble guanylyl cyclase in normotensive and hypertensive rats
Br. J Pharmacol 130/2: 205 - 208

323. ROVIRA, I., CHEN, T.Y., WINKLER, M., KAWAI, N., BLOCH, K.D. und ZAPOL, W.M. (1994)
Effects of inhaled nitric oxide on pulmonary hemodynamics and gas exchange in an ovine model of ARDS
J Appl. Physiol 76/1: 345 - 355

324. ROZANSKI, E.A., JUTKOWITZ, A., CHAN, D.L., DELAFORCADE, A.M. und RUSH, J.E. (2002)
Static Compliance in ventilated dogs with Acute Lung Injury and Acute Respiratoy Distress Syndrome
J Veter Emer Crit 12/4: 276

325. RUBENFELD, G.D. (2003)
Epidemiology of acute lung injury
Crit Care Med 31/4 Suppl: S276 - S284

326. RUSSWURM, M. und KOESLING, D. (2002)
Isoforms of NO-sensitive guanylyl cyclase
Mol Cell Biochem. 230/1-2: 159 - 164

327. RYBALKIN, S.D., YAN, C., BORNFELDT, K.E. und BEAVO, J.A. (2003)
Cyclic GMP phosphodiesterases and regulation of smooth muscle function
Circ Res 93/4: 280 - 291

328. RYLANDER, C., HOGMAN, M., PERCHIAZZI, G., MAGNUSSON, A. und HEDENSTIERNA, G. (2004)
Oleic acid lung injury: a morphometric analysis using computed tomography
Acta Anaesthesiol. Scand. 48/9: 1123 - 1129

329. RYTER, S.W. und OTTERBEIN, L.E. (2004)
Carbon monoxide in biology and medicine
Bioessays 26/3: 270 - 280

330. SAGER, G. (2004)
Cyclic GMP transporters
Neurochem. Int. 45/6: 865 - 873

331. SAMPATH, J., ADACHI, M., HATSE, S., NAESENS, L., BALZARINI, J., FLATLEY, R.M., MATHERLY, L.H. und SCHUETZ, J.D. (2002)
Role of MRP4 and MRP5 in biology and chemotherapy
AAPS. PharmSci. 4/3: E14

332. SATOH, S. und MAKINO, N. (2001)
Intracellular mechanisms of cGMP-mediated regulation of myocardial contraction
Basic Res Cardiol. 96/6: 652 - 658

333. SAUVÉ, V., PARENT, C., SEILER, G., FRENCH, A., VAN WINKLE, T.J. und KONG, L.G. (2004)
Acute Lung Injury and Aute Respiratory Distress Syndrome in cats: 65 Cases (1993-2003)
J Veter Emer Crit 14/Supplement 1: S1 - S17

334. SAUVÉ, V., DROBATZ, K.J., SHOKEK, A.B., MCKNIGHT, A.L. und KING, L.G. (2005)
Clinical course, diagnostic findings and necropsy diagnosis in dyspneic cats with primary pulmonary parenchymal disease: 15 cats (1996-2002)
J Veter Emer Crit 15/1: 38 - 47

335. SAYGILI, A., CANTER, B., IRIZ, E., KULA, S., TUNAOGLU, F.S., OLGUNTURK, R. und OZDOGAN, M.E. (2004)
Use of sildenafil with inhaled nitric oxide in the management of severe pulmonary hypertension
J Cardiothorac. Vasc. Anesth. 18/6: 775 - 776

336. SCHARF, S.M. und INGRAM, R.H., Jr. (1977)
Effects of decreasing lung compliance with oleic acid on the cardiovascular response to PEEP
Am J Physiol 233/6: H635 - H641

337. SCHEMITSCH, E., TURCHIN, D., ANDRERSON, G., BYRICK, R., MULLEN, J.B. und RICHARDS, R.R. (1998)
Pulmonary and systemic fat embilization after medullary canal pressurization: a hemodynamic and histological investigation in the dog
J Trauma 45/738

338. SCHERER, G. und DICK, W. (1999)
Fettembolie Eine ernst Komplikation der Reanimation?
Notfall und Rettungsmedizin 2/134 - 140

339. SCHERMULY, R., DUMITRASCU, R., STASCH, J.P., GHOFRANI, H.A., SEEGER, W., GRIMMINGER, F. und WEISSMANN, N. (2005)
Reversal of - Pulmonary vascular remodeling induced by hypoxia in mice by the soluble guanylate cyclase activator Bay 58-2667
In: Posterabstracts zum 111.Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin (DGIM), Wiesbaden, 2.4 2005 bis 6.4.2005

340. SCHERMULY, R.T., GHOFRANI, H.A., ENKE, B., WEISSMANN, N., GRIMMINGER, F., SEEGER, W., SCHUDT, C. und WALMRATH, D. (1999)
Low-dose systemic phosphodiesterase inhibitors amplify the pulmonary vasodilatory response to inhaled prostacyclin in experimental pulmonary hypertension
Am J Respir Crit Care Med 160/5 Pt 1: 1500 - 1506

341. SCHERMULY, R.T., KRUPNIK, E., TENOR, H., SCHUDT, C., WEISSMANN, N., ROSE, F., GRIMMINGER, F., SEEGER, W., WALMRATH, D. und GHOFRANI, H.A. (2001)
Coaerosolization of phosphodiesterase inhibitors markedly enhances the pulmonary vasodilatory response to inhaled iloprost in experimental pulmonary hypertension. Maintenance of lung selectivity
Am J Respir. Crit Care Med 164/9: 1694 - 1700

342. SCHERMULY, R.T., LEUCHTE, H., GHOFRANI, H.A., WEISSMANN, N., ROSE, F., KOHSTALL, M., OLSCHEWSKI, H., SCHUDT, C., GRIMMINGER, F., SEEGER, W. und WALMRATH, D. (2003)
Zardaverine and aerosolised iloprost in a model of acute respiratory failure
Eur Respir J 22/2: 342 - 347

343. SCHERMULY, R.T., ROEHL, A., WEISSMANN, N., GHOFRANI, H.A., LEUCHTE, H., GRIMMINGER, F., SEEGER, W. und WALMRATH, D. (2001)
Combination of nonspecific PDE inhibitors with inhaled prostacyclin in experimental pulmonary hypertension
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 281/6: L1361 - L1368

344. SCHERMULY, R.T., WEISSMANN, N., ENKE, B., GHOFRANI, H.A., FORSSMANN, W.G., GRIMMINGER, F., SEEGER, W. und WALMRATH, D. (2001)
Urodilatin, a natriuretic peptide stimulating particulate guanylate cyclase, and the phosphodiesterase 5 inhibitor dipyridamole attenuate experimental pulmonary hypertension: synergism upon coapplication
Am J Respir. Cell Mol Biol. 25/2: 219 - 225

345. SCHINDLER, U., STROBEL, H., SCHÖNAFINGER, K., RÜTTEN, H., LINZ, W., JUST, M., SCHÄFER, S., SCHINDLER, P.W., BUSCH, A.E. und MÜLSCH, A. (2003)
Pharmacology and biochemistry of novel compounds activating heme-oxidized soluble guanyl cyclase
In: Posterabstracts of the 1st International Conference on cGMP.NO/cGMP Interactions and its Therapeutic Implications, Leipzig, 2.4 2005 bis 16.06.2003

346. SCHMIDT, K., SCHRAMMEL, A., KOESLING, D. und MAYER, B. (2001)
Molecular Mechanisms Involved in the Synergistic Activation of Soluble Guanylyl Cyclase by YC-1 and Nitric Oxide in Endothelial Cells
Mol Pharmacol 59/2: 220 - 224

347. SCHMIDT, P., SCHRAMM, M., SCHRODER, H. und STASCH, J.P. (2003)
Mechanisms of nitric oxide independent activation of soluble guanylyl cyclase
Eur J Pharmacol 468/3: 167 - 174

348. SCHMIDT, P., SCHRAMM, M., SCHRODER, H. und STASCH, J.P. (2003)
Mechanisms of nitric oxide independent activation of soluble guanylyl cyclase
http://www.biomedcentral.com/browse/abstracts/CGMP

349. SCHMIDT, P., SCHRAMM, M., SCHRODER, H. und STASCH, J.P. (2003)
Potentiating effect of ODQ on the BAY 58-2667-induced sGC activation.
http://www.biomedcentral.com/browse/abstracts/CGMP

350. SCHMIDT, P.M., SCHRAMM, M., SCHRODER, H., WUNDER, F. und STASCH, J.P. (2004)
Identification of residues crucially involved in the binding of the heme moiety of soluble guanylate cyclase
J Biol Chem. 279/4: 3025 - 3032

351. SCHMIDT, P.M. (2003)
Molekularbiologische und biochemische Untersuchungen zur NO-unabhängigen Aktivierung der löslichen Guanylatcyclase
Dissertation: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

352. SCHMIDT, R., MEIER, U., YABUT-PEREZ, M., WALMRATH, D., GRIMMINGER, F., SEEGER, W. und GUNTHER, A. (2001)
Alteration of fatty acid profiles in different pulmonary surfactant phospholipids in acute respiratory distress syndrome and severe pneumonia
Am J Respir Crit Care Med 163/1: 95 - 100

353. SCHNITTLER, H.J., WILKE, A., GRESS, T., SUTTORP, N. und DRENCKHAHN, D. (1990)
Role of actin and myosin in the control of paracellular permeability in pig, rat and human vascular endothelium
J Physiol 431/379 - 401

354. SCHOENE, R.B., ROBERTSON, H.T., THORNING, D.R., SPRINGMEYER, S.C., HLASTALA, M.P. und CHENEY, F.W. (1984)
Pathophysiological patterns of resolution from acute oleic acid lung injury in the dog
J Appl Physiol 56/2: 472 - 481

355. SCHRAMMEL, A., BEHRENDS, S., SCHMIDT, K., KOESLING, D. und MAYER, B. (1996)
Characterization of 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one as a heme-site inhibitor of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase
Mol Pharmacol 50/1: 1 - 5

356. SCHULMAN, L.L., LENNON, P.F., RATNER, S.J. und ENSON, Y. (1988)
Meclofenamate enhances blood oxygenation in acute oleic acid lung injury
J Appl Physiol 64/2: 710 - 718

357. SCHULT, M., FRERICHMANN, U., SCHIEDEL, F., BURG, E. und JOIST, A. (2003)
Pathophysiology of fat embolism after Intramedullary Reaming
European Journal of Trauma 29/68 - 73

358. SCHULZE, P.C. und LEE, R.T. (2005)
Oxidative stress and atherosclerosis
Curr. Atheroscler. Rep. 7/3: 242 - 248

359. SCHULZE-NEICK, I., HARTENSTEIN, P., LI, J., STILLER, B., NAGDYMAN, N., HUBLER, M., BUTROUS, G., PETROS, A., LANGE, P. und REDINGTON, A.N. (2003)
Intravenous sildenafil is a potent pulmonary vasodilator in children with congenital heart disease
Circulation 108 Suppl 1/II167 - II173

360. SCHULZE-NEICK, I. und REDINGTON, A.N. (2004)
Sildenafil, nitric oxide, and acute lung injury: pathophysiology beats pharmacotherapy?
Pediatr. Res 55/3: 370 - 371

361. SCHUSTER, D.P. (1994)
ARDS: clinical lessons from the oleic acid model of acute lung injury
Am J Respir. Crit Care Med 149/1: 245 - 260

362. SCHUSTER, D.P., PEREZ, J.E., TRULOCK, E.P., WILLIAMSON, J.R., BIELLO, D.R., KENZORA, J.L., AMUNDSEN, T. und LANGE, L.G. (1986)

Cardiac dysfunction during acute lung injury induced by oleic acid in dogs
Am Rev Respir. Dis. 133/4: 519 - 525

363. SCHUSTER, D.P., SANDIFORD, P. und STEPHENSON, A.H. (1993)
Thromboxane receptor stimulation/inhibition and perfusion redistribution after acute lung injury
J Appl. Physiol 75/5: 2069 - 2078

364. SCHUSTER, D.P. und TRULOCK, E.P. (1984)
Correlation of changes in oxygenation, lung water and hemodynamics after oleic acid-induced acute lung injury in dogs
Crit Care Med 12/12: 1044 - 1048

365. SCHUTTE, H., MAYER, K., BURGER, H., WITZENRATH, M., GESSLER, T., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2001)
Endogenous nitric oxide synthesis and vascular leakage in ischemic-reperfused rabbit lungs
Am J Respir Crit Care Med 164/3: 412 - 418

366. SCHUTTE, H., WITZENRATH, M., MAYER, K., ROSSEAU, S., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2001)
Short-term "preconditioning" with inhaled nitric oxide protects rabbit lungs against ischemia-reperfusion injury
Transplantation 72/8: 1363 - 1370

367. SCHUTTE, H., WITZENRATH, M., MAYER, K., WEISSMANN, N., SCHELL, A., ROSSEAU, S., SEEGER, W. und GRIMMINGER, F. (2000)
The PDE inhibitor zaprinast enhances NO-mediated protection against vascular leakage in reperfused lungs
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 279/3: L496 - L502

368. SEBKHI, A., STRANGE, J.W., PHILLIPS, S.C., WHARTON, J. und WILKINS, M.R. (2003)
Phosphodiesterase Type 5 as a Target for the Treatment of Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension
Circulation 107/25: 3230 - 3235

369. SELIG, W.M., PATTERSON, C.E., HENRY, D.P. und RHOADES, R.A. (1986)
Role of histamine in acute oleic acid-induced lung injury
J Appl Physiol 61/1: 233 - 239

370. SELIG, W.M., PATTERSON, C.E. und RHOADES, R.A. (1987)
Cyclooxygenase metabolites contribute to oleic acid-induced lung edema by a pressure effect
Exp Lung Res 13/1: 69 - 82

371. SHAH, N.S., NAKAYAMA, D.K., JACOB, T.D., NISHIO, I., IMAI, T., BILLIAR, T.R., EXLER, R., YOUSEM, S.A., MOTOYAMA, E.K. und PEITZMAN, A.B. (1994)

Efficacy of inhaled nitric oxide in a porcine model of adult respiratory distress syndrome
Arch. Surg. 129/2: 158 - 164

372. SHAH, N.S., NAKAYAMA, D.K., JACOB, T.D., NISHIO, I., IMAI, T., BILLIAR, T.R., EXLER, R., YOUSEM, S.A., MOTOYAMA, E.K. und PEITZMAN, A.B. (1997)
Efficacy of inhaled nitric oxide in oleic acid-induced acute lung injury
Crit Care Med 25/1: 153 - 158

373. SHARMA, R.K. (2002)
Evolution of the membrane guanylate cyclase transduction system
Mol Cell Biochem. 230/1-2: 3 - 30

374. SHAUL, P.W., SMART, E.J., ROBINSON, L.J., GERMAN, Z., YUHANNA, I.S., YING, Y., ANDERSON, R.G. und MICHEL, T. (1996)
Acylation targets endothelial nitric-oxide synthase to plasmalemmal caveolae
J Biol Chem. 271/11: 6518 - 6522

375. SHEKERDEMIAN, L.S., RAVN, H.B. und PENNY, D.J. (2004)
Interaction between inhaled nitric oxide and intravenous sildenafil in a porcine model of meconium aspiration syndrome
Pediatr. Res 55/3: 413 - 418

376. SHEKERDEMIAN, L.S., RAVN, H.B. und PENNY, D.J. (2002)
Intravenous sildenafil lowers pulmonary vascular resistance in a model of neonatal pulmonary hypertension
Am J Respir. Crit Care Med 165/8: 1098 - 1102

377. SHELDON, R., MOY, A., LINDSLEY, K., SHASBY, S. und SHASBY, D.M. (1993)
Role of myosin light-chain phosphorylation in endothelial cell retraction
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 265/6: L606 - L612

378. SHERGILL, G. und PARMAR, H. (2004)
Fat embolism and the Fat embolism Syndrome
Hum. Pathol.

379. SHIMODA, L.A., WELSH, L.E. und PEARSE, D.B. (2002)
Inhibition of inwardly rectifying K^+ channels by cGMP in pulmonary vascular endothelial cells
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 283/2: L297 - L304

380. SIMMET, T., PRITZE, S., THELEN, K.I. und PESKAR, B.A. (1992)
Release of endothelin in the oleic acid-induced respiratory distress syndrome in rats
Eur J Pharmacol 211/3: 319 - 322

381. SMIRNIOTIS, V., KOSTOPANAGIOTOU, G., VASSILIOU, J., ARKADOPOULOS, N., VASSILIOU, P., DATSIS, A. und KOURIAS, E. (1998)
Long chain versus medium chain lipids in patients with ARDS: effects on pulmonary haemodynamics and gas exchange
Intensive Care Med 24/10: 1029 - 1033

382. SPILLMANN, TH. (2002)
Pankreaserkrankungen bei Hund und Katze: Gemeinsamkeiten und speziesspezifische Unterschiede
Vet-MedReport 26. Jahrgang/Sonderausgabe V1: 9

383. SPRAGG, R.G., LEWIS, J.F., WALMRATH, H.D., JOHANNIGMAN, J., BELLINGAN, G., LATERRE, P.F., WITTE, M.C., RICHARDS, G.A., RIPPIN, G., RATHGEB, F., HAFNER, D., TAUT, F.J.H. und SEEGER, W. (2004)
Effect of Recombinant Surfactant Protein C-Based Surfactant on the Acute Respiratory Distress Syndrome
N Engl J Med 351/9: 884 - 892

384. STASCH, J.P. (2003)
NO-unabhängige Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase
Habilitation: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

385. STASCH, J.P., DEMBOWSKY, K., PERZBORN, E., STAHL, E. und SCHRAMM, M. (2002)
Cardiovascular actions of a novel NO-independent guanylyl cyclase stimulator, BAY 41-8543: in vivo studies
Br. J Pharmacol 135/2: 344 - 355

386. STASCH, J.P., SCHMIDT, P., ONSO-ALIJA, C., APELER, H., DEMBOWSKY, K., HAERTER, M., HEIL, M., MINUTH, T., PERZBORN, E., PLEISS, U., SCHRAMM, M., SCHROEDER, W., SCHRODER, H., STAHL, E., STEINKE, W. und WUNDER, F. (2002)
NO- and haem-independent activation of soluble guanylyl cyclase: molecular basis and cardiovascular implications of a new pharmacological principle
Br. J Pharmacol 136/5: 773 - 783

387. STASCH, J.P., BECKER, E.M., ONSO-ALIJA, C., APELER, H., DEMBOWSKY, K., FEURER, A., GERZER, R., MINUTH, T., PERZBORN, E., PLEISS, U., SCHRODER, H., SCHROEDER, W., STAHL, E., STEINKE, W., STRAUB, A. und SCHRAMM, M. (2001)
NO-independent regulatory site on soluble guanylate cyclase
Nature 410/6825: 212 - 215

388. STASCH, J.P., ONSO-ALIJA, C., APELER, H., DEMBOWSKY, K., FEURER, A., MINUTH, T., PERZBORN, E., SCHRAMM, M. und STRAUB, A. (2002)
Pharmacological actions of a novel NO-independent guanylyl cyclase stimulator, BAY 41-8543: in vitro studies
Br. J. Pharmacol. 135/2: 333 - 343

389. STEPHENSON, A.H., LONIGRO, A.J., HOLMBERG, S.W. und SCHUSTER, D.P. (1992)
Eicosanoid balance and perfusion redistribution of oleic acid-induced acute lung injury
J Appl Physiol 73/5: 2126 - 2134

390. STIEF, C.G., UCKERT, S., BECKER, A.J., HARRINGER, W., TRUSS, M.C., FORSSMANN, W.G. und JONAS, U. (2000)
Effects of sildenafil on cAMP and cGMP levels in isolated human cavernous and cardiac tissue
Urology 55/1: 146 - 150

391. STOCKER, C., PENNY, D.J., BRIZARD, C.P., COCHRANE, A.D., SOTO, R. und SHEKERDEMIAN, L.S. (2003)
Intravenous sildenafil and inhaled nitric oxide: a randomised trial in infants after cardiac surgery
Intensive Care Med 29/11: 1996 - 2003

392. STONE, J.R. und MARLETTA, M.A. (1998)
Synergistic activation of soluble guanylate cyclase by YC-1 and carbon monoxide: implications for the role of cleavage of the iron-histidine bond during activation by nitric oxide
Chem. Biol 5/5: 255 - 261

393. STRAUB, A., ET-BUCKHOLZ, J., FRODE, R., KERN, A., KOHLSDORFER, C., SCHMITT, P., SCHWARZ, T., SIEFERT, H.M. und STASCH, J.P. (2002)
Metabolites of orally active NO-independent pyrazolopyridine stimulators of soluble guanylate cyclase
Bioorg. Med Chem. 10/6: 1711 - 1717

394. STRAUB, A., STASCH, J.P., ONSO-ALIJA, C., ET-BUCHHOLZ, J., DUCKE, B., FEURER, A. und FURSTNER, C. (2001)
NO-independent stimulators of soluble guanylate cyclase
Bioorg. Med Chem. Lett. 11/6: 781 - 784

395. STUBBE, H.D., WESTPHAL, M., VAN AKEN, H., HUCKLENBRUCH, C., LAUER, S., JAHN, U.R. und HINDER, F. (2003)
Inhaled nitric oxide reduces lung edema during fluid resuscitation in ovine acute lung injury
Intensive Care Med 29/10: 1790 - 1797

396. SU, X., BAI, C., HONG, Q., ZHU, D., HE, L., WU, J. und DING, F. (2003)
Effect of continous hemofiltration on hemodynamics, lung inflammation and pumonary edema in a canine model of acute lung injury
Intensive Care Med 29/2034 - 2042

397. SUGERMAN, H.J., STRASH, A.M., HIRSCH, J.I., GLAUSER, F.L., SHIRAZI, K.K., SHARP, D.E. und GREENFIELD, L.J. (1981)
Sensitivity of scintigraphy for detection of pulmonary capillary albumin leak in cani-

ne oleic acid ARDS
J Trauma 21/7: 520 - 527

398. SURKS, H.K., MOCHIZUKI, N., KASAI, Y., GEORGESCU, S.P., TANG, K.M., ITO, M., LINCOLN, T.M. und MENDELSOHN, M.E. (1999)
Regulation of myosin phosphatase by a specific interaction with cGMP- dependent protein kinase Ialpha
Science 286/5444: 1583 - 1587

399. TACHAKARA, S.S. (1976)
Distribution of skin petechiae in fat embolism rasg
Lancet 1/284 - 285

400. TAKEDA, S., ISHIZAKA, A., FUJINO, Y., FUKUOKA, T., NAGANO, O., YAMADA, Y. und TAKEZAWA, J. (2005)
Time to change diagnostic criteria of ARDS: towards the disease entity-based subgrouping
Pulm. Pharmacol Ther 18/2: 115 - 119

401. TANAKA, H., TAJIMI, K. und KOBAYASHI, K. (1999)
Milrinone improves arterial oxygenation in dogs with acute lung injury induced by oleic acid
J Cardiovasc. Pharmacol 34/6: 806 - 810

402. TAYLOR, R.W., ZIMMERMAN, J.L., DELLINGER, R.P., STRAUBE, R.C., CRINER, G.J., DAVIS, K., Jr., KELLY, K.M., SMITH, T.C. und SMALL, R.J. (2004)
Low-dose inhaled nitric oxide in patients with acute lung injury: a randomized controlled trial
JAMA 291/13: 1603 - 1609

403. TENENBAUM, T. (2001)
Protektiver Effekt von NO an der alveolo-epithelialen Barriere bei oxidativem Streß
Dissertation: Justus-Liebig-Universität Giessen

404. TENG, C.M., WU, C.C., KO, F.N., LEE, F.Y. und KUO, S.C. (1997)
YC-1, a nitric oxide-independent activator of soluble guanylate cyclase, inhibits platelet-rich thrombosis in mice
Eur J Pharmacol. 320/2-3: 161 - 166

405. THOMAZZI, S.M., MOREIRA, J., NUCCI, G.D. und ANTUNES, E. (2005)
Inhibitory effects on human eosinophil chemotaxis in vitro by BAY 41-2272, an activator of nitric oxide-independent site of soluble guanylate cyclase
Biochem. Pharmacol 69/6: 875 - 882

406. TRACHTE, A.L., LOBATO, E.B., URDANETA, F., HESS, P.J., KLODELL, C.T., MARTIN, T.D., STAPLES, E.D. und BEAVER, T.M. (2005)
Oral sildenafil reduces pulmonary hypertension after cardiac surgery
Ann Thorac Surg 79/1: 194 - 197

407. TREMBLAY, J., DESJARDINS, R., HUM, D., GUTKOWSKA, J. und HAMET, P. (2002)
Biochemistry and physiology of the natriuretic peptide receptor guanylyl cyclases
Mol Cell Biochem. 230/1-2: 31 - 47

408. TURKO, I.V., BALLARD, S.A., FRANCIS, S.H. und CORBIN, J.D. (1999)
Inhibition of Cyclic GMP-Binding Cyclic GMP-Specific Phosphodiesterase (Type 5) by Sildenafil and Related Compounds
Mol Pharmacol 56/1: 124 - 130

409. UCHIDA, T., NAKAZAWA, K., YOKOYAMA, K., MAKITA, K. und AMAHA, K. (1998)
The combination of partial liquid ventilation and inhaled nitric oxide in the severe oleic acid lung injury model
Chest 113/1658 - 1666

410. VADASZ, I., MORTY, R.E., KOHSTALL, M.G., OLSCHEWSKI, A., GRIMMINGER, F., SEEGER, W. und GHOFRANI, H.A. (2004)
Oleic Acid Inhibits Alveolar Fluid Reabsorption: A Role in Acute Respiratory Distress Syndrome?
Am. J. Respir. Crit. Care Med. 171/5: 469 - 479

411. VASSILEV, E. und MCMICHAEL, M. (2004)
An overview of positive pressure ventilation
J Veter Emer Crit 14/1: 15 - 21

412. VELAZQUEZ, M. und SCHUSTER, D.P. (1988)
Pulmonary blood flow distribution after lobar oleic acid injury: a PET study
J Appl. Physiol 65/5: 2228 - 2235

413. VENNER, M. (2004)
Akute interstitielle Pneumopathie beim Pferd - Experimentelle Induktion mit Perilla-Keton -
Dissertation: Tierärztliche Hochschule Hannover

414. VENNER, M. und GANTER, M. (2005)
Akute Interstitielle Pneumopathie beim Pferd: Befunde der BAL-Zytologie und - Biochemie nach Injektion von Perilla-Keton
In: Posterabstracts zum 46.Kongress der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie, Berlin, 19.3 2005

415. VIEILLARD-BARON, A., SCHMITT, J.M., AUGARDE, R., FELLAHI, J.L., PRIN, S., PAGE, B., BEAUCHET, A. und JARDIN, F. (2001)
Acute cor pulmonale in acute respiratory distress syndrome submitted to protective ventilation: incidence, clinical implications, and prognosis
Crit Care Med 29/8: 1551 - 1555

416. VILA-PETROFF, M.G., YOUNES, A., EGAN, J., LAKATTA, E.G. und SOLLOTT, S.J. (1999)

Activation of distinct cAMP-dependent and cGMP-dependent pathways by nitric oxide in cardiac myocytes
Circ Res 84/9: 1020 - 1031

417. VILLAR, J. (2000)
Is the outcome of ARDS improving?
in: First Dresdner postgraduate course on mechanical ventilatilation, 22nd and 23nd September 2000, 1 - 7
Koch, T. und Albrecht, D.M. (Eds.), Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Dresden
http://www.tu-dresden.de/medkai/ardssy.htm

418. WAKERLIN, G.E., Jr., BENSON, G.V. und PEARL, R.G. (1991)
A thromboxane analog increases pulmonary capillary pressure but not permeability in the perfused rabbit lung
Anesthesiology 75/3: 475 - 480

419. WALMRATH, D., GRIMMINGER, F. und SEEGER, W. (2003)
Akutes Respiratorisches Distress Syndrom
in: Medizinische Therapie in Klinik und Praxis, 12.12: pp. 1125 - 1130
Schölmerich, J. (Ed.), Springer, Berlin, Heidelberg, New York

420. WALMRATH, D., OLSCHEWSKI, H., GRIMMINGER, F. und SEEGER, W. (1997)
[NO and alternative inhalational therapy approaches in pulmonary hypertension]
Internist (Berl) 38/5: 453 - 460

421. WALMRATH, D., SCHNEIDER, T., SCHERMULY, R., OLSCHEWSKI, H., GRIMMINGER, F. und SEEGER, W. (1996)
Direct comparison of inhaled nitric oxide and aerosolized prostacyclin in acute respiratory distress syndrome
Am J Respir. Crit Care Med 153/991 - 996

422. WANG, L., ZHU, d.M., SU, X., BAI, C.X., WARE, L.B. und MATTHAY, M.A. (2004)
Acute cardiopulmonary effects of a dual-endothelin receptor antagonist on oleic acid-induced pulmonary arterial hypertension in dogs
Exp Lung Res 30/1: 31 - 42

423. WARE, L.B. und MATTHAY, M.A. (2000)
The Acute Respiratory Distress Syndrome
N Engl J Med 342/18: 1334 - 1349

424. WEBER-CARSTENS, S., LOHBRUNNER, H. und KAISERS, U. (1999)
Lungenprotektive Strategien zur Therapie des ARDS
Intensivmedizin und Notfallmedizin 36/8: 677 - 693

425. WEGENER, J.W., GATH, I., FORSTERMANN, U. und NAWRATH, H. (1997)
Activation of soluble guanylyl cyclase by YC-1 in aortic smooth muscle but not in ventricular myocardium from rat
Br J Pharmacol. 122/7: 1523 - 1529

426. WEIDENBACH, A. und SCHERMULY, R. (2005)
Selektive pulmonale Vasodilatation in einem U46619-Modell durch Treprostinil
Unveröffentlichte Arbeit

427. WEIMANN, J., ULLRICH, R., HROMI, J., FUJINO, Y., CLARK, M.W., BLOCH, K.D. und ZAPOL, W.M. (2000)
Sildenafil is a pulmonary vasodilator in awake lambs with acute pulmonary hypertension
Anesthesiology 92/6: 1702 - 1712

428. WEINACKER, A.B. und VASZAR, L.T. (2001)
Acute respiratory distress syndrome: physiology and new management strategies
Annu. Rev Med 52/221 - 237

429. WEST, I.C. (2000)
Radicals and oxidative stress in diabetes
Diabet. Med 17/3: 171 - 180

430. WIENER, C.M., KIRK, W. und ALBERT, R.K. (1990)
Prone position reverses gravitational distribution of perfusion in dog lungs with oleic acid-induced injury
J Appl. Physiol 68/4: 1386 - 1392

431. WINK, D.A. und MITCHELL, J.B. (1998)
Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide
Free Radic. Biol Med 25/4-5: 434 - 456

432. WU, C.C., KO, F.N., KUO, S.C., LEE, F.Y. und TENG, C.M. (1995)
YC-1 inhibited human platelet aggregation through NO-independent activation of soluble guanylate cyclase
Br J Pharmacol. 116/3: 1973 - 1978

433. WU, C.C., KO, F.N. und TENG, C.M. (1997)
Inhibition of platelet adhesion to collagen by cGMP-elevating agents
Biochem. Biophys. Res Commun. 231/2: 412 - 416

434. WUNDER, F., STASCH, J.P., HUTTER, J., ONSO-ALIJA, C., HUSER, J. und LOHRMANN, E. (2005)
A cell-based cGMP assay useful for ultra-high-throughput screening and identification of modulators of the nitric oxide/cGMP pathway
Anal. Biochem. 339/1: 104 - 112

435. YANG, C., MORIUCHI, H., TAKASE, J., ISHITSUKA, Y., IRIKURA, M. und I-RIE, T. (2003)
Oxidative stress in early stage of acute lung injury induced with oleic acid in guinea pigs
Biol Pharm. Bull 26/4: 424 - 428

436. YANG, Q.H., KAPLOWITZ, M.R. und LAI-FOOK, S.J. (1989)
Regional variations in lung expansion in rabbits: prone vs. supine positions
J Appl. Physiol 67/4: 1371 - 1376

437. YOSHIMURA, K., TOD, M.L., PIER, K.G. und RUBIN, L.J. (1989)
Role of venoconstriction in thromboxane-induced pulmonary hypertension and edema in lambs
J Appl. Physiol 66/2: 929 - 935

438. ZABEL, U., KLEINSCHNITZ, C., OH, P., NEDVETSKY, P., SMOLENSKI, A., MULLER, H., KRONICH, P., KUGLER, P., WALTER, U., SCHNITZER, J.E. und SCHMIDT, H.H.H.W. (2002 print)
Calcium-dependent membrane association sensitizes soluble guanylyl cyclase to nitric oxide
Nat Cell Biol 4/4: 307 - 311

439. ZAPOL, W.M. und JONES, R. (1987)
Vascular components of ARDS. Clinical pulmonary hemodynamics and morphology
Am Rev Respir. Dis. 136/2: 471 - 474

440. ZENKER, F.A. (1864)
Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Lunge
Dresden: J Braunsdorf

441. ZHANG, H., SLUTSKY, A.S. und VINCENT, J.L. (2000)
Oxygen free radicals in ARDS, septic shock and organ dysfunction
Intensive Care Med 26/474: 476

442. ZHAO, L., MASON, N.A., MORRELL, N.W., KOJONAZAROV, B., SADYKOV, A., MARIPOV, A., MIRRAKHIMOV, M.M., ALDASHEV, A. und WILKINS, M.R. (2001)
Sildenafil inhibits hypoxia-induced pulmonary hypertension
Circulation 104/4: 424 - 428

443. ZHAO, L., MASON, N.A., STRANGE, J.W., WALKER, H. und WILKINS, M.R. (2003)
Beneficial Effects of Phosphodiesterase 5 Inhibition in Pulmonary Hypertension Are Influenced by Natriuretic Peptide Activity
Circulation 107/2: 234 - 237

444. ZHAO, Y., BRANDISH, P.E., DIVALENTIN, M., SCHELVIS, J.P., BABCOCK, G.T. und MARLETTA, M.A. (2000)

Inhibition of soluble guanylate cyclase by ODQ
Biochemistry 39/35: 10848 - 10854

445. ZHOU, Z.H., SUN, B., LIN, K. und ZHU, L.W. (2000)
Prevention of rabbit acute lung injury by surfactant, inhaled nitric oxide, and pressure support ventilation
Am J Respir. Crit Care Med 161/2 Pt 1: 581 - 588

446. ZHU, G.F., SUN, B., NIU, S.F., CAI, Y., LIN, K., LINDWALL, R. und ROBERTSON, B. (1998)
Combined Surfactant Therapy and Inhaled Nitric Oxide in Rabbits with Oleic Acid-induced Acute Respiratory Distress Syndrome
Am. J. Respir. Crit. Care Med. 158/2: 437 - 443

447. ZIEGLER, J.W., IVY, D.D., WIGGINS, J.W., KINSELLA, J.P., CLARKE, W.R. und ABMAN, S.H. (1998)
Effects of dipyridamole and inhaled nitric oxide in pediatric patients with pulmonary hypertension
Am J Respir Crit Care Med 158/5 Pt 1: 1388 - 1395

448. ZINK, W. (1999)
Wirkung von inhaliertem Stickstoffmonoxid (NO) bei experimenteller induzierter pulmonaler Hypertonie am Schwein
Dissertation: Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

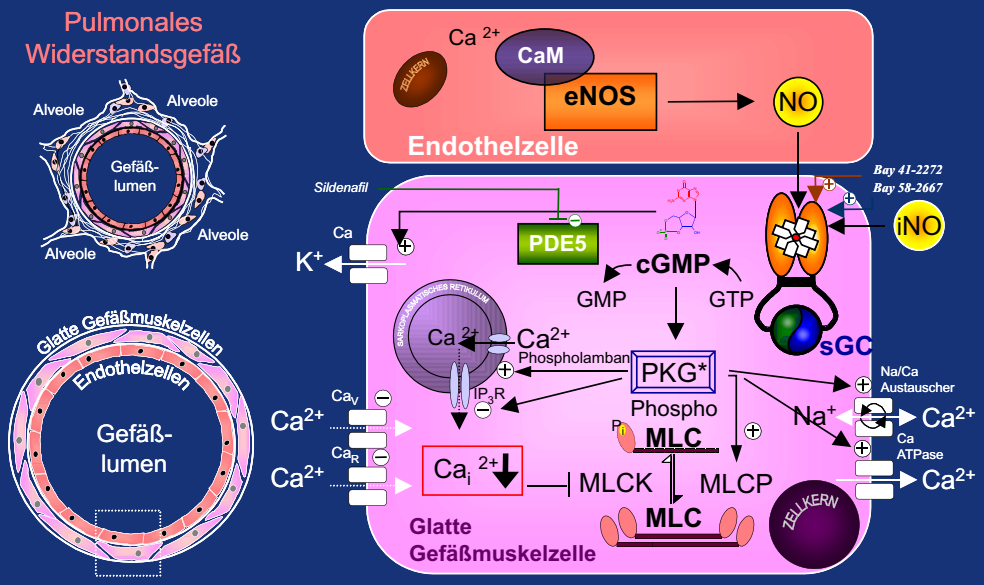
449. ZINK, W. und GRAF, B.M. (2001)
[The pulmonary artery catheter]
Anaesthesist 50/8: 623 - 642

450. ZOBEL, G., RODL, S., URLESBERGER, B., DACAR, D., SCHWINGER, W. und BERMOSER, M. (1998)
Effects of inhaled nitric oxide during permissive hypercapnia in acute respiratory failure in piglets
Crit Care Med 26/7: 1231 - 1237

451. ZOU, M.H. und ULLRICH, V. (1996)
Peroxynitrite formed by simultaneous generation of nitric oxide and superoxide selectively inhibits bovine aortic prostacyclin synthase
FEBS Lett. 382/1-2: 101 - 104

452. ZWISSLER, B. (2002)
[Inhaled vasodilators]
Anaesthesist 51/8: 603 - 624

453. ZWISSLER, B., KEMMING, G., HABLER, O., KLEEN, M., MERKEL, M., HALLER, M., BRIEGEL, J., WELTE, M. und PETER, K. (1996)
Inhaled prostacyclin (PGI2) versus inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome
Am J Respir Crit Care Med 154/6 Pt 1: 1671 - 1677



Pharmakologische Beeinflussung des NO-cGMP-Signaltransduktionswegs im pulmonalen Gefäßsystem

édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
GLEIBERGER WEG 4
D-35435 WETTENBERG

Tel: +49-(0)6406-4413 Fax: -72757
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-89687-435-7
9 783896 874351