

Beeinflussung der pulmonalen Hypertonie mit inhalativen Prostanoiden und einem selektiven Phosphodiesterase - Inhibitor in einem Modell der isoliert ventilierten und perfundierten Kaninchenlunge

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Vorgelegt von Hanno Helmut Leuchte

aus Mainz

Gießen 2001

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik II
Leiter: Herr Prof. Dr. med. Werner Seeger
des Universitätsklinikums Gießen

Gutachter: Prof. Dr. Seeger

Gutachter: Prof. Dr. Lindemann

Tag der Disputation: 17.12.2002

Inhaltsverzeichnis

	Seite
<u>Abkürzungen</u>	
I. Einleitung	
1. Pulmonale Zirkulation	
a) Physiologie der pulmonalen Zirkulation	6
b) Pathophysiologische Veränderungen in der pulmonalen Hypertonie	7
c) Klassifikation der pulmonalen Hypertonie	10
2. Therapiestrategien in der pulmonalen Hypertonie	
a) allgemeine medikamentöse Therapie	11
b) Stickstoffmonoxid	11
c) Prostazyklin und sein stabiles Analogon Iloprost	12
d) Phosphodiesterasen und – Inhibitoren	15
e) Einschränkungen der bisherigen Therapieoptionen	16
3. Ziele der vorliegenden Arbeit	16
II. Materialien und Methodik	
1. Materialien	
a) Substanzen	18
b) Geräte und Herstellerangaben	19
2. Methodik	
1. Modell der isolierten Kaninchenlunge	
a) Beschreibung des Organmodells	20
b) Präparation der Lungen	20
c) Perfusionssystem	22
d) Beatmungssystem	22
e) Vorrichtungen zur Anwendung der Multiple Inert Gas Elimination Technique (MIGET)	22

f) Aerosolierungssystem	24
g) Registrierung der Parameter	24
h) Modell der U46619 – induzierten pulmonalen Hypertonie an der isolierten Kaninchenlunge	25
2. Die Multiple Inert Gas Elimination Technique (MIGET)	
a) Theorie	26
b) Anwendung der Multiple Inert Gas Elimination Technique an der isolierten Kaninchenlunge	29
c) Auswertung der durch die Multiple Inert Gas Elimination Technique erzielten Werte	31
3. Statistischer Vergleich	35

III. Experimenteller Teil

1. Untersuchungen zur Beeinflussung der Hämodynamik, des Gasaustausches und der Ödementwicklung in der U46619 - induzierten pulmonalen Hypertonie	36
2. Standardisierte Vorgänge	38

IV. Ergebnisse

1. Vergleichszeitpunkte	39
2. Kontrollversuche unter Ruhebedingungen	39
3. Einfluss einer U46619 - Infusion auf den pulmonalarteriellen Druck, den Gewichtsverlauf und den Gasaustausch	40
4. Dosis-Wirkungskurve des Phosphodiesterase-Inhibitors Zardaverin auf die U46619 - induzierte pulmonale Hypertonie	42
5. Einfluss von Zardaverin in Unterschwellendosis auf den pulmonalarteriellen Druck, den Gewichtsverlauf und den Gasaustausch unter U46619 - Infusion	43
6. Einfluss von aerosolisiertem PGI ₂ auf den pulmonalarteriellen Druck, den Gewichtsverlauf und den Gasaustausch unter U46619 - Infusion	44
7. Einfluss von aerosolisiertem PGI ₂ mit Zardaverin auf den pulmonalarteriellen Druck, den Gewichtsverlauf und den Gasaustausch unter U46619 - Infusion	45

8. Einfluss von aerosolisiertem Iloprost auf den pulmonalarteriellen Druck, den Gewichtsverlauf und den Gasaustausch unter U46619 - Infusion	47
9. Einfluss von aerosolisiertem Iloprost mit Zardaverin auf den pulmonalarteriellen Druck, den Gewichtsverlauf und den Gasaustausch unter U46619 - Infusion	48
10. Beatmungsdrücke	50
11. Graphische Zusammenfassung der Einzelergebnisse	50

V. Diskussion

1. Stabile pulmonale Hypertonie mit konsekutiver Störung des Gasaustausches und Entwicklung eines Lungenödems unter U46619 - Infusion	57
2. Dosisabhängige Drucksenkung durch Zardaverin unter U46619 - Infusion	58
3. Fehlende Beeinflussung der Hämodynamik, des Gasaustausches und der Ödemneigung durch Unterschwellendosis von Zardaverin unter U46619-Infusion	58
4. Positive Entwicklung der Hämodynamik, des Gasaustausches und der Ödemneigung durch inhalatives PGI ₂ und Iloprost unter U46619-Infusion	59
5. Synergistischer Effekt durch die Kombination von inhalativem PGI ₂ oder Iloprost und Zardaverin auf Hämodynamik, Gasaustausch und die Ödemneigung unter U46619-Infusion	61

VI. Ausblick	65
---------------------	----

VII. Zusammenfassung	67
-----------------------------	----

VIII. Literaturverzeichnis	69
-----------------------------------	----

Anhang

Tabellen

Lebenslauf

Danksagung

Abkürzungen

ARDS	Adult Respiratory Distress Syndrome (Akutes Lungenversagen)
ATP	Adenosin Triphosphat
Ca	Kalzium
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
DMSO	Dimethylsulfoxid
ECD	Electron-Capture-Detector
EDRF	Endothelium Derived Relaxing Factor (Stickstoffmonoxid)
FID	Flammen-Ionisations-Detektor
GTP	Guanosin Triphosphat
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HZV	Herzzeitvolumen
IC ₅₀	Wirkstoffkonzentration zur Hemmung von 50% der Enzymaktivität
LPS	Lipopolysaccharid
MEAN	Arithmetischer Mittelwert
MIGET	Multiple Inert Gas Eliminations Technique
Ni	Nickel
NO	Nitric oxide (Stickstoffmonoxid)
PA	Pulmonalarterie
PAP	Pulmonal Arterial Pressure (Pulmonalarterieller Druck)
P _c	Pulmonalkapillärer Druck
PDE	Phosphodiesterase
PDGF-β	Platelet Derived Growth Factor β
PEEP	Positive End - Expiratory Pressure (Positiver endexpiratorischer Druck)
\dot{Q}	Perfusion
PGI ₂	Prostazyklin
PH	Pulmonale Hypertonie
PPH	Primäre Pulmonale Hypertonie
PVR	Pulmonary Vascular Resistance (Lungengefäßwiderstand)
SEM	Standardfehler
SF ₆	Schwefelhexafluorid
WHO	World Health Organisation

VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
\dot{V}	Ventilation
\dot{V}/\dot{Q}	Ventilations-/ Perfusionsverhältnis
V_{\max}	maximale Reaktionsgeschwindigkeit

1. Pulmonale Zirkulation

a. Physiologie der pulmonalen Zirkulation

Die Physiologie der pulmonalen Strombahn unterscheidet sich wesentlich von der anderer Organe. Unter Veränderung des Blutflusses, wie beispielsweise steigendem Herzzeitvolumen unter Belastung wird ein gewisses Druckniveau beibehalten. Sogar bei einer Verdreifachung des Herzzeitvolumens ist ein pulmonalarterieller Druckanstieg auf 16 – 20 mmHg begrenzt. Diese pulmonalvaskuläre Regulation basiert auf einer passiven Umverteilung des Blutes (West et al., 1987) mit Anteilen einer aktiven Vasodilatation (Olschewski et al., 1996).

Ein weiterer Unterschied der Lungenstrombahn gegenüber anderen Organsystemen besteht in der Fähigkeit zur lokalen Vasokonstriktion, sobald der alveoläre Sauerstoffpartialdruck unter ca. 70 mmHg (Barer et al., 1970) fällt. Diese autoregulatorische Funktion (Euler-Liljestrand-Mechanismus) steht im Gegensatz zur Vasodilatation lokaler Gefäße anderer Organe bei Abfall des Sauerstoffpartialdrucks oder des pH.

Eine wichtige Größe zur Beurteilung der pulmonalen Zirkulation ist der pulmonalvaskuläre Widerstand (PVR) der sich analog dem Ohmschen Gesetz über den Druckabfall zwischen Pulmonalarterie (PAP) und Lungenkapillaren (P_c) und dem Herzzeitvolumen (HZV) wie folgt berechnet :

$$PVR = (PAP - P_c) / HZV$$

Das bedeutet, dass der Pulmonalarteriendruck abhängig vom Widerstand und dem Herzzeitvolumen ist :

$$PAP = PVR \cdot HZV + P_c$$

Dies trifft hauptsächlich für die sogenannten West-Zonen III und IV (West 1992) zu, da in diesen Bereichen das Prinzip eines Poiseuille-Resistors bei Menschen in aufrechter Körperhaltung am ehesten gegeben ist (s. Abb. 1, nächste Seite). In diesen Zonen wird der pulmonalvaskuläre Fluss durch die Druckdifferenz zwischen Pulmonalarterie und Lungenvene bestimmt. In der West-Zone II hingegen liegt ein sogenanntes „Wasserfallprinzip“ oder Starling-Resistor-Verhalten vor. Hier ist der pulmonalvenöse Druck geringer als der alveoläre. Aus diesem Grund bestimmt die Differenz zwischen alveolärem und pulmonalarteriellen Druck den Fluss. In der West-Zone I übersteigt der alveoläre Druck auch den pulmonalarteriellen, so dass es in dieser Region nicht zu einem Blutfluss kommt. Diese Zone ist physiologisch nicht vorhanden und beschreibt einen Teil der alveolären Totraumventilation.

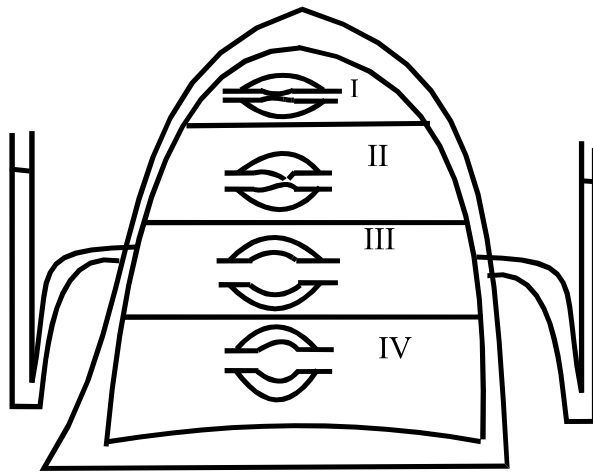


Abb. 1

Darstellung der West-Zonen I bis IV am stehenden Menschen, Erläuterung im Text

Um, wie oben erwähnt, bei steigendem Herzzeitvolumen eine Erhöhung des pulmonalarteriellen Druckes zu vermeiden, muss der pulmonalvaskuläre Widerstand gesenkt werden. Dies geschieht im wesentlichen über druckpassive Dehnung (Distension) schon perfundierter Gefäße in den West-Zonen III und IV, sowie durch Einbeziehen vorher nicht perfundierter Gebiete (Recruitment) v. a. in den West-Zonen I und II. Außerdem kommt es zu einer aktiven Vasodilatation durch aus Endothelzellen freigesetztem PGI_2 und NO. Die genauen Mechanismen dieser Autoregulation sind bisher nicht abschließend aufgeklärt.

b. Pathophysiologische Veränderungen in der pulmonalen Hypertonie

Die pulmonale Hypertonie ist definiert als eine Erhöhung des mittleren PA-Druckes über 30 mmHg. Liegt ein normaler pulmonalkapillärer Verschlussdruck vor, bezeichnet man diese als präkapilläre (oder pulmonalarterielle) PH. Ist dieser Druck erhöht, spricht man von der postkapillären (oder pulmonalvenösen) Form. Eine Erhöhung des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) führt zur Rechtsherzbelastung und letztendlich zur Verminderung des Herzzeitvolumens (HZV). Durch die Druckbelastung des rechten Ventrikels entsteht zunächst eine konzentrische Hypertrophie, die in der Folge in eine Dilatation desselben mündet. Durch das verminderte Auswurfvolumen des rechten Herzens sinkt die dem linken Ventrikel zur Verfügung stehende Blutmenge, was zu einem progredienten Vorwärtsversagen führt. Durch die Abnahme des HZV nimmt die Kontaktzeit der Erythrozyten mit den Alveolen ab. Es resultiert häufig eine manifeste arterielle Hypoxämie, die durch eine hohe systemische Ausschöpfung noch verstärkt wird (Schmidt & Thews-Physiologie des Menschen, W. Siegenthaler – Klinische Pathophysiologie, Harrison's Principles of internal medicine). Die

Konsequenz einer chronischen pulmonalarteriellen Hypertonie kann letztendlich die „fixierte“ pulmonale Hypertonie sein, die sich bei jeder Art der länger bestehenden PH entwickeln kann. Hiermit wird ein Zustand bezeichnet, in dem ein Ansprechen der Pulmonalgefäße (im Sinne einer Reduktion des PVR) auf vasodilatierende Substanzen ausbleibt. Ebenso ist eine tatsächliche Rückbildung des bestehenden pulmonalen Hypertonus nach Beseitigung des zu Grunde liegenden Mechanismus, wie z. B. der operativen Korrektur eines kardialen Shuntvitium nicht mehr zu beobachten. Die dekompensierte pulmonalarterielle Hypertonie bietet das klinische Bild einer globalen Herzinsuffizienz mit Vorwärtsversagen des linken und Rückwärtsversagen des rechten Ventrikels.

Die akuten und chronischen Formen der pulmonalarteriellen Hypertonie sind getrennt zu betrachten. Es gibt allerdings pathophysiologische Überschneidungen dieser beiden. Gemeinsam ist die entscheidende Bedeutung eines Gleichgewichts vasodilatativer Mediatoren wie Stickstoffmonoxid NO (früher EDRF) und dem Arachidonsäuremetaboliten Prostazyklin (PGI_2) einerseits, und Vasokonstriktoren wie Endothelin, Thromboxan und Angiotensin andererseits. Dies wird vor allem unter pathophysiologischen Umständen deutlich, in denen diese Balance nicht mehr gegeben ist.

Klinische Daten von Patienten mit chronischer pulmonaler Hypertonie zeigen ein Ungleichgewicht von PGI_2 - und Thromboxanmetaboliten, zu Gunsten des vasokonstriktorischen Agens (Christman et al., 1992). Dass eine aktive Vasokonstriktion auch in einer länger bestehenden pulmonalen Hypertonie vorhanden ist, geht aus Daten hervor, die diese aktive Komponente zur Identifizierung möglicher Behandlungsmodi nutzen (Sitbon et al., 1998). In weiteren Untersuchungen an Patienten mit chronischer pulmonaler Hypertonie wies Giaid außerdem auf ein Ungleichgewicht zwischen der erhöhten Expression von Endothelin 1 (Giaid et al., 1993) und der reduzierten Expression der endothelialen NO-Synthase (Giaid et al., 1995) hin. Endothelin 1 (ET-1) ist ein vasoaktives Peptid, das in der pulmonalen aber auch systemischen Strombahn von Endothelzellen aus dem Vorläufer big-Endothelin 1 durch ein Aktivierungsenzym gebildet wird. Seine Wirksamkeit entwickelt ET-1 über zwei unterschiedliche Rezeptoren. Die Bindung an den ET_B – Rezeptor auf Endothelzellen führt zur einer Vasodilatation durch Freisetzung von NO. Durch Aktivierung des ET_A – Rezeptor auf glatten Muskelzellen kommt es zur Vasokonstriktion (Mc Culloch 1998). Über diesen ET_A – Rezeptor entwickelt ET-1 auch seine wichtige mitogene Eigenschaft auf glatte Gefäßmuskelzellen. Für die Proliferation der Endothelzellen dürften Faktoren wie VEGF von entscheidender Bedeutung sein. Unter Hypoxie bilden pulmonalarterielle Endothelzellen diesen Wachstumsfaktor für den sie selbst einzige

Zielzellen sind (Voelkel et al., 1996). Interessanterweise zeigt das Endothel von Patienten mit PPH eine abnorme Expression von VEGF (Voelkel et al., 1996). Die Hypoxie von Endothelzellen stellt auch einen wichtigen Reiz für die Freisetzung von platelet derived growth factor (PDGF) dieser Zellen dar (Faller et al., 1999). Weitere experimentellen Daten von Berg et al., beschrieben 1998 eine vermehrte Expression von extrazellulären Matrixproteinen und PDGF- β bei Ratten, die einer chronischen Hypoxie ausgesetzt wurden. PDGF ist einerseits ein pulmonaler Vasokonstriktor und ein wesentlicher Stimulus für Migration und Proliferation von Fibroblasten und glatten Muskelzellen (Peacock AJ 1993).

Die Folge dieser multiplen Wachstumsreize für die Gefäßwände ist eine ausgeprägte Proliferation der unterschiedlichen Anteile. Das vermehrte Wachstum der glatten Gefäßmuskulatur führt zur Zunahme bereits muskularisierter Abschnitte und darüber hinaus auch zum Einsprossen dieser Zellen in vorher nicht muskularisierte Anteile wie den Venolen (Veysier-Belot et al., 1999). Dieser strukturelle Gefäßwandumbau wird auch als vaskuläres Remodeling bezeichnet und ist durch Mediahypertrophie und Verengung des Gefäßlumens charakterisiert. In der weiteren Entwicklung kommt es zur Obliteration der Gefäße (Palevsky et al., 1989) mit zunehmender Stase. Außerdem sei auf die Thrombozytenaggregation fördernde und die Fibrinolyse hemmende Funktion einiger dieser Stoffe hingewiesen. Folgend der *Virchowschen* Trias ist die gemeinsame Endstrecke dieser morphologischen und funktionellen Beeinflussung die sogenannte Thrombosis in situ (Fuster et al., 1984, Pietra et al., 1989). Diese beschriebenen Veränderungen mit Verdickung der Intima, Proliferation der glatten Muskulatur und der Thrombosis in situ bezeichnet man als plexiforme Läsionen. Initial wurden diese ausschließlich der primären pulmonalarteriellen Hypertonie zugeordnet. Mittlerweile ist allerdings sicher, dass diese Veränderungen auch bei sekundären Formen vorkommen (Veysier-Belot et al., 1999). Die genannten histomorphologischen Veränderungen die zusätzlich noch eine Gefäßsklerose umfassen, mögen das Korrelat für die sich entwickelnden Fixierung der pulmonalen Hypertonie darstellen.

Im Falle der akuten pulmonalarteriellen Hypertonie stehen diese zeitabhängigen Umbau-, bzw. Remodelingprozesse nicht im Vordergrund. Eine essentielle Bedeutung kommt allerdings auch hier der aktiven pulmonalarteriellen Vasokonstriktion zu. Beispielsweise kommt es in der Sepsis oder beim akuten Lungenversagen (ARDS) durch überschüssende Mediatorenfreisetzung (Harrison's Principles of internal medicine) zu einer meist moderaten pulmonalarteriellen Hypertonie, die allerdings akut ist und deshalb keine Anpassungsphase des rechten Herzens erlaubt. Im Zusammenhang dieser beiden Ätiologien sei auch die schwerwiegende Einschränkung des Gasaustausches in diesen Fällen genannt. Über die

genannte Dysregulation sowohl vasokonstriktiver als auch vasodilatierender Stoffe entsteht eine Fehlverteilung des Blutstromes innerhalb der Lungengefäße. Daraus resultiert eine Zunahme der Durchblutung nicht ventilierter Areale (Shuntperfusion) (Rossaint et al., 1993, Walmrath et al., 1993 und 1996) und damit kommt es zu einer weiteren Abnahme der arteriellen Oxygenierung.

c. Klassifikation der pulmonalen Hypertonie

Nach der Klassifizierung der WHO aus Evian-Konferenz 1998 (www.aafp.org/afp/20010501/1789.html) wird die chronische pulmonalarterielle Hypertonie in unterschiedliche Krankheitsbilder und assoziierte Erkrankungen aufgeteilt.

Die primäre pulmonale Hypertonie kann sporadisch oder familiär gehäuft auftreten. Dieser Erkrankung gilt spätestens seit der ersten Evian-Konferenz 1973 spezielles Augenmerk.

Gehäuft ist die pulmonalarterielle Hypertonie bei unterschiedlichen Krankheitsbildern zu diagnostizieren. Dies sind zum einen Kollagenosen, wobei hierbei das CREST-Syndrom (Symptomkomplex aus Calcinosis cutis, Raynaud-Phänomen, Ösophagusdysfunktion, Sklerodaktylie und Teleangiektasie) einen wesentlichen Anteil ausmacht. Ein angeborenes Shuntvitium kann auch nach dessen Korrektur zu fortbestehender pulmonaler Hypertonie führen. Darüber hinaus führt auch die Infektion mit dem humanen Immunschwäche Virus (HIV) in einigen Fällen zum Symptom der pulmonalarteriellen Hypertonie. Der gehäuft entwickelten PH auf dem Boden von Lebererkrankungen liegt auch eine eigene Pathophysiologie zu Grunde, die allerdings nicht abschließend geklärt ist. Einige Medikamente und Stoffe konnten ebenfalls als mögliche Ätiologien der pulmonalen Hypertension identifiziert werden. Hier sei auf den besonderen Stellenwert der Appetitzügler Aminorex und Fenfluramin (Abenheim et al., 1996) hingewiesen. Beides sind Serotoninantagonisten und entfalten ihre Nebenwirkung wohl am ehesten auf dieser Grundlage. Die persistierende pulmonale Hypertension des Neugeborenen wird der Vollständigkeit halber hier genannt. Auf eine weitere Aufreihung dieser Gruppe und der pulmonalvenösen Formen wird allerdings verzichtet.

Erkrankungen des respiratorischen Systems mit, aber auch ohne bestehende Hypoxämie können zur Entwicklung einer pulmonalarteriellen Hypertonie führen. Die chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen sind hier sicherlich alleine wegen ihrer großen Inzidenz wesentlich. Allerdings führen auch die interstitiellen Lungenerkrankungen immer wieder zur pulmonalarteriellen Hypertension. Eine Rarifizierung der pulmonalarteriellen Gefäße ist hier mitentscheidend. Der Euler-Liljestrand-Mechanismus gilt als ein wichtiger pathogenetischer

Ko-Faktor bei der Entwicklung einer PH in manifest hypoxischen Zuständen. Bei bereits bestehender Verminderung des zur Verfügung stehenden Gefäßquerschnittes führt die physiologische hypoxisch-pulmonale Vasokonstriktion zu einer sekundären Erhöhung des pulmonalvaskulären Widerstandes. Hinzu kommen Erkrankungen der Atmung während des Schlafes und die alveoläre Hypoventilation.

Nach der WHO-Klassifikation bilden die chronischen Lungenthrombosen und/ oder Lungenembolien eine eigene Gruppe in der Ätiologie der pulmonalarteriellen Hypertonie. Unterschieden wird hier zwischen der Obstruktion proximaler und distaler Lungenarterien. Distale Lungenembolien werden noch unterteilt in das sie formende Material. Hier sind die Thromboembolien die häufigsten Vertreter (Viner et al., 1994, Kapitan et al., 1989).

Die letzte Gruppe dieser Einteilung bilden Erkrankungen, die die pulmonalen Gefäße direkt betreffen. Dies sind beispielsweise die Sarkoidose oder pulmonalkapilläre Hämangiomasen.

Als Auslöser akuter pulmonalarterieller Hypertonien gelten das Akute Lungenversagen (ARDS) und die Sepsis (Rossaint et al., 1993, Walmrath et al., 1993). Die beiden Formen ähneln einander in ihrer pathophysiologischen Entstehung. Auch obstruierende Prozesse des pulmonalen Gefäßbettes durch akute Lungenembolien spielen eine wesentliche Rolle bei der Entstehung einer akuten präkapillären PH (Layish 1997).

2. Therapiestrategien in der pulmonalen Hypertonie

a. Allgemeine medikamentöse Therapie

In der akuten und chronischen pulmonalarteriellen Hypertonie haben die Behandlung der Grunderkrankung und die symptomatische Therapie bei bestehender Herzinsuffizienz ihren festen Stellenwert. Außerdem sollte bei den chronischen Formen eine konsequente Antikoagulation und bei bestehender Hypoxämie auch eine Langzeitsauerstofftherapie durchgeführt werden. Zusätzlich bieten oral verabreichte hochdosierte Calciumantagonisten eine Option (Rich et al., 1992). Allerdings lassen sich nur ca. ein Viertel der Patienten erfolgreich mit dieser Stoffgruppe behandeln (Sitbon et al., 1998, Olschewski et al., 1996).

b. Stickstoffmonoxid

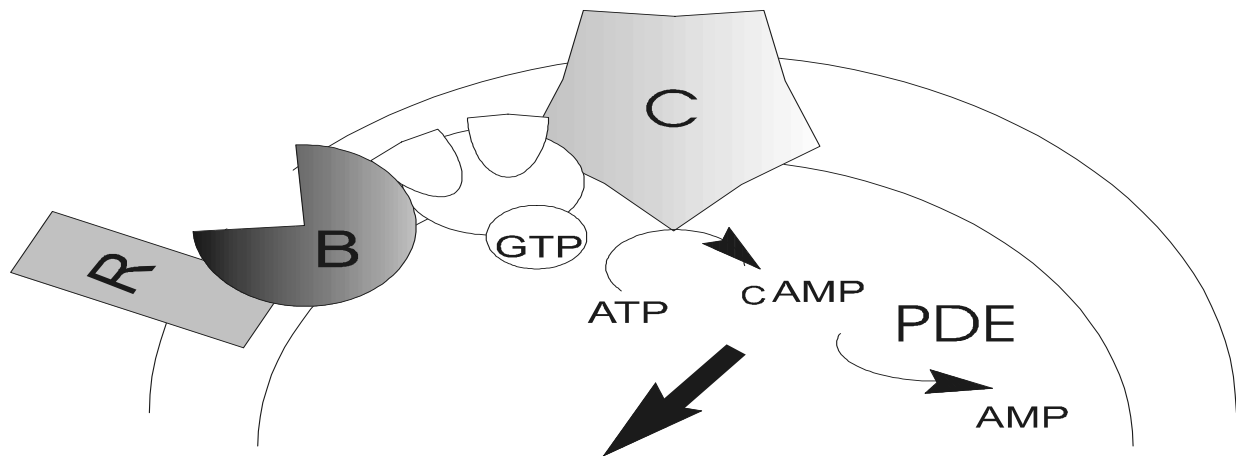
Inhalatives Stickstoffmonoxid NO konnte sowohl in Fällen der akuten pulmonalen Hypertension im Rahmen eines ARDS als auch in der chronischen pulmonalen Hypertonie eine auf das Lungengefäßbett reduzierte Gefäßdilataion erzielen (Frostell et al., 1991, Pepke-Zaba et al., 1991, Rossaint et al., 1993). Über eine Aktivierung der Guanylatzyklase wird vermehrt zyklisches GMP (cGMP) gebildet. Diesem zyklischen Nukleotid nachgeschaltete cGMP abhängige Proteinkinasen phosphorylieren Ca-ATPasen intrazellulärer Kalziumspeicher. Eine verminderte intrazelluläre Kalziumkonzentration ist die Folge, die in einer Relaxation resultiert. Es kommt durch die transbronchiale Applikationsform nicht nur zu einer Abnahme des pulmonalen Gefäßwiderstandes, sondern durch selektive Vasodilatation ventilierter Areale auch zu einer Reduktion des Shuntflusses, als Zeichen einer Optimierung der Perfusion. Diese Gefäßerweiterung in ausschließlich belüfteten Arealen der Lunge bezeichnet man auch als selektive intrapulmonale Vasodilatation. Allerdings muss man trotz der unbestrittenen Vorteile einer inhalativen NO-Therapie auch die Schwierigkeit einer kontinuierlichen Applikation bei nur sehr kurz anhaltendem positivem Effekt bedenken. Ebenfalls sei auf die Gefahr eines Rebound-Phänomen nach Absetzen der NO-Therapie (Miller 1995) hingewiesen. Beschrieben sind unterschiedliche Fälle, bei denen es nach Aussetzung der NO-Applikation zu einem pulmonalarteriellen Druckanstieg kam, der noch über das Ausgangsniveau hinaus ging und so eine akute kardiale Mehrbelastung darstellte. Außerdem sind mögliche Nachteile des NO mit seinen Eigenschaften als freies Radikal verbunden, so auch die Beeinflussung inflammatorischer Geschehen (Troncy et al., 1997).

c. Prostazyklin und sein stabiles Analogon Iloprost

Der Einsatz des vasodilatativen Prostazyklins über eine kontinuierliche Infusion ist eine etablierte und zugelassene Therapie der schweren pulmonalarteriellen Hypertension (Higgenbottam et al., 1984, Barst et al., 1994, Rubin 1990). Prostazyklin wird in Endothelzellen gebildet und besitzt im Plasma ein Halbwertzeit von wenigen Minuten (Moncada et al., 1976). Neben einer ausgeprägt pulmonalvaskulär dilatierenden Potenz besitzt Prostazyklin noch die Eigenschaft, die Thrombozytenaggregation (Moncada et al., 1976 und 1979) zu hemmen. Beide Eigenschaften wirken sich positiv in Patienten mit pulmonaler Hypertonie aus. Durch die systemische Gabe und damit verbundene unselektive Dilatation von Gefäßen kommt es allerdings zu entscheidenden Nachteilen. Dies sind zum einen systemische Hypotonien bei unselektiver Vasodilatation systemarterieller Flussgebiete. Zum anderen konnte experimentell und klinisch gezeigt werden, dass es auch durch mangelnde

Selektivität innerhalb der Lunge zu einer Verschlechterung der ohnehin bestehenden Gasaustauschstörung durch zunehmende Fehlverteilung von Ventilation und Perfusion kommt. Hier liegt die Weitstellung nicht an der Ventilation teilnehmender Lungengefäßareale zu Grunde (Walrath et al., 1997). Die durch diese Umgehung der hypoxischen pulmonalen Vasokonstriktion entstehenden Nachteile sind gerade unter der Konstellation einer bereits bestehenden Hypoxämie zu vermeiden. Im Falle einer chronischen Verabreichung ist die Implantation eines zentralen Venenkatheters mit Port-System erforderlich. Wesentliche Komplikationen des so verabreichten Prostazyklin sind zwar selten, können aber lebensbedrohlich sein (Barst et al., 1996, Mc Laughlin et al., 1998). Beispielsweise kann es zum einen durch eine Unterbrechung der kontinuierlichen Verabreichung durch Dekonnektion oder Katheterthrombose zu gefährlichen hämodynamischen Situationen kommen. Zum anderen besteht aber auch die Gefahr wesentlicher infektiöser Zustände wie schwerer Septikämien, im Sinne einer Kathetersepsis.

Vor diesem Hintergrund wurde in einer Studie an Patienten mit pulmonaler Hypertonie aufgrund eines ARDS inhalatives Prostazyklin verabreicht (Walrath et al., 1993). Damit konnte ein entscheidender Erfolg hinsichtlich der Hämodynamik und Ventilations-/Perfusionsverteilungen bei selektiver pulmonaler Vasodilatation erreicht werden.. Dadurch, dass das Aerosol ausschließlich in die ventilerten Areale der Lunge gelangt und dort gefäßerweiternd wirkt, gelingt eine Umverteilung des Blutflusses von nicht-ventilierte in ventilerte Areale. Damit verbunden ist eine Reduktion des pulmonalarteriellen Druckes, Verbesserung der Oxygenierung und Reduktion des Shuntflusses (gemessen mit der MIGET). Die Inhalation von PGI₂ konnte diese wesentlichen Vorteile ebenfalls bei schwerer Pneumonie und Lungenfibrose demonstrieren (Walrath et al., 1995). Aufgrund der kurzen Wirkdauer von Prostazyklin wurde das stabile Analogon Iloprost, mit einem überlegenen pharmakologischen Profil hinsichtlich des maximalen Ausmaßes und der Wirkdauer (Olschewski et al., 1996) eingeführt. Mittlerweile stellt die inhalative Therapieform mit Iloprost einen wichtigen Bestandteil der Behandlung schwerer pulmonaler Hypertonien unterschiedlicher Ätiologien dar (Olschewski et al., 1996, 1999, 2000, Hoepfer et al., 2000). Es zeigt sich eine positive Beeinflussung der hämodynamischen Variablen und der körperlichen Leistungsfähigkeit behandelter Patienten (Wensel et al., 2000).



CAMP-abhängige Proteinkinasen

-> Phosphorylierung von Ca-ATPasen
in Sarkolemm und sarkoplasmat. Retikulum

-> Senkung $[Ca]$ => **Relaxation**

Abb. 2. Vereinfachte Darstellung der zellulären Wirkmechanismen des Prostazyklins an der glatten Gefäßmuskelzelle

Der Wirkmechanismus von Prostazyklin und seines stabilen Analogon Iloprost an der glatten Gefäßmuskulatur besteht in einer G-Protein vermittelten Aktivierung der Adenylatzyklase (s. Abb. 2). Im einzelnen kommt es nach Bindung an den spezifischen Rezeptor für Prostazyklin (R) zur Konformationsänderung und zur Aktivierung des Adenylatzyklasesystems. Dieses besteht aus einem G-Protein (GTP-bindenden Protein) mit den drei Untereinheiten α , β , und γ und der Adenylatzyklase (C). Die Aktivierung der Adenylatzyklase führt zur Bildung des zyklischen Adenosinmonophosphat (cAMP), das wiederum über Phosphodiesterasen (PDE) hydrolytisch gespalten wird. In der glatten Gefäßmuskelzelle bewirkt cAMP über abhängige Proteinkinasen die Phosphorylierung von Ca-ATPasen des Sarkolemm und des sarkoplasmatischen Retikulum. In der Folge kommt es unter anderem zum Einstrom des freien Kalziums in das sarkoplasmatischen Retikulum und somit zu einer Verminderung der freien intrazellulären Kalziumionenkonzentration ($[Ca]$) und zu einer Vasorelaxation.

Analog zu diesem Mechanismus stellt man sich die Wirkung des Stickstoffmonoxid (NO) vor, das allerdings cGMP-vermittelt wirkt.

d. Phosphodiesterasen und - Inhibitoren

Phosphodiesterasen (PDEs) sind zelluläre Enzyme, die für den Abbau der zyklischen Monophosphate cAMP und cGMP zu AMP bzw. GMP verantwortlich sind. Momentan werden 11 Phosphodiesterasefamilien beschrieben, die durch 15 Gene des Säugetiergenoms codiert werden (Conti et al., 1995). Die Einteilung der PDE's erfolgt nach ihrem Substrat, ihren regulatorischen Charakteristiken und dem Verhalten gegenüber unterschiedlicher Inhibitoren (Beavo 1995, Dent et al., 1994, Suttorp et al., 1996).

Die PDE 1 metabolisiert beide zyklischen Nukleotide und erfährt einen Stimulus durch Ca^{2+} /Calmodulin. PDE 2 baut ebenfalls cAMP und cGMP ab und wird durch cGMP stimuliert. PDE 3 bewirkt den hydrolytischen Abbau von cAMP und cGMP. Da die V_{\max} dieser Hydrolyse allerdings für cAMP ca. 1000 x höher ist, als für cGMP, zählt die PDE 3 zu den funktionell cAMP-spaltenden PDEs und wird durch cGMP und Motapizon inhibiert. PDE 4 ist eine cAMP-spezifische PDE, von der mittlerweile 4 Isoenzyme identifiziert wurden (Beavo 1995), eine Inhibierung wird durch Rolipram erreicht. Die PDE 5 hydrolysiert ausschließlich cGMP und wird durch Zaprinast und Sildenafil gehemmt. PDE 6 ist ein wesentliches Enzym in der Retina und wird ebenfalls durch Zaprinast und Sildenafil inhibiert. Weitere Inhibitoren der PDE wurden mittlerweile charakterisiert. Beispielsweise konnte das Wirkprofil des dualen 3 und 4 – PDE-Inhibitors Zardaverin gezeigt werden (Rabe et al., 1994, Suttorp et al., 1993, Schermuly et al., 1999).

Funktionell spielen die Familien 1, 3, 4 und 5 eine wichtige Rolle in der Regulierung des Gefäßtonus und dürften von nicht unwesentlicher Bedeutung in der Reaktion von Gefäßen auf mechanischen Stress sein (Beavo 1995, Conti et al., 1995, Polson und Strada 1996). In der menschlichen Pulmonalarterie konnten Rabe und Mitarbeiter 1994 Aktivitäten der PDE 1, 3, 4 und 5 nachweisen. Im Lungenhomogenat gelang immunhistochemisch ebenfalls der Nachweis dieser PDEs.

Möglicherweise spielen die Phosphodiesterasen außerdem eine wesentliche Rolle in der Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen. So berichten Pinsky et al., 1993 über zeitabhängige verminderte cAMP-Spiegel in kultivierten glatten Gefäßmuskelzellen, die einer Hypoxie ausgesetzt wurden. Gleichzeitig konnte eine vermehrte Aktivität der PDE 3 und 4 gemessen werden. Selektive Inhibitoren der PDE 3 und 4 konnten eine Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen, die durch Kälberserum stimuliert wurden, inhibieren (Pan et al., 1994; Polson und Strada 1996).

Hinsichtlich der Akuttherapie einer pulmonalen Hypertonie konnten synergistische Effekte von Vasodilantien und PDE-inhibitoren bisher für NO und selektive PDE 5-Inhibition

mehrfach nachgewiesen werden (Ichinose et al., Thusu et al., Kinsella et al., 1995). Wagner et al., konnten 1997 unter PDE-Inhibition mit Milrinon (PDE 3-Inhibitor) und Rolipram (PDE 4-Inhibitor) eine Zunahme der vasodilatierenden Antwort von Pumonalarterienringen auf die Vasodilatoren Isoproterenol und Forskolin feststellen. Auch im Falle der experimentellen pulmonalen Hypertonie konnte ein Synergismus zwischen PDE-Inhibition und Prostazyklininhalation gezeigt werden (Schermuly et al., 1999, 2000).

e. Einschränkungen der bisherigen Therapieoptionen

Mit hochdosierter Calciumantagonistherapie können nur ca 25% der Patienten effektiv behandelt werden. Bei dem beschriebenen Benefit der inhalativen Verabreichung der eingesetzten Stoffe in der PH ist eine nur geringe Wirkdauer zu erwähnen. So kommt es beispielsweise nach Beendigung der NO-Inhalation nach wenigen Sekunden zu einem Sistieren der positiven Effekte und möglicherweise zu dem schon erwähnten gefährlichen Reboundphänomen.

Das stabile Analogon Iloprost ist dem herkömmlichen Prostazyklin durch eine Verlängerung der Wirkzeit von wenigen Minuten auf 30 Minuten überlegen. Allerdings ist auch dessen Effekt in der Akuttestung nur bis ca. 30-60 Minuten nach Beendigung der Aerosolierung zu beobachten (Hoepfer et al., 1999). Diese rasche Abnahme des Akuteffektes macht die Notwendigkeit häufiger Inhalationsintervalle deutlich (Olschewski 1996).

3. Ziele der vorliegenden Arbeit

Aus der Beschreibung der derzeitigen Therapiemöglichkeiten geht die Notwendigkeit einer weiteren Therapieoptimierung im Falle der pulmonalen Hypertonie unterschiedlicher Genese hervor. Anzustreben ist sowohl eine Zunahme des maximalen Effektes der inhalativ verabreichten Prostanoiden, als auch eine Verlängerung deren Wirkung. Die Kombinationstherapie eines inhalativen Vasodilatanz mit einem spezifischen PDE-Inhibitor, der den Abbau des gebildeten zyklischen Nukleotids hemmt und so seine Wirksamkeit aufrecht erhält, wurde in verschiedenen Ansätzen bereits mit Erfolg versucht (Schermuly et al., 1999 und 2000). In diesen beiden Arbeiten wurde mit inhalativem PGI₂ gearbeitet, das klinisch durch sein unterlegenes Wirkprofil bereits durch das stabile Analogon Iloprost ersetzt wurde. Eine Kombinationstherapie von Iloprost mit einem Phosphodiesteraseinhibitor in einem Modell der akuten pulmonalen Hypertonie wurde bisher noch nicht untersucht.

Folgende Arbeitshypothesen wurden aufgestellt: Durch die Ko-Applikation von inhalativem Prostazyklin oder seinem stabilen Analogon Iloprost mit dem dualen PDE 3/ 4-Inhibitor

Zardaverin besteht eine Synergismus hinsichtlich der Wirksamkeit auf die Hämodynamik, der günstigen Entwicklung des Gasaustausches und der Ödementwicklung im Falle der experimentellen pulmonalen Hypertonie. Als Modell einer akuten pulmonalen Hypertonie diente die kontinuierliche Infusion des Thromboxanmimetikum U46619. Dieses etablierte Modell ist mehrfach beschrieben und charakterisiert durch a) eine akute pulmonale Hypertonie, b) schweren Gasaustauschstörungen (Shuntfluss) sowie c) Entwicklung eines Lungenödems (Walrath et al., 1997, Schermuly et al., 2000)

Zur Prüfung dieser Hypothese wurde:

1. Die hämodynamische Wirkung des dualen PDE 3/ 4-Inhibitors Zardaverin an der experimentellen akuten pulmonalen Hypertonie überprüft.
2. Die Kombinationstherapie von inhalativem Prostazyklin und seinem stabilen Analogon Iloprost mit dem dualen 3/ 4-PDE-inhibitor (Zardaverin) in einer Dosis die *per se* noch keine hämodynamische Wirksamkeit besitzt, hinsichtlich der Wirksamkeit auf die Hämodynamik, den Gasaustausch und der Ödementwicklung im Falle der experimentellen akuten pulmonalen Hypertonie untersucht.

II. Materialien und Methodik

1. Materialien

a. Substanzen

Aceton 99,8% (Merck, Darmstadt, Deutschland)
Braunoderm (Braun Melsungen, Melsungen, Deutschland)
CO₂ (Messer-Griesheim Herborn, Deutschland)
Cyclopropan 2,0 (Messer-Griesheim Herborn, Deutschland)
Diethylether 99,5% (Merck, Darmstadt, Deutschland)
DMSO (Dimethylsulfoxid) (Merck, Darmstadt, Deutschland)
Ethan 2,5 (Messer Griesheim, Frankfurt, Deutschland)
Flolan® (Wellcome, London, England)
Glycinpuffer (Wellcome, London, England)
Halothan (Hoechst AG, Frankfurt am Main, Deutschland)
Ilomedin® (Schering, Berlin, Deutschland)
Ketanest 50® (Parke-Davis GmbH, Berlin, Deutschland)
Krebs-Henseleit-Puffer mit 4 Vol% Hydroxyethylstärke (Serag-Wiesner, Naila, Deutschland)
Liquemin N25000 (Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland)
NaCl 0,9% (Braun Melsungen, Melsungen, Deutschland)
Natriumhydrogenkarbonat 8,4% (Braun Melsungen, Melsungen, Deutschland)
Schwefelhexafluorid 3.0 (SF₆) (Messer Griesheim, Frankfurt, Deutschland)
Stickstoff 5.0 (Messer Griesheim, Frankfurt, Deutschland)
U46619 (9,11-Dideoxy-11 α , 9 α -epoxymethano-prostaglandin F_{2 α}) (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)
Wasserstoff 5.0 (Messer Griesheim, Frankfurt, Deutschland)
Xylazin (Rompun®, Bayer, Leverkusen, Deutschland)
Xylocain ® 2% (ASTRA Chemicals GmbH, Wedel/Holstein, Deutschland)
Zardaverin (Byk Gulden, Konstanz, Deutschland)

b. Geräte- und Herstellerangaben

AD/DA Wandlerkarte (Decision)

Druckaufnehmer „Single Use Pressure Transducer“ (Braun)

Einkanalschreiber (Rikadenki)

Farbmonitor (Fujitsu)

Glasspritzen 30 ml (B-D Yale, Becton, Dickinson & Co)

Glasspritzen 50 ml (B-D Yale, Becton, Dickinson & Co)

Harvard - Kleintierventilator (Hugo Sachs Elektronik)

Integrator “SP 4290” (Spectraphysics)

Metalline-Polyester-Aluminiumfolie (Hostophan, Kalle-Folien, Wiesbaden, Deutschland)

Pall® -Filter 40µm Porengröße

Perfusorpumpe „871102“ (Braun)

Perfusorspritzen 50 ml (Braun)

Peristaltikpumpe „BP 720“ (Fresenius)

Personal Computer “286-40 MHz”

Personal Computer “486-66 MHz”

Tintenstrahldrucker “Deskjet 500” (Hewlett Packard)

Ultraschallvernebler (Pulmo Sonic® 5500, DeVilbiss, Langen, Deutschland)

Varian 3300 ECD (Varian)

Varian 3300 FID (Varian)

Verstärker „PlugSys-DBA“ (Hugo Sachs)

Wägezelle „U1-G“ (Hottinger Baldwin Messtechnik)

Wärmepumpe „Thermomix UB + Frigomix“ (Braun)

Wärmeschrank

Wasser-, Schüttelbad

2. Methodik

2.1. Modell der isoliert ventilierten und blutfrei perfundierten Kaninchenlunge

a. Beschreibung des Organmodells

Das Modell der isoliert ventilierten und blutfrei perfundierten Kaninchenlunge wurde mehrfach beschrieben (Seeger et al., 1984, 87 und 94). Durch die Entnahme des intakten Organs wird eine dem Experiment frei zugängliche Situation geschaffen ohne deren Beeinflussung durch humorale, zentrale oder metabolische Einflüsse. Die in der nachfolgend beschriebenen Versuchsreihe kontinuierlich registrierten Parameter umfassten den pulmonalarteriellen, linksatrialen und den Beatmungsdruck sowie die relative Gewichtszunahme. Ergänzt wurden diese Parameter durch die Erfassung der Ventilations-/Perfusionsverhältnisse mittels der Multiplen Inerten Gas Eliminationstechnik (MIGET) zur exakten Quantifizierung des Gasaustausches. Die zur Anwendung der MIGET nötigen Sondervorrichtungen an diesem Modell wurden von Walmrath et al., 1992 etabliert. Das angewandte Verneblungssystem zur inhalativen Verabreichung eingesetzter Medikamente wurde bereits von Schermuly et al., 1997 beschrieben.

b. Präparation der Lungen

Versuchstiere waren Kaninchen der Rasse New Zealand White Bastard beiden Geschlechts mit einem Körpergewicht zwischen 2,2 kg und 2,9 kg.

Im ersten Schritt wurde das Versuchstier vorbereitet und die Intubationsnarkose mit Ketamin (30 – 50 mg/kg KG) und Xylazin (6-10 mg/kg KG) eingeleitet. Hierzu wurde eine der Ohrvenen punktiert und es erfolgte die behutsame i.v.-Einleitung der Narkose. Nach erreichter Bewusstlosigkeit des Versuchstieres erfolgte die Antikoagulation mit Heparin (1000 IU/kg) und die mechanische Fixierung auf dem Operationstisch. Unter kontinuierlicher Vertiefung der Narkose wurde nach Rasur prätracheal eine subkutane Lokalanästhesie mit 10 ml Xylocain (0,2%) durchgeführt. Bei erhaltener Spontanatmung und Testung der Narkosetiefe durch starken Schmerzreiz wurde in der Folge die Trachea des Tieres freipräpariert. Die freigelegte Trachea wurde operativ eröffnet und mit einem Tubus (Innendurchmesser 3 mm) kanuliert. Die folgende Beatmung mit Raumluft wurde mit einer Atemfrequenz von 30 Atemzügen in der Minute bei einem Atemzugvolumen von 9-13 ml/kg und ohne positiven endexpiratorischen Druck (PEEP) durchgeführt. Hierzu diente ein Harvard-Kleintierventilator (Hugo Sachs Elektronik, March Hugstetten, Deutschland).

Bei erreichter tiefer Narkose erfolgte nach Rasur und Desinfektion des Abdomen die sorgfältige Präparation von Haut und Muskulatur und im folgenden die Eröffnung des Bauchraumes mittels Laparatomie im epigastrischen Winkel. Nach Fixierung des Diaphragma am Xiphoidansatz folgte die Ablösung des Zwerchfells entlang der Rippen. Danach wurde die Thoraxhöhle von diaphragmal eröffnet und nun eine mediane Sternotomie und Fixierung der beiden Thoraxhälften vorgenommen.

Nach stumpfer Abpräparation des Thymus und dem Eröffnen des Perikardbeutels wurde die Pulmonalarterie und die Aorta vorsichtig mit einem Zwirnsfaden umschlagen. Bei schlagendem Herzen wurde die Pulmonalarterie durch eine Inzision eröffnet und mit dem vorgesehen Katheter kanüliert. Ab diesem Zeitpunkt wurde die Lunge des Versuchstieres mit 4° C kaltem Krebs-Henseleit-Puffer mit 4 Vol % Hydroxyethylstärke (Serag Wiesener, Naila Deutschland) mit 40 ml/min perfundiert. Hierzu diente eine Rollerpumpe mit pulsatilem Flow (BP 720 Fresenius, Bad Homburg, Deutschland). Nach vorsichtiger Fixierung des Katheters erfolgte die Abtrennung der Herzspitze mit Eröffnung beider Herzventrikel und die Ligatur der Aorta. Danach trat der Tod des Tieres ein. Ab dem Zeitpunkt der artifiziellen Perfusion erfolgt die Beimischung von ca. 4% CO₂ zur ventilerten Raumluft zur Erhaltung eines Perfusat-pH von 7,36 bis 7,43. Unter ständiger Perfusion und Ventilation wurden Herz und Lunge aus dem umgebenden Mediastinum freigelegt. Nach der Entnahme wurde das Organpaket von Fett- und Bindegewebe befreit. Der Abpräparation des rechten Ventrikels folgte nach Entfernung der Mitralklappe und ihrer Papillarmuskeln eine Tabaksbeutelnaht der linken Herzkammer ohne diese zu verschließen. Nach Einführen eines Katheters in den linken Ventrikel erfolgte der mechanische Verschluss des linken Ventrikel durch Zuziehen der Naht. Danach strömte das Perfusat ausschließlich über diesen eingelegten Katheter ab. Abschließend wurde das linke Herzohr von der Perfusion durch Ligatur ausgeschlossen. Die Innendurchmesser der eingebrachten Perfusionskatheter betragen 3mm für den Pulmonaliskatheter und 4 mm für den Katheter des linken Atrium.

Nach Aufhängung des Organpräparates in einem gasdichten Äquilibrationsgefäß an den für die Gewichtsregistrierung vorgesehenen Kraftüberträger erfolgte der Anschluss des linksatrialen Katheters an das Perfusionssystem, so dass nun ein geschlossenes Kreislaufsystem entstand. Der Druck im linksventrikulären Ausflusstrakt wurde auf 1,2 - 1,5 mmHg, Referenzpunkt Lungenhilum, festgelegt, um West-Zone III Bedingungen in den endexpiratorischen Phasen zu erzielen. Daraufhin wurde der Expirationsschenkel an eine gewärmte (37° C) Gasmischbox angeschlossen und ein positiver endexpiratorischer Druck (PEEP) von 1-1,5 cm Wassersäule eingestellt .

Nun erfolgte unter Erwärmung des gesamten Systems durch die Umspülung der doppelwandigen Vorrats-Glasbehälter mit erwärmter Flüssigkeit durch eine Thermopumpe (Thermomix UB + Frigomix, Braun, Deutschland) bis zum Erreichen von 37°C eine langsame Steigerung der Perfusionsgeschwindigkeit bis zu 120 ml/min.

Für die Studien wurden ausschließlich Lungen verwendet, die während der künstlichen Perfusion eine homogene weiße Oberfläche, ohne Nachweis von Atelektasen oder Infiltraten aufwiesen. Kranke Versuchstiere wurden ausgeschlossen.

c. Perfusionssystem:

Die Perfusion wurde von einer Rollerpumpe mit pulsatilem Flow (BP 720 Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) gewährleistet, die während der Versuche eine Perfusion von 120 ml/min erbrachte. Nach der Rollerpumpe passierte das Perfusat in der „Auswaschphase“ (Beschreibung im Präparationsteil) eines Versuches einen Pall®-Filter mit einer Porengröße von 40 µm, der nach Beendigung dieser Phase von der Perfusion ausgespart wurde. Eine im Perfusionskreislauf folgende Blasenfalle gewährleistete die Luftblasenfreiheit und damit die Vermeidung pulmonalerarterieller Luftembolien. Der linksatriale Abfluss des Perfusats wurde über ein Kaskadensystem abgeleitet, das eine Widerstandsregulierung ermöglichte.

d. Beatmungssystem:

Die Beatmung erfolgte über einen Harvard-Kleintierventilator (Hugo Sachs Elektronik, March Hugstetten, Deutschland). Die Atemfrequenz lag bei 12 /Minute bei einem Atemzugvolumen von 27-30 ml. Ab dem Zeitpunkt der künstlichen Perfusion fand eine Zumischung von ca. 4% CO₂ zur inspirierten Raumluft statt. Die Expiration wurde über ein PEEP-system abgeleitet. Der eingestellte positive endexpiratorische Druck betrug 1-1,5 cm Wassersäule.

e. Vorrichtungen zur Anwendung der MIGET

Zu Beginn der Äquilibrationsphase wurde die kontinuierliche Infusion der MIGET-Lösung über einen gesonderten Perfusionsschenkel mit einer Geschwindigkeit von 0,3 ml/ min gestartet.

Die Blasenfalle diente nun auch zur besseren Mischung der Lösung mit dem Perfusat. Die pulmonalarteriellen und pulmonalvenösen Proben wurden durch Innenkatheter langsam entnommen.

Der Expirationsschenkel der Beatmung wurde durch eine beheizte Kupferbox geleitet, die eine Durchmischung der Expirationsluft ermöglichte und aus der die Gasproben zur Analyse entnommen wurden.

Zur Äquilibration mit der Umgebungsluft befand sich die Lunge in einem gasdichten Behältnis aus Metalline-Polyester-Aluminiumfolie (Hostaphan, Kalle Folienverarbeitung, Wiesbaden, Deutschland), fixiert an einer Plexiglashalterung mit Ein- und Auslass für die Perfusions- und Ventilationskatheter.

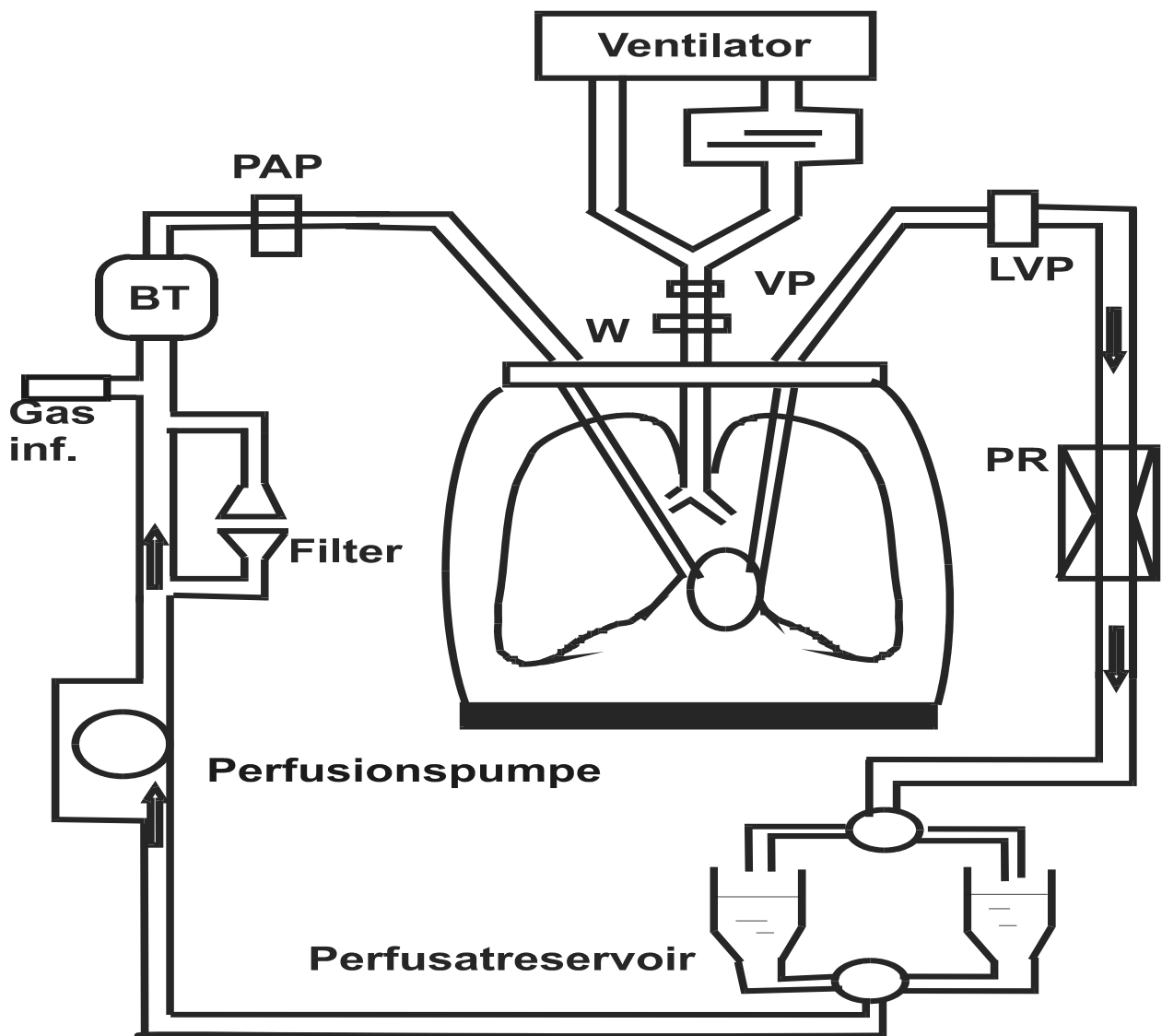


Abb. 3 Schematische Darstellung des isolierten Kaninchenlungenmodells mit Vorrichtung für die MIGET. *PAP* = pulmonaler Druckaufnehmer, *VP* = Beatmungsdruckaufnehmer, *LVP* = Druckaufnehmer für linksatrialen Druck, *W* = Wägezelle, *PR* = pulmonalvenöses Kaskadensystem, *Filter* = Pall®-Filter, *Gasinf* = Infusion der MIGET-gasmischung, *BT* = Blasenfalle. Erläuterungen im Text.

f. Aerosolierungssystem:

Die inhalative Verabreichung der eingesetzten Wirkstoffe erfolgte mit einem Ultraschallvernebler (Pulmo Sonic 5500), der in den Inspirationsschenkel des Beatmungssystems eingebracht wurde (s. Abb. 4). Dieser Vernebler produziert eine Aerosol mit einer mittleren Teilchengröße von $4,5 \mu\text{m}$ bei einer geometrischen Standardabweichung von $2,6 \mu\text{m}$ (Schermuly et al., 1997). Die laserphotometrisch gemessene absolute Aerosoldeposition betrug ca. $25\% \pm 2\%$ (Schmehl et al., 1996). Dieser Wert wurde für die Berechnung der deponierten Aerosolmenge herangezogen.

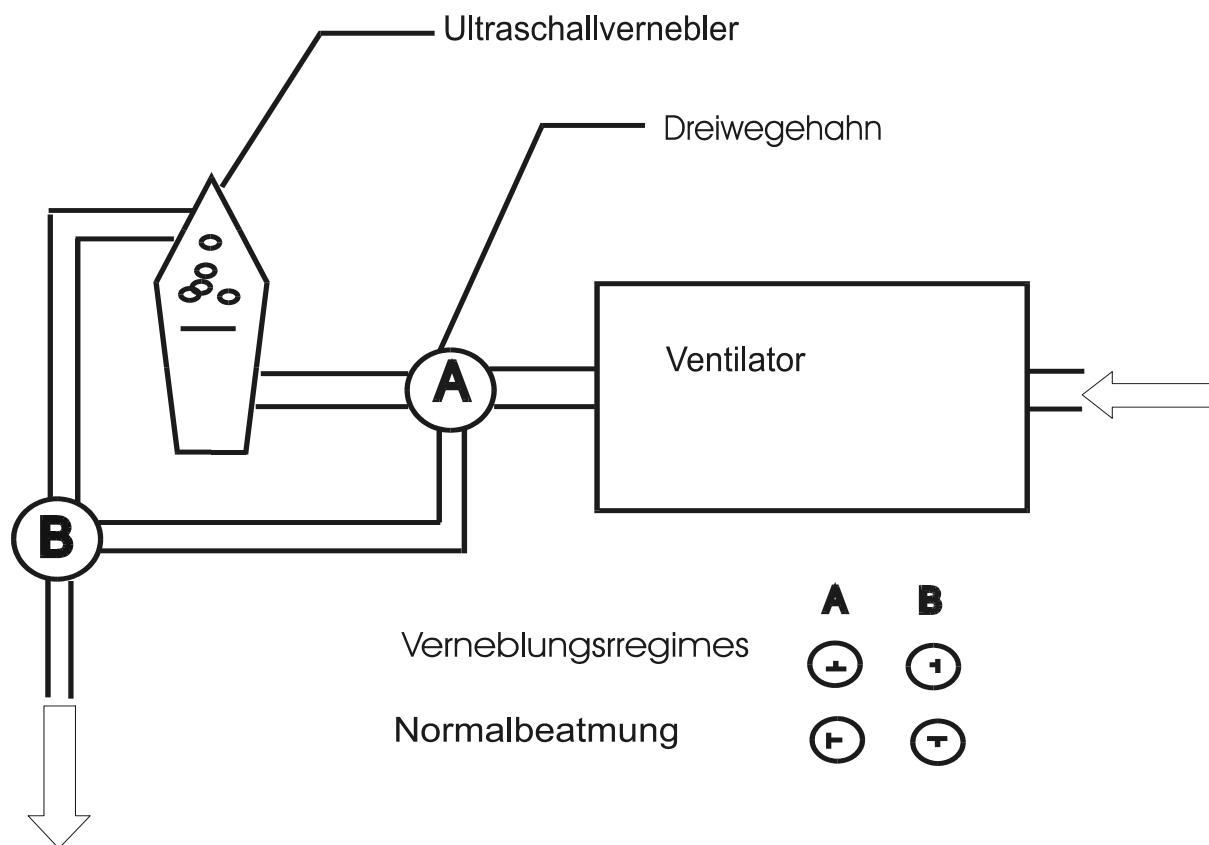


Abb. 4 Schematische Darstellung des Beatmungssystems ergänzt durch die Vorrichtung zur Aerosolierung. Während der „Ruhebeatmung“ wird die Lunge direkt über die Beatmungspumpe ventiliert. Durch Umstellung der Dreiwegehähne wird die Aerosolierung ermöglicht.

g. Registrierung der Parameter

Das relative Lungengewicht wurde mittels Kraftübertragung an einer elektronischen Wägezelle (Hottinger Baldwin Messtechnik) registriert und über einen Einkanal-Schreiber (Rikadenki, Freiburg, Germany) aufgezeichnet.

Die kontinuierliche Aufnahme der Drücke in der Pulmonalarterie, im linken Vorhof und in der Trachea erfolgte mittels dünner Katheter innerhalb der Perfusionskatheter bzw. des Ventilationstubus, die parallel an einen Druckaufnehmer (Single-Use-Pressure-Transducer, Braun, Deutschland) angeschlossen waren. Perfusatproben des pulmonalarteriellen und – venösen Systems konnten jederzeit durch die Innenkatheter entnommen werden.

Die Gewichts- und Druckregistrierung wurde über einen PlugSys DBA Verstärker (Fa. Hugo Sachs) mit Anschluss an einen PC über eine AD-Wandler-Karte (Fa. Decision) realisiert.

h. Modell der U46619-induzierten pulmonalarteriellen Hypertonie an der isolierten Kaninchenlunge

Das Akute Respiratorische Distress Syndrome (ARDS) ist charakterisiert durch pulmonale Hypertension, Entwicklung eines Lungenödems und schwere Ventilations-/Perfusionsstörungen mit besonders starker Entwicklung einer Shuntperfusion (Rossaint et al., 1993, Walmrath et al., 1993). Walmrath konnte 1994 im Falle eines experimentellen ARDS am Modell der isoliert ventiliert und perfundierten Kaninchenlunge dem Arachidonsäuremetaboliten Thromboxan eine wesentliche pathogenetische Relevanz zuweisen. Die kontinuierliche Infusion des Thromboxanmimetikums U46619 ist an der isolierten Lunge eine bewährte Methode, um eine stabile pulmonale Hypertension mit schwerer Ventilations-/Perfusionsstörung und verzögerter Ausbildung eines Lungenödems zu erzeugen (Rimar et al., 1993, 1995, Lindeborg et al., 1995, Walmrath et al., 1997). In ihren Versuchsreihen konnten Walmrath und Mitarbeiter zeigen, dass es durch die kontinuierliche Infusion von U46619 zu einer hauptsächlich präkapillär lokalisierten pulmonalen Druckerhöhung kommt. Anhand der Multiple Inert Gas Elimination Technique (MIGET) konnte gezeigt werden, dass eine Shuntperfusion das vorherrschende Moment der Ventilations-/Perfusionsstörungen war. Diese wies eine strenge Abhängigkeit zur U46619-Infusion auf und war nicht ausschließlich auf das sich entwickelnde Lungenödem zurückzuführen.

2. 2. Die Multiple Inert Gas Elimination Technique: MIGET

a. Theorie

Die MIGET stellt eine etablierte Methode zur exakten Bestimmung des Gasaustausches durch Beschreibung der Ventilations-/ Perfusionsverhältnisse dar und wurde neben der klinischen Anwendung auch am Modell der isolierten Kaninchenlunge etabliert (Walmrath et al., 1992). Unterschiedliche Retentionen und Eliminationen von sechs inerten Gasen unterschiedlicher Löslichkeit (Schwefelhexafluorid (SF_6), Ethan, Cyclopropan, Halothan, Diethylether und Aceton) während der Lungenpassage erlauben die Bestimmung der Gasaustauschverhältnisse. Die durch Wagner et al., 1974 erstbeschriebene Methode der MIGET und die Berechnung unterschiedlicher Ventilations-/Perfusionssysteme nach dem Fortran-Programm beruhen auf der Theorie der Elimination inerter Gase.

Die Lunge wird hierzu in funktionelle Einheiten, sog. Kompartimente unterteilt. Diese den Gasaustausch betreffenden Einheiten bestehen morphologisch aus Alveole und Kapillare. Als dynamische Größen sind die alveoläre Ventilation und die Perfusion sowie die unterschiedlichen Partialdrücke der Gase in Pulmonalarterieole und Kapillare entscheidend. Diese Größen und das Bestreben der Gase sich in unterschiedlichen (gasförmigen und flüssigen) Medien zu verteilen bestimmt das Verhältnis der noch vorhandenen Gase im arterialisierten Blut (Retention) oder deren Zunahme im expirierten Gas (Exkretion) nach Lungenpassage.

Zunächst werden die Überlegungen zur MIGET an einem Kompartiment der Lunge dargestellt.

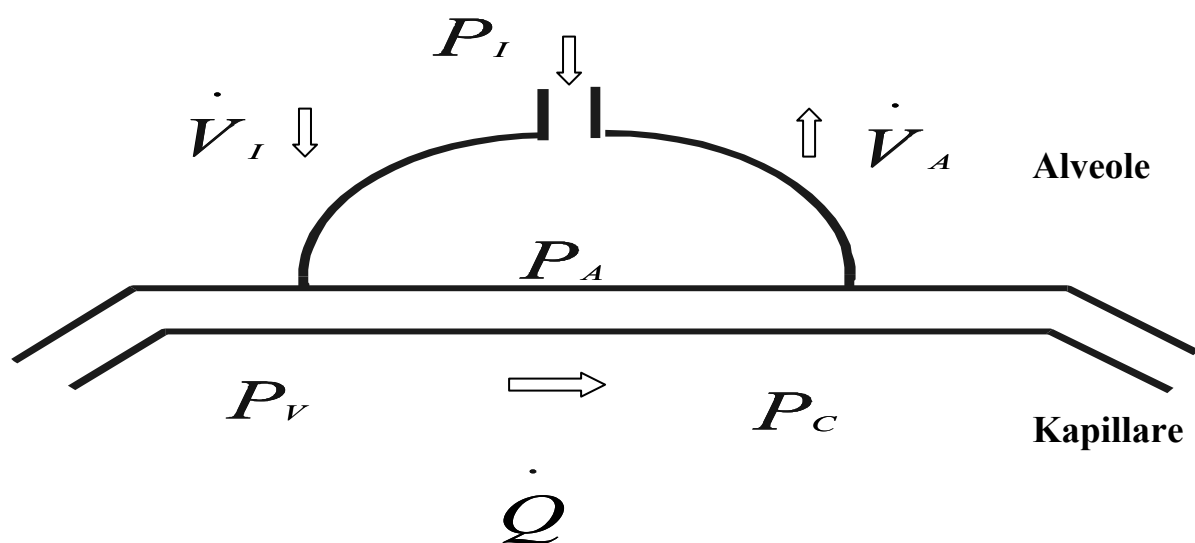


Abb. 5 Schematische Darstellung der Lunge an einem Kompartiment

Erläuterung der Parameter im Text

Betrachtet man die inspiratorische \dot{V}_I und expiratorische alveoläre Ventilation \dot{V}_A , die Perfusion \dot{Q} und die venösen P_V und inspiratorischen Partialdrücke P_I als konstant, so ergibt sich ein Diffusionsgleichgewicht, das identische Partialdrücke in der Alveole P_A und der Endstrecke der Kapillare P_C bringt.

Für die Betrachtung inerter Gase gilt die Gleichung von Fahri (1967) für die Elimination inerter Gase aus der Lunge

$$\frac{P_A}{P_V} = \frac{P_C}{P_V} = \frac{\lambda}{\lambda + \frac{\dot{V}_A}{\dot{Q}}}$$

unter den Voraussetzungen, dass

1. der Gasaustausch der Lunge sich im Gleichgewicht befindet, so dass der Nettotransport von Gas aus der Kapillare in die Alveole gleich der Nettoelimination durch die Expiration ist,
2. das Diffusionsgleichgewicht erreicht ist und dadurch endkapillärer und alveolärer Partialdruck gleichwertig sind,
3. alle Lungenkompartimente Blut mit dem gleichen Hämatokritwert führen,
4. die Lungenuntereinheiten parallel zueinander angeordnet sind und keine Verbindung zwischen ihnen in der In- und Expiration besteht.

Für die weiteren Überlegungen muss die unterschiedliche Verteilung verschiedener Gase in flüssigem und gasförmigem Medium bedacht werden. Der deshalb einzuführende Begriff des Verteilungskoeffizienten λ eines Gases setzt sich aus seiner Löslichkeit [ml/ml x torr] und einer Konstanten k [torr], die sich aus den Grössen Luftdruck und Temperatur in Celsius (T) berechnet, zusammen. Konstante $k = 760 (T + 273)/273$.

In einem Modell mit N Kompartimenten stellt der gemischt arterielle Partialdruck den perfusionsabhängigen Mittelwert aller endkapillärer Partialdrücke dar. Das Verhältnis des arteriellen zum venösen Partialdruck bezeichnet man als Retention (R).

Für inerte Gase gilt also:

$$R \equiv \frac{P_a}{P_v} = \sum_{j=1}^N \frac{\lambda \cdot \dot{q}_j}{\lambda + \dot{V}_A / \dot{Q}_j}$$

Die Retention ist eine experimentell gemessene, also bekannte Größe. Unbekannt sind die Einzelperfusionen q_1 bis q_n .

In der hier angewandten MIGET kommt es zum Einsatz sechs unterschiedlicher Gase.

Bei sechs zu messenden Gasen folgen sechs Gleichungen, die in Retention R und Löslichkeit λ variabel, in den Einzelperfusionen q_j von N Kompartimenten aber übereinstimmen. Dazu darf die Einzelperfusion nicht kleiner Null sein und die Summe aller Einzelperfusionen muss 1 ergeben. Bei der Betrachtung von 50 Kompartimenten und sechs Gasen ergibt sich

$$R = \sum_{i=1}^6 \sum_{j=1}^{50} q_j \left(\frac{\lambda_i}{\lambda_i + \dot{V}_A / \dot{Q}_j} \right)$$

In Matrixschreibweise

$$\begin{pmatrix} R_1 \\ \vdots \\ R_6 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a_{1,1} \dots a_{1,50} \\ \Lambda \quad \Lambda \\ \Lambda \quad \Lambda \\ a_{6,1} \dots a_{6,50} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} q_1 \\ \vdots \\ q_{50} \end{pmatrix}$$

oder

$$R = A q$$

Wobei R der Satz der sechs gemessenen Retentionen ist; A ist die Matrix, also der Satz der alveolären inerten Gasspannung der Kompartimente j ($j=1, \dots, 50$) und den Gasen i ($i=1, \dots, 6$).

Die 50 unbekannt Perfusionen der \dot{V}/\dot{Q} Kompartimente sind im Vektor q vertreten. Diese mengenmäßig definierten Kompartimente sind auf einer logarithmischen Skala in gleichgroße Bereiche aufgeteilt. Damit gehören die 50 \dot{V}/\dot{Q} -werte zu den bekannten Größen.

Nun erfolgt eine Kleinste-Quadrate-Analytik auf die bekannte Retention R und einem Satz von q . Wegen auftretender Fehler verbleibt ein Summe der kleinsten Quadrate. Um die resultierende Verteilung zu stabilisieren und die numerische Analyse zu erleichtern, wird ein Angleichungsfaktor Z eingeführt (Evans und Wagner 1977).

Mit einer Startabschätzung errechnet das Programm die Retention jedes der sechs Gase. Es folgt ein Vergleich mit den gemessenen Retentionen. Nun wird rechnerisch eine Veränderung des Blutflusses vorgenommen um eine Angleichung der errechneten und gemessenen Werte zu erzielen. Dies geschieht bis die kleinste verbleibende Summe der Quadrate erreicht ist. Der nun noch vorhandene Fehler wird in der verbleibenden Summe der Quadrate, der *Remaining Sum of Squares* (RSS), ausgedrückt. Um eine mathematische Korrektheit der ermittelten Werte sicherzustellen, müssen 90% der RSS kleiner/gleich 10,645 und 50% kleiner/gleich 5.348 sein (Wagner et al., 1980).

Die Grenzen der durch diese Methode erfassbaren Ventilations-/Perfusionsbereiche ergibt sich aus den Löslichkeitskoeffizienten des am besten und am schlechtesten in Flüssigkeit löslichen Gases. Die Retentionsberechnungen werden unsensitiv, wenn sich diese Koeffizienten und der Zahlenwert der \dot{V}/\dot{Q} -bereiche um eine Größenordnung unterscheiden.

Daraus folgt, dass SF₆ ($\lambda=0,0024$) sich sehr gut zur Berechnung der „niedrigen“ \dot{V}/\dot{Q} -bereiche eignet, wobei Aceton ($\lambda = 250$) bei der Berechnung der „höheren“ \dot{V}/\dot{Q} -Areale Bedeutung erreicht.

Zusammenfassend errechnet also ein Computeralgorithmus aus den ihm zur Verfügung stehenden Variablen und Konstanten die Retention und Exkretion sechs unterschiedlicher inerter Gase. Die Korrektheit der eigenen Berechnungen überprüft das Programm durch Abgleich mit gemessenen Werten, wobei das Verhältnis zwischen arteriellem und venösem Gasanteil für die Retention und das Verhältnis zum expiratorischen Anteil zum Tragen kommt. Dieser „Qualitätsfaktor“ wird als *Remaining Sum Of Squares* bezeichnet. Anhand dieser Daten erfolgen abschliessend die Berechnungen für die Ventilations-/Perfusionsverteilungen 50 imaginärer Lungenkompartimente.

b. Anwendung der Multiple Inert Gas Elimination Technique an der isolierten Kaninchenlunge

Die Multiple Inert Gas Elimination Technique (MIGET) beruht auf der Elimination und Retention 6 inerter Gase. Diese mussten in gelöster Form kontinuierlich pulmonalarteriell in das Perfusionssystem infundiert werden. Zur Herstellung dieser Infusionslösung wurden 250ml des Perfusats in einen gasdichten Beutel luftblasenfrei abgefüllt. Durch einen Injektstoppfen gab man 0,5 ml flüssiges Halothan in diesen Beutel. Anschließend wurde nach Austausch des Injektstopfens durch einen Dreiwegehahn der Beutel mit einem

Prüfgasgemisch (10 % SF₆ 3.0, 20 % Cyclopropan 2.0 und 70 % Ethan 2.5) gefüllt und das Gas-Perfusatgemisch eine Minute lang kräftig geschüttelt. Dieser Vorgang diente der Lösung der Gase im Perfusat. Danach wurde der Gasüberstand abgespritzt und der Vorgang zweimal wiederholt. Nach vollständiger Entfernung von Gasblasen erfolgte die Injektion von 0,15 ml Diethylether und anschließend 0,7 ml Aceton. Der Perfusatbeutel wurde durch Kneten gemischt und enthielt somit die sechs zu messenden Gase in gelöster Form. Diese Lösung wurde nach dem Perfusatwechsel während der Äquilibrierungsphase der isolierten Lunge kontinuierlich mit 30 ml/h in das System infundiert. In einer Zeitspanne von 30 - 40 min, was gleichzeitig der Beobachtungsphase der Lunge entsprach, stellte sich ein Gleichgewicht zwischen Retention und Elimination dieser Gase ein. Nach dieser Zeit wurden parallel 10 ml Proben des arteriellen und des venösen Perfusats durch gasdichte, zuvor zur besseren Abdichtung heparinisierte, 50 ml Glasspritzen (B-D Yale, Becton, Dickinson & Co, USA) durch die Innenkatheter der Perfusionssysteme entnommen.

Die Glasspritzen der arteriellen und venösen Probe wurden vor und nach der Entnahme gewogen, mit 30 ml Stickstoffgas (ECD- Qualität) überschichtet und bei 38°C im Schüttelwasserbad (135 min⁻¹) für 40 Minuten inkubiert. Diese Äquilibrierungszeit wurde durch Vorversuche ermittelt und ist als ausreichend angesehen (Wagner et al., 1974b, Wagner et al., 1984). In dieser Zeit stellt sich ein von der Löslichkeit des Gases abhängiges Gleichgewicht zwischen gasförmiger und flüssiger Phase ein. Dieses Verhältnis wird als Löslichkeitskoeffizient bezeichnet. Dieser ist abhängig von der Art der Lösung, ihrem Salzgehalt und der Temperatur. Die Löslichkeitskoeffizienten der verwendeten inerten Gase, die von Walmrath ermittelt wurden (Walmrath et al., 1992), reichten von 0,0024 bis 250 (s. Tab.1).

Tab.1: Löslichkeitskoeffizienten der verwendeten inerten Gase

Inertes Gas	Löslichkeitskoeffizient
SF ₆	0,0024
Ethan	0,0259
Cyclopropan	0,16
Halothan	0,64
Diethylether	9
Aceton	250

unlöslich

löslich

Nach Ablauf der Äquilibrierungszeit wurde das Gesamtvolumen der Spritze bestimmt und der Gasüberstand in eine luftdichte, auf 38 °C vorgeheizte 30 ml Glasspritze (B-D Yale, Becton,

Dickinson & Co, USA) überführt. Diese wurde bei 38 °C aufbewahrt und der gaschromatographischen Analyse zugeführt. Sofort nach der Abnahme des arteriellen und des venösen Perfusats erfolgte eine Probenentnahme der Expirationsluft der isolierten Lunge durch eine vorgeheizte 30 ml Glasspritze an einer expiratorischen Gasmischbox. Diese gasförmige Probe wurde sofort auf dem Gaschromatographen analysiert.

Zur gaschromatographischen Analyse von Ethan, Cyclopropan, Halothan, Diethylether und Aceton stand ein Varian 3300 (Varian, USA) mit Flammenionisationsdetektor zur Verfügung. Dieser Detektor analysiert Kohlenwasserstoffverbindungen, indem die aufgebrachten Gase in einer Wasserstoffflamme verbrannt werden woraufhin die entstehenden Ionen ein elektrisches Signal auslösen, das an einen Integrator weitergeleitet und ausgewertet wird. Die Trennsäule des Gerätes war mit Hayesep Q der Größe 80-100 Mesh gefüllt und hatte die Dimensionen 1,5m x 1/8 Zoll x 2 mm.

Die Erfassung der Gase SF₆ und Sauerstoff erfolgte ebenfalls mittels Gaschromatographie. Hierzu wurde ein Elektronenfangdetektor (ECD), Varian 3300 (Varian, USA) eingesetzt. Der ECD besitzt einen Betastrahler (Ni), dessen Elektronenemission kontinuierlich gemessen wird. Durchfließendes Analysegas absorbiert Elektronen, so dass ein Abfall des Elektronenstrahlsignals entsteht. Die resultierende Spannungsänderung wird an einen angeschlossenen Integrator (SP 4290, Spectraphysics, Darmstadt, FRG) weitergeleitet.

c. Auswertung der durch die Multiple Inert Gas Elimination Technique erzielten Werte

Der an die Gaschromatographen angeschlossene Integrator berechnet für jedes der analysierten Gase eine Peakhöhe, die proportional zur Menge in der aufgetragenen Probe ist. Diese Peaks wurden übertragen und zusammen mit einem Korrekturfaktor, der sich aus den Probengewichten und Gasvolumina berechnet in ein Analyseprogramm eingegeben. Dieses, von P. D. Wagner zur Verfügung gestellte Fortranprogramm ermöglicht eine genaue Berechnung von Ventilations-/Perfusionsarealen der Lunge. Weitere hierzu einzugebende Variable sind das Atemminuten- und Herzzeit-, bzw. Perfusatminutenvolumen, sowie Hämoglobin und Hämatokritgehalt. Außerdem ist die Kenntnis und Übertragung der Löslichkeitskoeffizienten der inerten Gase und arterieller und venöser Blutgase mit pH nötig. Nach dieser Eingabe berechnet das Programm Ventilations-/Perfusionsverhältnisse in 50 virtuellen Lungenkompartimenten.

Zur Veranschaulichung wurde ein solcher Originalausdruck einer Grundabnahme (unter Kontrollbedingungen) abgebildet. Auf die Darstellung der einzelnen Ventilations-/Perfusionsverhältnisse der 50 Kompartimente, die hauptsächlich zur graphischen Darstellung

nötig sind, wurde verzichtet. Die markierten Bereiche zeigen die für die Auswertung der Lungenversuche herangezogenen Daten.

Punkt 1 markiert die Eingabe der besprochenen Variablen mit der Anzahl der analysierten Gase mit ihren Löslichkeitskoeffizienten, der auf diesen Koeffizienten einflussnehmende definierte Luftdruck auf Meereshöhe, die Anzahl der zu berechnenden \dot{V}/\dot{Q} - Kompartimente und einen Glättungsfaktor ($Z=40$). Außerdem wurden Areale mit einem $\dot{V}/\dot{Q} > 100$ als „Totraumventilation“, d. h. ventilierte aber nicht perfundierte Anteile, solche mit einem $\dot{V}/\dot{Q} < 0,005$ als „Shuntperfusion“ also ausschließlich perfundierte Anteile definiert.

Punkt 2 zeigt die vom Integrator berechneten Peakhöhen der Gase entsprechend der aufgegeben Proben.

Unter **Punkt 3** folgt die Auflistung der Variablen HZV, Ventilationsvolumen, Körper- und Zimmertemperatur, der arteriellen und venösen Blutgaswerte, des tatsächlichen Luftdrucks und der Probenvolumina und Korrekturfaktoren.

Punkt 4 : aus diesen angegebenen Werten folgt nun eine rechnerische Ermittlung des Ventilations- und Herzzeitvolumens unter.

Zur Abschätzung der Genauigkeit der Berechnung der Retention und Exkretion der Gase wird die *Remainig Sum Of Squares* unter **Punkt 5** angegeben. Bei exakter Berechnung der Ventilations-/Perfusionsverhältnisse liegt hier ein Wert $< 10,645$ (Wagner et al., 1982) vor.

Punkt 6 zeigt die relativen Anteile verschiedener Ventilations-/Perfusionsareale. Die bereits erwähnte Shuntperfusion unter **Punkt 7** beträgt in diesem Fall 0,8%. Areale mit physiologischer Perfusion, aber nur geringer Ventilation und einem resultierenden \dot{V}/\dot{Q} -

quotienten von 0,005 – 0,1 (**Punkt 8**) bezeichnet man als „low- \dot{V}/\dot{Q} ’s“. Solche waren in dieser Abnahme nicht nachzuweisen. Der Hauptteil der Perfusion (92,2%) verteilte sich auf die sogenannten „normal- \dot{V}/\dot{Q} ’s“ (**Punkt 9**), mit einem \dot{V}/\dot{Q} -Verhältnis zwischen 0,1 und 10.

„high- \dot{V}/\dot{Q} ’s“ mit \dot{V}/\dot{Q} - Quotienten zwischen 10 und 100 (**Punkt 10**) fanden sich nicht. Analog zu den Perfusionswerten wurde auch der Ventilationsanteil der \dot{V}/\dot{Q} - Areale angegeben. Hier erfolgte die Aufteilung der Ventilation in „normal - \dot{V}/\dot{Q} - Areale“ und die bereits erwähnte Totraumventilation ($\dot{V}/\dot{Q} = \infty$) ohne Perfusionsanteil (**Punkt 11**), die hier bei 41,5% liegt und den anatomischen und physiologischen Anteil zusammenfasst. Die mittlere Perfusionsverteilung bei **Punkt 12** mit Standardabweichung in **Punkt 13** gibt den Mittelwert der Einzelperfusionen an. Bei zunehmendem Shuntfluss oder „low- \dot{V}/\dot{Q} ’s“ nimmt dieser Mittelwert zu, da die mittlere Perfusion in kleineren \dot{V}/\dot{Q} -Arealen stattfindet. In Folge dessen

steigt die Standardabweichung an. Parallel hierzu sind die mittlere Ventilation (**Punkt 14**) mit Standardabweichung (**Punkt 15**) zu sehen.

```

LABEL FOR DATA SET= Grundabnahme
NUMBER OF RUNS= 1 SEA LEVEL PB= 750.0
# OF GASES= 6; OF COMPTS= 50; Z= 40.00; VQLO= .005; VQHI= 100.0
PARTITION COEFFICIENTS= 2.400E-03 2.590E-02 1.600E-01 6.400E-01 9.000E+00 2.500E+02
-----
                RUN NUMBER      1
ARTERIAL PEAKS      5.1      1.3      9.8      2.2      6.8      5.5
AND GAIN FACTORS    1.0      1.0      1.0      1.0      1.0      1.0
EXPIRED PEAKS      597.5     62.8     95.9     6.3      5.2      3.1
AND GAIN FACTORS    1.0      1.0      1.0      1.0      1.0      1.0
VENOUS PEAKS       541.6     57.7     93.8     7.0      8.5      5.5
AND GAIN FACTORS    1.0      1.0      1.0      1.0      1.0      1.0

VE= 0.38; QT= 0.1; PB= 762.0; SVP,R= 19.8;SVP,B= 48.4;TEMP,B= 37.5
TEMP,R= 22.0;
VGA= 31.50; VBA= 10.50; VHA= .10; VGV =31.40; VBV =10.60; VHV= .10
HB= 15.0; HCRIT= 40.0; PVO2= 46.6; PVC02= 35.8; PHV= 7.39; PI02= 149.9; P50= 27; PAO2= 110.0;
PACO2= 40.0; PHA=7.4
ALTITUDE CORRECTION FACTOR FOR EXPIRED GAS VALUES= 1.017

PA, PE, AND PV ALL MEASURED IN THIS SET

          SF6          ETHANE          CYCLO          ENFLUR          ETHER ACETONE
SOLUBILITY    .00034          .00369          .02280          .09122          1.28272 35.63117
PART COEFF    .00240          .02590          .16000          .64000          9.00000 250.00000
MEASURED R    .00954          .02281          .10574          .31758          .80256 1.00024
MIN VAR R     .00947          .02261          .10573          .31787          .85515 .99399
MEASURED E    .00091          .00959          .05326          .16236          .46484 .56133
ASSOCIATED E  .00088          .00942          .05325          .16248          .48520 .55954
WEIGHTS (R)   1345.46 4      263.709         219.503         40.115         115.840 1856.624
PREDICTED QT  1.464          1.452          1.426          1.424          1.002 -36.482

GIVEN MINUTE VENTILATION      0.38      MEAN FICK CARDIAC OUTPUT = 0.11

SET NUMBER : 1 FROM FILE: Grundabnahme

FITTING A BLOOD FLOW DISTRIBUTION TO RETENTIONS

NUMBER OF GASES = 6
NUMBER OF VA/Q COMPARTMENTS = 50
SMOOTHING COEFFICIENT Z = 40.00

          GAS          SOL          PC          R          E
          1          .00034          .00240          .00947          .00088
          2          .00369          .02590          .02261          .00942
          3          .02280          .16000          .10573          .05325
          4          .09122          .64000          .31787          .16248
          5          1.28273          9.00000          .85515          .48520
          6          35.63131          250.00000          .99399          .55954

          PC          RETENTIONS          BEST FIT          ERROR          RAW DATA
          .0024          12.746          12.514          .231          .00947
          .0259          5.962          6.775          -.814          .02261
          .1600          23.208          23.858          -.650          .10573
          .6400          12.750          12.483          .267          .31787
          9.0000          99.060          98.727          .333          .85515
          250.0000          1845.454          1844.837          .617          .99399
          .0000          20000.000          20000.060          -.057          1.00000

REMAINING SUM OF SQUARES = 1.70E+00

RANGE          BLOOD FLOW          VENTILATION
  
```

VA/Q	OF ZERO		.008	ZERO	←	7
VA/Q	RANGE	0 TO .01	.000	.000	←	8
VA/Q	RANGE	.01 TO .1	.000	.000		
VA/Q	RANGE	.1 TO 1.	.214	.070	←	9
VA/Q	RANGE	1 .0 TO 10.	.779	.515		
VA/Q	RANGE	10. TO 100	.000	.000	←	10
VA/Q	OF INFINITY	ZERO		.415	←	11
MEAN OF Q DISTN = 1.49						← 12
STANDARD DEVIATION OF BLOOD FLOW = .40						← 13
SKEWNESS OF BLOOD FLOW = .01						
MEAN OF V DISTN = 1.74						← 14
STANDARD DEVIATION OF VENTILATION = .40						← 15
SKEWNESS OF VENTILATION = -.01						

Abb. 6 : Ausgabedatei des Fortran Programmes „VQDIST“ von P. D. WAGNER bei einer Grundabnahme in Ruhebedingungen am Modell der isoliert ventilerten und perfundierten Kaninchenlunge

Aus diesem Beispiel gehen die weitgehend physiologischen Ventilations-/Perfusionsverhältnisse in Ruhebedingungen am Modell der isolierten Kaninchenlunge hervor. In der graphischen Darstellung (Abb. 7) ist die Homogenität der Verteilung verdeutlicht.

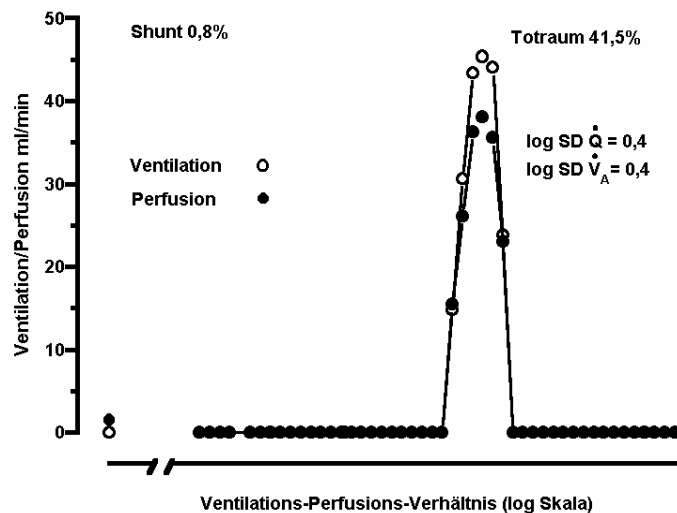


Abb. 7 graphische Darstellung der durch die MIGET-Methode gewonnenen Ventilations- und Perfusionsdaten unter Kontrollbedingungen

Es erfolgt die Perfusion gut ventilierter Bereiche zur Optimierung des pulmonalen Gasaustausches in „normal- \dot{V}/\dot{Q} -Arealen“. Dies geschieht unter nur geringfügiger

Shuntperfusion und ausbleibender Perfusionsverteilung in „high- \dot{V}/\dot{Q} ‘s“, bei Ausschluss schlecht ventilierter Areale („low \dot{V}/\dot{Q} ‘s“).

3. Statistischer Vergleich

Ausgewertet wurden der hämodynamische Parameter pulmonalarterieller Druck (PAP), linksventrikulärer (LVP) und Beatmungsdruck (VP), die relative Gewichtszunahme und die Ventilations-/ Perfusionsparameter. Alle Versuchsgruppen wurden untereinander auf signifikante Unterschiede untersucht.

Die Messwerte wurden zu den Zeitpunkten $t = 0, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150$ verglichen. Referenzpunkte zum statistischen Vergleich stellten die Lungen dar, die ausschließlich mit U46619 getestet wurden. Zusätzlich wurde die hämodynamische Entwicklung in den Aerosolgruppen zu den Zeitpunkten $t = 35$ und 40 verglichen. Die erzielten Maximaleffekte der Hämodynamik in den Versuchsgruppen wurden unabhängig vom Beobachtungszeitpunkt untereinander verglichen und nochmals statistisch ausgewertet. In den tabellarisch und graphisch dargestellten Ergebnissen wurde der statistische Vergleich mit den U46619-Kontrollungen angegeben.

Als statistischer Test diente der *students paired t-test* und als statistisch signifikant galten Werte mit $p < 0,05$, sehr signifikant $< 0,01$ und extrem signifikant $< 0,001$.

III. Experimenteller Teil

1. Untersuchungen zur Beeinflussung der Hämodynamik, des Gasaustausches und der Ödementwicklung in der U46619-induzierten pulmonalen Hypertonie

Zur Untersuchung der Effekte des dualen 3/ 4- PDE-Inhibitor Zardaverin alleine, oder in Kombination mit den Prostanoiden auf Hämodynamik, Gasaustausch und Lungenödementwicklung in der experimentell erzeugten pulmonalen Hypertonie wurden folgende Fragestellungen formuliert:

1. Ist eine Beeinflussung durch die systemische Verabreichung des dualen 3/ 4- PDE-Inhibitor Zardaverin möglich und besteht eine Dosis-/ Wirkungsbeziehung ?
2. Unter Betrachtung der Hämodynamik, der Ödementwicklung und der Ventilations-/ Perfusionsparameter:
 - a. Gelingt eine Beeinflussung der beobachtbaren Parameter unter der Aerosolierung von PGI₂ bzw. seinem stabilen Analogon Iloprost. Wie unterscheiden sich die erreichten Effekte?
 - b. Gelingt die Wirkungsverstärkung von inhaliertem Prostazyklin oder seinem stabilen Analogon Iloprost durch die Ko-Applikation mit einer Unterschwellendosis von Zardaverin?
 - c. Wie unterscheiden sich die Effekte von inhaliertem Prostazyklin und Iloprost in Anwesenheit von Zardaverin ?

Zur Aufklärung wurden folgende Versuchsgruppen definiert:

- *Kontrollgruppe, n=4* :
Es wurden keine Interventionen unternommen.
- *U46619-Lungen, n=6* :
Nach Ablauf der Beobachtungsphase wurde U46619 nach individueller Titration kontinuierlich infundiert, um einen pulmonalarteriellen Druckanstieg und ein nachfolgendes Druckplateau von 32-34 mmHg zu erreichen. Zur Herstellung einer Stammlösung wurden zunächst 37,5 µg U46619 (Sigma, Deishofen, Deutschland) in DMSO (Dimethylsulfoxid, Merck) aufgelöst, mit 30 ml Perfusat verdünnt und in eine Perfusorspritze (Fa. Braun) aufgezogen.

Über einen gesonderten Perfusionsschenkel vor der Blasenfalle wurde die U46619-Lösung mittels einer Perfusorpumpe (Fa. Braun) in das System infundiert. Die perfundierte U46619 - Menge wurde durch Wiegen der Perfusionspritze vor und nach dem Versuch berechnet und betrug 70 bis 180 $\text{pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

- *U46619-Lungen mit Zardaverindosiswirkungskurve, n=4 :*

Bei kontinuierlichem Druckverlauf unter U46619 über 15 Minuten erfolgte die Applikation steigender Dosen Zardaverin (0,2 μM , 2 μM und 20 μM , kumulativ). Die Registrierung der Hämodynamik und des relativen Lungengewichtes wurde 15 Minuten nach Applikation vorgenommen. Hierzu wurde Zardaverin (6-Difluormethyl-3-methoxyphenyl-3-(2H)-pyridazon) (Byk Gulden GmbH, Konstanz, Deutschland) mit einem Molekulargewicht von 268,3 g/mol zunächst in DMSO (Dimethylsulfoxid, Merck, Deutschland) aufgelöst, mit NaCl 0,9% weiter verdünnt und in 1ml Aliquots max. 14 Tage aufbewahrt, verwendet. Die intravenöse Verabreichung erfolgte als Bolusgabe in den Perfusatvorratsbehälter.

- *U46619-Lungen mit Zardaverin in Unterschwellendosis, n=5 :*

Bei kontinuierlichem Druckverlauf unter U46619 über 15 Minuten folgte die Applikation von 0,2 μM Zardaverin in die Perfusatlösung.

- *U46619-Lungen mit PGI₂- Aerosol über 15 min, n=5 :*

Bei kontinuierlichem Druckverlauf unter U46619 über 15 Minuten, folgte die Applikation des PGI₂-Aerosols über 15 Minuten. Zur Herstellung der zu inhalierenden Lösung wurde PGI₂ (Epoprostenol Flolan, Wellcome London, England) im mitgelieferten Glycinpuffer gelöst und mit NaCl 0,9% bis zu einer Konzentration von 1,2 $\mu\text{g/ml}$ weiter verdünnt. Nach Einsetzen des Ultraschallverneblers (Pulmo Sonic 5500) in den Inspirationsschenkel der Beatmung erfolgte die 15 minütige Aerosolierung 30 Minuten nach Start der U46619-Infusion. Der Vernebler wurde vor und nach der Aerosolierung gewogen und so die eingesetzte Medikamentenmenge berechnet. Die eingesetzte PGI₂ - Dosis betrug 58,5 bis 67,2 ng/kg min.

- *U46619-Lungen mit PGI₂- Aerosol über 15 min und Zardaverin, n=4 :*

Bei kontinuierlichem Druckverlauf unter U46619 über 15 Minuten folgte die Applikation von 0,2 μM Zardaverin und des PGI₂-Aerosols über 15 Minuten.

- *U46619-Lungen mit Iloprost - Aerosol über 15 min, n=6:*

Bei kontinuierlichem Druckverlauf unter U46619 über 15 Minuten folgte die Applikation des Iloprost-Aerosols über 15 Minuten. Die Herstellung der Inhalationslösung erfolgte durch Verdünnung von Iloprost (Ilomedin Schering AG, Berlin, Deutschland) mit NaCl

0,9% bis zu einer Konzentration von 1,2 µg/ml. Zur Aerosolierung und Bestimmung der vernebelten Menge wurde entsprechend dem PGI₂ – Aerosol verfahren. Die eingesetzte Iloprost-dosis betrug 87 +/- 10 ng/kg min.

- *U46619-Lungen mit Iloprost – Aerosol über 15 min und Zardaverin, n=4*

Bei kontinuierlichem Druckverlauf über 15 Minuten, folgte die Applikation von 0,2 µM Zardaverin und des Iloprost–Aerosols über 15 Minuten.

2. Standardisierte Vorgänge

In allen Versuchsgruppen wurden die hämodynamischen Parameter und das relative Lungengewicht kontinuierlich registriert. Außerdem erfolgte in allen Gruppen außer der *Kontrollgruppe* und der *U46619-Lungen mit Zardaverindosiswirkungskurve* die Messung der Ventilations-/ Perfusionsverhältnisse mittels der MIGET. Die Probenentnahme für die MIGET erfolgte als Grundabnahme vor Intervention und 30, 45, 60, 90, 120 und 150 Minuten nach Beginn der U 46619 – Infusion. Zu diesen Zeitpunkten wurden auch Vergleiche der übrigen Parameter angestellt.

IV. Ergebnisse

1. Vergleichszeitpunkte

Der „Ruhezeitraum“ (steady state) endet mit dem Start der U46619-Infusion. Dieser Beginn der U46619-Infusion definiert in allen Versuchen den Zeitpunkt „ $t=0$ “.

In den Versuchsgruppen ohne Aerosolintervention beziehen sich alle Zeitangaben auf den Start der U46619-Infusion, dies ist der „U46619-Beobachtungszeitraum, (t)“.

In den Aerosolgruppen ist zusätzlich ein „Beobachtungszeitraum post Aerosolstop, (t')“ eingeführt, der sich auf das Ende der Verneblung bezieht und so eine gesonderte Vergleichsmöglichkeit dieser Gruppen schafft. Da die Inhalation alle ab Minute 30 nach U46619 Start begonnen und für die Zeitdauer von 15 Minuten beibehalten wurden, entspricht der Beobachtungszeitraum „post Aerosolstop“ dem U46619-Beobachtungszeitraum minus 45 Minuten ($t' = t - 45 \text{ min}$). s. Tab. 2

Der Beobachtungszeitraum unter U46619-Infusion [t] wurde auf 150 Minuten festgelegt. Dies war der Zeitraum, nachdem ein signifikantes Maß der Schädigung der U46619-Lungen durch irreversible Ödembildung zu erwarten war. Bei anhaltender Medikamentenwirkung über den angestrebten Beobachtungszeitraum hinaus wurde eine Fortdauer der Versuche bis zum Nachlassen der beobachtbaren Auswirkungen angestrebt. Dies war in der Versuchsgruppe U46619-Lungen mit Iloprostaaerosol und Zardaverin bis zu dem Beobachtungszeitpunkt $t = 240 \text{ Min}$ nötig.

Tab. 2 Vergleich der Zeitangaben, Erläuterung im Text

U46619- Beobachtungszeitraum, t [Min]	45	60	75	90	120	150	180	210	240
post Aerosolstop- Beobachtungszeitraum, t' [Min]	0	15	30	45	75	105	135	165	195

2. Kontrollversuche unter Ruhebedingungen:

Die registrierten PA-Drücke lagen in der Ruhephase stets zwischen 6 und 11 mmHg.

Bei regelmäßigen Kontrollen der Baselinebedingungen registrierte man einen konstanten Verlauf der Druck- und Gewichtsverhältnisse, sowie der Ventilations-/ Perfusionsparameter für 30 - 40 Minuten. Bei Beibehaltung dieser Ruhebedingungen waren Kontrollversuche

(Abb. 8) bis 6h ohne relevante Veränderung der Druck-, Gewichtsverhältnisse und der Ventilations-/ Perfusionsparameter möglich. Siehe Tabelle im Anhang.

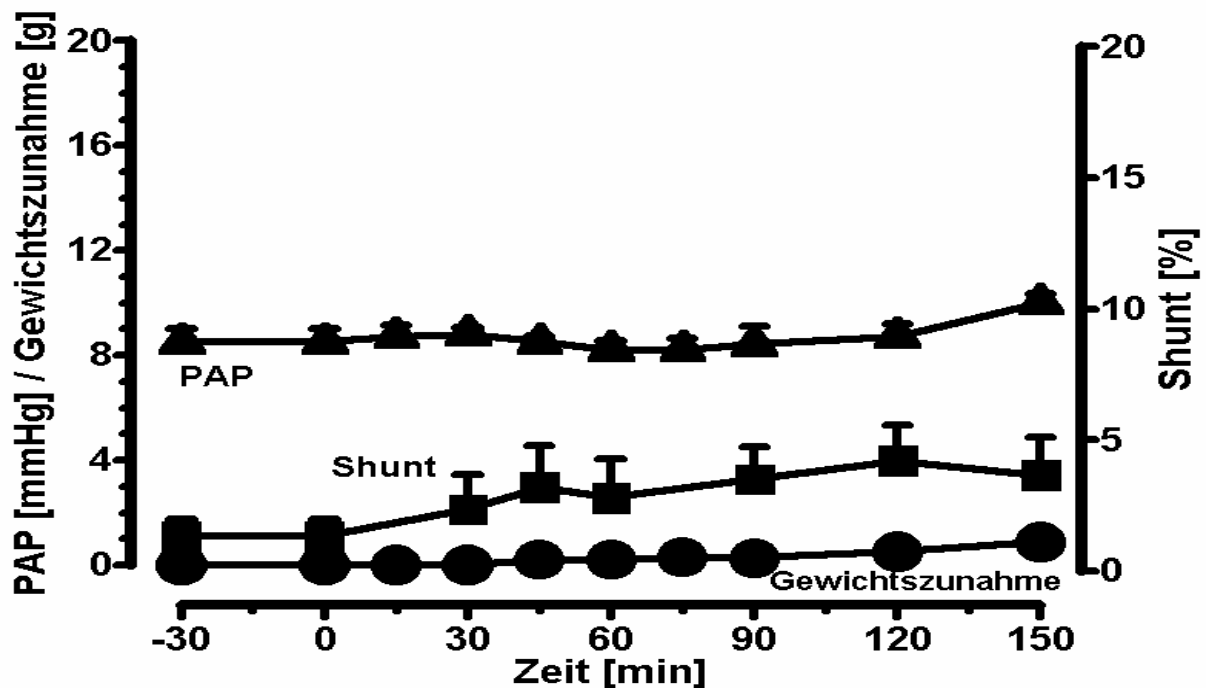


Abb. 8 Kontrollversuche. Unter Darstellung von PAP, Gewicht und Shuntperfusion; Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text

3. Einfluss einer U46619-Infusion auf :

a) den pulmonalarteriellen Druck :

Nach 15 Minuten der U46619 - Titration wurde das angestrebte Plateau der pulmonalarteriellen Druckerhöhung von 8 ± 2 auf $35,6 \pm 1,6$ mmHg erreicht und für den folgenden Beobachtungszeitraum beibehalten. Unter der U46619-Infusion kam es über den gesamten Zeitraum zu einem graduellen spontanen Druckabfall auf ca 30 mmHg nach 150 Minuten. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 9, 19, 20, 21, 22.

b) den Gewichtsverlauf:

Bereits 45 Minuten nach U46619 Start [$t=45$] stieg das Gewicht signifikant ($p<0,05$) gegenüber der Kontrollgruppe an. Unter kontinuierlicher Gewichtszunahme kam es am Ende des Beobachtungszeitraumes [$t=150$] zu einer Gesamteinlagerung von $17,1 \pm 2,2$ g. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 9, 27.

c) den Gasaustausch :

Die \dot{V}/\dot{Q} -Verhältnisse in den Grundabnahmen unterschieden sich nicht signifikant von den Kontrolllungen. Unter U46619-Infusion kam es zu einer deutlichen Fehlverteilung der \dot{V}/\dot{Q} -Verhältnisse. So konnte eine deutliche Zunahme des Shuntflusses registriert werden, der bereits nach 30 Minuten signifikant war und bei $t=150$ 58,4 +/- 5,82 % der gesamten Perfusion ausmachte. Außerdem kam es zu einer Zunahme der „low \dot{V}/\dot{Q} - Areale“ mit einem Anteil von 0,25 +/- 0,25 % der Perfusion bei $t=150$. Zusätzlich bildeten die Lungen „high \dot{V}/\dot{Q} - Anteile“ aus, die bei $t=150$ 2,75 +/- 0,65 % betragen. Daraus resultierend kam es zu einer Abnahme der „normal \dot{V}/\dot{Q} - Areale“ auf 51,4 +/- 16,25 % bei $t=150$.

Im Zeichen der Umverteilung der Ventilations-/Perfusionsverhältnisse kam es auch zu einer deutlichen Abnahme der mittleren Perfusion (mean of Q) während des Beobachtungszeit. Zu Beginn war diese 1,02 +/- 0,04 und nach 150 Minuten 0,7 +/- 0,07. Analog hierzu stieg die Standardabweichung der mittleren Perfusion (log SD_Q) 1,29 +/- 0,04 bei $t=150$ und Ventilation (log SD_V) 1,59 +/- 0,02. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 9, 23, 25.

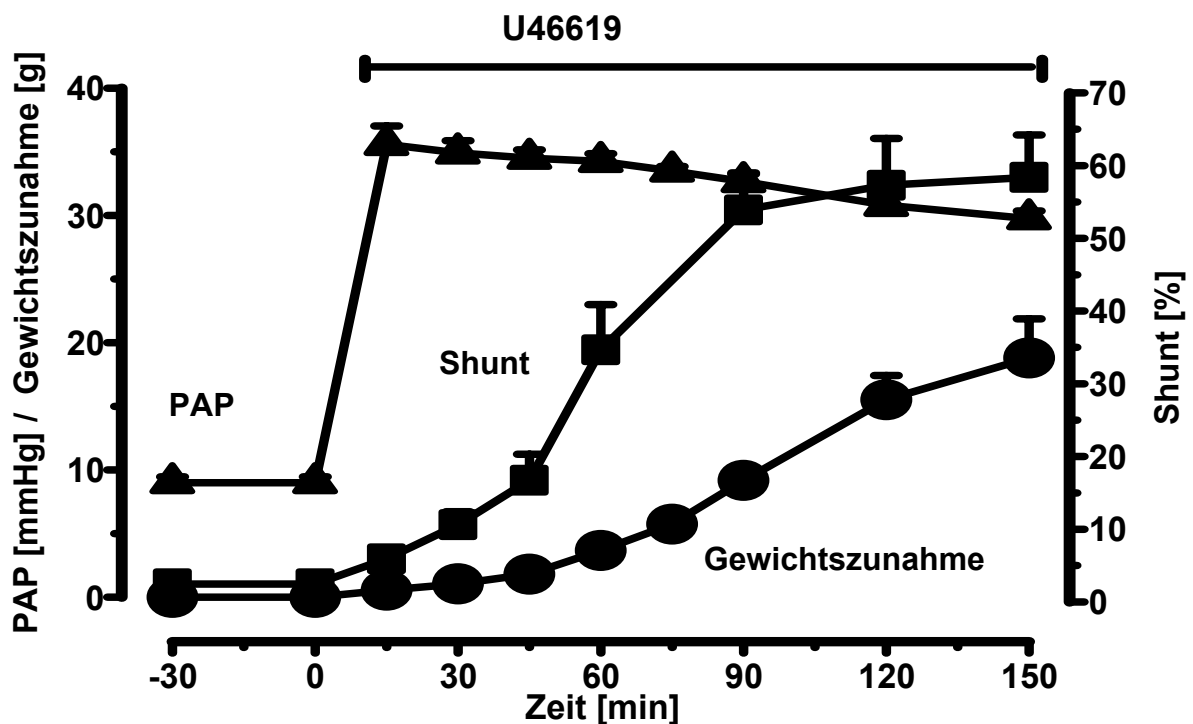


Abb. 9 Einfluss von U46619 auf die Entwicklung von PAP, Gewicht und Shuntperfusion; Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text

4. Dosiswirkungskurve des PDE-Inhibitors Zardaverin auf die U46619-induzierte pulmonale Hypertonie:

30 Minuten nach Start der U46619-Infusion wurde Zardaverin in steigender kumulativer Konzentration dem Perfusat zugegeben. Unter steigender Zardaverindosis (0,2 μ M, 2 μ M und 20 μ M) konnte ab einer Dosis von 2 μ M eine signifikante ($p < 0,05$) PA-Drucksenkung erzielt werden. Bei einer Konzentration von 0,2 μ M wurde keine statistisch signifikante Auswirkung auf die Hämodynamik registriert. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 10.

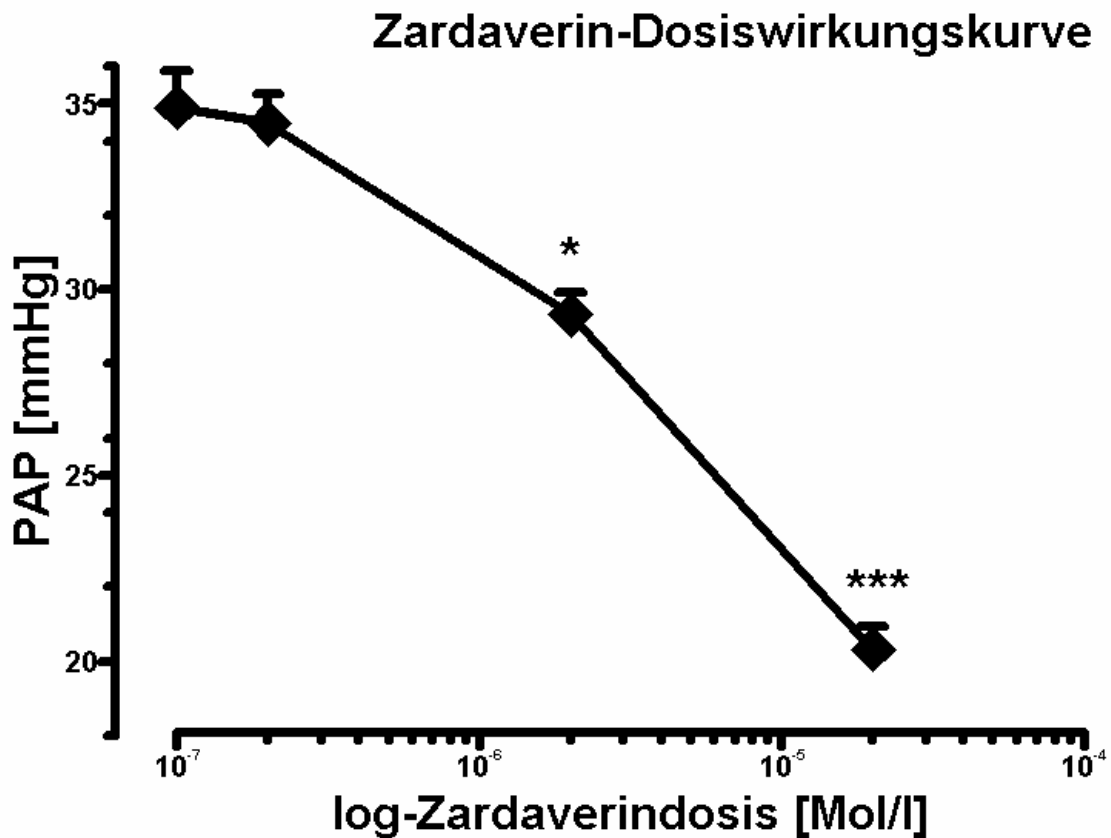


Abb. 10 Zardaverin-Dosiswirkungskurve auf den PAP unter U46619-Applikation. Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. * = $p < 0,05$, *** = $p < 0,001$.

Erläuterungen im Text

5. Einfluss von Zardaverin in Unterschwellendosis auf

a) die U46619 induzierte pulmonale Hypertonie:

30 Minuten nach Start der U46619-Infusion wurde bei stabilem PAP-Niveau von 35,78 +/- 1,17 mmHg der PDE-Inhibitor Zardaverin in einer Konzentration von 0,2 µM in das Perfusat gegeben. Über den gesamten Beobachtungszeitraum von 150 Minuten war keine signifikante Änderung des PAP-Plateaus gegenüber den U46619-Lungen zu beobachten. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 11, 19, 20, 21, 22.

b) den Gewichtsverlauf unter U46619 - Infusion:

Nach Zugabe von 0,2 µM Zardaverin konnte während des gesamten Beobachtungszeitraumes kein signifikanter Unterschied im Verhalten des Gewichtsanstieges vergleichend zu den U46619 – Lungen registriert werden. Nach 150 Minuten betrug die Gewichtseinlagerung 15,05 +/- 1,77g. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 11, 27.

c) den Gasaustausch unter U46619 - Infusion:

Nach Zugabe von 0,2 µM Zardaverin kam es zu einem deutlichen Missverhältnis der Ventilations-/Perfusionsverhältnisse ohne signifikante Unterschiede der Parameter zu den U46619 Kontrollen. Nach 150 Minuten wurde die maximale Fehlverteilung mit einer Shuntperfusion von 54,94 +/- 3,9 und konsekutiver Abnahme der *mean of Q* auf 0,99 +/- 0,16 und zunehmender *log SD_Q* 1,13 +/- 0,08 erreicht. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 11, 23.

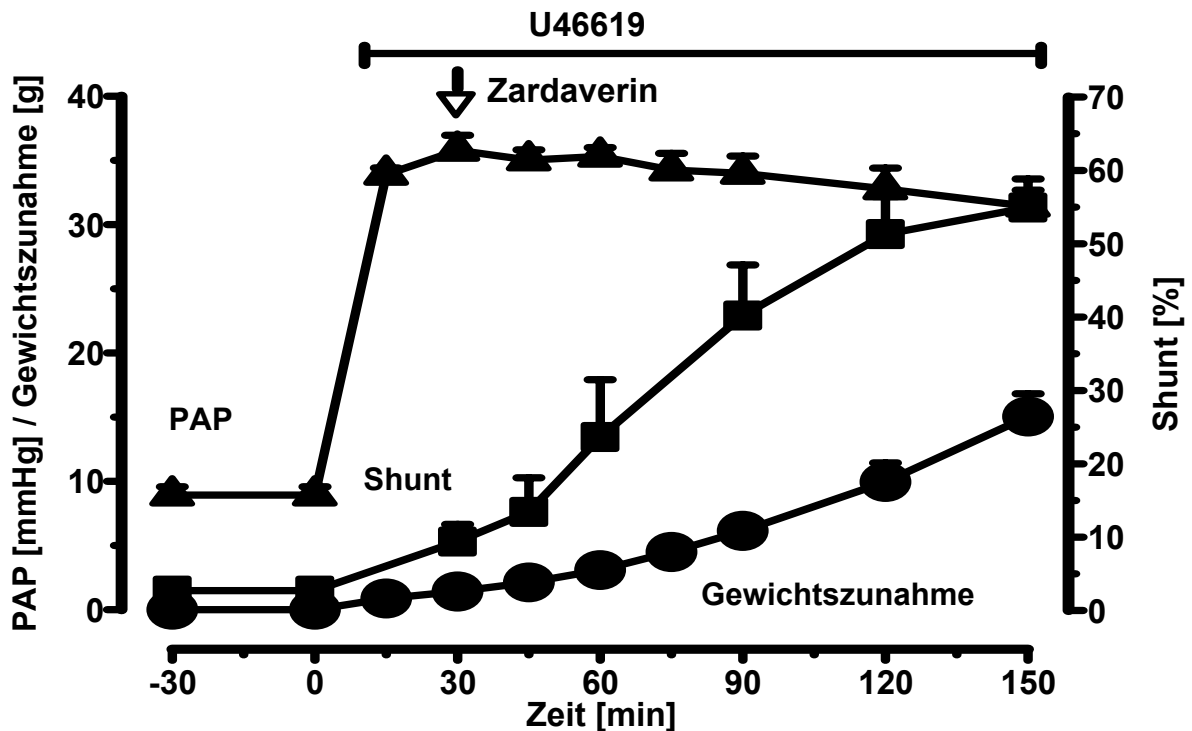


Abb. 11 Einfluss von 0,2 µM Zardaverin unter U46619-applikation auf die Entwicklung von PAP, Gewicht und Shuntperfusion. Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text

6. Einfluss von aerosolisiertem PGI₂ auf

a) den pulmonalarteriellen Druck unter U46619 - Infusion:

Der PAP konnte bereits 5 Minuten nach Aerosolstart [$t=35$ Min] signifikant ($p<0,01$) zu den U46619-Lungen gesenkt werden. Der Effekt war bis 30 Minuten nach Aerosolende [$t=75$ Min] noch signifikant ($p=0,01$). Die maximal nachzuweisende Drucksenkung [$t=60$] betrug ca. 6,5 mmHg, entsprechend $\approx 19,5$ % des zu vergleichenden U46619 - Niveaus. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 12, 19, 20, 21, 22.

b) den Gewichtsverlauf unter U46619 - Infusion

Unter Aerosolierung von PGI₂ und im Beobachtungszeitraum danach konnte kein signifikanter Unterschied im Verhalten des Gewichtsanstieges vergleichend zu den U46619-Lungen beobachtet werden. Tendenziell konnte aber eine Verminderung des maximalen Lungengewichts am Ende des Beobachtungszeitraumes nach 150 Minuten 11,9 +/- 0,3 g gesehen werden. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 12, 27.

c) den Gasaustausch unter U46619 - Infusion

45 Minuten nach Beendigung der Verneblungsphase von PGI₂ [t=90] konnte eine signifikant (p < 0,05) niedrigere Shuntperfusion von 30,25% +/- 4,55 gegenüber 53,92% +/- 6,23 bei den U46619 Lungen erzielt werden. Die übrigen Parameter zeigten keine signifikanten Unterschiede. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 12, 23.

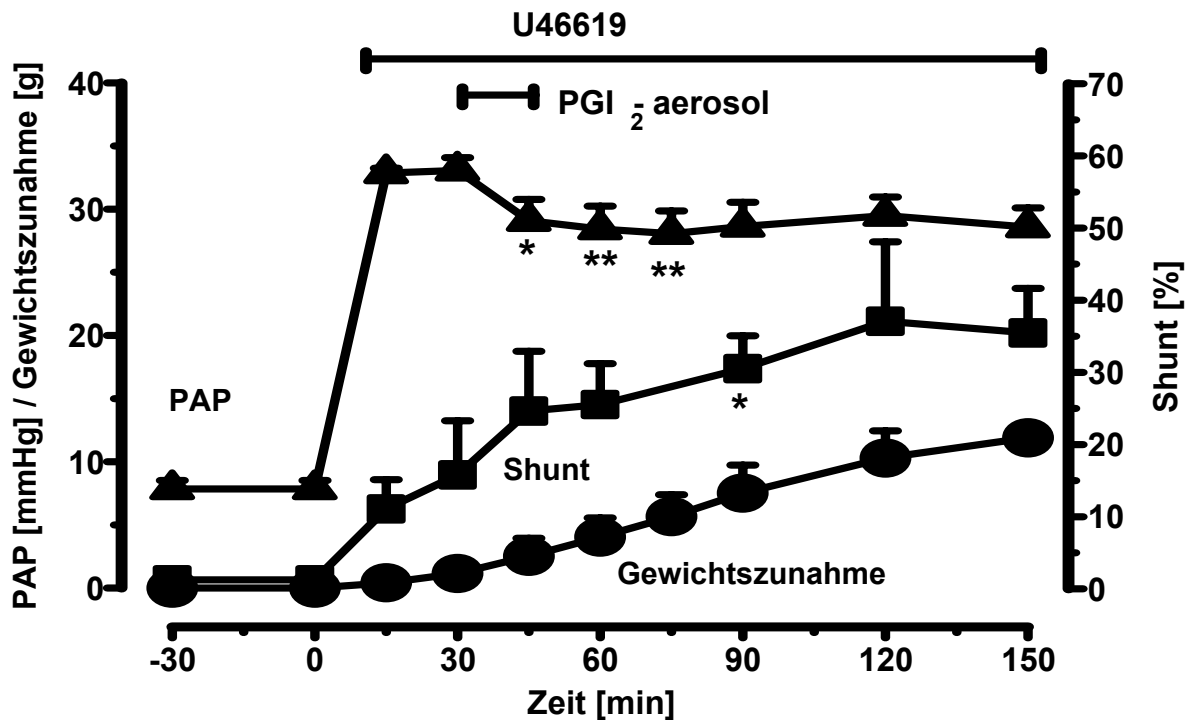


Abb. 12 Einfluss von PGI₂-Aerosol unter U46619 - Applikation auf die Entwicklung von PAP, Gewicht und Shuntperfusion. Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. * = p < 0,05 , ** = p < 0,001 . Erläuterungen im Text.

7. Einfluss von aerosolisiertem PGI₂ mit Zardaverin auf

a) den pulmonalarteriellen Druck unter U46619 - Infusion:

30 Minuten nach Start der U46619-Infusion wurde PGI₂ in einer Dosis von 75 +/- 10 ng/kg min über 15 Minuten vernebelt. Zeitgleich mit dem Aerosolstart wurde Zardaverin in einer Konzentration von 0,2 µM in das Perfusat gegeben. Bereits 5 Minuten nach Beginn des Aerosols [t=35 Min] konnte eine sehr signifikante Drucksenkung (p < 0,001) vergleichend zu den U 46619-Lungen registriert werden. Von t = 40 bis 75 waren diese Effekte extrem signifikant (p ≤ 0,0005). 45 Minuten nach Aerosolende [t=90 Min] zeigte sich noch eine sehr signifikante PA-Drucksenkung, die danach nicht mehr registriert wurde.

Die zu registrierende maximale Drucksenkung [t = 45] betrug ca. 6,7 mmHg, entsprechend ≈ 19,3 % des zu vergleichenden U 46619 - Niveaus. Dies ist nicht signifikant unterschiedlich

zu den U46619 – Lungen + PGI₂ –Aerosol. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 13, 19, 20, 21, 22.

b) den Gewichtsverlauf unter U46619 - Infusion:

Unter Aerosolierung von PGI₂ und Zugabe von 0,2 µM Zardaverin und im Beobachtungszeitraum danach konnte kein signifikanter Unterschied im Verhalten des Gewichtsanstieges vergleichend zu den U46619 – Lungen gesehen werden. Allerdings zeigte sich auch hier eine verminderte maximale Gewichtseinlagerung nach 150 Minuten 11,07 +/- 2,26g. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 12, 27.

c) den Gasaustausch unter U46619 - Infusion:

45 [t=90] und 75 [t=120] Minuten nach Beendigung des PGI₂-Aerosol konnte eine signifikant (p < 0,05) verminderte Shuntperfusion gegenüber den U46619 – Lungen verzeichnet werden. Die übrigen Parameter zeigten keine signifikanten Unterschiede. Ohne statistische Signifikanz blieb auch eine Zunahme von low - \dot{V}/\dot{Q} - Anteilen nach 150 Minuten auf 2,93 +/- 2,61 %. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 12, 23.

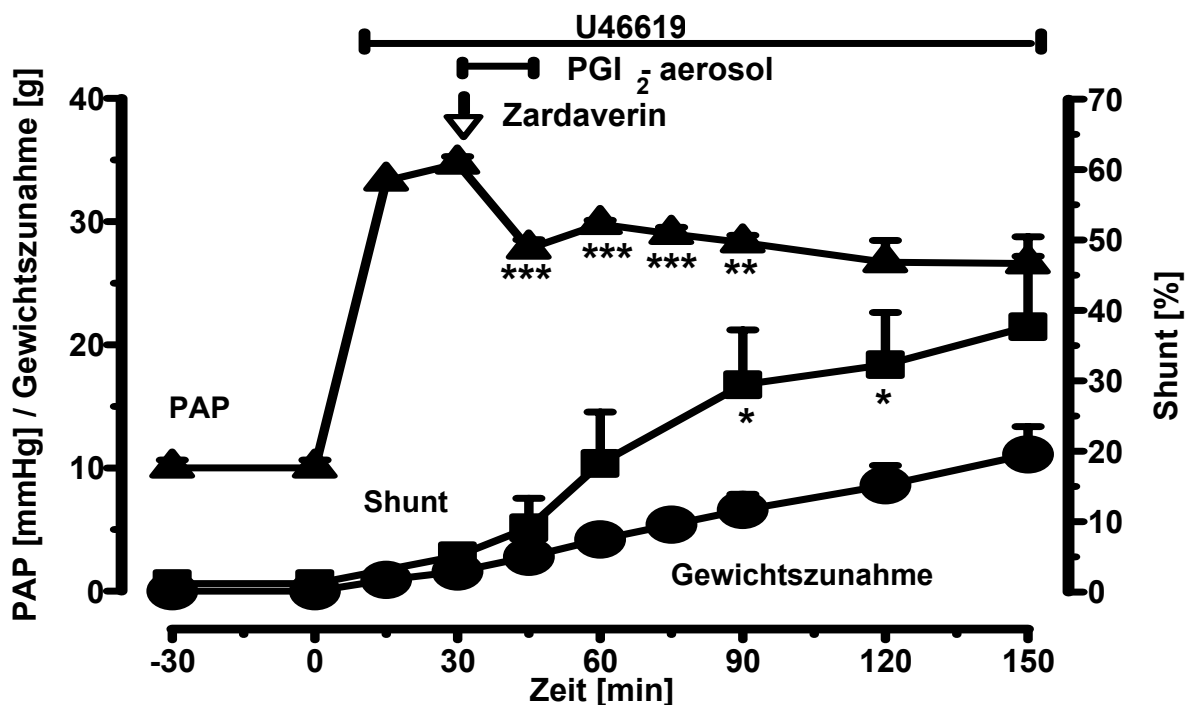


Abb. 13 Einfluss von PGI₂-aerosol + 0,2 µM Zardaverin unter U46619-Applikation auf die Entwicklung von PAP, Gewicht und Shuntperfusion. Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. * = p < 0,05 , ** = p < 0,01 , p < 0,001. Erläuterungen im Text

8. Einfluss von aerosolisiertem Iloprost auf

a) den pulmonalarteriellen Druck unter U46619 - Infusion:

Bereits 5 Minuten nach Start des Aerosols [$t=35$ Min] konnte eine signifikante Drucksenkung des PAP ($p < 0,001$) erzielt werden, die bis 45 Minuten nach Beendigung des Aerosols [$t=90$ Min] anhielt und danach nach graduellem Wiederanstieg nicht mehr signifikant war. Die maximale Druckdifferenz [$t = 45$ Min] betrug ca. 9,9 mmHg, entsprechend 28,8% des zu vergleichenden U46619 – Niveaus. Dies ist sowohl signifikant ($p < 0,05$) gegenüber den PGI₂–Aerosol–Lungen, als auch den PGI₂ –Aerosol mit Zardaverin–Lungen ($p < 0,05$). Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 14, 19, 20, 21, 22.

b) den Gewichtsverlauf unter U46619 - Infusion

Nach Aerosolierung von Iloprost konnte zum Beobachtungszeitpunkt $t=120$ eine signifikant ($p < 0,05$) geringere Gewichtseinlagerung, vergleichend zu den U 46619 – Lungen verzeichnet werden. Zu den übrigen Vergleichspunkten fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 14, 27.

c) den Gasaustausch unter U46619 - Infusion:

Bereits 15 Minuten [$t=60$] nach Beendigung des Aerosols konnte eine signifikante ($p < 0,05$) Verminderung der Shuntperfusion gegenüber den U46619–Lungen registriert werden. Signifikant ($p < 0,001$) war dieser Effekt nach 45 Minuten [$t=90$] und ($p < 0,01$) 75 Minuten [$t=120$] nach Aerosolstop.

Gegenüber der PGI₂ - Aerosolgruppe konnte eine signifikante ($p < 0,05$) Differenz der Shuntperfusion 45 Minuten nach Aerosolstop [$t=90$] verzeichnet werden. Die übrigen Parameter zeigten keine signifikanten Unterschiede. Allerdings bildeten sich gegen Ende des Beobachtungszeitraums low- \dot{V}/\dot{Q} - Areale (3,16 +/- 2,06%) aus, die in dieser Gruppe den tendenziell größten Anteil hatten, ohne zu statistischer Signifikanz zu führen. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 14, 23.

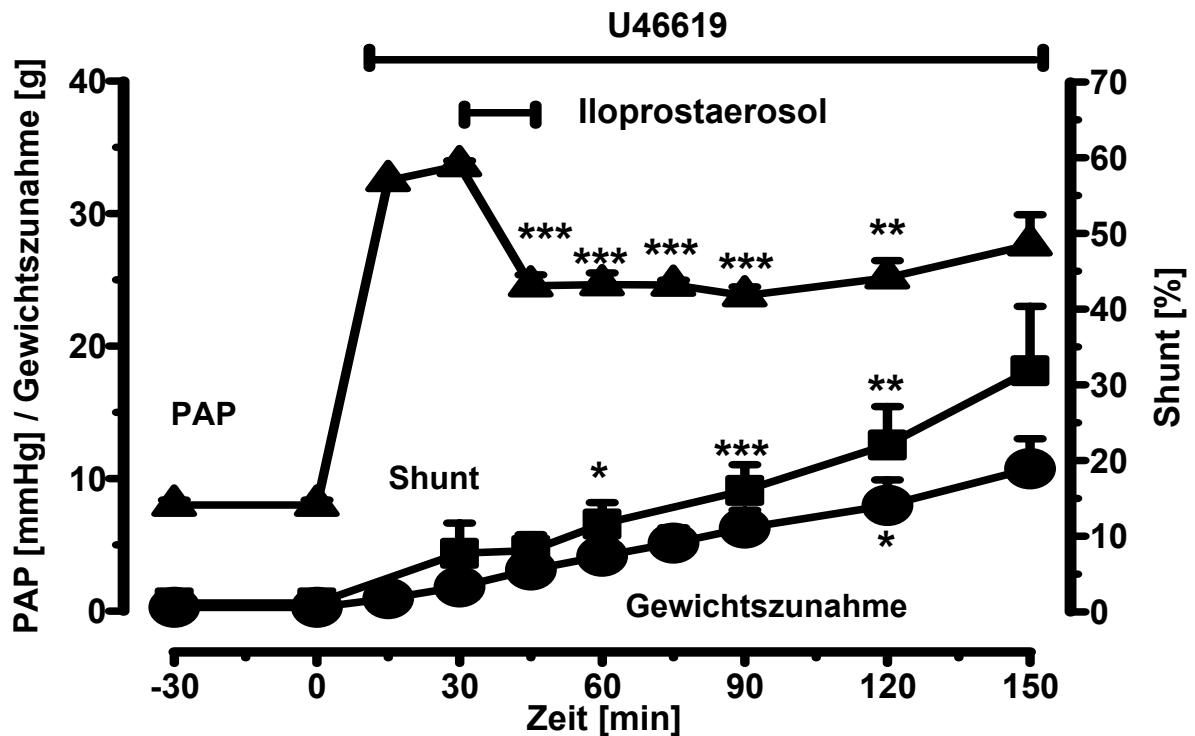


Abb. 14 Einfluss von Iloprostaerosol unter U46619-Applikation auf die Entwicklung von PAP, Gewicht und Shuntperfusion. Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$. Erläuterungen im Text

9. Einfluss von aerosolisiertem Iloprost mit Zardaverin auf:

a) den pulmonalarteriellen Druck unter U46619 - Infusion:

Bereits 5 Minuten nach Aerosolstart [$t=35$ Min] konnte eine extrem signifikante PAP-Senkung ($p < 0,001$) registriert werden. Diese hielt bis zum Ende des vergleichbaren Beobachtungszeitraumes der U46619-Lungen an. Ein Wiederanstieg des PAP auf $29,36 \pm 1,29$ mmHg konnte 195 Minuten nach Aerosolsende [$t=240$ Min] nachgewiesen werden.

Die maximale Druckdifferenz [$t = 75$] betrug hier ca. 12 mmHg, entsprechend 36,7 % des zu vergleichenden U 46619 – Niveaus.

Der erreichte PA-Druckabfall war nach einem Beobachtungszeitraum von $t=75$ Min signifikant ($p < 0,05$) höher als durch Iloprostaerosol alleine. Gegenüber PGI_2 -Aerosol war der Effekt signifikant ($p < 0,01$) größer, gegenüber PGI_2 - Aerosol + Zardaverin ebenfalls signifikant ($p < 0,01$). Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 15, 19, 20, 21, 22.

b) den Gewichtsverlauf unter U46619 - Infusion:

Unter Aerosolierung von Iloprost und Zugabe von 0,2 μM Zardaverin konnte die Gewichtszunahme bei $t= 60, 75$ und 150 sehr signifikant ($p<0,01$) und zu den Zeitpunkten $t= 90$ und 120 signifikant ($p<0,001$) gesenkt werden.

Die Gewichtseinlagerung bei $t= 150$ betrug $2,3 \pm 0,99$ g. Vergleichend zu der Interventionsgruppe PGI_2 – Aerosol ist dies eine extrem signifikante ($p< 0,0001$) Reduktion, vergleichend zu PGI_2 – Aerosol + Zardaverin ist dies signifikant ($p<0,01$) und zur Iloprost – Aerosolgruppe signifikant ($p<0,05$). Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 15, 27.

c) den Gasaustausch unter U46619 - Infusion:

Zum Ende der Iloprostinhalation mit Zardaveringabe [$t=45$] konnte bereits eine signifikant ($p<0,05$) geringere Shuntperfusion gegenüber den U46619 – Lungen verzeichnet werden. 15 Minuten nach Aerosolstop [$t=60$] war dies signifikant ($p<0,01$) und 45 [$t=75$], 75 [$t=120$] und 105 [$t=150$] Minuten nach Aerosolende extrem signifikant ($p<0,001$). Im Vergleich mit den PGI_2 – Aerosol – Lungen zeigten sich signifikante ($p<0,05$) Unterschiede 15 [$t=60$] und 75 [$t=120$] Minuten nach Beendigung der Verneblungsphase zu Gunsten der Iloprost + Zardaverin – Lungen. Diese Differenzen waren nach 45 [$t=75$], und 105 [$t=150$] Minuten signifikant ($p<0,01$). Auch gegenüber der PGI_2 + Zardaverin – Lungen zeigten sich Signifikanzen ($p<0,05$) 45 [$t=75$], 75 [$t=120$] und 105 [$t=150$] Minuten nach Aerosolende im Sinne einer geringeren Shuntperfusion in der Iloprost + Zardaverin Gruppe.

Im Vergleich der Shuntperfusionswerte mit der Iloprost aerosol Gruppe zeigen sich signifikante ($p<0,05$) Vorteile 45 [$t=75$], 75 [$t=120$] und 105 [$t=150$] Minuten nach Aerosolstop. Die übrigen Parameter zeigten keine signifikanten Unterschiede. Jedoch zeigte sich im Zeichen einer homogener verteilten Ventilation und Perfusion eine verminderte Ausprägung der mittleren Ventilation *mean of V* $4,03 \pm 0,65\%$. Die mittlere Perfusion *mean of Q* nahm, als Anzeichen einer Perfusionsumverteilung in Gebiete mit kleineren Ventilations-/ Perfusionsquotienten unter laufender U46619 Infusion auf $0,63 \pm 0,05 \%$ ab. Siehe Tabelle im Anhang und Abb. 15, 23, 26.

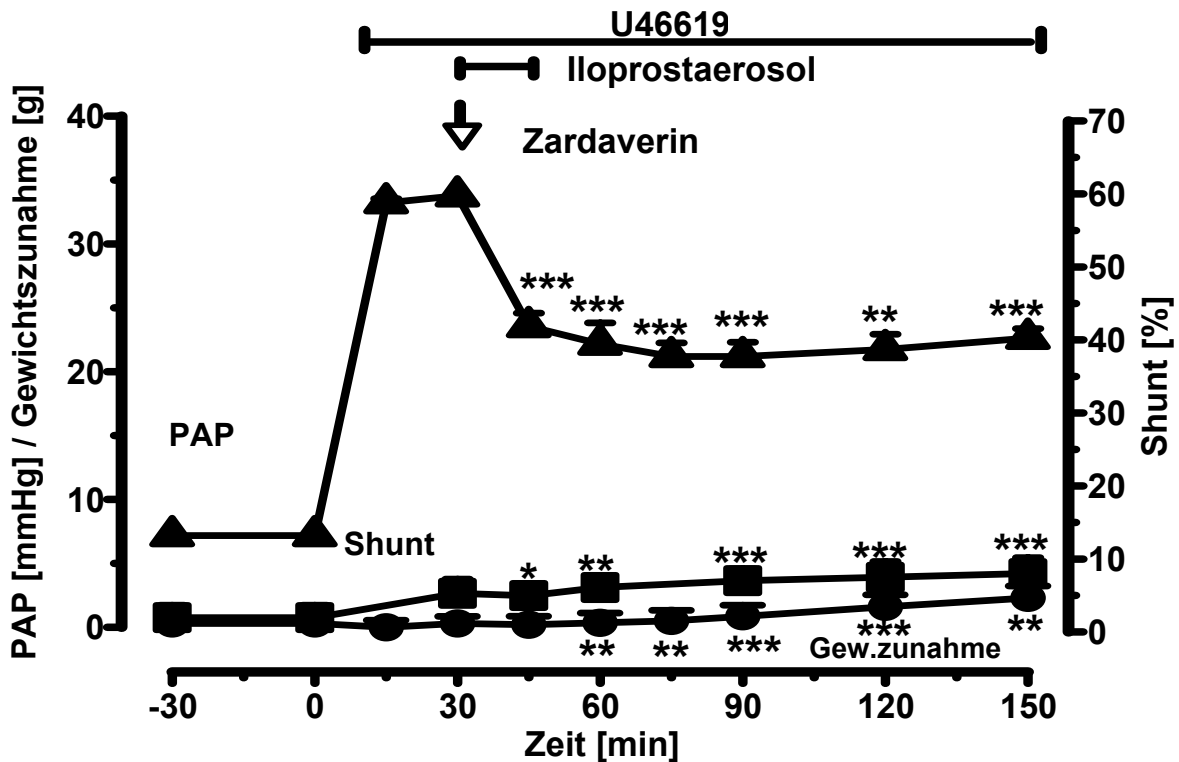


Abb. 15 Einfluss von Iloprost aerosol + 0,2 μ M Zardaverin unter U46619-Applikation auf die Entwicklung von PAP, Gewicht und Shuntperfusion. Darstellung in MEAN \pm SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,001$, *** = $p < 0,001$. Erläuterungen im Text

10. Beatmungsdrücke

Die Ventilationsdrücke lagen regelmäßig zwischen 5 und 8 mmHg. Signifikante Erhöhungen des Beatmungsdruckes waren nur zu verzeichnen, wenn die Lungen ein Ödem mit einer resultierenden Gewichtseinlagerung von ≥ 10 g aufwiesen.

11. Graphische Zusammenfassung der Einzelergebnisse

a) PAP-Verlauf unter U46619-Infusion und den Interventionsgruppen

Die kontinuierliche Infusion von U46619 erzeugte eine stabile pulmonale Hypertonie, die bis zum Ende des Versuchszeitraumes nur marginal nachließ.

Bei Betrachtung der relativen Druckwerte (Abb. 19) ist die nahezu unveränderte PAP-Reaktion unter Zardaverin in Unterschwellendosis zu beobachten. Im Vergleich erkennt man eine signifikante PAP-Senkung in den übrigen Interventionsgruppen. Am deutlichsten ist der

drucksenkende Effekt in der Iloprost + Zardaverin - Gruppe zu beobachten, am geringsten in der PGI₂-Aerosolgruppe.

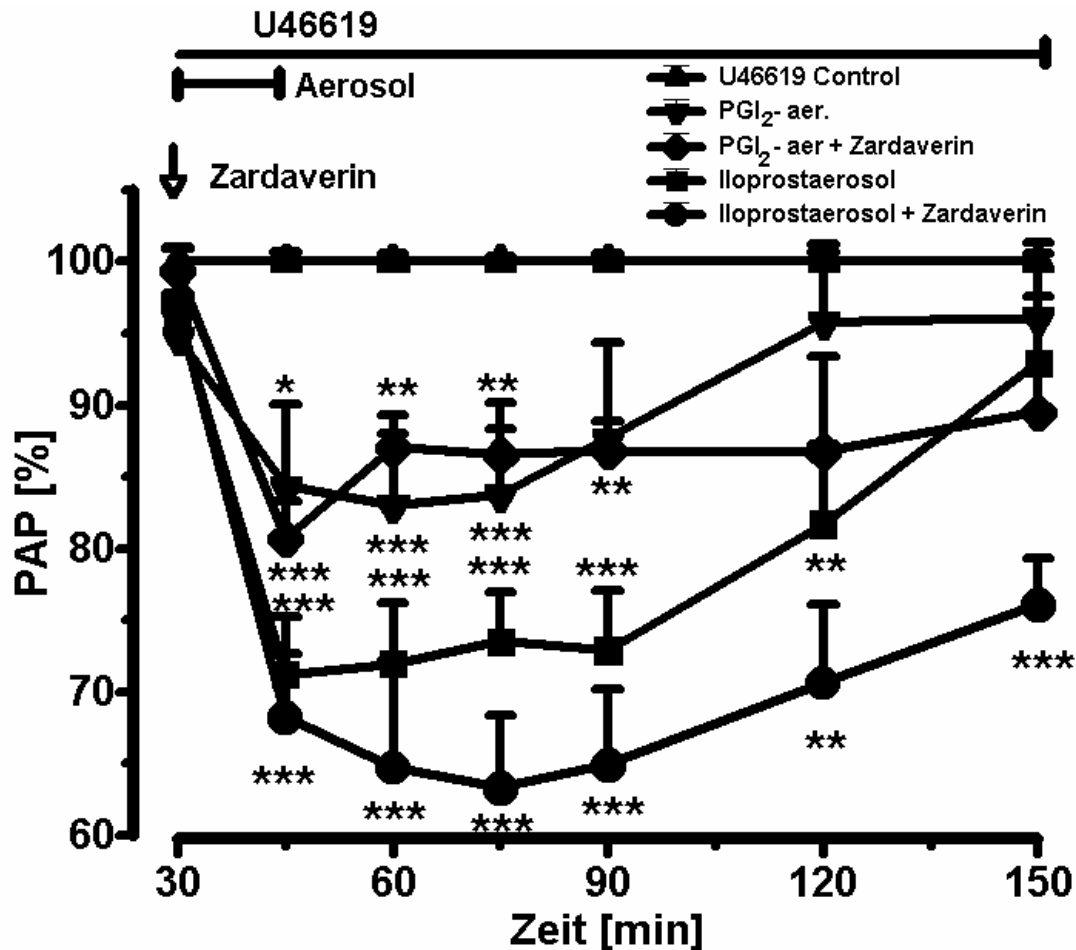


Abb. 19 Direkter Vergleich der relativen PAP-Entwicklung in allen Interventionsgruppen mit signifikanter Wirkung. Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung.

* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,001$, *** = $p < 0,001$

Ergänzend hierzu der Vergleich der Absolutwerte der PAP-Registrierung (Abb. 20). Hier ist der graduelle spontane Abfall des PAP in der U46619-Gruppe zu ersehen. Auf die Darstellung der Zardaverindaten wurde bei nur geringen Änderungen zur besseren Übersicht verzichtet.

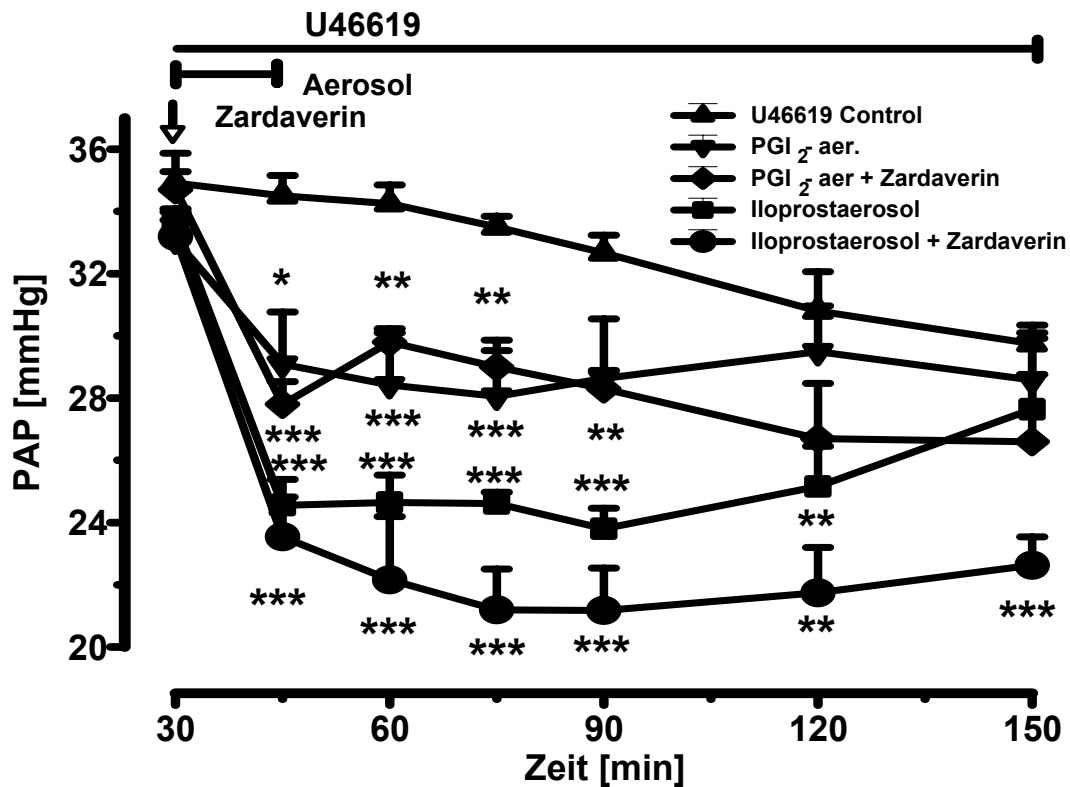


Abb. 20 Direktvergleich der PAP-Entwicklung aller Versuchsgruppen. Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,001$, *** = $p < 0,001$

Vergleicht man die Maximaleffekte der PAP-Senkung (Abb. 21), ist erneut die Gruppe mit Iloprostaaerosol und Zardaveringabe den anderen überlegen. Durch Zardaverin allein lässt sich in der Versuchs dosis keine relevante Drucksenkung erzielen und wird deshalb nicht dargestellt. Die maximale Drucksenkung durch PGI₂-Aerosol lässt sich durch die Gabe von Zardaverin nicht statistisch signifikant senken.

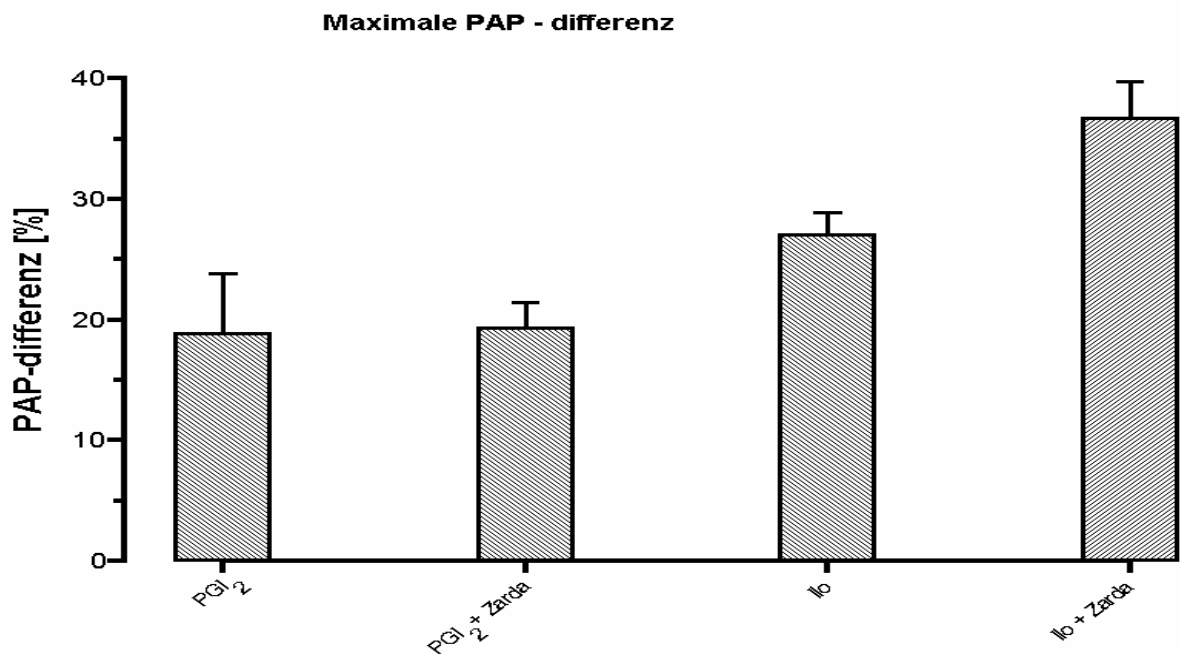


Abb. 21 Vergleich der maximalen PAP-Differenz [%] aller Interventionsgruppen mit signifikanter Wirkung. Darstellung in MEAN +/- SEM; Erläuterungen im Text

Im Bezug auf die Zeitdauer (Abb. 22), in der eine signifikante PAP-Senkung gegenüber der U46619-Kontrollgruppe zu sehen war, zeigte sich jeweils eine Verlängerung des Effektes durch die Zugabe von Zardaverin gegenüber dem Aerosol alleine. Am längsten hielt die Drucksenkung in der Zardaverin + Iloprost-aerosol - Gruppe an. Die geringste Ausprägung wurde in der PGI₂-Aerosol-Gruppe dokumentiert.

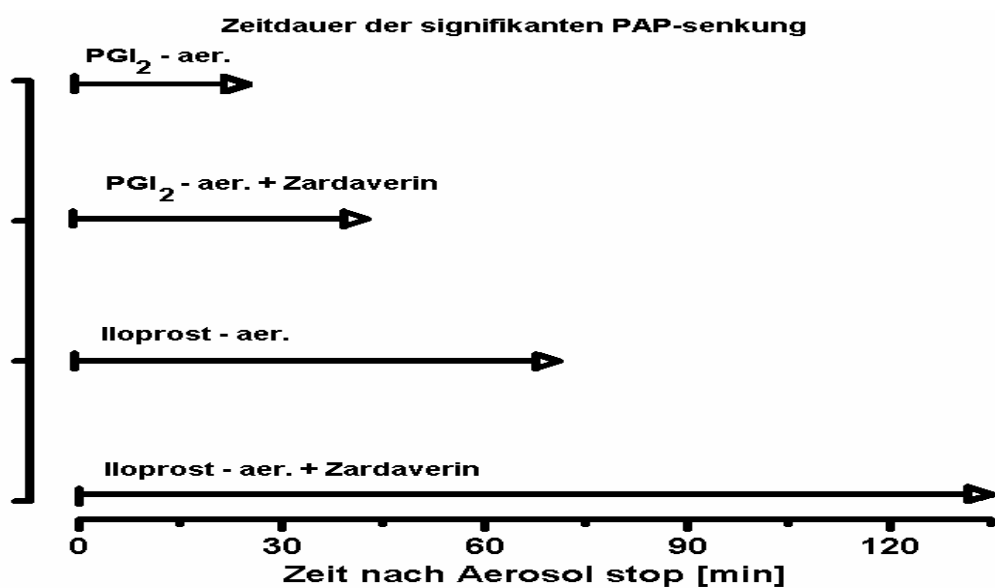


Abb. 22 Vergleich der Wirkungsdauer der signifikanten PAP-Senkung in den Interventionsgruppen. Erläuterungen im Text.

b) Entwicklung der Gasaustauschstörung unter U46619-Infusion und den Interventionsgruppen

Während der fortwährenden Gabe von U46619 wurde eine kontinuierliche Zunahme der Shuntperfusion beobachtet. Gegen Ende der Versuche betrug der relative Anteil der Shuntperfusion nahezu 60%. Die Zardaverindaten sind aufgrund der nicht statistisch relevanten Änderungen zur besseren Übersicht nicht dargestellt.

Durch die Aerosolierung von PGI₂ oder Iloprost lässt sich der Shuntanteil signifikant reduzieren. Durch Zugabe von Zardaverin werden die beiden Effekte noch vergrößert. Im Beobachtungszeitraum von 150 Minuten der U46619-Infusion entwickelt sich in der Zardaverin + Iloprostaerosol - Gruppe nahezu kein Shunt. Hier ist der positive Effekt am deutlichsten nachzuweisen (Abb. 23).

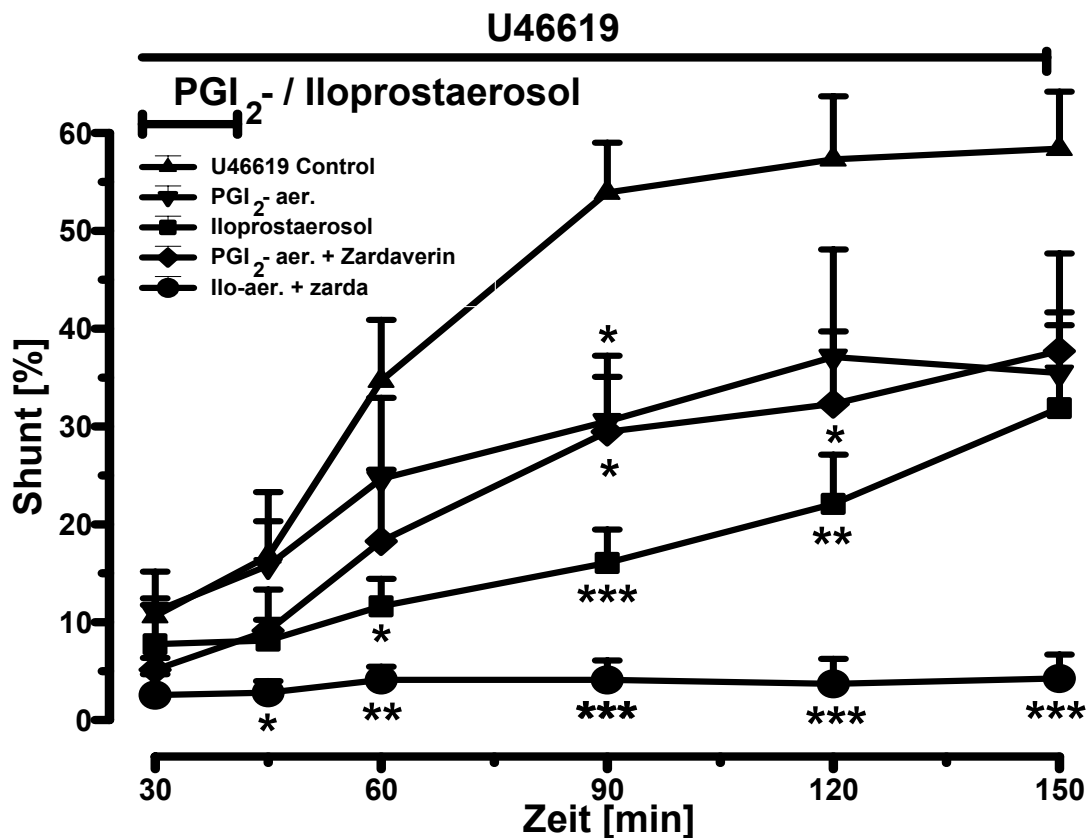


Abb. 23 Direkter Vergleich der Shuntperfusionentwicklung in allen Interventionsgruppen mit signifikanter Wirkung. Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung.
 * = p < 0,05 , ** = p < 0,001 , *** = p < 0,001.

Erfolgt die Darstellung der einzelnen Ventilations-/ Perfusionsdaten, die durch die MIGET-Methode ermittelt wurden, erhält man die physiologische Verteilung unter

Kontrollbedingungen während der Grundabnahme (Abb. 24). Unter fortwährender Infusion von U46619 zeigt sich eine schwere Fehlverteilung der Verhältnisse mit Entstehung von Shunt und „high-V/Q“-Arealen (Abb. 25). Nach der Aerosolierung von Iloprost unter der zeitgleichen Applikation von Zardaverin lässt sich nach 150 Minuten Beobachtungszeit eine deutlich breitere Verteilung der Ventilation und Perfusion erkennen (Abb. 26) mit Perfusion von nicht- oder stark ventilierten Arealen. Dies spiegeln auch die Werte von $\log SD_{\dot{Q}}$ und $\log SD_{\dot{V}_A}$ wieder. Es kommt allerdings nicht zur Entstehung einer wesentlichen Shuntperfusion.

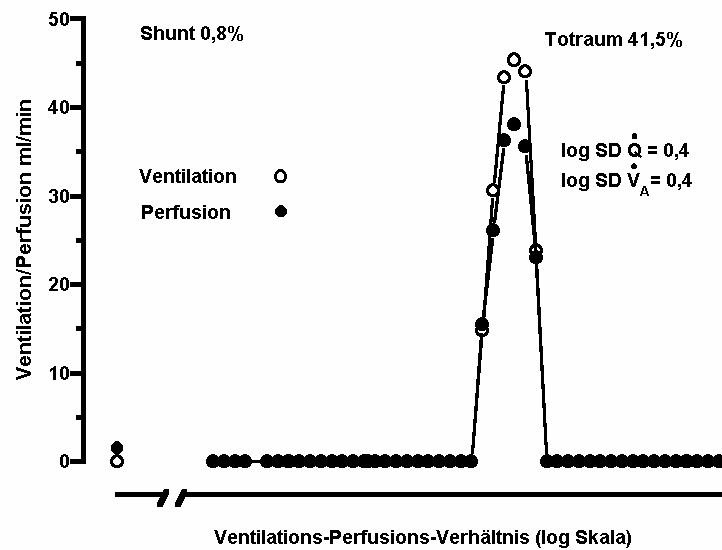


Abb. 24 exemplarische graphische Darstellung der V/Q-Daten [MIGET], Grundabnahme

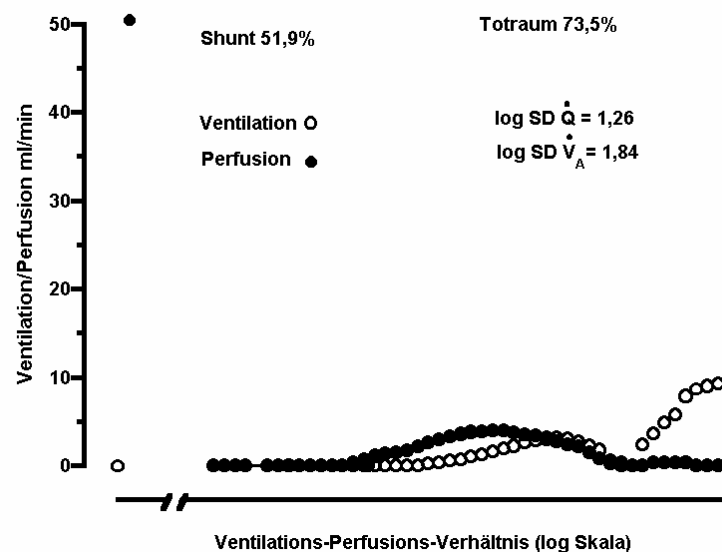


Abb. 25 exemplarische graphische Darstellung der V/Q-Daten [MIGET], 150 Minuten U46619

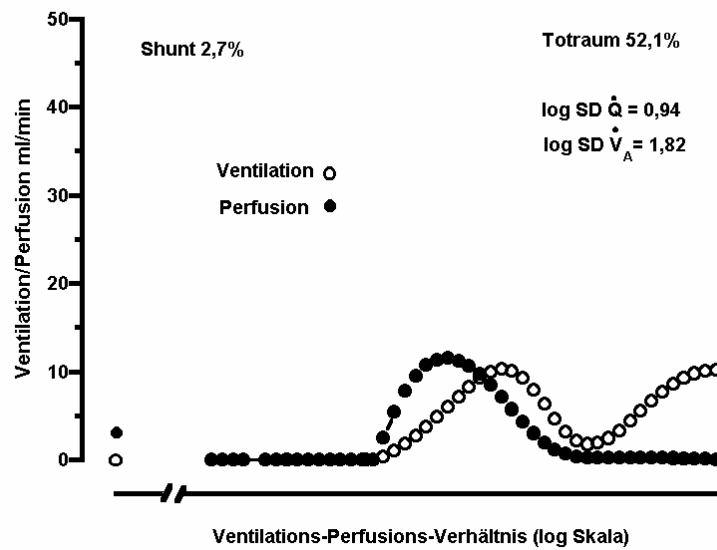


Abb. 26 exemplarische graphische Darstellung der V/Q-Daten [MIGET], 150 Minuten U46619 mit Ilo., Zarda.

c) Ödementwicklung unter U46619-Infusion und den Interventionsgruppen

Die andauernde Infusion von U46619 führte in der Kontrollgruppe zur Ausbildung eines signifikanten Lungenödems. Signifikant vermindert werden konnte diese Entwicklung in der Iloprostaerosol – Gruppe zum Zeitpunkt 120 Minuten. Nur ein geringes Lungenödem bildete sich unter der zusätzlichen Gabe von Zardaverin aus. Zu allen Messpunkten war dieser Effekt signifikant (Abb. 27).

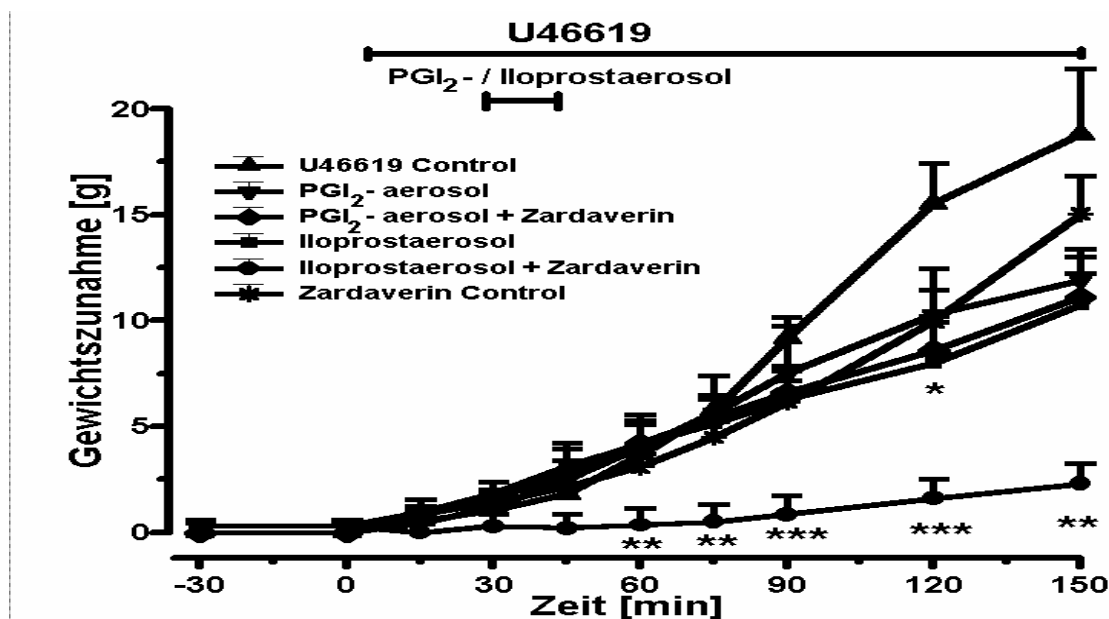


Abb. 27 Direkter Vergleich der Gewichtsentwicklung in allen Versuchsgruppen. Darstellung in MEAN +/- SEM; Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. * = p < 0,05 , ** = p < 0,001 , *** = p < 0,001.

V. Diskussion

Durch die vorliegenden Untersuchungen an isolierten Kaninchenlungen konnten wir zum einen die direkt pulmonalvasodilatative Wirkung des dualen PDE 3- und 4-Inhibitors (Zardaverin) nachweisen und zum anderen einen Synergismus zwischen intravasal verabreichtem Zardaverin und inhaliertem Prostazyklin bzw. seinem stabilen Analogon Iloprost bezüglich der Auswirkung auf Hämodynamik und Gewichtsentwicklung, sowie auf die positive Beeinflussung des Gasaustausches aufzeigen.

Dabei war zu beobachten, dass der potenzierende Effekt der Co-Applikation bereits in Zardaverindosen zu beobachten war, die *per se* noch keine Veränderung der beobachteten Parameter zeigte.

1. Stabile pulmonale Hypertonie mit konsekutiver Störung des Gasaustausches und Entwicklung eines Lungenödems unter U46619-Infusion

Die kontinuierliche Infusion des Thromboxanmimetikums U46619 ist an der isolierten Lunge eine bewährte Methode, um eine stabile pulmonale Hypertension mit schwerer Ventilations-/Perfusionsstörung und verzögerter Ausbildung eines Lungenödems zu erzeugen (Rimar et al., 1993, 1995, Lindeborg et al., 1995, Walmrath et al., 1997, Schermuly et al., 1999, 2000). Dieses Modell bietet so gute Voraussetzungen zur experimentellen Testung möglicher Therapeutika zur Beeinflussung dieser Erscheinungen.

Auch in der vorliegenden Studie konnte nach Titrierung eine stabile PA-Druckerhöhung erzielt werden. In Analogie zu Versuchsreihen aus unserer Arbeitsgruppe und Berichten über Versuche an anderen Spezies (Carrithers et al., 1993 und Shibamoto et al., 1995) war die hämodynamische Veränderung gefolgt von schweren Veränderungen der Ventilations-/Perfusionsverteilung mit Entwicklung von > 50% Shuntperfusion und einem graduellen Anstieg des relativen Lungengewichts. Die dramatischen Störungen des Gasaustausches kamen sicherlich zum Teil durch die Entwicklung eines Lungenödems zustande. Jedoch stellen sich diese Zusammenhänge komplexer dar. Einerseits war die beobachtete Gewichtseinlagerung zum Zeitpunkt der starken Shuntperfusion (> 50 %) noch immer moderat (10-15 g). Die Ausbildung eines alveolären Lungenödems ist an der isolierten Kaninchenlunge erst bei Gewichtseinlagerungen > 20 g zu beobachten. Andererseits kam es zur Ausbildung einer relevanten Shuntperfusion bereits ohne dass eine signifikante Gewichtseinlagerung erfolgt wäre. Letztendlich sind die unter U46619 beobachtbaren Veränderungen reversibel und so lässt sich die schwere Funktionsstörung des Gasaustausches

am ehesten auf das gemeinsame Auftreten der U46619 provozierten \dot{V}/\dot{Q} -Verteilungsstörungen und der graduellen Entwicklung eines Lungenödems zurückführen.

2. Dosisabhängige Drucksenkung durch Zardaverin unter U46619-Infusion:

Zardaverin ist ein dualselektiver 3- und 4- PDE-Inhibitor mit IC_{50} – Werten von 0,6 bzw. 0,2 μ M (Schudt et al., 1991). Bisher konnte die relaxierende Wirkung auf unterschiedliche glatte Muskelzellen gezeigt werden. Wiederum Schudt und Mitarbeiter konnten beispielsweise 1991 diese Reaktion in mit Histamin konstringierten Tracheen von Meerschweinchen nachweisen (Schudt et al., 1991 b). Außerdem wirkte die Substanz, oral verabreicht, in einer Dosis von 3-30 μ mol/kg bronchienerweiternd bei Ratten (Hoymann et al., 1994). An der isolierten Rattenlunge wurde eine verminderte Bronchokonstriktion und Thromboxan (TxA_2) – Freisetzung unter LPS-Stimulus beobachtet (Uhlig et al., 1997).

Im Spektrum der antiobstruktiven Therapie bei Atemwegserkrankungen wurden bereits die PDE 3 und 4 als wesentliche Enzyme zum Abbau des cAMP in glatten Muskelzellen der Bronchien beschrieben. Dies scheint ebenso für den cAMP-Gehalt in glatten Muskelzellen humaner Pulmonalarterien zuzutreffen (Rabe et al., 1994 und Torphy et al., 1998). Untersuchungen zeigten bereits einen Synergismus der Inhibition dieser beiden PDE's bezüglich der Wachstumshemmung glatter Muskelzellen (Pan et al., 1994). Die nun aufgetretene vasorelaxierende Reaktion geht einher mit den Beobachtungen, dass die zeitgleiche selektive Inhibierung von PDE 3 (Motapizon) und PDE 4 (Rolipram) eine relaxierende Wirkung auf artifiziell konstringierte humane Pulmonalarterienringe besitzt (Rabe et al., 1994).

In der vorliegenden Versuchsreihe unter stabilen pulmonalhypertensiven Druckwerten bei kontinuierlicher U46619-Infusion zeigte sich eine dosisabhängige Erniedrigung der PA-Drücke durch die Bolusapplikation von Zardaverin in den Konzentrationen 0,2 bis 20 μ M.

Möglicherweise kommt es während der Hemmung einer dieser beiden PDE's zu vermehrten Abbau des cAMP-Substrates durch das jeweils andere Enzym. Dies würde die synergistische Wirkung durch gleichzeitige Inhibierung der beiden erklären. Ähnlich wie die PDE 3 und 4, die den Abbau des cAMP bewirken, konnte in unterschiedlichen Arbeitsgruppen auch durch die Hemmung der PDE 5, verantwortlich für den Abbau des cGMP, eine pulmonale Vasodilatation im Zustand der akuten pulmonalen Hypertonie erzeugt werden (Ichinose et al., 1998 und 1998, Braner et al., 1993, Thusu et al., 1995, Ziegler et al., 1998). Diese

Beobachtungen sind wiederum durch einen verminderten cGMP-Abbau, dessen Bildung durch eine kontinuierliche NO- Synthese erfolgt, zu erklären.

Die pulmonalvaskuläre Widerstandssenkung durch Zardaverin wurde bereits 1999 von Schermuly et al., aus unserer Arbeitsgruppe beschrieben. Allerdings sind die am Ganztiersversuch beschriebenen Daten differenziert zu den hier aufgeführten zu sehen. Im Ganztiersversuch ist die Auswirkung auf den PVR eng verknüpft mit der Entwicklung des Herzzeitvolumens. Die positiv inotrope Wirkung spezifischer PDE 3-Inhibitoren ist bekannt (Estler 1994 Pharmakologie und Toxikologie). Außerdem kam es im Ganztiersversuch zu den beobachteten Ergebnissen unter kontinuierlicher Infusion des PDE-Inhibitors. Am isolierten Lungenmodell dagegen kann bei konstanter artifizieller Perfusion und damit stabilem HZV eine Änderung des PVR nur über eine PA-Drucksenkung erzielt werden. Letztendlich konnte nun erstmalig, in Analogie zu Schermuly et al., 2000 mit einem anderen PDE 3- und 4-Inhibitor (Tolafentrin) die selektive pulmonalarterielle Drucksenkung von Zardaverin gezeigt werden.

3. Fehlende Beeinflussung der Hämodynamik, des Gasaustausches und der Ödemneigung durch Unterschwellendosis von Zardaverin unter U46619-Infusion:

Nach Festlegung einer Konzentration (0,2 μM) von Zardaverin, die als einmalige Dosierung *per se* noch keinen Einfluss auf die Hämodynamik hatte, wurde in der Folge deren Auswirkung auf die übrigen Parameter erhoben. Erwartungsgemäß zeigte sich keine Veränderung der Lungen hinsichtlich der Entwicklung eines Lungenödems oder einer Umverteilung der Perfusion zu Gunsten besserer \dot{V}/\dot{Q} -Verteilungen.

Diese Daten stimmen mit den Beschreibungen hinsichtlich einer Endothelprotektion von Suttorp et al., 1993 und Seeger et al., 1995 überein, unter Verwendung einer deutlich höheren Zardaverinkonzentration (10 μM) im gleichen Modell. Das Konzept, eine PDE-Inhibitorosis zu etablieren, die *per se* noch keine Wirkung hervorruft, ist ein schon beschriebenes Prinzip sowohl an der isolierten Kaninchenlunge, wie auch am Ganztiersversuch der gleichen Spezies (Schermuly et al., 1999 und 2000).

4. Positive Entwicklung der Hämodynamik, des Gasaustausches und die Ödemneigung unter inhalativem PGI₂ und Iloprost unter U46619- Infusion:

Unter der Verneblung von PGI₂ oder Iloprost bei kontinuierlicher U46619-Infusion konnte eine pulmonalarterielle Drucksenkung (Abb. 20 – 22) mit einhergehender Reduktion des Ventilations-/ Perfusionsfehlverteilung (Abb. 23) beobachtet werden. Eine Beeinflussung der

Gewichtsentwicklung (Abb. 24) zeigte sich nur bei Iloprostinhalation. Die Erklärung hierfür liegt wohl im wesentlichen in der positiven hämodynamischen Auswirkung des Iloprost, was in Folge des niedrigeren pulmonalarteriellen Druckes eine Verlangsamung der Lungenödementwicklung nach sich zieht. Insgesamt zeigten sich die unter Iloprost beobachtbaren Effekte denen unter PGI₂-Aerosol erzielten deutlich überlegen.

Die Effekte der pulmonalarteriellen Drucksenkung mit verminderter Shuntperfusion und Gewichtseinlagerung konnten bei den PGI₂-Versuchen wegen der kurzen Halbwertszeit nicht homogen über das Verneblungsintervall hinaus nachgewiesen werden. Die Fähigkeit von Epoprostenol (PGI₂) zur pulmonalvaskulären Dilatation per infusionem (Rubin et al., 1982 und 1990, Higgenbottam et al., 1984, und Mc Laughlin et al., 1998) ist hinlänglich durch klinische Daten belegt. Die Aerosolierung und die damit verbundene vermehrte Selektivität von PGI₂ bezüglich der pulmonalen Strombahn (Walmrath et al., 1993, 1995, 1997) sind mittlerweile ebenfalls klinisch nachgewiesen. Ähnlich dem inhalativen NO besitzt diese Applikationsform den Vorteil der Vermeidung einer zunehmenden Ventilations-/Perfusionsfehlverteilung und ermöglicht sogar eine Umverteilung der Perfusion in besser ventilierte Areale (Bigatello et al., 1997, Zwissler et al., 1996, Rossaint et al., 1993, Pepke Zaba et al., 1991) und konsekutiv deutlich verbessertem Gasaustausch.

Unsere Beobachtungen decken sich auch in den wesentlichen Punkten mit bereits beschriebenen Experimenten aus unserer Gruppe (Walmrath et al., 1997, Schermuly 1999 und 2000) und den Ergebnissen einer pulmonalen Hypertension am Schaf (Kleen et al., 1998).

Die unter der inhalativen Verabreichung von Iloprost beobachtbaren Auswirkungen waren deutlich ausgeprägter als in der Vergleichsgruppe mit PGI₂-Aerosol. So konnte sowohl die maximale PA-Drucksenkung (Abb. 21), als auch deren zeitliche Dauer (Abb. 22) im Vergleich zu PGI₂ - Aerosol deutlich intensiviert werden. Zweiteres steht in Analogie zu klinischen Beobachtungen von Olschewski et al., aus 1996 und 1999, der eine prolongierte Wirkung des inhalativen Iloprost gegenüber Prostazyklin aufzeigte.

Analog zur PGI₂-Inhalation ist auch hier das Prinzip der selektiven Vasodilatation mit Verbesserung der \dot{V}/\dot{Q} -Verhältnisse (Abb. 23) unter pulmonaler Vasodilatation zu beschreiben. Dabei war die Iloprost- der Prostazyklingruppe überlegen. Zum einen stellten sich diese Effekte früher als in der PGI₂ - Gruppe ein, zum anderen zeigten sie eine Tendenz zur stärkeren Ausbildung. Außerdem war die Zeitdauer der signifikanten PA-Drucksenkung in der Iloprostgruppe verlängert. Dies könnte mit der deutlich längeren Halbwertszeit des Iloprost (30 Minuten) gegenüber PGI₂ (3 Minuten) zusammenhängen. Die zeitliche Ausdehnung der verminderte Shuntentwicklung zeigte sich nicht beeinflusst.

Hier ist die Entwicklung eines bis dahin deutlich ausgeprägten Lungenödems in Betracht zu ziehen, das in Addition zu den entstandenen Fehlverteilungen zu einer zusätzlichen Verschlechterung der \dot{V}/\dot{Q} - Verhältnisse führte und dessen Entwicklung nur in einem kurzen Zeitraum gebremst werden konnte.

5. Synergistischer Effekt durch die Kombination von inhalativem PGI₂ oder Iloprost und Zardaverin in Unterschwellendosis auf Hämodynamik, den Gasaustausch und die Ödemneigung unter U46619- Infusion:

Wir konnten einen synergistischen Effekt zwischen den inhalativ verabreichten PGI₂ oder Iloprost und dem einmalig intravasal in Unterschwellendosis applizierten PDE 3- und 4-Inhibitor Zardaverin hinsichtlich der Dauer der pulmonalarteriellen Drucksenkung und der positiven Entwicklung der \dot{V}/\dot{Q} - Verteilungen verzeichnen. In der Versuchsgruppe Iloprost-Aerosol + Zardaverin konnte zusätzlich die maximale Drucksenkung erhöht und die Ausbildung eines Lungenödems verhindert werden.

In der PGI₂ –Aerosol + Zardaverin-Gruppe konnten vergleichend mit dem PGI₂-Aerosol die PA-Drucksenkung um 15 Minuten (Abb. 20, 22) und die positive \dot{V}/\dot{Q} - Beeinflussung um 30 Minuten (Abb. 23) verlängert werden. Die maximal erreichte Druckreduktion war (6,5 mmHg bzw. 6,7 mmHg) nicht beeinflusst. Im Vergleich mit dem Iloprost-aerosol zeigte sich diese Versuchsgruppe unter Berücksichtigung aller Parameter tendenziell unterlegen. So fand sich in der PGI₂ –Aerosol mit Zardaverin Gruppe eine geringere maximale PAP-Senkung (6,7 mmHg gegenüber 9,9 mmHg) (Abb. 21), ein höherer Shuntfluss (ca 35% gegenüber ca 20%) und eine ausbleibende Beeinflussung der Gewichtsentwicklung. Die Überlegenheit des Iloprost-aerosols gegenüber der Kombination von PGI₂ und Zardaverin unterstreicht die große Effektivität dieser Substanz in unserem Modell.

Die Versuchsgruppe Iloprost-Aerosol + Zardaverin zeigte die weitaus stärkste Reaktion der PA-Drucksenkung, der Auswirkung auf die Ventilations-/ Perfusionsverhältnisse und der Ausbildung eines Lungenödems. Hinsichtlich der hämodynamischen Wirkung war diese Gruppe allen anderen in der Ausprägung des maximalen Ergebnisses (12 mmHg gegenüber 9,9 mmHg in der Iloprostgruppe) und der zeitlichen Dauer stark überlegen. So konnte der Zeitraum der PAP- Senkung um 90 Minuten auf die doppelte Beobachtungsdauer (vergleichend mit der Iloprostgruppe) verlängert werden. In Folge der hämodynamischen Auswirkung in dieser Versuchsreihe wurde eine negative Entwicklung der Ventilations-/

Perfusionsverhältnisse in diesem Kontext vermieden und es blieb beim Fortbestehen nahezu normaler Verhältnisse über den gesamten Beobachtungszeitraum. Um eine Beurteilung des graduellen Wiederanstieges des PAP zu gewährleisten, musste der Beobachtungszeitraum um weitere 90 Minuten verlängert werden.

Letztendlich konnte auch die Ausbildung einer signifikanten Gewichtszunahme der Lunge als Ausdruck eines sich entwickelnden Lungenödems trotz weiterhin erhöhter PAP-Werte verhindert werden. Bezüglich der verminderten Ausbildung eines Lungenödems als Folge der U46619-Infusion muss neben der positiven Beeinflussung durch die geringere mechanische Beanspruchung auch der vermutlich endothelprotektive Charakter des Zardaverin diskutiert werden. Die vorteilhafte Auswirkung einer pulmonalarteriellen Drucksenkung mit konsekutiver Reduktion des mechanischen Stress auf die Gefäßwand ist leicht ersichtlich. Auch die Wertung des Endothels als wesentliche integrative Komponente liegt nahe. Folglich ergibt sich aus der pulmonalarteriellen Drucksenkung ein wesentlicher Faktor zur Vermeidung einer Ödementwicklung. In speziellen Untersuchungen zur Endothelprotektion konnte Suttorp und Mitarbeiter anhand kultivierter Endothelzellen durch Kombinationsapplikation von PGE₁ und Zardaverin eine H₂O₂ induzierte endotheliale Permeabilitätssteigerung vermindern (Suttorp et al., 1996). Seeger und Mitarbeiter konnten ähnliche Ergebnisse an der isolierten Kaninchenlunge 1995 beschreiben. Auch die durch LPS induzierte Ausbildung eines Lungenödems konnte 1995 von Howell et al., durch die Verabreichung von Zardaverin am Meerschweinchen-Ganztierversuch beobachtet werden. Bei unseren Ergebnissen bleibt zu bedenken, dass auch unter der beschriebenen PAP-Senkung um > 30% weiterhin PA-Druckwerte bestanden, die dem doppelten PAP-Ausgangswert entsprachen.

Ob es in unseren Studien zu einer Endothelprotektion durch die synergistischen Effekte des Iloprost mit dem dualen PDE-Inhibitor Zardaverin kommt, oder ob dieser Effekt überspielt wird von der erreichten massiven PA-Drucksenkung, die natürlich eine endothelprotektive Maßnahme durch die Verminderung des intravasalen Druckes *per se* darstellt, kann nicht mit letzter Sicherheit entschieden werden.

Die hier vorliegenden Ergebnisse der hämodynamischen Parameter und der Beeinflussung der \dot{V}/\dot{Q} - Verhältnisse werden unterstützt durch Beschreibungen hinsichtlich synergistischer Effekte durch Ko-Stimulation des Adenylatzyklase-Signalweges und der Verminderung des Produktabbaus des cAMP durch spezifische PDE-Inhibitoren.

Beispielsweise wurde ein solch additiver Effekt an artifiziell konstringierten PA-Ringen von Ratten mit Forskolin und Isoproterenol und zeitgleicher Inhibition der PDE 3 und 4 (Wagner et al., 1997) beschrieben.

Unsere Ergebnisse gehen auch mit den vorher beschriebenen Resultaten hinsichtlich der kombinierten Verabreichung eines dualen 3- und 4- PDE-Inhibitors (Tolafentrin) mit PGI₂ – Aerosol (Schermuly et al., 2000) im Falle der experimentellen PH an isolierten Kaninchenlungen konform. Auch hier konnte ein verstärkter Effekt des Prostazyklin-Aerosols nachgewiesen werden, der sich ebenso wie in den jetzt berichteten Ergebnissen auch positiv auf die \dot{V}/\dot{Q} - Verteilungen auswirkte. Die Beobachtungen hinsichtlich der pulmonalen Hämodynamik in dieser Interventionsgruppe stehen auch im Einklang zu den vorher berichteten Ergebnissen unserer Gruppe aus Ganztierversuchen der gleichen Spezies mit experimenteller pulmonaler Hypertonie (Schermuly et al., 1999). Dort wurden die synergistischen Effekte der PAP-Senkung bei gleichzeitiger kontinuierlicher Hemmung der PDE 3 und PDE 4 über Dauerinfusion durch zwei selektive Inhibitoren (Motapizon (PDE 3) und Rolipram (PDE 4)) sowie Inhalation von PGI₂ beschrieben. Auch durch die Ko-Applikation mit Zardaverin wurden diese Reaktionen erzielt. Einschränkend muss erwähnt werden, dass es in diesen Versuchen allerdings zu einem signifikanten Anstieg des HZV kam, was partiell eine Erniedrigung des PVR erklärt und die tatsächlichen Ausmaße einer PA-Drucksenkung nicht vollständig differenzieren lässt.

Das Ausbleiben einer Zunahme des \dot{V}/\dot{Q} - Missverhältnis unter systemischer Gabe eines Vasodilatators (Walrath et al., 1997) und die erhaltene Selektivität der Vasodilatation (Zwissler 1996) bestätigt auch die gewählten Applikationsformen und -dosierungen nachhaltig, die eine spezifische Vasodilatation gut ventilierter Areale ermöglichten. Eine Erklärung dafür kann möglicherweise darin gesehen werden, dass es nur dann zu einer biophysikalischen Wirksamkeit des PDE-Inhibitors kam, wenn er in Arealen angereichert wurde, die zeitgleich für einen Stimulus des Adenylatzyklaseaktivators zugänglich waren. Durch einen höheren Umsatz des zyklischen Nukleotids innerhalb der glatten Gefäßmuskulatur konnte somit die Wirkung des PDE-Inhibitors trotz seiner niedrigen Dosierung zum Tragen kommen.

Eine solche Zunahme des maximal vasodilatierenden Effektes entspricht in etwa den Beobachtungen aus Versuchen mit dem gleichen isolierten Lungenmodell unter PGI₂ – Aerosolierung und Applikation eines PDE 3 (Motapizon) und eines PDE 4 (Rolipram) Inhibitors, wobei wir in unseren Versuchen eine Überlegenheit der Iloprost mit

Zardaverin-Gruppe dokumentieren können (Schermyly et al., 2000). Die hier beschriebene zeitliche Dauer der nachzuweisenden noch reversiblen Drucksenkung durch die Kombinationsverabreichung des inhalativen Iloprost mit dem dualen PDE 3 und 4 Inhibitor Zardaverin ist die am längsten anhaltende, die bisher beschrieben wurde. Schermyly et al., berichten über eine Anhalten des Effektes bis 60 Minuten nach Aerosolende; unter o. g. Ko-Applikation konnten wir eine positive Reaktion sogar bis 120 Minuten erzielen.

VI. Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit geben Anregungen zu weiteren Untersuchungen.

Hinsichtlich des drucksenkenden Effektes im Falle der akuten pulmonalen Hypertonie konnte der Nachweis eines Synergismus zwischen inhalativen Adenylatzyklasestimulantien (PGI₂ und Ilomedin) und PDE-Inhibitoren, die den Abbau der second messenger Produkte hemmen, erbracht werden.

Hier ist die Notwendigkeit einer Überprüfung der Wirksamkeit der Ko-Applikation des klinisch gut charakterisierten Prostazyklins oder Iloprost mit PDE-Hemmern auf eine chronische pulmonale Hypertonie ersichtlich. Modelle zur Erzeugung experimenteller PH sind z. B. durch die Verabreichung von Monocrotalin oder im Falle der chronischen Hypoxie beschrieben.

Zum einen wäre in diesem Falle die Klärung einer Beeinflussung der Hämodynamik und nachfolgend der Ventilations-/ Perfusionsverhältnisse im Sinne einer Akuttestung bei bereits ausgeprägter chronischer PH und möglicherweise veränderter Vasoreagibilität interessant.

Ein wesentlicher Punkt wäre auch der Einfluss dieser Wirkkombination auf die Entwicklung einer chronischen PH. Dies wäre vor dem Hintergrund einer möglichen Beeinflussung der ständigen Umbauvorgänge bei chronischer PH zu betrachten. Auch ist eine möglicherweise verstärkte Proliferationshemmung glatter Muskelzellen unter der Ko-Applikation von entscheidendem Interesse. Dieser Ansatz könnte ebenfalls am Ganztiersversuch einer chronischen PH oder auch in Zellkulturtestungen z.B. glatter Gefäßmuskulaturzellen unter Stimulus untersucht werden. Auch der Einfluss auf die Expression wichtiger Wachstumsfaktoren wie z. B. VEGF und PDGF in der chronischen PH auf Protein- oder mRNA-Ebene könnte entscheidende Hinweise auf die Pathophysiologie der chronischen PH einerseits mit möglichen Therapiekonsequenzen andererseits geben.

Der Bedarf an klinischen Testungen dieses Ko-Applikationsmodus ist deutlich. Diese sollten sich allerdings zum momentanen Zeitpunkt auf derzeit schon zugelassene und in der Praxis erprobte Phosphodiesterasen beschränken. Möglichkeiten sind hier durch unspezifische PDE-Inhibitoren wie beispielsweise Theophyllin, Pentoxyphyllin, Dipyridamol oder Milrinon gegeben.

Des Weiteren wäre die inhalative Ko-Applikation von Iloprost oder PGI₂ mit PDE-Inhibitoren, sowohl im Falle der akuten als auch der chronischen pulmonalen Hypertonie, zu untersuchen. Möglicherweise könnten durch die Aerosolierung beider Substanzen höhere Wirkstoffkonzentrationen in den pulmonalen Gefäßen erzielt, und in der Folge die Auswirkung auf die Hämodynamik verstärkt werden.

Als Modelle kommen die auch dieser Arbeit zu Grunde liegende Applikation von U46619 zum Erzielen einer akuten pulmonalen Hypertonie in Frage. Auszudehnen wären diese Untersuchungen auf Modelle der chronischen pulmonalen Hypertonie.

VII. Zusammenfassung

Die schwere pulmonale Hypertonie stellt ein bedrohliches Krankheitsbild mit eingeschränkter Prognose dar. Sie entsteht entweder auf dem Boden von Lungenerkrankungen oder liegt als primäre Form vor. Erfolgversprechende neue Therapieansätze, mit Inhalation vasodilatierender Agenzien werden augenblicklich in klinischen Studien getestet. Im Vordergrund stehen hier die Arachidonsäuremetaboliten Prostazyklin und sein stabiles Analogon Iloprost. Über deren Aktivierung der Adenylatzyklase erfolgt eine vermehrte Bildung von zyklischem Adenosinmonophosphat, das eine zentrale Rolle bei der Vasodilatation spielt. Durch Anwendung des transbronchialen Applikationsweges (Aerosolierung) dieser Substanzen kann eine auf das Lungengefäßbett begrenzte Blutdrucksenkung erzielt werden ohne eine systemische Hypotonie zu provozieren (pulmonale Selektivität). Außerdem besteht durch diese Applikationsform auch eine *intrapulmonale* Selektivität durch das Erreichen von Lungenarealen, die an der Ventilation teilnehmen. Auf diese Weise wird eine Zunahme bestehender Gasaustauschstörungen vermieden oder sogar, durch Umverteilung der Perfusion, eine Besserung derselben erzielt. Eingeschränkt wird diese Therapiemöglichkeit allerdings durch die nur kurz anhaltenden positiven hämodynamischen und den Gasaustausch betreffenden Wirkungen. Dies verhindert eine kontinuierliche pulmonalarterielle Drucksenkung und macht häufige Inhalationen nötig. Ziel der vorgelegten Arbeit war es, mögliche neue Ansatzpunkte für eine Therapie der akuten und chronischen pulmonalen Hypertonie zu finden. Dies galt insbesondere in Bezug auf die maximal erreichbare pulmonalarterielle Drucksenkung und auch auf die Zeitdauer der erzielbaren Effekte. Es galt die Hypothese zu prüfen, dass durch kombinierte Verabreichung eines Adenylatzyklasestimulus und eines Phosphodiesterase-Inhibitors eine Verbesserung der hämodynamischen Antwort zu erzielen ist. Dies geschah unter der Vorstellung, dass Phosphodiesterasen das Abbausystem des vasodilatierenden zyklischen Adenosinmonophosphat bilden.

Die Studien wurden an einer experimentell erzeugten akuten pulmonalen Hypertonie am etablierten Modell der isoliert ventilierten und blutfrei perfundierten Kaninchenlunge durchgeführt. Die gemessenen Parameter waren der pulmonalarterielle Druck, das relative Organgewicht als Maß der Ödementwicklung sowie Ventilations-/ Perfusionsverhältnisse zur Quantifizierung von Gasaustauschstörungen, die anhand der MIGET bestimmt wurden. In der vorliegenden Arbeit wurde die vasodilatative Eigenschaft des dualen Phosphodiesterase-Inhibitors Zardaverin gezeigt. Inhalative Verabreichung von Prostazyklin und seinem stabilen

Analogon Iloprost erbrachte eine intrapulmonal selektive Vasodilatation. Zur Kombinationstherapie wurde eine Dosis des Phosphodiesterase-Inhibitors etabliert, die *per se* keine Auswirkung auf die geprüften Parameter hatte. Durch die kombinierte Applikation des inhalativen Prostazyklin oder Iloprost mit Zardaverin konnte ein Synergismus hinsichtlich der Auswirkung auf die Hämodynamik, Ventilations-/ Perfusionsverteilung und die Ödementwicklung erzielt werden. Die zeitgleiche Verabreichung von Zardaverin und Iloprost stellte die wirksamste Therapiegruppe in unseren Versuchen dar.

Ansätze für nachfolgende Studien liegen in der Erforschung einer Beeinflussung chronisch pulmonal-hypertensiver Zustände. Dies gilt hinsichtlich der hämodynamischen Entwicklung dieses Krankheitsbildes. Ebenso ist die Überprüfung möglicher additiver Effekte der Proliferationshemmung durch Ko-Stimulation glatter Gefäßmuskelzellen ein herausfordernder Ansatz. Auch die klinische Relevanz einer Kombinationstherapie bleibt zu prüfen.

VIII. Literaturverzeichnis

1. Abenheim L, Moride Y, Brenot F and the International Primary Pulmonary Hypertension Study Group. Appetite-suppressant drugs and the risk of primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1996; 335: 609-616.
2. Badesch DB, Tapson VF, McGoon, Brundage BH, Rubin LJ, Wigley FM, Rich S, Barst RJ, Barrett PS, Kral KM et al., and Knobil K. Continuous Intravenous Epoprostenol for pulmonary Hypertension Due to the Scleroderma Spectrum of Disease. A randomised, Controlled Trial. *Ann of Intern Med* 2000; 132: 425-434.
3. Barer et al.,. Hypoxic pulmonary vasoconstriction in anesthetized cat. *J Physiol* 1970; 211: 139.
4. Barnard JW, Seibert AF, Prassard VR, Smart DA, Strada SJ, Taylor AE and Thompson WJ. Reversal of pulmonary capillary schema-reperfusion injury by Rolipram, a cAMP phosphodiesterase inhibitor. *J Appl physiol* 1994; 77: 774-781.
5. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, McGoon MD, Caldwell EJ, Long WA, Levy PS. Survival in primary pulmonary hypertension with long-term continuous intravenous Prostacyclin. *Ann of Intern Med* 1994; 121: 409-415.
6. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, McGoon MD, Rich S, Badesch DB. A comparison of continuous intravenous epoprostenol with conventional therapy for primary pulmonary hypertension; *N Engl J Med* 1996; 334 : 296-301.
7. Beavo J A. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional impairment of multiple isoforms. *Physiol Reviews* 1995; 75 : 725 – 748.
8. Berg JT, Breen EC, FU Z, Mathieu-Costello O, and John B West. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158 : 1920-1928.
9. Bigatello LM, Hurford WE and Hess D. Use of inhaled nitric oxide for ARDS. *Respir Car Clin Am* 1997; 3(3): 437-458.
10. Braner DA, Fineman JR, Chang and Soifer SJ. M&B 22948, a cGMP phosphodiesterase inhibitor, is a vasodilator in lambs. *Am J Physiol* 1993; 264 : H 252-H258.
11. Brenot F, Herve P, Petitpretz P. Primary pulmonary hypertension and fenfluramine use. *Br Heart J* 1993; 70: 537-541.
12. Carrithers JA, Brown D, Liu F, and Orr JA. Thromboxane A₂ mimetic U-46619 induces systemic and pulmonary hypertension and delayed tachypnea in the goat. *J Appl Physiology* 1994; 77: 1466-1473.

13. Christman BW, Mc Pherson CD, Newman JH, King GA, Bernard GR, Groves BM and Loyd JE. An imbalance between the excretion of thromboxane and Prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992; 327: 70-75.
14. Clarke WR, Uenzo S, chambers A and Doepfner P. The type 3 phosphodiesterase inhibitor milrinone and type V PDE inhibitor individually and synergistically reduce elevated pulmonary vascular resistance. *Pulm Pharmacol* 1994; 7 : 81-89.
15. Conti M, Nemoz G, Sette C and Vicini E. Recent progress in understanding the hormonal regulation of phosphodiesterases. *Endocr Rev* 1995; 16 : 370-389.
16. D'Alonzo GE, Barst RJ Ayres, Bergofsky BH, Brundage KM, Detre AP, Fishman RM, Goldring BM, Groves JT and Kernis. Survival in patients with primary pulmonary hypertension. Results from a national prospective registry. *Ann of Intern Med* 1991; 115 : 343-349.
17. Delcroix M, Melot C, Lejeune P, Leeman M and Naeije R. Cyclooxygenase inhibition aggravates pulmonary hypertension and deteriorates gas exchange in canine pulmonary embolism. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 806-810.
18. Dent G, Magnussen H, Rabe K.F. : Cyclic nucleotide phosphodiesterases in the human lung. *Lung* 1994; 172 : 129-146.
19. Eckly AE, and Lugnier C. Role of phosphodiesterase 3 and IV in the modulation of vascular cyclic AMP content by the NO/cyclic GMP pathway. *Br J Pharmacol* 1994; 113: 445-450.
20. Estler. Pharmakologie und Toxikologie. Lehrbuch für Mediziner, Veterinärmediziner, Pharmazeuten und Naturwissenschaftler, 4. Auflage. *Schattauerverlag* 1994
21. Faller DV. Endothelial cell response to hypoxic stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999; 26: 74 –84.
22. Fishman AP (ed): The pulmonary circulation: Normal and Abnormal. *Philadelphia. University of Pennsylvania Press* 1990 : 1-522.
23. Frostell D, Fratacci MD, Wain JC, Jones R and Zapol WM. Inhaled nitric oxide: a selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 1991; 83 : 2038-2047.
24. Fuster V, Steele P, Edwards w, Gersh J, Mc Goon M, Frye RL. Primary pulmonary hypertension: natural history and the importance of thrombosis. *Circulation* 1984; 70: 580-587.
25. Giaid A and Saleh D. Reduced expression of endothelia nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1995; 333 : 214-221.

26. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, Kimura S, Masaki T, Duguid WP, Stewart DJ. Expression of Endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1993; 328 : 1732-9
27. Giaid A. Nitric Oxide and Endothelin-1 in Pulmonary Hypertension. *Chest* 1998; 114 : 208S-212S.
28. Grant SM and Goa KL. Iloprost. A review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Potential in Peripheral Vascular Disease, Myocardial ischemia and Extracorporeal Circulation Procedures. *Drugs* 1992; 43(6): 889-924.
29. Hardy CC, Brading P, Robinson C and Holgate ST. Bronchoconstrictor and anti-bronchoconstrictor properties of inhaled Prostacyclin in asthma. *J Appl Physiol* 1988; 64 : 1567-1574.
30. Harrison`s Principles of internal Medicine. 13th edition. Mc Graw-Hill.
31. Higgenbottam T. The place of Prostacyclin in the clinical management of primary pulmonary hypertension. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136: 782-785.
32. Higgenbottam T, Wheeldon D, Wells, Wallwork J. Long – term treatment with continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) in primary pulmonary hypertension. *Lancet* 1984 ; 1:1046 – 1047.
33. Hlastala, M. P. Multiple inert gas elimination technique, *J Appl Physiology* 1984; 56 (1) : 1-7.
34. Hoeper, Olschewski H, Ghofrani A, Wilkens H, Winkler J, Borst M, Niedermeyer, Fabel H, Seeger W and the German PPH Study Group. A comparison of the acute hemodynamic effects of inhaled nitric oxide and aerosolised iloprost in primary pulmonary hypertension; *Journal Am Coll Cardiol* 2000; 35:176-82.
35. Hoeper, Schwarze M, Ehlerding, Adler-Schuermeier, Spiekerkoetter, Niedermeyer J, Hamm M, and Fabel H. Long-term treatment of primary pulmonary hypertension with aerosolized Iloprost, a prostacyclin analogue. *N Engl J Med* 2000; 342 : 1866-70.
36. Howell RE, Kjenkins LP, Howell DE. Inhibition of lipopolysaccharide-induced pulmonary edema by isozyme-selective phosphodiesterase inhibitors in guinea pigs. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 275: 703-709.
37. Hoymann HG, Heinrich U, Beume R, Kilian U. Comparative investigations of the effects of zardaverine and theophylline on pulmonary function in rats. *Exp Lung Res* 1994; 20: 235-50.
38. Ichinose F, Adrie C, Hurford, and Zapol WM. Prolonged pulmonary vasodilator action of inhaled nitric oxide by zaprinast in awake lambs. *J Appl Physiol* 1998; 78: 1288-1295.

39. Ichinose F, Adrie C, Hurford, Bloch and Zapol WM. Selective pulmonary vasodilation induced by aerosolized zaprinast. *Anesthesiology* 1998; 88(2): 410-416.
40. Ivy DD, Kinsella JP, Ziegler JW and Abmann SH. Dipyridamole attenuates rebound pulmonary hypertension after inhaled nitric oxide withdrawal in postoperative congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1998; 115(4): 875-882.
41. Kapitan KS, Buchbinder M, Wagner PD, and Moser KM. Mechanisms of Hypoxemia in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 1149-1154.
42. Kinsella JP, Torielli F, Ziegler JW, Ziegler DD, Ivy DD and Abmann SH. Dipyridamole augmentation of the response to inhaled nitric oxide in congenital diaphragmatic hernia. *Lancet* 1995; 39: 435-442.
43. Kleen M, Habler O, Hofstetter D, Pusch R, Müller M, Welte M and Zwissler B. Efficacy of inhaled prostanoids in experimental pulmonary hypertension. *Crit Care Med* 1998; 26: 1103-1109.
44. Layish DT, Tapson VF. Pharmacologic Hemodynamic Support in Massive Pulmonary Embolism. *Chest* 1997; 111: 218-24.
45. Lee PP, Langevitz CA, Alderice M, Aubrey PA, Bear, Baron D, Buskila, JP Dutz, I Khostanteen and S Piper. Mortality in Systemic Sclerosis (Sleroderma). *Q J Med* 1992; (82) (298):139-148.
46. Lindeborg DM, Kavanagh BP, Van Meurs K and Pearl RG. Inhaled nitric oxide does not alter the longitudinal distribution of pulmonary vascular resistance. *J Appl Physiol* 1995; 78: 341-348.
47. Manganiello VC, Murata T, tiara M, Belfrage P and Degerman E. diversity in cyclic nucleotide phosphodiesteras isozyme families. *Arch Biochem Biophys* 1995; 322: 1-13.
48. Max M and Rossaint R. Inhaled Prostacyclin in the treatment of pulmonary hypertension. *Eur J Pediatr* 1999; 158 : S23-6.
49. Mc Amthon EG, Palomo MA, Meht P and Olins GM. Depressor and natriuretic effects of M&B 22,948 a guanosine cyclic 3' 5'-monophosphate-selective phosphodiesterase inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 251: 1000-1005.
50. Mc Culloch KM, Docherty C, Mac Lean MR. Endothelin receptors mediating contraction of rat and human pulmonary resistance arteries: effects of chronic hypoxia in the rat. *Br J Pharmacol* 1998; 123 : 1621-1630.

51. Mc Laughlin, Genthner D, Panella M, Rich S. Reduction in pulmonary vascular resistance with long-term epoprostenol (prostacyclin) therapy in primary pulmonary hypertension; *N Engl J Med* 1998; 338: 273-7.
52. Melot C, Lejeune P, Leeman M, moraine JJ and Naeije R. Prostaglandin E₁ in the adult respiratory distress sandrome: Benefit for pulmonary hypertension and cost for pulmonary gas exchange. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 106-116.
53. Mikhail G, Gibbs J, Richardson M, Khagani A, Banner N, Yacoub M. An evaluation of nebulized Prostacyclin in patients with primary and secondary pulmonary hypertension. *Eur Heart J* 1997; 18: 1499-504.
54. Miller OI. Tang SF, Keech A, Celermajer DS. Rebound pulmonary hypertension on withdrawal from inhaled nitric oxide (letter). *Lancet* 1995; 346: 51-2.
55. Miotla JM, Teixeira MM and Hellewell PG. Suppression of acute lung injury in mice by an inhibitor of phosphodiesterase type 4. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 18: 411-420.
56. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR: An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable unstable substance that inhibits latelet aggregation. *Nature* 1976; 263: 663.
57. Moncada S And Vane JR : Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. *N Engl J Med* 1979; 300: 1142.
58. Moncada S And Vane JR. Prostacyclin in the cardiovascular system. *Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research (Samuelsen B, Ramwell PW and Paoletti R eds) pp43-59, Raven Press, New York 1980.*
59. Nacarelli GV and Goldstein RA. Electrohysiology of phosphodiesterase inhibitors. *Am J Cardiol* 1989; 63: 35A-50A.
60. Olschewski H, Ghofrani HA, Walmrath D, Schermuly RT, Grimminger F and Seeger. Aerosolised prostacyclin and iloprost in severe pulmonary hypertension secondary to lung fibrosis. *Am J Repir Crit Care Med* 1998; 157 : A 595.
61. Olschewski H, Ghofrani, Schmehl T, Winkler J, Wilkens, Höper M, Behr J, Kleber X and Seeger W for the German PPH Study Group: Inhaled iloprost to treat severe pulmonary hypertension (an uncontrolled trial). *Ann of Intern Med* 2000; 132: 435-443.
62. Olschewski H, Ghofrani, Walmrath D, Temmesfeld-Wollbrück B, Grimminger F and Seeger W. Recovery from circulatory shock in severe primary pulmonary hypertension (pph) with aerosilization of iloprost; *Intensive Care Medicine* 1998; 24: 631-634.

63. Olschewski H, Walmrath D, Schermuly RT, Grimminger F and Seeger W. Aerosolised prostacyclin and iloprost in severe pulmonary hypertension; *Ann of Intern Med* 1996; 124: 820-824.
64. Palevsky HI, Betsy BL, Pietra GG, Weber KT, Janicki JS, Rubin E and Fishman AP. Primary Pulmonary Hypertension. Vascular Structure, Morphometry and Responsiveness to Vasodilator Agents. *Circulation* 1989; 80 : 1207-1221.
65. Pan X, Arauz E, Krzanowski JJ, Fitzpatrick and Polson JB. Synergistic interaction between selective pharmacological inhibitors of phosphodiesterase isozymes families PDE 3 and PDE IV to attenuate proliferation of rat vascular muscle cells. *Biochem Pharmacol* 1994; 48 : 827-835.
66. Peacock AJ, dawes KE, Laurent GJ. Endothelial cell derived growth factors in pulmonary vascular hypertension. *Eur Respir Rev* 1993; 3 : 638-644.
67. Pepke-Zaba J, Higgenbottam TW, Din-Xuan AT, Stone D and Wallwor J. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilation in pulmonary hypertension. *Lancet* 1991; 338 : 1173-1174.
68. Pietra GG, Edwards W, Kay M, Rich S, Kernis J, Schloo B, Ayres S, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, Fishman AP, Goldring RM, Groves BM, Levy PS, Reid LM, Vreim CE and Williams GW. Histopathology of primary pulmonary hypertension. *Circulation* 1989; 80: 1198-1206.
69. Pinsky D, Oz M, Liao H, Morris S, Brett, Sciacca R, Karakurum M and Novygrad R. Restoration of camp second messenger pathway enhances cardiac preservation for transplantation in a betatrophic rat model. *J Clin Invest.* 1993; 92: 2994-3002.
70. Polson JB and Strada SJ. Cyclic nucleotide phosphodiesterases and vascular smooth muscle. Chronic hypoxic pulmonary hypertension. Cell biology and pathophysiology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1996; 36: 403-427.
71. Rabe K F, Tenor G, Dent C, Schudt C, Nakashima and Magnussen H. Identification of PDE isozymes in human pulmonary artery and effect of selective PDE inhibitors. *Am J Physiol* 1994; 266 : L536-543
72. Radermacher P, Santak B Wüst HJ, Tarnow J and Falke KJ. Prostacyclin and right ventricular functions in patients with pulmonary hypertension associated with ARDS. *Intensive Care Med* 1990; 16: 227-232.
73. Radermacher P, Santak B, Wurst HJ, Tarnow J, and Falke KJ. Prostacyclin for the treatment of pulmonary hypertension in the adult respiratory distress syndrome: effects on

- pulmonary capillary pressure and ventilation-perfusion distributions. *Anesthesiology* 1990; 72(2): 238-44.
74. Rich S, Kaufmann E, and Levy PS. The effect of high doses of calcium-channel blockers on survival in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992; 327 (2): 117-119.
 75. Rimar S and Gillis CN. Selective pulmonary vasodilatation by inhaled nitric oxide is due to hemoglobin inactivation. *Circulation* 1993; 88 : 2884-2887.
 76. Rimar S and Gillis CN. Site of pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide in the perfused lung. *J Appl Physiol* 1995; 78 : 1745-1749.
 77. Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Slama K, Pison and Zapol WM. Inhaled Nitric Oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993; 328: 399-405.
 78. Rubin LJ, Groves BM, Reeves JT, Frosolono M, Handel F, Cato AE. Prostacyclin-induced acute pulmonary vasodilation in primary pulmonary hypertension; *Circulation* 1982; 66: 334-338.
 79. Rubin LJ, Mendoza M, Hood M, Mc Goon M, Barst R, Williams WB, Diehl J and Long W. Treatment of primary pulmonary hypertension with continuous intravenous Prostacyclin (epoprostenol): results of randomised trial. *Ann Intern Med* 1990; 112: 485-491.
 80. Schermuly R T, Ghofrani H A, Enke B, Weissmann N, Grimminger F, Seeger W, Schudt C and Walmrath D. Low-dose systemic Phosphodiesterase inhibitors Amplify the Pulmonary vasodilatory Response to inhaled Prostacyclin in Experimental Pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160 :1500-1506.
 81. Schermuly R T, Roehl A, Weissmann N, Ghofrani H A, Schudt C, Tenor H, Grimminger F, Seeger W, and Walmrath D. Subthreshold of Specific Phosphodiesterases Type 3 and 4 Inhibitors Enhance the Pulmonary Vasodilatory Response to nebulized Prostacyclin with Improvement in Gas Exchange. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2000; 292: 512-520.
 82. Schermuly RT, Schmehl T, Günther A, Grimminger F, Seeger W and Walmrath D. Ultrasonic nebulization for efficient delivery of surfactant in a model of acute lung injury: Impact on gas exchange. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156 : 445-453. .
 83. Schmehl T, Gebhardt J, Schütte H, Scharmann A and Seeger W. On-line laser-photometric monitoring of aerosoldeposition in ventilated rabbit lungs. *J Appl Physiol* 1996; 80 : 351 – 356.
 84. Schmidt RF & Thews G (Hrsg.) Physiologie des Menschen, 24. Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona 1990.

85. Schudt C, Winder S, Müller B und Ukena D. zardaverine as a selective inhibitor of phosphodiesteras isozymes. *Biochem Pharmacol* 1991; 42: 153-162.
86. Schudt C, Winder S, Ellze M, Kilian U und Beume R. Zardaverine : a cyclic AMP specific PDE III/IV inhibitor. *Agents Action Suppl.* 1991; 34: 379-402.
87. Seeger W, Walter H, Suttorp N, Muhly M and Bhakdi S. Thromboxane-mediated hypertension and vascular leakage evoked by low doses of *Escherichia coli* hemolysin in rabbit lungs. *J Clin Invest* 1989; 84 : 220 – 227.
88. Seeger W., Menger M, Walmrath D, Becker G, Grimminger F and Neuhof H. Arachidonic lipoxigenase pathways and increased vascular permeability in isolated rabbit lungs. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136 : 964 – 972.
89. Seeger W., Walmrath D., Grimminger F., Rosseau S., Schütte H., Krämer H-J., Ermert, and Kiss L. Adult respiratory distress syndrome: model systems using isolated perfused rabbit lungs. *Methods in enzymology* 1990; 4233 : 549 – 584.
90. Seeger W, Hansen T, Rossig R, Schmehl T, Schütte, Kramer HJ, Walmrath D, Weissman N, Grimminger f, Suttorp N. Hydrogen peroxide-induced increase in lung endothelial and epithelial permeability – effect of adenylate cyclase stimulation and phsphodiesterase inhibition. *Micrvasc Res* 1995; 50: 1-17.
91. Siegenthaler W. (Hrsg) Klinische Pathophysiologie, 7 Auflage; Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York 1994.
92. Sitbon O, Humbert M, Jagot LJ, Taravella O, Fartoukh M, Parent F, Herve P, Simmeneau G. Inhaled nitric oxide as a screening agent for safely identifying responders to oral calcium channel blockers in primary pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 1998; 12: 265-270.
93. Severinghaus J W, Swenson W, Finley T N, Lategola M T and Williams J. Unilateral hypoventilation produced in dogs by occluding one pulmonary artery. *J Appl Physiol* 1961; 16 : 53 – 60.
94. Shibamoto T, Wang HG, Yamaguchi, Hayashi T, Saeki Y, Tanaka S and Koyama S. Effects of Thromboxane A₂ on vascular Resistance Distribution and Permeability in Isolated Blood-perfused Dog Lungs. *Lung* 1995; 173: 209-221.
95. Suttorp N, Hippenstiel S, Fuhrmann M, Krüll M, und Seybold J. Phosphodiesterasen-Inhibition und pulmonale Strombahn - ein neuer Therapieansatz ? *Atemwegs- und Lungenkrankheiten* 1996; 22 : 560-566.
96. Suttorp N, Weber U, Welsch T and Schudt C. Role of Phosphodiesterases in the Regulation of Endothelial Permeability in Vitro. *J Clin Invest* 1993; 91: 1421 – 1428.

97. Thusu KG, Morin FC, Russel JA and Steinhorn RH. The cGMP phosphodiesterase inhibitor zaprinast enhances the effect of nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*, 1995; 152: 1605-1610.
98. Torphy TJ. Phosphodiesterase isozymes: molecular targets for novel antiasthmatic agents. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 351-370
99. Troncy E, Francoeur M and Blaise G. Inhaled nitric oxide: Clinical applications, indications and toxicology. *Can J Anaseth* 1997; 44 : 973 – 988.
100. Troncy EJ, Collet JP, Shapiro S, Guimond JG, Nlair L, Ducruet T, Fràncoeur M, Charbonneau M and Blaise G. Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1483-1488.
101. Uhlig S, Featherstone RL, Held HD, Nusing R, Schudt C und Wendel A. Attenuation by phosphodiesterase inhibitors of lipopolysaccharide-induced thromboxane release and bronchoconstriction in rat lungs. *J Pharmacol Esp Ther*. 1997; 283: 1453-9.
102. Viner SM, Bagg BR, Auger WR and Ford GT. The management of Pulmonary Hypertension Secondary to Chronic Thromboembolic Disease. *Progress in Cardiovascular Diseases*. 1994; 37: 79-92.
103. Voelkel NF, Hoeper M, Maloney J, Tuder RM. Vascular endothelial growth factor in pulmonary hypertension. *Ann N Y Acad Sci* 1996 Oct 31; 796:186-93.
104. Voelkel NF, Gerber JG, Mc Murthry, Nies AS and Reeves JT. Release of vasodilator Prostaglandin, PGI₂, from isolated rat lung during vasoconstriction. *Circ Res* 1981; 48: 207-213.
105. Wagner PD and West JB. Ventilation-Perfusion relationships in *Pulmonary Gas Exchange (West JB ed) pp233-235. Academic Press, New York.*
106. Wagner Peter D, Saltzman Herbert A. and West John B. Measurement of continuous distributions of ventilation-perfusion ratios: theory. *J Appl Physiology* 1974; 36: 588 – 599.
107. Wagner Peter D. Ventilation /Perfusion Relationships. *Clinical physiology* 1981 ; 1: 437-451.
108. Wagner RS, Smith CJ, Taylor AM and Rhoades RA. Phosphodiesterase inhibition improves agonist-induced relaxation of hypertensive pulmonary arteries. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997; 282 : 1650 – 1657.
109. Walmrath D, König R, Ernst C, Brückner H, Grimminger F and Seeger W. Ventilation-perfusion relationships in isolated blood-free perfused rabbit lungs, *J Appl. Physiology* 1992; 72 : 374 – 382.

110. Walmrath D, Olschewski H, Grimminger F and Seeger W. Vasodilative Prostanoides von der Infusion zum Aerosol: neue Perspektiven für das ARDS und die primäre pulmonale Hypertonie. *Intensivmed* 1997; 34: 370-380.
111. Walmrath D, Schermuly RT, Pilch J, Grimminger F and Seeger W. Effects of inhaled versus intravenous vasodilators in experimental pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 1997; 10 : 1084 – 1092.
112. Walmrath D, Schneider T, Schermuly RT, Olschewski H, Grimminger F and Seeger W. Direct comparison of inhaled nitric oxide and aerosolized prostacyclin in acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153 : 991 – 996.
113. Walmrath D, Schneider T, Pilch J, Grimminger F and Seeger W. Aerosolized prostacyclin reduces pulmonary artery pressure and improves gas exchange in the adult respiratory distress syndrome (ARDS). *Lancet* 1993; 342 : 961 – 962.
114. Walmrath D, Ghofrani HA, Rosseau S, Schütte H, Cramer A, Kadus W, Grimminger F, Bhakdi S and Seeger W. Endotoxin “priming” potentiates lung vascular abnormalities in response to e coli hemolysin – an example of endo- and exotoxin cooperativity. *J Exp Med* 1994, 180:1437-1439.
115. Walmrath D, Schneider T, Pilch J, Schermuly RT, Grimminger F and Seeger W. Effects of aerosolized prostacyclin in severe pneumonia. Impact of fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151 : 724 – 730.
116. Wax D, Garofano R and Barst RJ. Effects of Long-term Infusion of Prostacyclin on Exercise Performance in Patients With Primary Pulmonary Hypertension. *Chest* 1999; 116: 914-920.
117. Wensel R, Opitz Ch, Ewert, Bruch L, Kleber F. Effects of iloprost inhalation on exercise capacity and ventilatory efficiency in patients with primary pulmonary hypertension; *Circulation* 2000; 101: 2388-2392.
118. West John B. Pulmonary pathophysiology – the essentials, 4th edition. *Williams & Wilkins* 1992.
119. Ziegler JW, Ivy D, Fox J, Kinsella, Clarke and Abman SH. Dipyridamole, a cGMP phosphodiesterase inhibitor, causes pulmonary vasodilation in the ovine fetus. *Am J Physiol* 1995; 269: H473-H479.
120. Ziegler JW, Ivy D, Fox J, Kinsella, Clarke and Abman SH. Dipyridamole potentiates pulmonary vasodilation induced by acetylcholine and nitric oxide in the ovine fetus. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157 : 1104-1110.

121. Ziesche, Petkov, Wittmann, Kopatschka, Stiebellehner, Schenk, Germann P, Göder, Ullrich, Block LH. Treatment with epoprostenol reverts nitric oxide non-responsiveness in patients with primary pulmonary hypertension; *Heart* 2000; 83: 406-409.
122. Zwissler B, Kemming G, Habler O, Kleen M, Merkel M, Haller M, Briegel J, Welte M and Peter K. Inhaled prostacyclin versus inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome. *Am Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1671-1677.

Anhang

Tabellen

Tab.3 Pulmonalarterielle Druckwerte in [mmHg] Mittelwert (MEAN) +/- Standardfehler (SEM), * = p < 0,05

Zeitpunkt	GA		15 Min		30 Min		35 Min		40 Min		45 Min	
	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM
Kontrollen, n=4	8,5 +/-	0,52	8,7 +/-	0,47	8,8 +/-	0,25	8,3 +/-	0,35	9 +/-	0,27	8,5 +/-	0,23
U 46619, n=6	9 +/-	0,51	35,58 +/-	1,58	34,92 +/-	1,04	34,58 +/-	0,73	34,58 +/-	0,73	34,50 +/-	0,72
Zardaverin, n=4	8,9 +/-	0,65	33,91 +/-	0,52	35,78 +/-	1,17	34,55 +/-	0,97	34,53 +/-	0,82	35,03 +/-	0,79
PGI2-aerosol, n=5	7,85 +/-	0,67	32,86 +/-	0,39	33,08 +/-	1,01	28,62 +/-	1,47	28,97 +/-	1,56	*29,09 +/-	1,68
PGI2-aer.+Zardaverin, n=4	10 +/-	0,63	33,32 +/-	0,24	34,70 +/-	0,58	29,32 +/-	1,34	27,99 +/-	0,45	*27,84 +/-	0,73
Iloprostaaerosol, n=6	8 +/-	0,38	32,5 +/-	0,28	33,63 +/-	0,36	27,79 +/-	0,62	25,56 +/-	0,71	*24,55 +/-	0,76
Ilo-aer. + Zardaverin, n= 4	7,18 +/-	0,18	33,23 +/-	0,32	33,78 +/-	0,28	28,39 +/-	0,78	25,46 +/-	0,55	*23,54 +/-	1,05
Zeitpunkt	60 Min	75 Min	90 Min	120 Min	150 Min	180 Min						
Kontrollen, n=4	8,2 +/-	0,37	8,2 +/-	0,43	8,4 +/-	0,7	8,7 +/-	0,5	10 +/-	0,35	10,5 +/-	0,43
U 46619, n=6	34,25 +/-	0,66	33,50 +/-	37,00	32,67 +/-	0,63	30,80 +/-	1,26	29,75 +/-	0,53		
Zardaverin, n=4	35,32 +/-	0,67	34,26 +/-	1,29	33,98 +/-	1,36	32,78 +/-	1,62	31,44 +/-	1,25		
PGI2-aerosol, n=5	*27,78 +/-	1,70	*27,67 +/-	1,72	28,39 +/-	1,88	29,31 +/-	1,68	28,58 +/-	1,51		
PGI2-aer.+Zardaverin, n=4	*29,81 +/-	0,30	*29 +/-	0,53	*28,35 +/-	0,59	26,72 +/-	1,77	26,63 +/-	2,16		
Iloprostaaerosol, n=6	*24,65 +/-	0,81	*24,61 +/-	0,33	*23,81 +/-	0,60	*25,16 +/-	1,18	27,65 +/-	2,08		
Ilo-aer. + Zardaverin, n= 4	*22,16 +/-	1,66	*21,197 +/-	1,07	*21,198 +/-	1,11	*21,746 +/-	1,19	*22,63 +/-	0,75	*23,72 +/-	1,46
Zeitpunkt	210 Min	240 Min										
Kontrollen, n=4	10 +/-	0,48										
U 46619, n=6			9,8 +/-	0,78								
Zardaverin, n=4												
PGI2-aerosol, n=5												
PGI2-aer.+Zardaverin, n=4												
Iloprostaaerosol, n=6												
Ilo-aer. + Zardaverin, n= 4	*25,41 +/-	1,97	31,32 +/-	0,94								

Tab. 5 Ventilations/ Perfusionsdaten Mittelwert (MEAN) +/- Standardfehler (SEM), * = p <0,05

V/Q daten GA	Kontrollen		U 46619 Kontrolle		Zardaverin		PGI2-aerosol		PGI2-aer. + Zarda.		Iloprostaerosol		Ilo-aer. + Zardaverin	
	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM
Shunt	1,33 +/-	0,66	2,48 +/-	1,64	2,73 +/-	0,62	1,45 +/-	0,45	1,23 +/-	0,31	1,20 +/-	0,62	1,98 +/-	1,32
low V/Q	0,00 +/-	0,00	0,00 +/-	0,00	0,00 +/-	0,00	0,00 +/-	0,00	0,00 +/-	0,00	0,66 +/-	0,66	0,00 +/-	0,00
normal V/Q	98,67 +/-	0,35	97,48 +/-	1,61	97,15 +/-	0,65	98,55 +/-	0,45	98,75 +/-	0,32	98,20 +/-	0,64	97,98 +/-	1,39
high V/Q	0,00 +/-	0,00	0,00 +/-	0,00	0,00 +/-	0,00	0,00 +/-	0,00	0,03 +/-	0,02	0,02 +/-	0,02	0,00 +/-	0,00
deathspace	47,22 +/-	2,50	55,15 +/-	2,38	52,28 +/-	3,50	45,15 +/-	1,76	53,05 +/-	3,10	48,20 +/-	3,74	49,98 +/-	3,64
rem Sum	3,65 +/-	1,33	5,64 +/-	2,77	4,64 +/-	0,10	40,53 +/-	1,75	3,80 +/-	1,77	2,47 +/-	0,57	2,78 +/-	2,10
mean of Q	1,03 +/-	0,03	1,02 +/-	0,04	1,07 +/-	0,08	1,12 +/-	0,07	1,02 +/-	0,10	1,13 +/-	0,14	1,40 +/-	0,18
mean of V	1,15 +/-	0,13	1,19 +/-	0,11	1,31 +/-	0,14	1,38 +/-	0,13	1,41 +/-	0,10	1,51 +/-	0,22	1,65 +/-	0,15
log SD _Q	0,47 +/-	0,25	0,46 +/-	0,24	0,61 +/-	0,16	0,46 +/-	0,04	0,49 +/-	0,06	0,54 +/-	0,05	0,41 +/-	0,06
log SD _V	0,35 +/-	0,02	0,32 +/-	0,03	0,36 +/-	0,03	0,45 +/-	0,04	0,70 +/-	0,19	0,52 +/-	0,05	0,35 +/-	0,04
V/Q daten 30 min														
Shunt	2,35 +/-	1,32	10,63 +/-	2,19	9,43 +/-	2,59	11,10 +/-	4,05	5,15 +/-	1,22	7,75 +/-	4,53	5,30 +/-	1,94
low V/Q	0,00 +/-	0,00	0,12 +/-	0,14	0,00 +/-	0,00	2,80 +/-	2,36	1,70 +/-	1,51	1,38 +/-	1,38	0,00 +/-	0,00
normal V/Q	97,65 +/-	1,53	88,25 +/-	2,43	5,69 +/-	2,84	83,40 +/-	6,09	89,78 +/-	3,92	89,90 +/-	6,24	92,55 +/-	1,62
high V/Q	0,00 +/-	0,00	0,93 +/-	0,31	0,65 +/-	0,32	2,65 +/-	0,58	1,48 +/-	0,48	2,23 +/-	0,44	2,00 +/-	0,39
deathspace	48,33 +/-	2,33	57,53 +/-	1,78	43,80 +/-	2,19	43,00 +/-	5,83	55,03 +/-	1,00	46,28 +/-	2,26	50,08 +/-	2,92
rem Sum	3,47 +/-	1,25	4,27 +/-	2,19	3,59 +/-	1,80	1,96 +/-	1,40	1,37 +/-	0,70	0,76 +/-	0,27	1,72 +/-	0,88
mean of Q	1,07 +/-	0,05	0,71 +/-	0,08	0,11 +/-	0,06	0,54 +/-	0,08	0,66 +/-	0,07	0,74 +/-	0,15	0,69 +/-	0,09
mean of V	1,17 +/-	0,15	3,18 +/-	0,51	1,00 +/-	0,50	6,97 +/-	1,95	3,86 +/-	0,86	4,76 +/-	0,57	2,96 +/-	0,52
log SD _Q	0,52 +/-	0,23	0,80 +/-	0,16	0,09 +/-	0,05	1,13 +/-	0,09	0,90 +/-	0,12	1,06 +/-	0,03	1,04 +/-	0,04
log SD _V	0,37 +/-	0,03	1,55 +/-	0,11	0,31 +/-	0,16	1,67 +/-	0,09	1,43 +/-	0,22	1,56 +/-	0,11	1,51 +/-	0,06
V/Q daten 45 min														
Shunt	3,20 +/-	1,57	16,75 +/-	4,36	13,46 +/-	4,65	15,80 +/-	7,50	9,13 +/-	4,21	8,12 +/-	2,13	*4,975 +/-	1,35
low V/Q	0,00 +/-	0,00	0,18 +/-	0,22	2,60 +/-	1,61	0,00 +/-	0,00	0,48 +/-	0,42	0,00 +/-	0,00	0,00 +/-	0,00
normal V/Q	96,80 +/-	2,35	81,83 +/-	4,42	82,32 +/-	5,39	80,58 +/-	7,71	88,80 +/-	5,30	89,66 +/-	2,14	91,80 +/-	0,68
high V/Q	0,00 +/-	0,00	1,25 +/-	0,26	1,66 +/-	0,24	3,58 +/-	0,63	1,58 +/-	0,87	2,22 +/-	0,09	3,23 +/-	1,17
deathspace	50,43 +/-	2,22	56,35 +/-	2,35	51,26 +/-	1,74	59,95 +/-	3,30	67,05 +/-	3,38	63,18 +/-	1,51	61,48 +/-	2,61
rem Sum	3,98 +/-	1,32	5,76 +/-	3,28	0,95 +/-	0,43	1,52 +/-	0,99	1,28 +/-	0,80	0,35 +/-	0,18	0,39 +/-	0,13
mean of Q	1,10 +/-	0,50	0,68 +/-	0,04	1,62 +/-	0,99	1,09 +/-	0,13	1,48 +/-	0,33	1,13 +/-	0,12	1,23 +/-	0,00
mean of V	1,20 +/-	0,23	3,75 +/-	0,36	4,38 +/-	0,53	7,27 +/-	1,71	3,92 +/-	0,71	3,99 +/-	0,21	4,67 +/-	0,85
log SD _Q	0,55 +/-	0,23	0,86 +/-	0,10	1,07 +/-	0,11	1,13 +/-	0,09	0,95 +/-	0,17	1,05 +/-	0,05	1,08 +/-	0,03
log SD _V	0,38 +/-	0,04	1,74 +/-	0,10	1,64 +/-	0,09	1,35 +/-	0,17	0,97 +/-	0,16	1,17 +/-	0,10	1,09 +/-	0,10

Tab. 5 Ventilations/ Perfusiondaten Mittelwert (MEAN) +/- Standardfehler (SEM), * = p <0,05

V/Q daten	Kontrollen		U 46619 Kontrolle		Zardaverin		PGI2-aerosol		PGI2-aer. + Zarda.		Iloprostaerosol		Ilo-aer. + Zardaverin	
	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM
Shunt	2,89 +/-	1,47	34,68 +/-	7,60	23,68 +/-	7,79	24,65 +/-	8,28	18,27 +/-	7,31	*11,62 +/-	2,85	*6,1	+/-
low V/Q	0,00 +/-	0,00	0,75 +/-	0,92	1,90 +/-	1,66	1,18 +/-	0,85	3,27 +/-	1,87	1,00 +/-	0,74	0,58 +/-	0,51
normal V/Q	97,11 +/-	2,25	62,87 +/-	7,88	74,64 +/-	8,10	72,13 +/-	8,54	77,33 +/-	9,59	85,72 +/-	2,97	91,50 +/-	0,93
high V/Q	0,00 +/-	0,00	1,77 +/-	0,31	1,74 +/-	0,22	2,05 +/-	0,23	1,07 +/-	0,42	1,68 +/-	0,21	1,78 +/-	0,40
deathspace	52,34 +/-	2,37	56,97 +/-	2,23	51,76 +/-	2,57	52,10 +/-	2,87	68,27 +/-	2,56	54,78 +/-	0,95	55,80 +/-	1,78
rem Sum	5,98 +/-	2,11	2,14 +/-	1,35	0,54 +/-	0,28	1,84 +/-	1,58	0,19 +/-	0,09	0,63 +/-	0,25	0,32 +/-	0,11
mean of Q	1,08 +/-	0,35	0,77 +/-	0,06	0,66 +/-	0,07	0,60 +/-	0,05	1,20 +/-	0,37	0,62 +/-	0,06	0,61 +/-	0,04
mean of V	1,25 +/-	0,26	5,87 +/-	1,25	5,42 +/-	0,92	5,93 +/-	1,18	4,69 +/-	1,09	4,02 +/-	0,55	4,11 +/-	0,86
log SD _Q	0,52 +/-	0,18	1,08 +/-	0,16	1,10 +/-	0,07	1,14 +/-	0,11	1,21 +/-	0,25	1,07 +/-	0,05	1,06 +/-	0,01
log SD _V	0,40 +/-	0,06	1,66 +/-	0,10	1,63 +/-	0,05	1,64 +/-	0,06	1,09 +/-	0,23	1,56 +/-	0,05	1,51 +/-	0,12
V/Q daten 90 min														
Shunt	3,50 +/-	1,23	53,92 +/-	6,23	40,22 +/-	6,89	*30,525 +/-	4,55	*29,45 +/-	7,78	*16,06 +/-	3,43	*7,025 +/-	1,66
low V/Q	0,00 +/-	0,00	0,02 +/-	0,02	3,00 +/-	2,87	8,58 +/-	5,99	2,88 +/-	1,96	0,72 +/-	0,47	1,73 +/-	0,89
normal V/Q	96,50 +/-	2,63	43,95 +/-	6,48	56,50 +/-	7,59	59,45 +/-	7,86	66,18 +/-	9,22	81,34 +/-	3,61	87,58 +/-	4,20
high V/Q	0,00 +/-	0,00	2,13 +/-	0,34	2,30 +/-	0,21	1,45 +/-	0,23	1,55 +/-	0,46	1,92 +/-	0,26	1,45 +/-	0,31
deathspace	51,63 +/-	3,05	59,32 +/-	1,25	52,32 +/-	3,08	60,63 +/-	3,54	64,23 +/-	2,09	54,84 +/-	1,56	54,38 +/-	1,90
rem Sum	3,78 +/-	2,11	0,26 +/-	0,13	0,96 +/-	0,71	6,20 +/-	3,74	0,28 +/-	0,10	0,86 +/-	0,32	0,46 +/-	0,20
mean of Q	1,21 +/-	0,41	0,90 +/-	0,12	0,81 +/-	0,13	0,46 +/-	0,06	0,61 +/-	0,12	0,62 +/-	0,07	0,59 +/-	0,05
mean of V	1,24 +/-	0,24	9,09 +/-	1,74	7,56 +/-	1,05	4,60 +/-	0,90	8,78 +/-	3,24	4,63 +/-	0,62	3,77 +/-	0,61
log SD _Q	0,58 +/-	0,08	1,09 +/-	0,08	1,23 +/-	0,12	1,37 +/-	0,20	1,07 +/-	0,11	1,13 +/-	0,10	1,06 +/-	0,03
log SD _V	0,41 +/-	0,04	1,69 +/-	0,08	1,55 +/-	0,05	1,38 +/-	0,20	1,60 +/-	0,12	1,63 +/-	0,06	1,58 +/-	0,10
V/Q daten 120 min														
Shunt	4,21 +/-	1,35	57,30 +/-	7,20	51,32 +/-	5,11	37,10 +/-	10,99	*32,275 +/-	7,41	*22,08 +/-	5,10	*7,5	+/-
low V/Q	0,00 +/-	0,00	0,00 +/-	0,00	0,96 +/-	0,96	0,00 +/-	0,00	2,28 +/-	1,91	0,52 +/-	0,23	0,80 +/-	0,71
normal V/Q	95,79 +/-	2,34	40,46 +/-	7,42	45,48 +/-	4,71	61,48 +/-	10,61	63,50 +/-	8,87	75,22 +/-	5,24	90,10 +/-	2,53
high V/Q	0,00 +/-	0,00	2,26 +/-	0,31	2,28 +/-	0,24	1,70 +/-	0,49	1,98 +/-	0,68	2,28 +/-	0,23	1,65 +/-	0,23
deathspace	52,33 +/-	1,33	62,54 +/-	0,28	55,44 +/-	2,45	62,55 +/-	6,51	63,78 +/-	2,24	54,56 +/-	1,13	52,78 +/-	0,91
rem Sum	4,32 +/-	1,33	0,88 +/-	0,65	0,16 +/-	0,04	3,68 +/-	2,20	1,27 +/-	0,87	1,34 +/-	0,55	0,49 +/-	0,15
mean of Q	1,28 +/-	0,54	0,82 +/-	0,13	1,02 +/-	0,18	0,75 +/-	0,17	0,60 +/-	0,12	0,61 +/-	0,08	0,67 +/-	0,08
mean of V	1,38 +/-	0,13	11,36 +/-	2,62	8,23 +/-	1,53	4,76 +/-	0,96	9,27 +/-	3,10	5,77 +/-	0,42	4,15 +/-	0,45
log SD _Q	0,68 +/-	0,05	1,19 +/-	0,09	1,18 +/-	0,08	0,98 +/-	0,07	1,07 +/-	0,12	1,17 +/-	0,11	1,08 +/-	0,08
log SD _V	0,80 +/-	0,03	1,63 +/-	0,10	1,46 +/-	0,06	1,53 +/-	0,20	1,68 +/-	0,10	1,69 +/-	0,07	1,60 +/-	0,10

Tab. 5 Ventilations/ Perfusionsdaten Mittelwert (MEAN) \pm Standardfehler (SEM), * = p <0,05

V/Q daten 240 min	Kontrollen		U 46619 Control		Zardaverin		PGI2-aerosol		PGI2-aer. + Zarda.		Iloprostaerosol		Ilo-aer. + Zardaverin	
	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM	MEAN	SEM
Shunt	5,5 +/-	1,98											23,17 +/-	5,43
low V/Q	0,03 +/-	0,01											6,2 +/-	1,6
normal V/Q	94,5 +/-	2,1											68,07 +/-	6,22
high V/Q	0,33 +/-	0,03											2,6 +/-	0,41
deathspace	53,1 +/-	2,35											58,23 +/-	1,43
rem Sum	1,3 +/-	1,5											0,15 +/-	0,09
mean of Q	1,46 +/-	0,46											0,45 +/-	0
mean of V	1,38 +/-	0,32											9,04 +/-	1,94
log SD _Q	0,91 +/-	0,34											1,32 +/-	0,05
log SD _V	0,98 +/-	0,03											1,71 +/-	0,06

Lebenslauf

Name : Hanno Helmut Leuchte
Geburtsdatum : 09.07.1970
Geburtsort : Mainz
Familienstand : ledig
Nationalität : deutsch
Adresse privat : Hansastr.110, 81373 München
Telefon : 089-74367199

Ausbildung :

seit Juni 2001	Wissenschaftlicher Assistent, Medizinischen Klinik und Poliklinik I, Klinikum Grosshadern, München
12. 06. 2001	Approbation als Arzt
Dez 1999 - Mai 2001	Arzt im Praktikum, Medizinischen Klinik und Poliklinik I, Klinikum Grosshadern, München
	Amerikanisches Staatsexamen, 2. Abschnitt
Okt 1992 -1999	Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität Giessen, Amerikanisches Staatsexamen, 1. Abschnitt
Mai 1990 1981 – 1990	Allgemeine Hochschulreife Albert-Einstein-Gymnasium, Frankenthal

Wehrdienst :

Juli 1990 - Juni 1991	Grundwehrdienst
Sept. 1991 - Sept. 1992	Freiwillig Soziales Jahr

Danksagung

Für meine Eltern, meinen Bruder Heiko und Ina, die mir mein Studium und diese Arbeit möglich machten.

Ich danke der Arbeitsgruppe, die meinen Weg in der Medizin wesentlich prägte.