Einfluss von Phosphodiesteraseinhibition auf die gefässerweiternde Wirkung von inhalativem Prostazyklin in einem experimentellen Modell der akuten pulmonalen Hypertonie

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Justus- Liebig- Universität Giessen

Vorgelegt von	Enke, Beate, geb. Sturm
aus	Haiger
Giessen	2008

Aus dem Zentrum für innere Medizin
Medizinische Klinik II des
Universitätsklinikums Giessen und Marburg GmbH, Standort Giessen
Leiter: Herr Prof. Dr. med. Werner Seeger

Gutachter : Prof. Dr. R. Schermuly

Gutachter: PD Dr. B. Rosengarten

Tag der Disputation: 16.07.2008

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen

1. Einleitung

1.1. Pulmonale Zirkulation

a. Physiologie der pulmonalen Zirkulation

b. Pathophysiologische Veränderungen der pulmonalen Hypertonie

c. Klassifikation der pulmonalen Hypertonie

1.2. Behandlungsstrategien der pulmonalen Hypertonie

a. allgemeine medikamentöse Massnahmen

b. Stickstoffmonoxid

c. Prostazyklin (PGI_2)

d. Phosphodiesterasen und Inhibitoren

e. Einschränkungen der bisherigen Therapie

1.3. Ziele der vorliegenden Arbeit

2. Material und Methoden

2.1. Materialien

a. Substanzen

b. Geräte und Herstellerangaben

2.2. Methodik

Modell der akuten pulmonalen Hypertonie am Kaninchen

a. Beschreibung des Ganztiermodells
b. Präparation des Tieres
c. Beatmungssystem

d. Hämodynamik und Blutgase
e. Aerosolierung von Prostazyklin

f. Modell der U46619- induzierten
akuten pulmonalen Hypertonie
g. Registrierung der Parameter

3. Experimenteller Teil

3.1. Untersuchung zur Beeinflussung der Hämodynamik und des Gasaustausches in der U46619 induzierten pulmonalen Hypertonie

3.2. Standardisierte Vorgänge

3.3. Statistische Vergleiche

4. Ergebnisse

4.1 Vergleichszeitpunkte
4.2 Kontrollversuche unter Ruhebedingungen
4.3 Einfluss einer U46619- Infusion auf den pulmonalarteriellen- und systemischen Druck, sowie das Herzzeitvolumen und den Gasaustausch
4.4 Dosiswirkungskurven der Phosphodiesterase (PDE)- Inhibitoren auf die U46619- induzierte pulmonale Hypertonie
4.5 Vergleich der PDE- Inhibitoren in hämodynamisch effektiver Dosis auf den pulmonalarteriellen Druck und Widerstand unter U46619- Infusion
4.6 Vergleich der PDE- Inhibitoren in hämodynamisch effektiver Dosis auf das Herzzeitvolumen, sowie den systemischen Druck unter U46619- Infusion
4.7 Einfluss der unterschiedlichen PDE- Inhibitoren in unterschwelliger Dosis

auf die pulmonale und systemische Hämodynamik, sowie den Gasaustausch unter U46619- Infusion

4.8 Einfluss von aerosoliertem Prostazyklin (PGI_2) auf die pulmonale und systemische Hämodynamik, sowie den Gasaustausch unter U46619- Infusion

4.9 Einfluss einer kombinierten Gabe von PGI_2 in Ko- Applikation mit einem intravenös verabreichten selektiven PDE- Inhibitor in niederschwelliger Dosis

4.10 Einfluss von aerosoliertem PGI_2 in Ko- Applikation mit einem intravenös verabreichten dual- selektiven PDE- 3/4- Inhibitor in niederschwelliger Dosis

5. Diskussion

5.1 Modell der akuten pulmonalen Hypertonie durch Infusion des Thromboxanmimetikums U46619

5.2 Dosisabhängige Drucksenkung durch Inhibition der Phosphodiesterase 3, 4, 5 sowie dualselektive Inhibition der Phosphodiesterase 3 + 4 unter U46619- Infusion

5.3 Pulmonal arterielle Drucksenkung unter aerosoliertem Prostazyklin

5.4 Synergistischer Effekt durch die Kombination von inhalativem PGI_2 mit jeweils einer unterschwelligen Dosis eines PDE- Inhibitors auf die pulmonale und systemische Hämodynamik

6. Zusammenfassung und Ausblick

7. Literaturverzeichnis

Anhang

Tabellen

Publikationsverzeichnis

Lebenslauf

Danksagung

Abkürzungen

ATP	Adenosin Triphosphat
Ca	Calcium
cAMP	zyklisches Adensosinmonophosphat
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDRF	Endothelium Derived Relaxing Factor (Stickstoffmonoxid)
GTP	Guanosintriphosphat
HIV	Human Immunodefficiency Virus
HZV	Herzzeitvolumen
IPAH	Idiopathisch pulmonal arterielle Hypertonie (FrüherPPH)
MEAN	Arthimetischer Mittelwert
NO	Stickstoffmonoxid
PA	Pulmonalarterie
PAH	Pulmonal arterielle Hypertonie
PAP	Pulmonal arterial pressure (Pulmonalarterieller Druck)
PAWP	Pulmonal arterial wedge pressure (Pulmonalarterieller Verschlussdruck)
PEEP	Positve end expiratory pressure (positiver endexpiratorischer Druck)
PGI_2	Prostazyklin
PH	Pulmonale Hypertonie
PPH	Primäre pulmonale Hypertonie
PVR	Pulmonal vasculare resistance (pulmonal vaskulärer Widerstand)
SEM	Standardfehler
WHO	Word Health Organisation
VEGF	Vascular Endothelial Growth factor

1. Pulmonale Zirkulation

a. Physiologie der pulmonalen Zirkulation

Die pulmonale Strombahn unterscheidet sich in wesentlichen Punkten von der Strombahn anderer Organe. Die Arteriolen, die in sämtlichen Strombahngebieten der systemischen Zirkulation eine dicke Schicht glatter Muskelzellen aufweisen, besitzen in der pulmonalen Strombahn keine solchen Zellen. Stattdessen gehen die größeren muskularisierten Arterien in kleine, partiell muskularisierte Gefäße über, die einen niedrigeren Perfusionswiderstand aufweisen. Unter Veränderung des Blutflusses, wie beispielsweise steigendem Herzeitvolumen unter Belastung wird ein gewisses Druckniveau beibehalten.
Sogar bei einer Verdreifachung des Herzzeitvolumens ist ein pulmonal- arterieller Druckanstieg auf 20-28 mmHg begrenzt.
Diese pulmonal vaskuläre Regulation basiert auf einer passiven Umverteilung des Blutes (West et al., 1987) mit Anteilen einer aktiven Vasodilatation (Olschewski et al., 1996).
Der pulmonal- arterielle Druck (PAP) ergibt sich aus der Summe von linksatrialem Druck (p_{LA}) und aus dem Druckabfall (Δp) über den in Reihe geschalteten Gefäßwiderständen der arteriellen, kapillären und venösen Strecke der pulmonalen Strombahn.

$$PAP = p_{LA} + \Delta p_1 + \Delta p_2 + \Delta p_3$$

Der pulmonal- vaskuläre Widerstand (PVR) berechnet sich analog dem Ohmschen Gesetz aus dem Druckabfall über die gesamte pulmonale Strombahn und dem Herzzeitvolumen (Q)

$$PVR = (PAP-PAWP)/Q$$

Wobei PAWP für den pulmonal- arteriellen „wedge“- Druck steht. Die Höhe des PAWP entspricht dem Druck in den Pulmonalvenen und somit unter physiologischen Bedingungen in etwa dem linksatrialen Füllungsdruck.
Dies trifft hauptsächlich für die sogenannten Westzonen III und IV in der Lunge (West 1992) zu, da in diesen Bereichen das Prinzip eines Poiseulle- Resistors bei Menschen in aufrechter Körperhaltung am ehesten gegeben ist.
Im Falle einer pulmonalen Drucksteigerung durch Belastung dehnen sich die Lungengefäße druckpassiv aus (Distension) und in Ruhe eingeschränkt perfundierte Areale werden zusätzlich perfundiert (Recruitment). Darüber hinaus wird der Gefäßtonus des pulmonal- vaskulären Systems bei Belastung durch aktive Vasodilatation vermindert.
Der pulmonale Vasotonus kann ein Kontinuum von der maximalen Vasokonstriktion bis zur maximalen Vasodilatation durchlaufen.

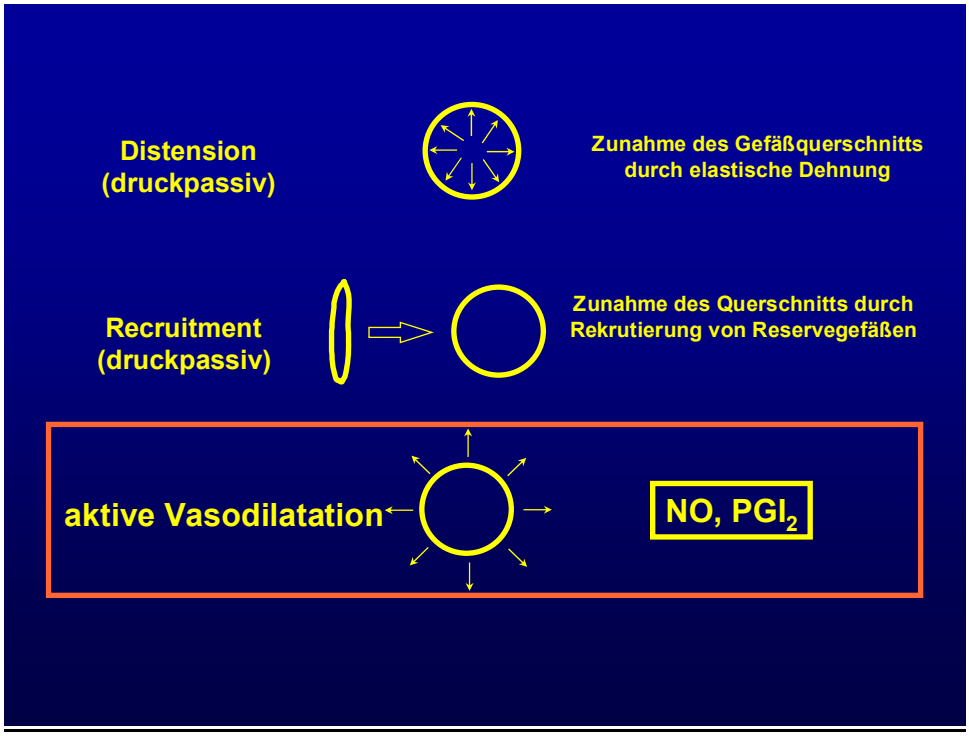

Abb. 1 Steigerung der pulmonalen Perfusion unter Belastung durch Distension des Gefässquerschnittes und Recruitment von Reservegefässen.

b. Pathophysiologische Veränderungen der pulmonalen Hypertonie

Die pulmonale Hypertonie ist definiert als eine Erhöhung des mittleren PA-Druckes über 20mmHg in Ruhe. Eine Erhöhung des pulmonal- arteriellen Druckes (PAP) führt zur Rechtsherzbelastung und letztendlich zur Verminderung des Herzzeitvolumens (HZV).

Durch die Druckbelastung des rechten Ventrikels entsteht zunächst eine konzentrische Hypertrophie, die bei weiterem Progress in eine Dilatation des rechten Ventrikels mündet. Durch das verminderte Auswurfvolumen des rechten Herzens sinkt die im 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).

Im Rahmen der pulmonalen Hypertonie kommt es ausnahmslos zu strukturellen Veränderungen der Pulmonalarterien, die in aller Regel parallel zur Vasokonstriktion auftreten.

Oftmals tritt verstärkend eine lokale Thrombosierung kleiner Pulmonalarterien auf. Durch diese Vorgänge kommt es zu einer Abnahme des gesamten Gefäßquerschnittes und darüber hinaus zu einem Complianceverlust (Stiffening) des Gefäßgebietes.

Bei der pulmonalen Hypertonie kommt es neben diesen strukturellen Veränderungen zu einer Mediatordysbalance: Substanzen, welche ein vasokontriktives Profil besitzen und darüber hinaus mitogenen Einfluß auf die Gefäßwandkomponenten ausüben, wie z.B. Endothelin und der Arachidonsäuremetabolit Thromboxan A_2 (TXA_2) sind erhöht, während auf der anderen Seite primär vasodilatativ und antiproliferativ wirksame Sunstanzen, wie der Arachidonsäuremetabolit Prostazyklin (PGI_2), ANP (atriales natriuretisches Peptid) und Stickstoffmonoxid NO (früher EDRF) erniedrigt sind (Christman et al., 1992). Das 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).

Endothelin 1 (ET-1) ist ein vasoaktives Peptid, das in der pulmonalen aber auch systemischen Strombahn von Endothelzellen aus dem Vorläufer big-Endothelin durch ein Aktivierungsenzym gebildet wird.

Seine Wirksamkeit entwickelt ET-1 über zwei unterschiedliche Rezeptoren. Die Bindung an den ET_B- Rezeptor auf Endothelzellen führt zu einer Vasodilatation durch Freisetzung von NO. Durch Aktivierung des ET_A auf glatten Muskelzellen kommt es zur Vasokonstriktion (Mc Culloch 1998). Über diesen ET_A- Rezeptor entwickelt ET-1 auch seine wichtige mitogene Eigenschaft auf die glatten Gefäßmuskelzellen.

Die strukturellen Veränderungen an den Pulmonalarterien sind an kleinen und großen Gefäßen sehr unterschiedlich. Die zentralen Gefäße werden aufgeweitet, das Lumen der kleinen Gefäße wird durch die Umbauvorgänge (Remodelling) zunehmend verkleinert.

Die Beschreibung dieses Phänomens geht aus von der normalen Anatomie der distalen Gefäßaufzweigung der Lunge (Abb. 2).

Dort besitzen die pulmonal- arteriellen Gefäße bis hinunter zu einer Weite von ca. 80µm Lumen eine kontinuierliche Media. Weiter distal finden sich nur noch partiell muskularisierte Gefäße. In den allermeisten Fällen kommt es bei dem Remodelling der Gefäßwand a) zu einer Intimafibrose, b) zu einer Hypertrophie der Media und c) zu einer sogenannten „De Novo Muskularisation“. Die glatten Muskelzellen der Media wachsen in zunächst longitudinal angeordneten Zügen nach distal aus, so dass auch kleinere pulmonal- arterielle Gefäße bis herunter zu einem Durchschnitt von 15µm eine komplette Muskularis aufweisen können (Veysier-Belot et al., 1999). 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 so genannte Thombosis in situ (Fuster et al., 1984, Pietra et al., 1989).

Diese beschriebenen Veränderungen mit Verdickung der Intima, Proliferation der glatten Muskulatur und der Thombosis in situ bezeichnet man als plexiforme Läsionen. Initial wurde diese ausschließlich der primär pulmonal- arteriellen

Hypertonie zugeordnet. Mittlerweile ist allerdings sicher, dass diese Veränderungen auch bei anderen Formen der pulmonalen Hypertonie vorkommen (Veysier-Belot et al., 1999).

c. Klassifikation der pulmonalen Hypertonie

Nach der Klassifikation der WHO aus der Venedig- Konferenz 2003 wird die chronische pulmonale Hypertonie in unterschiedliche Krankheitsbilder und assoziierte Erkrankungen aufgeteilt. Die pulmonal- arterielle Hypertonie wird unterschieden in die idiopathisch pulmonal- arterielle Hypertonie (IPAH- früher PPH), welche entweder sporadisch oder gehäuft familiär auftreten kann. Weiterhin fällt unter die Kategorie pulmonal- arterielle Hypertonie die pulmonale Hypertonie assoziiert mit Bindegewebserkrankungen (z.B. CREST-Syndrom, Sklerodermie, Sjögren- Syndrom- Mischkollagenose), die pulmonal- arterielle Hypertonie aufgrund von angeborenen Herzvitien, die porto- pulmonale Hypertonie.

Ebenso bei Infektion mit dem humanen Immunschwäche Virus (HIV)kann eine pulmonal arterielle Hypertonie assoziiert sein, sowie aufgrund von Medikamenten und Stoffen induziert, insbesondere Appetitzügler wie Aminorex und Fenfluramin (Abenheim et al., 1996).

Weitere Formen der pulmonalen Hypertonie gehören jeweils einer eigenen Kategorie an. Die pulmonale Hypertonie aufgrund linkskardialer Erkrankungen (z.B. Cardiomyopathien), sowie als weitere Gruppe die pulmonale Hypertonie assoziiert mit Erkrankung der Atemwege (Hypoxie bedingte pulmonale Hypertonie), z.B. die chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), interstitielle Lungenerkrankungen, weiterhin als eigenständige Gruppe die pulmonale Hypertonie auf dem Boden chronisch rezidivierender Lungenembolien.

1	Pulmonalarterielle Hypertonie (PAH)
2	Pulmonale Hypertonie bei Erkrankungen des linken Herzens
3	Pulmonale Hypertonie bei Lungenerkrankung und/oder Hypoxie
4	Pulmonale Hypertonie aufgrund chronischer Thrombembolien (CTEPH)
5	Verschiedenes (Sarkoidose, Histiozytose X, Lymphangiomatosis usw.)

Tabelle 1: Funktionelle „Venedig“-Klassifikation 2003

2. Behandlungsstrategien der pulmonalen Hypertonie

a. Allgemeine medikamentöse Therapie und Massnahmen

In der akuten und chronischen pulmonalen Hypertonie haben die Behandlung der Grunderkrankung und die symptomatische Basistherapie ihren festen Stellenwert. In erster Linie besteht die Basistherapie aus einer konsequenten Antikoagulation (d’Alonzo et al., 1991), sowie ggf. eine diuretische Therapie und wenn notwendig eine Langzeitsauerstofftherapie, frühzeitige Infekttherapie, sowie prinzipiell körperliche Schonung. Zusätzlich bieten oral verabreichte hochdosierte Calciumantagonisten eine mögliche Option (Rich et al., 1992). Allerdings lassen sich nur ca. 8-15% aller Patienten, vor allem Patienten mit einer idiopathisch pulmonalen Hypertonie (IPAH), langfristig erfolgreich mit dieser Stoffgruppe behandeln (Sitbon et al., 1998 und 2002, Olschewski et al., 1996).

b. Stickstoffmonoxid

Inhalatives Stickstoffmonoxid (NO) konnte sowohl in Fällen der akuten pulmonalen Hypertonie im Rahmen eines ARDS als auch in der chronisch pulmonalen Hypertonie eine auf das Lungengefäßbett reduzierte Gefäßdilatation erzielen (Pepke-Zaba et al, 1991, Frostell et al, 1992, Rossaint et al., 1993, Bigatello et al., 1997, Troncy et al., 1998).

Über eine Aktivierung der Guanylatzyklase wird vermehrt zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) gebildet. Diesem zyklischen Nukleotid nachgeschaltete cGMP abhängige Proteinkinasen phosphorylieren Ca-ATPasen intrazellulärer Kalziumspeicher. Eine verminderte intrazelluläre Kalziumkonzentration ist die Folge, die eine Gefässrelaxation bewirkt. Es kommt durch die inhalative Applikationsform nicht nur zu einer Abnahme des Gefässwiderstandes, sondern durch selektive Vasodilatation ventilierter Areale auch zu einer Reduktion des Shuntflusses, als Zeichen einer Verbesserung des Perfusion/Ventilationsverhältnisses. Diese Gefässerweiterung in ausschließlich belüfteten Arealen der Lunge bezeichnet man auch als selektive intrapulmonale Vasodilatation (s. Abb.2).

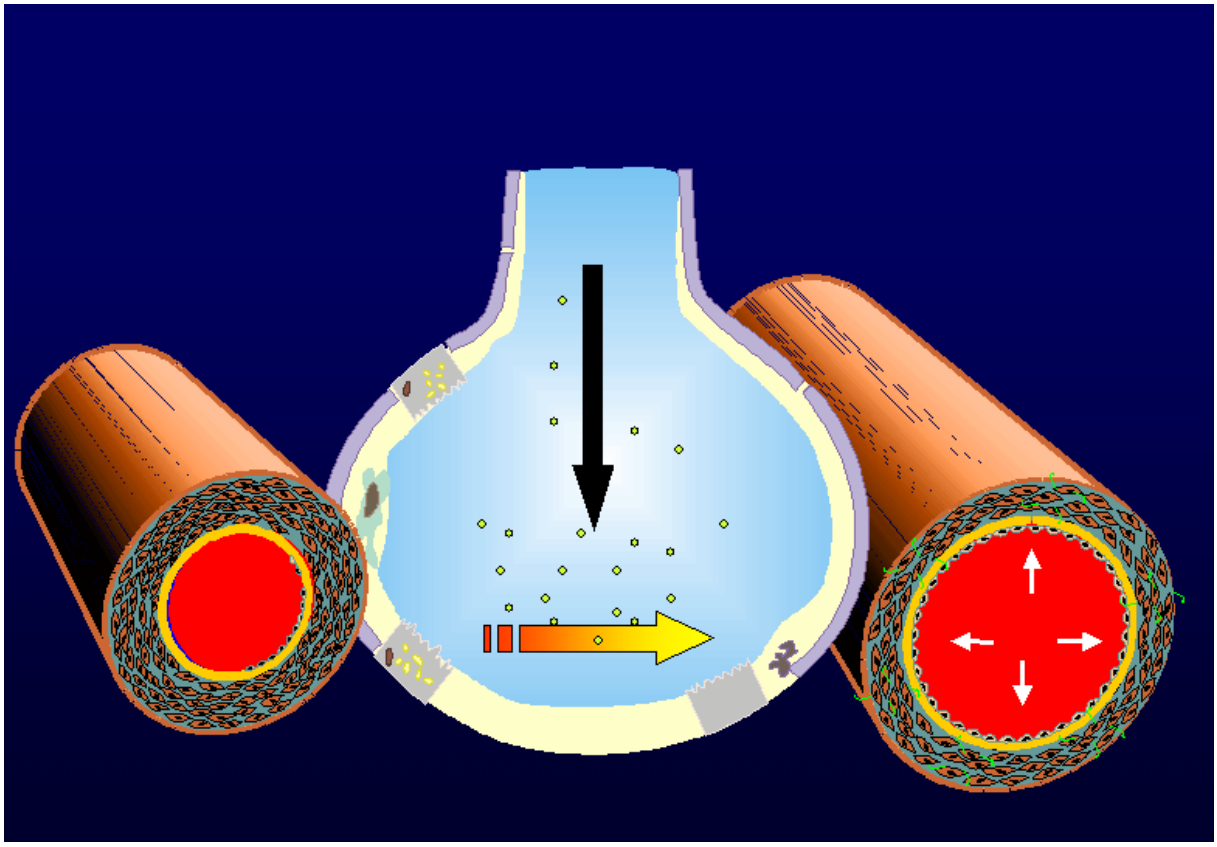

Abb. 2. Selektive pulmonale Gefässerweiterung durch inhalative Vasodilatatien

Aufgrund des sehr kurz anhaltenden positiven Effektes ist eine kontinuierliche Applikation des inhalativen NO notwendig. Dadurch limitiert sich dieser Therapieansatz für die betroffenen Patienten vor allem im ambulanten Bereich, trotz der unbestrittenen Vorteile einer inhalativen NO-Therapie. Ebenfalls sei auf die Gefahr eines rebound- Phänomen nach Absetzen der NO-Therapie (Miller et al., 1995) hingewiesen. Beschrieben sind unterschiedliche Fälle, bei denen es nach Aussetzung der NO-Applikation zu einem überschiessenden pulmonal- arteriellen Druckanstieg kam, der weit über dem des Ausgangsniveaus lag und somit eine akute kardiale Mehrbelastung darstellte.

Ausserdem sind mögliche Nachteile bezüglich der länger dauerenden Anwendung von NO und der Bildung freier Radikale verbunden, was wiederum eine Beeinflussung inflammmatorischer Geschehen darstellt (Troncy et al., 1997).

c. Prostazyklin(PGI_2)

Prostazyklin wurde 1976 als ein endothelabhängiger, aggregationshemmender Faktor mit vasodilatativen Eigenschaften in England entdeckt (Monacada et al., 1976 und 1979).

PGI_2 ist der stärkste bekannte pulmonale Vasodilatator und hat darüber hinaus starke aggregationshemmende und antiproliferative Eigenschaften.

Das Molekül wird über eine Prostazyklinsynthase in den Endothelzellen gebildet, (Spisni et al., 1995) ist chemisch instabil und hat in der Blutbahn eine Halbwertszeit von 2-3 Minuten.

Aus diesem Grund ist bei der systemischen Applikation eine kontinuierliche Infusion notwendig. Der Einsatz des vasodilatativen Prostazyklins als kontinuierliche Infusion ist eine etablierte und zugelassene Therapie zur Behandlung der schweren pulmonal-arteriellen Hypertonie (Higgenbottam et al., 1984, Rubin 1990, Barst et al., 1993).

Aufgrund der systemischen Applikation kommt es jedoch durch eine nichtselektive Gefässdilatation zu entscheidenden Nachteilen. Durch die unselektive Vasodilatation kommt es einerseits zur systemischen Mitreaktion in Form von Hypotonien, wodurch häufig eine notwendige Dosisteigerung limitiert wird. Weiterhin kann es zu einer Verschlechterung des ohnehin gestörten Gasaustausches mit einer zunehmenden Fehlverteilung von Ventilation und Perfusion der Lungenstrombahn (Walmrath et al., 1997).

Für die kontinuierliche Gabe des Prostazyklins ist die Implantation eines zentralen Venenkatheters (Port-System oder Hickman-Katheter) erforderlich. Durch Infektionen oder aber Unterbrechung der Medikamentengabe kann es zu lebensbedrohlichen Zuständen für den Patienten kommen (Barst et al., 1996, Laughlin et al., 1998).

Vor diesem Hintergrund wurde in einer Studie an Patienten mit pulmonaler Hypertonie aufgrund eines ARDS inhalatives Prostazyklin verabreicht (Walmrath et al., 1993). Damit konnte ein entscheidender Erfolg hinsichtlich der Hämodynamik und Ventilations-/Perfusionsverteilung durch selektiv pulmonale Vasodilatation erreicht werden.

Dadurch das das Aerosol ausschließlich in die ventilierten Areale der Lunge gelangt und dort gefässerweiternd wirkt, gelingt eine Umverteilung des Blutflusses von nicht-ventilierte in ventilierte Areale. Damit verbunden ist eine Reduktion des pulmonal-

arteriellen Druckes Verbesserung der Oxygenierung und Reduktion des Shuntflusses (Walmrath et al., 1993).

Die Inhalation von PGI_2 konnte diese wesentlichen Vorteile ebenfalls bei schwerer Pneumonie und Lungenfibrose demonstrieren (Walmrath et al., 1995). Mittlerweile stellt die inhalative Therapieform mit dem längerwirksamen Prostazyklinanalogon Iloprost einen wichtigen Bestandteil in der Behandlung der schweren pulmonalen Hypertonien unterschiedlicher Ätiologien dar (Olschewski et al., 1996, 1999, 2000, Hoeper et al., 2000). Es zeigt sich eine positive Beeinflussung der hämodynamischen Variablen und der körperlichen Leistungsfähigkeit behandelter Patienten (Wensel et al., 2000, Olschewski et al., 2002). Der Wirkmechanismus von Prostazyklin an der glatten Gefässmuskulatur besteht in einer G-Protein vermittelten Aktivierung der Adenylatzyklase. Die Aktivierung der Adenylatzyklase führt zur Bildung von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP), das wiederum über Phosphodiesterasen gespalten wird.

In der glatten Muskelzelle bewirkt cAMP über abhängige Proteinkinasen die Phosphorylierung von Ca-ATPasen des Sarkolemms und des sarkoplasmatischen Retikulum. In der Folge kommt es unter anderem zum Einstrom des freien Kalziums in das sarkoplasmatische Retikulum und somit zu einer Verminderung der freien intrazellulären Kalziumkonzentration (Ca) und zu einer Vasorelaxation. Analog zu diesem Mechanismus stellt man sich die Wirkung des Stickstoffmonoxid (NO) vor, welches allerdings über die Aktivierung der Guanylatzyklase und cGMP vermittelt wirkt (Abb.3).

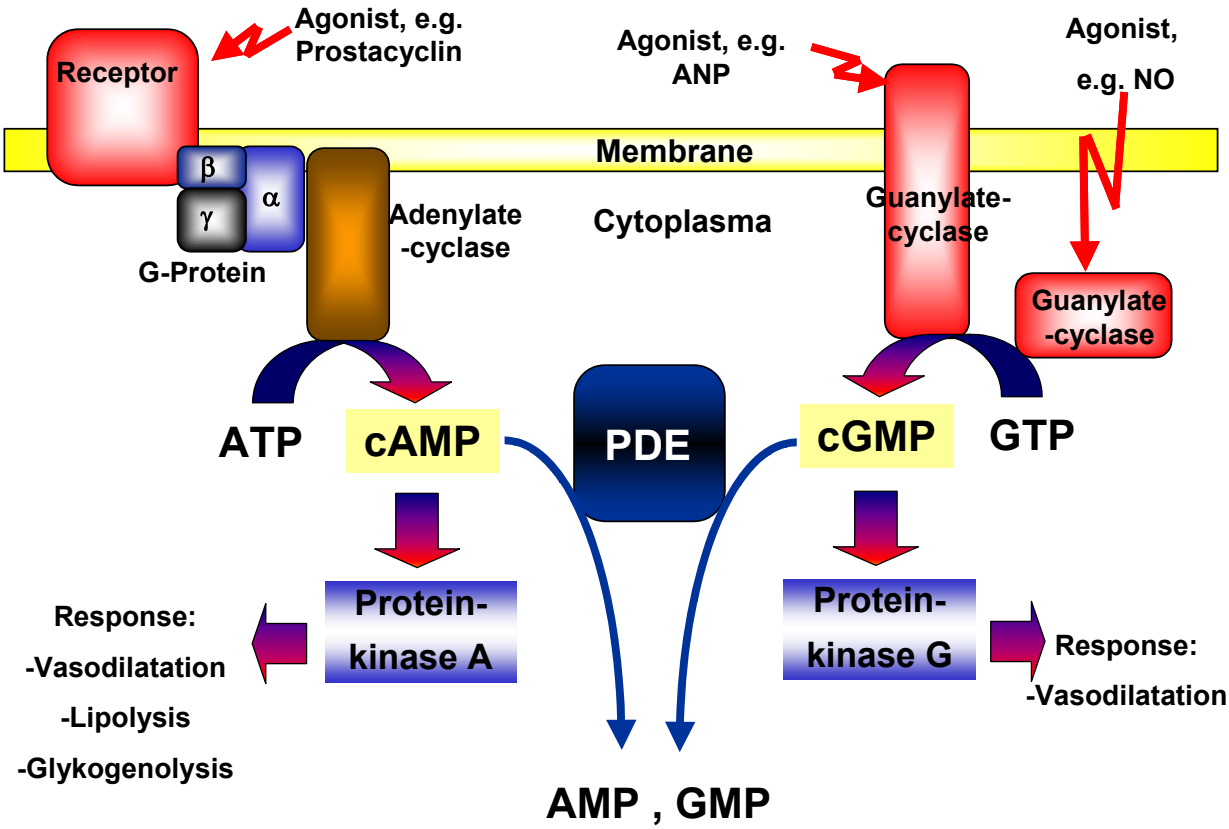

Abb.3 Physiologische Wirkmechanismen zur Regulation des Gefässtonus

d. Phosphodiesterasen und- Inhibitoren

Phosphodiesterasen (PDE's) sind zelluläre Enzyme, die für den Abbau der zyklischen Monophosphate cAMP und cGMP zu AMP bzw. GMP verantwortlich sind. Zurzeit werden 11 Phosphodiesterasefamilien beschrieben (s.Tabelle 2), die durch 15 Gene des Säudetiergenoms 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) (s.Tabelle 2).

Die PDE 1 metabolisiert beide zyklischen Nukleotide und erfährt einen Stimulus über 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. Die V_{max} dieser Hydrolyse ist allerdings für cAMP ca. 1000 x höher als für cGMP. Die PDE 4 ist ebenfalls eine cAMP- spezifische PDE, von der mittlerweile 4 Isoenzyme identifiziert wurden (Beavo 1995). Die PDE 5 hydrolisiert ausschliesslich cGMP. PDE 6 ist ein wesentliches Enzym der Retina.

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 histochemisch ebenfalls der Nachweis dieser PDE's.

Möglicherweise spielen die Phosphodiesterasen ausserdem eine wichtige Rolle in der Proliferation glatter Muskelzellen. So berichten Pinsky et al., 1993 über zeitabhängige verminderte cAMP- Spiegel in kultivierten glatten Muskelzellen, 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 Muskelzellen, die durch Serum stimuliert wurden, inhibieren (Pan et al., 1994, Polson und Strada 1996).

Hinsichtlich der Akuttherapie einer pulmonalen Hypertonie konnten synergistische Effekte von Vasodilatantien 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 Pulmonalarterien feststellen.

Properties of cyclic nucleotide PDE families

PDE Family	Cyclic Nucleotide Substrates	Inhibitors (K_i)	No. of Genes	Regulation
PDE1: Ca^{2+}/CAM stimulated PDE	cAMP and cGMP	Vinpocetine (14 μM), W-7 (300 μM)	3	(+) Ca^{2+}/CAM (−) PKA, CamKII
PDE2: cGMP-stimulated PDE	cAMP and cGMP	EHNA (1 μM)	1	(+) cGMP, PKC (+/−) N-terminal targeting domain
PDE3: cGMP-inhibited PDE	cAMP > cGMP	Cilostamide (20 nM), milrinone (150 nM), zardaverine (IC_{50} 0.5–2 μM)	2	(+) PKA, PKB (−) cGMP (+/−) N-terminal targeting domain
PDE4: High affinity, Rolipram-sensitive cAMP-specific PDE	cAMP	Rolipram (1 μM), Ro 20-1724 (5 μM), piclamilast (1 nM), zardaverine (IC_{50} 0.8–4 μM)	4	(+) PKA, ERK, Phosphatidic Acid (−) ERK, Caspases (+/−) N-terminal targeting domains
PDE5: cGMP-specific PDE	cGMP	Zaprinast (130 nM), sildenafil (10 nM), vardenafil (1 nM), tadalafil (10 nM)	1	(+) cGMP, PKG, PKA (−) Caspases
PDE6: Photoreceptor cGMP-specific PDE	cGMP	Zaprinast (400 nM), dipyridamole (125 nM), sildenafil (50 nM)	3	(+) Trasnsducin (−) cGMP, gamma and delta subunits
PDE7: High-affinity, Rolipram-insensitive cAMP-specific PDE	cAMP	IBMX (4 μM), dipyridamole (600 nM)	2	(+/−) PKA
PDE8: High-affinity and IBMX-insensitive cAMP-specific PDE	cAMP	Dipyridamole (9 μM)	2	PAS domain
PDE9: High-affinity cGMP-specific PDE	cGMP	Zaprinast (35 μM)	1	
PDE10: cAMP-Inhibited cGMP PDE	cAMP < cGMP	Dipyridamole (1 μM),	1	(−) cAMP
PDE11: Dual specificity cGMP-binding PDE	cAMP and cGMP	Zaprinast (12 μM), dipyridamole (0.4 μM), tadalafil (60 μM)	1	

W7, *N*-(6-aminohexyl)-5-chloro-1-naphthalenesulfonamide; EHNA, *erythro*-9-(2-hydroxy-3-nonyl)adenine; IBMX, 3-isobutyl-1-methylxanthine; Ca^{2+}/CAM, calcium/calmodulin.

Maurice et al., ***Mol Pharmacol*. 2003;64:533-546**

Tabelle 2 Die Eigenschaften der physiologischen Phosphodiesterasen und ihre pharmakologischen Inhibitoren

e. Einschränkungen der bisherigen Therapieoptionen

Mit hochdosierter Kalziumantagonistentherapie können nur ca. 8-15% der Patienten effektiv behandelt werden. Nachteilig bei der inhalativen Verabreichung von Vasodilatatien ist vor allem die kurze Wirkdauer. So kommt es beispielsweise nach Beendigung der NO- Inhalation nach wenigen Sekunden zu einem Sistieren der positiven Effekte und zu dem schon erwähnten, möglicherweise gefährlichen Reboundphänomen.

Das stabile Analogon Iloprost ist dem herkömmlichen Prostazyklin durch eine Verlängerung der Wirkzeit von wenigen Minuten auf 30 Minuten in der klinischen Anwendung überlegen.

Allerdings ist auch dessen Effekt in der Akuttestung nur bis ca. 30- 60 Minuten nach Beendigung der Aerosolierung zu beobachten (Hoeper et al., 1999). Diese rasche Abnahme des Akuteffektes macht die Notwendigkeit häufiger Inhalationsintervalle deutlich. Für den Patienten bedeutet dies täglich 6, 9 oder sogar 12 mal/Tag zu inhalieren. Ein weiterer Nachteil der inhalativen Prostanoidtherapie stellt die Nachtpause dar, die jedoch von den meisten Patienten gut toleriert wird und zudem sehr wichtig für die Schlafqualität des Patienten ist.

(Olschewski et al., 1996 und 1999).

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 Prostanoide, als auch eine Verlängerung deren Wirkung. Die Kombinationstherapie eines inhalativen Vasodilatanz mit einem spezifischen PDE- Inhibitor, der den Abbau des gebildeten Nukleotids hemmt und so seine Wirksamkeit aufrechterhält, war das Ziel dieser Arbeit.

Folgende Arbeitshypothese wurde aufgestellt: Durch die Koapplikation von inhalativem Prostazyklin jeweils zusammen mit dem Einsatz eines spezifischen PDE-Inhibitors (Motapizon [PDE 3-Inhibitor], Rolipram [PDE 4- Inhibitor], Zaprinast [PDE 5- Inhibitor], sowie die dualselektiven PDE 3/4- Inhibitoren Zardaverin und Tolafentrin) besteht ein Synergismus hinsichtlich der Wirksamkeit auf die pulmonale Hämodynamik, ohne Einfluss auf systemische Mitreaktionen im Falle der experimentellen akuten pulmonalen Hypertonie.

Als Modell der akuten pulmonalen Hypertonie diente die kontinuierliche Infusion des Thromboxanmimetikums U46619 am Modell des Ganztieres (Kaninchen).

Zur Überprüfung der Hypothese wurde:

1. Die hämodynamisch, pulmonal wie auch systemische Wirkung auf die intravenöse Gabe verschiedener PDE-Inhibitoren (Motapizon, Rolipram, Zardaverin, Tolafentrin, Zaprinast) am experimentellen Ganztiermodell der akuten pulmonalen Hypertonie überprüft.

2. Die Kombinationstherapie von inhalativem Prostazyklin und der systemischen Gabe jeweils eines PDE- Inhibitors, in einer Dosis für den PDE- Inhibitor, die per se noch keine hämodynamische Wirksamkeit besitzt, überprüft. Es wurden der Effekt auf die pulmonale und systemische Hämodynamik, sowie die Reaktion auf den Gasaustausch untersucht im Falle der experimentellen akuten pulmonalen Hypertonie am Ganztier Kaninchen.

2. Materialien und Methoden

2.1. Materialien

a. Substanzen

Braunoderm (Braun Melsungen, Deutschland)
DMSO (Dimetyhlsulfoxid) (Merck, Darmstadt, Deutschland)
Flolan® (Prostazyklin) (Wellcome, London, England)
Glycinpuffer (Wellcome, London, England)
Ketanest ® (Ketamin) (Parke-Davis GmbH, Berlin, Deutschland)
Krebs-Henseleit-Puffer mit 4 Vol% Hydroxyethylstärke (Serag- Wiesner, Naila, Deutschland)
Liquemin N25000 (Heparin)(Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland)
Motapizon (Nattermann, Köln, Deutschland)
NaCl 0,9% (Braun- Melsungen, Melsungen, Deutschland)
Pancuronium (Organon, München Deutschland)
Rolipram (Schering A.G., Berlin, Deutschland)
Rompun® (Xylazin) (Bayer, Leverkusen, Deutschland)
Stickstoff (Messer Griessheim, Frankfurt, Deutschland)
Sauerstoff (Messer Griessheim, Frankfurt, Deutschland)
Tolafentrin (Byk-Gulden, Konstanz, Deutschland)
U 46619 (9,11-Dideoxy-11ά, 9ά- epoxymethano- prostaglandin $F_{2ά}$) (Sigma, Deisenhofen, Deutschland)
Xylocain® 2% (ASTRA Chemicals GmbH, Wedel/Holstein, Deutschland)
Zaprinast (Sigma, Deishofen, Deutschland)
Zardaverin (Byk- Gulden, Konstanz, Deutschland)

b. Geräte und Herstellerangaben

AD/DA Wandlerkarte (Decision)
Blutgasanalysemessgerät – ABL 330 (Radiometer, Copenhagen, Dänemark)
Dilatator 5 French x 20,5cm (Braun, Melsungen, Deutschland)
Druckaufnehmer „Combitrans“ (Braun, Melsungen, Deutschland)
Einführschleuse 5 French mit hämostatischem Ventil (Braun, Melsungen, Deutschland)
Einmalspritzen 1ml (Braun, Melsungen, Deutschland)
Farbmonitor (Fujitsu)
Injectomat S (Fresenius)
Kleintierventilator UB6025 (Hugo- Sachs-Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland)
Laser- Diffracometer (Helios Sympatec, Clausthal-Zellerfeld, Deutschland)
Operationsvorrichtung- Metalliegschale
Perfusorpumpe „ 871102“ (Braun)
Perfusorenspritze 50 ml (Braun)
Personalcomputer „486- 66 MHz“
Swan-Ganz-Ballon- Katheter AI-07134. 4 French (Berman, Arrow, USA)
Sauerstoffaufnahmeregistrierung (Labotect O2-Controller, Goettingen, Deutschland)
Sauerstoffsättigunsmessung- OSM2-Hemoxymeter (Radiometer, Copenhagen, Dänemark)
Tintenstrahldrucker „Deskjet 500“ (Hewlett Packeard)
Ultraschallvernebler (Pulmo Sonic® 5500, De Vilbiss, Langen, Deutschland)
Vasocan® Braunüle 20G 1 ¼ -1,1x33mm (Braun, Melsungen, Deutschland)
Verstärker „PLUGSYS“System (Hugo- Sachs-Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland)
Wärmematte grün 20x30x3mm

2..2 Methodik

Modell des Ganztieres- Kaninchen

a. Beschreibung des Ganztiermodells

Das Modell des Ganztieres bietet die Vorteile der Erfassung von Herzfrequenz, kardialer Pumpfunktion, Atmung, sowie der Blutgase. Die in der nachfolgend beschriebenen Versuchsreihe kontinuierlich registrierten Parameter umfassten den pulmonal- arteriellen wie auch den systemisch- arteriellen Druck. Ergänzt wurden diese Parameter durch die Erfassung des Gasaustausches durch Blutgasmessungen, sowie Ventilationsparameter.

Zur inhalativen Verabreichung eingesetzter Medikamente wurde ein Düsenverneblersystem zwischen die Beatmung geschaltet.

Die kontinuierliche Infusion des Thromboxanmimetikums U46619 ist am Modell der isolierten Lunge eine bewährte Methode, um eine stabile pulmonale Hypertonie mit schwerer Ventilations-/Perfusionsstörung und verzögerter Ausbildung eines Lungenödems zu erzeugen (Rimar et al., 1993, 1995, Lindeborg et al., 1995, Walmrath et al., 1997). Unter der kontinuierlichen Infusion mit U46619 konnten Walmrath und Mitarbeiter zeigen, dass es zu einer hauptsächlich präkapillär lokalisierten Druckerhöhung kommt.

Nachteile des isolierten Organmodells sind, dass systemische Einflüsse und Reaktionen ausgeschaltet sind und daher keine Information liefern können beim Einsatz inhalativer Substanzen mit der Frage einer möglichen pulmonalen Selektivität.

Diesen Vorteil bietet dagegen das intakte Tiermodell der pulmonalen Hypertonie.

Hierbei können sowohl respiratorische, kardiale, als auch metabolisch/zirkulatorische Einflüsse, Wirkungen und Reaktionen durch eine Medikamentgabe eindeutig näher an die Klinik übertragen werden.

Dieses Modell ähnelt im Modellaufbau einer Rechtsherzkatheteruntersuchung am Menschen. Bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie werden in der Klinik standardisiert Rechtsherzkatheteruntersuchungen, zur Verifizierung der pulmonalen Druck- und Widerstandsverhältnisse, zur Bestimmung des Gasaustausches und des HZV durchgeführt.

Für die pulmonal- arterielle Druckmessung wird ein Swan-Ganz- Katheter (7 French) verwendet, sowie zur systemischen Blutdruckmessung und Blutgasprobenentnahme ein arterieller Zugang über einen Leader-cath in die Arteria femoralis gelegt.
Es werden kontinuierlich pulmonal- arterielle, wie auch systemische Druckwerte registriert. Zudem werden je nach Intervention während der Katheteruntersuchung Blutgasanalysen (arteriell und zentralvenös), sowie Herzzeitvolumen gemessen. Die Ausgangshämodynamik wird bestimmt und je nach Fragestellungen und Genese der pulmonalen Hypertonie pharmakologische Testungen durchgeführt mit Registrierung der Hämodynamik vor und nach Intervention, sowie zu vorgegebenen Zeitpunkten.

b. Präparation des Tieres

Versuchstiere waren Kaninchen der Rasse New Zealand White Bastard beiden Geschlechts mit einem Körpergewicht zwischen 2,4 und 3,0 kg.
Im ersten Schritt wurde das Versuchstier vorbereitet und die Intubationsnarkose mit einer Mischung aus Xylazin (2,1mg/kg) und Ketamin (7mg/kg) als Bolus appliziert, gefolgt von einer kontinuierlich intravenösen Infusion (Injectomat S, Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) von 25mg/kg/h Xylazin und 80mg/kg/h Ketamin. Hierzu wurde zunächst die rechte Ohrvene punktiert und es folgte die behutsame iv. Einleitung der Narkose. Nach erreichter Bewusstlosigkeit des Tieres erfolgte die Antikoagulation mit Heparin mit 200 IU/kg und die mechanische Fixierung in Rückenlage auf der Operationsvorrichtung, welche mit einer zusätzlichen Wärmematte (zur Erhaltung der Körpertemperatur) unterlegt war. Unter kontinuierlicher Vertiefung der Narkose wurde nach Rasur prätracheal eine subkutane Lokalanästhesie mit 10ml Xylocain (2%) durchgeführt. Bei erhaltener Spontanatmung und Testung der Narkosetiefe durch einen starken Schmerzreiz wurde in der Folge nach Desinfizierung des OP-Gebietes mit Braunoderm die Trachea des Tieres freipräpratiert. Die freigelegte Trachea wurde operativ eröffnet und mit einem Tubus (Innendurchmesser 3mm) kanüliert.
Im Weiteren wurde die linke Arteria carotis freipräpariert, ein Katheter (Vasocan®-Braunüle- 20G) eingelegt und für die kontinuierliche Registrierung des systemisch arteriellen Druckes mit dem Druckaufnehmer verbunden. Für die kontinuierliche Flüssigkeitssubstitution mit der Krebs- Henseleit-Pufferlösung mit 20ml/h, sowie für die intravenöse Applikation der PDE- Inhibitoren wurde die rechte Femoralvene freipräpariert und es wurde ein Katheter

(5 French) implantiert. Für die Registrierung des pulmonal- arteriellen Druckes wurde die rechte Vena Jugularis interna präpariert und mit einer Einführschleuse mit hämostatischem Ventil (Braun, Melsungen, Deutschland) kanüliert. Der Swan- Ganz-Ballon-Katheter, 4 French (Berman, Arrow, USA) wurde mit einem Druckaufnehmer verbunden und über die liegende Schleuse in die Vena Jugularis, dann Vena Cava superior eingeführt. Der Katheter wurde nun über den rechten Vorhof weiter in den rechten Ventrikel mittels Einschwemmethode vorgeschoben. Bei weiterhin geöffnetem Ballon wurde der Katheter von dort in die Arteria pulmonalis eingeschwemmt. In dieser Position wurde der Katheter für die weitere Dauer der Testung belassen.

c. Beatmungssystem

Die Beatmung der Tiere erfolgte mit einem Stickstoff/Sauerstoffgemisch 1:1 (FiO2 0,5). Der Beatmungsmodus erfolgte volumenkontrolliert mit einem Kleintierventilator (Hugo Sachs-Elektronik, March-Hugstetten Deutschland). Die Atemfrequenz wurde mit 40 Atemzügen/Minute durchgeführt, sowie mit einem Atemzugvolumen von 8ml/kg. Der Beatmungsgmodus wurde so gewählt, das sich der arterielle Kohlendioxidpartialdruck (P_aCO2) im physiologischen Bereich zwischen 35-45 mmHg befand. Zusätzlich wurde ein kontinuierlich positiv endexpiratorischer Druck (PEEP) von 0,5 mmHg eingestellt.

d. Hämodynamik und Blutgase

Der mittlere pulmonal- arterielle Druck (P_{PA}) sowie der mittlere systemisch- arterielle Druck (P_{SA}) wurden kontinuierlich über mit physiologischer Kochsalzlösung vorgefüllte Druckaufnehmer „Combitrans“ (Braun, Melsungen, Deutschland) registriert. Das Herzeitvolumen (CO) wurde mittels des Fick’schen Prinzips ermittelt: Dieses errechnet sich aus dem Quotienten der Sauerstoffaufnahme und Differenz zwischen der arteriellen- (SaO_2) und gemischt venösen Sauerstoffsättigung (SvO_2):

$$CO = V\,O_2 / AVDO_2 \text{ (l/min)}$$

Die Sauerstoffaufnahme der Tiere wurde kontinuierlich registriert (Labotect- O_2-Controller, Goettingen, Deutschland). Für die Blutgasuntersuchungen wurde den Tieren jeweils 1 ml arterielles aus dem bestehenden arteriellen Zugang, sowie zentral- venöses Blut aus dem PA-Katheter entnommen und bis zur Messung auf Eis gelegt. Bei der Blutgasanalyse wurden der Sauerstoffpartialdruck (PO_2), der Kohlendioxidpartialdruck (PCO_2), sowie der pH am Radiometer (ABL 330-Radiometer, Copenhagen, Dänemark) bestimmt. Zusätzlich wurde in einer weiteren Analyse der Hämoglobin-Gehalt sowie die Sauerstoffsättigung mit dem OSM2-Hämoximeter (Radiometer, Copenhagen, Dänemark) für diese arteriellen und gemischt- venösen Proben untersucht.

e. Aerosolierung mit Prostazyklin

Für die inhalative Applikation von Prostazyklin wurde das Ultraschallverneblungssystem Pulmo Sonic 5500 (De Vilbiss Medizinische Produkte GmbH, Langen, Deutschland) verwendet. Dieser wurde in den Inspirationsschenkel des Beatmungssystems eingebracht.

Die aerolosierte Menge der Inhalationslösung wurde durch Wiegen des Verneblers vor und nach Inhalation bestimmt. Der Pulmo Sonic- Vernebler produziert ein Aerosol mit einer mittleren Teilchengrösse von 4,5µm bei einer geometrischen Standardabweichung von 2,6µm, gemessen mit dem Laser- Diffraktometer (Helios Sympatec, Clausthal- Zellerfeld, Deutschland). Die laserphotometrisch gemessene absolute Aerolsoldeposition betrug 25% ±2% (Schmehl et al., 1996).

Prostazyklin - Flolan® (Welcome, London, England) wurde zunächst mit einem Glycinpuffer (Welcome, London, England) auf eine Konzentration von 10µg/ml aufgelöst. Diese Lösung wurde nochmals mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu der gebrauchsfertigen Inhalationslösung von 2µg/ml herunterverdünnt.

g. Registrierung der Parameter

Der pulmonal- arterielle Druck wie auch der systemisch arterielle Druck wurden parallel an je einen Druckaufnehmer (Combitrans- Monitoring- Set, Braun, Melsungen, Deutschland) angeschlossen und die Parameter wurden kontinuierlich über einen Verstärker „PlugSYS DBA“ (Hugo- Sachs-Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland) mit Anschluss an einen PC über eine AD- Wandler- Karte registriert.

3. Experimenteller Teil

3.1. Untersuchung zur Beeinflussung der Hämodynamik und des Gasaustausches in der U46619- induzierten pulmonalen Hypertonie

Zur Untersuchung der Effekte bei intravenöser Gabe der PDE- Inhibitoren Motapizon (PDE 3), Rolipram (PDE 4), Zaprinast (PDE 5), sowie der dualselektiven PDE-Inhibitoren Zardaverin und Tolafentrin (beide PDE 3/4) alleine, miteinander kombiniert, sowie die Effekte in Kombination mit inhalativem Prostazyklin auf die Hämodynamik und den Gasaustausch in der experimentell erzeugten pulmonalen Hypertonie wurden folgende Fragestellungen formuliert:

1. Besteht eine Dosis/Wirkungsbeziehung intravenös verabreichter PDE- Inhibitoren auf Hämodynamik und / oder Gasaustausch?

2. Welche Phosphodiesterasen spielen eine Rolle in der pulmonalen Widerstandsregulation?

3. Gelingt ein Synergismus durch kombinierte PDE- Hemmung?

4. Gelingt eine Beeinflussung von Hämodynamik und / oder Gasaustausch durch die Aerolisierung von PGI_2?

5. Gelingt die Wirkungsverstärkung/verlängerung von inhaliertem Prostazyklin durch die Ko-Applikation mit einer unterschwelligen Dosis eines PDE- Inhibitors?

6. Wie unterscheiden sich die Effekte von inhaliertem Prostazyklin mit dem einzelnen PDE- Inhibitor untereinander?

7. Kann eine pulmonale Selektivität unter der Kombination erreicht werden?

Zur Aufklärung wurden folgende Versuchsgruppen definiert:

- Kontrollgruppe, n=6 :
  Es wurden keine Interventionen unternommen.

- U46619 induzierte pulmonale Hypertonie am Ganztier, n= 6 :
  Nach Beendigung der chirurgischen Präparationsphase, wurde die kontinuierliche Infusion mit U46619 gestartet. Hierzu wurde zunächst U46619 (Sigma, Deishofen, Deutschland) in DMSO aufgelöst, dann in einer Perfusorspritze (Fa. Braun) mit 40 ml NaCl verdünnt und über eine Perfusorpumpe (Fa.Braun) kontinuierlich, intravenös den Tieren infundiert. Es wurde eine Dosis von 0,5- 2,0 µg/kg*min verwendet. Damit wurde nach ca. 20 min ein pulmonal- arterieller Druckanstieg mit nachfolgendem Druckplateau von initial ≈ 13 auf ≈ 30mmHg erreicht.

- U46619 induzierte pulmonale Hypertonie am Ganztier mit Dosiswirkungskurven der verschiedenen PDE- Inhibitoren (Motapizon- 3, [n = 6], Rolipram- 4,[n = 6], Zaprinast- 5, [n = 6], sowie die dualselektiven PDE-Inhibitoren Tolafentrin [n = 6] und Zardaverin [n = 6] , beide PDE-3/4) :
  Bei kontinuierlichem Druckverlauf unter U46619 über 15 min erfolgte die Applikation in steigenden Dosen (kumulativ) verschiedener PDE- Inhibitoren:
  1. Motapizon - PDE 3- Inhibitor (2,5µg, 5µg, 10µg und 25µg/kg KG)
  2. Rolipram - PDE 4- Inhibitor (5µg, 25µg, 50µg und 250µg/kg KG)
  3. Zabrinast – PDE 5- Inhibitor (100µg, 1000µg und 10000µg/kg KG)
  4. Zardaverin- PDE 3/4- Inhibitor (50µg, 100µg, 1000µg und 3000µg/kg KG)
  5. Tolafentrin- PDE- 3/4- Inhibitor (500µg, 1000µg und 5000µg/kg KG)

Die Applikation der einzelnen Dosen erfolgte jeweils als Kurzinfusion über 10 min. Nach Ende der Infusion wurden die hämodynamischen Parameter registriert, sowie Blutgasanalysen durchgeführt. Unmittelbar im Anschluss erfolgte die nächste Infusion mit der höheren Dosis. Das Ziel der Untersuchung war eine Reduktion des pulmonal- vaskulären Widerstandes (PVR) um etwa 20%.

Die PDE- Inhibitoren Motapizon, Rolipram, Zaprinast und Zardaverin wurden jeweils in 50% (DMSO)- H_2O aufgelöst, so das eine endgültige DMSO- Konzentration von 0,4% DMSO bestand. In separaten Untersuchungen an Kontrolltieren, sowie am U46619- Ganztiermodell konnte festgestellt werden, das eine DMSO- Konzentration von 0,4% kein Einfluss auf die hämodynamischen Parameter oder den Gasaustausch hatte.

- U46619 induzierte pulmonale Hypertonie am Ganztier mit der Ko- Applikation verschiedener PDE- Inhibitoren, jeweils n = 6 :
    1. Motapizon + Rolipram [3 + 4] (5µg + 25mg/kg KG)
    2. Rolipram + Zaprinast [4 + 5] (25µg + 100µg/kg KG)
    3. Motapizon + Zaprinast [3 + 5] (5µg + 100mg/kg KG)

  Die intravenöse Applikation erfolgte wiederum als Kurzinfusion über 10 min., nach Ende der Infusion wurden die hämodynamischen Parameter registriert, sowie die Blutgasproben entnommen und untersucht.

- U46619 induzierte akute pulmonale Hypertonie am Ganztier mit einer PGI_2- Inhalation über 10 min, n = 8, sowie erneute PGI2- Inhalation unter Co- Applikation einer unterschwelligen Dosis je eines PDE- Inhibitors (Motapizon n = 8, Rolipram n = 8, Zaprinast n = 8, Tolafentrin n = 8 und Zardaverin n = 8) :
  Bei kontinuierlichem Druckverlauf unter U46619 über 20 min, folgte die Applikation des PGI_2- Aerosols über 10 min. Zur Herstellung der Inhalationslösung wurde PGI_2 (Epoprostenol Flolan®, Wellcome London, England) in mitgelieferten Glycinpuffer gelöst und in NaCl 0,9% bis zu einer Konzentration von 1µg/ml weiter verdünnt. Nach Einsetzen des Ultraschallverneblers (Pulmo Sonic 5500) in den Inspirationsschenkel der Beatmung erfolgte die 10min Aerosolierung, 20 min nach Start der U46619- Infusion. Der Vernebler wurde vor und nach Inhalation gewogen und so die eingesetzte Medikamentenmenge berechnet. Die eingesetzte PGI_2- Dosis betrug 56 ± 10ng/kg*min. In vorangegangenen Untersuchungen konnte unter dieser Aerosoldosis eine effektive und selektive pulmonale Vasodilatation in allen Tieren erreicht werden.
  Unter fortlaufender U46619- Infusion und erneutem Anstieg des pulmonal-arteriellen Druckeniveaus (PAP) auf Ausgangswerte von im Mittel 30 mmHg,

wurde eine zweite Baselinemessung registriert und die Blutgase bestimmt. Daraufhin wurde eine niederschwellige Dosis je eines PDE- Inhibitors, zunächst als Bolus gefolgt von einer Infusion appliziert. Die Dosis des PDE-Hemmers wurde aus den vorangegangenen Dosis- Wirkungskurven so gewählt, dass sie per se keine hämodynamischen Effekte auf Herzeitvolumen, pulmonal- arteriellen und/oder systemischen Druck aufwiesen.

Für die einzelnen PDE- Inhibitoren waren dies folgende Dosen [Bolus(Infusion)]:

- Motapizon : 2,2µg/kg (8µg/kg*h)
- Rolipram : 5,5µg/kg (15µg/kg*h)
- Zardaverin : 50µg/kg (300µg/kg*h)
- Tolafentrin: 100µg/kg (2mg/kg*h)
- Zaprinast : 100µg/kg (3,3mg/kg*h)

Nach 15min Infusion der jeweiligen PDE- Inhibitoren und Beobachtung eines stabilen Druckplateaus, wurde ein zweites Mal eine Aerosolierung mit PGI_2 im gleichen Modus und Dosis wie die erste Inhalation ohne die niederschwellige Dosis eines PDE- Inhibitors gestartet.

3.2. Standardisierte Vorgänge

In allen Versuchsgruppen wurden die hämodynamischen Parameter wie pulmonal arterieller Druck (PAP) und systemisch arterieller Druck (SAP) kontinuierlich registriert. Die Probenentnahmen für die Blutgasanalysen erfolgten als Grundabnahme (Baseline) vor Intervention sowie unmittelbar nach Ende der jeweiligen Intervention. Zu diesen Zeitpunkten wurden auch Vergleiche der übrigen Parameter angestellt (Herzzeitvolumen, pulmonal- vaskulärer Widerstand).

3.3. Statistische Vergleiche

Ausgewertet wurden die hämodynamischen Parameter pulmonal arterieller Druck (PAP), systemisch arterieller Druck (SAP), Herzzeitvolumen (CO), sowie pulmonal-vaskulärer Widerstand.

Bei den Blutgasanalysen wurden folgende Parameter ausgewertet: arterielle Sättigung in Prozent (SaO2) und zentralvenöse Sättigung (SvO2), sowie die Registrierung Sauerstoffaufnahme (FiO2) zur Messung des Herzzeitvolumen.

Weiterhin wurden an Blutgasen untersucht: der arterielle und zentralvenöse Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck im Millimeter Quecksilbersäule (pO2 und pCO2 in mmHg), sowie der pH-Wert.

Die Messwerte wurden zu den Zeitpunkten vor (baseline) und nach Intervention (post= Maximaleffekt) verglichen und auf Signifikanz untersucht. Zunächst wurde der Maximaleffekt einer PGI_2- Aerosolierung statistisch ausgewertet. Weiterhin wurden die hämodynamischen Parameter im Verlauf über mindestens 45 min nach Ende der Ko-Applikation des jeweiligen PDE-Inhibitors mit PGI_2 im Vergleich zur alleinigen Aerosolierung von PGI_2 miteinander vergleichen und statistisch ausgewertet. Schließlich wurden die Effekte der PDE- Inhibitoren + PGI_2 untereinander verglichen und nochmals statistisch ausgewertet.

Die Werte in den Grafiken und Tabellen wurden als Mittelwerte ± Standartabweichung dargestellt.

Als statischer Test diente die Varianzanalyse und der Student-Newman-Keuls-Test für multiple Vergleiche, als statistisch signifikant galten Werte mit $p<0,05$. Unterschiede zwischen zwei Versuchsgruppen wurden mit einem ungepaarten t-Test untersucht.

4. Ergebnisse

4.1. Vergleichszeitpunkte

Der Ruhezeitraum (steady state) endete mit dem Start der U46619- Infusion. Nach ca. 20 min Infusion mit U46619 wurde ein konstantes pulmonales Druckplateau erreicht. Dieser Zeitpunkt wurde in den Diagrammen mit Interventionen als Zeitpunkt t= -5 min. angegeben.
Der Zeitpunkt t= 0 wurde als Beginn der Aerosolierung mit PGI_2 definiert; alleine oder in Kombination mit einem PDE- Inhibitor.

4.2. Kontrollversuche unter Ruhebedingungen

Bei regelmäßigen Kontrollen der Baselinebedingungen ohne Intervention wurden über einen Versuchszeitraum von bis zu 270 min konstante pulmonal- arterielle Mitteldruckwerte um 14,4 ± 3,9 mmHg registriert. Die systemischen Mitteldruckwerte lagen in einem Bereich von 92 ± 5 mmHg. Das HZV zeigte im Verlauf im Mittel 471 ± 13 ml/min. Die Blutgase lagen bei einer inspiratorischen Sauerstoffaufnahme von 50% (FiO2) im physiologischen Bereich des pH von 7,38-7,42 und partiellem Kohlendioxiddruck (pCO2) von 35-45mmHg (s. Tabelle 4).

4.3. Einfluss einer U46619 Infusion auf den pulmonal- arteriellen- und systemischen Druck, sowie das Herzeitvolumen und den Gasaustausch:

Nach Ende der Präparation und einer stabilen steady state Periode wurde eine Infusion mit U46619 in einer Konzentration von 1,3 ± 0,5 µg/kg*min gestartet. Nach ca. 20 min zeigte sich ein signifikanter pulmonal- arterieller Druckanstieg von 14,4 ± 3,9 mmHg auf 28,3 ± 3,1 mmHg ($p<0,01$). Der systemisch- arterielle Druck zeigte im einen Verlauf von 240 min keinen signifikanten Abfall.
Das Herzzeitvolumen fiel in allen Versuchsgruppen signifikant von 471 ± 13 auf 411 ± 13 ml/kg *min ab ($p<0,05$). Bei den Blutgasen zeigte sich im Vergleich zu den Kontrolltieren ohne Intervention keine signifikante Veränderung (s. Tabelle 4).

4.4. Dosiswirkungskurven der PDE- Inhibitoren Motapizon, Rolipram, Zaprinast, Tolafentrin und Zardaverin im Modell U46619 induzierten akuten pulmonalen Hypertonie

Nach ca. 20 min U46619 Infusion wurde bei den Versuchstieren jeweils ein PDE-Inhibitor intravenös als Kurzinfusion verabreicht. Die Dosen wurden kumulativ in steigender Dosis appliziert. Durch die Intervention zeigte sich bei allen Versuchsgruppen dosisabhängig ein signifikanter Abfall der pulmonalen Druck- und Widerstandsverhältnisse (PAP und PVR).

Der PDE- 3- Inhibitor Motapizon zeigte dabei die höchste hämodynamische Effektivität in steigender Dosis (2,5, 5, 10, 25µg/kg KG) gefolgt von dem PDE- 4-Inhibitor Rolipram (5, 25, 50, 250 µg/kg KG), sowie dem dualselektiven PDE 3/4-Inhibitor Zardaverin in dosisabhängiger Wirkung (50, 100, 1000, 3000 µg/kg KG). Um eine signifikante Wirkung im Abfall des pulmonal- vaskulären Druck und Widerstandes zu erzielen, mussten für den PDE- 5- Inhibitor Zaprinast (100, 1000, 10000 Mg/kg KG) sowie für den ebenfalls dualselektiven PDE- 3/4- Inhibitor Tolafentrin (500, 1000, 5000 Mg/kg KG) deutlich höhere Dosen eingesetzt werden (s. Abb. 4 und 5).

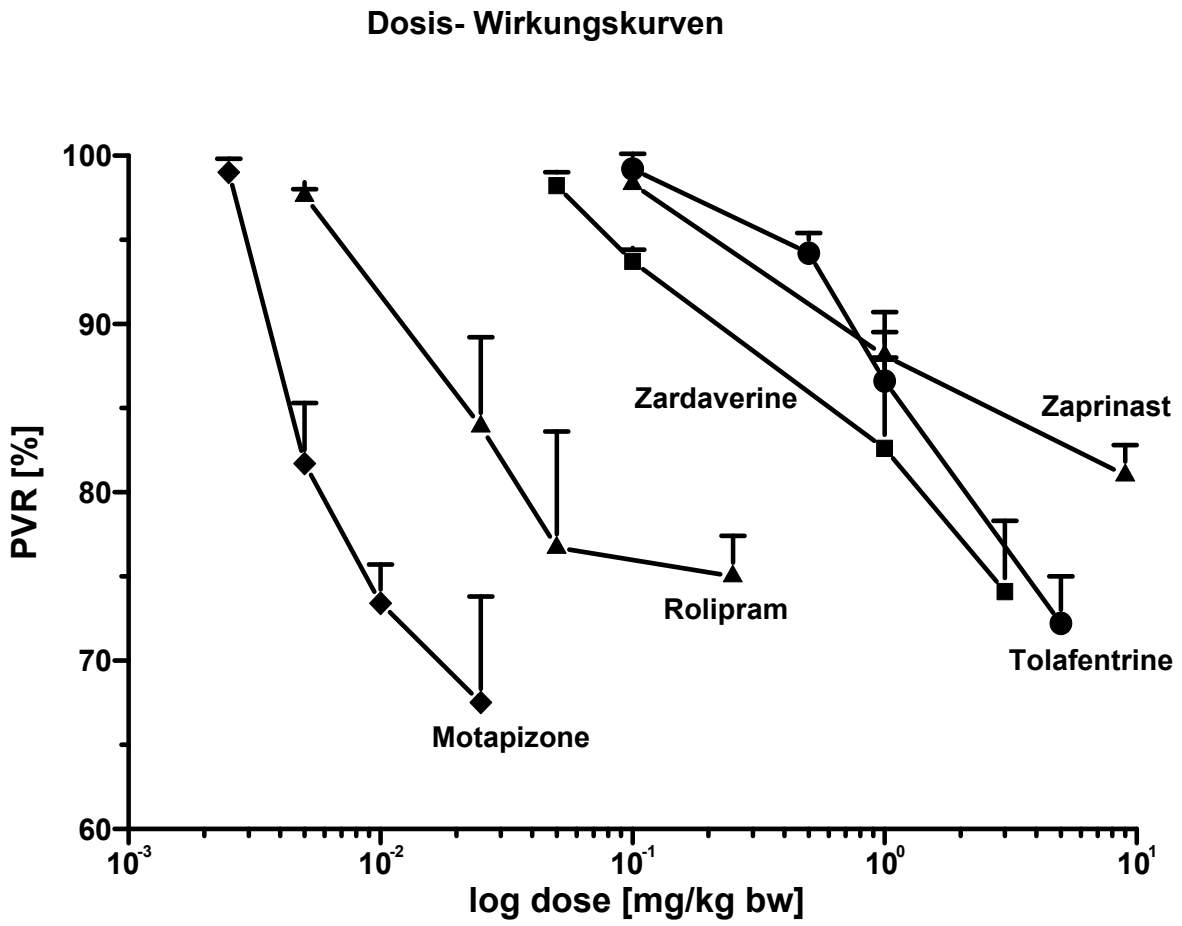

Abb.4 Dosis-Wirkungskurven der PDE- Inhibitoren auf den PVR unter U46619-Applikation. Darstellung in MEAN ± SEM. Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text.

Dosis- Wirkungskurven

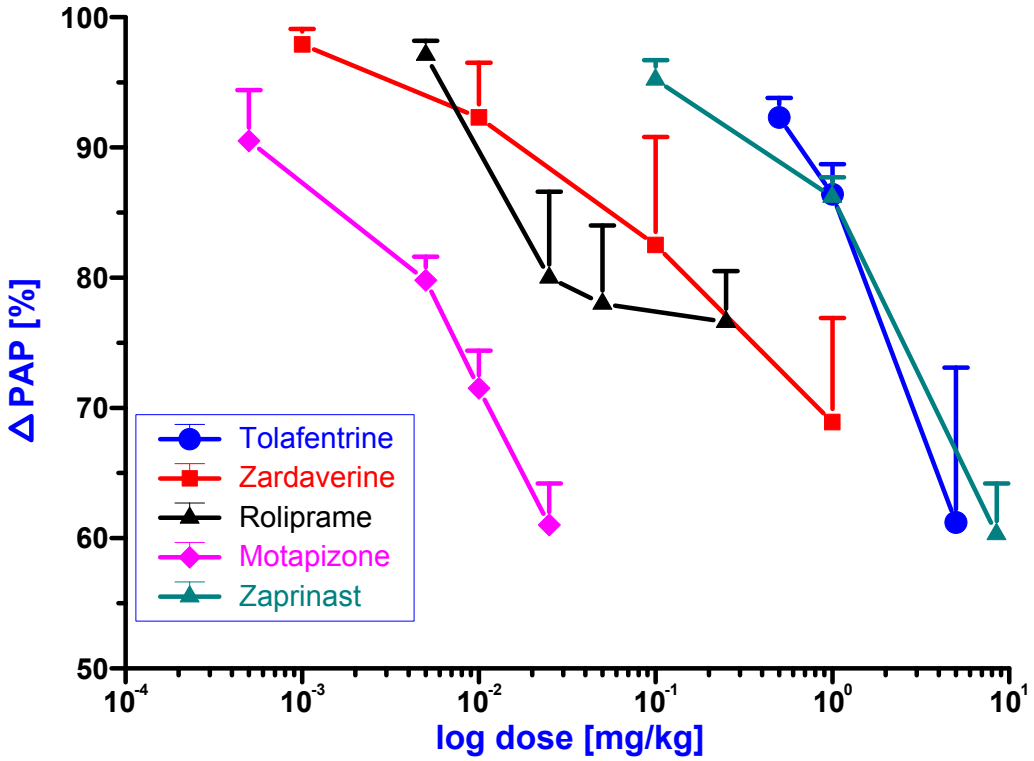

Abb.5 Dosis-Wirkungskurven der PDE- Inhibitoren auf den PAP unter U46619-Applikation. Darstellung in MEAN ± SEM. Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text.

4.5. Vergleich der PDE- Inhibitoren in hämodynamisch effektiver Dosis auf den pulmonal- arteriellen Druck und Widerstand (PAP und PVR) unter U46619- Infusion

Nach Dosis- Wirkungsfindung wurde in einer weiteren Versuchsreihe der jeweilige PDE- Inhibitor in einer Konzentration eingesetzt, welche den pulmonal- vaskulären Widerstand effektiv um ca. 20 % senkt. Hierbei wurden die PDE- Inhibitoren ebenfalls intravenös als Kurzinfusion appliziert. Um eine hämodynamisch vergleichende Wirkung zu erzielen wurde für den PDE- 3- Inhibitor Motapizon 5 µg/kg Kg eingesetzt, für den PDE- 4- Inhibitor Rolipram 25 µg/kg KG, für den PDE- 3/4-

Inhibitor Zardaverin 500µg/kg KG, sowie für den PDE-3/4- Inhibitor Tolafentrin und den PDE-5- Inhibitor Zaprinast jeweils 1 mg/kg KG.

Nach Applikation des jeweiligen PDE- Inhibitors zeigte sich in allen Gruppen ein Abfall des pulmonal- vaskulären Druck und Widerstandes, welcher je nach PDE-Inhibitor mit unterschiedlicher Dosis erzielt wurde (s.Abb.6 und 7).

In einer weiteren Untersuchung wurden die verschiedenen, selektiven PDE-Inhibitoren so kombiniert, um einen additiven, hämodynamischen Effekt zu bewirken. Dies wurde erreicht mit der Ko- Applikation von PDE- 3+4- Inhibitoren (Motapizon + Rolipram), die PDE- Inhibitoren 4+5 (Rolipram + Zaprinast), sowie die PDE-Inhibition 3+5 mit Motapizon und Zaprinast. Unter der gleichzeitigen Applikation jeweils zweier PDE- Inhibitoren konnte ein additiver Effekt im Abfall der pulmonalen Druck- und Widerstandsverhältnisse erzielt werden (s.Abb. 6 und 7).

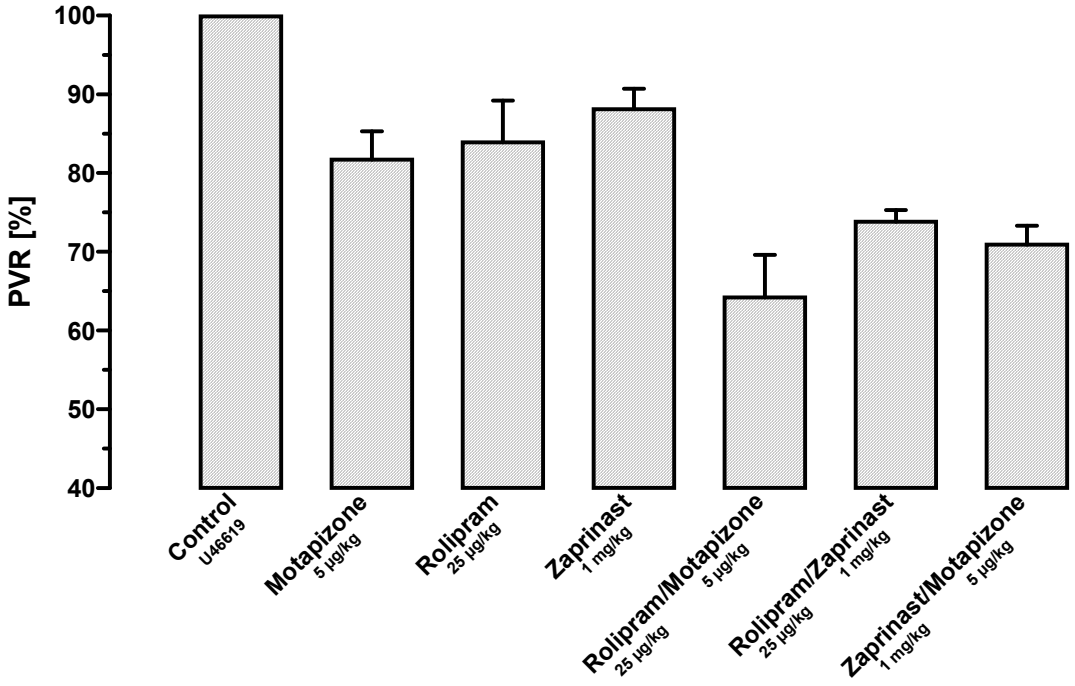

Abb.6 Einfluss der PDE 3, 4 und/oder 5- Inhibition unter U46619 Gabe auf den pulmonal- vaskulären Widerstand (PVR). Darstellung in MEAN ± SEM. Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text.

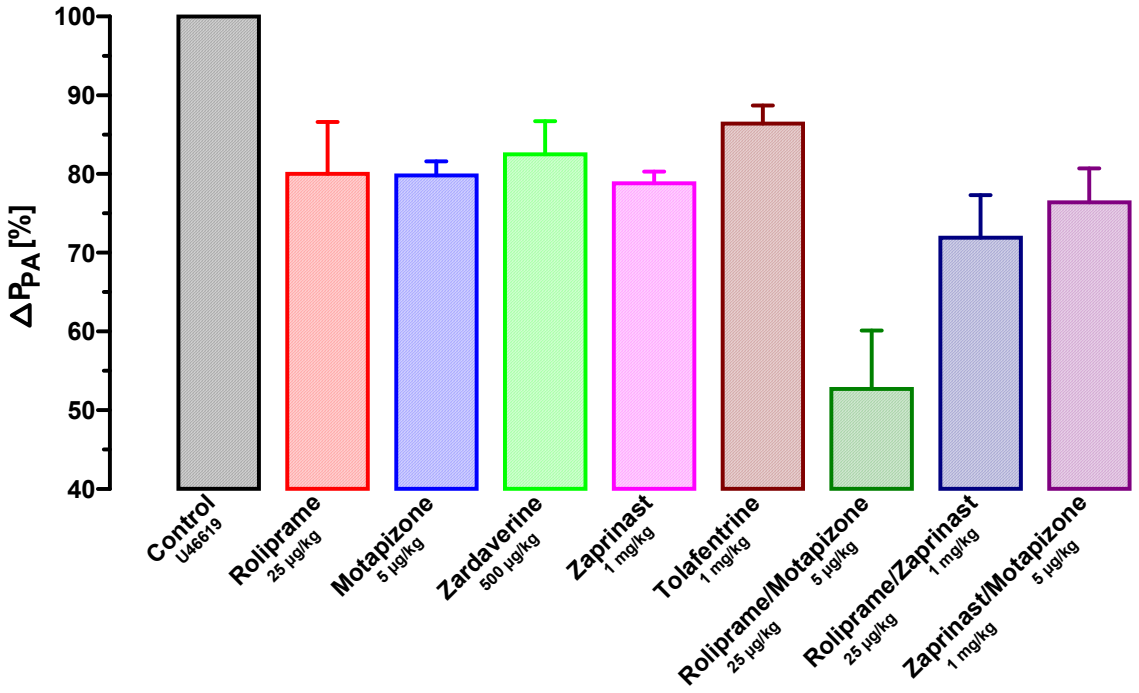

Abb.7 Einfluss der PDE 3, 4 und/oder 5- Inhibition unter U46619 Gabe auf den pulmonal- vaskulären Druck (PAP). Darstellung in MEAN ± SEM. Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text.

4.6. Vergleich der PDE- Inhibitoren in hämodynamisch effektiver Dosis auf das Herzzeitvolumen, sowie den systemischen Druck (SAP) unter U46619- Infusion

Insgesamt zeigten alle Versuchsgruppen nach iv. Gabe einen signifikanten Anstieg des Herzzeitvolumen ($p< 0,05$), ohne relevante Änderung der Blutgase (s.Tab.3).
Nach Gabe von Motapizon, Rolipram und Zaprinast zeigte sich ein moderater Abfall des systemisch- arteriellen Druckes. Für die dualselektiven PDE 3/4- Inhibitoren Zardaverin und Tolafentrin erwies sich der systemische Druckabfall als signifikant, ebenso unter der Ko- Applikation jeweils zweier PDE- Inhibitoren (s. Abb.8).

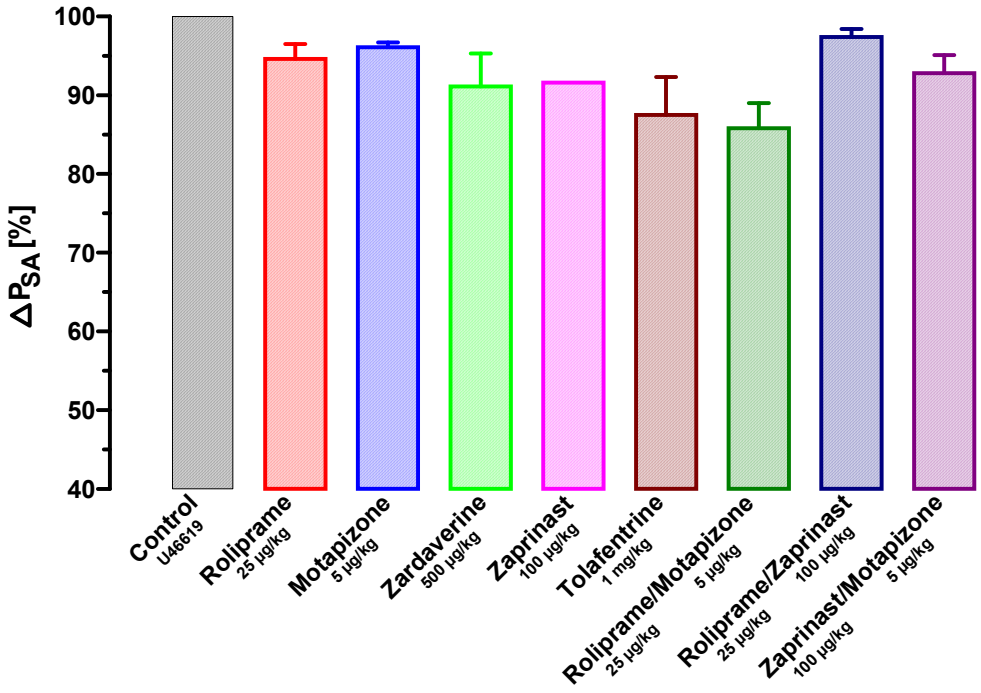

Abb.8 Einfluss der PDE 3, 4 und/oder 5- Inhibition, unter U46619 Gabe, auf den systemisch- arteriellen Druck (SAP). Darstellung in MEAN ± SEM. Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text.

4.7.Einfluss der unterschiedlichen PDE- Inhibitoren in unterschwelliger Dosis auf die pulmonale und systemische Hämodynamik, sowie den Gasaustausch unter U46619-Infusion

Unter fortlaufender U46619- Infusion und Anstieg des pulmonal- arteriellen Druckniveaus (PAP) auf im Mittel etwa 30 mmHg, wurde eine Baselinemessung registriert und die Blutgase bestimmt. Daraufhin wurde eine niederschwellige Dosis je eines PDE- Inhibitors, zunächst als Bolus gefolgt von einer Infusion appliziert. Die Dosis des PDE- Hemmers wurde aus den vorangegangenen Dosis- Wirkungskurven so gewählt, dass sie per se keine hämodynamischen Effekte auf Herzzeitvolumen, pulmonal- arteriellen und/oder systemischen Druck aufwiesen.
Über einen Beobachtungszeitraum von jeweils 60min.zeigte sich keine signifikante Veränderung des pulmonalen und systemischen Druckes. Ebenso zeigten sich die Blutgase unverändert.

Für die einzelnen PDE- Inhibitoren wurden folgende Dosen festgelegt [Bolus(Infusion)]:

- Motapizon : 2,2µg/kg (8µg/kg*h)
- Rolipram : 5,5µg/kg (15µg/kg*h)
- Zardaverin : 50µg/kg (300µg/kg*h)
- Tolafentrin: 100µg/kg (2mg/kg*h)
- Zaprinast : 100µg/kg (3,3mg/kg*h)

4.8 Einfluss von aerosoliertem PGI_2 auf die pulmonale und systemische Hämodynamik, sowie den Gasaustausch unter U46619- Infusion

Unter laufender U46619- Infusion wurde bei stabilem Plateau des pulmonalen Druckes die Inhalation mit Prostazyklin gestartet. Es wurde eine Konzentration von 56ng/kg*min über 10 min vernebelt. Hierunter wurde eine signifikante Reduktion des pulmonalen Druckes von ca. 30% erreicht (s.Abb.9).
Der vasodilatative Effekt begann ca. 2 min nach Beginn der Aerosolierung. Unmittelbar nach Ende der Inhalation stieg der pulmonal arterielle Druck wieder an und ereichte sein Ausgangsniveau insgesamt nach ca. 8 min (s.Abb.9).
Die durch inhaliertes Prostazyklin induzierte pulmonale Vasodilatation war nicht begleitet von einer systemischen Mitreaktion. Der systemisch arterielle Druck erwies sich unverändert. Weiterhin zeigte sich ein signifikanter Anstieg des Herzzeitvolumens von 393 ± 40 auf 458 ± 67 ml/min ($p<0,01$). Die Blutgase zeigten keine signifikante Veränderung (s.Tab.4).

4.9. Einfluss von aerosoliertem PGI_2 in Ko- Applikation mit einem intravenös verabreichten selektiven PDE- Inhibitor (Motapizon (PDE 3), Rolipram (PDE 4), Zaprinast (PDE 5) in niederschwelliger Dosis auf die pulmonale und systemische Hämodynamik, sowie den Gasaustausch unter U46619- Infusion

a. Koapplikation von inhalativem Prostazyklin (PGI_2) und dem PDE-3- Inhibitor Motapizon

20 min nach Start der U46619- Infusion wurde zunächst PGI_2 in einer Dosis von 56ng/kg*min über 10 min mit dem Pulmo Sonic vernebelt, wie unter 4.8. beschrieben. Nach Ende der Inhalation stieg der pulmonal- arterielle Druck wieder an und erreichte ca. 8 min nach Inhalationsende wieder sein Ausgangsplateau.
Nach erneuter Baselinemessung wurde nun mit der Intervention des PDE- Inhibitors 3- Motapizon begonnen. Zunächst wurde ein Bolus mit einer Konzentration von 2,2µg/kg KG intravenös appliziert, gefolgt von einer Infusion von 8µg/kg*h. Während der nächsten 15min unter laufender Infusion war keine Veränderung der pulmonalen und systemischen Druckwerte zu verzeichnen
Nach 15 min Beobachtung wurde unter laufender niederschwelliger Infusion des PDE- Inhibitors Motapizon nun eine zweite Inhalation mit PGI_2 in gleicher Dosis von 56ng/kg/min über 10 min begonnen.
Nach Ende der Inhalation wurde auch die Infusion mit dem PDE- 3- Inhibitor Motapizon beendet.
Unter der Kombination von inhalativem Prostanoid mit intravenös appliziertem Motapizon konnte nicht nur eine Verstärkung der pulmonal- vasodilativen Wirkung erzielt werden, es zeigte sich auch ein prolongierter Wiederanstieg des pulmonal – arteriellen Druckes.
Die pulmonale Drucksenkung konnte auf 50% vom Ausgangsdruck unter U46619-Infusion intensiviert werden, im Vergleich zu einer PGI2- Inhalation alleine, wobei eine 30% ige pulmonale Drucksenkung erreicht wurde.
Unter der Ko-Applikation ließ sich der Wiederanstieg um 12 min. prolongieren und erreichte erst nach 20min wieder den Ausgangsdruck im Vergleich zu alleiniger Prostazyklininhalation mit 8.min (s.Abb.9).

Unter der Intervention mit PGI_2 und Motapizon zeigte sich keine signifikante Veränderung des systemisch arteriellen Druck und des Gasaustausches (s.Tabelle 4).

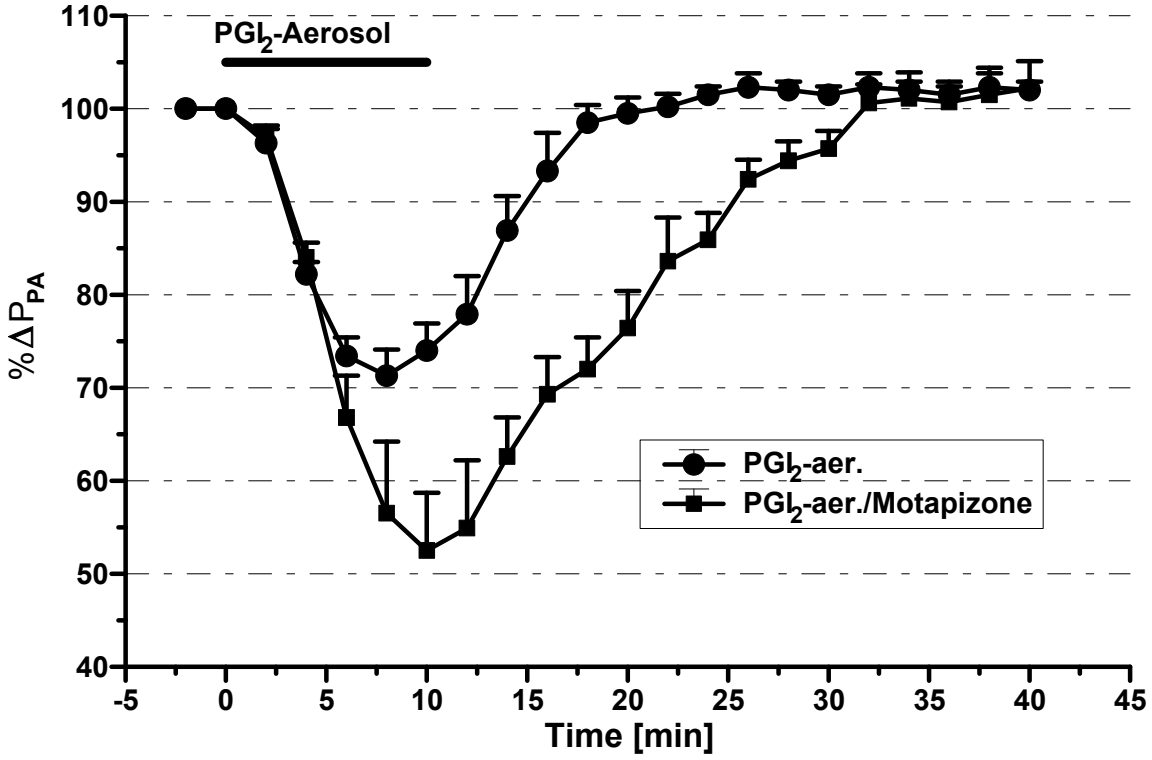

Abb.9 Einfluss von aerosoliertem Prostazyklin (PGI_2), unter U46619 Gabe in Kombination mit dem PDE- 3- Inhibitor Motapizon in unterschwelliger Dosis, auf den pulmonal- arteriellen Druck (PAP). Darstellung in MEAN ± SEM. Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text.

b. Koapplikation von inhalativem Prostazyklin und Infusion des PDE- 4- Inhibitor Rolipram

Nach erfolgter erster PGI2- Inhalation und erneuter Baselinebestimmung wurde ein Bolus des PDE- 4- Inhibitors Rolipram in einer Dosis von 5,5µg/kg KG appliziert, gefolgt von der Infusion mit Rolipram in einer Konzentration von 15µg/kg*min.

Über einen Beobachtungszeitraum von 15 min. zeigte sich auch unter der iv. Gabe des PDE- 4- Inhibitors Rolipram keine signifikante Veränderung im pulmonalen und systemischen Druckverhalten. Daraufhin wurde unter laufender Infusion die zweite Inhalation mit PGI_2 über 10 min gestartet. Nach Ende der Inhalation wurde ebenfalls die Infusion mit Rolipram beendet.

Der maximale pulmonale Druckabfall zeigte im Vergleich zur alleinigen Inhalation mit Prostazyklin keine Wirkungsverstärkung, jedoch erwies sich unter der Ko-Applikation von PGI_2 mit Rolipram eine verlängerte Wirkung des pulmonalen Druckabfalls mit einem prolongierten Wiederanstieg. Die pulmonal- vasodilatative Wirkung konnte von 8 auf ca. 24 min verlängert werden. (s.Abb.10).

Die systemische Blutdruckregulation zeigte keine relevante Veränderung, ebenso blieben auch die Blutgase konstant (s.Tab.4).

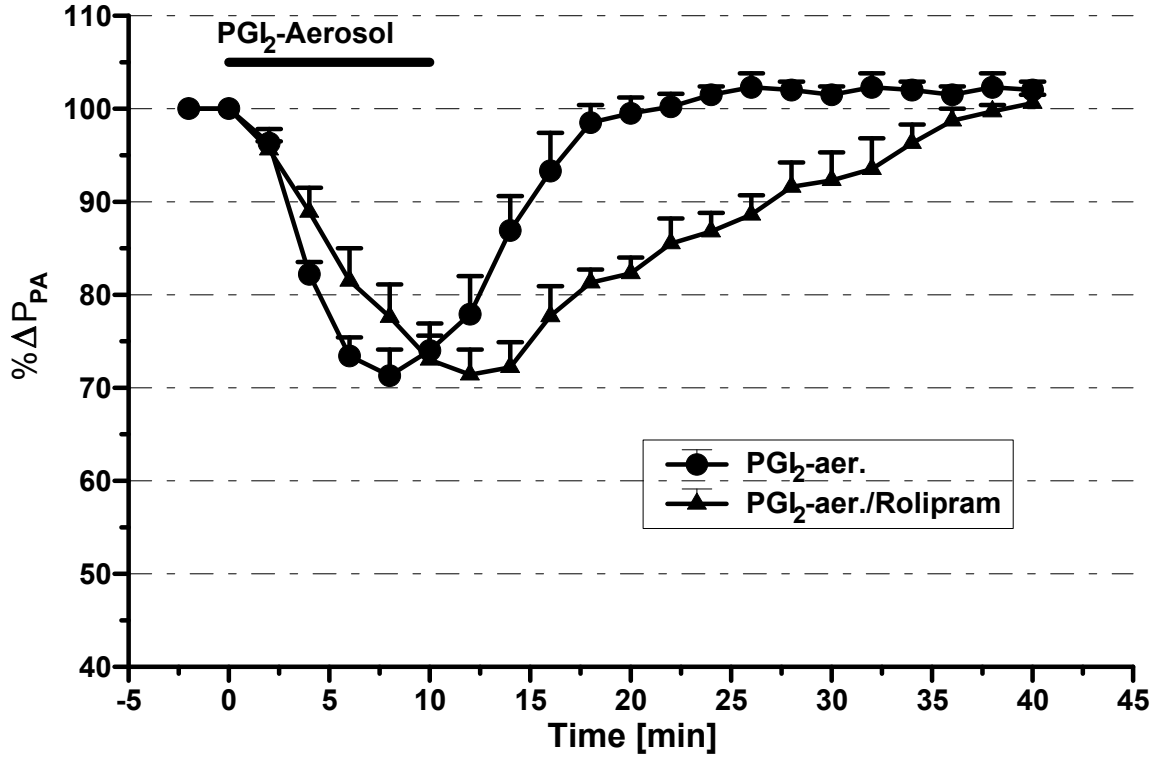

Abb.10 Einfluss von aerosoliertem Prostazyklin (PGI_2), unter U46619 Gabe in Kombination mit dem PDE- 4- Inhibitor Rolipram in unterschwelliger Dosis, auf den pulmonal- arteriellen Druck (PAP). Darstellung in MEAN ± SEM. Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text.

c. Koapplikation von inhalativem Prostazyklin (PGI_2) und Infusion des PDE- 5-Inhibitor Zaprinast

Wiederum wurde nach erfolgter erster Inhalation mit Prostazyklin eine Baselinemessung registriert. Nun wurde zunächst ein Bolus des PDE- Inhibitor- 5-Inhibitors Zaprinast intravenös appliziert (100mg/kg KG), gefolgt von der Infusion niederschwelliger Dosis von 3,3mg/kg*h.

Nach 15min Beobachtung bei stabilem pulmonalem Druckplateau wurde die zweite Inhalation mit PGI_2 über 10min.gestartet. Nach Ende der Inhalation wurde ebenfalls die Infusion mit Zaprinast beendet.

Unter der Ko- Applikation von PGI_2 mit dem PDE-V- Inhibitor Zaprinast wurde eine Reduktion des pulmonal- arteriellen Druckes von 30% erreicht, es zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Aerosolierung mit PGI_2 alleine, allerdings erwies sich in dieser Kombination eine hochsignifikante Verlängerung des pulmonal-vasodilatativen Effektes. Der Wiederanstieg des pulmonal- arteriellen Druckes ließ sich auf über 30 min prolongieren (s.Abb.11).

Auch unter dieser Ko- Applikation erwiesen sich die systemischen Blutdruckwerte, sowie der Gasaustausch unverändert (s.Tab.4)

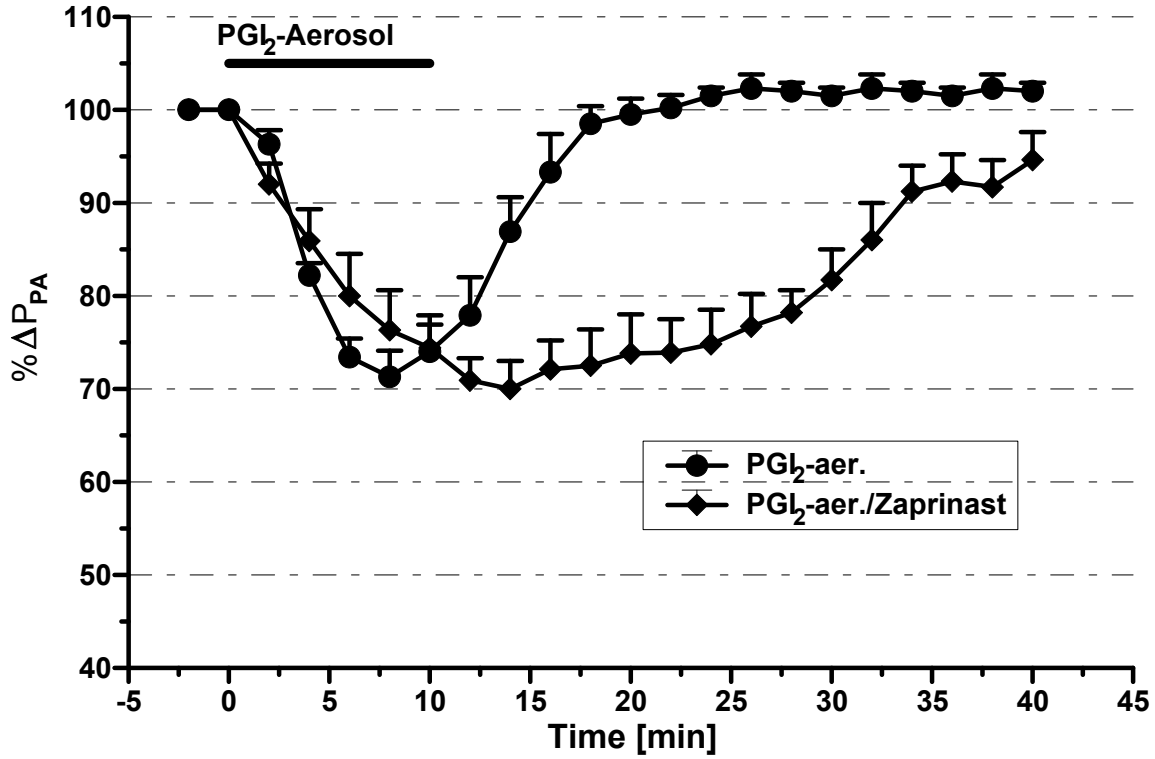

Abb.11 Einfluss von aerosoliertem Prostazyklin (PGI_2), unter U46619 Gabe in Kombination mit dem PDE-5- Inhibitor Zaprinast in unterschwelliger Dosis, auf den pulmonal- arteriellen Druck (PAP). Darstellung in MEAN ± SEM. Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text.

4.10. Einfluss von aerosoliertem Prostazyklin (PGI_2) in Ko- Applikation mit einem intravenös verabreichten dual- selektiven PDE- 3/4- Inhibitor (Tolafentrin und Zardaverin) in niederschwelliger Dosis auf die pulmonale und systemische Hämodynamik, sowie den Gasaustausch unter U46619- Infusion

Der Versuchsablauf der Ko- Applikation von PGI_2 mit den dualselektiven PDE- 3+4- Inhibitoren Tolafentrin und Zardaverin erfolgte in gleicher Weise wie die Intervention mit den selektiven PDE- Inhibitoren und gleichzeitiger Aerosolierung von Prostazyklin.

a. Koapplikation von inhalativem PGI_2 und Infusion des PDE- 3/4- Inhibitors Tolafentrin

Nach erster Prostazyklininhalation über 10 min zeigte sich erneut ein pulmonal-arterieller Druckabfall um etwa 30%. Innerhalb von ca. 8 min wurde das pulmonale Ausgangsdruckniveau von ca. 30mm Hg wieder erreicht.

Die pulmonalen und systemischen Druckwerte wurden erneut registriert. Die Blutgasproben wurden abgenommen und die Ko-Applikation von aerosoliertem PGI_2 und intravenösem Tolafentrin wurde begonnen.

Es wurde wiederum zunächst ein intravenöser Bolus des PDE- Inhibitors verabreicht. Bei Tolafentrin wurde niederschwellige eine Dosis von zunächst 100µg/kg KG als Bolus gewählt, gefolgt von einer Infusion von 2mg/kg*h.

Nach einer 15 min Beobachtungsphase zeigt sich auch unter dieser Gabe des PDE-Inhibitors keine signifikante Veränderung des pulmonalen und systemischen Druckverhaltens. Unter laufender Infusion mit Tolafentrin in niederschwelliger Dosis wurde die zweite Inhalation mit PGI_2 über 10 min gestartet.

Nach Ende der Aerosolierung wurde auch die Infusion mit Tolafentrin beendet.

Es zeigte sich unter der Kombination von inhaliertem PGI mit dem dualselektiven PDE- 3/4- Inhibitor Tolafentrin nicht nur eine Verstärkung des pulmonal- vasodilativen Effektes, sondern auch eine signifikante Prolongierung des gefäßerweiternden Effektes. Es wurde eine Reduktion des pulmonal- arteriellen Druckes um etwa 45% vom Ausgangsniveau erreicht, im Vergleich zu einem 30%igen Abfall des pulmonal-arteriellen Druckes bei alleiniger Prostazyklininhalation.

Das pulmonale Druckniveau erreichte 30min nach Ende der Ko- Applikation noch nicht wieder seine Ausgangswerte. Somit konnte die pulmonal- vasodilatative Wirkung mehr als verdreifacht werden (s.Abb.12).

Die systemisch- arteriellen Druckwerte, wie auch die Blutgase erwiesen sich wiederum nicht signifikant verändert. Unter der Kombination zeigte sich ein signifikanter Anstieg des Herzzeitvolumens (HZV) von 406 ± 23 ml/min auf 455 ± 33 ml/min. (s. Tab.4).

b. Koapplikation von inhalativem PGI_2 und Infusion des PDE-3/4- Inhibitors Zardaverin

Unter der Ko-Applikation mit inhalativem Prostazyklin und dem dualselektiven PDE-3/4- Inhibitor Zardaverin wurde ebenfalls ein additiver Effekt im Abfall des pulmonal-arteriellen Druckes, sowie eine signifikante Prolongierung der Prostazyklin induzierten vasodilatativen Wirkung erzielt. Nach Ende der zweiten Prostazyklininhalation wurde auch die Infusion mit Zardaverin beendet. Es zeigte sich ein Abfall des pulmonalen Druckes um 37% vom Ausgangsplateau. Der Wiederanstieg des pulmonalen Druckes konnte auch unter der Ko- Applikation mit Zardaverin auf über 30 min verlängert werden (s. Abb.12)
Systemische Effekte durch Abfall des systemisch arteriellen Blutdruckes konnten auch unter dieser Intervention nicht registriert werden. Ebenso zeigte der Gasaustausch keine signifikante Veränderung.
Nach Interventionsende von inhalativem Prostazyklin mit dem dualselektiven PDE-Inhibitor Zardaverin zeigte sich ein signifikanter Anstieg des Herzzeitvolumens von 402 ± 24 ml/min auf 471 ± 60 ml/min (s. Tab.4).

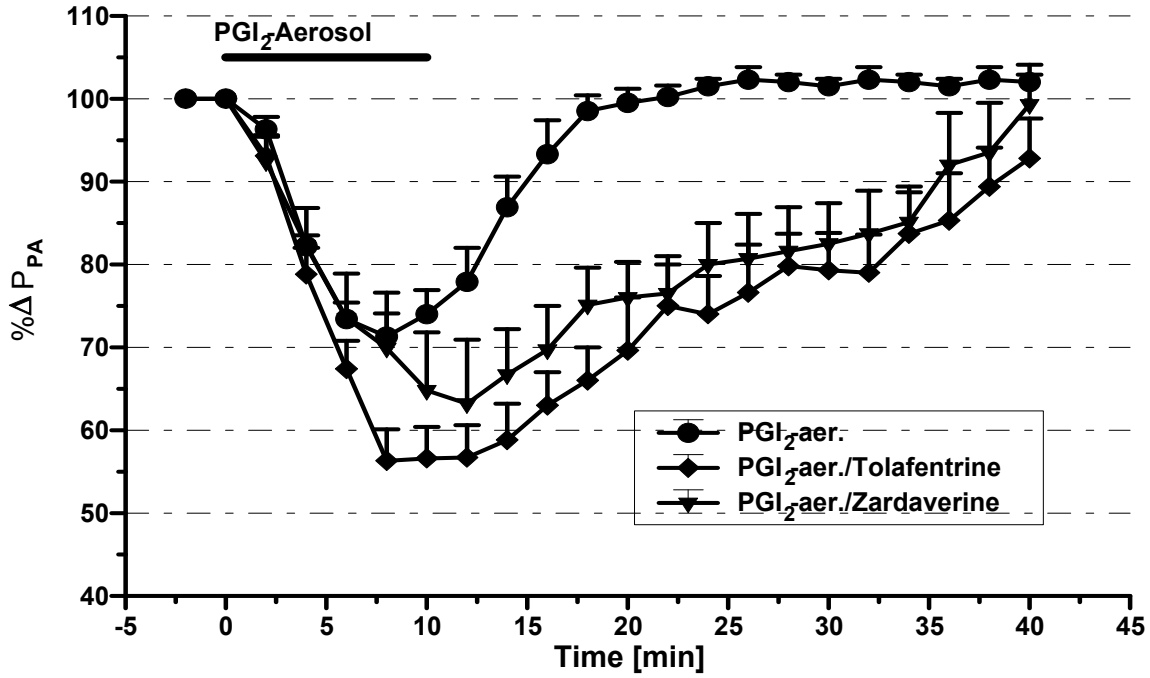

Abb.12 Einfluss von aerosoliertem Prostazyklin(PGI_2), unter U46619 Gabe in Kombination mit den dualselektiven PDE-3/4- Inhibitoren Zardaverin und Tolafentrin in unterschwelliger Dosis, auf den pulmonal- arteriellen Druck (PAP). Darstellung in MEAN ± SEM. Keine Darstellung des SEM, falls mit dem Symbol in Deckung. Erläuterungen im Text.

5. Diskussion

Durch die vorliegenden Untersuchungen am Modell des Ganztieres- Kaninchen konnte eine pulmonal- vasodilatative Wirkung durch den Einsatz eines PDE-Inhibitors mit Inhibition der Phosphodiesterase 3, 4 und 5 nachgewiesen werden. Weiterhin konnten wir zeigen, dass sich durch die Co-Applikation von Prostazyklin mit einem PDE- Inhibitor der Prostazyklin induzierte Effekt mit Abfall des pulmonal-arteriellen Druckes und Anstieg des Herzzeitvolumens verstärken ließ.
Dabei war zu beobachten, das sich der additive Effekt der Co- Applikation bereits in Konzentrationen des jeweiligen PDE- Inhibitors erzielen ließ, welcher per se keine relevante pulmonal- hämodynamische Veränderung zeigte.

5.1 Modell der akuten pulmonalen Hypertonie durch Infusion mit dem Thromboxananalogon U46619

Die kontinuierliche Infusion des Thromboxanmimetikums U46619 zur Induktion einer stabilen pulmonalen Hypertonie ist eine bewährte Methode, sowohl an der isoliert ventiliert und perfundierten Lunge (Rimar et al., 1993, 1995, Lindeborg et al., 1995, Walmrath et al., 1997), wie auch am Modell des Ganztieres-Schaf (wach oder narkotisiert), (Ichinose et al., 1995, 1998, Kleen et al., 1998).
Das Modell einer intakten Tierpräparation bietet jedoch erhebliche Vorteile gegenüber der isolierten Lunge, da nicht nur pulmonal- arterielle Druckveränderungen registriert werden, sondern auch die systemischen Parameter mit in Erscheinung treten.
Daher bietet dieses Modell gute Voraussetzungen zur experimentellen Testung mit möglichen Therapeutika zur Beeinflussung dieser Erscheinungen und um mögliche pulmonal selektive Wirkungen durch Substanzen zu verifizieren.
Auch in der vorliegenden Studie konnte mit dem Einsatz von dauerhaft intravenös appliziertem U46619 eine stabile pulmonale Hypertonie erzielt werden. Durch die U46619- Gabe ließ sich der pulmonal- arterielle Druck verdoppeln.
Relevante Gasaustauschstörungen, sowie systemische Mitreaktionen waren nicht zu verzeichnen.
Der Anstieg des pulmonalen Druckes zeigte sich nach Beenden der U46619-Infusion völlig reversibel. Entsprechend konnte in früheren Untersuchungen von

Lindeborg, Rimar und Walmrath gezeigt werden, dass sich der vasokonstriktive Effekt des Thromboxanmimetikums U46619 prädominierend auf die präkapillären pulmonalen Widerstandsgefässe auswirkt.

5.2 Dosisabhängige Drucksenkung durch Inhibition der Phosphodiesterase 3, 4 und 5 (Motapizon, Rolipram, Zaprinast) sowie dualselektive Inhibition der Phosphodiesterase 3 + 4 (Tolafentrin und Zardaverin) unter U46619- Infusion

Nach der intravenösen Gabe der PDE- Inhibitoren 3 (Motapizon) und 4 (Rolipram) konnte unter laufender U46619- Infusion, dosisabhängig eine signifikante pulmonale Vasodilatation erzielt werden. Eine pulmonal wirksame Dosis, welche eine signifikante Reduktion des pulmonal- vaskulären Widerstandes bewirkte, zeigte jedoch keine pulmonale Selektivität. Die pulmonale Drucksenkung war begleitet von einer deutlich systemischen Mitreaktion des arteriellen Druckes (P_{SA}). Unter der kombinierten Anwendung der PDE- Inhibitoren 3+4 (Motapizon und Rolipram) konnte ein additiver, pulmonal gefäßerweiternder Effekt erzielt werden, im Vergleich zur alleinigen Inhibition der PDE 3 oder 4.

Diese Ergebnisse korrespondieren mit vorangegangenen Untersuchungen an menschlichen Pulmonalarterienringen. Hierbei wurde durch das Prostaglandin $F_{2\acute{\alpha}}$ ($PGF_{2\acute{\alpha}}$) eine pulmonale Vasokonstriktion induziert. Unter der Ko-Applikation der PDE- Inhibitoren Motapizon und Rolipram zeigte sich eine signifikante Gefässrelaxation (Rabe et al., 1994).

Die Phosphodiesterasen 3 und 4 spielen eine essentielle Rolle in der Regulation des cAMP- Gehaltes sowohl in den glatten Muskelzellen der Atemwege, als auch in den glatten Muskelzellen humaner Pulmonalgefässe (Torphy et al, 1998).

Synergistische Interaktionen durch eine Inhibition der Phosphodiesterase 3 und 4 konnte ebenfalls in Untersuchungen an glatten Gefässmuskelzellen in vitro demonstriert werden.

Durch die Ko- Inhibition der PDE 3 und 4 konnte eine Verminderung in der Proliferation von glatten Gefässmuskelzellen bewirkt werden (Pan et al., 1994).

Diese Daten lassen annehmen, dass durch die Ko- Inhibition der Phosphodiesterase 3 und 4 ein gesteigerter Abbau (Hydrolyse) des second messengers des zyklischen Adenosinmonophosphates (cAMP) vermindert werden kann und höhere cAMP-

Spiegel eine höhere und verlängerte Effektivität im Bezug auf die Gefässrelaxation bedeuten.
Zusätzlich besteht ein komplexes Verhältnis der Phosphodiesterasen untereinander. Wobei die einzelnen Isoenzyme der PDE's untereinander teils aktivierend als auch inhibierend wirken. Möglicherweise kommt es während der Hemmung einer der beiden Phosphodiesterasen (3 oder 4) zu einem vermehrten Abbau des cAMP durch das jeweils andere Enzym. Werden nun beide PDE's inhibiert könnte dies den additiven Effekt im Bezug auf die Gefässrelaxation erklären.

Ähnlich effektiv zeigte sich in unseren Untersuchungen die Inhibition der Phosphodiesterase- 5 mit Zaprinast. Auch hier ließ sich nach systemischer Applikation eine dosisabhängige pulmonale Vasodilatation bewirken. Dieser pulmonal vasodilatative Effekt wurde jedoch wiederum begleitet von einer systemischen Mitreaktion.
Auch unter Inhibition der PDE- 5 in hämodynamisch relevanter Dosis zeigte sich keine pulmonale Selektivität.
Der gezeigte vasodilatative Effekt korrespondiert mit früheren Ergebnissen der PDE-5- Inhibition bei Untersuchungen an neugeborenen, sowie fetalen Lämmern (Braner et al., 1993, Thusu et al., 1995, Ziegler et al., 1995 und 1998).
Bei den Untersuchungen zeigte sich unter Inhibition der PDE 5 eine Reduzierung des pulmonal- vaskulären Widerstandes am Modell der akuten pulmonalen Hypertonie.
Diese Effekte sind am ehesten zurückzuführen auf eine Stabilisierung des zyklischen Guanosinmonophosphates (cGMP) in der pulmonalen Strombahn, durch Inhibition der Phosphodiesterase 5 und somit Hemmung des Abbaus von cGMP, dessen Bildung durch die kontinuierliche NO- Synthese erfolgt.
Durch die Abbauhemmung von beiden second- messenger (cAMP und cGMP) infolge Ko-Applikation der Phosphodiesterase- Inhibitoren 3 und 5 (Motapizon und Zaprinast), sowie Inhibition der PDE 4 und 5, (Rolipram und Zaprinast) zeigten unsere Untersuchungen additive Effekte im Bezug auf die Gefässrelaxation.
Diese Ergebnisse waren vergleichbar mit Untersuchungen die Clark et al., 1994 am Modell der in situ- perfundierten Kaninchenlunge durchführten. Mit den dabei eingesetzten PDE- Inhibitoren 3 (Milrinon) und 5 (Dipyridamol) konnte ebenfalls eine synergistische Reduktion des pulmonal- vaskulären Widerstandes am Modell der akuten pulmonalen Hypertonie erzielt werden.

5.3 Pulmonal arterielle Drucksenkung unter aerosoliertem Prostazyklin

Die Wirkung des Prostazyklinderivates Epoprostenol (PGI_2) auf das pulmonale Druck- und Widerstandsverhalten ist weltweit durch klinische Daten belegt. Vor allem als Dauerinfusion ist der Einsatz von Prostazyklin eine bewährte und effektive Therapie zur Behandlung der pulmonal- arteriellen Hypertonie (Rubin et al., 1992, Higgenbottom et al., 1984, McLaughlin et al., 1998).

Durch Aerosolierung des PGI_2 und dadurch verbundener Selektivität in der pulmonalen Strombahn gibt es ebenfalls eine Vielzahl klinischer Daten, die diese selektive Wirksamkeit belegen (Walmrath et al., 1993, 1995, 1997).

Eine Weiterentwicklung in der Aerosolierung von Prostazyklinderivaten stellt der Einsatz des Prostazyklinanalogons Iloprost dar.

Iloprost (Fa. Schering, Berlin Deutschland) ist ein synthetisches Prostazyklinanalogon, welches sich durch eine höhere Effektivität und längere Halbwertszeit auszeichnet (ca. 20 min Plasmahalbwertszeit) im Vergleich zum Epoprostenol mit einer ca. 2-3 min. Plasmahalbwertszeit (Moncada etr al., 1976).

Mit der Anwendung von inhalativem Iloprost zur Behandlung der pulmonalen Hypertonie gibt es zahlreiche Daten vor allem aus unserer Arbeitsgruppe von Olschewski et al seit Anfang der neunziger Jahre (Olschewski et al., 1996, 1999, 2000, 2002, Hoeper et al., 2000).

Eine Zulassung hat die Substanz zur intravenösen Behandlung der arteriellen Verschlusskrankheit (M. Winiwarter-Burger) in Deutschland. In Neuseeland besteht die Zulassung für die Therapie der pulmonalen Hypertonie als kontinuierlich, intravenöse Applikation.

Seit September 2003 erhielt die Substanz die europäische Zulassung als erste Inhalationstherapie zur Behandlung der pulmonal arteriellen Hypertonie bei Patienten im NYHA- Stadium 3.

Zu erwähnen ist aber auch die Problematik dieser komplexen Therapieform.

Für die Inhalation ist ein entsprechendes Inhalationssystem erforderlich. Zu dem muss jeder Patient zu Beginn der Therapie in die Handhabung und Durchführung der Inhalationen eingewiesen und geschult werden.

Es sind häufige, repetitive Inhalationen über den Tag erforderlich, um den Therapieeffekt beizubehalten. Hierzu muss der Patient neunmal pro Tag über jeweils

3-6 min inhalieren. Weiter zu erwähnen ist eine nicht unerhebliche Nachtpause von mindestens 6 Stunden.
Aus dieser Problematik entwickelten sich Untersuchungen zu neuen Therapieansätzen, um die effektive Wirkung einer Prostazyklininhalation zu verlängern, um so die Inhalationshäufigkeit zu reduzieren und die Nachtpause effektiv überrücken zu können.

Für die hier durchgeführten Untersuchungen wurde inhalatives Prostazyklin verwendet, um nicht primär den bekannten Effekt durch aerosoliertes PGI_2 zu verifizieren, sondern die hämodynamische Wirkung mit der kombinierten Anwendung, vor allem zusammen mit dem Einsatz der PDE- Inhibitoren zu zeigen.

5.4 Synergistischer Effekt durch die Kombination von inhalativem PGI_2 mit jeweils einer unterschwelligen Dosis eines PDE- Inhibitors auf die pulmonale und systemische Hämodynamik

In den durchgeführten Untersuchungen konnten wir einen synergistischen Effekt mit der Ko- Applikation von inhaliertem PGI_2 zusammen mit einer niederschwelligen Dosis je eines PDE- Inhibitors nachweisen.
Unter der kombinierten Anwendung zeigte sich teils ein deutlich additiver Effekt im Bezug auf die pulmonale Druck- und Widerstandssenkung, überwiegend zeigte sich unter der Ko-Applikation eine signifikante Verlängerung hinsichtlich der Dauer der pulmonalen Drucksenkung im Vergleich zur alleinigen Prostazyklininhalation.
Vor allem bei der kombinierten Anwendung mit PGI_2 und der Inhibition der Phosphodiesterase 3 mit Motapizon, zeigte sich ein signifikant additiver Effekt auf die pulmonal arterielle Drucksenkung. Die pulmonale Drucksenkung konnte um insgesamt 50% gegenüber dem Ausgangsdruckplateau unter der U46619 Infusion gesenkt werden. Während unter der alleinigen PGI_2- Inhalation eine 30%ige Reduktion des pulmonal- ateriellen Druckes erzielt werden konnte.
Additive Effekt im Bezug auf die pulmonal- arterielle Drucksenkung zeigten sich vor allem auch unter der kombinierten Anwendung von inhaliertem PGI_2 mit den dualselektiven PDE- Inhibitoren 3 + 4 Tolafentrin und Zardaverin. Auch hier konnte mit dem Einsatz einer niederschwelligen Dosis eine synergistische Drucksenkung

erzielt werden. Vor allem der PDE 3/4- Inhibitor Tolafentrin zeigte einen deutlich additiven Effekt mit einer zusätzlichen Drucksenkung von 15% (insgesamt 45%) im Vergleich zur alleinigen Prostazyklininhalation.

In der kombinierten Anwendung konnte jedoch bei allen PDE- Inhibitoren in niederschwelliger Dosis, ob selektiv oder dualselektiv, eine Verzögerung im Wiederanstieg des pulmonal- arteriellen Druckes beobachtet werden.

Verglich man die Wirkung der PDE- Inhibitoren untereinander, so zeigte sich bei den dualselektiven Phosphodiesterasehemmern (Tolafentrin wie auch Zardaverin) eine stärkere Wirkung mit einer Prolongierung des pulmonalen Druckwideranstieges um je mehr als 30 min.

Bei den selektiven PDE- Inhibitoren zeigte sich eindeutig der PDE 5- Inhibitor Zaprinast als stärkste Substanz um den Wiederanstieg des pulmonal arteriellen Druckes zu verlangsamen, ebenfalls auf mehr als 30 min. im Vergleich zur alleinigen Prostazyklininhalation, wo sich etwa 8min nach Ende der Inhalation der pulmonal arterielle Druck wieder in seinem pulmonalen Ausgangsdruckplateau befand.

Diese Ergebnisse stimmen überein mit den Untersuchungen von Ichinose et al., 1995 und 1998. Auch er konnte durch die Ko- Applikation des PDE- 5- Inhibitors Zaprinast in Kombination mit Stickstoffmonoxidinhalation (NO) additive Effekte in der Senkung des pulmonal- arteriellen Druckes bei Lämmern mit akuter pulmonaler Hypertonie zeigen.

Am ehesten bedingt durch eine Stabilisierung des second- messengers cGMP, über NO induzierte Aktivierung der Guanylatzyklase, sowie Abbauhemmung der PDE-5 durch Inhibition des Enzyms.

Ebenso zeigten andere Arbeitsgruppen die potentiellen Effekte durch cGMP spezifische PDE- Inhibition und dadurch additive Effekte der pulmonalen Vasodilatation und Reduzierung des Rebound- Effektes unter NO- Inhalation in Kombination mit Inhibition der PDE 5 mit Dipyridamol (Ziegler et al., 1998, Clarke et al., 1994, Ivy et al., 1998).

Beeindruckend zeigen sich jedoch insgesamt die vorliegenden Ergebnisse mit einer Aerolsolierung mit PGI_2 in Kombination mit der Inhibition der PDE 5 durch Zaprinast.

Hier zeigt sich, dass es eine Interaktion zwischen der PGI_2- vermittelten cAMP Schiene und der Inhibition der PDE- 5, welche den Abbau des cGMP hemmt, geben muss.

Eckly et al., zeigten 1994 an isolierten Gefässen den synergistischen Effekt von cAMP und cGMP vermittelter Vasorelaxation durch die kombinierte Anwendung von NO und PDE 3 und 4- Inhibition.

Auch die Untersuchungen von Delpy et al., 1996 zeigten, das eine Verbindung zwischen der cAMP und cGMP induzierten Vasorelaxation bestehen muss.

Weniger effektiv bezüglich eines prolongierenden Effektes auf den pulmonal-arteriellen Druck zeigte sich der PDE- 3- Inhibitor Motapizon, welcher trotz der signifikant ausgeprägt synergistischen Drucksenkung nur eine Verzögerung des Wiederanstieges um 12 min. gegenüber PGI_2 bewirken konnte. Insgesamt 20 min nach Ende der Inhalation und Infusion zeigte sich der pulmonal- arterielle Druck wieder auf seinem Ausgangsniveau.

Gefolgt wurde diese Wirkung von dem PDE- 4- Inhibitor Rolipram, ein signifikant additiver Effekt in der pulmonalen Drucksenkung konnte nicht erreicht werden, der Druckanstieg auf Ausgangsniveau unter U46619- Infusion konnte jedoch um weitere 4min (insgesamt 24 min) gegenüber dem PDE- 3- Inhibitor Motapizon prolongiert werden.

Unter allen Interventionen mit der Ko-Applikation von inhalativem Prostanoid mit PDE- Inhibition in niederschwelliger Dosis zeigten sich trotz der signifikanten Drucksenkung in der pulmonalen Strombahn keine signifikante systemische Mitreaktion. Die systemischen Druckwerte blieben stabil, ebenso zeigte sich der Gasaustausch konstant.

Das Herzzeitvolumen (HZV) konnte durchgehend signifikant um 15-20% erhöht werden.

Jedoch erwies sich unter der Ko-Applikation kein additiver Effekt auf das HZV. Bereits unter alleiniger Prostazyklininhalation konnte ein signifikanter Anstieg des HZV von 393 auf 458 ml/min erreicht werden. Dieser Zuwachs des HZV konnte unter der kombinierten Anwendung nicht signifikant weiter gesteigert werden.

Diese Beobachtung wäre der Beleg für eine überwiegend präkapilläre pulmonale Drucksenkung bei der kombinierten Anwendung.

Obwohl gerade die PDE- 3 bekanntermaßen vorherrschend auch im Myokard zu finden ist (Schlepper et al., 1994), zeigte sich bei der Anwendung in niederschwelliger Dosis kein additiver, kardialer Effekt im Sinne einer positiven Inotropie, z.B. durch Steigerung des HZV.

Besonders effektiv in der Prolongierung als auch in der absoluten pulmonalen Drucksenkung zeigten sich die dualselektiven PDE 3/4- Inhibitoren Tolafentrin und Zardaverin.

Unter der Anwendung einer niederschwelligen Dosis in Kombination mit inhaliertem Prostazyklin zeigten diese deutlich additive Wirkung in der pulmonal- arteriellen Drucksenkung wie auch eine signifikant längere Prolongierung der pulmonalen Vasorelaxation auf mehr als 30 min, auch unter der Ko- Inhibition der PDE 3+4 zeigte sich eine pulmonal- selektive Wirkung, der systemisch arterielle Druck blieb konstant.

Ebenso der Gasaustausch zeigte sich bei allen Interventionen mit aerosoliertem PGI_2 in Kombination mit intravenös applizierter PDE- Inhibition unverändert. Es zeigte sich keine Verschlechterung der arteriellen Sauerstoffsättigung. Daher ist davon aus zugehen, das die Anwendung einer niederschwelligen Dosis eines systemisch gegebenen PDE- Inhibitors keinen negativen Einfluss auf das Ventilations-/Perfusionsverhältnis der Lunge hat, welches oft bei der systemischen Anwendung eines Vasodilatators zu sehen ist.

6. Zusammenfassung und Ausblick

In einem Modell der akuten pulmonalen Hypertonie konnte in der vorliegenden Arbeit der Nachweis eines Synergismus von inhaliertem Prostazyklin mit verschiedenen PDE- Inhibitoren, welche den Abbau der second messenger Produkte (cAMP/cGMP) hemmen, erbracht werden.

Dazu wurde das pharmakologische Profil systemisch applizierter selektiver PDE-Inhibitoren am Ganztiermodell der akuten pulmonalen Hypertonie des Kaninchens charakterisiert. Eingesetzt wurden die monoselektiven PDE-Inhibitoren Motapizone (PDE 3), Rolipram (PDE 4) und Zaprinast (PDE 5) sowie die dualselektiven Inhibitoren Zardaverin und Tolafentrine (beide PDE 3/4). Eine akute pulmonale Widerstandserhöhung wurde in diesem Modell durch die Infusion des Thromboxanmimetikums U46619 erzielt. Dosisabhängig senkten alle intravenös verabreichten PDE-Inhibitoren in diesem Modell die U46619-induzierte pulmonalarterielle Druckerhöhung. Die pulmonalvasodilatative Wirkung konnte durch Kombination der PDE-Inhibitoren noch deutlich verstärkt werden (Motapizone/Rolipram, Motapizone/Zaprinast, Rolipram/Zaprinast). Die Aerosolierung von PGI_2 in einer Dosis von 56 ng/kg min über 10 Minuten reduzierte in diesem Ganztiermodell die U46619-induzierte pulmonal¬arterielle Druckerhöhung um 30 %, der systemische Druck wurde dabei nicht beeinflusst. Aus der Kombination von PGI_2 mit den unterschiedlichen PDE-Inhibitoren in einer unterschwelligen Dosis, die nachweislich keinen Effekt auf die pulmonale Hämodynamik zeigte, resultierten folgende Ergebnisse: Rolipram (5.5 µg/kg) hatte keinen Einfluß auf die Stärke des PGI_2-induzierten Druckabfalles, verlängerte ihn aber signifikant von 8 auf 22 Minuten; Zaprinast zeigte ein ähnliches Wirkungsprofil mit Verlängerung der PGI_2-Wirkung auf 30 Minuten; Motapizone (2.2 µg/kg) verstärkte signifikant den vasodilatatorischen PGI2-Effekt um 20 % und verlängerte ihn auf 20 Minuten. Parallel mit diesen pulmonalvaskulären Veränderungen wurde das Herzminutenvolumen erhöht, der systemische Druck und der Gasaustausch wurden jedoch nicht beeinflusst. Die Kombinationen mit den dualselektiven PDE-Inhibitoren Zardaverin (50 µg/kg) und Tolafentrine (100 µg/kg) verstärkten die PGI_2-Wirkung und verlängerten sie signifikant auf 28 Minuten.

Zusammenfassend zeigten diese Untersuchungen, dass die monoselektiven PDE-Inhibitoren Rolipram, Motapizone und Zaprinast sowie die dualselektiven Inhibitoren

Zardaverin und Tolafentrine in subtherapeutischen Dosen, bezogen auf ihre direkte Wirkung auf die pulmonale und systemische Hämodynamik, die vasodilatatorische Wirkung von aerosoliertem PGI_2 verstärken und verlängern können. Die pulmonale Selektivität des aerosolierten PGI2 wird durch diese systemisch applizierten subtherapeutischen Dosen nicht beeinflusst. Da nach derzeitiger Datenlage in humanen Pulmonalarterien die PDE-Isoformen 3, 4 und 5 dominieren (Rabe et al. [1994] Am J Physiol 266:536-543), könnte die Kombination der aerosolierten vasodilatativen Prostanoide mit niedrig dosierten systemischen PDE-Inhibitoren auch klinisch die Therapieoptionen bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie erweitern.

Ebenso wäre auch der Einfluss der kombinierten Anwendung mit inhalativen Prostanoiden bei gleichzeitiger Inhibition der PDE interessant im Bezug auf die Entwicklung, sowie eine mögliche Inhibitierung der ständigen Umbauvorgänge bei dem Krankheitsgeschehen. Im Falle der inhalativen Prostanoidtherapie mit dem Prostazyklinanalogon Iloprost haben die klinischen Studien eindeutig eine Wirksamkeit dieser Substanz bei der pulmonal arteriellen Hypertonie belegt und die Therapieform wurde im September 2003 als erste inhalative Therapie für die Indikation der pulmonal arteriellen Hypertonie zugelassen.

Für den Einsatz mit Phosphodiesteraseinhibitoren bei der Indikation der pulmonal-arteriellen Hypertonie haben mittlerweile klinische Studien die Effektivität der Wirksamkeit mit dem in oraler Form verfügbaren PDE- Inhibitor Sildenafil (überwiegend PDE-5- Inhibitor) erwiesen und es besteht seit 2006 eine Zulassung für den Einsatz von Sildenafil bei Patienten mit pulmonal arterieller Hypertonie.

Allerdings laufen derzeit noch klinische Studien zur Zulassung auf die Kombination der inhalativen Ilopros ttherapie mit dem Phosphodiesterase 5 Inhibitor Sildenafil.

Insgesamt zeigen die noch offen stehenden Fragen, das es weitere Untersuchungen geben muss, damit dieser Erfolg versprechende Ansatz der Kombinationstherapie eine effektive Therapie für die Behandlung der pulmonalen Hypertonie sein wird.

6. Summary and outlook

Inhalation of aerosolized prostaglandin (PGI_2) causes selective pulmonary vasodilation, but the effect rapidly levels off after termination of nebulization. In experimental pulmonary hypertension in intact rabbits, provoked by continuous infusion of the stable thromboxane mimetic U46619, the impact of intravenous phosphodiesterase (PDE) inhibitors on pulmonary and systemic hemodynamics was investigated in the absence and presence of aerosolized PGI_2. We employed the monoselective inhibitors motapizone (PDE3), rolipram (PDE4) and zaprinast (PDE5), as well as the dualselective blockers zardaverine and tolafentrine (both PDE3/4). All PDE inhibitors dose-dependently reduced the pulmonary artery pressure (P_{PA}), with doses for a ~ 20 % decrease in pulmonary vascular resistance being 5 µg/kg for motapizone, 25 µg/kg for rolipram, 500 µg/kg for zardaverine, 1 mg/kg for zaprinast and 1 mg/kg for tolafentrine. Additive efficacy was noted when combining the monoselective 3 plus 4, 3 plus 5 and 4 plus 5 inhibitors. In parallel to the pulmonary vasorelaxant effect, all PDE inhibitors caused a decrease in systemic arterial pressure and an increase in cardiac output. Nebulized PGI_2 (56 ng/kg min) reduced the U46619 evoked increase in P_{PA} by ~30%. This vasorelaxant effect was fully lost within 10 min after termination of PGI_2 nebulization. Co-application of sub-threshold doses of intravenous PDE inhibitors, which *per se* did not affect pulmonary and systemic hemodynamics, resulted in a marked prolongation of the post-PGI_2 decrease in P_{PA} for all blockers (2.2 µg/kg motapizone, 5.5 µg/kg rolipram, 100 µg/kg zaprinast). The most effective agents, zardaverine (50µg/kg) and tolafentrine (100µg/kg) augmented the maximum P_{PA} drop during nebulization by ≈ 30 - 50 % and prolonged the post-PGI_2 pulmonary vasodilation to > 30 min, without affecting systemic arterial pressure and arterial oxygenation. We conclude that sub threshold systemic dose of monoselective PDE 3, 4 and 5 inhibitors and in particular dualselective PDE 3/4 inhibitors cause significant amplification of the pulmonary vasodilatory response to inhaled PGI_2, while limiting the hypotensive effect to the pulmonary circulation. Combining nebulized prostanoids with low dose systemic PDE inhibitors may thus offers as therapeutic strategy to achieve selective pulmonary vasodilation in acute and chronic pulmonary hypertension. Due to the short half life of prostacyclin (2-3 minutes under physiological pH) clinical development was continued with the stable prostacyclin analogue iloprost. This prostanoid demonstrated clinical

efficacy in experimental and clinical studies and has been approved in 2003 for treatment of pulmonary arterial hypertension. Based on our studies with selective PDE inhibitors in combination with inhaled prostanoids, first experience was gained with the selective PDE 5 inhibitor sildenafil which was originally approved for erectile dysfunction. Oral sildenafil has shown to be a selective pulmonary vasodilator in several preclinical and clinical studies and is meanwhile approved for treatment of pulmonary arterial hypertension. Clinical trials addressing the efficacy of combined inhaled Iloprost and oral sildenafil are currently underway. Taken together, the preclinical experiments which demonstrated a synergism between inhaled prostacyclin and different PDE inhibitors have been translated into the clinic and long term studies are currently under investigation.

7. Literaturverzeichnis

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; 609-616.

Badesch DB, Tapson VF, McGoon MD, Brundage BH, Rubin LJ, Wigley FM, Rich S, Barst RJ, Barrett PS, Kral KM, Jobsis MM, Loyd JE, Murali S, Frost A, Girgis R, Bourge RC, Ralph DD, Elliott CG, Hill NS, Langleben D, Schilz RJ, McLaughlin VV, Robbins IM, Groves BM, Shapiro S, Medsger TA Jr. Continuous intravenous epoprostenol for pulmonary hypertension due to the scleroderma spectrum of disease. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med. 2000 Mar 21;132(6):425-34.*

Barst RJ, Rubin LJ, McGoon MD, Caldwell EJ, Long WA, Levy PS.
Survival in primary pulmonary hypertension with long-term continuous intravenous prostacyclin. *Ann Intern Med. 1994 Sep 15;121(6):409-15.*

Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, McGoon MD, Rich S, Badesch DB, Groves BM, Tapson VF, Bourge RC, Brundage BH, et al. A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. The Primary Pulmonary Hypertension Study Group.
N Engl J Med. 1996 Feb 1;334(5):296-302.

Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple Isoforms. *Physiol Rev. 1995 Oct;75(4):725-48. Review.*

Bigatello LM, Hurford WE, Hess D. Use of inhaled nitric oxide for ARDS.
Respir Care Clin N Am. 1997 Sep;3(3):437-58. Review.

Braner DA, Fineman JR, Chang R, Soifer SJ.
M&B 22948, a cGMP phosphodiesterase inhibitor, is a pulmonary vasodilator in lambs. *Am J Physiol. 1993 Jan;264(1 Pt 2):H252-8.*

Carrithers JA, Brown D, Liu F, Orr JA. Thromboxane A2 mimetic U-46619 induces systemic and pulmonary hypertension and delayed tachypnea in the goat. *J Appl Physiol. 1994 Sep;77(3):1466-73.*

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.*

Clarke WR, Uezono S, Chambers A, Doepfner P.
The type III phosphodiesterase inhibitor milrinone and type V PDE inhibitor dipyridamole individually and synergistically reduce elevated pulmonary vascular resistance. *Pulm Pharmacol. 1994 Apr;7(2):81-9.*

Conti M, Nemoz G, Sette C, Vicini E. Recent progress in understanding the hormonal regulation of phosphodiesterases. *Endocr Rev. 1995 Jun;16(3):370-89. Review.*

Crilley TK, Wanstall JC, Bonnet PA. Vasorelaxant effects of SCA40 (a phosphodiesterase III inhibitor) in pulmonary vascular preparations in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol. 1998 May;25(5):355-60.*

D'Alonzo, G.E., R.J. Barst, S.M. Ayres, E.H. Bergofsky, B.H. Brundage, K.M. Detre, A.P. Fishman, R.M. Goldring, B.M. Groves, J.T. Kernis et al.. Survival in patiens with primary pulmonary hypertension. Results from a national prospective registry. *Ann. Intern.Med. 1991; 115 (5): 139-148.*

Delpy E, Coste H, Gouville AC.
Effects of cyclic GMP elevation on isoprenaline-induced increase in cyclic AMP and relaxation in rat aortic smooth muscle: role of phosphodiesterase 3. *Br J Pharmacol. 1996 Oct;119(3):471-8.*

Dent G, Magnussen H, Rabe KF. Cyclic nucleotide phosphodiesterases in the human lung. *Lung. 1994;172(3):129-46.*

Eckly AE, Lugnier C. Role of phosphodiesterases III and IV in the modulation of vascular cyclic AMP content by the NO/cyclic GMP pathway.
Br J Pharmacol. 1994 Oct;113(2):445-50.

Faller DV. Endothelial cell responses to hypoxic stress.
Clin Exp Pharmacol Physiol. 1999 Jan;26(1):74-84.

Frostell C, Fratacci MD, Wain JC, Jones R, Zapol WM. Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation. 1991 Jun;83(6):2038-47. Erratum in: Circulation 1991 Nov;84(5):2212.*

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.*

Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, Kimura S, Masaki T, Duguid WP, Stewart DJ, Expression og Endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med. 1993; 328: 1732-9.*

Grange M, Sette C, Cuomo M, Conti M, Lagarde M, Prigent AF, Nemoz G.
The cAMP-specific phosphodiesterase PDE4D3 is regulated by phosphatidic acid binding. Consequences for cAMP signaling pathway and characterization of a phosphatidic acid binding site. *J Biol Chem. 2000 Oct 27;275(43):33379-87.*

Harrison's Principles of internal medicine. 13th edition. Mc Graw- Hill.
Higenbottam T, Wheeldon D, Wells F, Wallwork J. Long-term treatment of primary pulmonary hypertension with continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin).
Lancet. 1984 May 12;1(8385):1046-7.

Higenbottam T. The place of prostacyclin in the clinical management of primary pulmonary
hypertension. *Am Rev Respir Dis. 1987 Sep;136(3):782-5.*

Hoeper MM, Maier R, Tongers J, Niedermeyer J, Hohlfeld JM, Hamm M, Fabel H.

Determination of cardiac output by the Fick method, thermodilution, and acetylene rebreathing in pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med. 1999 Aug;160(2):535-41.*

Hoeper MM, Schwarze M, Ehlerding S, Adler-Schuermeyer A, Spiekerkoetter E, Niedermeyer J, Hamm M, Fabel H. Long-term treatment of primary pulmonary hypertension with aerosolized iloprost, a prostacyclin analogue. *N Engl J Med. 2000 Jun 22;342(25):1866-70.*

Hoeper MM, Olschewski H, Ghofrani HA, Wilkens H, Winkler J, Borst MM, Niedermeyer J, Fabel H, Seeger W. A comparison of the acute hemodynamic effects of inhaled nitric oxide and aerosolized iloprost in primary pulmonary hypertension. German PPH study group. *J Am Coll Cardiol. 2000 Jan;35(1):176-82.*

Howell RE, Jenkins LP, Howell DE. Inhibition of lipopolysaccharide-induced pulmonary edema by isozyme-selective phosphodiesterase inhibitors in guinea pigs. *J Pharmacol Exp Ther. 1995 Nov;275(2):703-9.*

Ichinose F, Adrie C, Hurford WE, Zapol WM. Prolonged pulmonary vasodilator action of inhaled nitric oxide by Zaprinast in awake lambs. *J Appl Physiol. 1995 Apr;78(4):1288-95.*

Ichinose F, Adrie C, Hurford WE, Bloch KD, Zapol WM. Selective pulmonary vasodilation induced by aerosolized zaprinast. *Anesthesiology. 1998 Feb;88(2):410-6.*

Ivy DD, Ziegler JW, Kinsella JP, Wiggins JW, Abman SH. Hemodynamic effects of dipyridamole and inhaled nitric oxide in pediatric patients with pulmonary hypertension. *Chest. 1998 Jul;114(1 Suppl):17S.*

Ivy DD, Kinsella JP, Ziegler JW, Abman SH. Dipyridamole attenuates rebound pulmonary hypertension after inhaled nitric oxide withdrawal in postoperative congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg. 1998 Apr;115(4):875-82.*

Jeffery TK, Wanstall JC. Phosphodiesterase III and V inhibitors on pulmonary artery from pulmonary hypertensive rats: differences between early and established pulmonary
hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol. 1998 Aug;32(2):213-9.*

Kleen M, Habler O, Hofstetter C, Pusch R, Mueller M, Welte M, Zwissler B.
Efficacy of inhaled prostanoids in experimental pulmonary hypertension.
Crit Care Med. 1998 Jun;26(6):1103-9. Erratum in: Crit Care Med 1998 Jul;26(7):1294.

Laughlin MJ, Payne JW, Okita TW. Substrate binding mutants of the higher plant ADP-glucose pyrophosphorylase. *Phytochemistry. 1998 Feb;47(4):621-9.*

Lee P, Langevitz P, Alderdice CA, Aubrey M, Baer PA, Baron M, Buskila D,
Dutz JP, Khostanteen I, Piper S, et al. Mortality in systemic sclerosis (scleroderma).
Q J Med. 1992 Feb; 82(298):139-48.

Lindeborg DM, Kavanagh BP, Van Meurs K, Pearl RG.
Inhaled nitric oxide does not alter the longitudinal distribution of pulmonary vascular resistance. *J Appl Physiol. 1995 Jan;78(1):341-8.*

Manganiello VC, Murata T, Taira M, Belfrage P, Degerman E.
Diversity in cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzyme families.
Arch Biochem Biophys. 1995 Sep 10;322(1):1-13. Review.

Max M, Rossaint R. Inhaled prostacyclin in the treatment of pulmonary hypertension.
Eur J Pediatr. 1999 Dec;158 Suppl 1:S23-6.

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.*

McLaughlin VV, Genthner DE, Panella MM, Rich S. Reduction in pulmonary vascular resistance with long-term epoprostenol (prostacyclin) therapy in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med. 1998 Jan 29;338(5):273-7.*

McMahon EG, Palomo MA, Mehta P, 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 Dec;251(3):1000-5.

Mikhail G, Gibbs J, Richardson M, Wright G, Khaghani A, Banner N, Yacoub M.
An evaluation of nebulized prostacyclin in patients with primary and secondary pulmonary hypertension. *Eur Heart J. 1997 Sep;18(9):1499-504.*

Miller OI, Tang SF, Keech A, Celermajer DS.
Rebound pulmonary hypertension on withdrawal from inhaled nitric oxide.
Lancet. 1995 Jul 1;346(8966):51-2.

Miotla JM, Teixeira MM, Hellewell PG.
Suppression of acute lung injury in mice by an inhibitor of phosphodiesterase type 4. *Am J Respir Cell Mol Biol. 1998 Mar;18(3):411-20.*

Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR.
An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation.
Nature. 1976 Oct 21;263(5579):663-5.

Moncada S, Vane JR. Prostacyclin in the cardiovascular system.
Adv Prostaglandin Thromboxane Res. 1980;6:43-60. Review.

Moncada S, Vane JR. Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. *N Engl J Med. 1979 May 17;300(20):1142-7.*

Naccarelli GV, Goldstein RA. Electrophysiology of phosphodiesterase inhibitors.
Am J Cardiol. 1989 Jan 3;63(2):35A-40A.

Nemoz G, Sette C, Conti M. Selective activation of rolipram-sensitive, cAMP-specific phosphodiesterase isoforms by phosphatidic acid. *Mol Pharmacol. 1997 Feb;51(2):242-9.*

Nemoz G, Zhang R, Sette C, Conti M. Identification of cyclic AMP-phosphodiesterase variants from the PDE4D gene expressed in human peripheral mononuclear cells.
FEBS Lett. 1996 Apr 8;384(1):97-102.

Olschewski H, Seeger W.
[Pathophysiology of pulmonary hypertension]
Z Kardiol. 1994;83 Suppl 6:181-91.

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*
Olschewski H, Ghofrani HA, Walmrath D, Schermuly RT, Grimminger F, and Seeger W.
Aerosolised prostacyclin and Iloprost in severe pulmonary hypertension secondary to lung fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med 1998; 157: A 595.*

Olschewski H, Ghofrani HA, Schmehl T, Winkler J, Wilkens H, Hoper MM, Behr J, Kleber FX, Seeger W. Inhaled iloprost to treat severe pulmonary hypertension. An uncontrolled trial. German PPH Study Group. *Ann Intern Med. 2000 Mar 21;132(6):435-43.*

Olschewski H, Ghofrani HA, Walmrath D, Temmesfeld-Wollbruck B, Grimminger F, Seeger W. Recovery from circulatory shock in severe primary pulmonary hypertension (PPH) with aerosolization of iloprost. *Intensive Care Med. 1998 Jun;24(6):631-4.*

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.*

Pan X, Arauz E, Krzanowski JJ, Fitzpatrick DF, Polson JB.
Synergistic interactions between selective pharmacological inhibitors of phosphodiesterase isozyme families PDE III and PDE IV to attenuate proliferation of rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Pharmacol. 1994 Aug 17;48(4):827-35.*

Peacock AJ, Dawes KE, Shock A, Gray AJ, Reeves JT, Laurent GJ.
Endothelin-1 and endothelin-3 induce chemotaxis and replication of pulmonary artery fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol. 1992 Nov;7(5):492-9.*

Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J.
Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. *Lancet. 1991 Nov 9;338(8776):1173-4.*

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.*

Pinsky D, Oz M, Liao H, Morris S, Brett J, Sciacca R, Karakurum M, Van Lookeren Campagne M, Platt J, Nowygrod R, et al. Restoration of the cAMP second messenger pathway enhances cardiac preservation for transplantation in a heterotopic rat model. *J Clin Invest. 1993 Dec;92(6):2994-3002.*

Polson JB, Strada SJ. Cyclic nucleotide phosphodiesterases and vascular smooth muscle.
Annu Rev Pharmacol Toxicol. 1996;36:403-27.

Rabe KF, Tenor H, Dent G, Schudt C, Liebig S, Magnussen H.
Phosphodiesterase isozymes modulating inherent tone in human airways:

identification and characterization. *Am J Physiol. 1993 May;264(5 Pt 1):L458-64.*

Rabe KF, Tenor H, Dent G, Schudt C, Nakashima M, Magnussen H. Identification of PDE isozymes in human pulmonary artery and effect of selective PDE inhibitors. *Am J Physiol. 1994 May;266(5 Pt 1):L536-43.*

Rich S, Kaufmann E, Levy PS. The effect of high doses of calcium-channel blockers on survival in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med. 1992 Jul 9;327(2):76-81.*

Rimar S, Gillis CN. Selective pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide is due to haemoglobin inactivation. *Circulation. 1993 Dec;88(6):2884-7.*

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.*

Rubin LJ, Groves BM, Reeves JT, Frosolono M, Handel F, Cato AE. Prostacyclin-induced acute pulmonary vasodilation in primary pulmonary hypertension. *Circulation. 1982 Aug;66(2):334-8.*

Rubin LJ, Mendoza J, Hood M, McGoon M, Barst R, Williams WB, Diehl JH, Crow J, Long W. Treatment of primary pulmonary hypertension with continuous intravenous
prostacyclin (epoprostenol). Results of a randomized trial.
Ann Intern Med. 1990 Apr 1;112(7):485-91.

Schmidt RF & Thews G (Hrsg.) Physiologie des Menschen, 24. Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona 1990.

Schudt C, Winder S, Muller B, Ukena D. Zardaverine as a selective inhibitor of phosphodiesterase isozymes. *Biochem Pharmacol. 1991 Jun 21;42(1):153-62.*

Schudt C, Gantner F, Tenors H, Hatzelmann A. Therapeutic potential of selective PDE inhibitors in asthma.Pulm *Pharmacol Ther. 1999;12(2):123-9.*

Schudt C, Winder S, Eltze M, Kilian U, Beume R. Zardaverine: a cyclic AMP specific PDE III/IV inhibitor. *Agents Actions Suppl. 1991;34:379-402.*

Schudt C, Tenor H, Hatzelmann A. PDE isoenzymes as targets for anti-asthma drugs.
Eur Respir J. 1995 Jul;8(7):1179-83.

Seeger W, Hansen T, Rossig R, Schmehl T, Schutte H, Kramer HJ, Walmrath D, Weissmann N, Grimminger F, Suttorp N. Hydrogen peroxide-induced increase in lung endothelial and epithelial permeability--effect of adenylate cyclase stimulation and phosphodiesterase inhibition. *Microvasc Res. 1995 Jul;50(1):1-17.*

SiegenthalerW. (Hrsg.) Klinische Pathophysiologie, 7. Auflage; Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York 1994.

Sitbon O, Humbert M, Jagot LJ, Taravella O, Fartoukh M, Parent F, Herve P, Simmeneau G. Inhaled nitric oxide as a screening agent for safety identifying responders to oral calcium channel blockers in primary pulmonary hypertension. *Eur Respir J 1998; 12: 265-270.*

Spisni E, Bartolini G, Orlandi M, Belletti B, Santi S, Tomasi V.
Prostacyclin (PGI2) synthase is a constitutively expressed enzyme in human endothelial cells. *Exp Cell Res. 1995 Aug;219(2):507-13.*

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.

Suttorp N, Ehreiser P, Hippenstiel S, Fuhrmann M, Krull M, Tenor H, Schudt C. Hyperpermeability of pulmonary endothelial monolayer: protective role of phosphodiesterase isoenzymes 3 and 4. *Lung. 1996;174(3):181-94.*

Suttorp N, Hippenstiel S, Fuhrmann M, Krull M, Podzuweit T.
Role of nitric oxide and phosphodiesterase isoenzyme II for reduction of endothelial hyperpermeability. *Am J Physiol. 1996 Mar;270(3 Pt 1):C778-85.*

Thusu KG, Morin FC 3rd, Russell JA, Steinhorn RH.
The cGMP phosphodiesterase inhibitor zaprinast enhances the effect of nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med. 1995 Nov;152(5 Pt 1):1605-10.*

Torphy TJ. Phosphodiesterase isozymes: molecular targets for novel antiasthma agents.
Am J Respir Crit Care Med. 1998 Feb;157(2):351-70. Review.

Troncy E, Collet JP, Shapiro S, Guimond JG, Blair L, Ducruet T, Francoeur M, Charbonneau M, Blaise G. Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome: a pilot randomized controlled study. *Am J Respir Crit Care Med. 1998 May;157(5 Pt 1):1483-8.*

Uhlig S, Featherstone RL, Held HD, Nusing R, Schudt C, Wendel A. Attenuation by phosphodiesterase inhibitors of lipopolysaccharide-induced thromboxane release and bronchoconstriction in rat lungs. *J Pharmacol Exp Ther. 1997 Dec;283(3):1453-9.*

Veysier- Belot C, Cacoub P. Role of endothelial and smooth muscle cells in the physiology and treatment management of pulmonary hypertension. *Cardiovasc Res. 1999; 44: 274-282.*

Wagner RS, Smith CJ, Taylor AM, Rhoades RA. Phosphodiesterase inhibition improves agonist-induced relaxation of hypertensive pulmonary arteries.
J Pharmacol Exp Ther. 1997 Sep; 282(3):1650-7.

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.*

Walmrath D, Schneider T, Pilch J, Schermuly R, Grimminger F, Seeger W.
Effects of aerosolized prostacyclin in severe pneumonia. Impact of fibrosis.
Am J Respir Crit Care Med. 1995 Mar; 151(3 Pt 1):724-30.

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.*

Walmrath D, Schermuly R, Pilch J, Grimminger F, Seeger W.
Effects of inhaled versus intravenous vasodilators in experimental pulmonary hypertension. *Eur Respir J. 1997 May; 10(5):1084-92.*

West John B. Pulmonary pathophysiology – the essentials, 4th edition. *Williams & Wilkins 1992*

West John B. Assessing pulmonary gas exchange; *N Engl J Med. 1987; 361:1336-8*

Ziegler JW, Ivy DD, Fox JJ, Kinsella JP, Clarke WR, Abman SH.
Dipyridamole, a cGMP phosphodiesterase inhibitor, causes pulmonary vasodilation in the ovine fetus. *Am J Physiol. 1995 Aug; 269(2 Pt 2):H473-9.*

Ziegler JW, Ivy DD, Fox JJ, Kinsella JP, Clarke WR, Abman SH.
Dipyridamole potentiates pulmonary vasodilation induced by acetylcholine and nitric oxide in the ovine fetus.
Am J Respir Crit Care Med. 1998 Apr;157(4 Pt 1):1104-10.

Zwissler B, Kemming G, Habler O, Kleen M, Merkel M, Haller M, Briegel J,
Welte M, Peter K. Inhaled prostacyclin (PGI_2) versus inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med. 1996 Dec;154(6 Pt 1):1671-7.*

Tabelle 3: Hämodynamik und Blutgase im Ganztiermodell der U46619 induzierten, akuten pulmonalen Hypertonie nach Infusion der PDE- Inhibitoren Motapizon, Rolipram, Zaprinast, Tolefentrin und Zardaverin.

	Rolipram 25µg/kg		Motapizon 5µg/kg		Zardaverin 500µg/kg		Zaprinast 1mg/kg		Tolafentrin 1mg/kg	
	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
P_{SA}, mmHg	100 ±4	94±3	104±5	100±5	102±4	92±3*	106±1	101±2	98±4	88±5*
CO, ml/min	430±21	493±17*	394±16	453±21*	402±24	467±26*	380±21	443±18*	410±21	459±18*
P_aO_2, mmHg	196±6	193±10	202±6	205±8	203±3	204±5	201±3	203±2	193±6	195±4
pH_a	7,43±0,1	7,44± 0,1	7,41±0,1	7,43±0,1	7,41±0,1	7,43±0,1	7,43±0,1	7,43±0,1	7,40±0,1	7,43±0,1
P_aCO_2, mmHg	37,9±1,7	36,6±2,6	38,5±1,8	34,7±2,6	39,6±1,9	38,5±3,1	35,6±1,6	34,3±1,1	35,6±1,8	34,5±2,2
P_vO_2, mmHg	38,6 ±4,8	39,3±1,1	38,3±1,9	40,6±1,2	39,5±1,9	41,3±1,1	38,5±1,9	38,3±1,3	36,5±1,8	38,3±1,7
pH_v	7,39±0,1	7,39± 0,1	7,38±0,1	7,39±0,1	7,38±0,1	7,39±0,1	7,38±0,1	7,370,1	7,39±0,1	7,36±0,1
P_vCO2, mmHg	42,3±2,4	40,9±2,1	40,3±2,4	39,9±2,9	40,1±2,4	39,8±2,8	40,3±1,1	39,9±1,9	40,6±2,0	39,8±1,9

$^{\Delta}P_{SA}$ (mittlerer systemisch, arterieller Druck), CO (Herzminutenvolumen), P_aO2 (arterieller Sauerstoffpartialdruck), pH_a (arterieller pH), P_aCO2 (arterieller Partialdruck des CO2), P_vO2 (zentral venöser Sauerstoffpartialdruck, pH_v (venöser pH), P_vCO2 (zentral venöser Partialdruck des CO2), Die mit Stern markierten Parameter zeigen eine signifikante Differenz vor und nach Kurzeitinfusion mit einem PDE- Inhibitor.

Tabelle 4: Hämodynamik und Blutgase im Ganztiermodell der U46619 induzierten, akuten pulmonalen Hypertonie nach Inhalation mit Prostazyklin, sowie in Kombination unter laufender Infusion einer niederschwelligen Dosis mit den PDE- Inhibitoren Motapizon, Rolipram, Zaprinast, Tolefentrin und Zardaverin.

	Kontrolle/ U46619		U46619/ PGI_2		U46619/ Roli./PGI_2		U46619/ Mota./PGI_2		U46619 / Zapri./PGI_2		U46619/ Tola./PGI_2		U46619/ Zarda./PGI_2	
	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
P_{SA}, mmHg	92 ±5	94 ±6	92 ±5	96 ±4	116 ±6	116 ±6	96 ±4	94 ±5	107 ±2	106 ±3	100 ±4	98 ±5	94 ±4	96 ±3
CO, ml/min	471 ±13	411 ±13	393 ±40	458* ±67	418 ±29	471* ± 32	392 ±22	461* ±43	400 ±34	440 ±27	402 ±24	471* ±60	406 ±23	455* ±33
P_aO_2, mmHg	200 ±7	207 ±14	210 ±12	206 ±11	192 ±3	195 ±4	187 ±4	205 ±11	191 ±3	194 ±3	188 ±3	192 ±5	197 ±6	198 ±4
pH_a	7,40 ±0,1	7,42 ±0,1	7,44 ±0,1	7,42 ±0,1	7,36 ±0,1	7,33 ±0,1	7,38 ±0,1	7,42 ±0,1	7,44 ±0,1	7,38 ±0,1	7,42 ±0,1	7,40 ±0,1	7,38 ±0,1	7,39 ±0,1
P_aCO_2, mmHg	37,6 ±1,7	38,5 ±3,1	36,5 ±2,6	35,7 ±2,6	33,9 ±2,0	33,5 ±2,8	35,6 ±1,6	33,7 ±2,7	32,9 ±2,0	34,2 ±2,4	34,5 ±1,9	33,6 ±2,5	34,3 ±1,9	34,6 ±2,4
P_vO_2, mmHg	37,5 ±1,8	40,3 ±1,6	40,3 ±2,3	42,0 ±2,3	39,5 ±1,0	42,1 ±2,4	41,0 ±1,3	42,0 ±2,3	40,1 ±1,4	41,4 ±1,0	39,4 ±1,0	40,1 ±1,2	40,4 ±1,3	45,1* ±1,9
pH_v	7,38 ±0,1	7,39 ±0,1	7,38 ±0,1	7,35 ±0,1	7,36 ±0,1	7,33 ±0,1	7,38 ±0,1	7,35 ±0,1	7,37 ±0,1	7,36 ±0,1	7,36 ±0,1	7,35 ±0,1	7,39 ±0,1	7,38 ±0,1
P_vCO2, mmHg	41,3 ±2,1	39,9 ±2,2	40,0 ±2,2	41,3 ±2,6	39,0 ±2,8	41,1 ±2,7	40,6 ±2,2	41,3 ±2,6	39,5 ±2,3	37,9 ±1,1	39,6 ±1,9	38,8 ±1,0	39,8 ±2,3	41,5 ±2,5

$^{\Delta}P_{SA}$ (mittlerer systemisch, arterieller Druck), CO (Herzminutenvolumen), P_aO2 (arterieller Sauerstoffpartialdruck), pH_a (arterieller pH), P_aCO2 (arterieller

Partialdruck des CO2), P_vO2 (zentral venöser Sauerstoffpartialdruck, pH_v (venöser pH), P_vCO2 (zentral venöser Partialdruck des CO2), PGI_2 (Prostazyklin), Roli (Rolipram), Mota (Motapizon), Zarda (Zardaverin), Zapri (Zaprinast), Tola (Tolafentrin). Die mit Stern markierten Parameter zeigen eine signifikante Differenz des Herzminutenvolumens vor und nach Ko-Applikation von inhalativem Prostazyklin mit einem PDE- Inhibitor.

Publikationsverzeichnis

Reichenberger F, Voswinckel R, Enke B, Rutsch M, El fechtali, Schmehl T, Olschewski H, Schermuly R, Weissmann N, Ghofrani HA, Grimminger F, Mayer E, Seeger W.

Long- term treatment with sildenafil in chronic thrombembolic pulmonary hypertension.

Eur Respir J. 2007 Nov; 30(5):922-7. Epub 2007 Aug 9.

Günther A, Enke B, Markart P, Hammerl P, Morr H, Behr J, Stähler G, Seeger W, Grimminger F, Leconte I, Roux S, Ghofrani HA.

Safety and tolerability of bosentan in idiopathic pulmonary fibrosis: an open label study.

Eur Respir J. 2007 Apr; 29(4): 713-9. Epub 2007 Jan 10.

Voswinckel R, Enke B, Reichenberger F, Kohstall m, Kreckel A, Krick S, Gall H, Gessler T, Schmehl T, Ghofrani HA, Schermuly RT, Grimminger F, Rubin LJ, Seeger W, Olschewski H.

Favorable effects of inhaled treprostinil in severe pulmonary hypertension: results from randomized controlled pilot studies.

J Am Coll Cardiol. 2006 Oct 17; 48(8): 1672-81. Epub 2006 Sep 26.

Reichenberger F, Voswinckel R, Stevelin E, Enke B, Kreckel A, Olschewski H, Grimminger F, Seeger W, Ghofrani HA.

Sildenafil treatment for portopulomnary hypertension.

Eur Respir J. 2006 Sep: 28(3): 563-7. Epub 2006 Jun 28.

Schulze-Neick I, Gilbert N, Ewert R, Witt C, Gruenig E, Enke B, Borst MM, Lange PE, Hoeper MM.
Adult patients with congenital heart disease and pulmonary arterial hypertension: first open prospective multicenter study of bosentan therapy.
Am Heart J. 2005 Oct; 150(4): 716.

Olschewski H, Ghofrani HA, Enke B, Reichenberger F, Voswinckel R, Kreckel A, Ghofrani S, Wiedemann R, Schulz R, Grimminger F, Seeger W.
[Therapy of pulmonary arterial hypertension]
Internist (Berl.) 2005 Mar;46(3): 341-6.

Olschewski H, Rose F, Schermuly R, Ghofrani HA, Enke B, Olschewski A, Seeger W.
Prostacyclin and its analogues in the treatment of pulmonary hypertension.
Pharmacol Ther. 2004 May; 102(2): 139-53.

Ghofrani HA, Rose F, Schermuly RT, Olschewski H, Wiedemann R, Kreckel A, Weissmann N, GhofrANI s; Enke B, Seeger W, Grimminger F.
Oral sildenafil as long- term adjunct therapy to inhaled iloprost in severe pulmonary arterial hypertension.
J Am Coll Cardiol. 2003 Jul 2; 42(1): 158-64.

Ghofrani HA, Schermuly RT, Rose F, Wiedemann R, Kohstall MG, Kreckel A, Olschewski H, Weissmann N, Enke B, Ghofrani S, Grimminger F. Seeger W.
[Pulmonary hypertension]
Intermist (Berl). 2002 Dec, 43(12): 1498, 1501-9. Review.

Schermuly RT, Weissmann N, Enke B, Ghofrani HA, Forssmann WG, Grimminger F, Seeger W, Walmrath D.
Urodilatin, a natriuretic peptide stimulating particulate guanylate cyclase, and the phosphosdiesterase 5 inhibitor dipyridamole attenuate experimental pulmonary hypertension: synergism upon coapplication.
Am J Respir Cell Mol Biol. 2001 Aug; 25(2): 219-25.

Schermuly RT, Ghofrani HA, Enke B, Weissmann N, Grimminger F, Seeger W, Schudt C, Walmrath D.

Low-dose systemic phosphodiesterase inhibitors amplfy the pulmonary vasodilatory response to inhaled prostacyclin in experimental pulmonary hypertension.

Am J Respir Crit Care Med. 1999 Nov; 160(5Pt1): 1500-6.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Enke, Beate
Adresse	Mühlenstr. 15, 35708 Haiger
Geburtsdatum/Ort	09.11.196, Haiger
Familienstand	verheiratet seit 07.03.1986 mit Gunnar Michael Enke
Kinder	Helena Dorothea 31.08.85
	Aaron Joschua 10.07.89

Schulischer Werdegang:

1973-1977	Grundschule Burbach
1977-1983	Realschule Burbach
1983-1984	Gewerbliche- Schule Dillenburg
1991-1994	Abendgymnasium Siegen
	Juni 1994 Abitur

Studium

Oktober 1994	Beginn Studium der Humanmedizin an der Justus- Liebig- Universität Giessen
März 1997	Pysikum
März 1998	1.Staatsexamen
April 2000	2.Staatsexamen
Mai 2001	3.Staatsexamen
03/2001-02/2003	Graduiertenkolleg 534 Biologische Grundlagen der vaskulären Medizin
12/2007	Facharztprüfung Innere Medizin

Beruflicher Werdegang

1984-1985	Ausbildung zur Bürokauffrau Fa. Ahrens, Burbach
1985-1987	Restaurantangestellte in Teilzeit im Familienbetrieb
1987-1993	Büroangestellte in Teilzeit im Familienbetrieb
1994-1996	Pflegehelferin im Altenheim Ströhmann, Haiger
1991-2003	Saniätshelferin beim DRK-Haiger
Seit 1999 bis heute	Subinvestigator in multiplen klinischen Studien
2000-2001	Sitzwache im psychiatrischen KKH- Licherstrasse in Giessen
06/01-11/02	Ärztin im Praktikum in der med. Klinik II des Universitätsklinikums Giessen
Seit 12/2002	Assistenzärztin in der med. Klinik II des Universitätsklinikums Giessen

Danksagung

Für die Bereitstellung eines Dissertationsthemas und für die Möglichkeit Einblicke in Forschung und wissenschaftliches Arbeiten zu gewinnen möchte ich Herrn Professor Werner Seeger und Herrn Professor Hans Dieter Walmrath ganz herzlich danken.
Des Weiteren möchte ich mich bei Professor Seeger und Professor Walmrath für die Möglichkeit bedanken, am Graduiertenkolleg 534 im Rahmen meiner wissenschaftlichen Arbeit teilnehmen zu dürfen.

Besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Professor Ralph Theo Schermuly, der mir bei Planung und Durchführung der Versuche mit Rat und Tat zur Seite stand, der stets ein offenes Ohr für Probleme hatte und immer einen Ausweg wusste, wenn Hindernissse oder Probleme auftraten.

Ebenfalls gilt mein besonderer Dank dem Chemielaborassistenten Herrn Jens Biermann, der mich in die Kunst der MIGET eingewiesen hat und bei Schwierigkeiten an den Laborgeräten immer helfend für mich da war.

Von ganzem Herzen danke ich meinem Mann Gunnar, der mir stets zur Seite stand, und mich bis heute immer unterstützte. Er hat immer an mich geglaubt und mir die Zeit gegeben, diesen Weg gehen zu können. Viele Abende an denen ich im Labor noch tätig war, hat er sich um die Familie gekümmert. Ohne ihn wäre ich nicht dort, wo ich jetzt bin.

Ein letzter ganz besonderer Dank gilt meinen beiden Kindern Helena und Aaron, die mir sehr viel Verständnis für meine Arbeit entgegengebracht haben, ohne die Untersützung meines Mannes und unserer Kinder wäre all dies nicht möglich gewesen.

Erklärung:

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

_____