

Verbesserte Akutreaktion auf inhalatives
Stickstoffmonoxid nach langfristiger
Behandlung der pulmonal-arteriellen
Hypertonie mit oralem Sildenafil

CHRISTINA PETRY

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines **Doktors der Medizin**
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

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

1. Auflage 2012

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

1st Edition 2012

© 2012 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

**Verbesserte Akutreaktion auf inhalatives Stickstoffmonoxid
nach langfristiger Behandlung der pulmonal-arteriellen
Hypertonie mit oralem Sildenafil**

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin aus dem
Fachbereich Medizin der
Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Christina Petry, geb. Matheis
aus Geislingen an der Steige

Gießen 2011

Ambulanz für pulmonale Hypertonie der Medizinischen Klinik II
der Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen
Leiter: Prof. Dr. H. Ardeschir Ghofrani

Gutachter: Prof. Dr. H. A. Ghofrani

Gutachter: Prof. Dr. D. Schranz

Tag der Disputation: 19.07.2012

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	5
1 Einleitung	6
1.1 Definition	6
1.2 Ätiologie	6
1.3 Pathophysiologie	7
1.4 Klinik	7
1.5 Diagnostik	7
1.5.1 Diagnosestellung	7
1.5.2 Schweregrad und Prognose der Erkrankung	8
1.5.3 Abgrenzung der Ätiologien	8
1.6 Therapie	9
1.6.1 Allgemeines	9
1.6.2 Therapie mit Prostazyklinderivaten	9
1.6.3 Therapie mit Endothelin-Rezeptorantagonisten	10
1.6.4 Therapie mit Calciumantagonisten	10
1.6.5 Eigenschaften und Wirkmechanismus von Stickstoffmonoxid (NO)	10
1.6.6 Historische Entwicklung des Begriffes einer Akutreaktion auf NO	11
1.6.7 Definition eines NO-Responders	12
1.6.8 Therapie mit Sildenafil	12
2 Material und Methodik	13
2.1 Katheteranlage	13
2.2 Messung	15
2.3 Körperliche Leistungsfähigkeit	17
2.4 Patientenkollektiv	17
2.5 Bearbeitung der bei den Testungen erhobenen Daten	18
3 Ergebnisse	20
3.1 Ausgangsmesswerte - Baseline Hämodynamik	20
3.2 Körperliche Leistungsfähigkeit	21
3.3 Akutreaktion der Pulmonalgefäße	22
3.4 Reaktion auf Sildenafil in Erst- und Folgetestung	23
3.5 NO-Response	24
4 Diskussion	26

5 Zusammenfassung	31
6 Summary	32
7 Bibliographie	33
8 Danksagung	37
9 Erklärung gemäß Promotionsordnung	38

Abkürzungen

PAH	pulmonal-arterielle Hypertonie
iPAH	idiopathische pulmonal-arterielle Hypertonie
CTEPH	chronisch–thromboembolische pulmonale Hypertonie
HF	Herzfrequenz
mSAP	mittlerer systemischer Blutdruck
SAP (sys)	systolischer systemischer Blutdruck
SAP (dia)	diastolischer systemischer Blutdruck
mPAP	mittlerer pulmonal-arterieller Blutdruck
PAP (sys)	systolischer pulmonal-arterieller Blutdruck
PAP (dia)	diastolischer pulmonal-arterieller Blutdruck
PCWP	pulmonalkapillärer Verschlussdruck
CVP	zentralvenöser Druck
CO	Herzzeitvolumen
CI	Cardiac Index
PVR	pulmonal-vaskulärer Widerstand
SVR	systemisch vaskulärer Widerstand
PO ₂ (art.)	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PCO ₂ (art.)	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
SO ₂ (art.)	arterielle Sauerstoffsättigung
SO ₂ (ven.)	venöse Sauerstoffsättigung

1 Einleitung

Die pulmonale Hypertonie ist charakterisiert durch einen erhöhten pulmonal-vaskulären Widerstand (27, 4, 38). Die Patienten klagen über abnehmende Leistungsfähigkeit und schnelle Ermüdbarkeit. Die Krankheit kann zum Rechtsherzversagen und zum Tod führen (13).

1.1 Definition

Pulmonale Hypertonie ist definiert als eine Erhöhung des pulmonal-arteriellen Mitteldrucks (mPAP) über 25 mmHg in Ruhe, dokumentiert durch eine Pulmonalis-Einschwemmkatheter-Untersuchung (10, 11, 38).

1.2 Ätiologie

Der derzeitigen Klassifikation liegen die Beschlüsse der internationalen Konferenz zur pulmonalen Hypertonie in Dana Point, Kalifornien, im Jahre 2008 zugrunde (34).

Die erste Gruppe umfasst Patienten mit einem pulmonal-arteriellen Hypertonus (PAH) (2). Diese Arbeit beschäftigt sich hauptsächlich mit dieser Gruppe.

Die Unterteilung der Gruppe I erfolgt in PAH, assoziiert mit Kollagenosen und Vaskulitiden, mit systemisch-pulmonalen Shunts, mit portaler Hypertension, mit einer HIV-Infektion und mit Medikamenten oder Toxinen, z. B. Appetitzüglern. Zusätzlich werden die erbliche Form und die idiopathische Form der PAH zu dieser Gruppe gezählt (20, 18, 2, 18). Bei Ausschluss aller bekannter Ursachen wird die Diagnose idiopathische pulmonal-arterielle Hypertonie (iPAH) gestellt (2).

Die zweite Gruppe stellt die pulmonal-venöse Form der pulmonalen Hypertonie dar (29). Sie hat als Ursache linkskardiale Erkrankungen (2, 29). Die dritte Gruppe umfasst die pulmonale Hypertonie bei Lungenerkrankungen ohne oder mit Hypoxie, zum Beispiel bei Aufenthalt in großen Höhen (34). Die chronisch-thromboembolische pulmonale Hypertonie als vierte Gruppe geht mit Bindegewebsnarben als Residuen rezidivierender thromboembolischer Ereignisse in zentralen und/oder peripheren Lungenarterienästen einher (34, 12). Die fünfte Gruppe zählt viele unterschiedliche Faktoren auf, die isoliert oder kombiniert zu einer Erhöhung des pulmonal-vaskulären Widerstandes beitragen können, zum Beispiel Sarkoidose oder chronisch myeloproliferative Erkrankungen. Aus sämtlichen genannten Ursachen können sich Mischformen ergeben.

1.3 Pathophysiologie

Im Rahmen einer Funktionsstörung des pulmonal-vaskulären Endothels kommt es zu einer verminderten Produktion von körpereigenen vasodilatativen Mediatoren wie NO und Prostacyclin (38). Dadurch überwiegen vasokonstriktorisches wirksame Substanzen wie Endothelin-1. Des Weiteren führen in situ Thrombosen zu einem erhöhten Druck in der pulmonalen Strombahn (22). Als dritte Komponente spielt das Remodeling eine entscheidende Rolle: in den Gefäßen finden Umbauvorgänge mit Intimafibrose, Endothelzellwucherung, und Obliteration durch Mediahypertrophie statt (30, 25, 28, 32).

Im Verlauf der Erkrankung kann der rechte Ventrikel dem erhöhten pulmonal-arteriellen Druck nicht mehr standhalten, die Folge ist ein Absinken der rechtskardialen Auswurfleistung (19). Es folgen Dilatation und Hypertrophie des rechten Ventrikels bis hin zur Dekompensation (19).

1.4 Klinik

Zu Beginn der Erkrankung ist eine sehr diskrete Symptomatik möglich, die sich auf einen Verlust der körperlichen Leistungsfähigkeit beschränkt (13). Belastungsdyspnoe ist das häufigste Symptom und führt zu einer erheblichen Beeinträchtigung der Lebensqualität (4). In fortgeschrittenen Krankheitsstadien kann es zu Ruhedyspnoe, Tachykardie, Zyanose, Schwindel und Synkopen kommen. Eine Rechtsherzinsuffizienz geht mit gestauten Halsvenen, peripheren Ödemen, Anasarka und/oder einer Stauungsleber einher (26, 4).

1.5 Diagnostik

1.5.1 Diagnosestellung

Mittels Echokardiographie kann der Druckgradient an der Trikuspidalklappe bestimmt und durch Addition des zentralvenösen Drucks der systolische pulmonal-arterielle Druck abgeschätzt werden (4, 16, 19, 39). Sonographisch kann ein Fehlen des physiologischen inspiratorischen Kollaps der Vena cava inferior beobachtet werden als Hinweis auf einen erhöhten zentral-venösen Druck.

Eine sichere Diagnosestellung liefert der im Kapitel Methodik beschriebene Pulmonalis-Einschwemmkatheter (19). Bei echokardiographisch erhärtetem Verdacht auf einen Hochdruck der pulmonalen Zirkulation oder zur genau auf den einzelnen Patienten abgestimmten Therapieplanung ist eine Kathetertestung essentiell (16).

Auch für eine genaue Einschätzung des Schweregrades der Erkrankung eignet sich die Kathetertestung. Über Bestimmung des Herzzeitvolumens und des pulmonal-arteriellen Druckes lässt sich der pulmonal-arterielle Widerstand (PVR) berechnen. Dieser korreliert mit dem Schweregrad der Erkrankung und hat damit sowohl diagnostische als auch therapeutische Relevanz (14, 38).

Elektrokardiographisch sind Vergleiche mit Vorbefunden von großer Relevanz bei der diagnostischen Beurteilung. Zeichen sowohl der Rechtsherzhypertrophie wie auch rechtsventrikulärer Repolarisationsstörungen können oft erst im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung sichtbar werden (13).

1.5.2 Schweregrad und Prognose der Erkrankung

Weitere prognostische Aussagen erbringt der „six minute walk“ (20, 14, 26). Er veranschaulicht die körperliche Leistungsfähigkeit und damit den momentanen klinischen Zustand des jeweiligen Patienten (26). Eine zurückgelegte Gehstrecke von über 500 Metern gilt als normal, weniger als 330 Meter korrelieren mit einer schlechten Prognose und zeigen ein fortgeschrittenes Erkrankungsstadium an (11).

Die körperliche Leistungsfähigkeit ist auch messbar mit der Spiroergometrie (38): durch Atemgasanalyse wird bei steigender Belastung die maximale Sauerstoffaufnahme gemessen. Nach dem Fick'schen Prinzip ist diese proportional zum maximalen Herzzeitvolumen (4). Dadurch lassen sich Aussagen über die kardiopulmonale Leistungsfähigkeit und damit über den Krankheitsverlauf gewinnen (26, 36, 38).

Außerdem kann im Blut die Konzentration des körpereigenen Hormons BNP (Brain Natriuretic Peptide) bestimmt werden, das durch Hemmung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems vasodilatatorisch und natriuretisch-diuretisch wirkt und bei zunehmender kardialer Insuffizienz ansteigt (26). Die obere Grenze des Referenzbereiches variiert abhängig von Alter und Geschlecht. Eine starke Erhöhung geht einher mit einer erhöhten Mortalitätsrate (4).

1.5.3 Abgrenzung der Ätiologien

HIV-Infektion bzw. Autoimmunerkrankungen wie systemische Sklerose, Lupus erythematoses oder CREST-Syndrom als ätiologischer Faktor werden serologisch als Ursache ausgeschlossen (20, 13).

Pulmonale Embolien und Fibrosierungen des pulmonalen Interstitiums werden in Thorax-CT, sowie die Embolien auch in einer Ventilations-Perfusions-Szintigraphie der Lunge dargestellt (15, 22).

Zum Ausschluss einer post-kapillären pulmonalen Hypertonie wird während der Testung mit Rechtsherzkatheter der pulmonalkapilläre Wedge-Druck gemessen (19, 29). Eine Erhöhung dieses Parameters kann (siehe oben) eine Erhöhung des linksatrialen bzw. linksventrikulären Drucks anzeigen.

1.6 Therapie

1.6.1 Allgemeines

Unterschieden werden eine kurative und eine symptomatische Behandlung der pulmonal-arteriellen Hypertonie. Eine kurative Behandlung der pulmonalen Hypertonie ist nur bei der operablen Form der chronisch-thromboembolischen pulmonalen Hypertonie möglich (12). Eventuell vorhandene Grunderkrankungen wie COPD, systemische Bindegewebserkrankungen und HIV-Infektion sollten konsequent beobachtet und behandelt werden.

Jeder Patient mit Zeichen einer Herzinsuffizienz sollte eine diesbezügliche Therapie erhalten. Diese kann stufenweise erfolgen und eine Gabe von Sauerstoff, von Diuretika und/oder Herzglykosiden beinhalten (16, 27).

In Bezug auf die spezifische Behandlung der pulmonal-arteriellen Hypertonie gibt es mehrere Medikamentengruppen, die verschiedene Signalwege adressieren:

Es handelt sich um die Wirkstoffgruppen Prostazykline, Endothelin-Rezeptor-Antagonisten, Calcium-Kanal-Blocker und Phosphodiesterase-5-Inhibitoren, die in den nachfolgenden Abschnitten genauer beschrieben werden (16, 24, 23).

Ziel dieser Therapien ist es, bei Ungleichgewicht zwischen körpereigenen Vasokonstriktoren (z. B. Endothelin-1) und Vasodilatoren (Prostazyklin) für einen Ausgleich zu sorgen (17).

1.6.2 Therapie mit Prostazyklinderivaten

Prostazyklinderivate sind parenteral (z. B. Epoprostenol) und inhalativ (z. B. Iloprost) anwendbar (24, 22). Bei Epoprostenol sind sowohl das Infektionsrisiko durch den dauerhaft notwendigen zentralvenösen Katheter als auch die Kosten hoch; inhalatives Iloprost ist nebenwirkungsärmer und kostengünstiger (4).

1.6.3 Therapie mit Endothelin-Rezeptorantagonisten

Endothelin-Rezeptorantagonisten (Ambrisentan und Bosentan) werden oral verabreicht. Sie antagonisieren den körpereigenen Vasokonstriktor Endothelin-1 und haben eine Verbesserung der körperlichen Leistungsfähigkeit gezeigt (1, 14, 17).

1.6.4 Therapie mit Calciumantagonisten

1992 zeigten Rich et al., dass Patienten, die mit einer akuten Reduktion des PAP unter Therapie mit Calcium-Antagonisten (CCB, siehe weiter unten) reagieren, eine höhere Fünf-Jahres-Überlebensrate haben als solche, die keine Reduktion zeigen (9).

Im Fall einer Akutreaktion auf inhalatives Stickstoffmonoxid (NO) sind die Chancen auf einen langfristigen Therapieerfolg mit Calciumantagonisten gut (9, 16). Letztere werden heutzutage aufgrund der Nebenwirkungen wie Schock, systemische Hypotonie, Erbrechen, Übelkeit und Kopfschmerzen nicht mehr in einer pharmakologischen Testung eingesetzt (6). Die Testung der Akutreaktion wird im übernächsten Abschnitt beschrieben.

Calciumantagonisten führen langfristig bei weniger als 10 % der Patienten zu einer pulmonalen Drucksenkung (7, 5). Die Dosis wird gesteigert, bis der systemische Blutdruck auf zu geringe Werte sinkt oder bis der Patient die Medikamentennebenwirkung nicht mehr toleriert. Für eine Therapie mit Calcium-Antagonisten kommen nur Patienten in Frage, die bei einer invasiven Vasoreagibilitäts-Testung eine ausgeprägte Ansprache gezeigt haben. Diese und das dabei verwendete Gas sollen nun näher erläutert werden.

1.6.5 Eigenschaften und Wirkmechanismus von Stickstoffmonoxid (NO)

Akute Vasoreagibilität wird mit inhalativem NO getestet, da dieses Gas relativ sicher und kurzwirksam ist (6). NO ist unsichtbar und riecht chlorig. Es hat eine biologische Halbwertszeit von wenigen Sekunden und wird durch Calcium-Calmodulin-vermittelte Aktivierung der endothelialen NO-Synthase freigesetzt und diffundiert in benachbarte Zellen, um in diesen die cytosolische Guanylatcyclase zu aktivieren (36). Von letzterer wird Guanosintriphosphat (GTP) in cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) umgewandelt, das daraufhin als second messenger die Proteinkinase G (PKG) aktiviert. Durch diesen Prozess wird die intrazelluläre Calciumkonzentration gesenkt, was zur Vasodilatation des entsprechenden Gefäßes führt (36).

Die folgende Abbildung veranschaulicht den Aufbau sowie den zellulären Wirkmechanismus von NO (7).

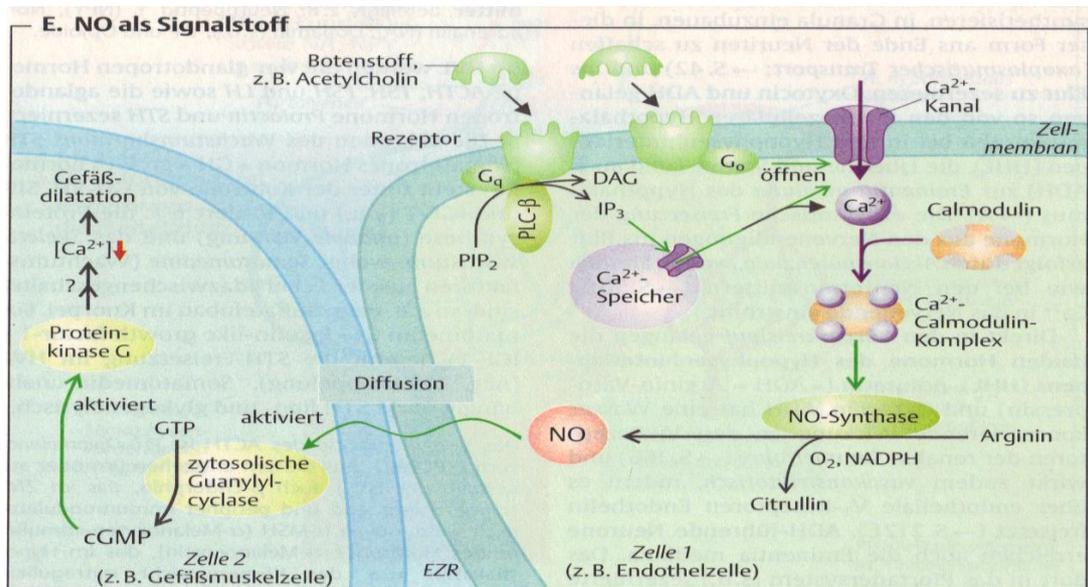


Abbildung 1: Intrazelluläre Entstehung und Signalkaskade von NO (36)

Aufgrund der räumlichen Distanz zur pulmonalen Strombahn bei der Inhalation verzögert sich der Wirkbeginn um 15 bis 30 Sekunden. Die zügige Inaktivierung von NO erfolgt durch Bindung an Hämoglobin und Bildung von Nitrosylmethämoglobin. Dadurch erklärt sich, dass inhalatives NO relativ selektiv auf die pulmonalen Gefäße wirkt (40).

1.6.6 Historische Entwicklung des Begriffes einer Akutreaktion auf NO

Sitbon et al. verwendeten 1998 inhalatives NO als Anzeigegas und verglichen die Akutreaktion der Pulmonalgefäße auf NO mit der auf orale Calcium-Antagonisten. Eine Akutreaktion wurde dabei definiert als ein Abfall des pulmonalvaskulären Widerstandes (PVR) oder des PAP um mindestens 20 % des Ausgangswertes. Dabei zeigten sich Calcium-Antagonisten für neun von zehn NO-Respondern als therapeutische Möglichkeit mit seltenerem Auftreten der oben beschriebenen Nebenwirkungen als bei den Non-Respondern. Seither wird NO als Screeningmöglichkeit für den therapeutischen Einsatz von Calcium-Antagonisten verwendet (6).

2005 zeigten Sitbon et al. bei 557 Patienten, dass bei weniger als 10 % der Patienten mit iPAH ein langfristiges Ansprechen auf CCB dokumentiert werden konnte (5). Diese Long-Term-Responder (LTR) waren in besserem klinischen Zustand als die anderen 90 % der Patienten (5). Von ihnen gehörte ein größerer Anteil zur NYHA-Klasse II, sie zeigten eine

bessere Leistungsfähigkeit im „six minute walk“, und sie hatten bessere hämodynamische Messwerte (5).

Die LTR unterschieden sich in der akuten Vasoreagibilitätstestung durch ihre stärkere Ansprache im Abfall des mPAP und des PVR deutlich von den Patienten, die keine LTR zeigten. Daher forderten Sitbon et al. eine neue Definition der Responder-Kriterien.

1.6.7 Definition eines NO-Responders

Die WHO-Kriterien eines NO-Responders sind ein Abfall des PVR um 25 %, des mPAP um mindestens 10 mmHg und ein Abfall des mPAP von über 40 mmHg auf unter 40 mmHg bei nahe normalem Herz-Zeit-Volumen und ohne Störung des Gasaustauschs (10, 27, 38).

1.6.8 Therapie mit Sildenafil

Bei der Behandlung der pulmonal-arteriellen Hypertonie hat sich eine therapeutische Wirksamkeit von Sildenafil gezeigt (3, 14, 23). Der Wirkstoff hemmt selektiv die Phosphodiesterase Typ 5 und erhöht damit die intrazelluläre cGMP-Konzentration und verstärkt so die NO-vermittelte Vasodilatation der pulmonalen Gefäße (7, 8).

Eine Verbesserung der körperlichen Leistungsfähigkeit wurde durch eine Verbesserung im „six minute walk“ sowie der WHO-Klassifizierung und der Hämodynamik jeweils im Vergleich zur Placeboapplikation nachgewiesen (3). Die Halbwertszeit von Sildenafil beträgt drei bis fünf Stunden, und die maximale Plasmakonzentration ist nach 60 Minuten erreicht (44). Seit November 2005 ist Sildenafil zur Behandlung der pulmonal-arteriellen Hypertonie in Deutschland zugelassen (23).

Die Signalwege von NO und Sildenafil sind verbunden: Der intrazelluläre cGMP-Spiegel in pulmonal-arteriellen glatten Muskelzellen wird durch NO wie oben beschrieben erhöht. Durch Sildenafil wird der Abbau des cGMP gehemmt (8). In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob und inwiefern sich eine langfristige Einnahme des Phosphodiesterase-5-Inhibitors auf die Akutreaktion der pulmonalen Gefäße auf NO-Inhalation bei der pharmakologischen Testung auswirkt.

2 Material und Methodik

2.1 Katheteranlage

Bei allen untersuchten Patienten wurden in individuell gesetzten zeitlichen Abständen Katheteruntersuchungen mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter mit pharmakologischer Testung durchgeführt. Ziel war die Sicherung der Diagnose bzw. die Verlaufskontrolle und Optimierung der dauerhaften Therapie.

Während der Untersuchung konnte das Druck- und Widerstandsverhalten der pulmonalen Gefäße sowohl ohne medikamentöse Intervention als auch unter Medikamentengabe erfasst werden.

Dadurch wurden die Beobachtung des individuellen klinischen Verlaufs, die Beurteilung der momentanen Verfassung des jeweiligen Patienten und individuelle therapeutische Empfehlungen und Entscheidungen möglich.

Vor jeder Untersuchung mit dem Pulmonalis-Einschwemmkatheter wurden die Patienten über Ablauf und Risiken der Kathetereinlage und der pharmakologischen Testung aufgeklärt und erklärten schriftlich ihr Einverständnis.

Eine Therapie mit oraler Antikoagulation wurde mindestens vier Tage vor der Katheteruntersuchung abgesetzt; eine bereits vorhandene orale vasodilatative Therapie einer pulmonalen Hypertonie mit Sildenafil wurde bis einschließlich zum Tag vor der Testung regelrecht eingenommen und am Morgen der Untersuchung pausiert.

Die Untersuchung wurde nach durchschnittlich 12 ± 3 Monaten wiederholt. In der Zwischenzeit erfolgte bei allen Patienten eine tägliche orale Behandlung mit dem Wirkstoff Sildenafil.

Während der Untersuchung war ein ständiges Monitoring sämtlicher Vitalparameter und weiterer hämodynamischer Parameter, die am Ende dieses Kapitels aufgeführt werden, gewährleistet, um eventuell auftretende Nebenwirkungen schnell zu erkennen und das Risiko einer Gefährdung des Patienten zu minimieren.

Ein Dreikanal-EKG wurde an einen Überwachungsmonitor angeschlossen. Mittels Pulsoxymetrie erfolgte die Registrierung der kapillären Sauerstoffsättigung über Clip. Bei den meisten Patienten wurde der systemisch-arterielle Druck (SAP) noninvasiv mit einer Manschette überwacht. In wenigen Fällen wurde zur genaueren Beobachtung des SAP oder bei erhöhtem Infektionsrisiko für die Untersucher (z. B. bei bekannter HIV- oder aktiver Hepatitis-Infektion) ein arterieller Katheter gelegt. Bei Wahl der Arteria radialis wurde eine

venöse Verweilkanüle (Braunüle^R), bei Wahl der Arteria femoralis mittels Seldinger-Technik ein Katheter (Leader-Cath^R) eingeführt und jeweils an den Überwachungsmonitor angeschlossen.

Anschließend wurde eine Schleuse der Größe 8 mittels Seldinger-Technik in die Vena jugularis interna eingeführt; darüber wurde ein Swan-Ganz-Katheter der Firma Edwards eingelegt und nach kontinuierlicher Überwachung des am Monitor angezeigten Drucks über das rechte Atrium und den rechten Ventrikel in die Arteria pulmonalis eingeschwemmt.

In der Arteria pulmonalis wurde der Katheter bis zur Wedge-Position vorgeschoben: ein von extern mit Raumluft aufblasbarer Ballon an der Katheterspitze okkludierte dabei kurzzeitig einen Gefäßast der Arteria pulmonalis; der weiter peripher am Katheter lokalisierte Drucksensor maß in dieser Position den pulmonal-kapillären Verschlussdruck PCWP und gab damit Aufschlüsse über einen eventuell erhöhten linksventrikulären enddiastolischen Druck und damit einer eventuellen linkskardialen Ursache für den erhöhten Druck in der Arteria pulmonalis.

Mit Hilfe der Thermodilutionstechnik wurde das Herzzeitvolumen CO bestimmt. Dabei wurden wiederholt manuell 10 ml gekühlte isotone Kochsalzlösung über den proximalen Schenkel des Pulmonalis-Einschwemmkatheters in Richtung des rechten Atriums gespritzt (38).

Ein Thermosensor registrierte vor der Katheterspitze die Änderung der Temperatur des vorbeiströmenden Blutes; die Temperaturänderung in der Arteria pulmonalis wurde vom Computer gegen die Zeit aufgetragen, die Fläche unter der Kurve integriert und so das Herzzeitvolumen berechnet. Mit dem pulmonalen Druck und dem Herzzeitvolumen konnte der pulmonale Gefäßwiderstand PVR berechnet werden.

Des Weiteren wurde der proximalen Schenkel des Swan-Ganz-Katheters zur Überwachung des zentralvenösen Drucks CVP mit dem Druckaufnehmer verbunden. Außerdem befand sich an dem Katheter eine Leitung zur Blutentnahme aus dem distalen Schenkel, die der Blutgasanalyse diente.

Ein zentralvenöser Zugang über den proximalen Schenkel konnte im Bedarfsfall zur raschen Volumensubstitution verwendet werden.

Über einen peripheren venösen Zugang (Braunüle^R) wurden zwei Gramm Cephazolin zur Prophylaxe einer möglichen katheterinduzierten Infektion verabreicht. Im Fall einer

Penicillin-Unverträglichkeit wurden 600 mg Clindamycin aufgelöst in 100 ml physiologischer Kochsalzlösung appliziert. Zur systemischen Antikoagulation wurden 5000 I.E. Heparin intravenös verabreicht.

2.2 Messung

Vor Beginn der Messungen wurde der Computer kalibriert und der Druckaufnehmer auf den im Raum vorhandenen Luftdruck und die Position des Patienten bzw. die Höhe des rechten Atriums kalibriert. Nach der Kathetereinlage folgte eine zehnminütige Erholungs- und Entspannungsphase des Patienten.

Dokumentiert wurden jeweils der systemische Druck SAP mit systolischem, diastolischem und mittlerem Wert mSAP, über den distalen Schenkel des Katheters sowohl der pulmonalarterielle Druck mit systolischem, diastolischem und mittlerem Wert mPAP als auch der pulmonalkapilläre Verschlussdruck PCWP und über den proximalen Schenkel der zentralvenöse Druck CVP. Ergänzt wurde die Messreihe jeweils durch Herzfrequenz, arterielle bzw. kapilläre Sauerstoffsättigung und Herzzeitvolumen. Von allen Patienten wurden Gewicht und Körpergröße dokumentiert und damit die Körperoberfläche bestimmt. Als weitere hämodynamische Größe lässt sich damit der Herzindex CI berechnen; der pulmonal-vaskuläre Widerstand PVR errechnet sich aus der Differenz zwischen MPAP und PCWP, dividiert durch das CO. Zusätzlich wurde der systemische Gefäßwiderstand SVR aus der Differenz zwischen MAP und CVP, dividiert durch das CO, bestimmt.

Des Weiteren wurden aus dem distalen Schenkel des Pulmonalis-Einschwemmkatheters gemischtvenöse Blutgase abgenommen und die dort bestimmte Sättigung dokumentiert; falls ein arterieller Katheter vorhanden war (siehe oben), wurden dort arterielle Blutgase entnommen und Sättigung, Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck dokumentiert. Bei den meisten Patienten erfolgte die Überwachung letztgenannter Werte über eine kapilläre Blutentnahme am hyperämisierten (Finalgon^R) Ohrläppchen.

Im Fall einer pulsoxymetrisch gemessenen Sättigung unter 90 % und nach individueller Abwägung wurden dem Patienten zwei bis vier Liter Sauerstoff pro Minute über eine Nasen-sonde verabreicht.

Zu Beginn der Messungen wurden die hämodynamischen Ausgangswerte zweifach aufgenommen und aus den je zwei Werten der jeweils arithmetische Mittelwert ‚base‘ gebildet. Danach wurden den Patienten für zehn Minuten vier Liter O₂ pro Minute über eine Nasen-

sonde verabreicht und danach unter Sauerstoff sowohl die Hämodynamik gemessen als auch kapilläre bzw. arterielle und venöse Blutgase entnommen. Anschließend wurde eine zehnminütige Ruhepause eingehalten, um erneut hämodynamische Basiswerte zu erhalten.

Dann folgte die NO-Inhalation. Die Dosierung erfolgte über ein Präzisionsregelventil der Firma Messer Griesheim, von dem aus das Gas über den Inspirationsschenkel eines Y-Mundstücks geleitet wurde. Eine Nasenklemme verhinderte die Nasenatmung. Die NO-Konzentration des Exhalats während der Inhalation wurde durch einen Sensor der Firma Mikrogas Deko, Typ Mg 2000 bestimmt. Dieser befand sich im Expirationsschenkel des Inhalationssystems. Die beabsichtigte Inhalationsdosis lag bei 20 ppm (parts per million) und wurde während der Applikationszeit stets konstant gehalten. Nach zehnminütiger Inhalation wurden unter weiterer Inhalation die hämodynamischen Werte dokumentiert und wiederum arterielle bzw. kapilläre und venöse Blutgase abgenommen.

Daraufhin wurde die Inhalation gestoppt und die Hämodynamik sorgfältig überwacht, um eine eventuelle pulmonal-vaskuläre Gegenregulation in Form einer überschießenden Vasokonstriktion als Rebound-Phänomen sofort erkennen zu können. Nach einer weiteren Ruhephase von zehn Minuten wurde erneut die Hämodynamik dokumentiert und mit weiteren Blutproben als Messreihe ‚base 3‘ festgehalten.

Im Anschluss wurde abhängig vom systemischen Druck des jeweiligen Patienten Sildenafil (Viagra^R) in einer oralen Dosis zwischen 25 und 50 mg verabreicht. In den übrigen Gefäßen des Körpers führt der Wirkstoff zu einem leichten vasodilatativen Effekt. Dies kann zu Kopfschmerzen oder Flush führen.

Eine Kontraindikation für eine Verabreichung von Sildenafil ist die Vormedikation mit NO-Donatoren wie Molsidomin, Nitraten oder Natriumnitroprussid, da deren blutdrucksenkende Wirkung auf bedrohliche Weise potenziert werden kann (7). Deshalb konnte, wenn die kontinuierliche Einnahme solcher Substanzen erforderlich war, keine Testung mit Sildenafil erfolgen. Vom hier beschriebenen Patientenkollektiv konnten alle Sildenafil erhalten.

Nach einer Einnahme von Sildenafil wurden für 120 Minuten alle 15 Minuten Messungen der Hämodynamik und Blutgasentnahmen durchgeführt. Der Messpunkt mit dem niedrigsten pulmonal-vaskulären Widerstand PVR wurde als Messpunkt ‚Sil‘ für die Analyse verwendet.

2.3 Körperliche Leistungsfähigkeit

In die Auswertung miteinbezogen wurde des Weiteren eine Einschätzung der körperlichen Leistungsfähigkeit mit Hilfe des „six minute walk“ (21, 38).

Vor der ersten in der Analyse verwendeten pharmakologischen Testung wurde die Strecke dokumentiert, die durch zügiges Gehen ohne fremde Hilfe innerhalb von sechs Minuten zurückgelegt werden konnte. Nach der Gehstrecke wurde eine Ruhepause von mindestens 24 Stunden bis zur pharmakologischen Testung mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter eingelegt.

Vor den Folgetestungen wurde der „six minute walk“ erneut durchgeführt, sofern die körperliche Verfassung des betreffenden Patienten die Untersuchung zuließ. Änderungen der zurückgelegten Distanz dienten der Beurteilung einer eventuellen Veränderung der körperlichen Leistungsfähigkeit.

2.4 Patientenkollektiv

In die Fragestellung miteinbezogen wurden Patienten mit einem mittleren pulmonal-arteriellen Druck von mindestens 25 mmHg sowie einem pulmonalkapillären Verschlussdruck von höchstens 15 mmHg bei der Untersuchung mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter.

Einschlusskriterium waren mindestens zwei pharmakologische Testungen mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter und die tägliche Einnahme von Sildenafil in den Dosen zwischen 25 und 75 mg im Zeitraum zwischen den Testungen.

Die stationäre Aufnahme erfolgte mindestens einen Tag vor der pharmakologischen Testung in die medizinische Klinik II des Universitätsklinikums Gießen.

Vor der Untersuchung wurde ein EKG geschrieben sowie eine Lungenfunktion und ein Labor-Screening auf Lebererkrankungen, Nierenerkrankungen und eine Bindegewebserkrankung durchgeführt. Des Weiteren erfolgte ein Echokardiogramm zur Beurteilung der ventrikulären Pumpfunktion und eventueller Klappenvitien sowie zum Ausschluss angeborener kardialer Vitien.

Eine Ventilations-/Perfusionsszintigraphie und ein Spiral-CT wurden zum Ausschluss von Embolien in der Lungengefäßbahn und damit zur Diagnose der chronisch-thromboembolischen pulmonalen Hypertonie veranlasst.

Bei Ausschluss sämtlicher anderer Ursachen erfolgte die Einordnung als idiopathische pulmonal-arterielle Hypertonie.

2.5 Bearbeitung der bei den Testungen erhobenen Daten

Nach Erhebung der Daten wurden diese chronologisch nach Testungen und Diagnosen geordnet und jede Testung nach je vier Messreihen unterteilt: base als Mittelwert der beiden Ausgangsmessreihen als Zeitpunkt Z1, die Messung unter NO-Inhalation als Zeitpunkt Z2, die Messreihe base 3 nach einer zehnminütigen Erholung nach der NO-Inhalation als Z3 und die Messreihe mit dem geringsten Wert für den Parameter PVR nach Einnahme von Sildenafil (sil) als Z4. Für die Ausgangsmessreihe Z1 wird auch der Begriff „baseline Hämodynamik“ gebraucht.

Unter jeder Messreihe wurden folgende in der Testung gemessene Parameter dokumentiert:

- Herzfrequenz in Schlägen pro Minute
- MSAP in mmHg
- MPAP in mmHg
- PAWP in mmHg
- CVP in mmHg
- CO in l/min
- RR (sys) in mmHg
- RR (dia) in mmHg
- PAP (sys) in mmHg
- PAP (dia) in mmHg
- PO₂ (art.) in mmHg
- PCO₂ (art.) in mmHg
- SO₂ (art.) in %
- SO₂ (ven.) in %

Des Weiteren wurden bei jedem Messzyklus folgende Werte festgehalten:

- SVR in dyn s cm⁻⁵
- PVR in dyn s cm⁻⁵
- CI in l/ min/ m²
- SVRI in dyn s cm⁻⁵/m²
- PVRI in dyn s cm⁻⁵/m²
- PVR/ SVR

Bei der Berechnung war das Ziel, die Änderungen der Parameter jeweils auf die Applikation von NO und Sildenafil zu errechnen und die Mittelwerte über die gesamte Patientenzahl zu bilden.

Zunächst erfolgten die Berechnungen für die erste Testung (T1). Dazu wurden die Differenzen der ermittelten Parameter zwischen T1Z1 (entsprechend der „base“-Messung der Ersttestung) und T1Z2 als Reaktion auf die NO-Inhalation und die Differenzen zwischen T1Z1 und T1Z4 als Reaktion auf die Verabreichung von Sildenafil festgehalten.

Ebenso wurde mit der Folgetestung (T2) verfahren: es wurden die jeweiligen Differenzen zwischen T2Z1 (entsprechend der „base“-Messung der Follow-Up-Testung) und T2Z2 bzw. T2Z4 berechnet.

Die jeweiligen, jeweils für T1 und für T2 ermittelten Differenzen für den PVR wurden als „delta PVR NO“ und als „delta PVR sil“ bezeichnet. Mit „delta PVR NO“ konnte die NO-Response beurteilt werden. Die Reaktion auf die Verabreichung von Sildenafil unter Testungsbedingungen wurde durch „delta PVR sil“ angezeigt.

Eine Veränderung der NO-Response unter langfristiger Therapie mit Sildenafil konnte durch Bezug von „delta PVR NO“ T1 auf „delta PVR NO“ T2 ermittelt werden.

3 Ergebnisse

3.1 Ausgangswerte - Baseline Hämodynamik

Voraussetzung für eine Teilnahme an der Untersuchung war das Vorliegen mindestens zweier pharmakologischer Testungen mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter. Dabei sollte jeweils die Reaktion der pulmonalen Gefäße sowohl auf NO als auch auf den PDE-5-Inhibitor Sildenafil dokumentiert sein. Der zeitliche Abstand zwischen der Erst- und der Folgetestung betrug drei bis 24 Monate. Zusätzlich erforderlich war eine tägliche Einnahme von oralem Sildenafil im Zeitraum zwischen den Testungen.

Diese Voraussetzungen wurden von 101 Patienten erfüllt; davon leiden 58 an pulmonal-arterieller Hypertonie, 39 an chronisch-thromboembolischer pulmonaler Hypertonie und vier Patienten an einer pulmonalen Hypertonie, die mit einer interstitiellen Lungenerkrankung assoziiert ist.

<u>Diagnose</u>	<u>Alter</u> (Jahre)	<u>Herzfrequenz</u> (/min)	<u>meanSAP</u> (mmHg)	<u>mean PAP</u> (mmHg)	<u>SVR</u> (dyn s cm ⁻⁵)	<u>PVR</u> (dyn s cm ⁻⁵)	<u>CI</u> (l/min/m ²)	<u>art pO₂</u> (mmHg)	<u>ven SO₂</u> (%)
Idio- pathische PAH (n=22)	50	82 (11)	94 (15)	57 (17)	2081 (605)	1277 (741)	2,0 (0,6)	69,5 (13,3)	58,0 (11,3)
Binde- Gewebs- Erkrankung (n=21)	59	81 (13)	94 (17)	52 (13)	1894 (735)	1056 (694)	2,3 (0,7)	71,4 (38,1)	57,9 (10,5)
Shunt-Vitien (n=6)	41	79 (5)	100 (24)	67 (18)	1800 (546)	1112 (413)	2,5 (0,5)	60,4 (10,5)	65,0 (5,8)
Porto- Pulmonale Hypertonie (n=6)	50	83 (5)	89 (7)	53 (6)	1308 (608)	761 (429)	2,8 (1,0)	66,6 (12,1)	63,9 (12,6)
HIV- assoziiert (n=3)	37	77 (18)	86 (7)	42 (4)	1681 (827)	890 (597)	2,5 (1,4)	72,4 (11,3)	50,5 (19,3)
CTEPH (n=39)	60	80 (12)	93 (20)	51 (11)	1945 (588)	1049 (474)	2,1 (0,6)	62,6 (14,6)	56,8 (11,7)
Lungen- Fibrose (n=4)	77	75 (16)	83 (4)	35 (4)	1525 (305)	474 (178)	2,3 (0,4)	74,6 (11,4)	61,9 (4,6)

Tabelle 1: Tabelle mit Ausgangswerten: Parameter der rekrutierten 101 Patienten bei der Ersttestung (Mittelwert, in Klammer Standardabweichung).

Der höchste mPAP mit 66,5 mmHg wurde bei den Patienten mit Shunt-Vitien gemessen, der niedrigste beträgt 35 mmHg bei den Patienten mit Lungenfibrose.

Der Wert für den PVR war zu Beginn der Ersttestung am höchsten bei den Patienten mit idiopathischer pulmonaler Hypertonie und betrug $1277 \text{ dyn s cm}^{-5}$. Ihnen folgten in absteigender Reihenfolge die Patienten mit Shuntvitien, die PAH-Patienten mit Bindegewebs-erkrankungen, mit CTEPH, diejenigen mit HIV-Infektion, diejenigen mit portopulmonaler Hypertonie, und schließlich die Patienten mit Lungenfibrose.

Die besten Werte für den CI waren mit $2,8 \text{ l/ min/ m}^2$ bei den Patienten mit portopulmonaler Hypertonie zu finden. Dabei hatten die Patienten mit idiopathischer pulmonaler Hypertonie mit im Mittel $2,0 \text{ l/ min/ m}^2$ die schlechtesten Werte.

Der höchste Wert mit $74,6 \pm 11,4 \text{ mmHg}$ für den arteriellen Sauerstoffpartialdruck war bei den Patienten mit Lungenfibrose zu finden, gefolgt von den Patienten mit HIV-Infektion, dann denen mit Bindegewebs-erkrankungen und idiopathischer pulmonaler Hypertonie. Die schlechtesten Werte wurden bei den Patienten mit Shuntvitien dokumentiert.

Laut Definition waren alle außer den Patienten mit Bindegewebs-erkrankungen, mit HIV-Infektion und die Patienten mit Lungenfibrose hypoxämisch (4). Die niedrigste venöse Sauerstoffsättigung wiesen mit $50,5 \pm 19,3 \%$ die Patienten mit HIV-Infektion auf, die höchste die Patienten mit Shuntvitien mit $65,0 \pm 5,8 \%$.

3.2 Körperliche Leistungsfähigkeit

Im Mittel aller Gruppen konnten vor der Ersttestung im „six minute walk“ $324 \pm 118 \text{ m}$ zurückgelegt werden.

Aufgrund ihres teilweise sehr schlechten klinischen Zustandes war es nur bei 53 der rekrutierten 101 Patienten möglich, im Abstand von durchschnittlich 12 ± 3 Monaten zweimalig – jeweils in zeitlichem Zusammenhang mit einer pharmakologischen Testung – einen „six minute walk“ durchzuführen. Daher stellt dieser Abschnitt nur die Werte über diese 53 Patienten dar. Zur Zeit der Ersttestung gingen sie im Mittel $324 \pm 118 \text{ m}$ weit, zum Zeitpunkt der Follow up-Testung erweiterte sich die zurückgelegte Distanz auf im Mittel $369,2 \pm 120 \text{ m}$. Dies entspricht einer absoluten Zunahme des Weges von $44,6 \pm 64,5 \text{ m}$ bzw. einer relativen Verbesserung um $10,7 \pm 21,9 \%$. Beim genaueren Betrachten der Streckenwerte bei den einzelnen Personen fällt auf, dass 45 Patienten nach im Mittel 12 Monaten

Sildenafil innerhalb sechs Minuten weiter laufen konnten als zuvor, bei einem Patienten blieb die Strecke gleich, nur 7 Patienten verschlechterten sich. 12 Patienten schafften es, in der Follow up-Untersuchung über 100 m weiter als zu Beginn zu gehen, weiteren elf Patienten gelangen über 50 m mehr in der Folgeuntersuchung.



Abbildung 2: Der „six minute walk“ zur Einschätzung der körperlichen Leistungsfähigkeit vor (naive) und nach (follow up) der langfristigen täglichen Einnahme von Sildenafil.

3.3 Akutreaktion der Pulmonalgefäße

Eine Akutreaktion auf die NO-Inhalation wurde definiert als eine Reduktion des PVR und des mPAP um $> 30\%$ bei gleichbleibend normalem Herzzeitvolumen verglichen mit dem Ausgangswert ohne Störung des Gasaustausches. Diese Kriterien verwendete bereits Sitbon 1998 in etwas modifizierter Form (siehe Abschnitt „Therapie“ des Kapitels „Einleitung“). Sämtliche hämodynamischen Parameter einschließlich PVR und mPAP wurden sowohl bei der Ersttestung als auch bei der Follow Up-Testung 12 ± 3 Monate danach nach erfolgter Dauermedikation mit Sildenafil dokumentiert.

Bei der Ersttestung (T1, Abb. 3) reduzierte sich der pulmonalvaskuläre Widerstand PVR unter NO-Inhalation um $15,0 \pm 1,6\%$ verglichen mit den Ruhewerten (base). Nach 12 ± 3 Monaten Dauermedikation mit 3 x täglich eingenommenem oralen Sildenafil (T2, Abb. 3) ließ sich als Akutreaktion eine deutlich stärkere Verminderung des PVR unter NO-Inhalation von $18 \pm 1,6\%$ dokumentieren.

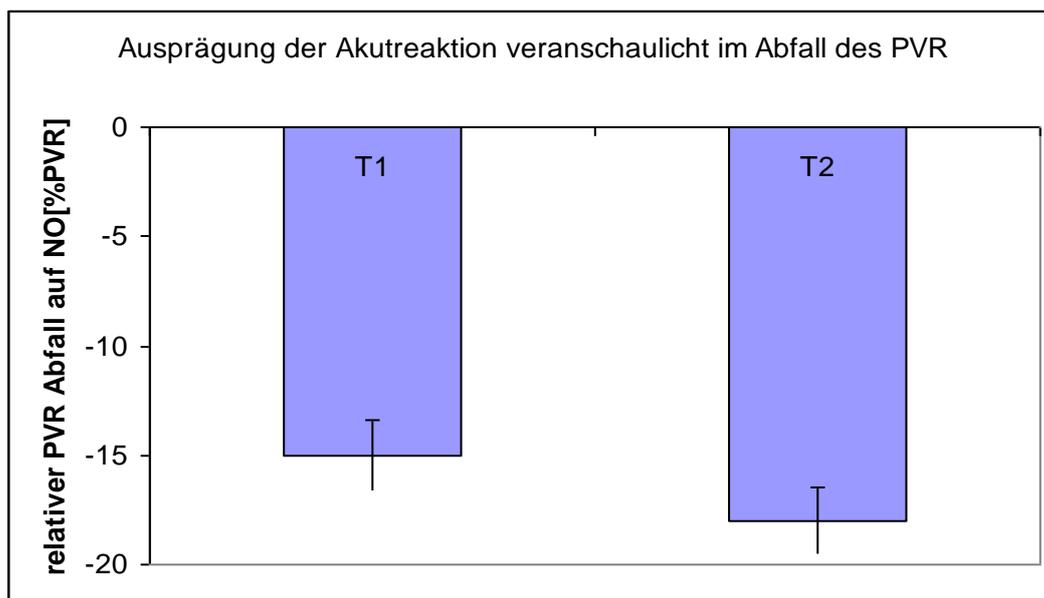


Abbildung 3: Die Akutreaktion der PulmonalgefäÙe bei der Ersttestung (T1) und der Folgetestung (T2) nach im Mittel 12 ± 3 Monaten, in denen täglich oral Sildenafil eingenommen wurde.

3.4 Reaktion auf Sildenafil in Erst- und Folgetestung

Vor dem Beginn der Sildenafil-Langzeit-Therapie zeigte während der Ersttestung T1 einen Abfall des pulmonal-vaskulären Widerstands nach Applikation von oralem Sildenafil von $21,7 \pm 16,6$ % (siehe Tab. 2). Nach Dauertherapie für 12 ± 3 Monate wurden nach zwölfstündiger Sildenafil-Pause erneut hämodynamische Messwerte erfasst. Die Ruhemesswerte (base) nach Langzeittherapie waren deutlich reduziert im Vergleich zu den Ausgangswerten. Interessanterweise war die Akutansprache auf Sildenafil – gemessen als PVR – weniger ausgeprägt.

	T1	T2
Ausgangswert des PVR zu Beginn der Testung	$1069,3 \pm 594,8 \text{ dyn s cm}^{-5}$	$870,7 \pm 467,7 \text{ dyn s cm}^{-5}$
Relativer PVR-Abfall nach Einnahme von Sildenafil	$-21,7 \pm 16,6 \%$	$-11,1 \pm 15,9 \%$

Tabelle 2: Die absoluten Ausgangswerte des PVR zum jeweiligen Beginn der pharmakologischen Testungen sowie der jeweilige relative Abfall des PVR nach Verabreichung von Sildenafil während der Testungen. T1 beschreibt die Ersttestung, T2 die Folgetestung nach langfristiger täglicher Einnahme von Sildenafil.

3.5 NO-Response

Die Akutreaktion der Gefäße soll in dieser Arbeit gleichbedeutend mit der NO-Response erwähnt werden. Die Definition der NO-Response ist weiter oben festgehalten und beinhaltet im Kern eine Reduktion des PVR um 30 %. Während T1 erfüllten 16 Patienten die Kriterien für eine Akutreaktion unter NO. Bei T2 erhöhte sich die Zahl der Responder auf 31 (Tab. 3).

Aus der unten stehenden Tabelle wird deutlich, dass die Hämodynamik zum Zeitpunkt T1 sich bei NO-Respondern und NO-Non-Respondern nicht wesentlich unterscheidet. Bei den NO-Respondern zeigte sich ein etwas niedrigerer mPAP und ein etwas niedrigerer CI. Für den PVR ergaben sich daher zum Zeitpunkt T1 nahezu identische Werte.

Außerdem war zum Zeitpunkt T1 bei den NO-Respondern mit höherem PO_2 ein besserer Gasaustausch zu beobachten als bei den NO-Non-Respondern. Zum Zeitpunkt T2 kam es nahezu zum Ausgleich der Werte für den PO_2 .

- Ergebnisse -

		mPAP (in mmHg)	PVR (In dyn s cm ⁻⁵)	CI (In l/min/m ²)	PO2 (In mmHg)	SO2 (In %)
NO-Responder:						
16 Patienten	Testung 1 (T1) "naive"					
	vor NO-Inhalation:	50,5+/-11,2	1057+/-402,9	1,87+/-0,43	75,8+/-41,9	53,85+/-9,3
	nach NO-Inhalation:	39,1+/-9,4	593+/-199,5	2,19+/-0,4	93,9+/-44,1	64,7+/-7,8
31 Patienten	Testung 2 (T2) "follow up"					
	vor NO-Inhalation:	46,6+/-13,5	850+/-471	2,2+/-0,7	68,3+/-14,1	62,1+/-8,6
	nach NO-Inhalation:	37,5+/-11,9	586+/-348	2,3+/-0,6	86,6+/-26,1	66,3+/-7,3
Non-Responder:						
85 Patienten	Testung 1 (T1) "naive"					
	vor NO-Inhalation:	53,2+/-14,4	1058+/-625,8	2,3+/-0,7	65,1+/-14,1	59+/-11,4
	nach NO-Inhalation:	48,9+/-14,1	954+/-565,4	2,3+/-0,7	79,3+/-27,5	62,8+/-10,8
70 Patienten	Testung 2 (T2) "follow up"					
	vor NO-Inhalation:	50,7+/-14,9	878+/-462,7	2,4+/-0,6	70,9+/-22,7	62,5+/-10,3
	nach NO-Inhalation:	46,6+/-14,7	776+/-401	2,5+/-0,7	78,7+/-30,9	63,9+/-9,0

Tabelle 3: Gegenüberstellung der insgesamt 101 untersuchten Patienten aufgeteilt nach NO-Respondern und nach NO-Non-Respondern zum Zeitpunkt der Ersttestung T1 und zum Zeitpunkt der Folgetestung T2.

4 Diskussion

Pulmonal-arterielle Hypertonie ist eine schwerwiegende Erkrankung. Die Diagnose wird mittels Rechtsherzkatheteruntersuchung gestellt. Die Beschwerden reichen von einer sinkenden körperlichen Leistungsfähigkeit zu Beginn bis hin zu Rechtsherzversagen im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung.

Zur symptomatischen Behandlung sind verschiedene Medikamente erprobt: Prostacyclin-Analoga, Kalzium-Antagonisten, Endothelin-Rezeptorantagonisten. Die Langzeitbehandlung der pulmonal-arteriellen Hypertonie mit dem Phosphodiesterase-5-Inhibitor Sildenafil hat sich als wirksam erwiesen. Dies wurde im November 2005 veröffentlicht (3).

Der Therapieerfolg kann durch eine Untersuchung mit einem Pulmonalis-Einschwemmkatheter verifiziert werden, wie sie auch in der hier beschriebenen Untersuchung durchgeführt wurde.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, welchen Einfluss eine Langzeittherapie mit oralem Sildenafil auf die Parameter der in der Testung mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter gemessenen akuten Hämodynamik hat.

Zur ersten Testung mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter kamen die Patienten ohne Dauermedikation zur Therapie der pulmonalen Hypertonie (therapie-naive), wurden dann akut mit inhalativem NO und Sildenafil während der Testung mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter getestet. Anschließend wurde eine Langzeittherapie mit oralem Sildenafil begonnen und nach 12 ± 3 Monaten erneut eine Testung mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter durchgeführt. Die Patienten hatten zwischen der Erst- und der Folgetestung Sildenafil als tägliche orale Dauermedikation erhalten.

Zum Zeitpunkt der ersten Testung waren als Ausgangsmesswerte ein mPAP von 51 ± 13 mmHg, ein PVR von 1096 ± 604 dyn s cm⁻⁵, ein CI von $2,21 \pm 0,69$ l/ min/ m² und ein PO₂ (art.) von $66,6 \pm 21,5$ mmHg zu beobachten.

Als NO-Response war eine Reduktion des mPAP und des PVR um mindestens 30 % des Ausgangswertes bei gleich bleibendem Herzzeitvolumen ohne Störung des Gasaustausches festgelegt worden. Zum Zeitpunkt der Ersttestung zeigten 16 der 101 untersuchten Patienten eine solche Akutreaktion mit Verbesserung der Hämodynamik durch die NO-Inhalation.

Rich et al haben 1992 bereits gezeigt, dass Patienten, die bei einer akuten Vasoreagibilitätstestung positiv reagieren, durch CCB in der Langzeittherapie eine wesentlich verbesserte

pulmonale Hämodynamik und wesentlich längeres Überleben haben (9).

Eine verbesserte Hämodynamik wird seit damals als Anzeichen für eine weitere Therapieoption zur Behandlung der pulmonalarteriellen Hypertonie betrachtet, nämlich für den Einsatz von Calciumantagonisten als orale Dauermedikation (6).

In der hier beschriebenen Untersuchung erhielten sämtliche Patienten eine orale Dauermedikation mit Sildenafil. Nach 12 ± 3 Monaten wurde eine erneute Testung mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter sowie NO-Inhalation durchgeführt.

Während es bei der Ersttestung zu einem Abfall des PVR unter NO-Inhalation von $15 \pm 1,6$ % kam, war dieser Abfall des PVR in der Folgetestung noch deutlicher. Nach der Langzeiteinnahme von Sildenafil kam es unter NO-Inhalation zu einem Abfall des PVR von im Mittel $18 \pm 1,6$ % und damit um 3 % mehr als vor der Dauermedikation mit Sildenafil.

Während der Erst- und während der Folgetestung wurde auch Sildenafil verabreicht. Der Abfall des PVR auf die Sildenafil-Einnahme hin fiel in der Folgetestung geringer aus als zum Zeitpunkt der Ersttestung. Jedoch waren zu Beginn der Folgetestung deutlich verbesserte hämodynamische Ausgangswerte zu dokumentieren als zu Beginn der Ersttestung.

Diese Beobachtung bestätigt die bereits von Gaile et al. 2005 beschriebene Verbesserung der Hämodynamik unter Dauertherapie mit Sildenafil (3, 23).

Wie oben beschrieben, zeigten zum Zeitpunkt der Ersttestung 16 Patienten eine Akutreaktion auf die NO-Inhalation. Die Anzahl solcher NO-Responder erhöhte sich in der Folgetestung auf 31.

Bereits 1992 zeigten Rich et al., dass diejenigen Patienten, die auf Calciumantagonisten mit einer pulmonalarteriellen Drucksenkung reagieren, eine günstigere Prognose haben als diejenigen, die dies nicht tun (9). Außerdem beschrieben Sitbon et al. 2005 Patienten mit einer langfristig anhaltenden klinischen Besserung auf CCB als Long-Term-Responder (LTR) (5). Einen LTR zeichnet neben einer im längeren Verlauf besseren Hämodynamik im Vergleich zu den anderen Patienten ein besserer klinischer Zustand mit besserer Leistungsfähigkeit aus (5). Letztere äußert sich in einer verlängerten Gehstrecke im „six minute walk“ (5).

Zusammenfassend zeigt unsere Untersuchung somit, dass nach einer langfristigen Einnahme von Sildenafil und unter Berücksichtigung der von Sitbon et al. und Rich et al. beschriebenen Kriterien für die NO-Response nahezu die doppelte Anzahl von Patienten eine bessere Hämodynamik und eine bessere körperliche Leistungsfähigkeit haben als vor der

Einnahme von Sildenafil (5, 6, 9).

Die weniger stark ausgeprägte akute Reaktion auf orales Sildenafil in der Folgetestung veranlassen dazu, über eine Gewöhnung an den neuen Wirkstoff oder aber eine Ausschöpfung des endothelial verfügbaren cGMP-Reservoirs nachzudenken. In der Folgetestung wird jedoch bei einigen Patienten eine verbesserte Akutreaktion auf NO dokumentiert. Auch dieser Wirkstoff vasodilatiert über den cGMP-Mechanismus. Die zentrale Rolle von cGMP sowohl innerhalb der Signalkaskade von NO als auch bei der Hemmung einer Phosphodiesterase (PDE) durch Sildenafil wird veranschaulicht durch Abbildung 4.

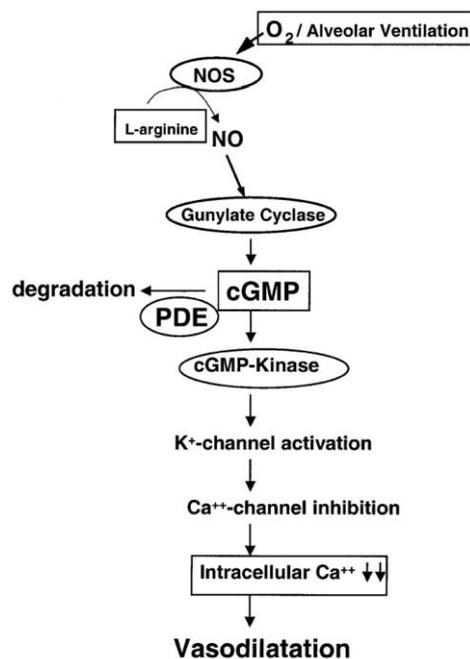


Abbildung4: Signalkaskade von NO und Erniedrigung von cGMP durch die Phosphodiesterase (PDE) (8)

Die Dauermedikation mit dem PDE-5-Hemmer könnte eine dauerhafte Erhöhung der Konzentration des second messengers im pulmonal-arteriellen Endothel bedingen. Dies könnte sich in einem niedrigeren mPAP und in einer verbesserten Gehstrecke im „six minute walk“ äußern. Damit zeigt sich die Hauptwirkung für den Patienten: ein besseres klinisches Befinden, wie die oben beschriebene Untersuchung gezeigt hat. Diese Annahme würde auch erklären, weshalb die NO-Ansprache bei der Folgeuntersuchung stärker ausgeprägt ist.

In der hier beschriebenen Untersuchung ist bei mehr Patienten nach Dauermedikation mit dem PDE-5-Hemmer Sildenafil eine NO-Response zu beobachten als vor der Dauer-

medikation. Eine vorherige Untersuchung von Sitbon im selben Jahr hat – wie im Kapitel „Einleitung“ bereits beschrieben – gezeigt, dass NO-Responder im Mittel einen besseren klinischen Zustand aufweisen als NO-Non-Responder (5). Sowohl Hämodynamik als auch die mögliche Gehstrecke innerhalb von sechs Minuten zeigen im Mittel bessere Werte bei den Patienten, während derer pharmakologischer Testung eine akute Vasoreagiabilität sichtbar ist (5). Letzteres spricht dafür, dass der Zustand der pulmonal-arteriellen Gefäße bei den Patienten, die akute Vasoreagiabilität auf die NO-Inhalation während der pharmakologischen Testung zeigen, besser ist als bei den Non-Respondern.

Demzufolge ist bei der hier beschriebenen Untersuchung bei einigen Patienten eine Veränderung des Status der pulmonal-arteriellen Gefäße zu vermuten. Denn diese Patienten haben während der Ersttestung keine Akutreaktion auf die NO-Inhalation gezeigt, wohl aber in der Follow Up-Untersuchung. Diese Veränderung ist klinisch sichtbar: ein sinkender PVR und eine größere Gehstrecke im „six minute walk“ sind bei eben diesen Patienten Zeichen eines besseren klinischen Befindens. Aus dieser klinischen Verbesserung lässt sich die pathophysiologische Verbesserung ableiten. Inwiefern und wie genau die in der Einleitung beschriebenen pathophysiologischen Vorgänge beim Entstehen einer pulmonal-arteriellen Hypertonie durch den PDE-5-Hemmer Sildenafil beeinflusst werden, bedarf weiterer molekularbiologischer Untersuchungen. Zu vermuten ist, dass durch die im Vergleich zum jeweils vorhergehenden Zustand konstant höher gehaltene cGMP-Konzentration eine konstantere Vasodilatation in den Widerstandsgefäßen erreicht wird. Dadurch und durch bisher nicht aufgedeckte Mechanismen könnten die Remodeling-Vorgänge am Gefäß verlangsamt oder sogar aufgehoben und wieder rückgängig gemacht werden. Für den einzelnen Patienten bedeutet dies: weniger bzw. langsamer fortschreitende Intimafibrose, Endothelzellwucherung und Obliteration machen weniger bzw. langsamer fortschreitend einen erhöhten PVR und folglich auch erst später Beschwerden wie Belastungsdyspnoe mit weiter folgender Symptomatik der PAH. In der pharmakologischen Testung mit Pulmonalis-Einschwemmkatheter kann eine Akutreaktion des Patienten auf NO ein Zeichen dafür sein, dass der Widerstand seiner pulmonalen Gefäße akut verringert werden kann. Dies ist wiederum ein günstiges Zeichen bei der Beurteilung, wie fortgeschritten das Remodeling bei dem jeweiligen Betroffenen ist.

Zusammenfassend hat sich durch eine Sildenafil-Langzeittherapie die Rate der NO-Responder in unserem Kollektiv nahezu verdoppelt. Die Mechanismen, die zu dieser außer-

gewöhnlichen Beobachtung führen, sind unklar. Es bleibt zu vermuten, dass durch eine Sildenafil-Langzeittherapie das vaskuläre Remodeling gehemmt wird. Auch eine längerfristige Erhöhung der cGMP-Spiegel kann eine verbesserte Ansprache auf inhalatives NO bedingen. Die dauerhaftere Vasodilatation durch Sildenafil kann den pathophysiologischen Umbauprozessen entgegenwirken. Eine Nachbeobachtung der Patienten in Bezug auf ihren klinischen Verlauf und in Bezug auf den prognostischen Wert der NO-Response ist geplant.

5 Zusammenfassung

Verbesserte Akutreaktion auf inhalatives Stickstoffmonoxid nach langfristiger Behandlung der pulmonal-arteriellen Hypertonie mit oralem Sildenafil

Die pulmonale Hypertonie ist eine fortschreitende Erkrankung. Sie ist definiert als eine Erhöhung des pulmonal-arteriellen Mitteldrucks über 25 mmHg in Ruhe. Pathogenetisch spielen Umbauvorgänge am Gefäßendothel, das sogenannte Remodeling, eine wichtige Rolle. Die betroffenen Patienten bemerken zunächst einen Abfall der Leistungsfähigkeit. Weiterhin kann es zu Belastungsdyspnoe und im weiter fortgeschrittenen Stadium auch zu Ruhedyspnoe kommen. Die endgültige Diagnose kann nur mittels invasiver Diagnostik gestellt werden. Diese stellt der Pulmonalis-Einschwemmkatheter dar.

Zur Therapie zugelassen sind verschiedene Substanzgruppen, unter anderem Sildenafil, das über eine Hemmung der intrazellulären Phosphodiesterase Typ 5 die intrazelluläre cGMP (cyclisches Guanosinmonophosphat) -Konzentration erhöht und somit eine Vasodilatation der Pulmonalgefäße ermöglicht. Als Anzeigegas für eine akute Vasoreagiabilität der Pulmonalgefäße und damit als Screeningmöglichkeit für eine Therapie mit Calciumantagonisten dient Stickstoffmonoxid.

101 Patienten unterzogen sich einer pharmakologischen Testung bei liegendem Pulmonalarterienkatheter. Dabei wurde Stickstoffmonoxid als Anzeigegas für eine Akutreaktion der Pulmonalgefäße verwendet. Nach der initialen Untersuchung erhielten die Patienten durchschnittlich ein Jahr Dauertherapie mit oralem Sildenafil, danach wurde erneut eine Katheter- testung durchgeführt. Der Anteil der Patienten, die eine wesentliche Reaktion auf inhalatives NO gezeigt haben, ist von 16 auf 31 Patienten gestiegen. Somit hat sich durch die Sildenafil- Langzeittherapie der Anteil der NO-Responder nahezu verdoppelt. Zu vermuten ist, dass eine dauerhafte Erhöhung des cGMP-Spiegels eine dauerhafte Vasodilatation in den Pulmonalgefäßen erzeugt und damit eventuell dem Remodeling entgegenwirkt. Demnach könnte ein wichtiger pathogenetischer Faktor und somit das Fortschreiten der Erkrankung gebremst werden.

6 Summary

Improved acute response to nitric oxide after long-term treatment of pulmonary hypertension with oral Sildenafil

Pulmonary Hypertension is a progressive disease, which is defined as an increased mean pulmonary arterial pressure of more than 25 mmHg at rest. Remodelling of pulmonary arterial vessels is an important pathogenic factor. The patients suffer from decreased exercise capacity and dyspnea. Diagnosis and follow-up are made by right heart catheterization.

Different drugs have been approved for the treatment of pulmonary hypertension. By inhibiting the phosphodiesterase type 5, Sildenafil raises the concentration of intracellular cyclic guanosin monophosphate and thereby leads to vasodilatation. Nitric oxide is used as a screening agent for vasoreactivity and consequently can be used as an indicator for a therapy with calcium channel blockers.

101 patients received acute vasoreactivity testing by nitric oxide during initial and follow-up catheter. Between the two catheter interventions all patients received oral Sildenafil as continuous medication for one year. Then follow-up catheter was done, and the number of patients who had a profound reaction to inhaled nitric oxide raised from 16 to 31. Consequently, the number of NO-responders has almost doubled after long term treatment with Sildenafil.

It may be that a permanent increase of cyclic guanosine monophosphate in endothelial cells acts against remodelling. Finally, an important pathogenic factor and the progress of disease might be inhibited.

7 Bibliographie

- (1) Rubin, Lewis J., Badesch, David B., Simmoneau, Gerald et al.: Bosentan therapy for pulmonary hypertension, NEJM, March 21st, 2002
- (2) Simmoneau, Gerald, Gaile, Nazzareno, Rubin, Lewis J., Fishman, Alfred et. Al.: Clinical Classification of Pulmonary Hypertension, Journal of the American College of Cardiology 2004;43:5S – 12S, February 23rd, 2004
- (3) Gaile, Nazzareno, Ghofrani, Hossein A., Torbicki, Adam, Simmoneau, Gerald et al.: Sildenafil Citrate Therapy for Pulmonary Arterial Hypertension, NEJM 2005;353:2148 – 57; November 17th, 2005
- (4) Herold, Gerd, Innere Medizin, Köln 2005
- (5) Sitbon, Oliver, Humbert, Marc, Jais, Xavier, Simmoneau, Gerald et al.: Long-Term-Response to Calcium Channel Blockers in Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension, June 14th, 2005, Circulation 2005;111:3105 - 3111
- (6) Sitbon, Oliver, Humbert, Marc, Simmonau, Gerald et al.: Inhaled nitric oxide as a screening agent for safely identifying responders to oral calcium-channel blockers in primary pulmonary hypertension, March 13th, 1998, European Respiratory Journal 1998;12:265 - 270
- (7) Karow, Thomas, Lang – Roth, Ruth, Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 13. Auflage, Köln 2005
- (8) Ghofrani, Hossein A., Pepke – Zaba, Joanna, Grimminger, Friedrich et al.: Nitric Oxide Pathway and Phosphodiesterase Inhibitors in Pulmonary Arterial Hypertension, February 10th, 2004, Journal of the American College of Cardiology 2004;43:68S – 72S
- (9) Rich et al., The effect of high doses of calcium-channel blockers on survival in primary pulmonary hypertension; NEJM 1992, 327(2):76-81
- (10) Böhm, M., Kindermann, I., Kindermann, M.: Invasive Diagnostik der pulmonalen Hypertonie und Folgen für das rechte Herz, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131: S300 – 303
- (11) Rosenkranz, S.: Klassifikation, Pathophysiologie und nicht-invasive Diagnostik, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131: 295 – 299

- (12) Wilkens, H. Pulmonale Hypertonie nach Lungenembolie, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131: S328 – 329
- (13) Herold, Gerd, Innere Medizin, Köln 2009
- (14) Schulze – Neick, I.: Pulmonalarterielle Hypertonie bei angeborenen Herzfehlern, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131: S 322 - 324
- (15) Wahlers, T.: Chirurgische Therapie der pulmonalen Hypertonie, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131: S 315 – 318
- (16) Olschewski, Horst: Derzeitige Empfehlungen zur Diagnostik und Therapie der pulmonalen Hypertonie, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131: S 334 – 337
- (17) Hoeper, M. M.: Therapie der pulmonal arteriellen Hypertonie: Endothelin-Rezeptor-Antagonisten, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 131: S 308 – 310
- (18) Ten Freyhaus, H., Neumann, T.: Pulmonalarterielle Hypertonie bei HIV-Patienten, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131: S 319 – 321
- (19) Böhm, M. et al.: Invasive Diagnostik der pulmonalen Hypertonie und der Folgen für das rechte Herz, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131: S 300 – 303
- (20) Hunzelmann, N., Riemekasten, G.: Pulmonalarterielle Hypertonie bei Kollagenosen – Erfahrungen aus dem Deutschen Netzwerk für Systemische Sklerodermie, Deutsche Medizinische Wochenschrift 131: S 325 – 327
- (21) Ghofrani, H.A., Hoeper, M. M.: Medikamentöse Kombinationstherapie der pulmonal-arteriellen Hypertonie, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131, S 330 – 333
- (22) Jing, Z – C., Jiang, X., Pu, J – L.: Iloprost for pulmonary vasodilator testing in idiopathic pulmonary arterial hypertension, European respiratory Journal January 25th, 2009, 33, 1354 - 1360
- (23) Ghofrani, H. A., Grimminger, F.: Therapie der pulmonal-arteriellen Hypertonie: Phosphodiesterase – 5 Inhibitoren, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131, S 311 – 314
- (24) Olschewski, H.: Therapie der pulmonal-arteriellen Hypertonie: Prostazyklin – Analoga, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131: S 304 – 307
- (25) Ghofrani, H. A., Rosenkranz, S., Grimminger, F.: Zukunftsaspekte der Therapie der

pulmonal-arteriellen Hypertonie, Deutsche Medizinische Wochenschrift 2006, 131, S 338 – 340

- (26) McLaughlin, V. V., Badesch, D. B., Seeger, W.: End Points and Clinical Trial Design in Pulmonal Arterial Hypertension, American College of Cardiology Foundation, April 2009
- (27) Barst, R. J., Gibbs, S. R., Galile, N.: updated evidence-based treatment algorithm in pulmonal arterial hypertension, American College of Cardiology, April 2009
- (28) Tuder, R. M., Abman, S. H., Haworth, S. G.: Development and Pathology of pulmonary hypertension, American College of Cardiology, April 2009
- (29) Hoeper, M. M., Barbera, J. A., McGoon, M.: Diagnosis, Assessment, and Treatment of Non-pulmonary arterial hypertension pulmonary hypertension, American College of Cardiology, April 2009
- (30) Humbert, M., McLaughlin V.V.: The 4th World Symposium on Pulmonary Hypertension, American College of Cardiology, April 2009
- (31) Keogh, A.M., Mayer, E., Sandoval, J.: Interventional and Surgical Modalities of Treatment in Pulmonary Hypertension, American College of Cardiology, April 2009
- (32) Hassoun, P.M., Mouthon, L., Humbert, M.: Inflammation, Growth Factors and Pulmonary Vascular Remodeling, American College of Cardiology, April 2009
- (33) Ghofrani, H. A., Barst, R. J., Rubin, L. J.: Future Perspectives for the Treatment of pulmonary arterial hypertension, American College of Cardiology, April 2009
- (34) Simmoneau, G., Robbins, I. M., Souza, R.: Updates Classification of Pulmonary Hypertension, American College of Cardiology, April 2009
- (35) Morrell, N. W., Adnot, S., Weir, K.: Cellular and Molecular Basis of Pulmonary Arterial Hypertension, American College of Cardiology, April 2009
- (36) Silbernagl, Stefan, Taschenatlas der Physiologie, 6. Auflage 2003, Thieme, Stuttgart
- (37) O'Brien, Christopher, Manaker, Scott: Use of inhaled nitric oxide in patients with pulmonary hypertension, UpToDate 06/ 2005
- (38) Gaile, N., Simonneau, G. et alteri: Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension, the European Society of Cardiology, European Heart Journal

2009, 30, 2493 – 2537

- (39) Böhmeke, T., Schmidt, A.: Checkliste Echokardiographie, 4. Auflage, Stuttgart 2008
- (40) Rimar, S., Gillis, N. : Selective pulmonary vasodilatation by inhaled nitric oxide is due to haemoglobin inactivation, *Circulation* 12/ 1993
- (41) Rubin, LJ.: Primary pulmonary hypertension, *New England Journal of Medicine* 1997
- (42) Sitbon, O., Brenot, F., Denjean, A.: Inhaled nitric oxide as a screening vasodilator agent in primary pulmonary hypertension, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995
- (43) Pearl, JM., Nelson, DP., Raake JL.: Inhaled nitric oxide increases endothelin-1-levels: a potential cause of rebound pulmonary hypertension, *Crit. Care Med* 2002
- (44) Fachinformation Sildenafil (als Citrat) von Revatio (R) Pfitzer, Berlin, Stand 01/2011

8 Danksagung

Allen voran herzlichen Dank an **Prof. Dr. Ardeschir Ghofrani**

- für die freundliche Zusammenarbeit und die geduldige Unterstützung
- für die Bereitstellung eines Arbeitsthemas mit ständigem Patientenkontakt unter mehreren Auswahlmöglichkeiten
- für die herzliche Aufnahme in das dynamische Team der Ambulanz Seltersberg und die dauerhaft freundliche Arbeitsatmosphäre
- für die von Anfang an vorhandene Rücksichtnahme auf private Wünsche bezüglich organisatorischer Angelegenheiten

Vielen Dank an das **Team der Ambulanz für pulmonale Hypertonie**

- für die geduldige Unterstützung in der Phase der Einarbeitung
- für die kollegiale Zusammenarbeit

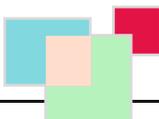
Nicht zuletzt vielen Dank an meinen Betreuer **Dr. Henning Tiede**

für die jahrelange Unterstützung in jeder Hinsicht und die permanente Ansprechbarkeit.

Besonderer Dank gilt **meiner Familie**, insbesondere meinem **Patenonkel** sowie **Patrizia Michienzi** für die Unterstützung jeglicher Art während der gesamten Zeit.

9 Erklärung gemäß Promotionsordnung

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 veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der "Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis" niedergelegt sind, eingehalten.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFBENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

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



ISBN: 978-3-8359-5927-9



9 783835 959279