

**Wirkung von intravenösen Prostaglandin I₂ Analoga auf
interstitielles myokardiales cAMP und linksventrikuläre
Kontraktilität in vivo**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Carolina Köhler

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Komm. Direktor: Prof. Dr. med. A. Baethmann

**Wirkung von intravenösen Prostaglandin I₂ Analoga auf
interstitielles myokardiales cAMP und linksventrikuläre
Kontraktilität in vivo**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Carolina Köhler

aus
München

2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. B. Zwissler

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. H. Adelsberger

Prof. Dr. N. Mandler

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. med. H. Kisch-Wedel

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 12.05.2005

Diese Arbeit widme ich meinen Großeltern

Marianne und Adolf Köhler

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	9
1.1 Einführung	9
1.2 Prostaglandin I₂ und seine Analoga	13
1.2.1 Syntheseweg der Prostaglandine	13
1.2.2 Struktur und Pharmakologie von natürlichem Prostacyclin, Epoprostenol und Iloprost	15
1.2.3 Wirkungen von Prostacyclin und Iloprost	16
1.2.4 Anwendung von Prostaglandin I ₂ Analoga	16
1.3 Second-messenger cAMP	18
1.3.1 Struktur des cAMP	18
1.3.2 Adenylatzyklasesystem	19
1.4 Kontraktilität	20
1.4.1 Definition	20
1.4.2 Kontraktilität auf zellulärer Ebene	21
1.5 Zielsetzung und Fragestellung	23
2 Material und Methoden	24
2.1 Modell	24
2.2 Studiendesign und Versuchsaufbau	24
2.2.1 Versuchstiere	25
2.2.2 Versuchsprotokoll	26
2.2.3 Untersuchte Substanzen und Kontrollsubstanzen	27
2.3 Versuchsdurchführung	29
2.3.1 Anästhesie	29
2.3.2 Chirurgische Präparation	31
2.3.3 Gewinnung des Untersuchungsmaterials	33
2.3.4 Bearbeitung des Untersuchungsmaterials	34

2.3.5 Messung der allgemeinen Hämodynamik und Herzfunktion	36
2.3.6 Conductance Methode	41
2.4 Statistische Auswertung	54
3 Ergebnisse	55
3.1 Vorbemerkung und Beispiel der Datendarstellung	55
3.2 Hämodynamik	57
3.3 Herzfrequenz und Dauer der Phasen der Herzaktion	65
3.4 Systolische Herzfunktion	68
3.5 Diastolische Herzfunktion	72
3.6 cAMP-Konzentration	77
3.7 Respiratorische Funktion (Blutgase)	78
3.8 Arterielle Elektrolytkonzentrationen	80
4 Diskussion	81
4.1 Ziel und klinischer Hintergrund der Studie	81
4.2 Diskussion der Methodik	82
4.2.1 Tiermodell	82
4.2.2 Untersuchte Substanzen und Kontrollsubstanzen	84
4.2.3 Protokoll und Versuchsdesign	86
4.2.4 Kontraktilität	87
4.2.5 cAMP	95
4.3 Diskussion der Ergebnisse	97
4.3.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse	97
4.3.2 Allgemeine hämodynamische Veränderungen	97

4.3.3 Linksventrikuläre Kontraktilität	99
4.3.4 Prostaglandin I ₂ Analoga und cAMP	104
4.3.5 Wirkmechanismus der Prostaglandin I ₂ Analoga	105
4.4 Klinische Relevanz der Ergebnisse	107
5 Zusammenfassung	108
5.1 Hintergrund und Versuchsziel	108
5.2 Methodik	109
5.3 Ergebnisse	110
5.4 Diskussion	111
5.5 Schlussfolgerung	112
6 Abkürzungsverzeichnis	113
7 Literaturverzeichnis	115
Danksagung	
Lebenslauf	

1 Einleitung

1.1 Einführung

Herz-Kreislauferkrankungen zählen zu den häufigsten Todesursachen der Bevölkerung der Industrienationen. Bei der Pathogenese dieser Erkrankungen sind wichtige Faktoren unter anderem Nikotin- und Alkoholabusus, Fettstoffwechselstörungen wie Hypercholesterinämie und -triglyceridämie, Adipositas, Diabetes oder körperliche Inaktivität. Davon zu unterscheiden sind angeborene Herz-Kreislauf-erkrankungen, wie Fehlbildungen am Herzen, oder Erkrankungen ungeklärter Ätiologie³³, speziell die primäre pulmonale Hypertonie. Viele dieser Erkrankungen führen auf Dauer, je nach Ausprägung und Therapie, zu einer globalen Verschlechterung der Herzfunktion, der chronischen Herzinsuffizienz. Abzugrenzen davon ist die akute Herzinsuffizienz, welche durch ausgedehnte Myokardinfarkte, akut auftretende hypertensive Krisen oder perioperativ bei herzchirurgischen Eingriffen entsteht²³.

Angesichts der zunehmend älter werdenden Bevölkerung stellt das Krankheitsbild der Herzinsuffizienz mit einer Prävalenz von 1% (mit deutlichem Anstieg im Alter⁶⁹) sowie einer Letalität von ca. 10 - 20% im chronischen Stadium eine enorme klinisch-therapeutische und gesundheitspolitische Herausforderung dar¹⁰.

Pathophysiologisch ist die Herzinsuffizienz definiert als Unfähigkeit des Herzens, Blut und daher Sauerstoff in einem Maße, das den Bedürfnissen des Körpers gerecht wird, zu den Organen zu transportieren (WHO 1995)²³.

In der Folge entwickelt sich eine periphere Minderdurchblutung, d.h. Unterversorgung des Organismus mit Sauerstoff und Nährstoffen. Dieses sogenannte Vorwärtsversagen des Herzens beruht auf einer systolischen Funktionsstörung¹⁰.

Ebenso kann es auch durch Behinderung der Ventrikelfüllung zu einer diastolischen Funktionsstörung kommen, einem sogenannten Rückwärtsversagen des Herzens mit Ödembildung in der Peripherie und der Lunge. Desweiteren kann man zwischen Links- und Rechtsherzinsuffizienz unterscheiden. Während die erworbenen Funktionsstörungen des Herzens (Hypertonie, Myokardinfarkt) meist das linke Herz betreffen, führt vor allem die pulmonale Hypertonie zu einer starken Rechtsherzbelastung.

Unabhängig von der Ätiologie wird die Herzinsuffizienz entsprechend der Einschränkung der körperlichen Belastbarkeit der Patienten durch die Klassifikation der New York Heart Association (NYHA) in die Grade I – IV eingeteilt. Die Prognose der schweren Herzinsuffizienz ist äußerst schlecht: die mittlere Überlebensrate bei NYHA IV beträgt nach einem Jahr 35%. Eine Therapie in diesem Stadium besteht unter anderem in der Gabe von vasodilatierenden Medikamenten: Nachlastsenker (ACE Hemmer, AT-II-Antagonisten) und Vorlastsenker (Nitrate, Molsidomin), kontraktilitätssteigernde (Glykoside, Katecholamine) und diuretische Medikamente²³. Wie die schlechte Prognose trotz Therapie zeigt, ist die konventionelle Therapie der Herzinsuffizienz nicht zufriedenstellend. Die Verbesserung der Therapie der Herzinsuffizienz ist daher nach wie vor Forschungsschwerpunkt vieler Arbeitsgruppen.

In den achtziger Jahren wurde erstmals über die intravenöse Verwendung des Prostaglandin I₂ berichtet⁴³. Bis dahin waren diesem Prostaglandin bereits protektive Eigenschaften bei akuter Myokardischämie zugeschrieben worden⁸². In Studien konnte eine Reduktion der Infarktgröße und Verbesserung des regionalen Blutflusses⁹¹ und seiner Umverteilung¹⁰⁶ gezeigt werden. Diese Eigenschaften wurden hauptsächlich auf die Hemmung der Thrombozytenaggregation zurückgeführt^{83,105}.

Relativ zeitgleich konnte für Prostaglandin I₂ ein vasodilatierender Effekt auf die Lungengefäße bei Patienten mit primärerer pulmonaler Hypertonie nachgewiesen werden⁹⁵. Seither zeigten sich positive Effekte des Prostaglandin I₂ bei schwerkranken Patienten, die auf eine Herz-Lungentransplantation warten⁸. Es wird bei diesen Patienten für die Langzeitbehandlung eingesetzt, um deren Situation während der Wartezeit zu stabilisieren und die rechtsventrikuläre Funktion und die Sauerstoffsättigung zu verbessern¹⁷. Ergebnisse aus den neunziger Jahren zeigten nicht nur einen besseren therapeutischen Effekt bei den mit Prostaglandin I₂ behandelten Patienten, sondern auch eine Steigerung der Lebensqualität. Es wurde sogar diskutiert, diese Substanz nicht nur als Überbrückung der Wartezeit zu verwenden, sondern sie bei ausgewählten Patienten anstelle einer Transplantation einzusetzen⁶.

Von einer New Yorker Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass die zusätzliche Gabe von Epoprostenol, einem Prostaglandin I₂- Analogon, im Vergleich zur alleinigen konventionellen Therapie die Überlebensrate von Patienten mit primärer pulmonaler Hypertonie und konsekutiver Herzinsuffizienz eines NYHA Grades III - IV erheblich verbessert. Den Testzeitraum von 12 Wochen überlebten alle mit Epoprostenol therapierten Patienten, hingegen nur 80% der konventionell behandelten Patienten⁷.

Dieser positive Effekt des Epoprostenols auf das Überleben wurde im Wesentlichen auf dessen Funktion als Vasodilatator durch Senkung des pulmonalarteriellen Blutdrucks, also eine Senkung der Nachlast des rechten Ventrikels zurückgeführt⁹².

In einer schwedischen Studie wurde durch Prostaglandin I₂-Gabe der Schlagvolumenindex von Patienten mit akuter Herzinsuffizienz nach herzchirurgischen Eingriffen verbessert, nicht jedoch durch einen weiteren Vasodilatator, dem Natriumnitroprussid⁵⁴. Demnach scheint die Steigerung des Schlagvolumenindex

durch Prostaglandin I₂ nicht allein auf einer Vasodilatation, bzw. Nachlastsenkung, zu beruhen.

Unterstützt wird die Vermutung, dass Prostaglandin I₂ kein rein vasodilatierend wirkendes Agens ist, durch die Ergebnisse der FIRST Studie (The Flolan International Randomized Survival Trial)¹²: Diese Langzeitstudie an Patienten mit schwerer Linksherzinsuffizienz der NYHA Klasse IIIb und IV musste abgebrochen werden, nachdem sich bei denjenigen Patienten, die zusätzlich zu ihrer Standardmedikation kontinuierlich Epoprostenol infundiert bekamen, im Gegensatz zur Kontrollgruppe mit der reinen Standardtherapie, eine erhöhte Sterberate abzeichnete. Dieses Ergebnis war um so überraschender, als in vorangegangenen Studien die Gabe vasodilatierender Substanzen zu einer verminderten Sterberate geführt hatte¹⁴. Eine erhöhte Sterberate hingegen war bislang von positiv inotropen Substanzen bekannt gewesen^{21,85,112}.

Worin unterscheidet sich nun das Prostaglandin I₂ Analogon Epoprostenol von anderen Vasodilatoren? Eine Antwort könnte in einer möglichen positiv inotropen Wirkweise des Prostaglandin I₂ liegen. Dies wäre auch eine Erklärung für den therapeutisch sehr wertvollen positiven Kurzeiteffekt des Epoprostenols sowohl bei Patienten mit primärer pulmonaler Hypertonie und Rechtsherzversagen, als auch für den starken Schlagvolumenanstieg bei Patienten mit Herzversagen nach herzchirurgischen Eingriffen.

In vitro konnte eine positiv inotrope Wirkweise des Prostaglandin I₂ bereits nachgewiesen werden: Die einmalige Gabe des kurzwirksamen Epoprostenol steigert die Kontraktionskraft des isolierten rechten Rattenventrikels auf 140% des Ausgangswertes⁸⁸. Zudem erhöhte Prostaglandin I₂ die Kontraktilität nicht nur in isolierten Ventrikeln und in isolierten Vorhöfen^{25,71}, sondern auch in isolierten kultivierten Rattenherzzellen⁴.

In vivo zeigte eine französische Studie eine gesteigerte Kontraktilität bei Patienten mit Herzinsuffizienz und sekundärer pulmonaler Hypertonie während Infusion von Epoprostenol⁷⁵. Die Validität dieser Schlussfolgerung ist jedoch fraglich, da die linksventrikuläre Kontraktilität in dieser Studie durch eine lastabhängige Variable bestimmt wurde. Da Vor- und Nachlast durch Epoprostenol alteriert werden, kann diese Studie nicht als beweisend für eine kontraktitätssteigernde Wirkweise des Prostaglandin I₂ gelten.

Bislang gibt es keine validen Daten über die Effekte des Prostaglandin I₂ auf die myokardiale Kontraktilität in vivo. Aus diesem Grund war es das Ziel vorliegender Studie, zu untersuchen, ob Prostaglandin I₂ und seine Analoga *in vivo* die linksventrikuläre Kontraktilität steigern.

1.2 Prostaglandin I₂ und seine Analoga

1.2.1 Syntheseweg der Prostaglandine

Prostaglandine sind körpereigene Substanzen und werden in allen Geweben und Organen synthetisiert^{33,90}. Nach der Entdeckung der Stoffgruppe der Prostaglandine in der Samenflüssigkeit durch Euler im Jahre 1933 wurden bis heute mehr als 90 verschiedene Prostaglandine identifiziert. 1976 entdeckten Moncada und Vane Prostaglandin I₂ als Hauptsyntheseprodukt des Arachidonsäurestoffwechsels in Endothelzellen und nannten es Prostacyclin⁹.

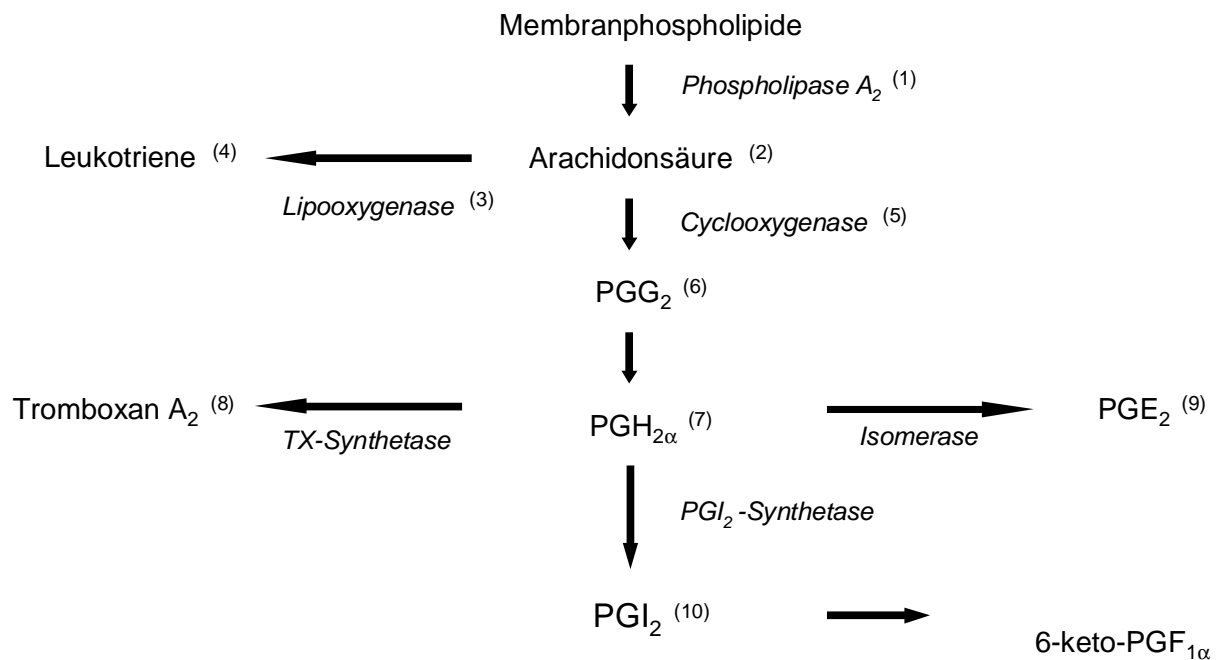


Abb. 1.2.1: Syntheseweg des Prostacyclin (PGI₂)

Der Syntheseweg des Prostacyclin beginnt mit der enzymatischen Spaltung von Membranphospholipiden (siehe Abb. 1.2.1). Katalysiert durch das Enzym Phospholipase A₂ (1) entsteht dabei hauptsächlich Arachidonsäure (2) als Ausgangssubstanz für verschiedene Stoffwechselwege: durch die Lipooxygenase (3) werden die Leukotriene (4) gebildet. Über den Weg der Cyclooxygenase (5) entstehen Prostaglandin G₂ (6) und Prostaglandin H_{2α} (7). Letzteres gilt als Vorstufe von Thromboxan A₂ (8), Prostaglandin E₂ (9) und des Hauptmetaboliten Prostaglandin I₂ (Prostacyclin) (9)⁴⁶. Im Gegensatz zu anderen Vertretern der Stoffgruppe wird Prostacyclin hauptsächlich in Leber und Niere und kaum in der Lunge abgebaut¹¹⁹. Der entstehende Hauptmetabolit ist 6-keto PGF_{1α}, welches nach intravenöser Applikation von Prostacyclin im Urin nachgewiesen werden kann⁷³.

1.2.2 Struktur und Pharmakologie von natürlichem Prostacyclin, Epoprostenol und Iloprost

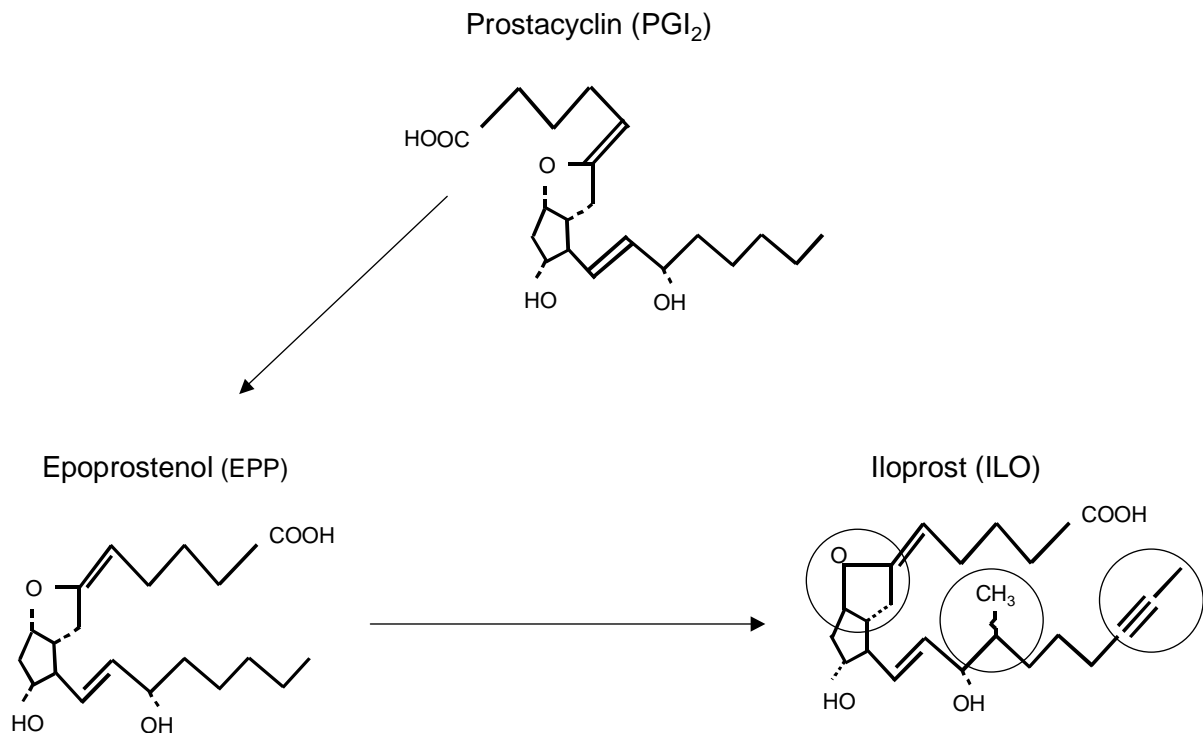


Abb.1.2.2: Strukturformeln der Prostaglandine

Prostaglandin I₂, auch Prostacyclin genannt, besteht aus einem Zyklopentanring mit zwei ungesättigten Seitenketten (siehe Abb. 1.2.2).

Epoprostenol, das im Handel erhältliche „Prostacyclin“, ist bis auf eine cis-Stellung strukturanalog zum natürlich im menschlichen Körper vorkommenden Prostacyclin.

Mit einer Halbwertszeit von 2 - 3 Minuten ist es allerdings nur sehr kurz wirksam⁷³.

Daher wurde das synthetische Derivat Iloprost entwickelt, das seit 1993 auf dem Markt ist. Es weist geringe strukturelle Unterschiede (in Abb. 1.2.2 hervorgehoben durch Kreise) gegenüber dem Epoprostenol auf und hat eine Halbwertszeit von 20 - 30 Minuten.

1.2.3 Wirkungen von Prostacyclin und Iloprost

Wie man der Abbildung 1.2.1 entnehmen kann, wird der Syntheseweg des Prostacyclin und der des Thromboxan durch das gleiche Enzym (Cyclooxygenase) katalysiert. Dies bedeutet, dass beide Synthesewege parallel laufen. In einem gesunden Organismus ist ein Gleichgewicht beider Metaboliten für die Aufrechterhaltung und Integrität eines Gefäßes von großer Bedeutung³³. Beispielsweise wird einer Störung dieses Gleichgewichts bei der Pathogenese der Arteriosklerose eine bedeutende Rolle zugeschrieben⁶⁸. Während das in den Thrombozyten gebildete Thromboxan zu Vasokonstriktion kleiner Arterien führt und als Mediator die Thrombozytenaggregation induziert, also zu eher gefäßschädigenden Mechanismen führt, wirkt das im Endothel gebildete Prostacyclin als Gegenspieler von Thromboxan gefäßprotektiv³³. Die gefäßprotektiven Wirkungen des Prostacyclin sind einerseits die Hemmung der Thrombozytenaggregation und andererseits die Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur und somit Vasodilatation¹¹⁶. Beide Mechanismen werden an den Zellen über spezifische Rezeptoren vermittelt^{3,80,52} Intrazellulär führt die Signaltransduktion über eine Aktivierung der Adenylatzyklase zu einem Anstieg des intrazellulären second-messengers cAMP^{9,31,64,73,74,111}.

1.2.4 Anwendung von Prostaglandin I₂ Analoga

Therapeutisch kommen das Prostacyclin und Prostaglandin I₂-Analoga vor allem in Form von folgenden Medikamenten zum Einsatz:

- Epoprostenol (Flolan[®], Glaxo Wellcome, Versaille, Frankreich), zugelassen in Frankreich und den USA, zur Therapie der pulmonalen Hypertonie

(primär/sekundär) und Sklerodermie assoziierter pulmonaler Hypertonie bei Patienten des NYHA Grads III oder IV, die nicht auf konventionelle Therapie ansprechen¹²². In Deutschland noch nicht zugelassen, findet es dennoch Anwendung in vielen Studien zur Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen, vor allem der pulmonalen Hypertonie.

Epoprostenol wird über einen zentralen Venenkatheter kontinuierlich mit einer Anfangsdosis von $2 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ infundiert. Diese wird bis zum Auftreten Dosis-limitierender Faktoren, wie beispielsweise symptomatischer Hypotonie oder Tachykardie jeweils um $2 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ alle 15 Minuten gesteigert. Die so erreichte Zieldosierung wird aufrechterhalten, jedoch muß die Dosis meist wegen auftretender Toleranzentwicklung monatlich gesteigert werden, sobald der Patient wieder symptomatisch wird. Während der Dosisjustierung ist eine hämodynamische Überwachung angezeigt.

Die häufigsten Nebenwirkungen sind Flush, Kopfschmerz, Kiefergelenkschmerzen, Diarrhö, Nausea und Erbrechen¹²².

- Iloprost (Iloprost trometamol, Ilomedin[®], Schering, Berlin, Deutschland) ist in Deutschland zur Behandlung der fortgeschrittenen Thrombangiitis obliterans (Buerger-Krankheit) zugelassen⁹⁴.

Dabei wird es unter Überwachung der Herz-Kreislauffunktionen über 6 Stunden täglich in einer Dosierung von $0,5\text{-}2,0 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ intravenös verabreicht. Die häufigsten auftretenden Nebenwirkungen sind ebenfalls Flush, Kopf- und Kiefergelenkschmerzen, Übelkeit, Erbrechen sowie Diarrhö und entsprechen denen des Epoprostenol⁹⁴.

1.3 second-messenger cAMP

1.3.1 Struktur des cAMP

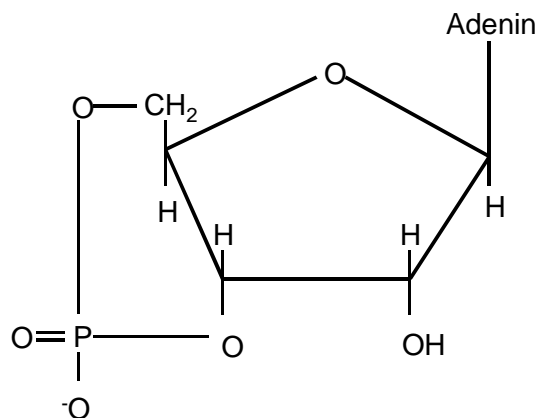


Abb.1.3.1: cyclisches AMP (cAMP)

Prostaglandin I₂ Analoga entfalten ihre Wirkung über den second-messenger cyclisches Adenosinmonophosphat (cAMP; Abb.1.3.1). Es entsteht durch Abspaltung eines Pyrophosphats (PP_i) aus dem energiereichen Adenosintriphosphat (ATP), dem wichtigsten Energielieferant der Zellen. In den fünfziger Jahren entdeckte Earl Sutherland, dass Adrenalin und Glucagon an Rezeptoren an der Oberfläche von Leberzellen binden und die Bildung von cAMP auslösen. Die Hormone selbst gelangen nicht in die Zelle, sie wirken im Prinzip als erste Boten (first-messenger, von Zelle zu Zelle) und cAMP als zweiter Bote (second-messenger, innerhalb einer Zelle)¹⁰⁸.

1.3.2 Das Adenylatzyklasesystem

Viele Hormone bewirken einen intrazellulären cAMP-Anstieg über das sogenannte Adenylatzyklasesystem: durch Bindung eines Hormons an den spezifischen Rezeptor wird ein guanylnucleotidbindendes Protein (G-Protein) aktiviert. Dieses G-Protein stimuliert in mehreren Schritten das Enzym Adenylatzyklase, welches cAMP durch Abspaltung von Pyrophosphat (PP_i) aus ATP bildet⁶⁷.

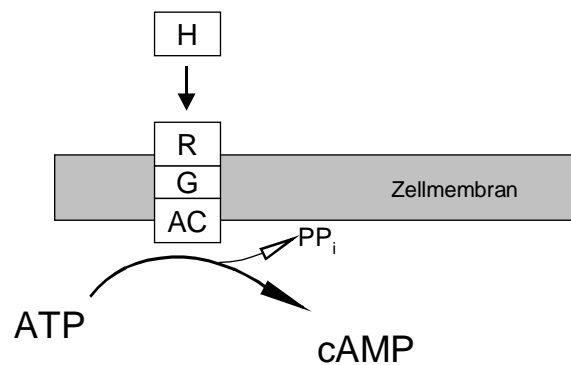


Abb.1.3.2: Adenylatcyklasesystem

H	Hormon
R	Rezeptor
G	G-Protein
AC	Adenylatcyklase

Als wichtige Vertreter der über das Adenylatzyklasesystem wirkenden Hormone seien hier nur Adrenalin, Calcitonin, Glucagon, Lipotropin, Noradrenalin und Vasopressin genannt¹⁰⁸.

Auch Prostacyclin stimuliert das Enzym Adenylatzyklase und bewirkt so einen Anstieg des cAMP in Thrombozyten und glatten Gefäßmuskelzellen^{9,117}.

1.4 Kontraktilität

1.4.1 Definition

Myokardiale Kontraktilität wird in der englischsprachigen Literatur ganz allgemein als „potential to do work“, d.h. die Fähigkeit des Herzens Arbeit zu leisten, definiert. Dabei handelt es sich weniger um die rein passive Fähigkeit des Herzmuskels, sich unterschiedlichen Belastungen (Vorlasterhöhung, Nachlasterhöhung) im Sinne des „Frank-Starling-Mechanismus“ flexibel anzupassen, als vielmehr unter gleichen Vor- und Nachlastverhältnissen die Herzleistung zu ändern. Eine Kontraktilitätserhöhung (positive Inotropie) manifestiert sich somit stark vereinfacht zum einen in einer schnelleren maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit der einzelnen Faser ohne Last, und zum anderen in einer Erhöhung der maximal möglichen isovolumetrischen Zugkraft.

Anhand von Frank-Starling Diagrammen lässt sich eine Kontraktilitätssteigerung wie folgend darstellen: eine sogenannte Druck-Volumenschleife teilt sich in vier verschiedene Phasen der Herzaktion (siehe Abb. 1.4.1 a): diastolische Relaxation (A), diastolische Füllung (B), systolische Anspannung (C) und systolische Austreibung (D): der Herzzyklus schliesst mit dem endsystolischen Punkt. Bei einer Kontraktilitätssteigerung bedeutet dies, dass mehr Volumen mit einem höheren Druck in den Kreislauf ausgeworfen wird. Der endsystolische Punkt verschiebt sich nach links oben (siehe Abb. 1.4.1 b).

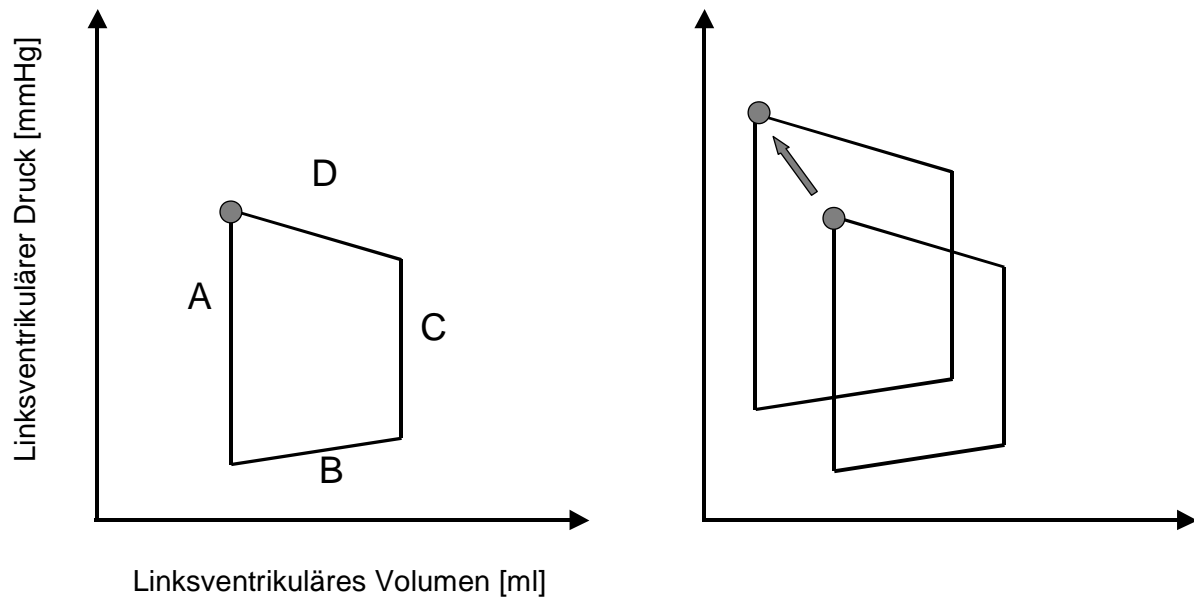


Abb. 1.4.1a: Frank-Starling Kurve: Druck-Volumen -Schleife während einer Herzaktion und dem endsystolischen Punkt am Ende des Herzzyklus

Abb. 1.4.1b: Frank-Starling Kurve: verbesserte Kontraktilität; der endsystolische Punkt verschiebt sich nach links oben

1.4.2 Kontraktilität auf zellulärer Ebene

Um die Rolle des cAMP bei der Steigerung der Kontraktilität anschaulicher zu machen, wird zunächst der Mechanismus der elektromechanischen Koppelung in der Herzmuskelzelle erläutert:

Während des Aktionspotentials strömen über Kanäle innerhalb der Plasmamembran Kalziumionen (Ca^{2+}) in die Herzmuskelzelle. Dieser Ca^{2+} Einstrom triggert die Ca^{2+} Freisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum in das Zytosol. Das nun vermehrt in der Zelle befindliche Ca^{2+} bindet an Troponin und löst – via Konformationsänderung – im Troponin-Myosin-System eine Querbrückenrudertätigkeit sowie eine Aktivierung der Myosin-ATPase aus. Wird Ca^{2+} wieder durch die

Kalziumpumpe in das sarkoplasmatische Retikulum zurückgepumpt, werden die Querbrücken gelöst und die Muskelzelle erschlafft¹⁰¹.

Eine gesteigerte Kontraktilität durch Stimulation von β -Rezeptoren auf zellulärer Ebene erfolgt nun folgendermassen: nach Stimulation über β -Rezeptoren generiert die membranständige Adenylatzyklase cAMP aus ATP. cAMP bewirkt nun indirekt über die Aktivierung der Proteinkinase A eine erhöhte intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration durch Phosphorylierung der Ca^{2+} -Kanäle der Zellmembran und somit Steigerung der Wahrscheinlichkeit der Kanalöffnung. Durch den erhöhten Ca^{2+} -Spiegel werden intrazelluläre Speicher, beispielsweise das sarkoplasmatische Retikulum, vermehrt aufgefüllt, so dass für folgende Kontraktionen mehr Ca^{2+} zur Verfügung steht¹⁰¹ (siehe Abb. 1.4.2).

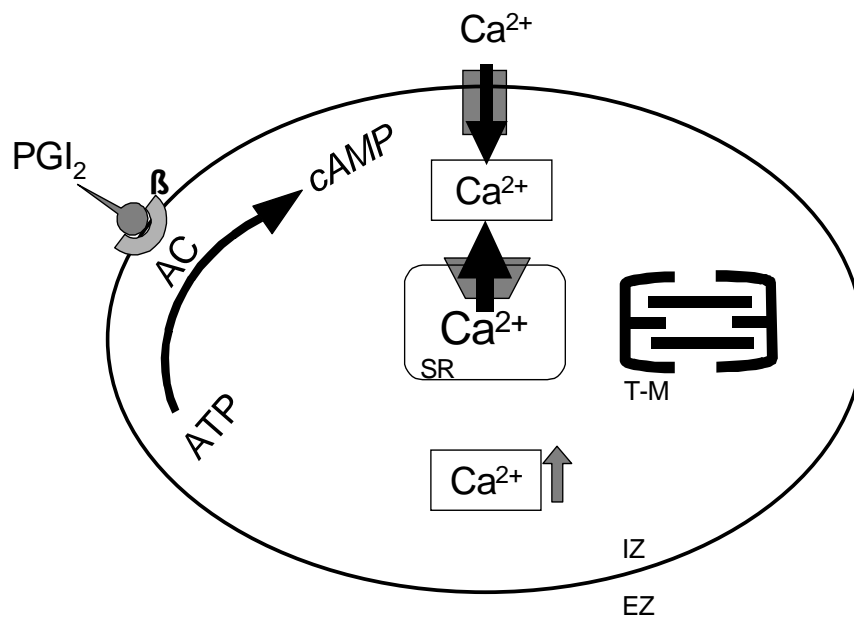


Abb.1.4.2: Kontraktionsmechanismus in der Herzmuskelzelle

β	β -Rezeptor
SR	Sarkoplasmatisches Retikulum
T-M	Troponin-Myosinkomplex
AC	Adenylatcyclase
IZ	Intrazellulärraum
EZ	Extrazellulärraum

1.5 Zielsetzung und Fragestellung

Eine Steigerung der Kontraktilität wird in der Myokardzelle durch eine Erhöhung des intrazellulären cAMP-Spiegels hervorgerufen. Die bisher bekannten Wirkungen des Prostaglandin I₂, Vasodilatation und Hemmung der Thrombozytenaggregation, werden ebenfalls über einen Anstieg des intrazellulären cAMP-Spiegels vermittelt.

In der folgenden Studie sollte daher untersucht werden, ob Prostaglandin I₂ Analoga, Epoprostenol und Iloprost, *in vivo* die Myokardkontraktilität steigern und ob dies über einen Anstieg der myokardialen cAMP-Konzentration vermittelt wird.

2 Material und Methoden

2.1 Modell

Um die Wirkung von Epoprostenol und Iloprost auf die linksventrikuläre Kontraktilität und das myokardiale interstitielle cAMP in vivo zu testen, wurde folgendes tierexperimentelle Modell gewählt: In narkotisierten und mechanisch beatmeten deutschen Hausschweinen sollte die Wirkung der Testsubstanzen Epoprostenol und Iloprost auf die linksventrikuläre Kontraktilität sowie zum Vergleich die Wirkung zweier Kontrollsubstanzen auf die linksventrikuläre Kontraktilität untersucht werden. Als Kontrollsubstanzen kamen zwei kurzwirksame Vasodilatoren (Adenosin, Natriumnitroprussid) zum Einsatz. Die myokardiale cAMP-Konzentration wurde aus durch Mikrodialysensonden gewonnenem interstitiellem Dialysat mittels ELISA und die linksventrikuläre Kontraktilität anhand der Conductance-Methode bestimmt.

2.2 Studiendesign und Versuchsaufbau

Die vorliegende Untersuchung wurde als kontrollierte, randomisierte prospektive Studie angelegt. Zur Bestimmung der Effekte durch die verwendeten Test- (Epoprostenol, Iloprost) und Kontrollsubstanzen (Adenosin, Natriumnitroprussid) auf die linksventrikuläre (LV) Kontraktilität und den myokardialen interstitiellen cAMP-Spiegel wurde eine Versuchsgruppe gebildet, innerhalb derer in randomisierter Reihenfolge Epoprostenol, Adenosin und Natriumnitroprussid intravenös verabreicht wurden. Wegen seiner langen Halbwertszeit wurde das synthetische Prostaglandin I₂

Analogon Iloprost jedem Tier als letzte Substanz infundiert. Zu den Messzeitpunkten wurde aus dem Myokard mit der Mikrodialysetechnik interstitielles Dialysat gewonnen, und später daraus die interstitielle cAMP-Konzentration mittels ELISA bestimmt sowie die linksventrikuläre Kontraktilität mit der Conductance-Methode gemessen.

Im Sinne des Crossover Designs erhielt jedes Tier alle Substanzen. Infolgedessen fungierte nicht nur jedes Tier als eigene Kontrolle, auch konnte dadurch die Gesamtzahl der Versuchstiere gemäss dem Tierschutzgesetz (deutsches Tierschutzgesetz § 9) reduziert werden.

2.2.1 Versuchstiere

Die von der zuständigen Kommission der Regierung von Oberbayern unter dem Aktenzeichen AZ 76/99 genehmigte Studie wurde an deutschen Hausschweinen durchgeführt. Insgesamt wurden die Untersuchungsergebnisse von 11 Hausschweinen beiderlei Geschlechts mit einem mittleren Körpergewicht von 25.9 ± 2.8 kg ausgewertet. Die Tiere wurden gemäß den gültigen Vorgaben ("Guide for the Care and Use of Laboratory Animals", NIH publication No. 85-23, revised 1985 & 1996) betreut.

2.2.2 Versuchsprotokoll

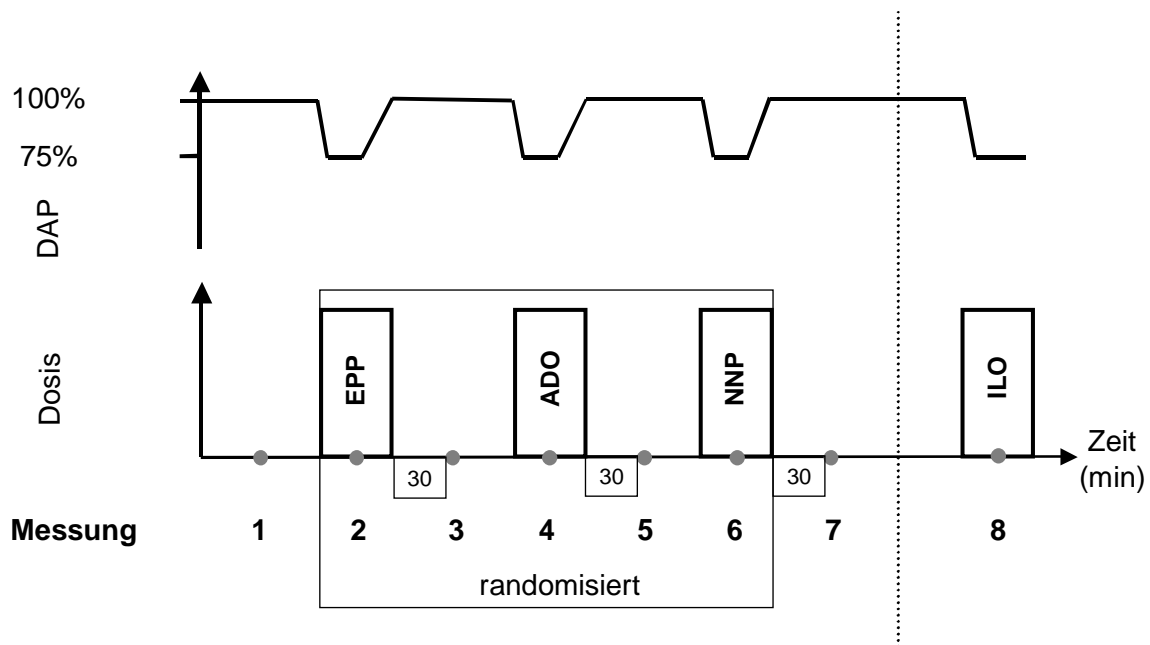


Abb. 2.2.2: Versuchsprotokoll

Das Protokoll beinhaltete insgesamt 8 Messzeitpunkte. Nach einer Baselinemessung erfolgte in randomisierter Reihenfolge die intravenöse Applikation von EPP, ADO und NNP. Aufgrund seiner langen Halbwertszeit wurde ILO jeweils zuletzt verabreicht. Die Vasodilatoren wurden dabei durch kontinuierliche Infusion über Perfusoren (Perfusor segura; B. Braun; Melsungen) so titriert, dass der diastolische Aortendruck (DAP) für die Dauer der zweiten Messung stabil auf 75% des Ausgangswertes der Baselinemessung reduziert wurde. Die Substanzen wurden dadurch in äquipotenten Dosierungen appliziert.

Nach Erreichen des Zielblutdruckwertes und erfolgter Messung wurden die Vasodilatoren NNP, ADO und EPP schrittweise ausgeschlichen, um eine Rebound Hypertension zu vermeiden. Anschliessend folgte eine Washout-Periode von

mindestens 30 Minuten Dauer. Die mittlere Infusionsdauer betrug bei EPP 42 ± 7 min, bei ADO 34 ± 7 min, bei NNP 45 ± 10 min und bei ILO 15 ± 4 min. Die Infusionsdauer des langwirksamen ILO am Ende des Protokolls war aufgrund der fehlenden Ausschleichphase wesentlich kürzer. Nach Ausschleichen von ADO, EPP und NNP wurde erneut eine Baselinemessung durchgeführt. Die durchschnittliche Laufzeit des Protokolls betrug $5:45 \pm 0:57$ (h:min) und die Dauer eines gesamten Versuchs lag im Mittel bei $12:35 \pm 0:59$ (h:min).

2.2.3 Untersuchte Substanzen und Kontrollsubstanzen

2.2.3.1 Epoprostenol

Durch Auflösen von Epoprostenol-Natrium als synthetisches Prostacyclinderivat (Epoprostenol, Flolan[®], Glaxo Wellcome, Versaille, Frankreich) in Glycin Puffer wurde zu Beginn jedes Versuches eine Lösung mit einer Konzentration von $0.01 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ hergestellt, die dann zum entsprechenden Zeitpunkt des Protokolls appliziert wurde. Wie alle anderen Substanzen auch, wurde Epoprostenol bis zum Erreichen des vorher ermittelten Zielblutdruckwertes (diastolischer Aortendruck von 75% des Ausgangsaortendrucks) titriert. Die insgesamt mittlere Dosis für eine Messung betrug $0.184 \pm 0.09 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$.

2.2.3.2 Iloprost

Zur Herstellung der Lösung für die ILO Applikation (Iloprost Trometamol, Ilomedin[®], Schering, Berlin, Deutschland) wurden $150 \text{ }\mu\text{g}$ in Wasser für Injektionszwecke (aqua ad injectabiliae) gelöst und bis zu einem Gesamtvolumen von 30 ml mit

physiologischer Kochsalzlösung (NaCl 0.9%) verdünnt. Die für die Versuchsbedingungen nötige Dosierung lag im Durchschnitt bei $0.28 \pm 0.03 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$.

2.2.3.3 Adenosin

Es wurden 150 mg Adenosin (Adenosin freie Base, ICN Biomedicals Inc., Aurora, Ohio, USA) in einer 50 ml Perfusorspritze aufgezogen und nach genanntem Prinzip titriert. Die mittlere, für eine Senkung des mittleren Aortendrucks um 25% erforderliche, Dosierung des Adenosin lag bei $106 \pm 35 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$.

2.2.3.4 Natriumnitroprussid

Die lyophilisierte Trockensubstanz Nitroprussid-Natrium (nipruss[®], SCHWARZ PHARMA AG, Monheim, Deutschland) wurde in Glukoselösung (Glukose 5%) gelöst und darin bis zu einer Konzentration von $1.2 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ bei einem Gesamtvolumen von 50 ml verdünnt. Während dieses gesamten Vorgangs als auch während der Applikation über den Perfusor (Perfusor segura; B. Braun; Melsungen) wurde auf strengsten Lichtschutz geachtet. Im Durchschnitt wurden $9.7 \pm 2.5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ appliziert.

2.3 Versuchsdurchführung

2.3.1 Anästhesie

2.3.1.1 Narkose

Prämediziert wurden die Tiere durch intramuskuläre Applikation von $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Körpergewicht Ketamin (Ketavet[®], Parke-Davis, Freiburg) und $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Midazolam (Dormicum[®], Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland). Die Narkose wurde mit $0.02 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Fentanyl (Fentanyl-Janssen[®], Janssen Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) intravenös (i.v.) und $1.5 - 2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Propofol (Disoprivan[®] 1%) i.v. eingeleitet. Zur Muskelrelaxation wurden $0.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Vecuroniumbromid (Norcuron[®], Organon Teknika, Eppelheim, Deutschland) infundiert. Somit konnten die Tiere unter direkter Laryngoskopie endotracheal intubiert (Hi-Lo Jet[™], 8 – 10 mm Innendurchmesser, Mallinckrodt Inc., Argyle, NY, USA) und anschliessend manuell beatmet werden, bevor auf maschinelle Beatmung umgestellt wurde. Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurden mittels zweier Perfusoren (Perfusor ED 1-300, B. Braun, Melsungen) kontinuierlich Fentanyl ($0.04 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) und Vecuroniumbromid ($0.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) über einen zentralen Venenkatheter infundiert sowie 2 - 3-Vol% Isofluran über ein Beatmungssystem zugeführt.

Nach Ablauf des Versuchsprotokolls wurde den Tieren im Anschluss an eine intravenöse Bolusgabe Fentanyl 20 ml gesättigte Kaliumchloridlösung (Apotheke Klinikum Innenstadt, LMU München) über einen zentralen Venenkatheter in Narkose injiziert. Nach Sistieren der spontanen elektrischen und mechanischen Myokardaktionen wurde die Beatmung der Tiere eingestellt und die Narkose beendet.

2.3.1.2 Beatmung

Die Tiere wurden volumenkontrolliert mit 50% Sauerstoff, 46 – 47 % Stickstoff und 2–3 Vol.-% Isofluran mittels Servo Ventilator 900 B (Siemens Elema, Solna, Schweden) beatmet. Das Beatmungsgerät wurde dabei auf 10 Zyklen pro Minute und einen kontinuierlichen endexpiratorischen Druck von 5 cm H₂O bei einer durchschnittlichen Inspirationsdauer von 2.96 Sekunden eingestellt. Die inspiratorische Sauerstoffkonzentration wurde kontinuierlich überprüft (Oxydig[®], Dräger AG, Lübeck), ebenso der Kohlendioxid (CO₂) -Gehalt im expiratorischen Schenkel des Beatmungsgerätes (Nellcor[®], Nellcor Inc., Hayward, CA, USA). Der arterielle Kohlendioxidpartialdruck (p_aCO₂) wurde durch regelmässige Blutgasmessungen kontrolliert.

2.3.1.3 Wärmeerhaltung

Die Körpertemperatur der Versuchstiere wurde kontinuierlich registriert und mittels eines, unter dem Rücken der Tiere platzierten, Wärmekissens konstant auf 38.5 ± 0.6 °C gehalten.

2.3.1.4 Monitoring

Um die Versuchstiere während der chirurgischen Präparation und während des Versuchs hämodynamisch überwachen zu können, wurden über einen Monitor (Hellige Recomed, Freiburg i.Brsg.) kontinuierlich Herzfrequenz (HF), aortaler Blutdruck (AOP), linksventrikulärer Druck (LVP) und pulmonalarterieller Blutdruck (PAP) abgeleitet (Dasylab, Datalog[®], Mönchengladbach, Deutschland). Ein externes

EKG mit vier Polen wurde über einen zusätzlichen Monitor (Sirecust[®] 960, Siemens Elema, Solna, Schweden) kontinuierlich registriert.

2.3.2 Chirurgische Präparation

Nach Einleitung der Narkose, Relaxation und Intubation wurden die Versuchstiere auf den Rücken gelagert und an den Läufen fixiert. Die ventrale Körperseite der Tiere wurde rasiert, gewaschen, mit jodhaltigem Hautantiseptikum (Cutasept F[®], Bode Chemie, Hamburg, Deutschland) desinfiziert und steril abgedeckt.

Dann erfolgte eine Tracheotomie, die Präparation der Hals – und Leistengefäße mit genauer Darstellung und Kanülierung, das Einbringen der Mikrodialysensonden und die Platzierung eines Blasenkatheters:

Zur Verringerung der Totraumventilation wurden alle Versuchstiere nach vorheriger kurzzeitiger Beatmung mit reinem Sauerstoff bei stabilen Beatmungsverhältnissen tracheotomiert und ein Tracheostoma (Rüschelit[®] tracheostomy tube, Willy Rüscher AG, Kernen, Deutschland) wurde eingebracht.

Die rechte Arteria femoralis wurde nach Palpation ihres Verlaufes über einen etwa 5 cm langen Hautschnitt freigelegt und distal ligiert. Es wurde eine Katheterschleuse (5 F, Arrow International Inc., Reading, PA, USA) inseriert und fixiert, über die ein Millar-Katheter zur Messung des aortalen Blutdruckes retrograd in die Aorta abdominalis vorgeschoben wurde. Mit identischer Technik wurde in die linke Arteria femoralis eine Schleuse eingebracht (8.5 F, Arrow International Inc., Reading, PA, USA), über die arterielle Blutproben entnommen wurden. Die rechte Vena femoralis wurde distal ligiert, inzidiert, und der für das Lastwechselmanöver (s.u.) notwendige Ballon-Katheter (Fogarty[®] Occlusion Katheter 8/22 F, Baxter Healthcare Corp., Irvine,

CA, USA) eingeführt. Dieser wurde unter Röntgenkontrolle in die Vena cava inferior bis knapp unterhalb der Zwerchfells vorgeschoben und fixiert. Zusätzlich wurde die korrekte Lage durch eine probeweise Inflation des Ballons mit 5 – 10 ml NaCl (0.9%) unter Kontrolle des linksventrikulären Drucks (LVP) überprüft.

Die linke Vena femoralis wurde nach Präparation distal ligiert und nach Inzision mit einem dreilumigen zentralen Venenkatheter (Triple Lumen Large Bore Catheter, 12G, Arrow International Inc., Reading, PA, USA) kanüliert. Hierdurch wurde NaCl (0.9%) mit einem Fluss von ca. $15 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, sowie kontinuierlich Fentanyl und Vecuronium infundiert. Bei Unterschreiten einer Serum-Kaliumionenkonzentration von $4 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ wurden der Basisinfusionslösung $20 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Kaliumchlorid 7.45% Braun[®], B. Braun, Melsungen) zugesetzt.

Die rechte Vena jugularis interna wurde freipräpariert, distal ligiert und durch die im Anschluss platzierte Schleuse (8.5 F, Arrow International Inc., Reading, PA, USA) ein Pulmonalarterienkatheter (7.5 F, Baxter Healthcare Corp., Irvine, California, USA) eingeschwenkt. Die Lagekontrolle erfolgte radiologisch und mittels der Beobachtung des typischen Verlaufes der pulmonalarteriellen Druckkurve vor und nach Inflation des Ballons an der Spitze des Katheters. Die Arteria carotis communis der gleichen Seite wurde ebenso freigelegt und distal ligiert. Über die eingebrachte Schleuse (8.5 F, Arrow International Inc., Reading, PA, USA) wurde der Conductance-Katheter in den linken Ventrikel vorgeschoben. Sowohl radiologisch, als auch durch Beobachtung der korrekten Volumensignale aller fünf Segmente sowie der abgeleiteten linksventrikulären Druckkurve, wurde die korrekte Lage des Katheters kontrolliert. Segmente, die außerhalb des Ventrikels zu liegen kamen, konnten leicht am veränderten Kurvenverlauf des Volumensignals identifiziert werden. Sie wurden vor Beginn der Messungen aus dem Gesamtvolumensignal ausgeschaltet.

Um die Mikrodialysensonden im Myokard platzieren zu können, musste zunächst über einen subxiphoidalen Zugang das Perikard der Versuchstiere eröffnet werden und so ein direkter Zugang zum Myokard geschaffen werden. Mit Hilfe einer Kanüle (20 G; 0,9 mm · 40 mm) wurde das linksanteriore Myokard tangential an zwei verschiedenen Stellen punktiert ohne dabei das Ventrikellumen zu erreichen. Über die vorgegebenen Punktionsstellen konnten nun zwei Mikrodialysesonden (CMA/20 Microdialysis Probe, CMA/Microdialysis, Solna, Schweden) platziert und mit Nähten (Prolene 5.0, Ethicon Inc., Somerville, NJ, USA) fixiert werden.

Über eine suprapubisch angelegte, ca. 5 - 6 cm lange, mediane Laparatomie wurde die Blase freigelegt und direkt katheterisiert. Nach Verlagerung der Blase nach intraabdominal wurde die Haut der Bauchdecke so weit wie möglich adaptiert.

Nach Beenden der chirurgischen Präparation und weitgehender Adaption der Wundränder wurde vor Messbeginn des Protokolls eine mindestens halbstündige Stabilisierungsphase abgewartet.

2.3.3 Gewinnung des Untersuchungsmaterials

2.3.3.1 Blutproben

Zu allen Messzeitpunkten wurden folgende Blutproben entnommen: eine arterielle Probe zur Serumgewinnung und eine heparinisierte arterielle Probe zur Blutgasanalyse. Beide arteriellen Proben wurden der kanülierten Arteria femoralis entnommen. Entsprechend wurden aus dem distalen Lumen des Pulmonalis-katheters zwei zentralvenöse Proben entnommen: eine nicht heparinisierte zur Serumgewinnung und eine heparinisierte zur Blutgasanalyse.

2.3.3.2 Myokardiales interstitielles Dialysat

Zur Gewinnung des interstitiellen Dialysates dienten die im Rahmen der Präparation in die linke Ventrikelwand der Versuchstierherzen eingebrachten Mikrodialysensonden (CMA/20 Microdialysis Probe, CMA/Microdialysis, Solna, Schweden). Diese Mikrodialysensonden werden durch eine Präzisionspumpe konstant mit Krebs-Ringer-Lösung durchspült ($3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$). Über eine semipermeable Membran an der Spitze der Sonden diffundieren ungebundene Stoffe $< 20 \text{ kD}$ in das Lumen der Sonden und gelangen so in einen Mikrofraktionskollektor (CMA 140, CMA/Microdialysis, Solna, Schweden). Dieser Kollektor sammelt alle 10 Minuten eine Probe definierter Menge und erlaubte so die Bestimmung des cAMP-Spiegels zu allen Messzeitpunkten.

Um Fehler durch zu lange Probenlagerung zu vermeiden, wurden die so erhaltenen Proben sofort bei $-22 \text{ }^\circ\text{C}$ in einem Gefrierschrank (Froster 520; Kirsch, Deutschland) eingefroren.

2.3.4 Bearbeitung des Untersuchungsmaterials

2.3.4.1 Blutgasanalyse und Bestimmung der Elektrolytkonzentrationen

Aus den heparinisierten arteriellen und zentralvenösen Blutproben wurde mittels eines Blutgasanalysators (Chiron Diagnostics 860, Emeryville, CA, USA) der Sauerstoffpartialdruck (pO_2) und der Kohlendioxidpartialdruck (pCO_2), der pH-Wert, Basenüberschuss, Laktat und die O_2 -Sättigung des Hämoglobins sowie die Natrium- (Na^+), Kalium- (K^+) und Kalziumionenkonzentrationen (Ca^{2+}) bestimmt.

2.3.4.2 Hämoglobinbestimmung

Die Hämoglobinkonzentrationsbestimmung der Blutproben erfolgte an einem speziell auf Schweinehämoglobin kalibrierten CO-Oximeter (Modell 682, Instrumentation Laboratory Corporation Lexington, MA, USA).

2.3.4.3 cAMP Nachweis aus interstitiellem Dialysat

Die mittels der Mikrodialysensonden gewonnenen und eingefrorenen Proben von je 30 µl wurden am Tag der Probenbearbeitung bei Raumtemperatur aufgetaut. Anschliessend wurden die Proben mittels eines „enzyme linked immuno sorbant assay“ (ELISA) (cyclic AMP Immunoassay DE 0355; R&D Systems, Wiesbaden-Nordenstadt, Deutschland) analysiert. Diese Methode dient zum quantitativen Nachweis kleinster, sonst kaum nachweisbarer Mengen von Molekülen, in unserer Studie zum Nachweis von cAMP. Das zugrundeliegende Prinzip des ELISA ist eine kompetitive Bindungstechnik: das cAMP der durch die Mikrodialyse erhaltenen Probe konkurriert mit einer definierten Menge in den Assayröhrchen bereits vorhandenen, enzymmarkierten cAMP um die Bindungsstellen eines ebenfalls bereits vorhandenen Antikörpers. Über einen zweiten Antikörper wird der gesamte Komplex am Boden der Assayröhrchen fixiert. Alles nicht fixierte cAMP wird ausgewaschen. Das Enzym des markierten cAMP der Röhrchen katalysiert eine quantitative Farbreaktion, deren optische Dichte anschliessend von einem Mikroplattenleser (Dynex MRX II, Dynex Technologies, inc. Chantilly, Virginia, USA) bei 405 nm gemessen werden kann. Somit ist die cAMP-Konzentration der Probe indirekt proportional zum Farbumschlag. Mittels eines an den Mikroplattenleser angeschlossenen Personal Computer kann nun über spezielle Software (MRX Kinetics Program; Dynex Technologies, inc.

Chantilly, Virginia, USA) die in den Proben enthaltene Menge cAMP unter Einbeziehung von Standardkurven berechnet werden.

2.3.5 Messung der allgemeinen Hämodynamik und Herzfunktion

2.3.5.1 Messung des Aortendrucks

Der aortale Blutdruck (AOP) wurde mittels eines elektronischen Manometers (Millar Mikro-Tip™ PC 370, 5F, Millar instruments, Houston, Texas USA) bestimmt.

2.3.5.2 Messung des Pulmonalarteriendrucks und des pulmonalkapillären

Verschlussdrucks

Zur Bestimmung des pulmonalarteriellen Blutdrucks (PAP) und des pulmonalkapillären Verschlussdrucks (PCWP) diente ein mit physiologischer Kochsalzlösung (NaCl 0.9%) gefüllter Thermodilutionskatheter (7.5 F, Baxter Healthcare Corp., Irvine, California, USA). Durch diesen Thermodilutionskatheter wird der Druck der Pulmonalarterie auf einen elektromechanischen Druckwandler (Statham Physiological Pressure Transducer Model P23XL-1, Viggo-Spectramed, Oxnard, California, USA) übertragen.

Die Messung des pulmonalkapillären Verschlussdrucks erfolgte endexpiratorisch durch Inflation des Ballons des Katheters und somit kurzzeitigem Verschluss des katheterisierten Pulmonalarterienasts.

2.3.5.3 Messung des zentralen Venendrucks

Über den beschriebenen Thermodilutionskatheter (s.o.) wurde auch der zentrale Venendruck (ZVD) abgeleitet. Dies erfolgte über das im rechten Vorhof liegende proximale Lumen des Katheters.

2.3.5.4 Messung des Herzminutenvolumens

Die Messung des Herzminutenvolumens (HMV) erfolgte mittels dem bereits beschriebenen Thermodilutionskatheter (s.o.), der auch zur Bestimmung des PAP, des PCWP und des ZVD diente. Der Katheter war mit einem Computer konnektiert, dessen Software es erlaubte, das Herzminutenvolumen direkt zu bestimmen (REF-1™, Ejection Fraction/Cardiac Output Computer, Baxter, Irvine, Kalifornien, USA). Dieser Katheter funktioniert nach dem Prinzip der Thermodilution: eine bestimmte Menge gekühlter Kochsalzlösung (10 ml NaCl 0.9%, Temperatur ca. 10 °C) wird rasch in das proximale Lumen des vierlumigen Thermodilutionskatheters injiziert. Die dadurch auftretende, von einer Temperatursonde kontinuierlich gemessene Temperaturänderung zeigt sich als charakteristische Temperaturkurve:

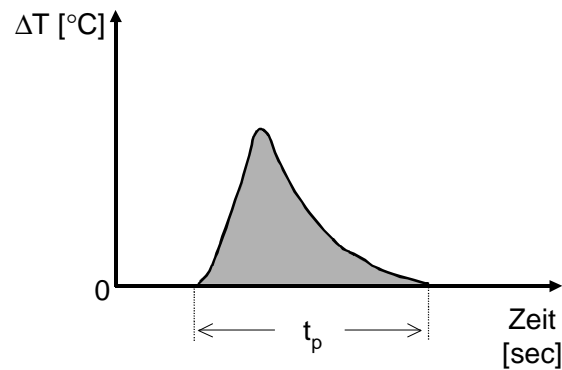


Abbildung 2.3.5.4: Schematischer Verlauf der Temperaturkurve des Blutes nach Bolusinjektion gekühlter NaCl-Lösung

Aus der Fläche der als Kurve aufgezeichneten Temperaturänderung wird das Herzminutenvolumen HMV bestimmt. Das HMV verhält sich umgekehrt proportional zum Flächenintegral unter der Temperaturkurve und direkt proportional zur injizierten Bolusmenge und wird mit folgender Gleichung berechnet:

$$\text{HMV} = \frac{\text{Injizierte Menge des Indikators}}{\text{Mittlere Konzentration des Indikators} \cdot \text{Passagezeit } (t_p)}$$

Gleichung 2.3.5.4': Berechnung des Herzminutenvolumens

Setzt man den so erhaltenen Wert für das Herzminutenvolumen in Bezug zur Körperoberfläche, so ergibt sich der sogenannte Herzindex (cardiac index, CI).

Um für unsere Untersuchung valide Daten der Herzzeitvolumenbestimmung zu erhalten, wurden mindestens dreimal je 5 ml bis zu 10 °C kalter Kochsalzlösung

(NaCl 0.9%) wie oben beschrieben injiziert und der Mittelwert bestimmt. Um einen Vergleichswert für das Herzzeitvolumen (CO) zu erhalten, erfolgte im Anschluß an die Thermodilutionsmethode eine Datenaufzeichnung mit dem Conductance Katheter.

2.3.5.5 Berechnung des systemischen vaskulären Widerstandsindex

Aus den bisher genannten Parametern lässt sich mittels einer Formel der systemische vaskuläre Widerstandsindex SVRI berechnen. Dieser Parameter beschreibt den Gefäßwiderstandes im Körperkreislauf und wird auf die Körperoberfläche der Tiere bezogen.

$$\text{SVRI} = \frac{\text{SVR}}{\text{Körperoberfläche}}$$

Gleichung 2.3.5.5'

$$\text{SVR} = \text{MAP} - \text{ZVD} / \text{HVM} \cdot 79,9 \text{ [dyn} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}]$$

MAP: mittlerer arterieller Blutdruck [mmHg]

ZVD: zentraler Venendruck [mmHg]

HMV: Herzminutenvolumen, cardiac output CO [$\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$]

79,9: Korrekturfaktor zur Umrechnung in $\text{dyn} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}$

2.3.5.6 Berechnung des pulmonalvaskulären Widerstandsindex

Analog zum SVRI wird der pulmonalvaskuläre Widerstandsindex PVRI zur Beurteilung des Gefäßwiderstands im Lungenkreislauf bestimmt:

$$PVRI = \frac{PVR}{\text{Körperoberfläche}}$$

Gleichung 2.3.5.6'

$$PVR = MPAP - PCWP / HMV \cdot 79,9 \text{ [dyn} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}]$$

MPAP: Mittlerer pulmonalarterieller Druck [mmHg]

PCWP: Pulmonalkapillärer Verschlussdruck [mmHg]

HMV: Herzminutenvolumen, cardiac output CO [l · min⁻¹]

79,9: Korrekturfaktor zur Umrechnung in dyn · sec · cm⁻⁵

2.3.5.7 Eichung der Meßsysteme der allgemeinen Hämodynamik und Herzfunktion

Die statische Eichung der Messsysteme erfolgte unmittelbar vor dem jeweiligen Versuchsbeginn. Zuvor wurden die Katheter in einem Wasserbad über mindestens drei Stunden auf 38 °C vorgewärmt. Die Druckwandler der jeweiligen Katheter wurden mit dem vorherrschenden Luftdruck kurz vor Implantation als Nullwert abgeglichen. Danach wurde in einer speziell konstruierten mit Wasser gefüllten (38 °C), luftdicht verschliessbaren Eichkammer die Empfindlichkeit beider Messsysteme mit einem elektronischen Kalibriergerät (X-Caliber) durch das Anlegen statischer Drücke kalibriert.

2.3.5.8 Dokumentation der Messdaten der allgemeinen Hämodynamik und Herzfunktion

Die Parameter zur Beschreibung der allgemeinen Hämodynamik und Herzfunktion

wurden während des Versuchs kontinuierlich mit einem Aufnahmegerät (MT 95000, Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, USA) registriert. Die digital umgewandelten Parameter wurden zu jeder Messung für die Dauer von 20 Sekunden aufgezeichnet. Dies ermöglichte die computergestützte Bearbeitung zu einem späteren Zeitpunkt (Personalcomputer, PC 80486; DasyLab, Datalog[®], Mönchengladbach, Deutschland).

2.3.6 Conductance- Methode

2.3.6.1 Funktionsprinzip

Die von Baan und Mitarbeitern in den achtziger Jahren vorgestellte Conductance-Methode⁵ dient zur gleichzeitigen Ableitung linksventrikulären Volumens und linksventrikulären Drucks mittels eines Conductance-Katheters mit integriertem Tip-Manometer (7F, dual field, 12 Elektroden mit 8 oder 10 mm Abstand, Cardiodynamics, Leyden, Niederlande). Damit lassen sich simultan zur Ventrikelaktion Druck-Volumenschleifen, sogenannte Frank-Starling-Kurven darstellen (siehe Abb. 1.4.1). Hiervon lässt sich die Kontraktilität anhand der endsystolischen Elastanz ableiten.

Der über die Aorta in den linken Ventrikel eingeführte Conductance-Katheter wird so eingebracht, dass die distale Elektrode in der Herzspitze und die proximale Elektrode direkt oberhalb der Aortenklappe zu liegen kommt. Über diese beiden Elektroden, sogenannte Stimulationselektroden, wird ein homogenes duales Spannungsfeld im linken Ventrikel aufgebaut ($I = 0.07 \text{ mA}$, AC; 20 kHz; siehe Abb. 2.3.6.1).

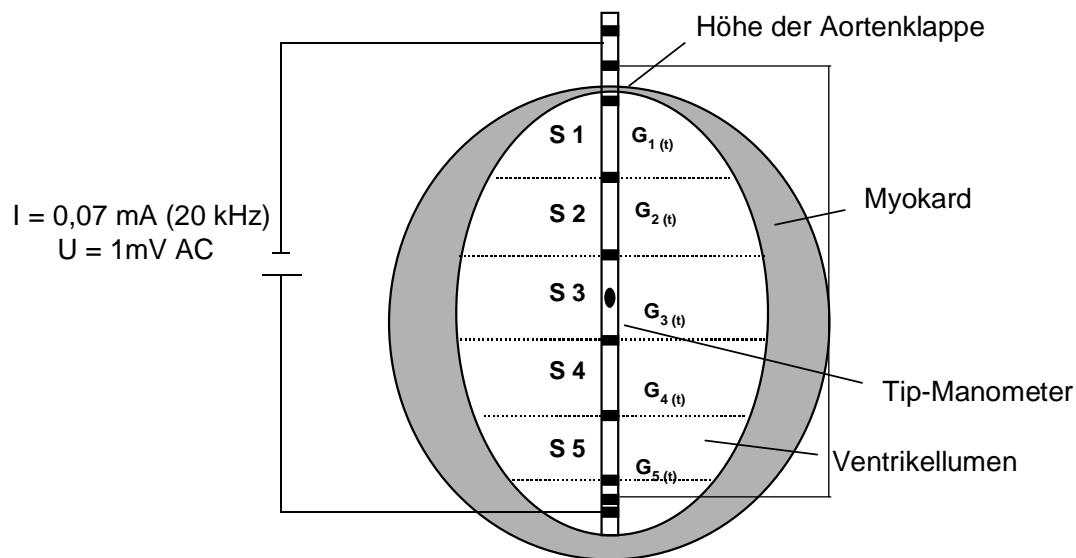


Abbildung 2.3.6.1 : Schematischer Längsschnitt durch einen Herzventrikel mit dem elektrodentragenden Endstück eines Conductance-Katheters

Zwischen den weiteren einzelnen Elektroden (G_1 bis $G_5(t)$), sogenannten Messelektroden, wird die Leitfähigkeit des im Ventrikel befindlichen Blutes gemessen und in absolutes Volumen umgerechnet. Mit dem Tip Manometer in der Mitte des Katheters wird der linksventrikuläre Druck bestimmt.

Durch die Messelektroden lässt sich der linke Ventrikel in fünf Volumensegmente (S1-S5) einteilen, deren Summe dem Gesamtvolumen des Ventrikels entspricht. Durch die Elektroden wird jedoch nicht nur die Leitfähigkeit des Blutes gemessen, sondern auch die des umliegenden Gewebes, was später rechnerisch korrigiert werden muss (s.u.). Mit folgender Gleichung wird aus der gemessenen Leitfähigkeit das linksventrikuläre Volumen berechnet:

$$V_{(t)} = (1/\alpha) \cdot (L^2/\sigma_b) \cdot G_{(t)} - V_c$$

Gleichung 2.3.6.1'

$V_{(t)}$: zeitabhängiges ventrikuläres Volumen

α : Konstante: Korrekturfaktor = $\frac{\text{Schlagvolumen Conductance}}{\text{Schlagvolumen Referenzmethode}}$

L : Elektrodendistanz

σ_b : spezifische Leitfähigkeit des Blutes; Messung in spezieller Küvette

$G_{(t)}$: Gesamtleitfähigkeit die der Conductance Katheter liefert

V_c : Konstante für die Leitfähigkeit des umliegenden Myokards

Die Gesamtleitfähigkeit $G_{(t)}$ ergibt sich aus der Summe der aus den Einzelsegmenten abgeleiteten Leitfähigkeiten (siehe Abbildung 2.3.6.1).

$$G_{(t)} = \sum_{n=1}^5 G_{n(t)} + \frac{1}{3} G_{l(t)}$$

Gleichung 2.3.6.1''

2.3.6.2 Parallelconductance- und V_c - Bestimmung

Die Messelektroden registrieren nur Leitfähigkeitsveränderungen, ohne dabei die Beschaffenheit der unterschiedlichen Strukturen zu berücksichtigen. Daher beinhaltet die durch den Conductance Katheter gemessene Gesamtleitfähigkeit $G_{(t)}$ und das daraus errechnete Volumen nicht nur die Leitfähigkeit des Blutes, sondern auch die Leitfähigkeit des umliegenden Gewebes, welche Parallelconductance $G_{(p)}$ genannt wird. Aus diesem Grund muss die Leitfähigkeit des umliegenden Gewebes bestimmt und das daraus resultierende Volumen (V_c) vom Gesamtvolumen $V_{(t)}$ abgezogen werden (siehe Gleichung 2.3.6.1').

Zur Bestimmung der Parallelconductance wurde wie folgend vorgegangen: in das distale Lumen des Pulmonalkatheters werden 5 ml NaCl-Lösung (20%) injiziert. Zur

gleichen Zeit werden die sich dadurch verändernden Ventrikelvolumina im Verlauf mehrerer Herzaktionen aufgezeichnet. Daraus ergibt sich folgendes Bild:

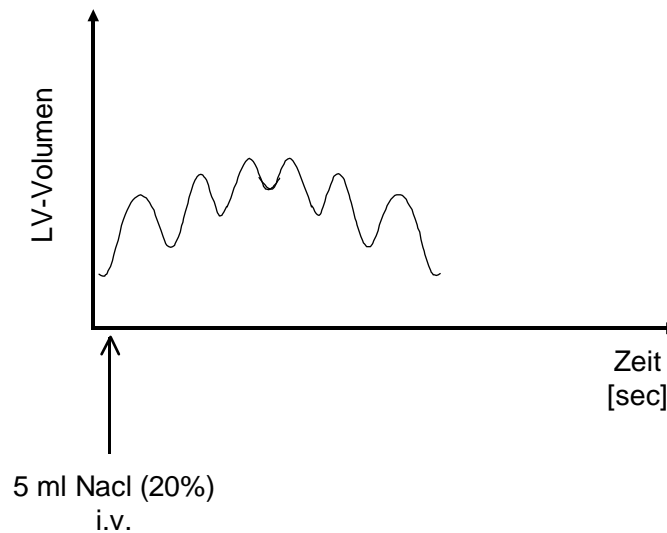


Abbildung 2.3.6.2 a: schematisierte Änderung des Ventrikelvolumens über die Zeit nach Injektion von 5ml NaCl (20%)

Die maximalen Volumina (V_{\max}) und die minimalen Volumina (V_{\min}) werden in ein Koordinatensystem eingetragen (siehe unten) und jeweils eine Regressionsgerade durch die Punkte gelegt. Es ergibt sich also eine Gerade mit der Steigung $m_{V_{\max}}$ und eine mit der Steigung $m_{V_{\min}}$. Definiert man das Schlagvolumen (SV) als $V_{\max} - V_{\min}$, so ergeben sich für die jeweils zusammengehörigen Punkte bestimmte Werte für das Schlagvolumen auf der x-Achse. Die entsprechenden Ventrikelvolumina können auf der y-Achse abgelesen werden. Der Schnittpunkt beider Regressionsgeraden mit der y-Achse ist das theoretische Schlagvolumen 0. Der zugehörige Abschnitt auf der y-Achse kann also als das zusätzlich gemessene Volumen betrachtet werden und ergibt somit V_c (siehe Abb.: 2.3.6.2 b):

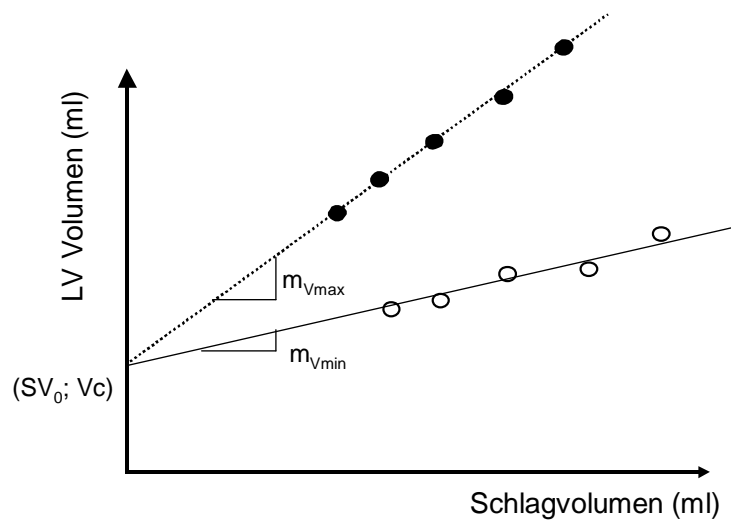


Abbildung 2.3.6.2 b: Die beiden Regressionsgeraden schneiden die y-Achse am Punkt $(SV_0; Vc)$

2.3.6.3 Messung der Kontraktilität (E_{es})

Eine objektive Messung der Kontraktilität ist nur mit einer möglichst Vor- und Nachlastunabhängigen Methode möglich, die also unabhängig vom „Frank-Starling-Mechanismus“ ist. Die Bestimmung der E_{es} mit der Conductance-Methode erfüllt diese Voraussetzung. Mit dieser Methode wird die Herzaktion als die gezeigte Druck-Volumen-Schleife (siehe Einleitung) abgeleitet. Am Ende der Systole befindet sich der endsystolische Punkt. Dieser wird mit dem Conductance-Programm mathematisch festgelegt. Eine Verschiebung des endsystolischen Punktes nach links oben wäre sowohl durch den Frank-Starling-Mechanismus als auch durch eine tatsächliche Kontraktilitätserhöhung zu erklären. Um eine Kontraktilitätserhöhung unabhängig von der Vor- und Nachlast des Herzens zu messen und in der Folge vom

„Frank-Starling-Mechanismus“, setzt man die Technik der Vorlastreduktion ein⁵. Hierzu wird mit einem Ballonkatheter (Fogarty® Occlusion Katheter 8/22 F, Baxter Healthcare Corp., Irvine, CA, USA) die Vena cava inferior der Versuchstiere kurzzeitig okkludiert und dadurch die Vorlast des Herzen reduziert. Mit abnehmender diastolischer Füllung werden die Druck-Volumen-Schleifen kleiner und schieben sich nach links. Legt man eine Verbindungslinie durch die endsystolischen Punkte, so ergibt diese im Idealfall eine Gerade, welche die endsystolische Druckvolumenbeziehung (ESPVR) darstellt. Im Zustand erhöhter Kontraktilität oder auch positiver Inotropie, verschieben sich die endsystolischen Punkte nach links oben, wodurch die Gerade steiler wird. Die Steigung dieser Geraden wird als endsystolische Elastanz (E_{es}) bezeichnet. Hervorgehend aus den genannten Erläuterungen ist diese ein weitgehend lastunabhängiges Maß für Kontraktilität.

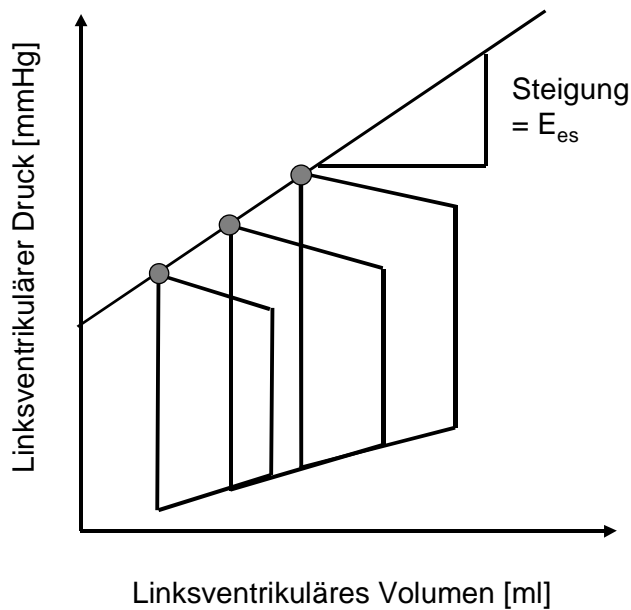


Abb. 2.3.6.3 a: Druck-Volumen-Schleife während Vorlastreduktion

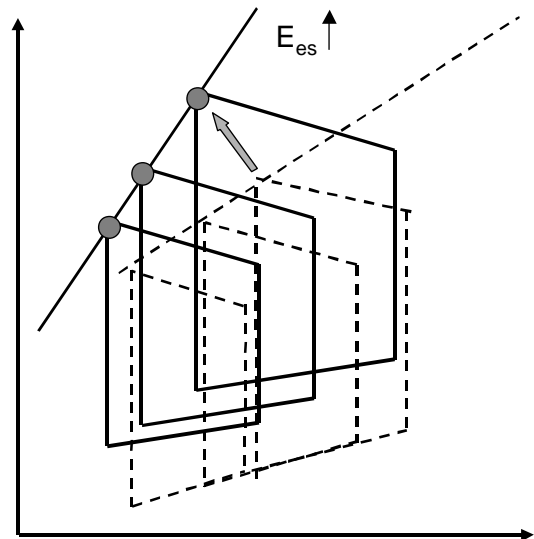


Abb. 2.3.6.3 b: Druck-Volumen-Schleife während Vorlastreduktion bei verbesserter Kontraktilität: die enddiastolischen Punkte sind nach links oben verschoben. Die Steigung der Geraden nimmt zu: die E_{es} steigt.

2.3.6.4 Messung der globalen diastolischen Funktion

Ähnlich dem Kontraktilitätsparameter E_{es} lässt sich auch der Messparameter der globalen diastolischen Funktion, also der Fähigkeit des Ventrikels zur Füllung und Dehnung, bestimmen. Legt man eine Gerade durch die enddiastolischen Punkte der Druckvolumenschleifen, so erhält man die Steigung der Geraden, die enddiastolische Compliance C_{ed} , welche die weitgehend lastunabhängige globale diastolische Funktion des Herzmuskels angibt.

Eine verschlechterte diastolische Funktion äußert sich darin, daß sich der Ventrikel bei einem höheren Druckanstieg schlechter füllt. Die Steigung der Geraden erhöht sich und die enddiastolische Druckvolumenbeziehung steigt.

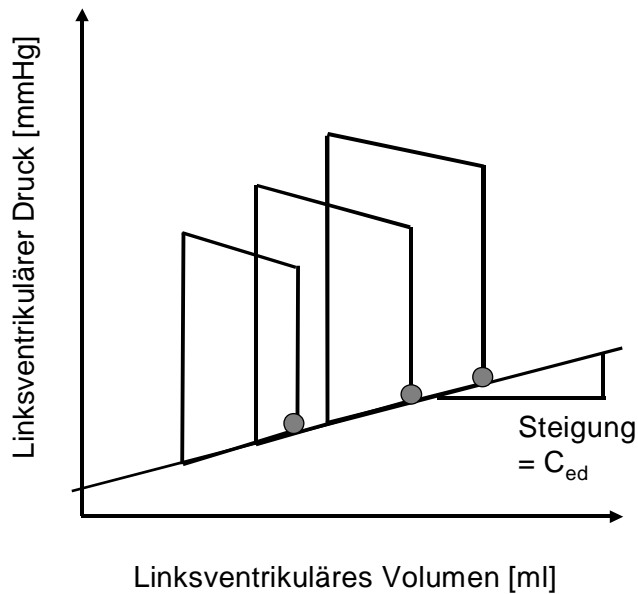


Abb. 2.3.6.4 a: Druck-Volumen-Schleife während Vorlastreduktion

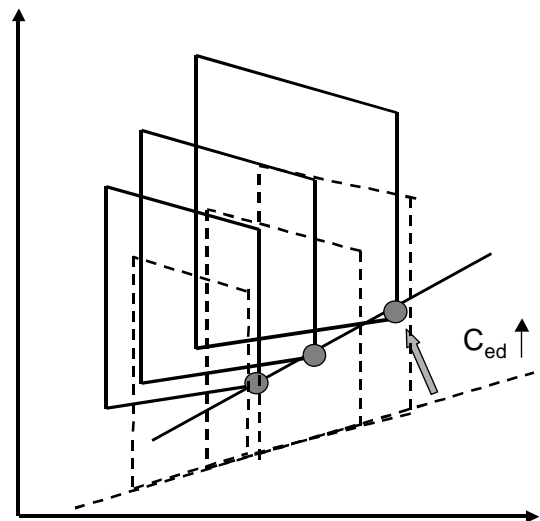


Abb. 2.3.6.4 b: Druck-Volumen-Schleife während Vorlastreduktion bei verschlechterter diastolischer Funktion:
die enddiastolischen Punkte sind nach links oben verschoben. Die Steigung der Geraden nimmt zu: die C_{ed} steigt.

2.3.6.5 Vorlastreduktion durch Lastwechselmanöver

Das bereits erwähnte Prinzip der Vorlastreduktion wird als sogenanntes Lastwechselmanöver bezeichnet. Hierzu wurde folgendermaßen vorgegangen: zum Ausschluss möglicher Einflüsse thorakaler Druckschwankungen auf Vor- und Nachlast wurde das Versuchstier zunächst vorübergehend kurz von der Beatmung diskonnektiert. Anschliessend wurde der in der Vena cava inferior platzierte Ballonkatheter vorsichtig gefüllt (5 – 10 ml NaCl; 0.9%), wodurch sich der Zufluss zum rechten Herzen und konsekutiv zum linken Herzen reduzierte. Gleichzeitig wurde die Datenaufzeichnung gestartet. Bei einem Anstieg der Herzfrequenz 10% über den Ausgangswert vor Lastwechsel, einem Absinken des aortalen Blutdrucks auf kritische Werte oder Auftreten von Herzrhythmusstörungen, wurde der Ballon

deflatiert und damit der Lastwechsel beendet. Im Anschluss an einen Lastwechsel erfolgte eine erste Datenkontrolle und nach ausreichender Erholungsphase der Tiere von mindestens 5 Minuten gegebenenfalls ein erneutes Lastwechselmanöver. Wurden mehrere Lastwechsel durchgeführt, ging jeweils der Lastwechsel mit dem größten Korrelationskoeffizient ($R > 0,95$) in die Auswertung der Ergebnisse ein.

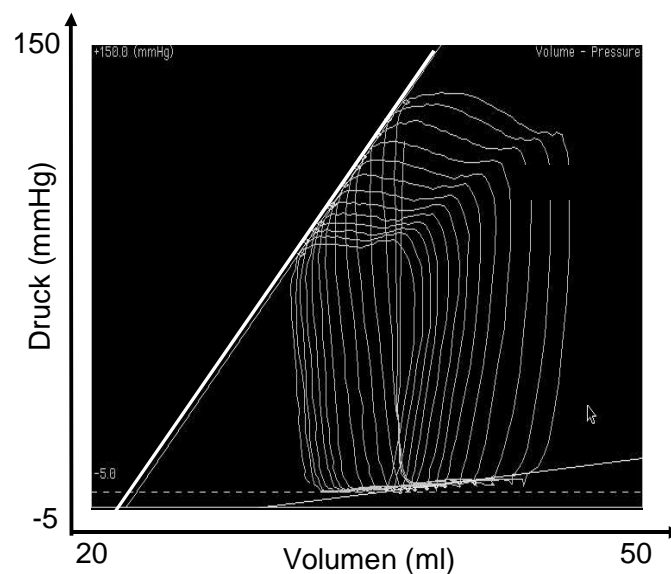


Abb. 2.3.6.5: Lastwechselmanöver in Originalaufzeichnung:
Durch Inflation des Ballonkatheters kommt es zur
Linksverschiebung und Verkleinerung der Schleifen

2.3.6.6 Messung des linksventrikulären Drucks

Mit dem integrierten Tip-Manometer des Conductance-Katheters (siehe auch 2.3.6) wurde der linksventrikuläre Druck (LVP) bestimmt. Der Druckabnehmer war hierzu mit einem speziell dafür konstruierten Modul konnektiert (Sentron, Roden, Niederlande).

2.3.6.7 Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit dp/dt_{\max}

Von der oben beschriebenen linksventrikulären Druckkurve wurde auch die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit dp/dt_{\max} abgeleitet. (siehe Abb. 2.3.6.4). Dieser Parameter ergibt sich aus der ersten Ableitung des Drucks über die Zeit und ist ein Maß der Kontraktilität. Aufgrund des Frank-Starling-Mechanismus verändert sich die dp/dt_{\max} nicht nur allein durch Änderungen der Kontraktilität, sondern auch durch Volumenschwankungen und ist daher lastabhängig.

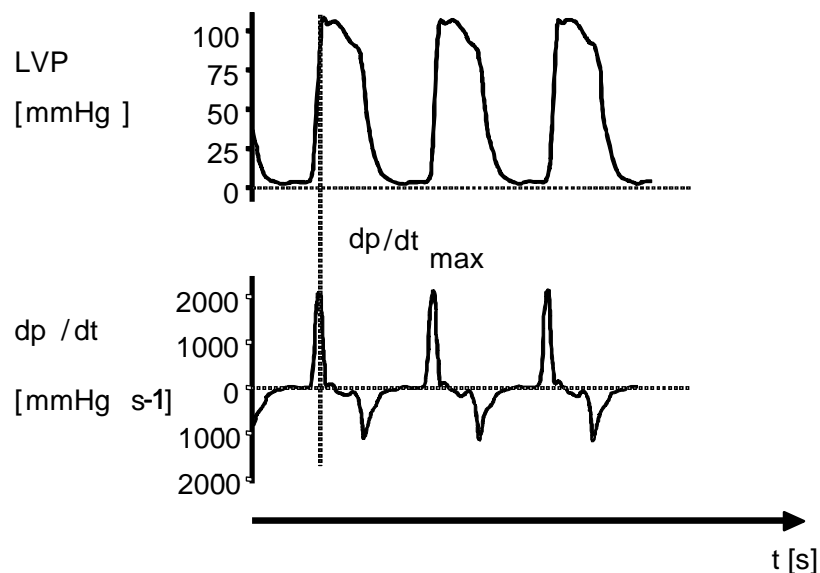


Abb. 2.3.6:7 oben: Druckmessung im linken Ventrikel
unten: erste Ableitung des Drucks über die Zeit: das Maximum entspricht der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit dp/dt_{\max}

Bestimmt man die dp/dt_{\max} zum Zeitpunkt der maximalen Ventrikelfüllung am Ende der diastolischen Füllungsphase, also zum Zeitpunkt V_{\max} , so ergibt sich der Parameter dp/dt_{\max} vs. V_{\max} . Durch Aufstellen dieses Verhältnisses wird die Lastabhängigkeit der dp/dt_{\max} reduziert.

2.3.6.8 Maximale Druckabfallsgeschwindigkeit dp/dt_{\min}

Analog zur maximalen Druckerhöhungsgeschwindigkeit wurde die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit dp/dt_{\min} abgeleitet, welche ein Maß für die isovolämische Relaxationsphase der Diastole darstellt. Um auch hier die Aussagekraft des Parameters zu erhöhen, wurde Verhältnis dp/dt_{\min} vs. V_{\min} aufgestellt. Dabei ist V_{\min} das minimale Ventrikelvolumen, stellt also den Zeitpunkt am Ende der systolischen Auswurfphase dar.

2.3.6.9 Relaxationsparameter rel tau

Ein weiterer von dieser Druckkurve abgeleiteter Parameter ist der Relaxationsparameter tau. Er ist definiert als die Zeit bis 50% der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit dp/dt_{\min} erreicht sind und ist ein Maß für die aktive Phase der Relaxation in der Diastole. Ändert sich die Herzfrequenz, so ändert sich auch die Zeitdauer des Druckabfalls. Um diese Fehlerquelle auszuschliessen berechneten wir das relative tau, das tau im Bezug zur Dauer eines Herzschlags darstellt.

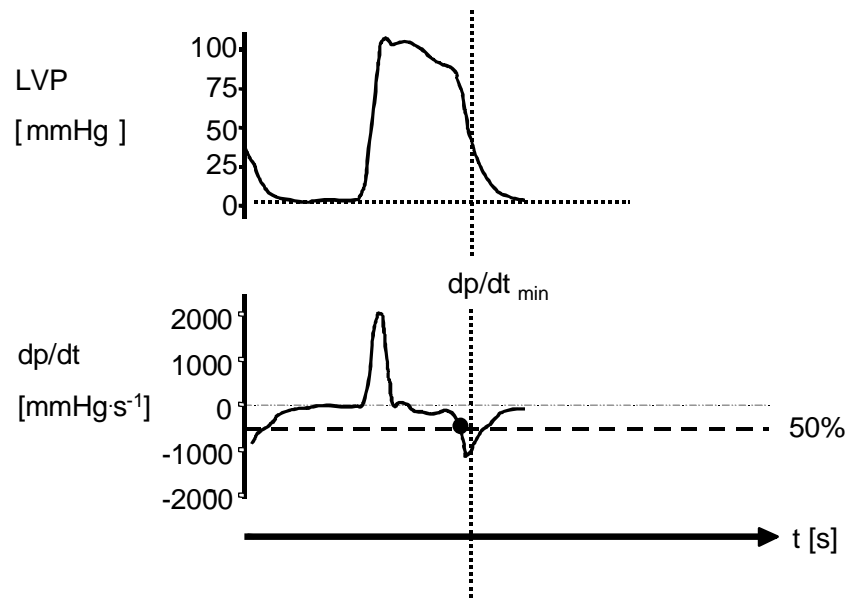


Abb. 2.3.6.9: oben: Druckmessung im linken Ventrikel
 unten: erste Ableitung des Drucks über die Zeit: das Maximum entspricht der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit dp/dt_{\max} und Berechnung rel tau : $\text{tau} / \text{Dauer Herzschlag}$

2.3.6.10 Diastolendauer DFT

Aus den Druck- und Volumenkurven wurde auch die Diastolendauer oder auch diastolische Füllungszeit berechnet. Sie ist definiert als die Zeit von Beginn der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit dp/dt_{\min} bis zum Ende der Diastole.

2.3.6.11 Systolendauer tPFR

Ein weiterer abgeleiteter Parameter ist die Systolendauer tPFR. Sie ist definiert als die Zeit vom Beginn eines Herzzyklus bis zum maximalen Auswurf der Ejektionsfraktion.

2.3.6.12 Erfassung und Auswertung der Conductance Methode

Während des gesamten Versuchs war der Conductance Katheter mit einem Erfassungsgerät (Leycom Sigma-5DF, Cardiodynamics, Rijnsburg, Niederlande) konnektiert. Dies lieferte die Analogsignale, die nach digitaler Umwandlung (A-to-D Converter Board, DAS-1602, Cardiodynamics, Leyden, Niederlande) rechnergestützt (Conduct-PC, Version V 720.1, Cardiodynamics, Leyden, Niederlande) in Volumen umgerechnet wurden. Mit demselben Gerät sowie einer speziellen Küvette wurde zu jedem Messzeitpunkt durch Entnahme 5 ml arteriellen Blutes aus der kanülierten linken Arteria carotis communis die spezifische Leitfähigkeit des Blutes (σ_b) bestimmt und dem Conductance-Erfassungsgerät einprogrammiert.

Über ein Druckmessgerät (Sentron, Roden, Niederlande) lieferte der im Conductance-Katheter integrierte Druckabnehmer das zugehörige Drucksignal. Während der Experimente erfolgte die Datenaufzeichnung mit einer Messfrequenz von 4 ms. Anschließend wurde offline die jeweiligen Messparameter, als auch V_c und der Korrekturfaktor α berechnet. V_c wurde zu jeder Baselinemessung bestimmt und der Wert jeweils für die nächste Messung beibehalten. α wurde wegen erheblicher Schwankungen innerhalb der einzelnen Versuche gleich eins gesetzt, um den Einfluss dieser erheblichen Variabilität der Referenzmethode auf die E_{es} zu vermeiden.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Erfassung und Analyse der erhobenen Daten erfolgte mittels spezieller Software (SAS Softwarepaket; Version 7.01; The SAS Institute, Cary, NY, USA). Zunächst wurde eine explorative Datenanalyse durchgeführt, um Fehler bei der Dateneingabe zu erkennen, die dann korrigiert wurden. Anschliessend wurden für die nach Gabe jeder Substanz erhobenen Parameter zusammen mit Kontrollwerten Paardifferenzen der gemessenen Parameter zu folgenden Zeitpunkten gebildet:

- während Substanzgabe und vor Substanzgabe,
- nach Substanzgabe und vor Substanzgabe.

Da die Mehrheit der Paardifferenzen nicht normalverteilt war, verwendeten wir einen Rangsummentest nach Wilcoxon mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit α von 5%. Bei $p < 0.05$ wurde die zugehörige Nullhypothese (kein Unterschied zwischen den Messzeitpunkten) verworfen.

Dieses statistische Vorgehen wurde von Dr. Maag, Institut für medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie (IBE), LMU, München Deutschland vorgeschlagen.

3 Ergebnisse

3.1 Vorbemerkung und Beispiel der Datendarstellung

Die Wirkung der Test- und Kontrollsubstanzen auf die zu untersuchenden Parameter wurde jeweils mit den Werten der Parameter zum Zeitpunkt ohne Substanzgabe (Baseline) vergleichend beurteilt. Entsprechend dem Versuchsprotokoll wurden die Messungen jeweils vor, während und nach Substanzgabe durchgeführt. Aufgrund der langen Halbwertszeit von Iloprost wurde nach dieser Substanzgabe keine Kontrollmessung durchgeführt.

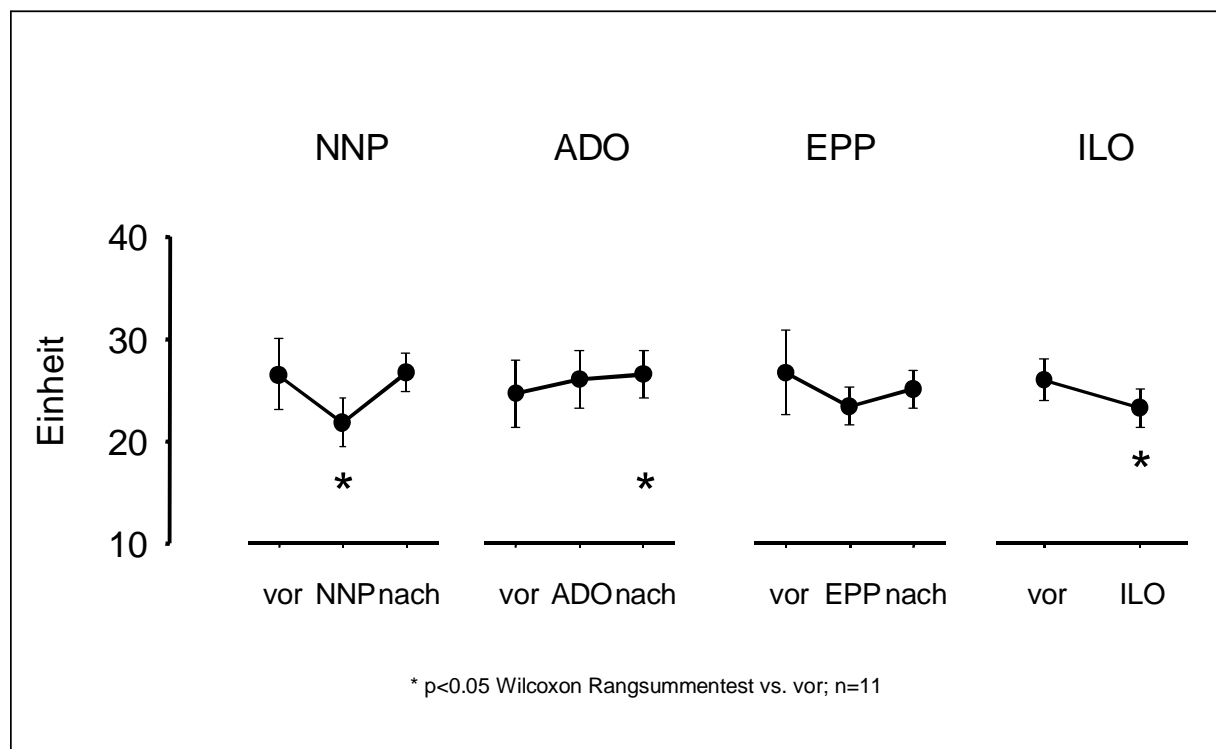


Abb. 3.1: Beispiel der Datendarstellung; [Einheit]

Die Datendarstellung erfolgt in Form von Koordinatensystemen. Auf der Ordinate ist der jeweilige Parameter abgebildet, auf der Abszisse lässt sich von links nach rechts die Wirkung von Natriumnitroprussid (NNP), Adenosin (ADO), Epoprostenol (EPP) und Iloprost (ILO) auf den abgebildeten Parameter ablesen. Der jeweilige Parameter ist vor, während und nach (Ausnahme: Iloprost) Applikation dargestellt. Eine jeweils signifikante Änderung im Vergleich zur Baselinemessung ohne Substanzgabe ist durch einen Stern markiert. Die Ergebnisse sind als Median (Median \pm Semiinterquartilsabstand [$\frac{1}{2}(Q_1-Q_3)$]) dargestellt, welcher der halbierten Differenz der 75. und 25. Perzentile entspricht.

3.2 Hämodynamik

3.2.1 Diastolischer Aortendruck (DAP)

Vorraussetzung für den Vergleich mehrerer Substanzen ist eine äquipotente Dosierung. Um eine äquipotente Dosierung der verwendeten Vasodilatoren zu erreichen, wurde der diastolische Aortendruck (DAP) der Versuchstiere auf ein vergleichbares Niveau von 75% des Ausgangswertes zum Zeitpunkt der Baselinemessung gesenkt.

Der im Mittel tatsächlich erreichte Druck für NNP betrug 74% (von 64.8 ± 11.9 auf 48.1 ± 4.7 mmHg), für ADO 69% (von 62.0 ± 9.6 auf 43.1 ± 5.9 mmHg), für EPP 73% (von 61.5 ± 4.6 auf 45.0 ± 4.9 mmHg) und für ILO 70% (von 56.2 ± 7.2 auf 39.6 ± 7.9 mmHg) des Ausgangswertes. Die hierzu erforderliche Dosierung betrug bei NNP $9.7 \pm 2.5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, bei ADO $106 \pm 35 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, bei EPP $0.18 \pm 0.09 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ und bei ILO $0.28 \pm 0.03 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. Die Reduktion des DAP war nach Absetzen von NNP, ADO und EPP komplett reversibel. Aufgrund der fehlenden Kontrollmessung ist eine Reversibilität dieses Effekts nach Infusion des länger wirksamen ILO in dieser Studie nicht nachweisbar.

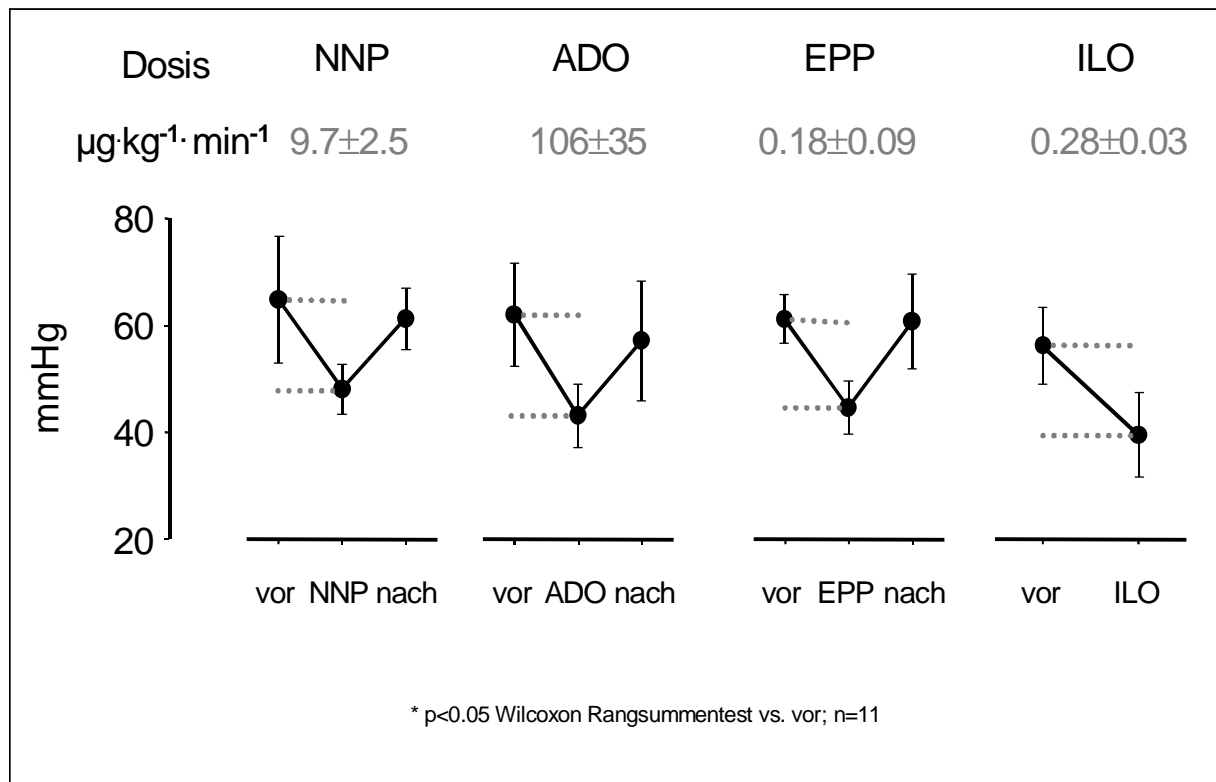


Abb. 3.2.1: diastolischer Aortendruck (DAP); [mmHg]

3.2.2 Systemischer vaskulärer Widerstandsindex (SVRI)

Ursache für die Senkung des DAP war eine unterschiedlich ausgeprägte Reduktion des systemischen vaskulären Widerstandsindex (SVRI) infolge Vasodilatation. Dabei reduzierte NNP den SVRI von 1867 ± 625 auf 1729 ± 594 $\text{dyn}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$, $p < 0.05$ und ADO von 2208 ± 834 auf 1491 ± 431 $\text{dyn}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$, $p < 0.05$. Am ausgeprägtesten war dieser Effekt nach Prostaglandingabe (EPP: von 2402 ± 785 auf 1222 ± 339 $\text{dyn}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$, $p < 0.05$; ILO: von 1828 ± 406 auf 1250 ± 277 $\text{dyn}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$, $p < 0.05$).

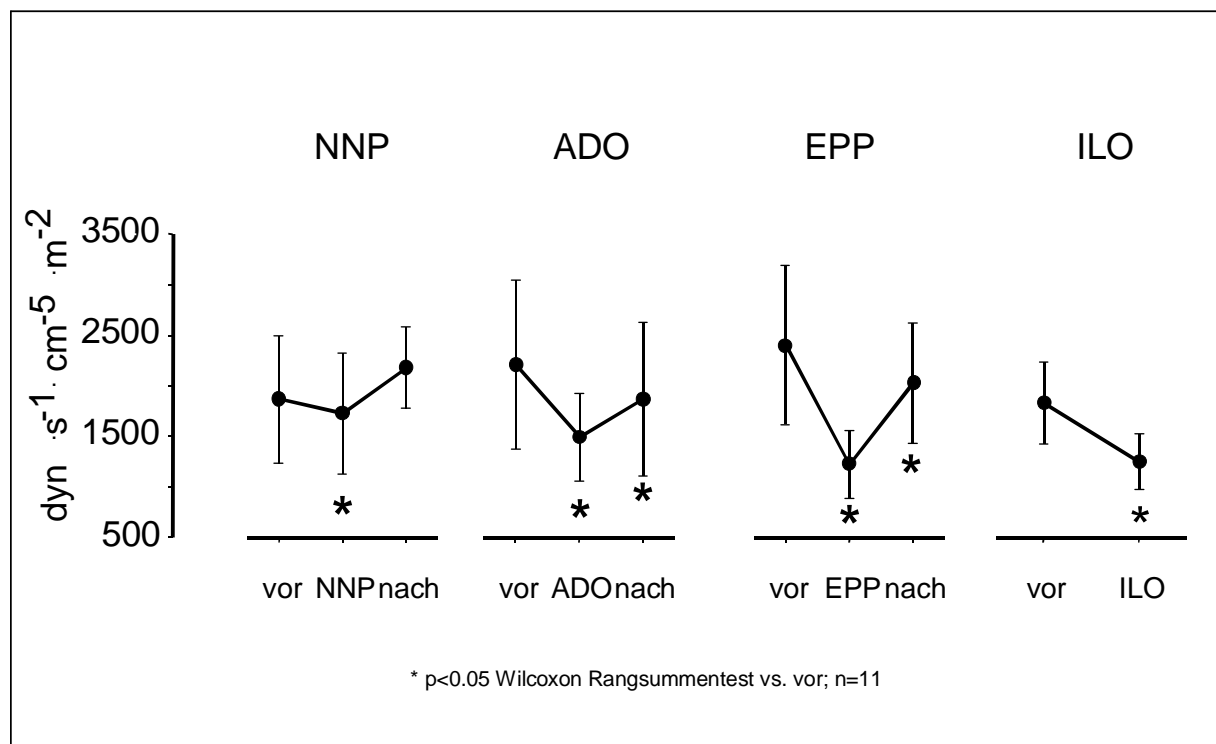


Abb. 3.2.2: Systemischer vaskulärer Widerstandsindex (SVRI); [$\text{dyn}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$]

3.2.3 Herzindex (CI)

Während NNP den Herzindex (CI) der Tiere kaum beeinflusste (4.8 ± 0.5 vs. 4.6 ± 0.5 l·min⁻¹·m⁻²), war die Applikation von ADO, EPP und ILO von einem signifikanten Anstieg des Herzindex gefolgt (ADO: 4.5 ± 0.8 vs. 5.4 ± 0.8 l·min⁻¹·m⁻², $p < 0.05$; EPP: 4.5 ± 0.9 vs. 5.5 ± 1.2 l·min⁻¹·m⁻², $p < 0.05$; ILO: 5.2 ± 1.2 vs. 6.1 ± 0.6 l·min⁻¹·m⁻²; $p < 0.05$). Die Effekte von ADO und EPP waren nicht in vollem Umfang reversibel, auch nach Ausschleichen und Absetzen der Substanzen blieb der Herzindex im Vergleich zu Baselinemessung signifikant erhöht (nach ADO: 5.2 ± 0.9 l·min⁻¹·m⁻², $p < 0.05$; nach EPP: 4.8 ± 1.3 l·min⁻¹·m⁻²; $p < 0.05$)

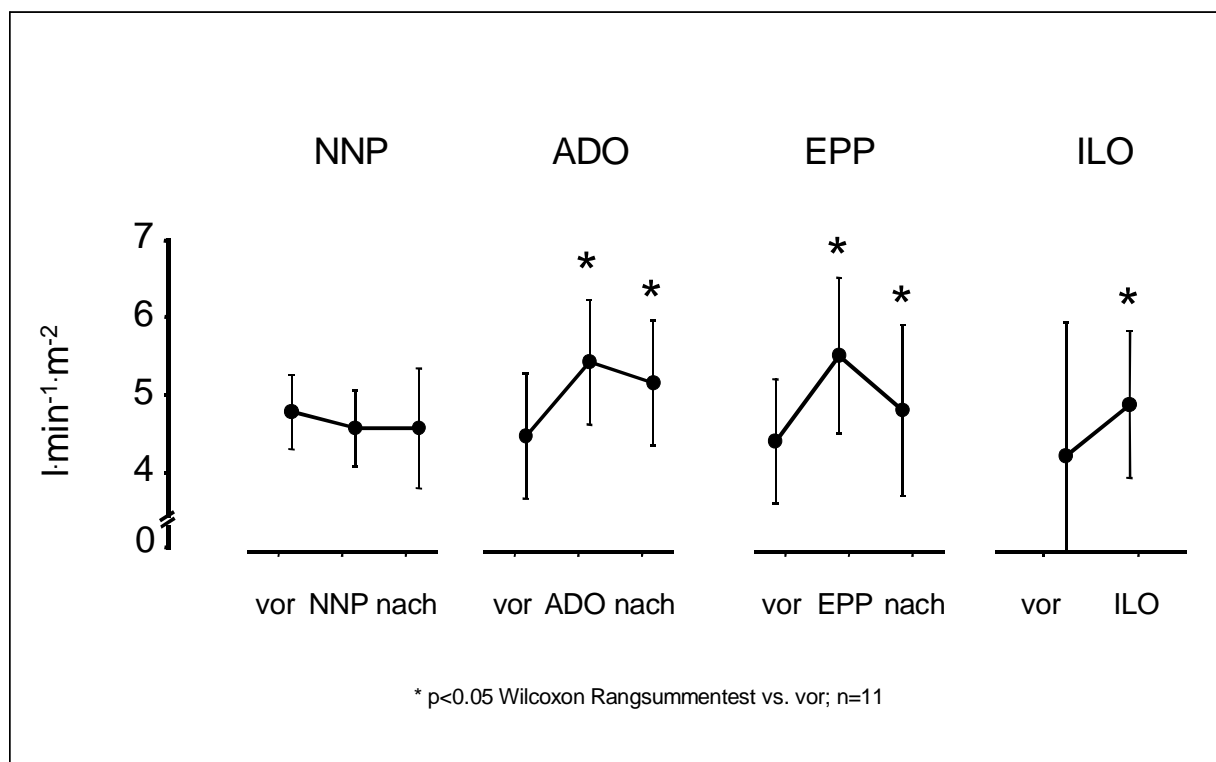


Abb. 3.2.3: Herzindex (CI); [l·min⁻¹·m⁻²]

3.2.4 Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP)

Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP) ist als Vorlastparameter zu betrachten und daher bei der Applikation von Vasodilatoren von Bedeutung. Nach Gabe aller Testsubstanzen war zumindest tendentiell eine reversible Reduktion des LVEDP zu beobachten. Das Signifikanzniveau wurde jedoch nur nach Applikation von NNP und ILO erreicht (NNP: 10 ± 2 vs. 7 ± 2 mmHg, $p < 0.05$; ILO: 12 ± 2 vs. 10 ± 3 mmHg, $p < 0.05$).

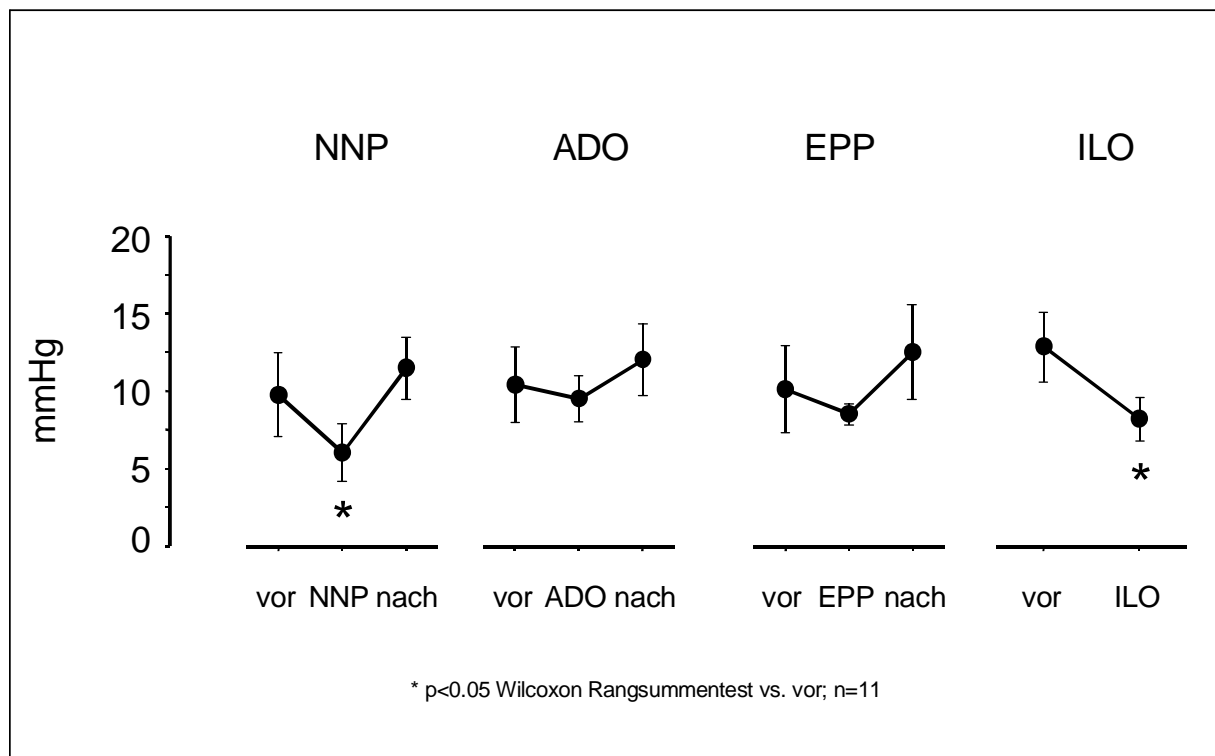


Abb. 3.2.4: Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP); [mmHg]

3.2.5 Mittlerer pulmonalerterieller Blutdruck (PAP)

Der mittlere Pulmonalarteriendruck (PAP) wurde nur durch NNP (26 ± 3 vs. 22 ± 2 mmHg, $p < 0.05$) und ILO (26 ± 2 vs. 23 ± 2 mmHg, $p < 0.05$) signifikant gesenkt.

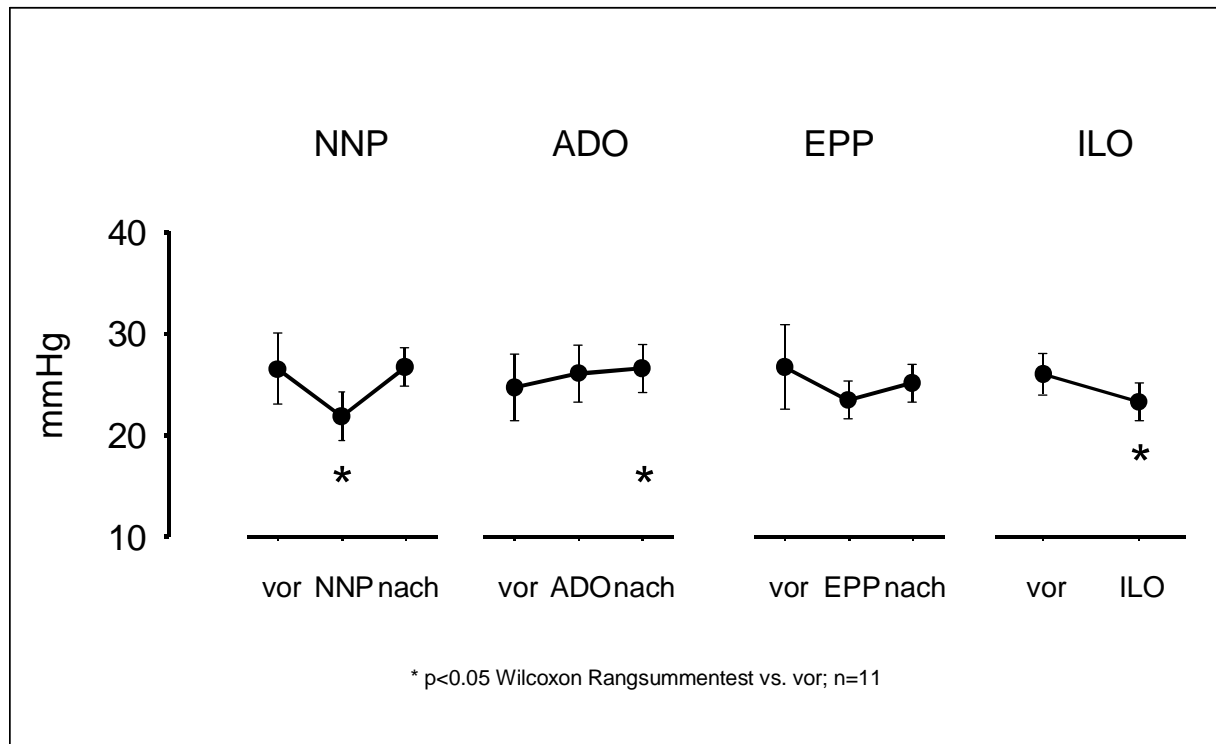


Abb. 3.2.5: Mittlerer pulmonalerterieller Blutdruck (PAP); [mmHg]

3.2.6 Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVRI)

Entsprechend der PAP Senkung reduzierte sich auch der pulmonalvaskuläre Widerstandsindex (PVRI). Statistische Signifikanz erreichte diese Senkung nur unter Prostaglandingabe (EPP: 455 ± 180 vs. 362 ± 132 $\text{dyn}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$, $p < 0.05$; ILO: 338 ± 145 vs. 295 ± 110 $\text{dyn}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^{-2}$, $p < 0.05$).

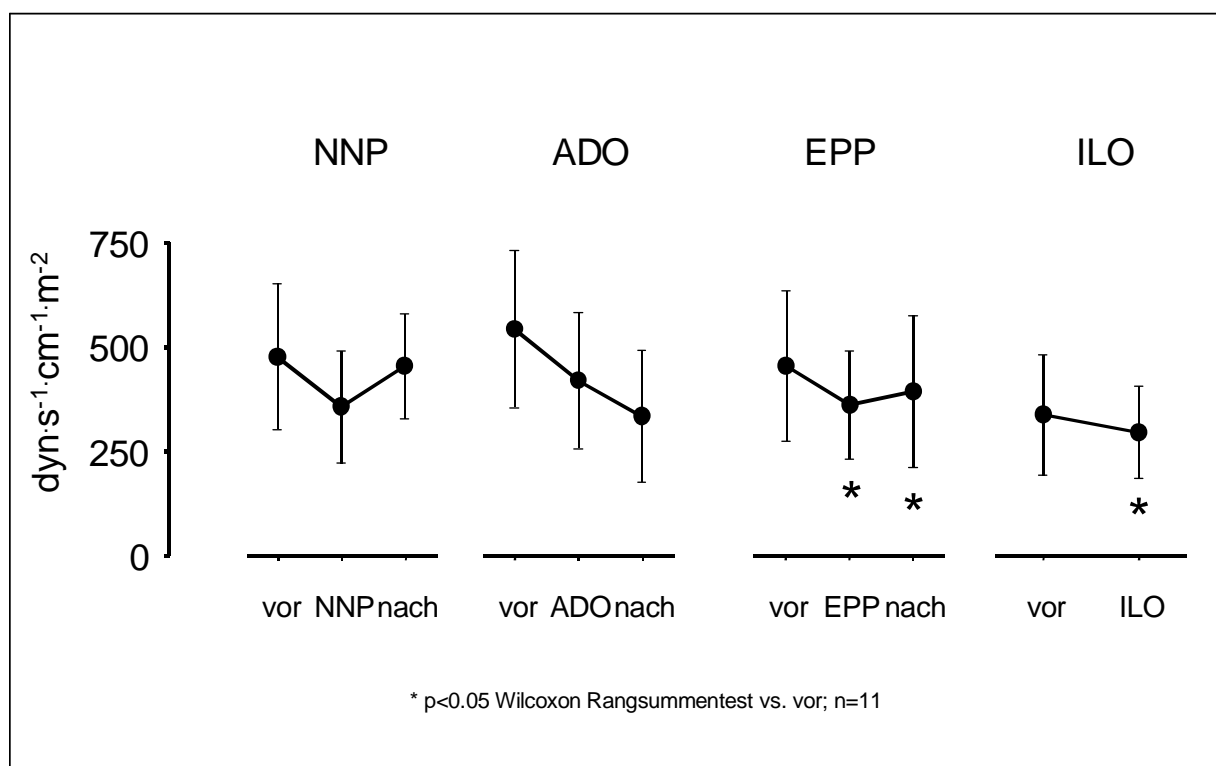


Abb. 3.2.6: Pulmonalvaskulärer Widerstandsindex (PVRI); [$\text{dyn}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$]

3.2.7 Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP)

Der pulmonalkapilläre Verschlussdruck (PCWP) konnte durch Infusion von ILO signifikant gesenkt werden (ILO: 11 ± 3 vs. 9 ± 2 mmHg, $p < 0.05$).

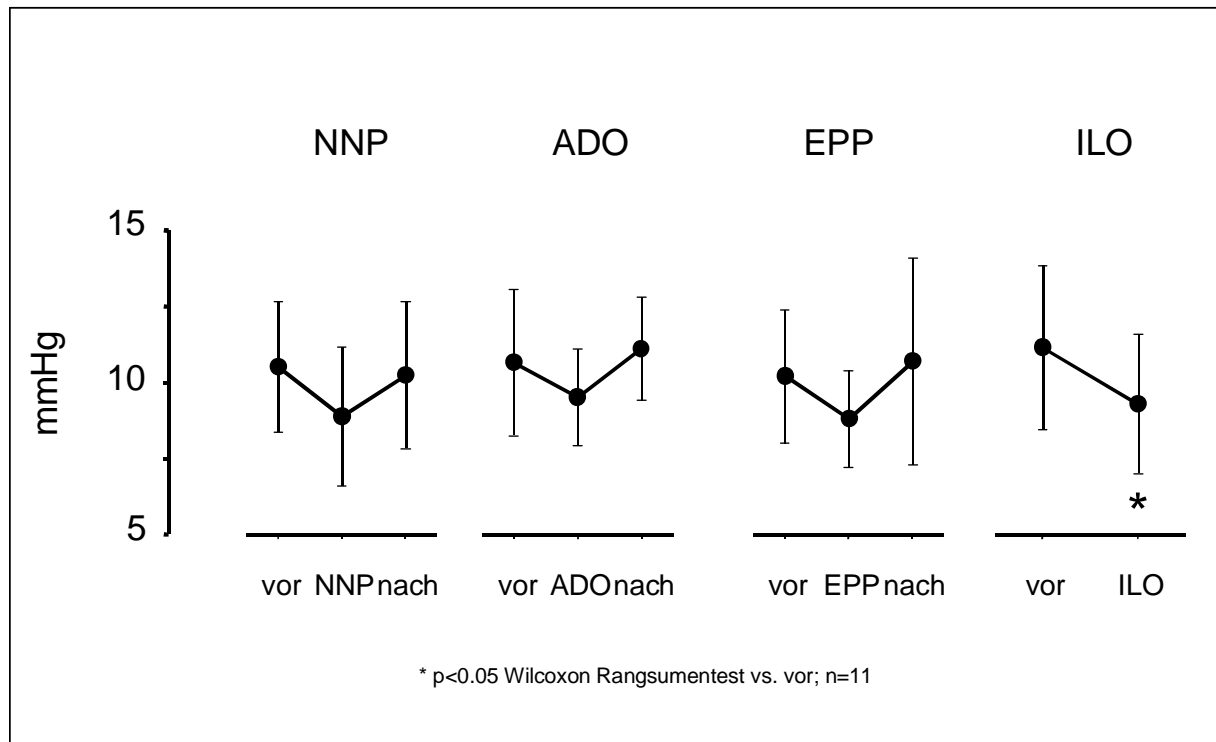


Abb. 3.2.7: Pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP); [mmHg]

3.3 Herzfrequenz und Dauer der Phasen der Herzaktion

3.3.1 Herzfrequenz (HF)

Die Vasodilatation nach Applikation von NNP, EPP und ILO führte reflektorisch zu einer reversiblen Tachykardie (NNP: vor: $124 \pm 9 \text{ min}^{-1}$, während: $164 \pm 23 \text{ min}^{-1}$, $p < 0.05$, nach: $111 \pm 18 \text{ min}^{-1}$; EPP: vor: $107 \pm 21 \text{ min}^{-1}$, während: $155 \pm 21 \text{ min}^{-1}$, $p < 0.05$, nach: $124.7 \pm 15.0 \text{ min}^{-1}$; ILO: vor: $124.8 \pm 20.4 \text{ min}^{-1}$, während: $164 \pm 24 \text{ min}^{-1}$, $p < 0.05$). Dieser Effekt blieb unter ADO aus (ADO: vor: $124 \pm 16 \text{ min}^{-1}$, während: $126 \pm 19 \text{ min}^{-1}$, nach: $126 \pm 19 \text{ min}^{-1}$, $p < 0.05$).

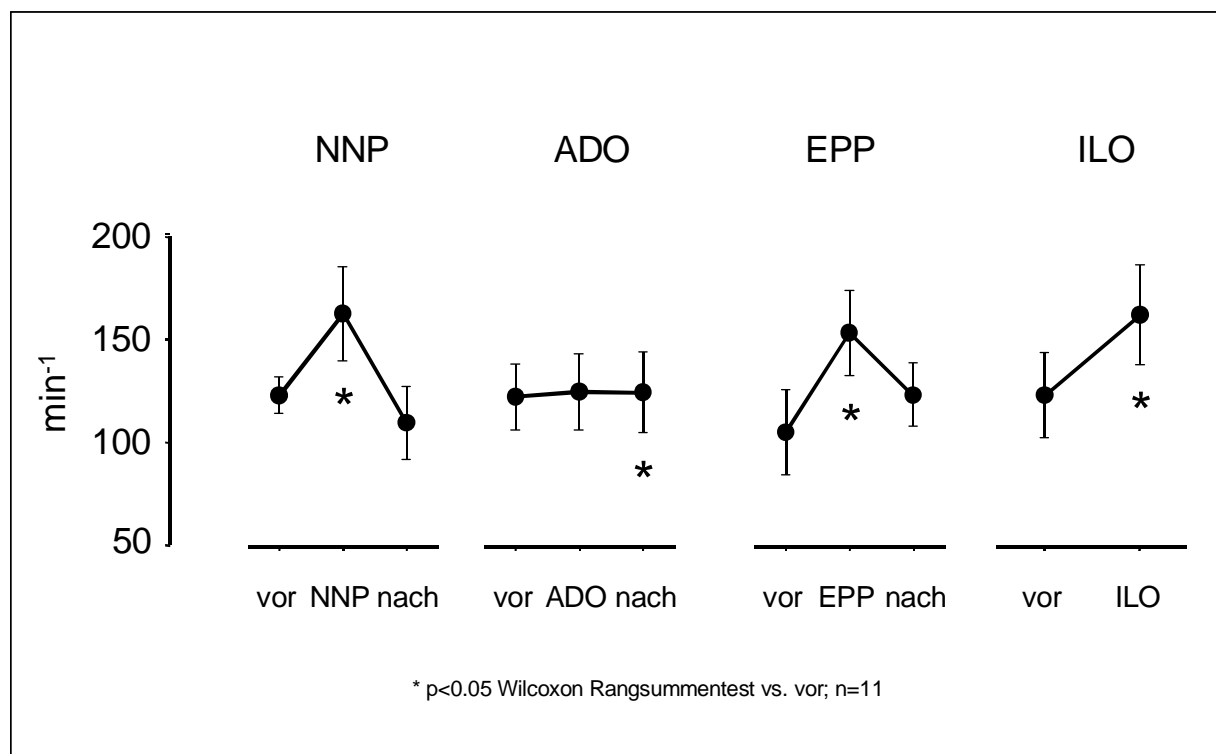


Abb. 3.3.1: Herzfrequenz (HF); [min^{-1}]

3.3.2 Diastolendauer (DFT)

Infolge der durch die Vasodilatation verursachten reflektorischen Tachykardie verkürzte sich die Diastolendauer, oder auch diastolische Füllungszeit DFT signifikant bei NNP (vor: 227 ± 49 ms, während: 149 ± 27 ms, $p < 0.05$; nach: 228 ± 46 ms), EPP (vor: 228 ± 64 ms, während: 154 ± 35 ms, $p < 0.05$; nach: 206 ± 47 ms) und ILO (vor: 204 ± 44 ms, während: 151 ± 20 ms, $p < 0.05$). Entsprechend der ausbleibenden Tachykardie bei Infusion von ADO verkürzte sich die DFT nicht signifikant (vor: 218 ± 29 ms, während: 208 ± 39 ms, nach: 184 ± 43 ms).

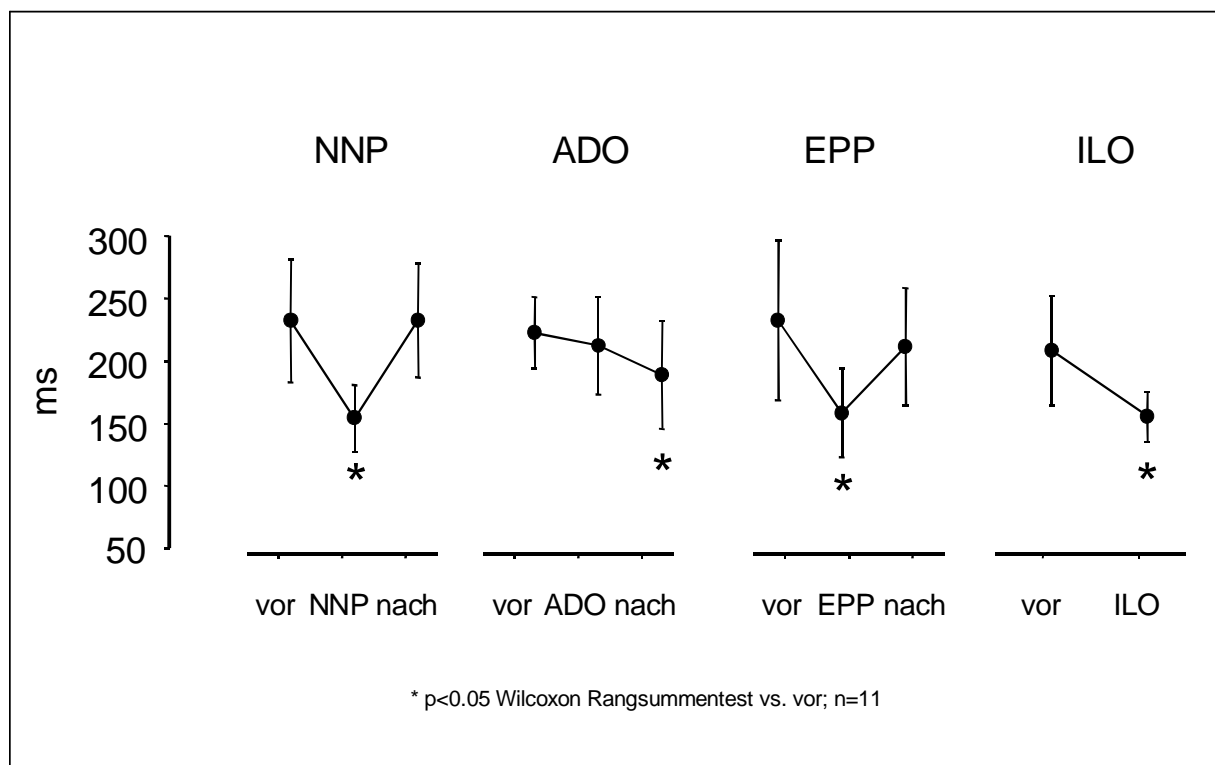


Abb. 3.3.2: Diastolische Füllungszeit (DFT) ; [ms]

3.3.3 Systolendauer (tPER)

Im Gegensatz zur DFT verkürzte neben NNP, EPP und ILO auch ADO die Systolendauer, angegeben als Zeit bis zum maximalen Auswurf tPER, signifikant: NNP: vor: 134 ± 31 ms, während: 106 ± 22 ms, $p < 0.05$; nach: 119 ± 16 ms; ADO: vor: 130 ± 29 ms; während: 104 ± 29 ms, $p < 0.05$; nach: 104 ± 33 ms; EPP: vor: 129 ± 23 ms; während: 97 ± 21 ms, $p < 0.05$; nach: 132 ± 29 ms; ILO: vor: 114 ± 22 ms; während: 111 ± 19 ms, $p < 0.05$.

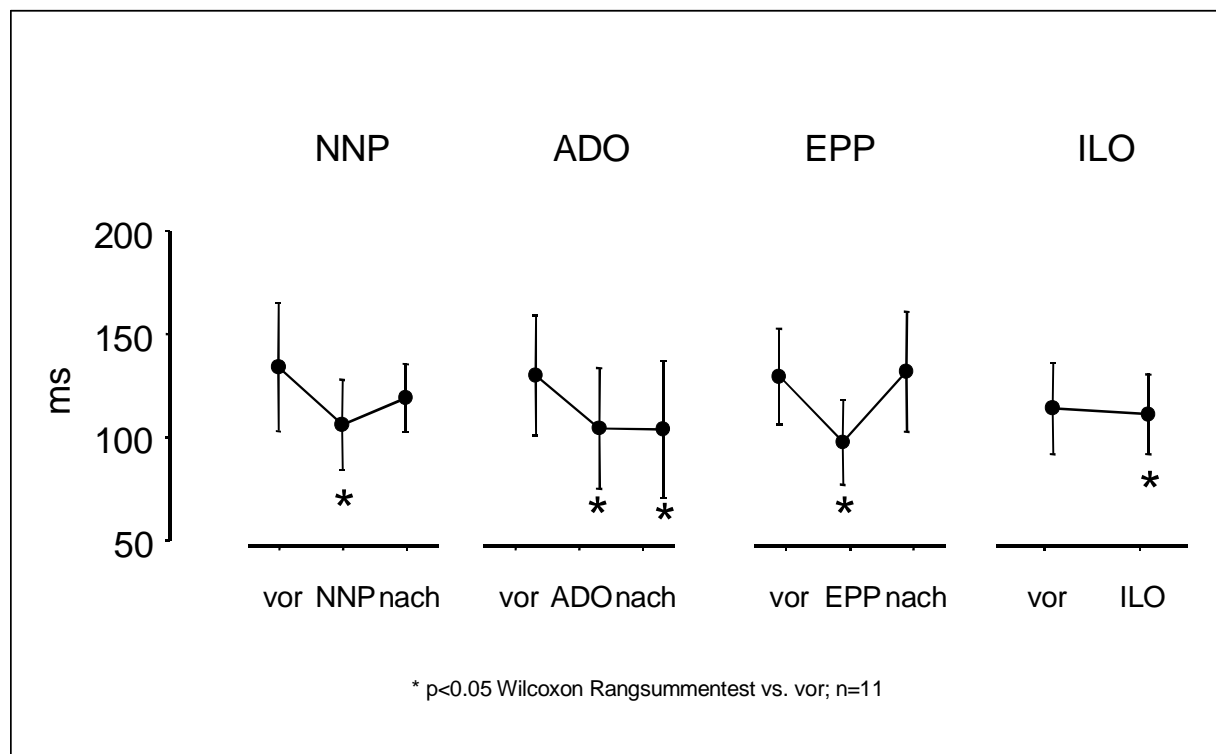


Abb. 3.3.3: Zeit bis zum maximalen Auswurf (tPER); [ms]

3.4. Systolische Herzfunktion

3.4.1 Maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dp/dt_{max})

NNP, ADO und EPP beeinflussten die maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}) nicht, jedoch zeigte sich nach Absetzen von NNP und ADO eine leichte, aber statistisch signifikante Erhöhung (NNP: vor: 1972 ± 686 , während: 1734 ± 519 , nach: $1933 \pm 514 \text{ mmHg}\cdot\text{s}^{-1}$, $p < 0.05$; ADO: vor: 1872 ± 448 , während: 1838 ± 413 , nach: $2419 \pm 748 \text{ mmHg}\cdot\text{s}^{-1}$, $p < 0.05$; EPP: vor: 1933 ± 553 , während: 2007 ± 468 , nach: $1908 \pm 425 \text{ mmHg}\cdot\text{s}^{-1}$).

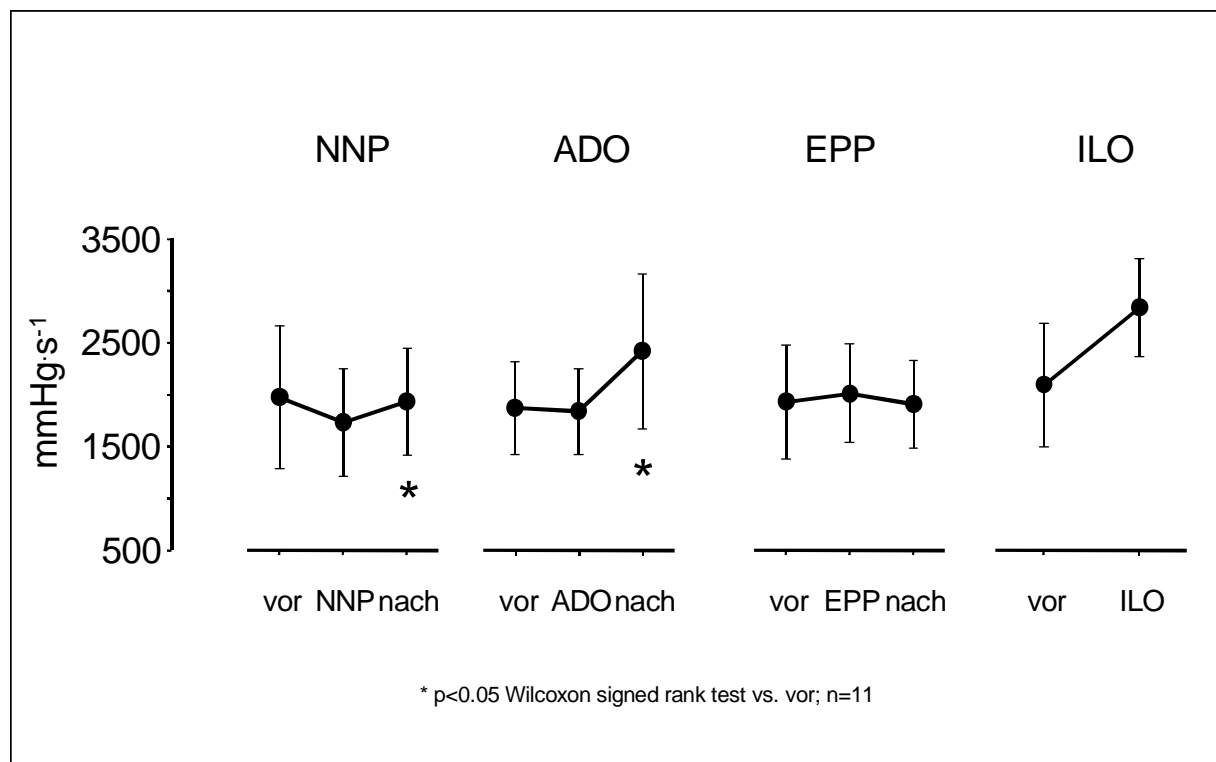


Abb. 3.4.1: dp/dt_{max} ; [mmHg·s⁻¹]

3.4.2 Relation von dp/dt_{\max} und V_{\max} (dp/dt_{\max} vs. V_{\max})

Durch alle Substanzen wurde die Relation von (dp/dt_{\max} vs. V_{\max}) signifikant erhöht.

Am ausgeprägtesten während Prostaglandingabe (EPP, ILO).

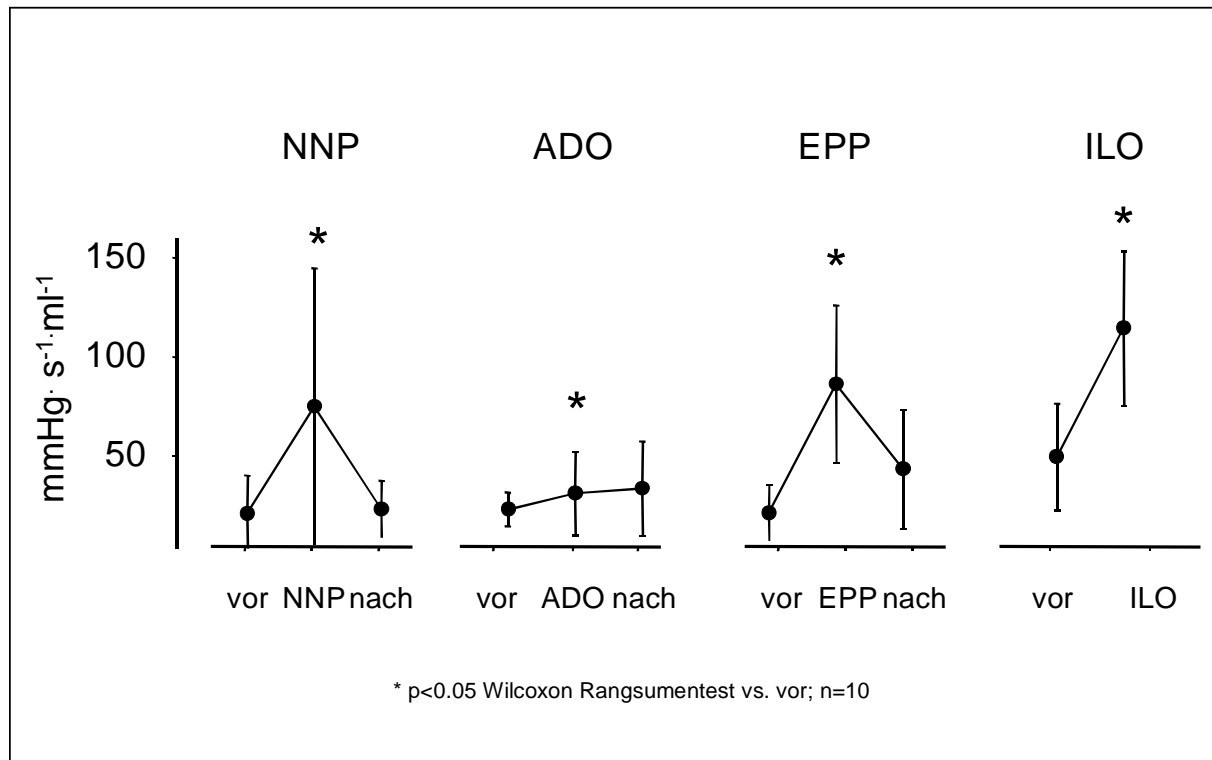


Abb. 3.4.2: Relation von dp/dt_{\max} und V_{\max} (dp/dt_{\max} vs. V_{\max}); [$\text{mmHg} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$]

3.4.3 Endsystolische Elastanz (E_{es})

Im Gegensatz zu den Messungen während Applikation von NNP (vor: 2.8 ± 1.0 , während: 3.3 ± 1.5 , nach: 3.2 ± 0.5 $\text{mmHg}\cdot\text{ml}^{-1}$) und ADO (vor: 2.8 ± 0.5 , während: 3.3 ± 1.0 , nach: 2.5 ± 1.0 $\text{mmHg}\cdot\text{ml}^{-1}$) wurde die endsystolische Elastanz (E_{es}) während Infusion von EPP (vor: 3.1 ± 0.8 , während: 4.9 ± 1.3 , $p < 0.05$, nach: 3.4 ± 1.0 $\text{mmHg}\cdot\text{ml}^{-1}$) und ILO (vor: 3.5 ± 1.3 , während: 5.9 ± 1.4 $\text{mmHg}\cdot\text{ml}^{-1}$, $p < 0.05$) ausgeprägt gesteigert. Nach Absetzen des kurzwirksamen Prostaglandins EPP war diese Steigerung der E_{es} komplett reversibel.

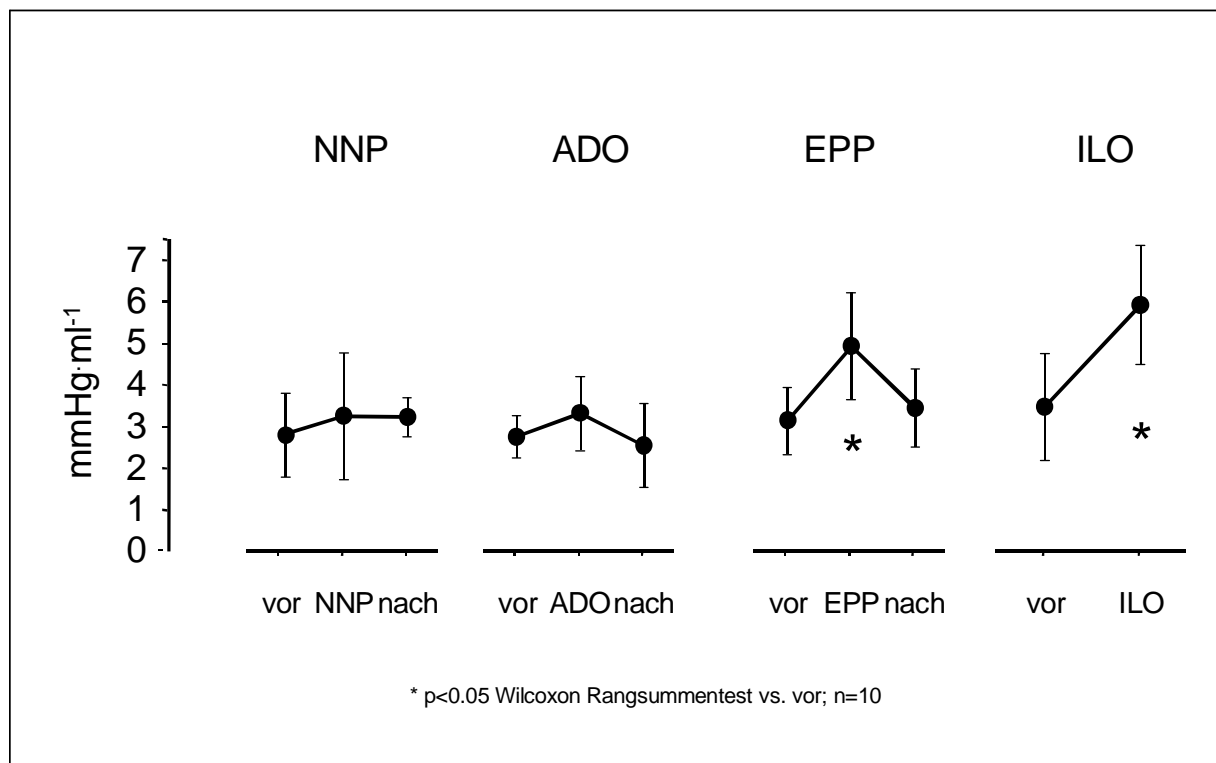


Abb. 3.4.3: Endsystolische Elastanz (E_{es}); [$\text{mmHg}\cdot\text{ml}^{-1}$]

3.4.4 Einzelfalldarstellung der endsystolischen Elastance (E_{es})

Die Einzelfalldarstellung zeigt ein typisches Lastwechselmanöver zur Baseline und während ILO - Infusion. Die Druck-Volumenschleifen sind bei Vasodilatation bereits initial kleiner und nach links verschoben. Durch das Lastwechselmanöver kommt es abermals zur Linksverschiebung und Verkleinerung der Schleifen. Die resultierende Gerade durch die endsystolischen Punkte, ist im Vergleich zur Geraden zur Baselinemessung steiler, d.h. die E_{es} steigt. In diesem Beispiel von 3.82 auf 5.75 mmHg·ml⁻¹.

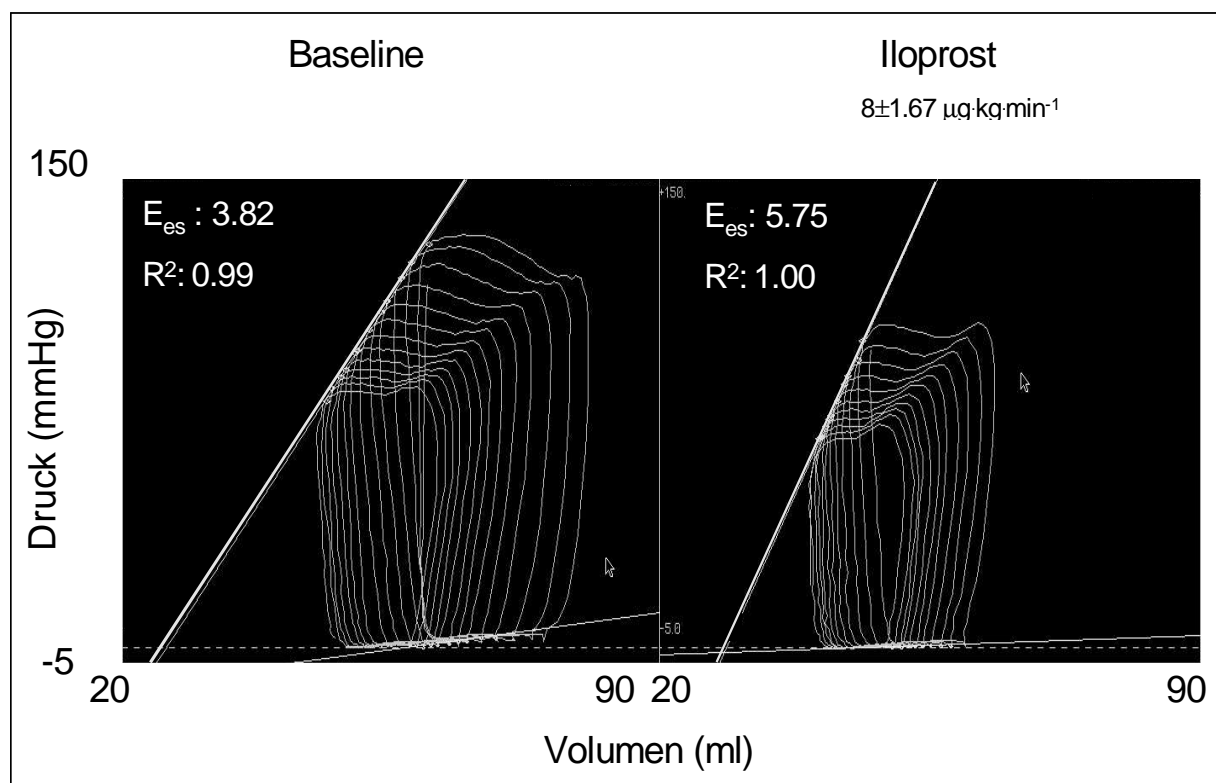


Abb. 3.4.4: E_{es} vor und während Iloprost

3.5. Diastolische Herzfunktion

3.5.1 Maximale Druckabfallgeschwindigkeit (dp/dt_{\min})

Die maximale Druckabfallgeschwindigkeit dp/dt_{\min} sank signifikant während der Infusion von NNP und ADO (NNP: $-1950 \pm 497 \text{ mmHg}^{-1}$ vs. $-1293 \pm 119 \text{ mmHg}^{-1}$, $p < 0.05$; ADO: $-2015 \pm 400 \text{ mmHg}^{-1}$ vs. $-1345 \pm 263 \text{ mmHg}^{-1}$, $p < 0.05$). Die Prostaglandin I_2 Analoga EPP und ILO veränderten die dp/dt_{\min} nicht.

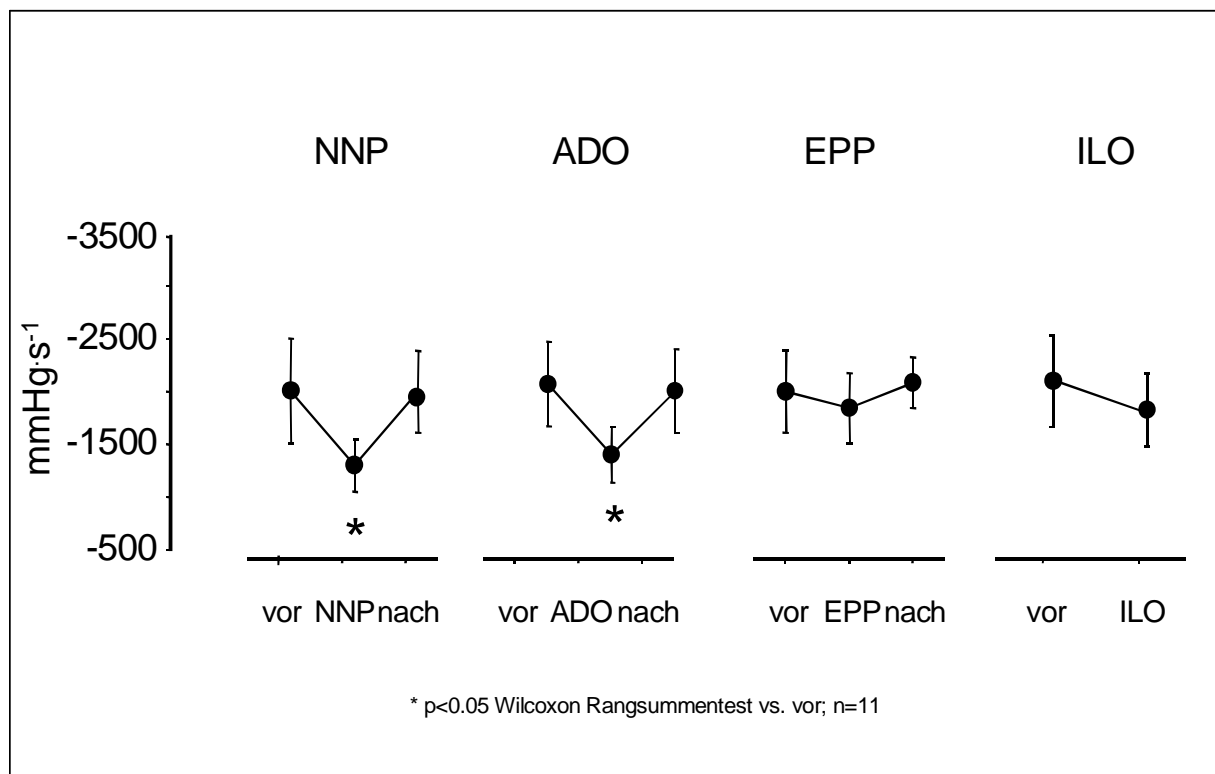


Abb. 3.5.1: dp/dt_{\min} [$\text{mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$]

3.5.2 Relation von dp/dt_{\min} und V_{\min} (dp/dt_{\min} vs. V_{\min})

Keine der applizierten Substanzen änderte die Relation von dp/dt_{\min} und V_{\min} (dp/dt_{\min} vs. V_{\min}) signifikant: NNP: vor: -89 ± 26 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$, während: -85 ± 37 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$, nach: -91 ± 25 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$, ADO: vor: -65 ± 40 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$, während: -45 ± 41 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$, nach: -89 ± 48 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$; EPP: vor: -86 ± 25 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$, während: -109 ± 43 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$, nach: -114 ± 43 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$; ILO: vor: -114 ± 36 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$, während: -124 ± 41 $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$).

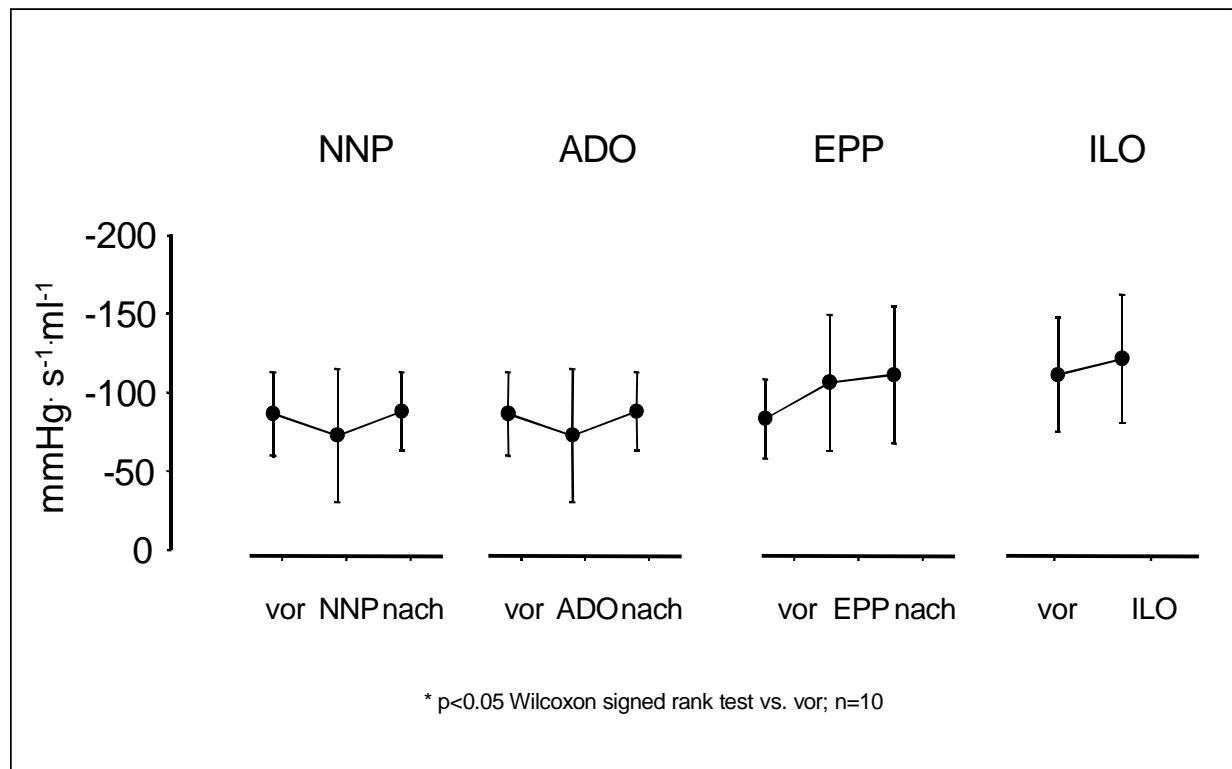


Abb. 3.5.2: Relation von dp/dt_{\min} und V_{\min} (dp/dt_{\min} vs. V_{\min}); [$\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$]

3.5.3 Relatives tau

Die Infusion von NNP, EPP und ILO erhöhte die relative Relaxationszeitkonstante tau (NNP: 5.3 ± 0.8 % vs. 6.1 ± 0.8 %, $p < 0.05$; EPP: 5.0 ± 0.4 % vs. 5.9 ± 0.5 %, $p < 0.05$; ILO: 5.0 ± 0.5 % vs. 5.4 ± 0.4 %; $p < 0.05$). Nach Absetzen von NNP und EPP wurden wieder Ausgangswerte erreicht (NNP: 5.0 ± 0.3 %; EPP: 5.1 ± 0.4 %). ADO hatte keinen Einfluß auf diesen Parameter (vor: 5.1 ± 0.5 %, während: 5.1 ± 0.5 %, nach: 5.3 ± 0.6 %).

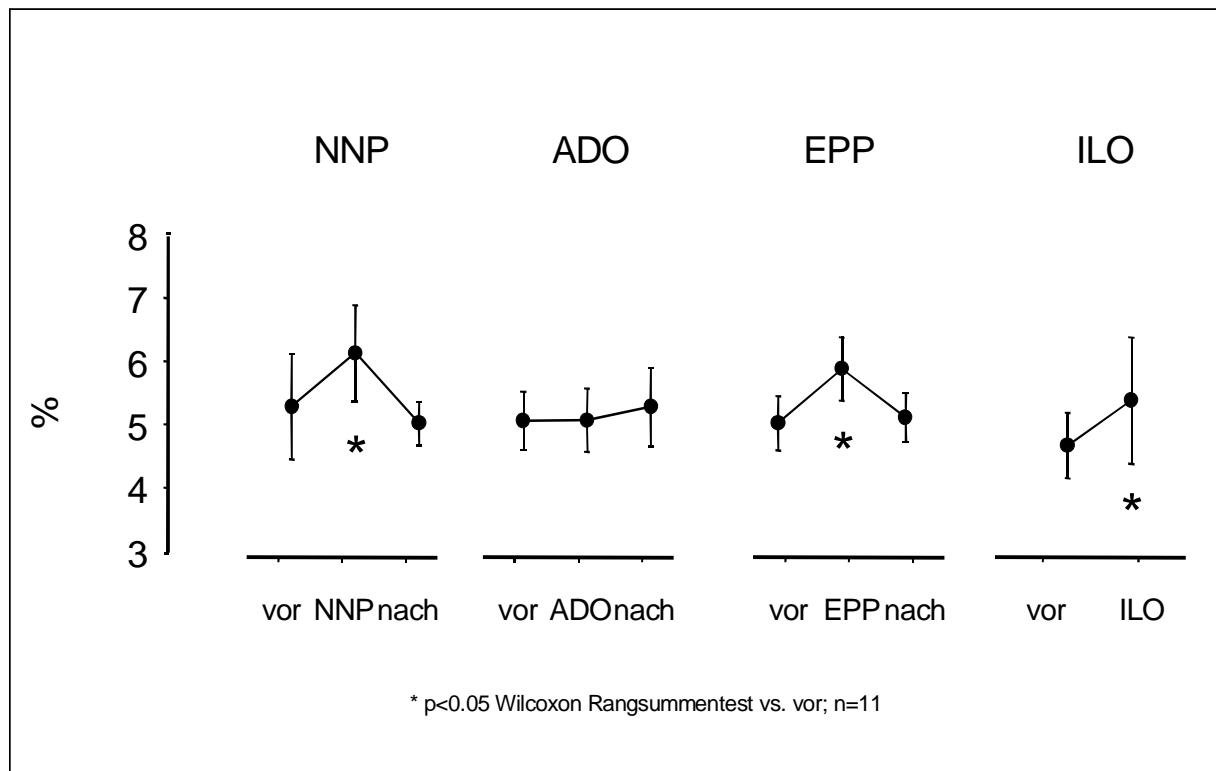


Abb. 3.5.3: Relatives tau; [%]

3.5.4 Einzelfalldarstellung der enddiastolischen Compliance (C_{ed})

Diese Einzelfalldarstellung der enddiastolischen Compliance C_{ed} zeigt ein typisches Lastwechselmanöver zur Baseline und während ILO – Infusion. Die enddiastolische Compliance C_{ed} wird dargestellt als Steigung der Regressionsgeraden durch die enddiastolischen Druck-Volumenschleifen. In diesem Beispiel ist diese Gerade unter ILO-Infusion im Vergleich zur Baselinemessung flacher. Eine Abnahme der C_{ed} bedeutet eine verbesserte globale diastolische Funktion. In diesem Einzelfallbeispiel senkt ILO die C_{ed} von 0.24 auf 0.11 mmHg· ml⁻¹. In der Gesamtheit der Ergebnisse zeigte dieser Effekt jedoch keine statistische Signifikanz.

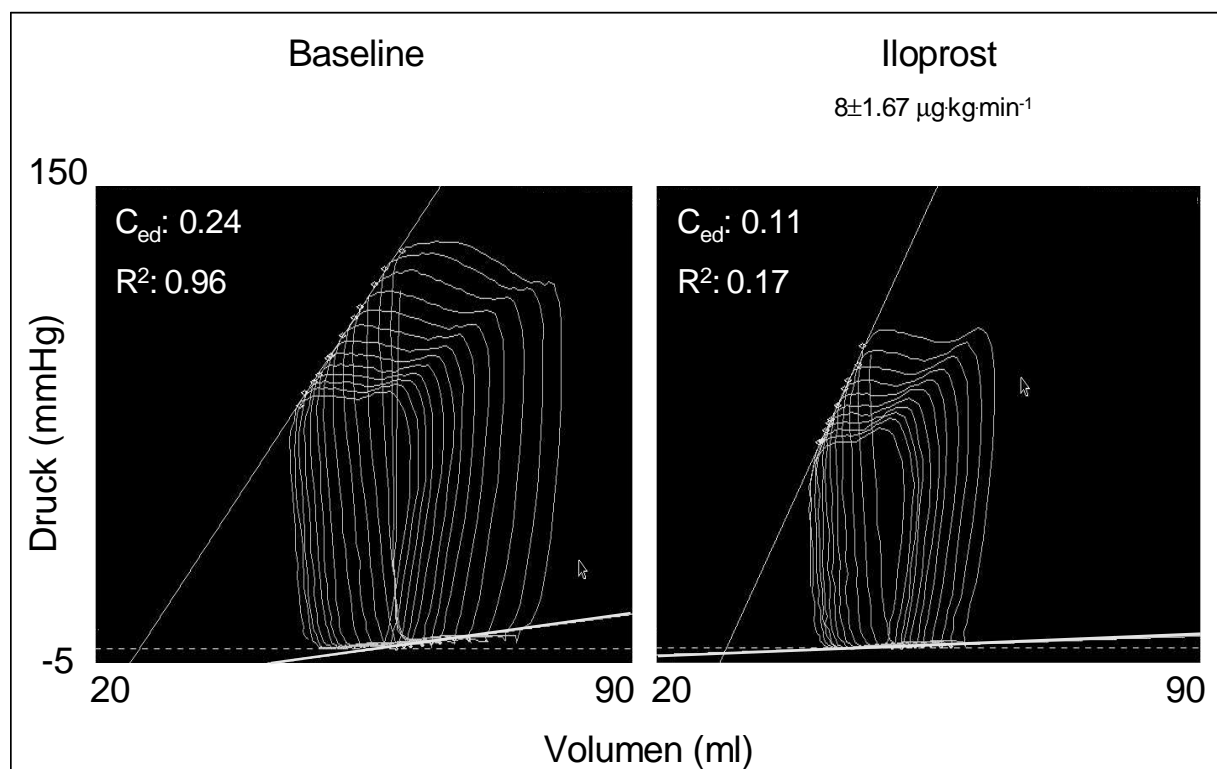


Abb. 3.5.4: C_{ed} vor und während Iloprost

3.5.5 Enddiastolische Compliance (C_{ed})

Die enddiastolische Compliance (C_{ed}) wurde durch keine der Substanzen signifikant geändert (NNP: vor: 0.20 ± 0.06 mmHg·ml⁻¹, während: 0.26 ± 0.10 mmHg·ml⁻¹, nach: 0.28 ± 0.08 mmHg·ml⁻¹; ADO: vor: 0.25 ± 0.09 mmHg·ml⁻¹, während: 0.36 ± 0.09 mmHg·ml⁻¹, nach: 0.27 ± 0.09 mmHg·ml⁻¹; EPP: vor: 0.21 ± 0.06 mmHg·ml⁻¹, während: 0.27 ± 0.08 mmHg·ml⁻¹, nach: 0.24 ± 0.09 mmHg·ml⁻¹, ILO: vor: 0.28 ± 0.10 mmHg·ml⁻¹, während: 0.24 ± 0.07 mmHg·ml⁻¹).

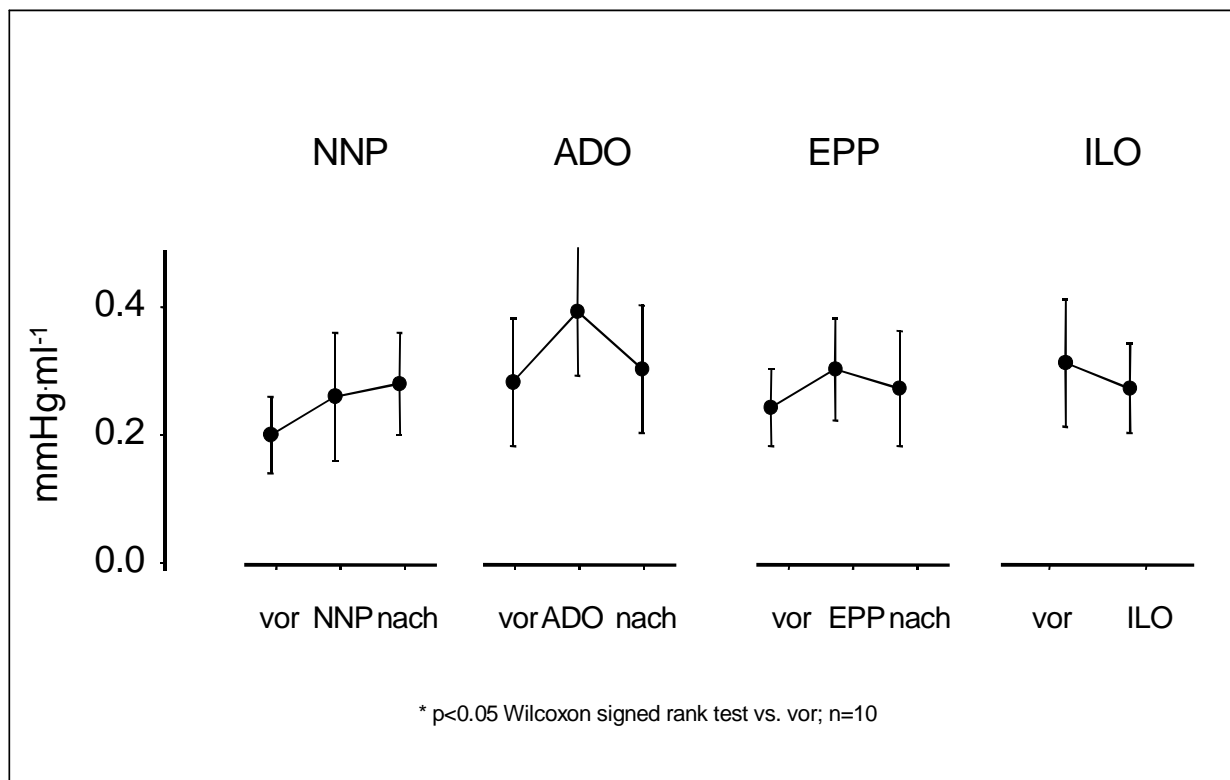


Abb. 3.5.5: Enddiastolische Compliance (C_{ed}); [mmHg·ml⁻¹]

3.6 cAMP – Konzentration

Während EPP und ILO- Infusion stieg der arterielle cAMP - Spiegel im Plasma nicht signifikant an (EPP: vor: $81.0 \pm 31.4 \text{ pmol}\cdot\text{ml}^{-1}$, während: $86.8 \pm 15.6 \text{ pmol}\cdot\text{ml}^{-1}$, nach: $74.0 \pm 21.7 \text{ pmol}\cdot\text{ml}^{-1}$; ILO: vor: $72.0 \pm 15.0 \text{ pmol}\cdot\text{ml}^{-1}$, während: $76.5 \pm 19.9 \text{ pmol}\cdot\text{ml}^{-1}$). Dagegen führte die Prostaglandingabe (EPP, ILO) im interstitiellen Raum des links-ventrikulären Myokards zu einer ausgeprägten cAMP–Antwort. Im Falle von EPP war diese Veränderung statistisch signifikant und reversibel. Unter ILO - Infusion wurde aufgrund der relativ hohen Streuung der Ausgangswerte keine statistische Signifikanz erreicht (EPP: vor: $7.6 \pm 2.2 \text{ fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$, während: $13.9 \pm 23.3 \text{ fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$; $p < 0.05$, nach: $8.1 \pm 3.0 \text{ fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$; ILO: vor: $7.6 \pm 10.7 \text{ fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$, während: $11.7 \pm 5.9 \text{ fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$).

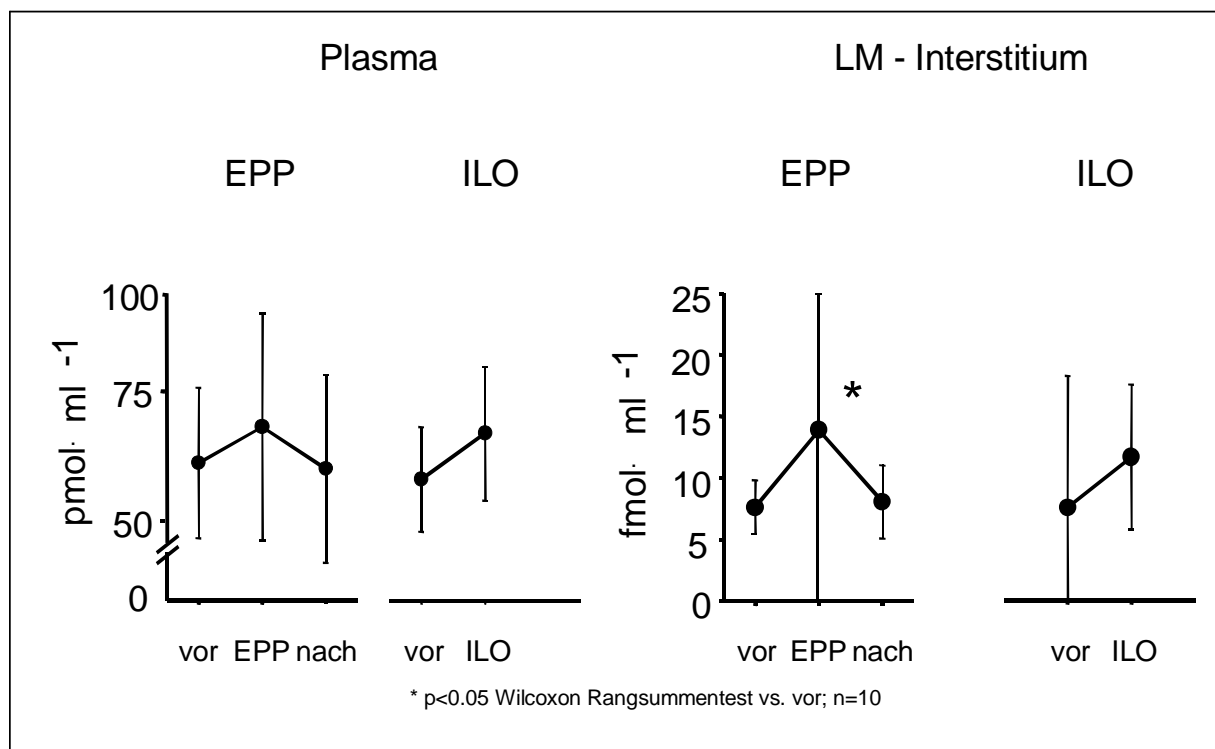


Abb. 3.6.1/2: cAMP-Konzentration; Plasma [$\text{pmol}\cdot\text{ml}^{-1}$]; LM-Interstitium [$\text{fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$]

3.7 Respiratorische Funktion (Blutgase)

3.7.1 Arterieller Kohlendioxidpartialdruck ($p_a\text{CO}_2$)

Der arterielle Kohlendioxidpartialdruck ($p_a\text{CO}_2$) war während der gesamten Versuchsdauer konstant. Aus diesem Grund kann ein Einfluß von Hypo- oder Hyperkapnie auf die gemessenen myokardialen Funktionsparameter ausgeschlossen werden. (NNP: vor: 41 ± 3 , während: 41 ± 3 , nach: 40 ± 2 ; ADO: vor: 40 ± 5 , während: 41 ± 4 , nach: 40 ± 3 ; EPP: vor: 40 ± 2 , während: 39 ± 2 ; nach: 40 ± 4 ; ILO: vor: 37 ± 3 , während: 39 ± 3 mmHg).

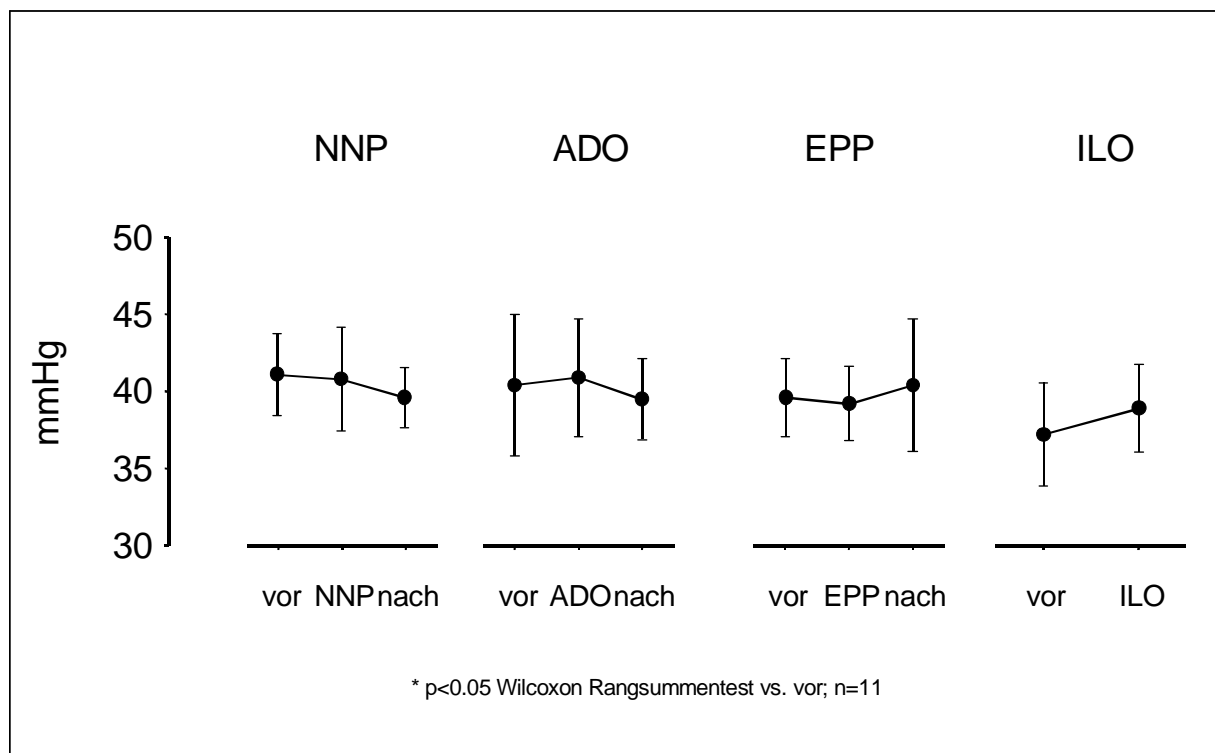


Abb. 3.7.1: $p_a\text{CO}_2$; [mmHg]

3.7.2 Arterieller Sauerstoffpartialdruck (p_aO_2)

Trotz eines Absinkens des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks (p_aO_2) während Infusion von ADO und ILO waren die Tiere während der gesamten Zeit ausreichend oxygeniert (NNP: vor: 164 ± 52 mmHg, während: 146 ± 40 mmHg, nach: 159 ± 38 mmHg; ADO: vor: 187 ± 35 mmHg, während: 137 ± 62 mmHg, $p < 0.05$; nach: 182 ± 52 mmHg; EPP: vor: 177 ± 32 mmHg, während: 153 ± 21 mmHg, nach: 193 ± 27 mmHg; ILO: während: vor: 182 ± 28 mmHg, während: 142 ± 37 mmHg, $p < 0.05$).

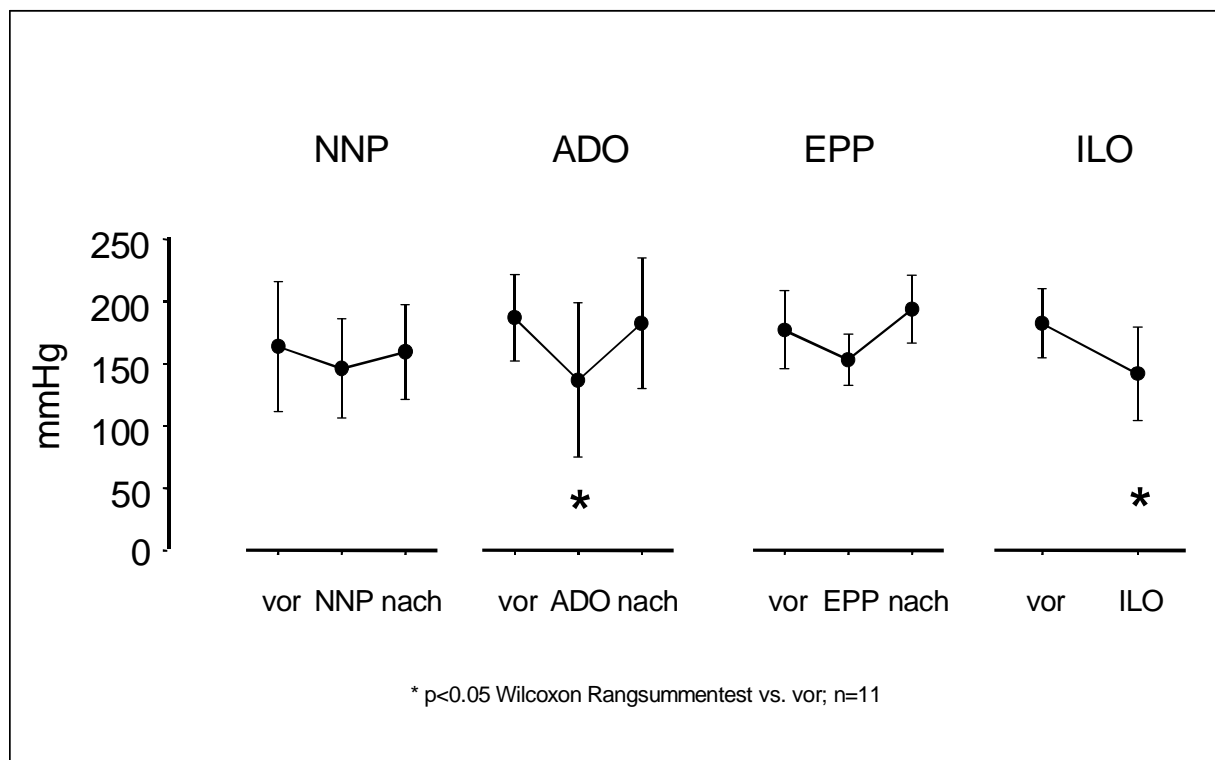


Abb. 3.7.2: p_aO_2 ; [mmHg]

3.8 Arterielle Elektrolytkonzentrationen

Die arterielle Natriumionenkonzentration stieg während Infusion aller Vasodilatoren geringfügig an, blieb aber im klinischen Normbereich. Die Kalium- und Kalziumionenkonzentrationen blieben stabil. Nach EPP Infusion konnte ein geringfügiger Anstieg der Kaliumionenkonzentration beobachtet werden.

	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺
vor NNP	137.8 ± 2.5	4.5 ± 0.2	1.2 ± 0.1
während	139.0 ± 1.7 *	4.7 ± 0.3	1.2 ± 0.1
nach NNP	139.1 ± 1.6	4.6 ± 0.3	1.2 ± 0.0
vor ADO	135.7 ± 2.2	4.4 ± 0.1	1.2 ± 0.1
während	138.3 ± 1.9 *	4.4 ± 0.2	1.2 ± 0.1
nach ADO	140.0 ± 1.7 *	4.4 ± 0.3	1.2 ± 0.1
vor EPP	136.8 ± 2.4	4.6 ± 0.3	1.2 ± 0.0
während	137.9 ± 2.4 *	4.6 ± 0.1	1.2 ± 0.0
nach EPP	137.9 ± 2.2 *	4.4 ± 0.3 *	1.2 ± 0.0 *
vor ILO	140.0 ± 2.6	4.3 ± 0.3	1.2 ± 0.0
während	141.6 ± 2.7 *	4.4 ± 0.3	1.2 ± 0.0

Tab 3.8: Arterielle Elektrolytkonzentrationen [mmol ml⁻¹; * = p<0.05]

4 Diskussion

4.1 Ziel und klinischer Hintergrund der Studie

Ziel vorliegender Studie war es, zu untersuchen, ob Prostaglandin I₂ Analoga, Epoprostenol und Iloprost, *in vivo* die linksventrikuläre Kontraktilität steigern und ob dies über einen Anstieg der myokardialen cAMP-Konzentration vermittelt wird.

Das Interesse an dieser Fragestellung beruhte auf Beobachtungen, die in klinischen Studien bei der Anwendung von Prostaglandin I₂ Analoga gemacht wurden. Bereits in der Einleitung wurden Studien vorgestellt, die zeigten, dass Prostaglandin I₂ im Vergleich mit anderen Vasodilatoren klinisch relevante Unterschiede birgt (siehe 1.1). Prostaglandin I₂ Analoga haben einen klinisch relevanten positiven Kurzeffekt bei Rechtsherzinsuffizienz. Ergebnisse von Langzeitstudien zeigen, dass dieser positive Effekt auch bei längerfristiger Anwendung dieser Substanzen bestehen bleibt. Bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie und konsekutiver Herzinsuffizienz zeigte sowohl intravenös verabreichtes Epoprostenol^{43,6,57} als auch intravenöses Iloprost²⁴ deutlich bessere klinische Ergebnisse als die konventionelle Therapie. Diese Ergebnisse konnten auch für inhaliertes Iloprost gezeigt werden^{84, 44,24}. Zahlreiche weitere klinische Langzeitstudien bestätigen diese Ergebnisse. In der längerfristigen Anwendung bei Patienten mit schwerer Linksherzinsuffizienz dagegen führte die intravenöse Anwendung von Epoprostenol zu einer erhöhten Mortalitätsrate¹².

Reine Vasodilatoren wirken jedoch protektiv bei schwerer Linksherzinsuffizienz und sind daher fester Bestandteil des empfohlenen Therapieregimes¹⁰

Epoprostenol muß also über eine Wirkweise verfügen, die es von anderen Vasodilatoren unterscheidet. Deutlich wird dies vor allem in folgenden Beobachtungen:

In einer schwedischen Studie wurde durch Prostaglandin I₂-Gabe der Schlagvolumenindex von Patienten mit akuter Herzinsuffizienz nach herzchirurgischen Eingriffen verbessert, nicht jedoch durch einen weiteren Vasodilatator, dem Natriumnitroprussid⁵⁴.

Unter einer langfristigen Epoprostenoltherapie zeigten einige Patienten, die länger als ein Jahr behandelt wurden und aufgrund von Toleranzentwicklung ständige Dosissteigerungen benötigten, ein erhöhtes Schlagvolumen mit echokardiographisch nachweisbarem hyperkontraktilen linken Ventrikel. Rich folgerte aus seinen Ergebnissen auf einen positiv inotropen Effekt von Epoprostenol⁹².

Da eine positive Inotropie, also Steigerung der Kontraktilität in der Myokardzelle durch eine Erhöhung des intrazellulären cAMP-Spiegels hervorgerufen wird und Prostaglandin I₂ sowohl seine vasodilatative als auch seine hemmende Wirkung auf die Thrombozytenaggregation über cAMP vermittelt, wurde cAMP als möglicher Mediator in unserer Studie untersucht.

4.2 Diskussion der Methodik

4.2.1 Tiermodell

Klassische pharmakologische Studien werden oft an Ratten, Meerschweinchen, Katzen und Hunden durchgeführt³⁸. Bei der Wahl des geeigneten Versuchstieres für vorliegende Studie galt es mehrere Faktoren zu berücksichtigen:

Die Messtechnik mit einem Conductance-Katheter ist ein invasives Messverfahren, für dessen Auswertung ein umfangreiches Datenverarbeitungsprogramm zur Verfügung steht. Aufgrund der für die Datenverarbeitung erforderlichen Messeinheiten ist eine gewisse Größe des Katheters notwendig. Die Größe des Conductance-Katheters ist somit ein limitierender Faktor bei der Auswahl des Versuchstieres. Die Conductance-Methode wird zwar bereits von einigen Forschungsgruppen in Kleintiermodellen angewandt, meist jedoch nur postmortem⁵⁶. Auch in vivo wurde die Conductance-Methode bereits mit einem speziell dafür konstruierten Katheter an Mäusen eingesetzt⁷⁸. Die Fragestellung unserer Studie verlangte jedoch zum einen die Anwendung an lebenden Tieren, zum anderen sollten die Herz-Kreislaufbedingungen idealerweise ähnlich denen des Menschen sein. Desweiteren zeigt allein die für unsere Studie nötige, aufwendige chirurgische Präparation, vor allem die der Implantation der myokardialen Mikrodialysensonden, dass eine solche Studie an Kleintieren kaum möglich gewesen wäre. Somit kam für unsere Untersuchungen nur ein Großtiermodell in Frage. Die Spezies Schwein wird im Gegensatz zu Hunden und Katzen, deren Anwendung stark eingeschränkt ist⁶⁵, häufig als Versuchstier für Großtiermodelle eingesetzt, da Hausschweine Nutztiere sind. Sie sind in großer Anzahl vorhanden und können leicht und schnell gezüchtet werden. Sie wachsen zu passender Größe heran und ihr Myokard sowie ihr gesamtes kardiovaskuläres System haben große Ähnlichkeit mit dem der Menschen¹. Wegen dieser hervorragenden Eigenschaften werden Schweineherzen auch häufig für kardiale Xenograft Transplantationen eingesetzt. In Untersuchungen der Hämatologie, der Serumbiochemie, Wachstum und Organgröße zeigen sich Schweine als potentielle Organspender¹¹³. Da neben oben genannten Gründen auch zahlreiche aus der Literatur verfügbare Daten bezüglich der Anwendung der

Conductance-Methode an Schweinen vorhanden waren^{19,107}, schien für vorliegende Studie das Hausschwein als geeignetes Versuchstier.

Obwohl diese Studie durchgeführt wurde, um mögliche Fortschritte in der Therapie der Herzinsuffizienz, speziell bei pulmonaler Hypertonie zu erreichen, also einem pathologischen Zustand des Herzens, wurden gesunde Tiere verwendet. Der Grund hierfür war, dass bislang keine Beweise für eine mögliche positiv inotrope Wirkung der Prostaglandin I₂ Analoga in vivo vorliegen. Daher sollte zunächst eine solche Wirkweise in vivo beim gesunden Tier evaluiert werden.

4.2.2 Untersuchte Substanzen und Kontrollsubstanzen

Epoprostenol ist das synthetische Korrelat zum natürlich im Körper vorkommenden Prostaglandin I₂, dem Prostacyclin. Erstmals wurde 1984 über die intravenöse Gabe von Prostacyclin berichtet⁴³. Aufgrund seiner geringen Halbwertszeit von 2 – 3 min ist der Einsatz dieser Substanz im klinischen Alltag limitiert. Nicht nur um Rebound-Aktionen durch zu schnelles Absinken des Epoprostenolspiegels zu vermeiden, sondern auch um es längerfristig verabreichen zu können, muss es kontinuierlich über Infusionspumpen intravenös appliziert werden. Die Lebensqualität der Patienten wird dadurch erheblich reduziert⁴¹. Die Entwicklung des längerwirksamen Iloprost war daher von großer klinischer Bedeutung, denn es bietet gegenüber dem Epoprostenol einige Vorteile: Es führt in niedrigerer Dosierung und bei geringerer Tachyphylaxie⁹⁹ zu vergleichbaren klinischen und hämodynamischen Resultaten wie Epoprostenol⁴². Zudem könnte durch die längere Halbwertszeit und der damit verbundenen Möglichkeit auf Infusionspumpen zu verzichten, der Iloprost Einsatz für eine längerfristige Anwendung am Patienten unabhängig von der Applikationsform

(oral^{86,20}, intravenös²⁴ oder inhalativ^{24,84}) besser praktikabel sein. Wir führten daher unsere Untersuchung mit beiden intravenösen Substanzen durch. Bedingt durch die längere Halbwertszeit des Iloprost und die ohnehin schon im Mittel lange Versuchsdauer (12:35±0:59 (h:min)), wurde auf Messungen nach Ausschleichen dieser Substanz verzichtet. Infolgedessen können keine Aussagen der Reaktionen der Tierherzen nach Ausschleichen und Absetzen von Iloprost (ILO) getroffen werden.

Prostaglandin I₂ Analoga werden bislang zu den Vasodilatoren gezählt. Ihr genauer Wirkmechanismus hierbei ist nicht eindeutig geklärt, jedoch ist gesichert, dass sie durch Bindung an spezifische PGI₂-Rezeptoren zu einem Anstieg des cAMP führen und dadurch die Gefäßmuskulatur relaxiert. Hierdurch wirken die Prostaglandin I₂ Analoga den vasospastischen Effekten der Leukotriene, des Thromboxan A₂ und des „endothelium derived constricting factor“ (EDCF) an den glatten Muskelzellen entgegen⁹⁹.

Die Kontraktilitätsmessung ist bei Verwendung von Vasodilatoren sehr schwierig, weil Änderungen der Vor- und Nachlast zu Änderungen der Kontraktilität führen können. Um Aussagen über die substanzspezifischen kontraktilitätssteigernden Effekte von Epoprostenol und Iloprost treffen zu können, wurden daher Vergleichssubstanzen verwendet. Hierfür wurden herkömmliche, kurzwirksame und im klinischen Einsatz bewährte Vasodilatoren mit unterschiedlichen Wirkmechanismen gewählt, von denen kein klinisch relevanter Einfluß auf die Inotropie bekannt ist. Nur dies ermöglichte uns letztendlich eine Aussage über substanzspezifische Effekte treffen zu können, die nicht durch Vasodilatation induziert wurden. Aus diesem Grund wurde bei der Auswahl der Vergleichssubstanzen darauf geachtet, dass sich ihre Wirkmechanismen nicht nur von denen der Prostaglandin I₂ Analoga unterscheiden, sondern auch untereinander:

NNP ist ein gebräuchlicher Vasodilatator im klinischen Alltag. Als organisches Nitrat setzt es im Organismus NO frei, welches unter Bildung von Nitrosothiolen mit SH-Gruppen reagiert. Die Nitrosothiole aktivieren die Guanylatcyclase, worauf die Konzentration des intrazellulären second-messengers cGMP steigt¹⁰². Dadurch werden vermehrt Proteine phosphoryliert und aktiviert, welche die freie Ca^{2+} Konzentration herabsetzen: die glatte Muskulatur relaxiert¹¹⁹. An den Gefäßwänden wirkt NNP im Sinne eines venösen Pooling hauptsächlich auf die venösen Kapazitätsgefäße, bei höherer Dosierung auch auf die arteriellen Widerstandsgefäße. Auch der Widerstand in der pulmonalen Strombahn sinkt. Indiziert ist NNP bei hypertensiven Krisen und zur kontrollierten intraoperativen Blutdrucksenkung⁹⁴.

Adenosin wirkt über eine Erhöhung des cAMP Spiegels relaxierend auf die glatte Gefäßmuskulatur. Die Aktivierung von G-Proteinen erfolgt hierbei über A_2 Rezeptoren an den Gefäßwänden⁷⁶. Zum Einsatz kommt Adenosin hauptsächlich in Myokardszintigraphien bei Patienten, die nicht ausreichend belastungsfähig sind oder bei denen ein Belastungstest nicht angezeigt ist⁹⁴. Ein weiteres Anwendungsgebiet des Adenosin sind atrioventrikuläre re-entry Tachykardien und AV-Knoten Tachykardien⁹⁴. Hier wirkt Adenosin auf die Kaliumkanäle des Sinus- und AV-Knoten und hemmt die Überleitung der elektrischen Erregung zwischen Vorhof und Herzkammer⁷⁶.

4.2.3 Protokoll und Versuchdesign

Um aus unserer Untersuchung valide Vergleiche der Wirkungen der verschiedenen Pharmaka ziehen zu können, war es nötig, eine vergleichbare Dosierung zu

applizieren. Dies geschah durch eine vergleichbare Vasodilatation mit Senkung des diastolischen Blutdruckwertes auf 75% des Ausgangswertes. Diese Blutdrucksenkung erfolgte durch alle vier Substanzen in gleichem Maß infolge Senkung des systemischen vaskulären Widerstands, ausgedrückt durch den systemischen vaskulären Widerstandsindex (SVRI) und gab uns die Möglichkeit, äquipotente Dosierungen der einzelnen Vasodilatoren zu untersuchen.

Das Versuchsdesign wurde so gewählt, dass infolge der Randomisierung der Versuchssubstanzen so gut wie keine Folgeeffekte möglich waren und aufgrund der langen Auswasch- und Stabilisierungsphasen keine Überlagerungseffekte. So wurden für jede Messung wieder Ausgangsbedingungen hergestellt. Aufgrund der langen Halbwertszeit von ILO wurde diese Substanz im Gegensatz zu den anderen, die randomisiert wurden, jeweils zuletzt verabreicht. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Wilcoxon Test, welcher Paardifferenzen bildet, indem immer der jeweilige Ausgangswert vor der entsprechenden Messung mit dem Messwert während Substanzgabe verglichen wurde, so dass selbst minimale Wertschwankungen bei Baselinemessung in die Berechnung eingingen und ein valider Vergleich und somit ein aussagekräftiges Ergebnis erzielt werden konnte.

4.2.4 Kontraktilität

4.2.4.1 Conductance Methode

Anfang der achtziger Jahre wurde von Baan und Mitarbeitern die Conductance-Methode vorgestellt. Diese Methode beruht auf der simultanen Ableitung von Druck und Volumen des Ventrikels (siehe 2.3.6.1), wobei die Errechnung des Volumens

über eine Leitfähigkeitsmessung der im Ventrikel befindlichen Blutsäule und anschließender Umrechnung erfolgt. Hieraus ergeben sich sogenannte Druckvolumenschleifen, aus denen sich wiederum die endsystolische Druckvolumenbeziehung und somit die endsystolische Elastance als Maß der mit dieser Methode bestimmten Kontraktilität ableiten lässt. Zahlreiche Vergleiche der mit dieser Methode bestimmten Volumina, z.B mit der Thermodilutionsmethode⁵, transösophagealer³², zweidimensionaler Ventrikulographie⁸¹, Mikrosonometrie⁷⁹ oder der direkten Volumenmessung mittels Ballontechnik¹⁸ zeigten stets eine gute Korrelation. Allerdings werden absolute Volumina im Vergleich tendentiell zu gering dargestellt^{11,19}. Eine Gegenüberstellung der mit der Conductance Methode gemessenen Volumina mit der dreidimensionalen Volumenmessung über endokardiale Ultraschallkristalle konnte diese Ergebnisse jedoch nicht bestätigen. Es stellte sich heraus, dass die mit der Conductance Methode gemessenen Volumina zwar gegebenenfalls während Vorlastreduktion zu niedrig gemessen werden, nicht aber während der für unsere Untersuchungen wichtigen Messzeitpunkte im Ruhezustand oder im Zustand erhöhter Kontraktilität². Desweiteren sind für unsere Untersuchungen nicht die absoluten Volumina, sondern die Verhältnisse der Volumen- und Druckänderungen ausschlaggebend. Aus diesem Grund können diesbezügliche systematische Fehler weitgehend ausgeschlossen werden.

4.2.4.2 Kontraktilitätsparameter

Zur Messung der linksventrikulären Kontraktilität stehen prinzipiell mehrere Methoden zur Verfügung. Der Einsatz der verschiedenen Methoden ist jedoch innerhalb gewisser Grenzen limitiert, da an eine valide Kontraktilitätsbestimmung der Anspruch

gestellt wird, dass sie nicht durch Lastbedingungen, Herzfrequenz oder Herzgröße beeinflussbar sein sollte¹⁰⁰.

Generell lassen sich mit dem Tip- Manometer des Conductance-Katheters als auch aus den mit dem Conductance-Katheter abgeleiteten Druckvolumenschleifen mehrere Kontraktilitätsmaße bestimmen: maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit dp/dt_{max} , preload recruitable stroke work (PRSW) und endsystolische Elastance, (E_{es}).

Eine Möglichkeit der Kontraktilitätsbestimmung ist also durch die kontinuierliche Druckmessung im linken Ventrikel gegeben. Aus der abgeleiteten Druckkurve lässt sich die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit dp/dt_{max} berechnen. Sie wird gemessen als Maximum der ersten Ableitung des Drucks über die Zeit (siehe Abb. 2.3.6.7). Die ventrikulären Druckverhältnisse und somit auch die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit dp/dt_{max} sind abhängig von der ventrikulären Vorlast, welche durch den Einsatz von Vasodilatoren alteriert wird. Der Einsatz der dp/dt_{max} als Kontraktilitätsmaß ist somit für vorliegende Studie limitiert. Reduziert man jedoch die Lastabhängigkeit, indem man die linksventrikuläre dp/dt_{max} in Bezug zum linksventrikulären enddiastolischen Volumen (dp/dt_{max} vs. V_{max}) setzt, erhält man einen weitgehend lastunabhängigen Parameter. Aus der Abbildung 2.3.6.7 wird deutlich, dass die dp/dt_{max} nur den isovolumetrischen Druckanstieg während der Systole beschreibt. Dies erklärt, warum dieser Parameter relativ unabhängig von der Nachlast des Herzens ist. Aus diesem Grund können die Ergebnisse der dp/dt_{max} durchaus ergänzend mit anderen Messmethoden zur Ergebnisinterpretation herangezogen werden.

Eine weitere Limitierung der dp/dt_{max} als Kontraktilitätsmaß liegt darin, dass sie durch Änderungen der Herzfrequenz beeinflusst wird⁴⁸. Steigt die Herzfrequenz, so werden die einzelnen Phasen des Herzzyklus verkürzt. Folglich ist auch der isovolumetrische

Druckanstieg und ebenso die Geschwindigkeit, mit welcher der maximale Druck erreicht wird höher. Die positive Korrelation dieser beiden Parameter wird bereits bei versuchsweisem Einfügen fiktiver Zahlen für Herzfrequenz und dp/dt_{\max} und Erstellung der Regressionsanalyse deutlich. Durch die Herzfrequenzabhängigkeit der dp/dt_{\max} wird auch das Verhältnis dp/dt_{\max} vs. V_{\max} abhängig von der Herzfrequenz. Aufgründdessen scheint das Verhältnis dp/dt_{\max} vs. V_{\max} trotz der relativen Lastabhängigkeit als Maß für Kontraktilität nicht ideal.

Ein weiterer Kontraktilitätsparameter ist die preload recruitable stroke work (PRSW). Die PRSW errechnet sich als Quotient aus der linksventrikulären Schlagarbeit (LVSW) und dem linksventrikulären enddiastolischen Volumen (LVEDV) nach einem Konzept von Glower et al. Während des Lastwechselmanövers werden die LVSW und das zugehörige enddiastolische Volumen (V_{\max}) gegeneinander aufgetragen. Nach den Ergebnissen von Glower und Kollegen ist das Verhältnis der beiden Parameter zueinander linear³⁰. Dieses Verhältnis bleibt auch bei Veränderungen der Nachlast und der Herzfrequenz linear. Aus der Steigung dieser Geraden ergibt sich die vorlastabhängige Schlagarbeit (PRSW). Eine Zunahme der Steigung der Geraden bedeutet eine gesteigerte ventrikuläre Kontraktilität. Die Bezugnahme zum linksventrikulären enddiastolischen Volumen (LVEDV) macht die PRSW zu einem vorlastunabhängigen Parameter. Desweiteren ist die PRSW unabhängig von der Nachlast und Schwankungen der Herzfrequenz. In der Messung der rechtsventrikulären Kontraktilität gilt die PRSW gegenüber der E_{es} als überlegen^{47,110}, sie wird sogar teilweise als sensitiver zur Erfassung der Kontraktilität eingestuft¹⁰⁰. Da jedoch die linksventrikuläre Schlagarbeit (LVSW), aus welcher die PRSW bestimmt wird, durch Vasodilatation reduziert wird, konnten in unseren Untersuchungen mit der endsystolischen Elastance (E_{es}) genauere Ergebnisse erzielt

werden. Daher betrachten wir die E_{es} zur Kontraktilitätsmessung in vorliegender Studie als den geeigneteren Parameter.

Die E_{es} ist die Steigung der Geraden durch die endsystolischen Punkte der Druckvolumenschleifen während eines Lastwechsels. Im Gegensatz zur dp/dt_{max} kann für die endsystolische Elastance (E_{es}) eine Abhängigkeit von der Herzfrequenz ausgeschlossen werden: so führten in unserer Studie sowohl EPP, ILO als auch NNP in vergleichbarem Maß zu einem Anstieg der Herzfrequenz, aber nur EPP und ILO steigerten die E_{es} . Ebenso kann in unserer Untersuchung auch eine von Kass gezeigte gesteigerte Kontraktilität, verursacht durch sympatho-adrenerge Stimulation während des Lastwechselmanövers⁵⁰ ausgeschlossen werden, da während Gabe aller Substanzen vergleichbare Lastwechselmanöver durchgeführt wurden, jedoch nur EPP und ILO zu einer Kontraktilitätssteigerung führten.

Die E_{es} kann aufgrund der durch den Lastwechsel erzielten Standardisierung der Vorlast als weitgehend vorlastunabhängig betrachtet werden. Unklar bleibt die Nachlastabhängigkeit. In einer Untersuchung von van der Velde et al. konnten bei extremen Veränderungen der Aortenimpedanz, also der Nachlast des linken Ventrikels Zusammenhänge zwischen Nachlast und E_{es} gezeigt werden, indem an Hunden am offenen Thorax eine Erhöhung oder Senkung der Aortenimpedanz herbeigeführt wurde. Bei gleichzeitiger Steigerung des einströmenden Blutvolumens in den linken Vorhof auf das Dreifache konnte eine positive Korrelation zwischen den Veränderungen der Aortenimpedanz und der E_{es} gezeigt werden¹¹⁵. Diese Zusammenhänge stehen in Einklang mit Untersuchungsergebnissen von Kass⁴⁹ und Paulus an isolierten Herzmuskelzellen⁸⁷. Laut Sagawa sind jedoch Aussagen über die Lastabhängigkeit der E_{es} nur bei Versuchen am geschlossenen Thorax zu treffen⁹⁷. Für unsere Studie sind diese Resultate unerheblich, da die Ergebnisse der genannten Untersuchungen erstens nur tendentiell zu verzeichnen waren und nicht

signifikant wurden, zweitens am offenen Thorax durchgeführt worden waren und drittens extreme Schwankungen der Nachlast vorlagen. In unseren Versuchen jedoch änderte sich zwar die Nachlast, keinesfalls jedoch in extremen Formen, wie sie hier beschrieben wurden.

Von van der Velde wurde der Verlauf der E_{es} in Grenzbereichen als nicht linear beschrieben¹⁵. Wäre dies der Fall, wäre eine valide Auswertung der Daten kaum möglich. Laut van der Velde tritt diese Nichtlinearität jedoch erst in Grenzbereichen von Volumen- und Druckbelastungen auf. Hierbei wird von einer Nichtlinearität erst ab mittleren arteriellen Drücken unter 70 mmHg oder über 140 mmHg gesprochen¹⁰⁰. Die von uns gemessenen Werte für den mittleren arteriellen Blutdruck bewegten sich jedoch nicht ausserhalb dieses Grenzbereichs, so dass unsere E_{es} Bestimmungen als valide zu betrachten sind.

4.2.4.3 Praktische Anwendung der Conductance Methode und deren Limitierung

Um mit der Conductance-Methode verlässliche Ergebnisse zu erhalten, ist zunächst eine exakte Platzierung des Katheters nötig. Bei der Positionierung des Conductance Katheters ergaben sich während unserer Versuche meist keine Komplikationen, da die Conductance-Methode bereits im Rahmen vorangegangener Studien unserer Arbeitsgruppe zu Einsatz kam^{35,36}. Durch den Einsatz eines Pigtail-Katheters konnte auch eine etwaige Verletzung des linksventrikulären Endokards während der Positionierung des Katheters vermieden werden. Weniger unproblematisch erwies sich jedoch die Verwendung des Katheters selbst. Wegen der hohen Empfindlichkeit des Katheters kam es mehrmals zum Ausfall eines zu bestimmenden Segments zwischen zwei Messelektroden. Der Fehler wurde dadurch behoben, dass das entsprechende Segment aus der Gesamtschaltung eliminiert wurde. Neu platziert

musste der Katheter jedoch werden, wenn der Katheter die Ventrikelwand berührte und sich dadurch in der Aufzeichnung Volumenartefakte zeigten.

Um letztendlich mit Hilfe der Conductance-Methode valide Daten zu erhalten, gilt es bei der Anwendung dieser Methode einige Faktoren zu beachten:

Das durch den Conductance-Katheter zusätzlich mitgemessene Volumen (V_c) des Myokardgewebes, welches durch die Leitfähigkeit der die Ventrikelhöhle umgebenden Strukturen verursacht wird (Parallelconductance), muss zunächst bestimmt und dann vom Messwert abgezogen werden (siehe 2.3.6.2). Eine sehr invasive Methode hierfür erfolgt durch Okklusion des linken Vorhofs und gleichzeitigem Leersaugen des Ventrikels mit einem Mehrlochkatheter⁵. Diese Methode ist jedoch sehr belastend für die Versuchstiere und hätte vermutlich bei mehrmaliger Wiederholung zu erheblichen Ausfallraten geführt. Aus diesem Grund entschieden wir uns für eine andere, vielfach bewährte Methode: die Erhöhung der Blutleitfähigkeit mit 20%iger NaCl-Lösung (siehe 2.3.6.2). Diese Methode stellt nicht nur eine wesentlich geringere Kreislaufbelastung für die Versuchstiere dar, sondern ist auch bereits in früheren Studien unserer Arbeitsgruppe erfolgreich angewendet worden^{35,36}. Obwohl diskutiert wird, dass es mit dieser Methode durch Elektrolytverschiebungen zu Änderungen der Hämodynamik kommen kann^{11,63}, zeigten sich in unseren Experimenten keine langfristigen Auswirkungen auf die Hämodynamik. Die Elektrolytkonzentrationen blieben durchweg im klinischen Normbereich (siehe 3.8), wenn sich auch die Natriumkonzentration innerhalb dieser Normwerte bei allen Vasodilatoren im Vergleich zum Vorwert leicht erhöhte. In einem tierexperimentellen Modell an Schweinen im hämorrhagischen Schock beeinflussten erhöhte Serumnatriumkonzentrationen die linksventrikuläre Kontraktilität nicht¹²⁰. Fleetwood beschrieb 1990 sogar, dass erhöhte Natriumkonzentrationen die myokardiale Kontraktilität in isolierten perfundierten

Rattenherzen herabsetzen²⁸. Insgesamt scheint es sehr unwahrscheinlich, dass der beobachtete Anstieg der Natriumkonzentration einen relevanten Einfluß auf unsere Ergebnisse hatte.

4.2.4.4 Messen mit der Conductance Methode: Vorlastreduktion

Vorraussetzung zur Ermittlung der E_{es} ist eine Reduktion der Vorlast, um einen möglichen Einfluß von veränderten Lastbedingungen auf die Messung der Kontraktilität auszuschliessen, und so eine Standardisierung der Lastbedingungen zu gewährleisten. Aus diesem Grund ist es wichtig, reproduzierbare und schnelle Lastwechsel zu erzielen. Daher entschieden wir uns anstatt der ebenfalls in der Literatur beschriebenen Steigerung des Beatmungsdrucks, mit der Folge eines reduzierten Rückfluß von Blut in den Thorax³⁹, für die Reduktion der Vorlast durch Okklusion der Vena cava inferior. Da ventrikuläre Volumina durch Atmung und Ventilation beeinflussbar sind¹⁰⁹, ist eine Unterbrechung der Beatmung der Tiere während des Lastwechsels unerlässlich, um mögliche systematische Fehler auszuschliessen. Bei Auftreten von Arrhythmien oder Extrasystolen wurde das Lastwechselmanöver beendet, da sich einerseits bei Extrasystolen keine auswertbaren Druckvolumenschleifen ableiten lassen und andererseits auch nicht auszuschliessen war, dass hier die Kontraktilitätsbestimmung durch sympathoadrenerge Gegenregulationsmechanismen beeinflusst wird⁵⁰. In solchen Fällen wurde daher erst nach einer ausreichend langen Erholungsphase der Tiere erneut ein Lastwechselmanöver durchgeführt.

4.2.5 cAMP

4.2.5.1 Gewinnung interstitiellen Dialysats

Zur Gewinnung interstitiellen Dialysats diente die Mikrodialysenmethode. Dieses unter 2.3.3.2 detailliert beschriebene Vorgehen funktioniert nach dem Prinzip, die passive Funktion eines kapillären Blutgefäßes zu imitieren, indem eine tubuläre Dialysenmembran in Gewebe eingebracht wird. Durch Diffusion von Molekülen aus dem Gewebe erhält man das Dialysat. Die Konzentration der Inhaltsstoffe des Dialysats entspricht der Zusammensetzung in der extrazellulären Flüssigkeit⁷⁰. Theoretisch kann man auf diese Weise jedes Gewebe untersuchen. Häufig wird die Mikrodialyse-Methode angewandt zur Untersuchung kardialer Metabolite während Ischämie¹²¹. Oft werden diese Studien an Ratten⁴⁰ oder Schweinen³⁴ durchgeführt. Unterschiede in der Herzfrequenz und der intrakardialen Druckverhältnisse beeinflussen die Probengewinnung⁷⁰. Daher ist es wichtig, bei der Auswertung die Ergebnisse entsprechend zu interpretieren und im Verlauf zu betrachten.

Von Müller et al konnte gezeigt werden, dass der cAMP Spiegel im Interstitium eines Skelettmuskels nach Gabe von Milrinon dosisabhängig und parallel zum intrazellulären cAMP-Spiegel steigt⁷⁷. Somit scheint die mittels der Mikrodialyse-Methode gewonnene interstitielle cAMP-Konzentration proportional zur intrazellulären cAMP-Konzentration zu sein. Der in der vorliegenden Studie beobachtete Anstieg des cAMP-Spiegel im Interstitium ist somit Ausdruck eines Anstiegs im Intrazellularraum.

4.2.5.2 Bearbeitung des Dialysats mittels ELISA

Zur Analyse des interstitiellen Dialysats verwendeten wir den unter 2.3.4.3 beschriebenen enzyme linked immuno sorbant assay (ELISA), dessen Prinzip auf einer Antikörperbindung beruht. Wegen der teilweise sehr geringen Probenvolumina kam es bei dieser immunologischen Messmethode in unserer Studie zu einer relativ hohen Streuung der Messwerte. Die durch den ELISA bestimmten Konzentrationen sind daher nicht als Absolutwerte zu verstehen, sondern müssen im Vergleich mit den Vorwerten betrachtet werden (siehe 3.6).

4.3 Diskussion der Ergebnisse

4.3.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

Die Prostaglandin I₂ Analoga Epoprostenol und Iloprost steigerten unter den von uns erstellten Versuchsbedingungen signifikant die linksventrikuläre Kontraktilität, gemessen als endsystolische Elastance E_{es} . Epoprostenol führte zu einer Kontraktilitätssteigerung um 57% und Iloprost sogar um 71%. Dieser positiv inotrope Effekt war reversibel: nach Absetzen des kurzwirksamen Epoprostenol ging die E_{es} wieder Ausgangswerte zurück. Im Gegensatz dazu hatten die als Vergleichssubstanzen verwendeten Vasodilatoren NNP und ADO keinen Einfluss auf die E_{es} .

Mit den vorliegenden Untersuchungsergebnissen konnte ebenso gezeigt werden, dass die Prostaglandin I₂ Analoga die myokardiale interstitielle cAMP-Konzentration erhöhen: EPP um 82% ($p < 0.05$); ILO um 53%.

4.3.2 Allgemeine hämodynamische Veränderungen

Über die Fragestellung der vorliegenden Untersuchung hinaus wurden im Rahmen dieser Studie Veränderungen der allgemeinen hämodynamischen Parameter erhoben. Zur Veranschaulichung dieser ebenfalls im Ergebnisteil aufgeführten Parameter sollen im Folgenden die Zusammenhänge erläutert werden:

Durch Vasodilatation veränderten sich Vor- und Nachlast des Ventrikels. Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP), ein Parameter der Vorlast, sank signifikant bei ILO und NNP. Der pulmonalvaskuläre Widerstand (PVRI), der als

Nachlastparameter des rechten Herzens zu betrachten ist, wurde durch EPP und ILO signifikant gesenkt.

Infolge der Vasodilatation reagierten die Versuchstiere während EPP, ILO und NNP mit einer signifikanten Reflextachykardie, die während ADO ausblieb. Obwohl der diastolische Aortendruck (DAP) durch Adenosin in gleichem Maß gesenkt wurde, muss man annehmen, dass dieses Ausbleiben der reaktiven Tachykardie auf die antiarrhythmische Wirkweise des Adenosin durch Verzögerung der atrioventrikulären Überleitung zurückzuführen ist. Durch die während EPP, ILO und NNP hervorgerufene Tachykardie verkürzte sich die diastolische Füllungszeit (DFT). Ebenso verkürzte sich die Zeit bis zum maximalen Auswurf während der Systole (tPER) durch Infusion aller Versuchssubstanzen, jedoch in deutlich geringerem Ausmaß.

Die Verkürzung der Dauer eines Herzschlags infolge Tachykardie erfolgt hauptsächlich auf Kosten der Diastole, während die Dauer der Systole annähernd gleich bleibt¹⁰¹. Eine Verkürzung der diastolischen Füllungsphase kann daher zu einer verschlechterten globalen diastolischen Funktion führen. Ein Grund hierfür liegt möglicherweise in einem erhöhtem diastolischen Kalziumionenspiegel infolge verkürzten Kalziumionenausstroms aus dem Zytosol¹¹⁷. Eine verschlechterte diastolische Funktion äußert sich darin, daß sich der Ventrikel bei einem höheren Druckanstieg schlechter füllt. Die globale enddiastolische Funktion, ausgedrückt durch die enddiastolische Compliance (C_{ed}) änderte sich jedoch in unseren Untersuchungen bei keiner der Substanzen signifikant und blieb somit erhalten. Möglicherweise liegt der Grund hierfür in der signifikanten Erhöhung des Relaxationsparameters tau während EPP, ILO und NNP⁵⁸. Tau ist definiert als die Zeit bis 50 % der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit $dpdt_{min}$ erreicht werden³⁷. Wegen seiner geringeren Lastabhängigkeit¹¹⁸ ist es in unserer Studie als

aussagekräftigerer Parameter zu werten als die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit $dpdt_{\min}$, welche die gesamte frühe isovolämische Relaxationsphase beschreibt⁶¹ und deren Lastabhängigkeit nicht eindeutig geklärt ist. Tau ist ein Parameter der späten aktiven isovolämischen Relaxation des linksventrikulären Myokards, also der Ablösung der Kalziumionen von Troponin, der Wiederaufnahme von Kalziumionen in das sarkoplasmatische Retikulum und der Lösung der Aktin-Myosin-Querbrücken³⁷. Ändert sich die Herzfrequenz, ändert sich konsequent auch die Zeitdauer des Druckabfalls. Um diese Fehlerquelle auszuschließen, wurde in unseren Untersuchungen ein relatives tau berechnet, welches tau im Bezug zur Dauer des Herzschlags darstellt. Die Erhöhung dieses weitgehend herzfrequenzunabhängigen Parameters bedeutet also, dass bei Verkürzung der Diastolendauer die aktive Relaxation einen größeren Anteil an der Dauer des Herzzyklus einnimmt. Eventuell bleibt dadurch eine ausreichende diastolische Funktionsfähigkeit aufrechterhalten. In Zusammenschau dieser Ergebnisse lässt sich also sagen, dass PGI_2 , ILO und NNP trotz einer Verkürzung der Diastole die diastolische Herzfunktion nicht negativ beeinflussen. Dennoch wirkt keine dieser Substanzen positiv lusitrop, das heißt sie verbessern die diastolische Compliance des Myokards nicht.

4.3.3 Linksventrikuläre Kontraktilität

4.3.3.1 Prostaglandin I₂ Analoga

Kurz nach der Entdeckung des Prostacyclins als Hauptsyntheseprodukt des Arachidonsäurestoffwechsels in Endothelzellen im Jahre 1976 von Moncada und

Vane⁹ wurden erste - sehr unterschiedliche experimentelle Untersuchungsergebnisse - über dessen Wirkung auf die myokardiale Kontraktilität sowohl in vitro als auch in vivo veröffentlicht: Anfang der 80er Jahre beobachtete Filczewski einen fehlenden Effekt des Prostacyclin auf die linksventrikuläre Kontraktilität und Hämodynamik bei narkotisierten Hunden²⁶. Kein Effekt wurde auch in isolierten Rattenherzen¹⁵ und in isoliertem Ventrikelmyokard von Säugern gezeigt¹⁶. 1988 wurde sogar von einem tendentiell negativ inotropen Effekt des Prostaglandin I₂ am wachen amerikanischen Ochsenfrosch berichtet⁹³. Auch wurden in verschiedenen experimentellen Studien biphasische Effekte nachgewiesen: PGI₂ soll demnach in niedriger Dosierung positiv inotrop und chronotrop und in höheren negativ inotrop und chronotrop im isolierten Rattenherzen⁶⁰ und in kultivierten Rattenherzzellen⁴ wirken.

Von anderen Autoren wiederum wird von einer Erhöhung der kontraktilen Anspannung und einer dosisproportionalen positiv chronotropen Wirkung in spontan schlagenden Meerschweinvorhöfen²⁵ und einer erhöhten Kontraktilität in isolierten Rattenvorhöfen Applikation von Prostaglandin I₂ Analoga berichtet⁷¹.

Bei Hunden zeigte sich nach Abklemmen der Blutzufuhr durch Infusion von Iloprost eine Erhaltung der LV-Funktion und – Kontraktilität, ausgedrückt durch die dp/dt_{max} im Vergleich zur Kontrollgruppe⁵¹. Kazanova beschrieb eine Verbesserung des funktionellen Status des ischämischen Myokards durch Vasozyklin bei narkotisierten Ratten sowie eine Stabilisierung der kontraktilen Eigenschaften und der Pumpfunktion des Herzens nach koronarer Okklusion als auch eine Verstärkung der myokardialen kontraktilen Funktion im intakten Myokard⁵³. Krause berichtete über Iloprost als Zusatz zu Iopromid, einem nichtionischen Kontrastmittel: Nach LV-Bolusinjektion kam es bei den narkotisierten Ratten im Vergleich zur Kontrollgruppe

(nur Iopromid) zu einem Anstieg der myokardialen Kontraktilität⁵⁹. In isolierten Rattenventrikeln konnte durch Epoprostenol die Kontraktionskraft erhöht werden⁸⁹.

Beweise für eine entsprechende in vivo Wirkung des PGI₂ liegen bislang jedoch nicht vor. Zwar wurde 1998 eine in vivo Untersuchung veröffentlicht, die von einer positiv inotropen Wirkweise des PGI₂ berichtete⁷⁵, allerdings untersuchten die Autoren die Wirkungen von PGI₂ mit einer lastabhängigen Methode, so dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass Änderungen der Vor- und Nachlast die Kontraktilitätsmessungen beeinflussten. Es ist daher nicht klar, inwieweit der damals beschriebene positiv inotrope Effekt des PGI₂ einer substanzspezifischen Wirkung zuzuordnen ist.

Demgegenüber konnte in der vorliegenden Studie mit einem lastunabhängigen Kontraktilitätsmass eindeutig eine positiv inotrope Wirkung der PGI₂ Analoga EPP und ILO in vivo demonstriert werden. Die in vitro gezeigte und in klinischen Studien (siehe 4.1) vermutete positiv inotrope Wirkweise der Prostaglandin I₂ Analoga in vivo wird hierdurch bestätigt.

4.3.3.2 Natriumnitroprussid

In vorliegender Untersuchung zeigte der NO Donator NNP in klinisch gebräuchlicher Dosierung weder einen positiv inotropen, noch einen negativ inotropen Effekt, veränderte also die Kontraktilität nicht. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu von anderen Autoren berichteten in vitro Ergebnissen: So konnte durch Stimulation der myokardialen NO Synthase mittels Tumornekrosefaktor alpha ein dosisabhängiger Spannungsabfall in isolierten Papillarmuskeln auf 40 % der Baselinewerte induziert werden²⁷. In ähnlicher Weise zeigten höhere, nicht jedoch niedrige Dosen von NNP einen negativ inotropen Effekt im isolierten Papillarmuskel⁷².

4.3.3.3 Adenosin

Liang et al zeigte in seiner in vitro Untersuchung einen negativ inotropen Effekt es Adenosin⁶⁶. Der zugrundeliegende Wirkmechanismus ist eine Hemmung der Adenylatzyklase über A₁ Rezeptoren und konsekutiver Senkung des cAMP Spiegels⁶⁶. Die vasodilatierende Wirkweise des Adenosins wird jedoch über Stimulation von A₂ Rezeptoren vermittelt, die eine Erhöhung des cAMP-Spiegels induzieren und so relaxierend auf die glatte Gefäßmuskulatur wirken⁷⁶.

Es ist ungeklärt, ob Adenosin auch über kardiale A₂ Rezeptoren aktivierend auf die Adenylatzyklase wirkt. In vitro zeigte eine Aktivierung der kardialen A₂ Rezeptoren eine Steigerung der Kontraktilität⁹⁸. Im Gegensatz dazu beeinflusste Adenosin in unseren Untersuchungen die myokardiale Kontraktilität nicht. Es liegt daher die Vermutung nahe, dass hier beide Mechanismen, d.h. sowohl eine Stimulation von A₁ als auch A₂ Rezeptoren, zu tragen kamen und sich die dadurch induzierten Effekte gegenseitig aufgehoben haben.

4.3.3.4 Zusammenfassung

Die Kontraktilität ist definiert als Spannungsentwicklung des Myokards in Abhängigkeit von der Zeit¹⁰. Die Effizienz der Kontraktilität wird durch die Vorlast und die Nachlast moduliert, also durch den Frank- Starling-Mechanismus¹⁰. Kontraktilität selbst bedeutet, dass bei gleichen Ausgangslagen unterschiedliche Kräfte entwickelt werden, wodurch eine situationsangemessene Arbeitsleistung erreicht wird¹¹⁴. Dabei ist die Kontraktilität abhängig vom Tonus des autonomen Nervensystems, den zirkulierenden Katecholaminen und der aktuellen Herzfrequenz. Wesentliche sie bestimmende Determinanten sind die Baroreflexmechanismen⁹⁶.

Eine Sympathikusaktivierung über Baroreflexe aktiviert durch die Vasodilatation kann also unspezifisch zu einer Steigerung der Kontraktilität beitragen. Dies würde in vorliegender Studie aber bedeuten, dass alle Substanzen von derselben Reflexantwort hätten gefolgt sein müssen, denn infolge des Versuchsdesigns wurden alle Vasodilatoren bis zu einer identischen Blutdrucksenkung titriert.

Für eine vergleichbare Nachlastsenkung spricht auch die Tatsache, dass während EPP, ILO und NNP die Herzfrequenz in gleichem Ausmaß anstieg (NNP: 164 ± 23 vs. $124 \pm 9 \text{ min}^{-1}$; EPP: 155 ± 21 vs. $107 \pm 21 \text{ min}^{-1}$; ILO: 164 ± 24 vs. $124.8 \pm 20.4 \text{ min}^{-1}$). Der Befund aber, wonach EPP und ILO, nicht jedoch NNP die linksventrikuläre Kontraktilität bei äquipotenter hypotensiver Dosierung steigerten, zeigt, dass die Erhöhung der Herzfrequenz allein nicht ausschlaggebend für die Kontraktilitätssteigerung und Erhöhung der E_{es} gewesen sein kann.

Auch Kalzium- und Kaliumionenkonzentrationen können die Kontraktilität beeinflussen. Beide Ionenkonzentrationen blieben jedoch während der gesamten Dauer des Protokolls im Normbereich und können daher keine Änderungen der Kontraktilität hervorgerrufen haben.

4.3.3.5 Schlussfolgerung

In Zusammenschau dieser Ergebnisse lässt sich also sagen, dass in der vorliegenden Studie zwar ein zusätzlicher sympathischer Stimulus bei der Kontraktilitätssteigerung aufgrund des Versuchsaufbaus nicht ausgeschlossen ist, aber – sofern vorhanden- nicht ausschlaggebend für unsere Ergebnisse gewesen sein kann. Es muß daher ein substanzspezifischer positiv inotroper Effekt der Prostanoiden für die Kontraktilitätssteigerung verantwortlich gemacht werden.

4.3.4 Prostaglandin I₂ Analoga und cAMP

Für Prostaglandin I₂ bislang bekannte Wirkungen sind die Hemmung der Thrombozytenaggregation^{83,105} sowie die Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur mit konsekutiver Vasodilatation¹¹⁶. Beide Mechanismen führen durch Bindung an spezifische Rezeptoren über eine Aktivierung der Adenylatzyklase zu einem Anstieg des intrazellulären second messengers cAMP^{9,31,64,73,74,111}. Eine Erhöhung des cAMP führt an der Gefäßmuskulatur zur Erschlaffung, am Herzmuskel allerdings führt es zur Kontraktionssteigerung⁴⁶. Weitgehend ungeklärt war bislang jedoch, ob Prostaglandin I₂ auch am Herzen zu einer Erhöhung von cAMP führt. Zwar wurde beschrieben, dass eine Steigerung der kontraktiven Kraft im isolierten Rattenvorhof von einem signifikanten Anstieg des cAMP begleitet war²⁵, jedoch fehlen weitere, diese Aussage bestätigende Studien.

In unserer Untersuchung zeigte sich eine eindeutige Steigerung der myokardialen cAMP Konzentration während Infusion der Prostaglandin I₂ Analoga: So stieg die cAMP Konzentration im Interstitium des Myokards unter EPP von $7.6 \pm 2.2 \text{ fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ auf $13.9 \pm 23.3 \text{ fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$; $p < 0.05$, und während Gabe von ILO von $7.6 \pm 10.7 \text{ fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ auf $11.7 \pm 5.9 \text{ fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ an.

Die während Infusion von Prostaglandin I₂ Analoga beobachtete Kontraktilitätssteigerung ging somit einher mit einer Zunahme der interstitiellen cAMP-Konzentration. Dies deutet daraufhin, dass die Kontraktilitätssteigerung über die höhere intrazelluläre cAMP Konzentration infolge Prostaglandin I₂ Analoga Gabe vermittelt ist⁵⁵.

4.3.5 Wirkmechanismus der Prostaglandin I₂ Analoga

Eindeutige Beweise für den Wirkmechanismus des PGI₂ am Myokard fehlen bislang und konnten auch durch unsere Arbeit nicht eindeutig geklärt werden. Eine mögliche Erklärung bieten unter Einbezug aktueller Studien folgende Überlegungen:

In isolierten Schweineherzen binden Prostaglandin I₂ Analoga an myokardiale Prostaglandin (EP₃) Rezeptoren und hemmen die G-Protein gebundene Adenylatzyklase des Sarkolems. Dies führt zu einem Anstieg des second-messengers cAMP⁴⁵. Der intrazelluläre Anstieg des cAMP im Myokard führt seinerseits zu einer Steigerung der Kontraktilität (siehe 1.4.2).

Als Prostaglandin vom I -Typ bindet Iloprost ebenso an EP₃ Rezeptoren, jedoch schwächer als Prostaglandine vom E-Typ⁴⁵. PGE₁, ein Prostaglandin vom E-Typ bindet an EP₃ Rezeptoren. Ein positiv inotroper Effekt von PGE₁ konnte jedoch nicht gezeigt werden^{45, 103}.

Folglich kann die durch Prostaglandin I₂ Analoga gezeigte Kontraktilitätssteigerung nicht allein durch Stimulation von EP₃ Rezeptoren hervorgerufen worden sein.

Pavlovic zeigte in seiner 1992 veröffentlichten Untersuchung, dass die positiv inotrope Wirkung des Prostacyclin in isolierten rechten Rattenventrikeln durch den Betablocker Propanolol gehemmt wird⁸⁸. Dies deckt sich mit der Aussage einer früheren Studie, die die Annahme formulierte, dass Iloprost mit β-Adrenoceptoren interferiert, da es eine Inhibition der Antwort von durch β-Rezeptoren vermittelten Effekten von Adrenalin und Noradrenalin bewirkte²².

Dies veranlasst uns zu der Annahme, daß in der vorliegenden Studie nicht nur eine Stimulation der EP₃ Rezeptoren, sondern auch die Bindung von Epoprostenol an myokardiale β-Rezeptoren zu der gezeigten Kontraktilitätssteigerung geführt hat. Die Signalübertragung an Kardiomyozyten beinhaltet sowohl das Adenylatzyklase/cAMP

System als auch das Phospholipase C/IP₃ System¹⁰⁴. Beide Mechanismen wären also denkbar. 1994 berichtete Katsuyama, dass Iloprost an humane Prostacyclinrezeptoren bindet und konzentrationsabhängig den cAMP Spiegel steigerte *und* IP₃ in diesen Zellen generierte⁵². Dies zeigt, dass menschliche Prostacyclinrezeptoren offensichtlich viele Signalübertragungswege verbinden können. Eine Zuordnung zu β -Rezeptoren oder EP₃ Rezeptoren war bisher allerdings nicht möglich und muß Bestandteil zukünftiger Untersuchungen bleiben.

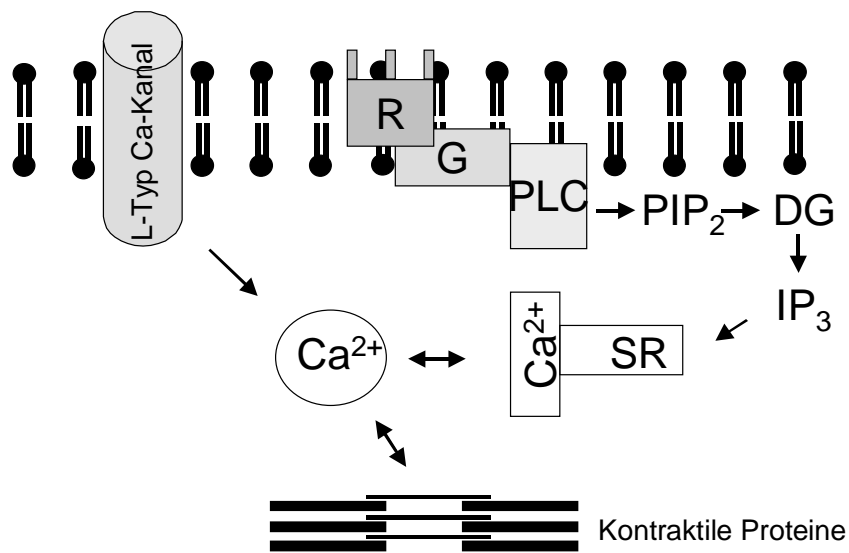


Abb.4.3.5: Wirkmechanismus über EP3 Rezeptoren

R	EP3-Rezeptor
G	G-Protein
PLC	Phospholipase C
PIP₂	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphat
DG	Diacylglycerin
IP₃	Inositoltriphosphat
SR	Sarkoplasmatisches Retikulum

4.4 Klinische Relevanz der Ergebnisse

Unsere Studie belegt erstmals eine klinisch relevante positiv inotrope Wirkweise der Prostaglandin I₂ Analoga Epoprostenol und Iloprost in vivo. Wegen ihrer zusätzlichen vasodilatierenden Eigenschaften lassen sich Prostaglandin I₂ Analoga daher der Gruppe der Inodilatoren zuordnen, da sie die für die Zugehörigkeit zu dieser Stoffgruppe nötigen Eigenschaften besitzen.

In der Einleitung dieser Arbeit wurde bereits ausführlich von den positiven Ergebnissen der PGI₂ Anwendung bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie und Rechtsherzversagen berichtet. Bisher wurde die vasodilatierende Eigenschaft von Prostanoiden durch Relaxation der Gefäßmuskulatur, v.a. auch im pulmonalen Gefäßbett als alleiniger Mechanismus für die Wirksamkeit dieser Substanzgruppe in der Therapie der pulmonalen Hypertonie angesehen. Der Einsatz von Prostacyclinen erfolgt dabei aufgrund der Beobachtung, dass es bei der pulmonalen Hypertonie zu einem Ungleichgewicht zwischen Thromboxan- und Prostacyclinmetaboliten kommt¹³ und auf dem Nachweis vom Verlust der Prostacyclinsynthese im pulmonalen Gefäßbett bei pulmonaler Hypertonie²⁹.

Bei akuter Rechtsherzinsuffizienz infolge fortgeschrittener pulmonaler Hypertonie werden zur Zeit die Katecholamine Dobutamin und Dopamin in Kombination mit Vasodilatoren eingesetzt⁶². Die Katecholamine wirken über einen Anstieg des cAMP positiv inotrop, chronotrop und dromotrop⁴⁶. Inodilatoren wie Epoprostenol und Iloprost könnten somit in der Zukunft möglicherweise in der Spätphase der pulmonalen Hypertonie an die Stelle der Katecholamine treten, gegebenenfalls ohne Kombination mit weiteren Vasodilatoren.

5 Zusammenfassung

5.1 Hintergrund und Versuchsziel

Pathophysiologisch ist die Herzinsuffizienz definiert als Unfähigkeit des Herzens, Blut und somit Sauerstoff in einem Maße, das den Bedürfnissen gerecht wird, zu den Organen zu transportieren (WHO 1995)²³. Die in fortgeschrittenen Stadium an einer Herzinsuffizienz Erkrankten haben eine schlechte Prognose. Anders als bei Patienten mit Linksherzinsuffizienz kann die Infusion von Prostaglandin I₂ Analoga bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie und Rechtsherzinsuffizienz des Schweregrades NYHA III – IV die Hämodynamik und das Überleben dieser Patienten verbessern⁷.

Als dafür verantwortlicher Wirkmechanismus wurden bisher ausschliesslich die vasodilatierenden Eigenschaften von Prostanoiden vermutet. Zwar konnte eine positiv inotrope Wirkung von Prostaglandin I₂ bereits vor mehreren Jahren erstmals in vitro gezeigt werden^{4,25,71,88}, stichhaltige in vivo Studien hierzu fehlten allerdings bislang. Das Ziel unserer Studie war es aber, die Wirkung der Prostaglandin I₂ auf die Myokardkontraktilität in vivo nachzuweisen. Da eine kontraktilitätssteigernde Wirkung im Herzen meist über einen cAMP Anstieg ausgelöst wird¹⁰¹, sollte mit vorliegender Forschungsarbeit die Wirkung der Prostaglandin I₂ Analoga sowohl auf myokardiales cAMP als auch die linksventrikuläre Kontraktilität untersucht werden.

5.2 Methodik

Die Studie wurde als randomisierte, kontrollierte tierexperimentelle Untersuchung in einem Crossover-Design angelegt. Als Versuchstiere dienten 11 narkotisierte und beatmete Hausschweine. Nach Präparation erhielten diese in randomisierter Reihenfolge die Testsubstanzen Epoprostenol (EPP) und Iloprost (ILO) und die Kontrollsubstanzen Adenosin (ADO) und Natriumnitroprussid (NNP), wobei ILO wegen seiner langen Halbwertszeit jeweils zuletzt verabreicht wurde. Da jedem Tier alle Substanzen verabreicht wurden, fungierte jedes Tier als eigene Kontrolle. Im Protokoll wurden 8 Messzeitpunkte festgelegt, dabei jeweils einer vor, während und nach Substanzgabe. Nach ILO Applikation wurde aufgrund der langen Halbwertszeit dieser Substanz keine Kontrollmessung nach Absetzen der Substanz durchgeführt. Neben Messungen allgemeiner hämodynamischer Parameter lag ein Schwerpunkt unserer Untersuchung in der Bestimmung des second-messengers cAMP im myokardialen Interstitium des linken Ventrikels und der Messung der linksventrikulären Kontraktilität. Die interstitiellen cAMP-Konzentrationen wurden mittels ELISA aus Proben bestimmt, die durch im Myokard des linken Ventrikels implantierte Mikrodialysesonden gewonnen wurden.

Die linksventrikuläre Kontraktilität wurde mittels der Conductance-Methode bestimmt. Hierbei wird die endsystolische Druck-Volumenbeziehung gemessen und daraus die endsystolische Elastance E_{es} bestimmt. Diese stellt ein weitgehend lastunabhängiges Maß für die linksventrikuläre Kontraktilität dar. Durch simultane Ableitung von Druck und Volumen durch den Conductance-Katheter werden Druck-Volumenschleifen aufgezeichnet. Durch standardisierte Vorlastreduktion mittels Lastwechselmanöver⁵ (siehe 2.3.6.4) werden diese Schleifen kleiner und verschieben sich, was es

ermöglicht, eine Regressionsgerade durch die endsystolischen Punkte der Schleifen zu legen. Die Steigung dieser Geraden ist die endsystolische Elastance (E_{es}).

5.3 Ergebnisse

Die äquipotente Dosierung der Vasodilatoren wurde dadurch erreicht, dass der diastolische Aortendruck (DAP) auf ein vergleichbares Niveau von 75% des Ausgangswertes gesenkt wurde. Diese Reduktion des DAP war mit Ausnahme der ILO Infusion komplett reversibel. Verglichen mit den Baselinewerten reduzierte NNP den DAP auf 74%, ADO auf 69%, EPP auf 73% und ILO auf 70%. Der Herzindex wurde signifikant durch ADO, EPP und ILO gesteigert. Im pulmonalen Kreislauf manifestierte sich die Vasodilatation in einer signifikanten Senkung des mittleren pulmonalarteriellen Blutdrucks (PAP) durch NNP, ADO und ILO. Die Vasodilatation führte nicht nur zu einer reflektorischen Tachykardie bei NNP, EPP und ILO, sondern in der Folge auch zu einer Verkürzung der Systole und besonders der Diastole. Die durch den Conductance-Katheter bestimmte endsystolische Elastance (E_{es}), das weitgehend lastunabhängige Maß für Kontraktilität, wurde sowohl durch EPP als auch durch ILO signifikant erhöht. Im Gegensatz dazu blieb die E_{es} während NNP und ADO unverändert. Die ebenfalls mit dem Conductance-Katheter abgeleitete globale enddiastolische Funktion, ausgedrückt durch den Parameter der enddiastolischen Compliance (C_{ed}), wurde durch keine der Substanzen signifikant verändert. Die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit dp/dt_{min} , das Maß für die frühe aktive isovolämische Relaxationsphase⁶¹, sank signifikant während der Infusion von NNP und ADO ab, jedoch nicht bei Gabe von Prostaglandinen. Die relative

Relaxationszeitkonstante τ , als Parameter der späten aktiven isovolämischen Relaxationsphase, wurde mit Ausnahme von ADO durch alle Substanzen reversibel erhöht.

Während der cAMP-Spiegel im Plasma durch die beiden Versuchssubstanzen EPP und ILO nicht gesteigert wurde, wurde der cAMP-Spiegel im linksmyokardialen Interstitium durch die Gabe von EPP signifikant erhöht.

5.4 Diskussion

Zur Bestimmung der Kontraktilität musste in unserem Modell ein Maß gewählt werden, das nicht nur unabhängig von Änderungen der Vor- und Nachlast ist, sondern auch unbeeinträchtigt bleibt von der durch Vasodilatation hervorgerufenen reaktiven Tachykardie. Als Messparameter wurde daher die endsystolische Elastance (E_{es}) herangezogen. Sie wird mittels der Conductance-Methode bestimmt und bezeichnet die Steigung der Geraden durch die endsystolischen Punkte der während Lastwechselmanöver aufgezeichneten Druckvolumenschleifen.

Das Kontraktilitätsmaß E_{es} wurde durch Infusion der Prostaglandin I_2 Analoga gesteigert. Im Gegensatz dazu blieb es unverändert während der Applikation von ADO und NNP. Aus diesem Grund kann davon ausgegangen werden, dass die Steigerung der E_{es} eine substanzspezifische Wirkweise der Prostaglandin I_2 Analoga ist und nicht durch Änderungen der Herzfrequenz oder Vasodilatation erklärt werden kann. Auch andere Ursachen für diese Kontraktilitätssteigerung, beispielsweise Elektrolytveränderungen, können als Erklärung hierfür weitgehend ausgeschlossen werden, da die Elektrolyte während der gesamten Dauer des Protokolls im klinischen Normbereich lagen. Auch eine Sympathikusaktivierung über Baroreflexe aktiviert

durch die Vasodilatation kann unspezifisch zu einer Steigerung der Kontraktilität beitragen. Dies würde in vorliegender Studie aber bedeuten, dass alle Substanzen von derselben Reflexantwort hätten gefolgt sein müssen, denn infolge des Versuchsdesigns wurden alle Vasodilatoren bis zu einer identischen Blutdrucksenkung titriert. Diese Blutdrucksenkung führte bei NNP, ILO und EPP zu einer reflektorischen Tachykardie. Hierdurch verkürzte sich zwar die Diastolendauer, die globale diastolische Funktion, ausgedrückt durch die enddiastolische Compliance (C_{ed}) blieb jedoch erhalten.

Der cAMP-Plasmaspiegel stieg im Verhältnis weniger an als der des myokardialen Interstitiums. Demzufolge ist es wahrscheinlich, dass die Stimulierung von kardialen Prostaglandin I_2 Rezeptoren durch EPP und ILO zu diesem Anstieg des cAMP im myokardialen Interstitium geführt haben.

Somit liegt die Vermutung nahe, dass die gesteigerte Kontraktilität über die höhere intrazelluläre cAMP-Konzentration nach Gabe von Prostaglandin I_2 Analoga vermittelt ist⁵⁵. Als mögliche Signaltransduktionswege lassen sich sowohl eine Bindung der Prostaglandin I_2 Analoga an EP3 Rezeptoren als auch eine Bindung an β -Rezeptoren diskutieren. Bisher sind beide jedoch nicht eindeutig geklärt.

5.5 Schlussfolgerung

Mit der vorliegenden Studie wurde erstmals belegt, dass Prostaglandin I_2 Analoga neben einer vasodilatierenden auch eine positiv inotrope Wirkkomponente aufweisen. Zukünftig müssen somit Prostaglandin I_2 Analoga der Gruppe der Inodilatoren zugeordnet werden.

6 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADO	Adenosin
AC	Adenylatcyclase
ACE	Angiotensin converting enzyme
AT	Angiotensin
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
CI	Herzindex
C	Kohlenstoff
Ca	Kalzium
CO	Cardiac output; Herzzeitvolumen
CO ₂	Kohlendioxid
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
AOP	aortaler Blutdruck
ca.	circa
C _{ed}	Enddiastolische Compliance
CI	Cardiac Index
DAP	diastolischer Aortendruck
DFT	diastolische Füllungszeit
d.h.	Das heißt
dp/dt _{max}	maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit
dp/dt _{min}	maximale Druckabfallsgeschwindigkeit
E _{es}	Endsystolische Elastance
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme linked immuno assay
EPP	Epoprostenol
G-Protein	guanylnucleotidbindendes Protein
H	Wasserstoff
HF	Herzfrequenz
HMV	Herzminutenvolumen
Hb	Hämoglobin
I	Strom
ILO	Iloprost
i.v.	intravenös
K	Kalium
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
LV	linksventrikulär
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVEDV	enddiastolisches Volumen
LVP	linksventrikulärer Druck
LVS _W	linksventrikuläre Schlagarbeit
n	Anzahl
Na	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NNP	Natriumnitroprussid
NYHA	New York Heart Association
O	Sauerstoff
PAP	Mittlerer pulmonalarterieller Blutdruck
PG	Prostaglandin
pCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck

$P_a\text{CO}_2$	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
$p\text{O}_2$	Sauerstoffpartialdruck
$P_a\text{O}_2$	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PP_i	Pyrophosphat
PVRI	pulmonalvaskulärer Widerstandsindex
PCWP	pulmonalkapillärer Verschlussdruck
s.u.	siehe unten
s.o.	siehe oben
SV	Schlagvolumen
SVRI	systemischer vaskulärer Widerstandsindex
U	Spannung
T	Temperatur
t	Zeit
t_{insp}	Inspirationsdauer
t_p	Passagezeit
tPER	Zeit bis zum maximalen Auswurf
TX	Thromboxan
v	Geschwindigkeit
V	Volumen
V_{max}	maximales Volumen
V_{min}	minimales Volumen
vs.	versus
ZVD	zentraler Venendruck

7 Literaturverzeichnis

1. Appel JZ 3rd, Buhler L, Cooper DK: The pig as a source of cardiac xenografts; *J Card Surg* 2001 Sep-Oct;16(5):345-56
2. Applegate RJ, Cheng CP, Little WC: Simultaneous conductance catheter and dimension assessment of left ventricular volume in the intact animal; *Circulation* 1990; 81:638-48
3. Armstrong RA: Platelet prostanoid receptors; *Pharmacol Ther* 1996; 72(3):171-91
4. Auclair MC, Vernimmen C, Lechat P: Influence of prostacyclin and two metabolites on the contractility of cultured rat heart cells; *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1988 Apr;32(1):33-8
5. Baan J, van der Velde ET, de Bruin HG, et al: Continuous measurement of left ventricular volume in animals and humans by conductance catheter. *Circulation* 1984; 70:812-23
6. Barst RJ: Treatment of Primary Pulmonary Hypertension with Continuous intravenous Prostacyclin; *Heart* 1997; 77:299-301
7. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, 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; 334: 296-302
8. 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; 121: 409-415
9. Bonow RO, Galiè N, Gheorghide M, Magnani B: A Symposium: Cardiovascular Effects of Prostaglandins; *Am J Cardiol* 1995; 75: 1A-2A
10. Bruns A, Reil GH in Thieme`s Innere Medizin, Stuttgart 1999
11. Burkhoff D: The conductance method of left ventricular volume estimation: methodologic limitations put into perspective; *Circulation* 1990; 81:703-706
12. Califf RM, Adams KF, McKenna WJ, Gheorgiade M, Uretsky BF, McNulty SE, Darius H, Schulman K, Zannad F, Handberg-Thurmond E, Harrel FE, Wheeler W, Soler-Soler J, Swedberg K: A randomised controlled trial of epoprostenol therapy for severe congestive heart failure: The Flolan International Randomized Survival Trial (FIRST); *Am Heart J* 1997; 134:44-54
13. Christman BW, Mc Pherson CD, Newman JH et al.: An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension; *N Engl J Med* 1992; 327: 70-5
14. Cohn JN, Archibald DG, Ziesche S, Franciosa JA, Harston WE, Tristani FE, Dunkman WB, Jacobs W, Francis GS, Flohr KH, Goldman S, Cobb F, Shah PM, Saunders R, Fletcher RD, Loeb HS, Hughes VC, Baker B: Effect of vasodilator therapy on mortality in chronic congestive heart failure: results of a Veterans Administration Cooperative study; *N Engl J Med* 1986; 314: 1547-1552

15. Collins GA, MacLeod BA, Walker MJA: Blood pressure and cardiac tissue responses to prostacyclin (PGI₂) in various species. *Can J Physiol Pharmacol* 60:134; 1982
16. Couttenye MM; De Clerck NM, Herman AG, Brutsaert DL: Effects of prostacyclin on contractile properties of isolated mammalian cardiac muscle; *J Cardiovasc Pharmacol* 1985 Sep-Okt; 7(5): 971-6
17. Cremona G, Higgenbottom T: Role of Prostacyclin in the treatment of Primary Pulmonary Hypertension; *Am J Cardiol* 1995; 75:67A-71A
18. Danton MH, Byrne JG, Hsin M: Right ventricular volume measurement using the conductance catheter method: validation in excised porcine hearts; *ASAIO* 48(5) : 514-519, 2002
19. Dickstein M, Yano O, Spotnitz H, Burkhoff D: Assessment of right ventricular contractile state with the conductance catheter technique in the pig; *Cardiovasc Res* 1995; 29:820-826
20. Diehm C: Prostacyclin Aktuell, 1998
21. Dies F, Krell MJ, Whitlow P, Liang C, Goldenberg I, Applefield MM, Gilbert EM: Intermittent dobutamine in outpatients with chronic cardiac failure (Abstr.); *Circulation* 1986; 74 (suppl.11):11-39
22. Ercan ZS, Turker RK: Possible beta-adrenoceptor modulating effect of ZK 36374 a stable analogue of carbacyclin; *Prostaglandins Leukot Med.* 1984 Jul; 15 (1): 45-52
23. Erdmann E.(Hrsg.): *Klinische Kardiologie*, 5.Aufl. ; 2000
24. Ewert R, Opitz C, Wensel R, Winkler J, Höffken G, Frank W, Berger F, Kleber FX, Hetzer RI: Iloprost als inhalative bzw. intravenöse Langzeitbehandlung von Patienten mit Primärer Pulmonaler Hypertonie. *Z Kardiol* 2000; 89:987-999
25. Fassina G, Tessari F, Dorigo P: Positive inotropic effect of a stable analogue of PGI₂ and of PGI₂ on isolated guinea pig atria. Mechanism of action. *Pharmacol Res Commun* 1983; 15:735-49
26. Filczewski M, Oledzka K; The effect of prostacyclin on some hemodynamic parameters in dogs; *Pol J Pharmacol Pharm* 1981; 33(5): 491-8
27. Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, et al: Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 1992; 257:387-9
28. Fleetwood G, Bettmann MA, Gordon JL: The effects of radiographic contrast media on myocardial contractility and coronary resistance: osmolality, ionic concentration, and viscosity. *Invest Radiol* 1990; 25:254-60
29. Giaid A, Saleh d: Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension; *N Engl J Med* 1995; 333: 214-21
30. Glower DD, Spratt JA, Snow ND et al: Linearity of the Frank Starling relationship in the intact heart: the concept of preload recruitable stroke work *Circulation* 1985; 71:994-1009
31. Gorman RR, Bunting S, Miller OV: Modulation of human platelet adenylate cyclase by prostacyclin (PGX); *Prostaglandins* 1977;13: 389-397

32. Gorscan J III, Denault A, Mandarino M, Pinsky M.: Left ventricular pressure-volume relations with transesophageal echocardiographic automated border detection. Comparison with conductance-catheter technique. *Am Heart J* 1996; 131 (3):544-552
33. Gröchenig E: Iloprost- Klinische Anwendung von Prostazyklin 1999
34. Guth BD, Wisneski J, Neese RA, White FC, Heusch G, Mazer D, Gertz E: Myocardial Lactate Release during Ischemia in Swine; *Circulation* 1990; 81: 1948-1958
35. Habler O, Kleen M, Hutter J, Podtschaske A, Tiede M, Kemming G, Welte M, Corso C, Batra S, Keipert P, Faithfull S, Messmer K: IV Perflubron emulsion versus autologous transfusion in severe normovolemic anemia: effects on left ventricular perfusion and function; *Res Exp Med* 1998; 197:301-318
36. Habler O, Kleen M, Podtschaske A, Hutter J, Tiede M, Kemming G, Welte M, Corso C, Messmer K: The Effect of Acute Normovolemic Hemodilution (ANH) on Myocardial Contractility in Anesthetized Dogs; *Anesth Analg* 83: 451-8
37. Habler O, Kleen M, Podtschaske A, Hutter J, Tiede M, Kemming G, Messmer K: Akute normovolämische Hämodilution (ANH): Effekte der ANH auf die diastolische Funktion des linken Ventrikels; *Der Anästhesist* 2000; 49:939-948
38. Haeusler G, Schliep HJ, Schelling P, Becker KH, Klockow M, Minck KO, Enenkel HJ, Schulze E, Bergmann R, Schmitges CJ, et al: High beta 1-selectivity and favourable pharmacokinetics as the outstanding properties of bisoprolol; *J Cardiovasc Pharmacol* 1986; 8 Suppl 11:S 2-15
39. Haney MF, Johansson G, Haggmark S, Biber B.: Method of preload reduction during LVPVR analysis of systolic function: airway pressure elevation and vena cava occlusion.; *Anesthesiology* 2002 Aug;97(2):436-46
40. Harrison G, Willis R, Headrick J: Extracellular adenosine levels and cellular energy metabolism in ischemically preconditioned heart; *Cardiovasc Res* 1998; 40: 74-87
41. Haywood GA, Adams KF jr, Gheorgiade M, Mc Kenna WJ: Is there a role for epoprostenol in the management of Heart Failure? *Am J Cardiol* 1995; 75:44A-50A
42. Higgenbottam TW, Butt AY, Dinh-Xaun AT, Takao M, Cremona G, Akamine S: Treatment of pulmonary hypertension with the continuous infusion of a prostacyclin analogue, iloprost; *Heart* 1998; 79:175-179
43. Higgenbottam TW, Wheeldon D, Wells F, Wallwork J: Long-term treatment of primary pulmonary hypertension with continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin); *Lancet* 1984; 1:1046-1047
44. Hoepfer MM, Schwarze M, Ehlerding S, Adler-Schuermeyer A. et al: Long-term treatment of Primary Pulmonary Hypertension with aerosolized Iloprost, a Prostacyclin Analogue. *N Engl J Med* 2000;342:1866-1870
45. Hohlfeld T, Zucker TP, Meyer J, Schrör K: Expression, function, and regulation of E-type prostaglandin receptors (EP3) in the nonischemic and ischemic pig heart; *Circ Res* 1997;81:765-73
46. Karow T (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie; 2004

47. Karunanithi MK, Michniewicz J, Copeland SE, Feneley MP: Right Ventricular Preload Recrutable Stroke Work, End-Systolic Pressure-Volume, and dp/dt_{max} -End-Diastolic Volume Relations compared as Indexes of Right Ventricular Contractile Performance in Conscious Dogs; *Circ Res* 1992; 70:1169-1179
48. Kass DA, Maughan WL, Guo ZM: Comparative influence of load versus inotropic states on indexes of ventricular contractility: experimental and theoretical analysis based on pressure-volume relationships; *Circulation* 1987; 76:1422-1436
49. Kass DA, Maughan WL: From 'Emax' to pressure-volume relations: a broader view. *Circulation* 1988; 77:1203-12
50. Kass D, Yamazaki T, Burkhoff D, Maughan L, Sagawa K: Determination of left ventricular end-systolic pressure-volume relationship by the conductance (volume) catheter technique. *Circulation* 1986; 73(3):586-595
51. Katircioglu SF, Sarita.. Ulus AT, Yamak B, Yüksel D, Ayaz S: Iloprost added to the cardioplegic solutions improves myocardial performance Prostaglandins Other Lipid Mediat, 55(1): 51-65; 1998
52. Katsuyama M, Sugimoto Y, Namba T. et al: Cloning an expression of a cDNA for the human prostacyclin receptor; *FEBS Lett* 1994; 344:74-78
53. Kazanova GV, Tsorin IB, Chirkova Elu, Chichkanov GG: The protective action of vasocyclin (prostacyclin) on the ischemic myocardium (Abstr.); *Farmakol Toksikol* 1991 54(3): 24-7
54. Kieler JN, Houltz E, Ricksten SE: A comparison of prostacyclin and sodium nitroprusside for the treatment of heart failure after cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1995; 9: 641-6
55. Kisch-Wedel H, Meisner F, Kemming G; Koehler C; Zwissler B: The Increased Left Ventricular Contractility by the Prostacyclin Analogue Epoprostenol Is Mediated by Cyclic Adenosine Monophosphate (cAMP), (Abstr.); *ASA Meeting Abstracts* 2001
56. Kishi T, Nakahashi K, Ito H, Taniguchi S, Takaki M; Effects of milrinone on left ventricular end-systolic pressure-volume relationship of rat hearts in situ; *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001 Sep;28(9):737-42
57. Klings ES, Hill NS, Jeong MH, Simms RW, Korn JH, Farber HW: Systemic sclerosis-associated pulmonary hypertension: short- and long-term effects of epoprostenol (prostacyclin); *Arthritis and Rheumatism* 1999; 42(12): 2638-2645
58. Koehler C, Kisch-Wedel H, Kemming G, Meisner F, Bruhn S, Flondor M, Kuebler W, Zwissler B: Wirkung von Prostaglandin I₂-Derivaten, Epoprostenol (PGI₂) und Iloprost (ILO) auf die diastolische Herzfunktion; (Abstr.); *Anästhesiologie und Intensivmedizin* 2001, 42: 533
59. Krause W, Muschick P, Wehrmann D: Cardiac and hemodynamic tolerability of iopromide with or without sodium or iloprost and of ioversol in the anesthetized rat; *Invest Radiol* 1994 Nov;29(11):978-84
60. Krzeminski T, Kurcok A, Juraszczyk Z, Kozik W, Kapustecki J, Kryj M, Brus R: Influence of verapamil on central and peripheral effects of prostacyclin on circulatory system in rats; *Med Biol* 1987; 65 (5-6): 249-53

61. Kumuda T, Karliner JS, Pouleur H, Gallagher KP, Shirato K, Ross J: Effects of coronary occlusion on early ventricular diastolic events in conscious dogs; *Am J Physiol* 1979; 237: H 542-549
62. Lang I: Neues über pulmonale Hypertension *J Kardiol* 2004; 11:21-9
63. Lasser RP, Schoenfeld MR, Allen DF, Friedberg CK: Reflex circulatory effects elicited by hypertonic and hypotonic solutions injected into femoral and brachial arteries of dogs. *Circ Res* 1960 8:913-916
64. Lawler OA, Miggin SM, Kinsella BT: Proteinkinase A-mediated phosphorylation of Serine 357 of the mouse prostacyclin receptor regulates its coupling to G(i)-, to G(s)-, and to G(q) coupled effector signalling. *J Biol Chem* 2001; 276 (36): 33596-33607
65. Lekven J.: Source of information in heart research 1978 and 1988; *Lab Anim* 1991 Apr;25(2): 162-7
66. Liang BT: Characterization of the adenosine receptor in cultured embryonic chick atrial myocytes: coupling to modulation of contractility and adenylate cyclase activity and identification by direct radioligand binding. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 249: 775-84
67. Löffler G: Funktionelle Biochemie: eine Einführung in die medizinische Biochemie; 2. Aufl. 1994: 342-3
68. Löffler G: Stoffwechsel der Lipide, In : Löffler G, Petrides PE; *Biochemie und Pathobiochemie*, Berlin: Springer 1997: 443
69. Massie BM, Shah NB: Evolving trends in the epidemiologic factors of heart failure: Rationale for preventive strategies and comprehensive disease management; *Am Heart J* 1997; 133: 703-12
70. Mertes PM: Cardiac Microdialysis; *Adv Pharmacol* 1998; 42: 544-547
71. Metsa KT: Cyclic AMP-dependent and -independent effects of prostaglandins on the contraction-relaxation cycle of spontaneously beating isolated rat atria. *Acta Physiol Scand* 1981; 112: 481-5
72. Mohan P, Brutsaert DL, Paulus WJ, et al: Myocardial contractile response to nitric oxide and cGMP. *Circulation* 1996; 93: 1223-9
73. Moncada S, Vane JR: Pharmacology and Endogenous Roles of Prostaglandin Endoperoxides, Thromboxane A₂, and Prostacyclin. *Pharm Rev*, 1979; 30(3): 293-320
74. 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; 263: 663-665
75. Montalescot G, Drobinski G, Meurin P, Maclouf J, Sotirov I, Philippe F, Choussat R, Morin E, Thomas D: Effects of prostacyclin on the pulmonary vascular tone and cardiac contractility of patients with pulmonary hypertension secondary to end-stage heart failure. *Am J Cardiol* 1998; 82(6): 749-55
76. Mutschler, E.(Hrsg.): *Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*; 7.Aufl.;1996

77. Müller M, Burgdorff T, Jansen B, Singer EA, Agneter E, Dorner G, Brunner M, Eichler HG: In vivo drug-response measurements in target tissues by microdialysis; *Clin Pharmacol Ther* 1997; 62: 165-70
78. Nemoto S, DeFreitas G, Mann DL, Carabello BA: The Effects of Changes in Left Ventricular Contractility on Indices of Contractility in Mice; *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 2002; 283(6): H2504-10
79. Nicolosi A, Hettrick D, Warltier D: Assessment of Right Ventricular Function in Swine Using Sonomicrometry and Conductance. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 1381-1388
80. Nicosia S, Oliva D, Bernini F, Fumagalli R.: Prostacyclin-sensitive adenylate cyclase and prostacyclin binding sites in platelets and smooth muscle cells. *Adv Cyclic Nucleotide Protein Phosphorylation Res* 1984; 17: 593-599
81. Otake M, Takeuchi M, Takaoka H et al: Determination of left ventricular volume using a conductance catheter in the diseased human heart; *European Heart Journal* 1992; 13E: 22-27
82. Ogletree ML, Lefer AM, Smith JB, Nicolaou KC: Studies on the protective effects of prostacyclin in acute myocardial ischemia; *Eur J Pharmacol* 1979; 56: 95-103
83. Ohlendorf R, Perzborn E, Schrör K: Prevention of infarction-induced decrease in circulating platelet count by prostacyclin; *Thromb Res* 1980; 19: 447-453
84. Olschewski H, Simonneau, Galiè N, Higenbottam T et al: Inhaled Iloprost for Severe Pulmonary Hypertension. *N Engl J Med* 2002; 347(5): 322-329
85. Packer M, Carver JR, Rodeheffer RJ, Ivanhoe RJ, Di Bianco R, Zeldis SM, Hendrix GH, Bommer WJ, Elkayam U, Kukin ML, Mallis GI, Sollano JA, Shannon J, Tandon PK, De Mets DL for the PROMISE research study group: Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. The PROMISE Study Research Group; *N Engl J Med* 1991; 325: 1468-1475
86. Paramothayan NS, Lasserson TJ, Wells AU, Walters EH: Prostacyclin for pulmonary hypertension; *Cochrane Database Syst Rev.* 2003; (2): CD002994, Update of *Cochrane Database Syst Rev.* 2002; (3)
87. Paulus WJ, Claes VA, Brutsaert DL: End-Systolic pressure–volume relationship from physiologically loaded cat papillary muscle contractions. *Circ Res* 1980; 64: 265-275
88. Pavlovic M, Petkovic D, Cvetkovic M, et al: Study of the mechanism of prostacyclin (PGI₂) action on myocardial contractility. *Agents Actions Suppl* 1992; 37: 171-5
89. Pavlovic M, Petkovic D, Cvetkovic M, et al: The influence of prostacyclin (PGI₂) on contractile properties of isolated right ventricle of rat heart. *Experientia* 1995;51:941-4
90. Piper P, Vane JR: The release of prostaglandins from lung and other tissues; *Ann NY Acad Sci* 1971; 180: 363-385
91. Ribeiro LGT, Brandon TA, Hopkins DG, Reduto LA, Taylor AA, Miller RR: Prostacyclin in experimental myocardial ischemia: effects on hemodynamics, regional myocardial blood flow, infarct size and mortality; *Am J Cardiol* 1981; 47: 835-840
92. Rich S, McLaughlin VV: The effects of chronic prostacyclin therapy on cardiac output and symptoms in primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1999;34: 1184-7

93. Robleto DO, Reitmeyer ST, Herman CA.:Cardiac inotropic effects of leukotriene C4 and prostaglandin I2 in the unanesthetized American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Can J Physiol Pharmacol*. 1988 Mar;66(3):233-8
94. Rote Liste[®] Service GmbH; (Ed.): Rote Liste 2001
95. Rubin LJ, Groves BM, Reeves JT, Frosolono M, Handel F, Cato AE: Prostacyclin-induced Acute Pulmonary Vasodilation in Primary Pulmonary Hypertension; *Circulation* 1982; 66: 334-338
96. Rutishauser W, Hess O :Kreislauf in klinische Pathophysiologie; Siegenthaler W.(Hrsg.) Thieme 2001
97. Sagawa K: (Editorial) The End-systolic Pressure-Volume of the Ventricle: Definition, Modification an Clinical use. *Circulation* 1981; 63 (6): 1223-1226
98. Sawmiller DR, Fenton RA, Dobson-JG J: Myocardial adenosine A₁ and A₂ receptor activities during juvenile and adult stages of development. *Am J Physiol* 1996; 271: H235-H243
99. Schering Deutschland GmbH (Hrsg.): Iloprost in der Klinik, 2002
100. Schertel ER: Assessment of Left-Ventricular Function; *Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 46: 248-254
101. Schmidt RF, Thews G, Lang F: *Physiologie des Menschen*, 28. Aufl. 2000
102. Schmidt HW, Lohmann, SM, Walter U: The nitric oxide and cGMP signal transduction system: regulation and mechanism of action; *Biochim Biophys Acta* 1993; 1178(2) 153-175
103. Schrader N, Erbel R, Wittlich N, Bannaie M, Gschossmann J, Rink C, Fuchs JB, Dages N, Mohr-Kahaly S, Meyer J: Hemodynamic effects of a single intravenous infusion of prostaglandin E1 in patients with clinically moderate to severe chronic heart failure; *Am J Ther* 2000; 4: 381-7
104. Schror K, Ohlendorf R, Darius H: Beneficial Effects of a New Carbacyclin Derivative, ZK 36 374, in Acute Myocardial Ischemia. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 219: 243-9
105. Schrör K, Hohlfeld Th: Inotropic actions of eicosanoids; *Basic Res Cardiol* 87:2-11; 1992
106. Smith EF, Gallenkamper W, Beckmann R, et al: Early and late administration of a PGI₂-analogue, ZK 36 374 (iloprost): effects on myocardial preservation, collateral blood flow and infarct size. *Cardiovasc Res* 1984; 18: 163-73
107. Stamato T, Szwarc R, Benson L: Measurement of right ventricular volume by conductance catheter in closed chest-pigs. *Am J Physiol* 1995: 269: H869-76
108. Stryer L: *Biochemie*; 4. Aufl., dt. Überstzg.,1996
109. Szwark RS, Ball H: Simultaneous LV and RV volumes by conductance catheter: effects of lung insufflation by parallel conductance; *Am J Physiol* 1998; 275: H653-661

110. Takeuchi M, Odake M, Takaoka H, Hayashi Y, Yokoyama M: Comparison between preload recruitable stroke work and the end-systolic pressure-volume relationship in man; *European Heart Journal* 1992; 13E: 80-84
111. Tateson JE, Moncada S, Vane JR: Effects of prostacyclin (PGX) on cyclic AMP concentrations in human platelets; *Prostaglandins* 1977; 13: 377-388
112. The Xamoterol in Severe Heart Failure Study Group: Xamoterol in severe heart failure; *Lancet* 1990; 336: 1-6
113. Tucker A, Belcher C, Moloo B, Bell J, Mazzulli T, Humar A, Hughes A, McArdle P, Talbot A: The production of transgenic pigs for potential use in clinical xenotransplantation: baseline clinical pathology and organ size studies; *Xenotransplantation* 2002 May; 9(3): 203-8
114. Tutsch D, Boss N, Wangerin G, Bertschinger B, Parzhuber S, Striebeck Ch, Tiroch H: *Lexikon der Medizin*, München 1997
115. Van der Velde ET, Burkhoff D, Steendijk P, et al: Nonlinearity and load sensitivity of end-systolic pressure-volume relation of canine left ventricle in vivo. *Circulation* 1991; 83: 315-27
116. Vane JR: Clinical potential of prostacyclin; *Adv Prostaglandins Thromboxane, Leukot Res* 1983; 11: 449-456
117. Varma N, Morgan JP, Apstein CS: Mechanisms of Diastolic Dysfunction During Low-Flow Ischemia; *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002 Oct 31
118. Weiss JL, Frederiksen JW, Weisfeldt ML: Hemodynamic determinants of the time-course of fall in canine left ventricular pressure; 1976; *J Clin Invest* 58: 751-760
119. Wellhöner HH: *Allgemeine und systematische Pharmakologie und Toxikologie* 1997
120. Welte M, Goresch T, Frey L, et al: Hypertonic saline dextran does not increase cardiac contractile function during small volume resuscitation from hemorrhagic shock in anesthetized pigs. *Anesth Analg* 1995; 80: 1099-107
121. Wikström G, Ronquist G, Nilsson S, Maripu E, Waldenström A: Continuous monitoring of energy metabolites using the microdialysis during myocardial ischemia in the pig; *Eur Heart J* 1995; 16: 339-347
122. Zolessi R: Pharmacotherapy Perspectives: Epoprostenol (Flolan®), *Journal of the Pharmacy Society of Wisconsin* 2001: 25-29

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. B. Zwissler für die Überlassung des Themas meiner Doktorarbeit und die freundliche Aufnahme in die Arbeitsgruppe Anästhesie am Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität München. Durch konstruktive Kritik lehrte er mich wissenschaftliches Arbeiten.

Ebenso möchte ich mich besonders bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. K. Messmer für die freundliche Aufnahme in das Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität München bedanken. Er verfolgte stets mit großem Interesse den Fortschritt der Arbeit.

Meiner Betreuerin Frau Dr. med. H. Kisch-Wedel bin ich zu außerordentlichem Dank verpflichtet. Ihr, aber auch Herrn Dr. med. G. Kemming gebührt meine große Anerkennung. Sie standen mir stets mit Rat und Tat zur Seite. Ohne ihre große Geduld wäre diese Arbeit nie entstanden.

Bedanken möchte ich mich auch bei den anderen Teamkollegen, vor allem meinem Mit-Doktoranden S. Bruhn für die freundschaftliche und kollegiale Zusammenarbeit.

Ich möchte mich auch bei den anderen Mitarbeitern des Instituts, insbesondere Frau Alke Schropp und Frau Christine Csapo für Ihre tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Studie bedanken.

Letztendlich gilt ganz besonderer Dank meiner Mutter und meinem Mann, die mich stets unterstützt und motiviert haben.

Lebenslauf

PERSÖNLICHE ANGABEN

- Geburtsdatum: 14.07.1974
- Geburtsort: München
- Staatsangehörigkeit: deutsch
- Familienstand: verheiratet

AUSBILDUNG

- 1981 – 1985: Grundschule
- 1985 – 1995: Gymnasium mit Abschluß Abitur
- 1995 – 1996: Studium der Anglistik und der französischen Sprache an der Universität Regensburg
- 1996 – 2003: Studium der Humanmedizin an der Universität Regensburg und der Technischen Universität München mit Abschluß 3. Staats-examen Mai 2003
- Mai 2003: Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- Juli 2000: Doktorandin am Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilian-Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. K. Meißner)

BERUFLICHER WERDEGANG

- 09/2003 – 09/2004: Ärztin im Praktikum in der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin (Leiter: Prof. Dr. Diefenbach), St. Katharinen Hospital Frechen
- seit 10/2004: Assistenzärztin in der Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie (Leiter: Dr. med. Tsironis), St. Katharinen Hospital Frechen