

Christian Bopp

Dr. med.

Verbesserung der verminderten pulmonalen Vasoreaktivität auf inhaliertes Stickstoffmonoxid unter Endotoxinämie durch Inhibierung der Stickstoffmonoxidsynthase 2

Geboren am 26.08.1974 in Schwetzingen

Reifeprüfung am 21.06.1994 in Hockenheim

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1996 bis WS 2001/2

Physikum am 23.03.1998 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg

Staatsexamen 06.06.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anaesthesiologie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. R. Gust

Die verminderte bzw. fehlende Ansprechbarkeit auf inhaliertes Stickstoffmonoxid (iNO) bei der Therapie des ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME (ARDS) ist ein bislang unzureichend verstandenes Phänomen. Mit einem Anteil von 60% bei septischen ARDS Patienten, sogenannte NON-RESPONDER, stellt dies zudem ein klinisch-relevantes Problem dar. Da es Hinweise auf eine Modulation, sowohl der NO-Synthese, als auch des NO-Signaltransduktionsweges gibt, war das Ziel dieser Arbeit, ein NON-RESPONDER Modell der verminderten pulmonalen Vasoreaktivität auf inhaliertes NO durch Endotoxinämie zu etablieren und desweiteren mögliche Interventionen *in vivo* zu charakterisieren, die die Ansprechbarkeit auf die NO-Inhalation *in situ* verbessern könnten.

Die Untersuchungen fanden hierzu am Modell der isoliert perfundierten Rattenlunge mit Endotoxinämie statt, da die septischen NON-RESPONDER das klinisch bedeutsamste Kollektiv darstellen. Nach Applikation von LPS-Endotoxin *in vivo* erfolgte nach einer Endotoxiämiedauer von 16 - 18 Stunden die isolierte Ventilation und Perfusion der Lungen. Nach Induktion und Stabilisierung einer pulmonalen Hypertonie mittels kontinuierlicher Infusion des Thromboxanalogons U-46619 wurde die pulmonale Vasoreaktivität auf 0,4, 4,

und 40 parts per million (ppm) inhaltiv verabreichtes NO untersucht. In diesem Modell zeigte sich eine deutlich verminderte pulmonale Vasoreaktivität Endotoxin-vorbehandelter Tiere im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren. Diese *in situ* Beobachtung war mit erhöhten Nitrat/Nitrit-Werten im Serum Lipopolysaccharid (LPS)-vorbehandelter Tiere, als Zeichen eines erhöhten endogenen NO-Umsatzes, assoziiert. Da zahlreiche Studien eine Expression der NO-Synthase 2 (NOS2) in der Endotoxinämie bzw. Sepsis belegen, wurde in dieser Arbeit die NOS2-Aktivität mittels selektiver NOS2-Inhibitoren *in vivo* blockiert. So sollte eine mögliche Modulation des NO-Signaltransduktionsweges mit resultierender Verschlechterung der pulmonalen Vasoreaktivität als Folgen einer NOS2 typischen, massiven NO-Produktion verhindert werden.

Die Applikation des NOS2-Inhibitors Aminoguanidin bewirkte in allen drei von uns gewählten Dosierungen eine Verbesserung der pulmonalen Vasoreaktivität auf inhaliertes NO. In der vorliegenden Arbeit scheint die niedrigste Dosierung von AG (3 mg/kg KG) die effektivste Dosis zu sein, um die verminderte pulmonalen Vasoreaktivität zu verbessern, trotz eines nur moderaten Abfalls der Nitrat/Nitrit-Spiegel im Serum im Vergleich zu nur mit LPS behandelten Ratten. Die, anhand der *in situ* Ergebnisse, scheinbar dosisabhängige pulmonalen Vasoreaktivität auf iNO, läßt sich somit nicht ohne weiteres mit den gemessenen Nitrat/Nitrit-Werten im Serum in Einklang bringen. Bei der Applikation des NOS2-Inhibitors S-Methylisothioharnstoff kam es lediglich in einer Dosierung von 1 mg/kg KG zu einer kompletten Wiederherstellung der pulmonalen Vasoreaktivität auf iNO. In den zwei geringsten Dosierungen zeigte sich keine Abnahme des endogenen NO-Umsatzes als Hinweis auf eine zu geringe Dosierung des Inhibitors. Bei der *in situ* einzigen effektiven Dosierung von 1 mg/kg KG konnte eine deutlich reduzierte endogene NO-Produktion detektiert werden. Die höchste von uns gewählte Dosierung von SMT bewirkte *in situ* keine Verbesserung der pulmonalen Vasoreaktivität, sondern tendenziell sogar eine Verschlechterung.

Die Ergebnisse dieser Arbeit belegen, daß die Modulation der pulmonalen Vasoreaktivität auf inhaliertes NO unter Endotoxinämie assoziiert ist mit der endogenen NO-Produktion, da die Inhibierung der NOS2 *in vivo*, zum einen die endogene NO Produktion senkt und zum anderen die pulmonalen Vasoreaktivität auf iNO *in situ* verbessert. Weiterhin lassen die Ergebnisse den Schluß zu, daß die Dosierung der NOS2-Inhibitoren das Ausmaß der verminderten pulmonalen Vasoreaktivität auf inhaliertes NO zu beeinflussen scheint, wobei in der vorliegenden Arbeit AG effektiver ist, die pulmonalen Vasoreaktivität auf iNO zu verbessern bzw. sogar komplett wiederherzustellen als SMT. In der vorliegenden Arbeit verbessert die Hemmung der Enzymaktivität der NOS2 die pulmonale Vasodilatation auf iNO

in LPS-vorbehandelten Ratten. Diese Verbesserung legt eine gesteigerte pulmonale NO-Produktion bei der Entwicklung der verminderten pulmonalen Vasoreaktivität auf iNO bei septischen ARDS-Patienten nahe. Diese Beobachtungen lassen vermuten, daß eine selektive Inhibition der NOS2 die Ausbildung einer verminderten pulmonalen Vasoreaktivität bei septischen ARDS-Patienten verhindern könnte.