

Aus der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Die Wirkung von N-Methyl-Acetazolamid  
auf pulmonale, renale und endokrine  
Regulationsmechanismen unter Hypoxie**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Stella Telalbašić  
aus Berlin

Gutachter:       1. Prof. Dr. med. W. Boemke  
                      2. Prof. Dr. med. J. Weimann  
                      3. Priv.-Doz. Dr. med. D. Pappert

Datum der Promotion: 09.09.2011

*Für Mirjana Telalbašić,  
die mich das Lernen lehrte,  
in großer Dankbarkeit.*

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>7</b>
1.1	HYPOXIE	7
1.2	PHYSIOLOGISCHE REGULATIONSMECHANISMEN UNTER HYPOXIE	7
1.2.1	<i>Lunge: Regulationsmechanismen unter Hypoxie</i>	7
1.2.2	<i>Niere, Salz-Wasser-Haushalt und Endokrinologie: Regulationsmechanismen unter Hypoxie</i>	12
1.3	PATHOPHYSIOLOGISCHE MECHANISMEN UNTER HYPOXIE	19
1.3.1	<i>Höhenkrankheit</i>	19
1.3.2	<i>Präventions- und Behandlungsmöglichkeiten</i>	22
1.4	ZIEL DIESER UNTERSUCHUNG	24
1.4.1	<i>Vorarbeiten</i>	24
1.4.2	<i>N-Methyl-Acetazolamid</i>	27
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>29</b>
2.1	VERSUCHSTIERE	29
2.2	TIERHALTUNG UND ERNÄHRUNG	29
2.2.1	<i>Tierhaltung</i>	29
2.2.2	<i>Ernährung</i>	29
2.3	EINGEWÖHNUNG UND TRAINING DER HUNDE	30
2.4	VERSUCHSVORBEREITUNG	30
2.4.1	<i>Eigenblutspende</i>	30
2.4.2	<i>Diät und Versuchsvorbereitung</i>	30
2.5	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	31
2.5.1	<i>Anlage des Blasenkatheters und der Venenverweilkanüle</i>	31
2.5.2	<i>Anlage des Aortenkatheters</i>	32
2.5.3	<i>Anlage des Swan-Ganz-Katheters</i>	32
2.5.4	<i>Versuchsprotokolle</i>	33
2.6	QUANTITATIVE LABORANALYTIK	37
2.6.1	<i>Analyse der Elektrolyte in den Urin- und Plasmaproben</i>	37
2.6.2	<i>Analyse von <math>U_{Krea}</math> und <math>P_{Krea}</math></i>	37
2.6.3	<i>Blutgasanalyse</i>	37
2.6.4	<i>Hämoglobinkonzentration und <math>O_2</math>-Sättigung</i>	38
2.6.5	<i>Hormonanalyse</i>	38
2.7	STATISTISCHE AUSWERTUNG	39

<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>40</b>
3.1	VENTILATION, BLUTGASE UND SÄURE-BASEN-HAUSHALT .....	40
3.1.1	<i>Blutgase und Säure-Basen-Haushalt der NMA-low-dose-Gruppe und der NMA-high-dose-Gruppe</i> .....	40
3.1.2	<i>AMV und AZV in der NMA-low-dose- und NMA-high-dose-Gruppe</i> .....	42
3.2	HÄMODYNAMIK .....	43
3.2.1	<i>Systemische Hämodynamik der NMA-low-dose- und NMA-high-dose-Gruppe</i> ...	43
3.2.2	<i>Pulmonale Hämodynamik der NMA-low-dose- und NMA-high-dose-Gruppe</i> .....	44
3.3	RENALE EXKRETION UND PLASMAELEKTROLYTE .....	47
3.4	ACETAZOLAMIDSPIEGEL.....	49
3.5	HÄMOGLOBINKONZENTRATION .....	50
3.6	HORMONE .....	50
3.6.1	<i>PRA, PAC, AII und ADH</i> .....	50
3.6.2	<i>ET-I</i> .....	51
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>52</b>
4.1	METHODENKRITIK.....	52
4.1.1	<i>Der wache Hund</i> .....	52
4.1.2	<i>Die Atemmaske</i> .....	54
4.1.3	<i>Die normobare und die hypobare Hypoxie</i> .....	55
4.1.4	<i>Eigenblutspende und Hämoglobinkonzentration</i> .....	57
4.1.5	<i>Standardisierte Diät</i> .....	58
4.1.6	<i>Blasenentleerung und Kreatinin-Clearance</i> .....	58
4.1.7	<i>Dosierung und Applikation der Medikamente</i> .....	59
4.2	VENTILATION, BLUTGASE UND SÄURE-BASEN-HAUSHALT .....	60
4.2.1	<i>Wirkung der Hypoxie auf die Ventilation, die Blutgase und den Säure-Basen-Haushalt</i> .....	60
4.2.2	<i>Wirkung von ACZ auf die Ventilation, die Blutgase und den Säure-Basen-Haushalt unter Normoxie und Hypoxie</i> .....	61
4.2.3	<i>Wirkung von NMA auf die Ventilation, die Blutgase und den Säure-Basen-Haushalt unter Normoxie und Hypoxie</i> .....	62
4.3	SYSTEMISCHE HÄMODYNAMIK .....	63
4.4	DIE PULMONALE HÄMODYNAMIK .....	63
4.4.1	<i>Die Wirkung der Hypoxie auf die pulmonale Hämodynamik</i> .....	63

4.4.2	<i>Die Wirkung von ACZ auf die pulmonale Hämodynamik unter Normoxie und Hypoxie</i> .....	64
4.4.3	<i>Die Wirkung von NMA auf die pulmonale Hämodynamik unter Normoxie und Hypoxie</i> .....	66
4.5	<b>NIERE, SALZ-WASSER-HAUSHALT UND ENDOKRINOLOGIE</b> .....	67
4.5.1	<i>Die Wirkung der Hypoxie auf Niere, Salz-Wasser-Haushalt und Endokrinologie</i> .....	67
4.5.2	<i>Die Wirkung von ACZ auf Niere, Salz-Wasser-Haushalt und Endokrinologie unter Normoxie und Hypoxie</i> .....	69
4.5.3	<i>Die Wirkung von NMA auf Niere, Salz-Wasser-Haushalt und Endokrinologie unter Normoxie und Hypoxie</i> .....	69
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>70</b>
<b>6</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>72</b>
6.1	LITERATUR .....	72
6.2	TABELLENVERZEICHNIS.....	82
6.3	ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	83
6.4	VERWENDETE GLEICHUNGEN.....	83
6.5	ABKÜRZUNGEN UND DIMENSIONEN .....	84
6.6	DANKSAGUNG .....	88
6.7	LEBENS LAUF .....	89
6.8	PUBLIKATIONEN .....	90
6.9	ERKLÄRUNG AN EIDES STATT .....	91

# 1 Einleitung

## 1.1 Hypoxie

Es existiert keine einheitliche Definition für Hypoxie. Zander definierte *Hypoxie* als eine Verminderung des Sauerstoffpartialdrucks ( $P_{O_2}$ ) entweder im arteriellen Blut oder im Gewebe<sup>1</sup>. Ein exakter Grenzwert, ab dem man von Hypoxie spricht, lässt sich schwer festlegen, da Organe, verschiedene Zellverbände und sogar intrazelluläre Kompartimente unterschiedlich auf Sauerstoffmangel reagieren. Bezogen auf den Gesamtorganismus gilt ein arterieller Sauerstoffpartialdruck ( $P_{aO_2}$ ) unter 60 mmHg als hypoxisch<sup>2</sup>.

## 1.2 Physiologische Regulationsmechanismen unter Hypoxie

### 1.2.1 Lunge: Regulationsmechanismen unter Hypoxie

Hyperventilation ist eine der ersten Reaktionen des Organismus auf globale Hypoxie wie beispielsweise in Höhen über 2500 m. Über die hypoxische Stimulation peripherer Chemo-rezeptoren werden die Atemfrequenz (AF) und das Atemzugvolumen (AZV) erhöht. Es wird vermehrt Kohlenstoffdioxid ( $CO_2$ ) abgeatmet, der arterielle Kohlenstoffdioxidpartialdruck ( $P_{aCO_2}$ ) gesenkt und gleichzeitig der  $P_{aO_2}$  erhöht. Dies lässt sich anhand der alveolären Gasgleichung illustrieren.

$$P_{aO_2} = F_iO_2 (P_B - P_{H_2O}) - \left( \frac{P_A CO_2}{RQ} \right) \quad [mmHg]$$

Gleichung 1: **Die alveoläre Gasgleichung**

$$RQ = \frac{CO_2\text{-Abgabe}}{O_2\text{-Aufnahme}} = \frac{\dot{V}O_2}{\dot{V}CO_2} \quad [ml/min]$$

Gleichung 2: **Der respiratorische Quotient**

Die  $F_iO_2$  gibt die inspiratorische Sauerstofffraktion (0,21 bei Raumlufte),  $P_{H_2O}$  den Wasserdampfdruck bei einer Körpertemperatur von 37°C (45 mmHg),  $P_{AO_2}$  bzw.  $P_{ACO_2}$  den alveolären  $PO_2$  bzw.  $PCO_2$  und RQ den respiratorischen Quotient an. Der RQ beschreibt das Verhältnis des pro Zeiteinheit abgeatmeten Volumens  $CO_2$  zum verbrauchten Volumen  $O_2$  (ca. 0,85 bei ausgewogener Ernährung)<sup>2</sup>. Bei gesunden Probanden ist der alveoläre  $PCO_2$  etwa gleich dem  $P_{aCO_2}$ . Aus diesem Grund kann bei Berechnung des alveolären  $PO_2$  der alveoläre

PCO<sub>2</sub> durch den P<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> ersetzt werden. Auf dem Gipfel des Mount Everest würde sich nach der alveolären Gasgleichung bei einem dieser Höhe entsprechenden Barometerdruck (P<sub>B</sub>) von ca. 272 mmHg ein alveolärer PO<sub>2</sub> von -0,03 mmHg ergeben, wenn die Berechnung mittels eines den Meeresspiegelbedingungen-entsprechenden P<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> von ca. 40 mmHg erfolgte. Dieses Ergebnis ist nicht nur unsinnig, sondern wäre auch mit dem Leben nicht vereinbar. Setzt man jedoch den von Grocott et al. auf dem Mount Everest gemessenen P<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> von 13,3 mmHg<sup>3</sup> in Gleichung 1 ein, ergibt sich ein alveolärer PO<sub>2</sub> von ca. 30 mmHg. Die diesen Messwerten zugrundeliegende Hypokapnie hat eine respiratorische Alkalose zur Folge, welche der weiteren Steigerung der Ventilation eine Grenze setzt.

Ein weiterer wichtiger Mechanismus unter akuter Hypoxie ist die *hypoxische pulmonale Vasokonstriktion (HPV)*, nach ihren Erstbeschreibern auch Euler-Liliestrand-Mechanismus genannt<sup>4</sup>. Unter Meeresspiegelbedingungen verbessert dieser Mechanismus das Ventilations-Perfusions-Verhältnis und führt bei der physiologisch bestehenden Ungleichbelüftung der Lunge zur Umverteilung des Blutflusses aus hypoxischen in besser oxygenierte Bereiche<sup>5</sup>. Im Gegensatz dazu ist der Körper unter Bedingungen des Höhenklimas einer globalen Hypoxie ausgesetzt. Daher betrifft die HPV die gesamte Lunge und führt zum pulmonal-arteriellen Druckanstieg, welcher in der Pathogenese des Höhenlungenödems (High Altitude pulmonary edema, HAPE) eine Schlüsselrolle spielt (s. auch Kapitel 1.3.1). Die HPV tritt beim Abfall des alveolären PO<sub>2</sub> in Bereiche unter 50 mmHg auf<sup>6</sup>. Der Grad der Vasokonstriktion scheint sich proportional zur Tiefe der Hypoxie zu verhalten, d.h. je geringer der alveoläre PO<sub>2</sub> desto stärker die HPV<sup>7</sup>. Die HPV entsteht vor allem in den präkapillären pulmonal-arteriellen glatten Muskelzellen (pulmonary artery smooth muscle cells, PSMCs) in den kleinen pulmonal-arteriellen Widerstandsgefäßen (< 200 µm) am Eingang der Azini<sup>8</sup>.

Wie der Abfall des alveolären PO<sub>2</sub> in den PSMCs eine Kontraktion induziert, d.h. wie das sogenannte „Sauerstoff-Sensing“ funktioniert, ist weiterhin Gegenstand intensiver Forschung. Die Hypoxie-bedingte Kontraktion der PSMCs wird durch einen intrazellulären Kalziumanstieg (Ca<sup>2+</sup>-Anstieg) ausgelöst. Das eingeströmte Ca<sup>2+</sup> bindet im Zytoplasma an Calmodulin. Dieser Komplex aktiviert die Myosin-leichte-Ketten-Kinase, welche ATP (Adenosin-triphosphat) spaltet und das Phosphat auf die leichte Kette der Myosin-Köpfe überträgt. So phosphoryliert kann das Myosin in den Querbrückenzyklus eintreten, der zur Kontraktion führt. Beim Abfall des Ca<sup>2+</sup>-Spiegels kommt es durch Dephosphorylierung zur Unterbrechung des Querbrückenzyklus.

### 1.2.1.1 Die Wirkung des alveolären $PO_2$ -Abfalls auf die PSMCs – Mögliche Mechanismen des Sauerstoff-Sensing

Diese Arbeit soll dazu beitragen, die Mechanismen, die der HPV zugrunde liegen, besser zu verstehen. Diskutiert wird derzeit unter anderem die Rolle der L-Typ- $Ca^{2+}$ -Kanäle, des sarkoplasmatischen Retikulums (SR), der unspezifischen Kationen-Kanäle (nonspecific cation channels, NSCC), verschiedener Kalium-Kanäle ( $K^+$ -Kanäle) und der Mitochondrien.

Die *spannungsabhängigen L-Typ- $Ca^{2+}$ -Kanäle* sind am Einstrom von  $Ca^{2+}$  aus dem Extrazellulärraum beteiligt und liefern einen Großteil des für die Kontraktion benötigten  $Ca^{2+}$ . Einen weiteren, kleineren Teil stellt vermutlich das SR bereit<sup>7,9</sup>.

Die *unspezifischen Kationen-Kanäle (nonspecific cation channels, NSCCs)* sind ebenfalls am  $Ca^+$ -Einstrom aus dem Extrazellulärraum beteiligt. Sie könnten neben den reaktiven Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS, s.u.) und den spannungsabhängigen Kalium-Kanälen ( $K_v$ -Kanälen, s.u.) die Regulation der L-Typ- $Ca^{2+}$ -Kanäle unter Hypoxie steuern<sup>10-12</sup>.

Darüber hinaus sind verschiedene  $K^+$ -Kanäle, wie die  $K_v$ -Kanäle, die  $K^+$ -ATP-Kanäle oder die  $Ca^{2+}$ -aktivierten  $K^+$ -Kanäle<sup>13, 14</sup>, in die Hypoxie-assoziierte Membrandepolarisierung involviert. Eine besondere Bedeutung haben die  *$K_v$ -Kanäle  $K_v2.1$ ,  $K_v1.5$  und  $K_v9.3$* . Ihr Schließen gilt als mögliches Schlüsselereignis, welches Hypoxie und HPV verbindet. Unter Normoxie wird die Zellmembran der PSMCs mit Hilfe der  $Na^+/K^+$ -ATPase durch die Bewegung von  $K^+$  über die Zellmembran stabilisiert.  $K^+$  strömt dabei passiv entlang eines nach auswärts gerichteten Konzentrationsgradienten nach extrazellulär. Beim Abfall der Sauerstoffspannung wird durch einen unbekanntem Mechanismus der gerichtete  $K^+$ -Strom gehemmt und so die Zelldepolarisation ausgelöst. Dieser Prozess ist proportional zum Schweregrad der Hypoxie. Durch die Zelldepolarisation strömt  $Ca^{2+}$  über die L-Typ- $Ca^{2+}$ -Kanäle von extrazellulär nach intrazellulär.<sup>15</sup> Unter Normoxie sind die PSMCs durch den geöffneten Zustand der  $K_v$ -Kanäle relativ gesehen hyperpolarisiert und dadurch relaxiert<sup>16</sup>. Wie die  $K_v$ -Kanäle reguliert werden, ist derzeit noch nicht abschließend geklärt.

1986 stellten Archer et al. die These auf, dass der HPV-Mechanismus über eine Veränderung des *Redox-Status* von Sulfonylgruppen in der Zellmembran von PSMCs entsteht. So könnte sich z.B. in Folge einer herabgesetzten Produktion der ROS in den hypoxischen Zellen das Verhalten verschiedener Ionenkanäle ändern<sup>17</sup>. Ein Schlüsselenzym für diese sog. *Redox-Status-Hypothese* könnte die Nikotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat-Oxidase (NADPH-Oxidase) in den PSMCs sein. Sie wirkt vor allem intrazellulär und könnte der Hauptproduzent der ROS sein. Unter Hypoxie-Bedingungen verschiebt sie das Verhältnis von redu-

zierten zu oxidierten Redox-Paaren<sup>18</sup> und beeinflusst die Aktivität der  $K_v$ -Kanäle, die sich durch Oxidation öffnen und durch Reduktion schließen<sup>19</sup>. Des Weiteren fördern Redox-Status-Veränderungen auch die Ausschüttung von  $Ca^{2+}$  aus dem SR<sup>20</sup> und senken die cGMP-(Cyclisches Guanosinmonophosphat) Produktion, was auch zur Vasokonstriktion führt<sup>21</sup>. Es wurden verschiedene Möglichkeiten untersucht, durch Hemmung der NADPH-Oxidase die HPV zu unterdrücken<sup>22-24</sup>. Doch da alle eingesetzten Inhibitoren auch eine gewisse direkte, NADPH-Oxidase-unabhängige Wirkung auf die HPV aufwiesen, ist eine exakte Einordnung der Bedeutung der Redox-Status-Hypothese für die Ausbildung der HPV auf diese Weise unmöglich. Auch die Entwicklung NADPH-defizienter Knock-out-Mäuse konnten diese Hypothese nicht bestätigen<sup>25, 26</sup>. Darüber hinaus wird diskutiert, dass die NADPH-Oxidase zwar als  $O_2$ -Sensor fungiert, unter Hypoxie jedoch zum ROS-Anstieg führt<sup>27</sup>. Deshalb wurden Oxidanzien und Antioxidanzien in ihrer Wirkung auf die Reaktion der PSMCs untersucht. Durch beide konnte die HPV unterdrückt werden<sup>28, 29</sup>.

Unter Normoxie produziert auch die *mitochondriale Elektronentransportkette* der PSMCs ROS. Durch Hypoxie wird der Transport der Elektronen über die Atmungskette z.B. durch Hemmung von Komplex IV blockiert, was eine Abnahme der ROS-Produktion zur Folge hat<sup>13, 30</sup>. Auch hier vertreten einige Arbeitsgruppen die Meinung, dass die Mitochondrien zwar als  $O_2$ -Sensoren fungieren, unter Hypoxie jedoch die ROS-Produktion steigern<sup>27, 29</sup>. Neben einer möglichen Modulation der HPV durch ROS, regulieren die Mitochondrien durch  $Ca^{2+}$ -Pufferung<sup>31</sup> und Regulation des capacitative calcium entry, CCE einer Form der NSCC<sup>32</sup>, direkt die  $Ca^{2+}$ -Homöostase der Zelle.

Weitere Faktoren, die die HPV beeinflussen könnten, sind u.a. die *Zytochrom- P-450-Oxidase* und das *Endothel*. Durch Hypoxie wird die Funktion des Zytochrom-P-450 inhibiert. Dies führt über Alterationen im Arachnoidonsäure-Metabolismus zum Schließen der  $K_v$ -Kanäle und zur Vasokonstriktion.

Die Bedeutung des Endothels für die Ausbildung der HPV ist unklar. 1984 wurde durch Holden und McCall gezeigt, dass das Endothel in Pulmonalarterien von Schweinen die HPV verstärkt und dass für die Ausbildung der HPV intaktes Endothel notwendig ist<sup>33</sup>. Andererseits wurde nach Entfernung des Endothels in Pulmonalarterien von Ratten ein intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Anstieg beobachtet<sup>34</sup>. Des Weiteren kommt dem Endothelin, einer unter anderem vom Endothel ausgeschütteten Substanz, eine wichtige Rolle in der Ausbildung der HPV zu. In früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe in einem etablierten HPV-Modell an Schweinen konnten wir zeigen, dass die Inhalation des  $ET_A$ -Rezeptorantagonisten LU-

135252 den PAP senken konnte<sup>35</sup>. Sato et al. vermuteten, dass Endothelin als unspezifischer Stimulus wirkt, der die Antwort auf die Hypoxie verstärkt und über die K<sup>+</sup>-ATPase zur Depolarisation führt<sup>36</sup>. Es wird weiterer Untersuchungen bedürfen, die Bedeutung des Endothels und des Endothelins in die komplexen Mechanismen, die zur Ausbildung der HPV beitragen, einzuordnen.

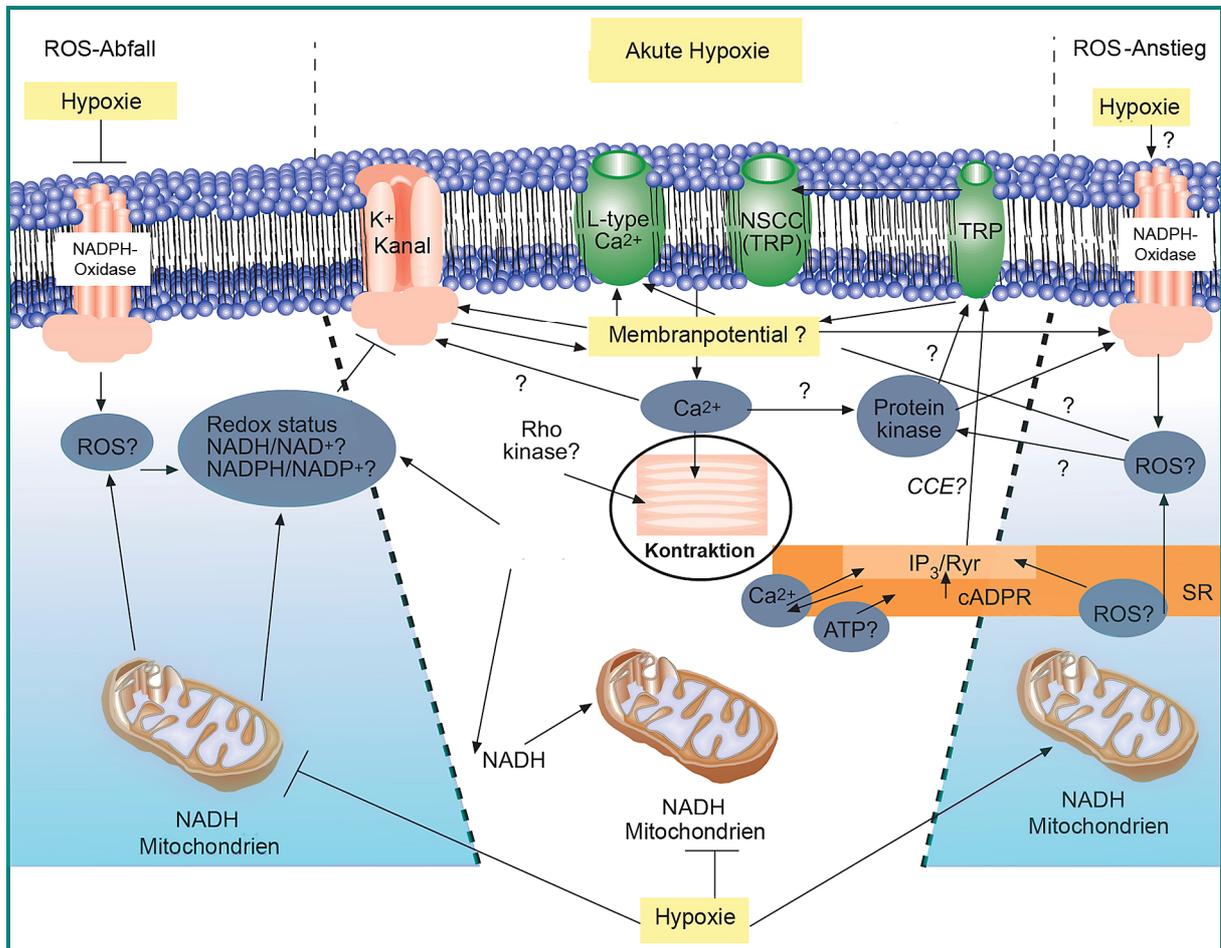


Abb. 1: Zusammenfassung der Mechanismen, die nach aktuellem Kenntnisstand an der Ausbildung der HPV in den PASMCs beteiligt sind.

Der intrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Anstieg entsteht durch einen Einstrom von extrazellulärem Ca<sup>2+</sup> über Ca<sup>2+</sup>-Kanäle und durch eine Ausschüttung von Ca<sup>2+</sup> aus intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Speichern. Die hypoxischen Effekte könnten durch einen Abfall (links) oder einen Anstieg (rechts) von ROS und auch unabhängig über NSCCs und L-Typ-Ca<sup>2+</sup>-Kanäle (Mitte) ausgelöst und/oder moduliert werden. (modifiziert nach Sommer et al. 2008)<sup>26</sup>

Insgesamt stellt die HPV ein komplexes Geschehen dar, welches durch ein Zusammenspiel verschiedener Faktoren auf Ebene der Zellmembran, der Organellen und des kontraktiven Apparates zustande kommt und nicht durch einen einzelnen zentralen Mechanismus gesteuert wird (s. Abb. 1). Daraus ergeben sich verschiedene pharmakologische Ansatzpunkte, um die HPV zu unterdrücken.

### 1.2.2 Niere, Salz-Wasser-Haushalt und Endokrinologie: Regulationsmechanismen unter Hypoxie

Die Veränderungen der renalen Funktion unter Hypoxie beruhen einerseits auf Effekten, die direkt an der Niere wirken, andererseits auf systemischen Anpassungsmechanismen wie dem systemischen Säure-Basen-Status, der Atmung, der Modulation durch neuroendokrine Reflexe und der Hämodynamik.

#### 1.2.2.1 Die renale Ausscheidung unter Hypoxie

Unter Hypoxie wurde sowohl ein Anstieg<sup>37</sup> als auch ein Abfall<sup>38</sup> der Urinausscheidung berichtet. Selbst innerhalb einzelner Studien ist eine große Streuung der Messwerte zu beobachten. Gründe hierfür sind: Die Geschwindigkeit, mit der der endgültige Hypoxie-Level erreicht wurde, die Dauer der Hypoxie, der  $P_B$ , die Salz- und Wasseraufnahme, die Fitness der Probanden, die ventilatorische Antwort auf Hypoxie und ob die Probanden eine AMS (Acute Mountain Sickness, akute Bergkrankheit) entwickelten. Unter physiologischen Bedingungen scheint die akute Hypoxie zur verstärkten Wasser- und  $\text{Na}^+$ -Ausscheidung (Natriumausscheidung) zu führen<sup>37, 39-42</sup>. Beim Aufstieg in große Höhen wird die Höhendiurese als vorübergehendes Phänomen der frühen Akklimation gesehen. Das Ziel ist vermutlich, die Sauerstofftransportkapazität des Blutes durch Eindicken (der Hämoglobingehalt steigt im Verhältnis zum Plasmavolumen) zu erhöhen, bis die Hypoxie-bedingte Induktion der Erythropoese beginnt<sup>40</sup>. Darüber hinaus könnte die Antidiurese eine Schlüsselrolle bei der Maladaptation spielen, denn Flüssigkeitsretention ist ein zentrales Problem aller Formen der Höhenkrankheit<sup>43</sup>.

Der Mechanismus, der der sog. *Höhendiurese* zugrunde liegt, ist weiterhin Gegenstand der Forschung. Nach Untersuchungen zur isolierten Wirkung der Hypoxie auf Gehirn und Nieren in verschiedenen Tiermodellen, bei denen sich die renale Ausscheidung nicht änderte, scheidet eine direkte hypoxische zerebrale oder renale Reaktion als Regulationsmechanismus der Höhendiurese aus. Vielmehr könnten periphere arterielle Chemorezeptoren oder direkte Effekte des zentralen und oder sympathischen Nervensystems beteiligt sein<sup>40</sup>. Des Weiteren wirkt sich die hypoxische ventilatorische Antwort, die mit Hypokapnie, respiratorischer Alkalose und einem durch Hyperpnoe gesteigerten intrathorakalen Druck einhergeht, auf die renale Ausscheidung aus. Auch könnten zirkulatorische Reaktionen auf die akute Hypoxie wie ein Anstieg des mittleren pulmonal-arteriellen Drucks (mean pulmonary artery pressure, MPAP), des mittleren arteriellen Drucks (mean arterial pressure, MAP) und/oder des Herzzeitvolumens (HZV) von Bedeutung sein<sup>41</sup>. Außerdem beeinflussen das Renin-Angio-

tensin-Aldosteron-System (RAAS), das Antidiuretische Hormon (ADH), Aldosteron und Endothelin-I (ET-I) sowohl die Diurese als auch die Elektrolytexkretion<sup>37, 40, 42</sup>.

### 1.2.2.2 Die hormonelle Regulation der Niere unter Hypoxie

#### 1.2.2.2.1 RAAS

Unter Normoxie steuert in erster Linie das RAAS die Ausschüttung der an der Volumenregulation beteiligten Hormone. Renin ist eine Protease, die vom juxtaglomerulären Apparat ins Blut freigesetzt wird, wenn der renale Perfusionsdruck sinkt. Auch eine Hyponatriämie, körperliche Arbeit oder die Aktivierung von  $\beta_1$ -Rezeptoren im Rahmen einer sympathikotonen Reaktion fördern die Renin-Freisetzung. Im Kreislauf spaltet das Renin Angiotensinogen zu Angiotensin I (AI). Dieses wird durch das Angiotensin Converting Enzyme (ACE), zum Angiotensin II (AII) hydrolysiert. AII erhöht in der Nebennierenrinde die Freisetzung von Aldosteron, fördert im Hypothalamus die ADH-Ausschüttung und vermittelt ein vermehrtes Durstgefühl sowie einen verstärkten Salzhunger. Unter höhenbedingter Hypoxie ist sowohl ein Anstieg<sup>44-46</sup>, als auch ein konstantes Niveau<sup>44</sup> und ein Abfall der Plasma-Renin-Aktivität (PRA)<sup>47, 48</sup> berichtet worden. Gründe für diese widersprüchlichen Angaben können sowohl Messungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach dem Aufstieg als auch verschiedene Aufstiegsgeschwindigkeiten oder Unterschiede in der maximal erreichten Höhe sein. Darüber hinaus erfolgte in den meisten Studien keine Standardisierung der Wasser- und  $\text{Na}^+$ -Zufuhr<sup>45</sup> und es wurde nicht zwischen den Befunden in Ruhe und unter Belastung unterschieden<sup>46, 49</sup>.

In früheren Studien unserer Arbeitsgruppe an Hunden unter standardisierten Umgebungs- und Ernährungsbedingungen beobachteten wir unter Hypoxie einen Adenosin-vermittelten Abfall der PRA, der Plasma-AII- und der Aldosteronkonzentration<sup>50, 51</sup>. Adenosin steigt unter Hypoxie und Hypoperfusion an<sup>52</sup>, hemmt die Adenylatcyclase über den Adenosin-1-Rezeptor auf den juxtaglomerulären Zellen der Niere und kann so die Renin-Freisetzung reduzieren<sup>46, 53</sup>.

PRA und AII fallen unter Hypoxie ab, wenn sich der  $\text{Na}^+$ - und Wasserhaushalt im Steady-State befinden und es zu keiner veränderten hormonellen Exkretion durch körperliche Anstrengung oder Stress kommt. Die physiologische Funktion dieses Regulationsmechanismus könnte sein, dass durch einen Abfall von AII die Vasokonstriktion der peripheren Gefäße gemindert wird, was zur verbesserten Gewebedurchblutung und Oxygenierung führen würde.

#### 1.2.2.2.2 Aldosteron

*Aldosteron* ist ein Mineralkortikoid, welches die Synthese des luminalen  $K^+$ -Kanal und der basolateralen  $Na^+/K^+$ -ATPase induziert. Diese Proteine sind für die tubuläre Rückresorption von  $Na^+$  im Austausch gegen  $K^+$  verantwortlich. Außerdem steigert Aldosteron die Aktivität des  $Na^+$ - $H^+$ -Antiporters, so dass vermehrt  $H^+$  ausgeschieden wird. Auch die daraus resultierende intrazelluläre Alkalose fördert den  $K^+$ -Ausstrom. Auf diese Weise führt Aldosteron zur gesteigerten  $Na^+$ -Resorption bei gleichzeitig gesteigerter  $K^+$ - und  $H^+$ -Sekretion. Dem  $Na^+$  folgend werden vermehrt Chlorid-Ionen ( $Cl^-$ ) und Wasser-Moleküle ( $H_2O$ ) resorbiert, was eine Zunahme des Extrazellulärvolumens zur Folge hat. Die Regulation von Aldosteron unter Normoxie erfolgt durch ACTH (Adrenocorticotropes Hormon) aus der Adenohypophyse und renal über das RAAS. Beide Systeme wirken direkt auf die Zona glomerulosa und werden in Folge einer Hyponatriämie oder Hyperkaliämie aktiviert. Die Renin-Sekretion führt über einen Anstieg von Angiotensin II im Plasma zur Ausschüttung von Aldosteron. In großer Höhe scheint diese Aldosteron-Antwort jedoch gestört oder nicht vorhanden zu sein<sup>54</sup>. Unter höhenbedingter Hypoxie unterliegt der Metabolismus einer respiratorischen Alkalose, welche mit einer Hypokaliämie und einem  $H^+$ -Mangel einhergehen. Diese Faktoren wirken hemmend auf die Aldosteron-Ausschüttung. Auch in den oben beschriebenen Versuchen beobachteten wir, dass die PAC unabhängig von den Adenosin-I-Rezeptor-Blockern<sup>51</sup> abfiel, d.h. unabhängig von der PRA. Das Schlüsselenzym für diese von der PRA unabhängige Reaktion des PAC könnte die 18-Hydroxylase sein, denn die 18-Hydroxylase beschleunigt in den Zona-Glomerulosa-Zellen der Nebennierenrinde die Konversion von Kortisol zu Aldosteron. Unter Hypoxie fällt ihre Aktivität und somit auch die PAC ab. Des Weiteren sind die ANP-Spiegel unter Hypoxie erhöht und inhibieren die Sekretion von Aldosteron<sup>54</sup>.

#### 1.2.2.2.3 ADH

*ADH* reguliert ebenfalls den Volumenhaushalt. Es wird im Hypothalamus produziert und unter Normoxie bei erhöhter Plasmaosmolalität oder Volumenmangel aus dem Hypophysenhinterlappen ausgeschüttet. In den Sammelrohren der Niere induziert es den Einbau von Aquaporinen. Wasser kann so dem osmotischen Gradienten folgend resorbiert werden. Über diesen Mechanismus führt ADH zur Steigerung des intravasalen Volumens und damit auch des MAP. Eine akute starke Hypoxie wie in Höhen über 5000 m oder die Ausbildung von AMS gehen mit einem Anstieg der ADH-Spiegel einher<sup>55, 56</sup>. Loeppky et al. beobachten 2005, dass hypobare Hypoxie zum häufigeren Auftreten von AMS und zu einem leichten, nicht signifikanten Anstieg der ADH-Spiegel führte, wohingegen normobare Hypoxie seltener und

wenn, eine schwächere Form von AMS auslöste<sup>57</sup>. Ein ADH-Anstieg unter höhenbedingter Hypoxie scheint mit AMS zu korrelieren. Dagegen ist unter physiologischen Bedingungen ein Abfall oder ein konstantes ADH-Niveau zu erwarten. Bei länger andauernder Hypoxie kann die niedrige absolute Luftfeuchtigkeit durch die gesteigerten Flüssigkeitsverluste über die Lunge bei Hyperventilation und die verstärkte Diurese zur Dehydratation führen. Diese Gefahr wird noch verstärkt, da das Durstgefühl unter Höhenbedingungen schwächer ist. Deshalb steigt die Serumsmolalität über den Normbereich. Dennoch bleibt die ADH-Konzentration konstant, was eine Veränderung der hypothalamischen Osmoregulation beim Aufenthalt in großen Höhen vermuten lässt<sup>58</sup>.

Die hormonelle Regulation der Niere scheint bei der im Rahmen der Akklimation auftretenden Höhendiurese eine geringe aber diuretische Wirkung zu haben, da alle antidiuretisch wirkenden Hormone abfallen oder auf einem konstanten Niveau bleiben. Eine direkte Korrelation zwischen ADH und Aldosteron und der  $\text{Na}^+$ - und Wasserausscheidung ist im Rahmen der akuten Hypoxie nicht nachweisbar<sup>59</sup>. Kommt es jedoch zur Maladaptation, könnten diesen Hormonen im Rahmen der Pathophysiologie von AMS, HACE (High altitude cerebral edema, Höhenhirnödem) und HAPE eine entscheidende Rolle zukommen.

### *1.2.2.3 Die Wirkung der hypoxischen ventilatorischen Antwort und des Säure-Basen-Status auf die renale Ausscheidung*

Akute Hypoxie führt zur Hyperventilation, die mit Hyperpnoe und Hypokapnie einhergeht. Um das Zusammenspiel zwischen Diurese und Ventilation zu beleuchten, untersuchten Hildebrandt et al. 2000 separat diese Komponenten der hypoxischen respiratorischen Antwort.

Die *Hyperpnoe* hat einen Anstieg des Atemminutenvolumens (AMV) vor allem durch einen Anstieg des AZV zur Folge. Beim AMV über 30 l/min werden intrathorakale Niederdruckrezeptoren stimuliert. Die Reizung dieser Rezeptoren geht mit einer Steigerung der  $\text{Na}^+$ -Exkretion einher<sup>60</sup>. Die Relevanz dieses Mechanismus ist jedoch fraglich, denn bei der Hypoxie-bedingten Hyperventilation wird lediglich ein AMV von ca. 10-15 l/min<sup>60, 61</sup> erreicht. Hildebrandt et al. zeigten zwar, dass auch ein AMV unter 20 l/min das Urinvolumen geringfügig erhöhen kann<sup>59</sup>, im Gegensatz zu den vorangegangenen Untersuchungen<sup>60</sup> bewirkte dies jedoch eine vermehrte Wasserausscheidung ohne  $\text{Na}^+$ -Ausscheidung.

Als Folge der Hyperventilation entwickelt sich eine *Hypokapnie*, die sich ebenfalls auf die renale Ausscheidung auswirkt. Für den Metabolismus ist es jedoch von essentieller

Bedeutung, den pH-Wert des Blutes im Bereich zwischen 7,37 und 7,43 zu halten, da Werte unter 6,8 und über 7,8 nur kurzfristig mit dem Leben vereinbar sind.



Gleichung 3: **Die Reaktion der Carboanhydrase**

Nach Gleichung 3 stehen  $H_2O$  und  $CO_2$  mit  $H^+$  und Bikarbonat ( $HCO_3^-$ ) im Gleichgewicht. Die Reaktion  $H_2O + CO_2 \leftrightarrow H_2CO_3$  läuft in beiden Richtungen sehr langsam ab, wird aber durch den Katalysator, die *Carboanhydrase* (CA), extrem beschleunigt. Die  $H_2CO_3$ -Dissoziation verläuft auch ohne Katalysator sehr schnell. Systeme, die wie das  $HCO_3^-/CO_2$ -System aus einer schwachen Säure ( $CO_2$ ) und ihrer korrespondierenden Base ( $HCO_3^-$ ) bestehen, werden Puffer genannt. Kurzfristige oder geringe pH-Wert-Schwankungen werden durch die Puffersysteme im Blut abgefangen.

Durch eine respiratorische Alkalose werden das  $HCO_3^-$ -, das Phosphat-, das Hämoglobin- und das Proteinat-Puffersystem in Anspruch genommen. Mit 60-70% enthält das  $HCO_3^-$ -Puffersystem den größten Anteil der Gesamtpufferkapazität des Blutes. Die Pufferkapazität ist abhängig von der Menge des Puffers und der Nähe des Plasma-pH-Werts zur Dissoziationskonstante der Puffersäure ( $pK_s$ -Wert). Der  $pK_s$ -Wert des  $HCO_3^-$ -Systems liegt mit 6,1 jedoch deutlich unter dem physiologischen pH-Wert des Blutes von 7,4.  $HCO_3^-$  stellt dennoch die wichtigste Pufferbase dar, da die Konzentration mit 24 mmol/l relativ hoch ist und da es sich beim Plasma um ein „offenes System“ handelt. Ein offenes System ermöglicht es, einzelne Edukte und Produkte wie beispielsweise  $HCO_3^-$  oder  $CO_2$  aus dem Reaktionsgleichgewicht über in diesem Falle das renale bzw. respiratorische System zu eliminieren. Nach dem Prinzip von Le Chatelier – dem Prinzip des kleinsten Zwangs – führt jede Störung eines Gleichgewichts durch Änderung der äußeren Bedingungen zu einer Verschiebung des Gleichgewichts, die der Störung entgegen wirkt<sup>62</sup>. Bei der respiratorischen Alkalose verschiebt sich das Reaktionsgleichgewicht von Gleichung 3 von  $HCO_3^-$  und  $H^+$  zu  $CO_2$  und  $H_2O$ , d.h. es werden  $HCO_3^-$  und  $H^+$  verbraucht. Die zum Ausgleich benötigten  $H^+$ -Ionen werden von den anderen Puffersystemen zur Verfügung gestellt. Dafür wird über den Zellstoffwechsel akut die Produktion von Milchsäure und anderer organischer Säuren gesteigert. Die  $HCO_3^-$ -Konzentration im Plasma sinkt. Während  $HCO_3^-$  unter Normoxie-Bedingungen zu nahezu 100% resorbiert wird, kommt es bei Hypoxie zur renalen  $HCO_3^-$ -Ausscheidung, denn die intrazelluläre  $H_2CO_3$ -Produktion im proximalen Tubulus hängt direkt vom  $P_aCO_2$  ab. Sinkt der  $P_aCO_2$ , so fallen ebenfalls die  $H^+$ -Ausscheidung und die  $HCO_3^-$ -Resorption ab.

Wie Abbildung 2 zeigt, stellt der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter der proximalen Tubuluszellen unter Normoxie die aus der Dissoziation der  $\text{H}_2\text{CO}_3$  entstehenden  $\text{H}^+$  für die Resorption von  $\text{HCO}_3^-$  bereit. Wenn die  $\text{H}_2\text{CO}_3$ -Konzentration sinkt, fällt auch die sezernierte  $\text{H}^+$ -Konzentration und dem im Tubulus angehäuften  $\text{HCO}_3^-$  fehlt der Reaktionspartner. In der Folge wird  $\text{HCO}_3^-$  vermehrt ausgeschieden.

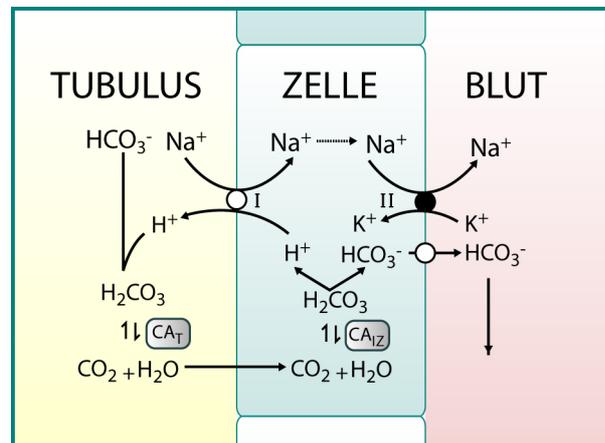


Abb. 2: Darstellung der proximalen Tubuluszellen

I:  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter; II:  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase; (nach Boemke W und Reinhardt HW<sup>63</sup>)

Der  $\text{H}^+$ -Mangel beeinflusst auch die Ausscheidung der Plasmaelektrolyte. Da dem  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter nicht genug  $\text{H}^+$  zum Austausch gegen  $\text{Na}^+$  zu Verfügung stehen, wird weniger  $\text{Na}^+$  resorbiert. Das vermehrt im Tubuluslumen verbleibende  $\text{Na}^+$  trägt im weiteren Verlauf aufgrund seiner osmotischen Wirkung zur verstärkten Wasserausscheidung bei. So kommt es intrazellulär zum  $\text{Na}^+$ -Mangel. Dieser wirkt auf die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase an der basolateralen Zellmembran, indem er einen verminderten Abtransport von  $\text{K}^+$  aus dem Blut und somit zunächst einen Anstieg des Plasma- $\text{K}^+$  bewirkt. Hauptregulationsort der renalen  $\text{K}^+$ -Ausscheidung sind jedoch die  $\text{K}^+$ -Kanäle in den Hauptzellen im Sammelrohr. Da die Aktivität dieser Kanäle auch von der  $\text{H}^+$ -Konzentration reguliert wird, führt der durch die Alkalose bedingte  $\text{H}^+$ -Verlust letzten Endes zum Verlust von  $\text{K}^+$ . Des Weiteren resorbiert die Zelle  $\text{Na}^+$  im Austausch gegen  $\text{K}^+$ . Eine gesteigerte  $\text{Na}^+$ -Resorption bei erhöhten  $\text{Na}^+$ -Spiegeln im Sammelrohr zieht in der Regel eine gesteigerte  $\text{K}^+$ -Sekretion im distalen Nephron nach sich. Daher kommt es infolge einer andauernden Hypoxie zur Hypokaliämie.

Ein weiterer Ort der  $\text{H}^+$ - und  $\text{HCO}_3^-$ -Sekretion sind die Typ-A- und Typ-B-Schaltzellen im distalen Nephron. Schaltzellen des Typs A sezernieren  $\text{H}^+$  in den Urin und führen  $\text{HCO}_3^-$  dem Extrazellulärraum zu. Schaltzellen des Typs B sezernieren  $\text{HCO}_3^-$  in den Urin und führen dem Extrazellulärraum  $\text{H}^+$  zu. Auch dieser Mechanismus wird über die intrazelluläre Konzentration von  $\text{H}_2\text{CO}_3$  reguliert. Das Verhältnis von Typ-A- zu Typ-B-Zellen ist dabei zum

Säuregehalt des Körpers proportional. Je geringer das  $P_a\text{CO}_2$  umso höher die Anzahl der Typ-B-Zellen und umgekehrt<sup>63</sup>.

Diese renale Adaptation erreicht nach etwa 24-48 Stunden ihr Maximum und führt zur verstärkten  $\text{HCO}_3^-$ -Ausscheidung, die eine vermehrte Wasser-,  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ausscheidung sowie einen Abfall der totalen Säureausscheidung nach sich zieht, obwohl die  $\text{HCO}_3^-$ -Konzentration im Plasma bereits durch die respiratorischen Veränderungen vermindert ist<sup>37, 64</sup>. Dies führt dazu, dass sich der erhöhte pH-Wert wieder in Richtung des physiologischen pH-Sollwerts zurückbewegt. Doch die Bedeutung dieses Mechanismus ist in vergangenen Arbeiten wahrscheinlich überschätzt worden. Denn obgleich sowohl die Hypokapnie als auch die Hyperventilation die vermehrte Wasser- und  $\text{Na}^+$ -Ausscheidung erklären könnten, scheinen diese Mechanismen nicht essentiell für die Höhendiurese zu sein. Bei andauernder Hypoxie übersteigt die  $\text{Na}^+$ -Ausscheidung die  $\text{HCO}_3^-$ -Ausscheidung um ein Vielfaches<sup>61</sup>. Dieser Mechanismus scheint unabhängig von Hypokapnie und Hyperventilation zu sein, denn Wasser- und  $\text{Na}^+$ -Ausscheidung können auch beobachtet werden, wenn der  $P_a\text{CO}_2$  konstant gehalten wurde<sup>37, 40, 60</sup>. Außerdem verhalten sich die  $\text{Na}^+$ -Ausscheidung und die  $\text{HCO}_3^-$ -Ausscheidung antiproportional zueinander<sup>61</sup>. Hildebrandt et al. zeigten 2000, dass der pH-Wert des Urins bei der frühen Höhendiurese, d.h. in den ersten ein bis zwei Stunden, signifikant ansteigt, ohne dass die  $\text{Na}^+$ -Ausscheidung steigt. Deshalb könnte die gesteigerte  $\text{HCO}_3^-$ -Ausscheidung zu Beginn der Hypoxie eher von einem initialen Anstieg der  $\text{K}^+$ -Exkretion begleitet sein und die Natriurese erst später folgen<sup>40, 59</sup>. Diese These wird dadurch gestützt, dass eine länger andauernde Hypoxie zur  $\text{Na}^+$ -Ausscheidung führt<sup>61</sup>. Sie scheint beim Menschen und bei Tieren mit einer Stimulation peripherer Sauerstoffrezeptoren im Karotiskörperchen zusammenzuhängen<sup>40, 42, 65</sup>. Im Gegensatz dazu sind die Mechanismen der frühen Höhendiurese unabhängig von diesen Rezeptoren. Ein möglicher Vermittler könnte das Endothelin-I (ET-I) sein. ET-I, ein Peptid, das vor allem vom Gefäßendothel produziert wird, ist der stärkste bisher bekannten Vasokonstriktor. Verschiedene Untersuchungen an Menschen<sup>66</sup> und im Tiermodell<sup>67</sup> zeigten erhöhte ET-I-Spiegel unter Hypoxie. Ferri et al. konnten 1995 eine Korrelation zwischen einem erhöhten ET-I-Spiegel und einem erhöhten PAP nachweisen<sup>68</sup>. Des Weiteren konnte eine Korrelation zwischen dem Anstieg von ET-I und der erreichten Höhe bei Bergsteigern nachgewiesen werden. ET-I wirkt auch im renalen Gefäßsystem als ein potenter Vasokonstriktor und kann dort den renalen Blutfluss und die GFR reduzieren<sup>69</sup>. Dies führt zur Reduktion der Wasser- und  $\text{Na}^+$ -Ausscheidung. Niedrige ET-I-Dosen induzieren dagegen eine erhöhte Wasser-Ausscheidung mit oder ohne  $\text{Na}^+$ -Ausschei-

ung<sup>69</sup>, denn sie inhibieren die Wasserreabsorption in den Sammelrohren. Hildebrandt et al. konnten in der frühen Hypoxie einen geringen ET-I-Anstieg zeigen. Dies stärkt die Vermutung, dass ET-I ein Vermittler der frühen diuretischen Antwort sein könnte.

#### 1.2.2.4 Zusammenfassung

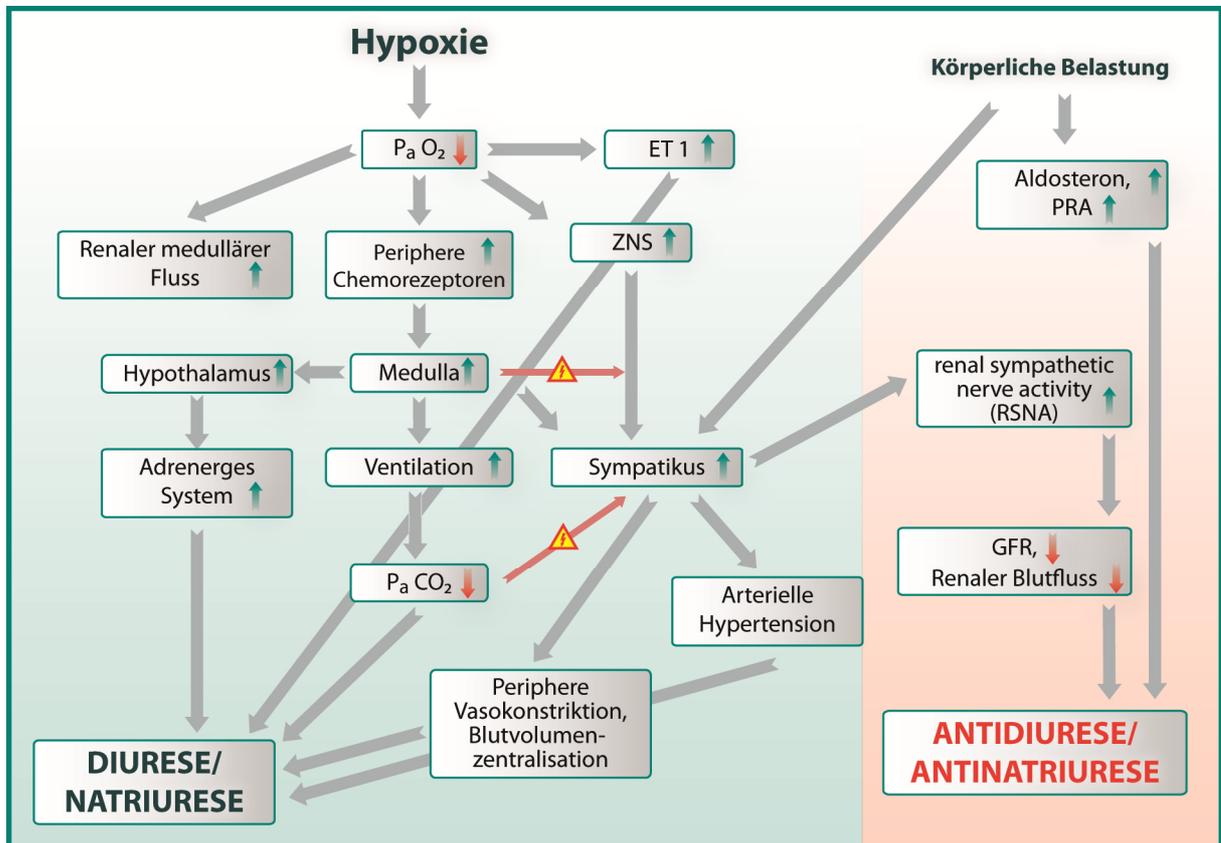


Abb. 3: Die möglichen Mechanismen, die eine Diurese und Natriurese induzieren bzw. verhindern

### 1.3 Pathophysiologische Mechanismen unter Hypoxie

Die Fähigkeit zur Akklimation unterliegt vielen individuellen Faktoren. Nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft sind nur sehr wenige Menschen unfähig zur Akklimation<sup>70</sup>. Unter extremen Bedingungen wie einem zu raschen Aufstieg in zu große Höhen können jedoch auch zur Akklimation fähige Menschen verschiedene Formen der Höhenkrankheit ausbilden.

#### 1.3.1 Höhenkrankheit

Als Höhenkrankheit werden zerebrale und pulmonale Syndrome bezeichnet, die bei nicht oder unzureichend akklimatisierten Bergsteigern kurz nach Aufstieg in große Höhen (über 2500 m)

auftreten. Obwohl es zwischen den einzelnen Syndromen große Überschneidungen gibt, eignet sich folgende Einteilung:

1. Akute Höhenkrankheit (acute mountain sickness, AMS)
2. Höhenhirnödem (high altitude cerebral edema, HACE)
3. Höhenlungenödem (high altitude pulmonary edema, HAPE).

#### 1.3.1.1 AMS und HACE

AMS besteht aus einer Reihe von Symptomen, die typischerweise 6-12 Stunden nach Ankunft in großer Höhe auftreten und innerhalb von ein bis drei Tagen wieder verschwinden, sofern der Betroffene nicht weiter aufsteigt. Das zentrale Symptom sind Kopfschmerzen<sup>71</sup>. Nach dem Lake-Louise-Score<sup>72</sup> leidet ein Patient an AMS, wenn Kopfschmerzen und mindestens ein weiteres Symptom wie Übelkeit, Erbrechen, Erschöpfung, Anorexie, Schwindel oder Schlafstörungen vorliegen. Neue Erkenntnisse weisen auf ein leichtes Hirnödem als Ursache dieser Symptome hin. Somit wären AMS und HACE verschiedene Endpunkte im Spektrum der gleichen Krankheit<sup>73</sup>. Das HACE scheint dabei ein seltenes aber meist letales Endstadium der AMS zu sein. Die meisten Patienten, die ein HACE entwickeln, litten vorher an einer AMS und weisen Symptome wie Ataxie, Verhaltensänderungen, Halluzinationen, Desorientierung, Verwirrung bis hin zum Koma auf.

#### 1.3.1.2 HAPE

HAPE ist ein hydrostatisches, nicht-kardiales Lungenödem, welches in den ersten zwei bis fünf Tagen nach einem schnellen Aufstieg in Höhen über 3000 bis 4000 m auftreten kann<sup>74</sup>. Die Inzidenz hängt unter anderem von der Aufstiegs geschwindigkeit und von der erreichten Höhe ab. Die Angaben bezüglich der Prävalenz schwanken zwischen 2,5%<sup>75</sup> und 15%<sup>76</sup> auf nahezu der gleichen Höhe.

Sowohl ein niedriger hypoxischer Atemantrieb als auch eine kleine Lunge im Verhältnis zur Körpergröße<sup>77</sup>, kongenitale Anomalien der großen Pulmonalarterien<sup>78</sup>, ein offenes Foramen ovale<sup>79</sup> und Infekte des oberen Atemtrakts<sup>80</sup> erhöhen das Risiko ein HAPE auszubilden. Auch könnte Hypoxie die alveoläre Flüssigkeits-Clearance beeinträchtigen, indem sie die Aktivität und Expression von verschiedenen Na<sup>+</sup>-Transportern hemmt<sup>81</sup>. Argumente hierfür liefert die Tatsache, dass die Inhalation von hochdosiertem Salmeterol einem  $\beta_2$ -Agonisten, welcher den transepithelialen Na<sup>+</sup>-Transport verbessert, in einigen Fällen HAPE<sup>82</sup> verhinderte. Es bedarf

jedoch noch weiterer Untersuchungen, die Rolle der alveolären Flüssigkeits-Clearance für die Pathogenese des HAPE zu klären.

Unumstritten ist dagegen, dass ein übermäßiger PAP-Anstieg mit dem Auftreten von HAPE korreliert. Bei HAPE-Patienten konnte ein PAP-Anstieg auf 33-117 mmHg und ein Anstieg des kapillären Druck auf 20-25 mmHg gezeigt werden. Der pulmonal-kapilläre Verschluss-Druck (pulmonary-capillary wedge pressure, PCWP) blieb dagegen konstant, was auf einen physiologischen pulmonal-venösen und linksatrialen Druck hinweist<sup>77</sup>. Aus diesem Grund kann ein Linksherzversagen als Ursache der Ödembildung ausgeschlossen werden. Die Ursache für den übermäßigen PAP-Anstieg könnte eine verminderte Bioverfügbarkeit von NO sein, die eine abnormale pulmonal-vaskuläre Reaktion bei HAPE-Patienten auslösen könnte<sup>83</sup>. Es konnte gezeigt werden, dass die Inhalation von 15 bis 40 ppm NO den Gasaustausch verbessert und den PAP-Anstieg verhindert<sup>84</sup>. Außerdem ist die NO-Konzentration in der Expirationsluft dieser Patienten geringer und antiproportional zum PAP-Anstieg<sup>85</sup>. In der japanischen<sup>86</sup> und indischen<sup>87</sup> Bevölkerung tritt HAPE vermehrt bei zwei endothelialen NO-Synthetase-Gen-Polymorphismen auf, die mit Gefäßerkrankungen, wie Hypertension und koronaren Herzerkrankungen, assoziiert sind. Es ist wahrscheinlich, dass weitere Faktoren wie eine erhöhte sympathische Aktivität oder Vasokonstriktoren wie Angiotensin II<sup>88</sup>, Endothelin<sup>89</sup> oder Arachnoidonsäure-Metaboliten<sup>90</sup> zum erhöhten PAP bei HAPE-anfälligen Menschen führen. Der erhöhte kapilläre Druck<sup>91</sup>, das Fehlen von Entzündungsmarkern sowie der Anstieg von Erythrozyten und hochmolekularen Proteinen in der bronchoalveolären Lavage<sup>92</sup> der frühen HAPE indizieren, dass ein Anstieg des intravaskulären Drucks zum hydrostatischen Lungenödem ohne Entzündung führt. Man vermutet, dass eine inhomogene Verteilung der HPV in den Lungensegmenten, in denen die HPV geringer ausgeprägt ist, zu einer regionalen Überperfusion des distalkapillären Gefäßbetts führt. Daraus folgt ein erhöhter Druck in den betroffenen Kapillaren, welcher eine Schädigung<sup>93,91</sup> oder Überdehnung<sup>94</sup> dieser Kapillaren mit einem Übertritt von Plasma und Erythrozyten in den Alveolarraum<sup>95</sup> induziert. Dieser Pathomechanismus (s. Abb. 4) wird unter dem Begriff „stress failure“ – „dem Druck nicht standhaltend“ zusammengefasst<sup>93</sup>. Er konnte durch Tierexperimente<sup>96</sup> und durch MRT-Kontrastmittelstudien am Menschen<sup>97</sup> bestätigt werden.

Klinisch gesehen führt das HAPE in den ersten zwei bis vier Tagen zu Symptomen wie Dyspnoe, verminderter Belastbarkeit und trockenem Husten. Im weiteren Verlauf kommt es zu Atemnot mit Rasselgeräuschen über der Brust und verstärktem Husten mit blutig tingiertem Auswurf. Da das HAPE akut lebensbedrohlich ist, könnte die Sicherheit beim

raschen Aufstieg in große Höhen durch ein besseres Verständnis der Pathophysiologie dieser Erkrankung und durch eine wirksame medikamentöse Prophylaxe erheblich verbessert werden.

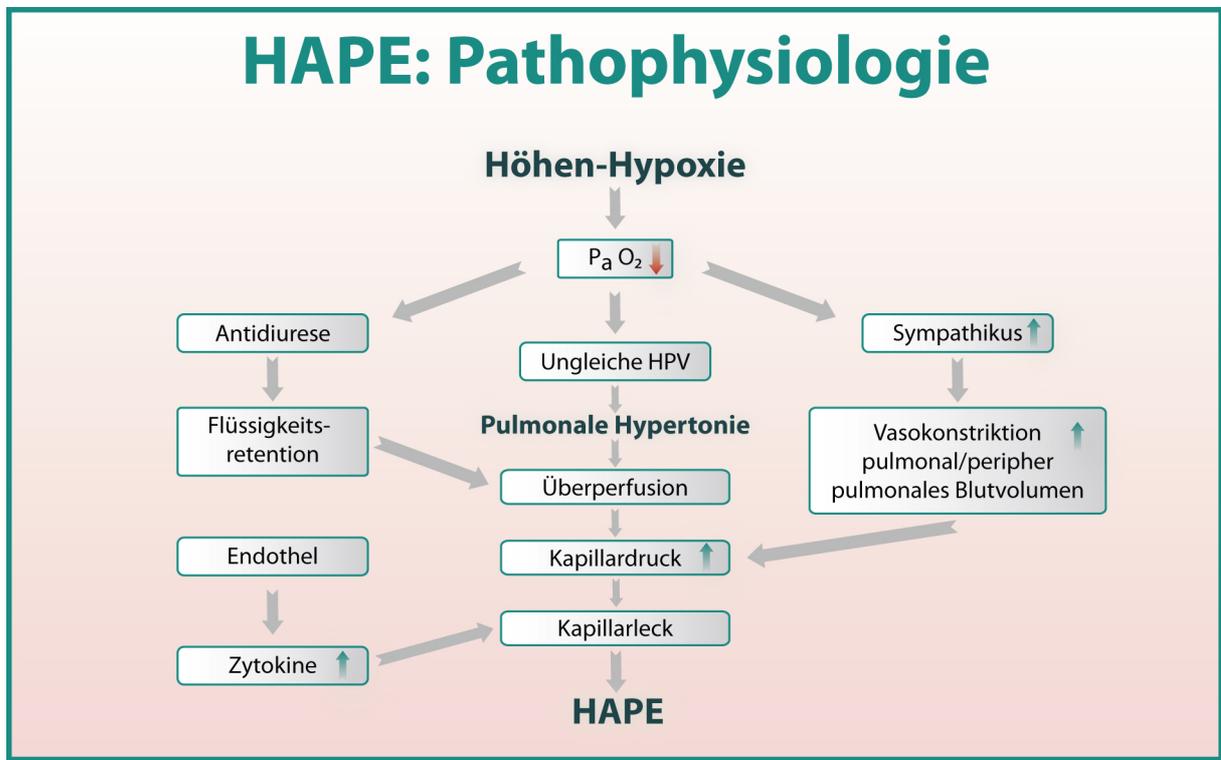


Abb. 4: **HAPE: Pathophysiologie** (Zur Verfügung gestellt von Ass.- Prof. T. Küpper, MD Universitätsklinikum Aachen)

### 1.3.2 Präventions- und Behandlungsmöglichkeiten

Hauptrisikofaktor für die Entwicklung von AMS, HACE und HAPE ist eine überhöhte Aufstiegsgeschwindigkeit<sup>75</sup>. Als Faustregel für Bergsteiger gilt –,climb high, sleep low“: Ab 2500 m, sollte die Schlafhöhe nicht um mehr als 300-500 m pro Tag erhöht werden. Darüber hinaus sollte alle zwei bis drei Tage eine eintägige Aufstiegspause eingelegt werden<sup>98</sup>. Tritt AMS auf, sollte der Aufstieg abgebrochen bzw. bei Zustandsverschlechterung sollte abgestiegen werden. Beim Abstieg um 500-1000 Höhenmeter sistiert die Symptomatik meist<sup>98</sup>. Neben diesen Maßnahmen stehen sowohl zur Prophylaxe als auch zur Therapie Medikamente zur Verfügung.

#### 1.3.2.1 Acetazolamid

Bereits 1968 beschrieben Forward et al., dass AMS durch *Acetazolamid* (2-Acetylamin-1,3,4-Thiadiazol-5-Sulfon-Amid, *Diamox*®, *ACZ*), einen Carboanhydrase-Inhibitor (CAI), verhindert werden kann<sup>99</sup>. Auch heute gilt ACZ als Mittel der Wahl zur medikamentösen Prophylaxe der AMS (s. Tab. 1). Zudem konnten Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe an

Hunden<sup>100, 101</sup> und eine Studie am Menschen<sup>102</sup> zeigen, dass ACZ die HPV hemmt und daher auch präventiv bei HAPE wirken könnte. Es liegen jedoch derzeit nicht genug systematische Studien vor, die eine Empfehlung von ACZ als Prophylaxe bei HAPE rechtfertigen würden.

### 1.3.2.2 Dexamethason

*Dexamethason*, ein Glukokortikoid, ist das Alternativmedikament bei der Prävention von AMS und der Goldstandard bei der Therapie von HACE<sup>103</sup> (s. Tab. 1). Maggiorini et al. demonstrierten 2006, dass es möglicherweise auch eine prophylaktische Wirkung von Dexamethason gegen HAPE gibt. Im Gegensatz zu ACZ erleichtert Dexamethason nicht die Akklimation. Aus diesem Grund kann das abrupte Absetzen von Dexamethason zum Rebound-Effekt führen. Dadurch können akut Symptome des AMS auftreten, die unter der Einnahme von Dexamethason nicht spürbar waren.

### 1.3.2.3 Nifedipin

Der L-Typ-Ca<sup>2+</sup>-Kanal-Blocker *Nifedipin* spielt eine entscheidende Rolle bei der Therapie und Prävention des HAPE<sup>98</sup>. Durch Hemmung des Ca<sup>2+</sup>-Einstroms via L-Typ-Ca<sup>2+</sup>-Kanäle verhindert es die HPV<sup>104</sup> und somit den Anstieg des PAP, welcher verantwortlich für die Entstehung des Lungenödems ist.

Tab. 1: Übersicht über die klassischen Medikamente zur Prophylaxe und Therapie von AMS, HACE, HAPE (Dosierungsempfehlungen nach Hackett und Roach<sup>98</sup>)

Medikament	Indikation	Prophylaxe	Therapie
Acetazolamid	AMS	125-250 mg/d	250 mg/2xd
Dexamethason	AMS/ HACE	2mg/6h ; 4mg/12h	4mg/6h
Nifedipin	HAPE	20-30mg/12h	20-30mg/12h

Die Wirkung alternativer Medikamente wie Benzolamid oder Ginko biloba<sup>105, 106</sup> oder der AT1-Antagonisten zur Therapie von AMS sind derzeit nicht abschließend geklärt. Auch in der Therapie und Prophylaxe von HAPE werden neue Medikamente diskutiert. Maggiorini et al. demonstrierten 2006, dass der Phosphodiesterase-Inhibitor Tadalafil HAPE verhindern kann<sup>103</sup>. Ob die Phosphodiesterase-Inhibitoren auch therapeutisch eingesetzt werden können, wurde bisher noch nicht ausreichend untersucht. Auch Salmeterol, ein langwirkendes  $\beta_2$ -Sympatho-mimetikum kann HAPE verhindern<sup>82</sup>. In der Regel wird es in Kombination mit Nifedipin zur Prophylaxe eingenommen. Auch hier liegen noch keine systematischen Studien über den Einsatz als Therapeutikum vor.

## 1.4 Ziel dieser Untersuchung

Eine überschießende HPV ist der zentrale pathophysiologische Mechanismus bei der Entstehung des HAPE. Die orale Einnahme des CAI ACZ ist eine häufig angewandte Methode zur Prävention der AMS. In einigen Studien konnte nachgewiesen werden, dass ACZ auch die HPV unterdrücken kann<sup>100, 107, 108</sup>. Diese Wirkung könnte auf Effekten beruhen, die aus Interaktionen z.B. mit der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung in den PSMCs resultieren. Des Weiteren konnten wir zeigen, dass die Unterdrückung der HPV durch ACZ unabhängig von der CAI-Wirkung dieses Moleküls ist. Daher soll diese Arbeit mittels des ACZ-Analogons N-Methyl-Acetazolamid (NMA), das keine CAI-Wirkung hat, bestätigen, dass die Wirkung von ACZ auf die HPV unabhängig von dessen CAI ist.

Des Weiteren wird die Wirkung von NMA auf die renale und endokrine Regulation unter akuter Hypoxie untersucht.

### 1.4.1 Vorarbeiten

#### 1.4.1.1 *Der Carboanhydrase-Hemmer Acetazolamid*

Der CAI ACZ wurde ursprünglich als Diuretikum entwickelt, verlor aber angesichts der Entwicklung potenterer und nebenwirkungsärmerer Medikamente wie Furosemid an Bedeutung. Heutzutage wird es vor allem in Situationen eingesetzt, in denen eine metabolische Azidose von Vorteil ist, wie beispielsweise zur Therapie und Prävention des AMS<sup>106</sup>.

Diese metabolische Azidose entsteht durch Hemmung der CA. Die CA ist eines der bedeutendsten Enzyme im Organismus, von der zur Zeit mehr als 15 Isoformen bekannt sind<sup>109</sup>. Die CA ist ein Zinkenzym und katalysiert die Umwandlung von  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{CO}_2$  zu  $\text{H}_2\text{CO}_3$  bidirektional (s. Gleichung 3). Sie ist ubiquitär vorhanden und beeinflusst unter anderem den  $\text{CO}_2$ -Transport, den Säure-Basen-Haushalt, die Wasser- und Elektrolytausscheidung und die Ventilationskontrolle über periphere und zentrale Chemorezeptoren<sup>109</sup>.

Erste systematische Studien, die zeigten, dass ACZ auch bei AMS wirkt, erfolgten 1968<sup>99</sup>. Seither wurde die Wirkung von ACZ auf die unterschiedlichen Symptome der Höhenkrankheit untersucht, aber eine abschließende Klärung des Wirkmechanismus steht weiterhin aus.

An der Niere hemmt ACZ die CA sowohl intra- als auch extrazellulär durch die Blockade der CA-abhängigen Regulation der  $\text{H}^+$ -Sekretion und  $\text{HCO}_3^-$ -Rückgewinnung. Dadurch wird ein alkalischer  $\text{HCO}_3^-$ -reicher Harn ausgeschieden, es kommt durch die Hemmung der  $\text{Na}^+$ -Rückresorption im proximalen Tubulus zur Störung des  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -Carrier im distalen Tubulus

und zur vermehrten  $K^+$ -Sekretion. Insgesamt führen diese Mechanismen zur metabolischen Azidose, die den Atemantrieb steigert<sup>110</sup>. Ein weiterer Atemantrieb entsteht durch die CAI im vaskulären Endothel und in zentralen und peripheren Chemorezeptoren<sup>109</sup>. Diese Steigerung des Atemantriebs ist mild unter Normoxie. Unter Hypoxie hingegen ist der durch die Verminderung des alveolären  $PCO_2$  erreichte  $P_aO_2$  klinisch relevant und vorteilhaft. Deshalb hilft, ACZ unter Höhenbedingungen die Oxygenierung im Schlaf zu stabilisieren und verhindert Phasen extremer Hypoxie und so wahrscheinlich auch das Auftreten von AMS.

Die Erkenntnis, dass ACZ auch auf die HPV wirkt, ist relativ neu. Erste Hinweise dafür stammen von Emrey et al. aus dem Jahr 1977<sup>108</sup>. 1993 griffen Swenson et al. diesen Gedanken auf und zeigten, dass die CA-Inhibition das Ventilations-Perfusionsverhältnis der Lunge beeinflusst<sup>111</sup>. Um zu überprüfen, ob dieser Effekt auf einer Inhibition der HPV beruht, untersuchten Deem et al. 2000 die Wirkung von ACZ auf die HPV an isolierten perfundierten Kaninchenlungen. ACZ schwächte die HPV in diesem Modell um 30-50% ab<sup>107</sup>. Da die CA in den PSMCs sowohl membrangebunden (Isoform IV) als auch intrazellulär (Isoform I und II) nachweisbar ist<sup>109, 112</sup>, kamen aktuelle Studien zu dem Schluss, dass ACZ unter akuter Hypoxie einen direkten Effekt auf die PSMCs oder das Gefäßendothel der Lunge hat. Dennoch ist der Wirkmechanismus, über den ACZ die HPV unterdrückt, nicht abschließend geklärt. Diskutiert werden eine respiratorische Stimulation durch Induktion einer metabolischen Azidose sowie eine Modulation der  $K^+$ -Kanäle, des Membranpotentials, der  $Ca^{2+}$ -Signaltransduktion und/ oder des intrazellulären pH-Werts ( $pH_{i,s}$ )<sup>113</sup>. Des Weiteren blockieren die CAIs in vielen Zellen die  $Ca^{2+}$ -Kanäle<sup>114</sup>, können die  $Cl^-$ -abhängigen ATPase inhibieren<sup>115</sup> und  $Ca^{2+}$ -abhängige  $K^+$ -Kanäle aktivieren. Ein neuer Ansatz aus dem Jahr 2009 bietet Hinweise darauf, dass eine durch ACZ angetriebene, vermehrte NO-Produktion der entscheidende Mechanismus bei der Inhibition der HPV sein könnte<sup>116</sup> (s. Kapitel 4.4.2).

#### 1.4.1.1.1 Die respiratorische Stimulation mittels ACZ

In einem vorangegangenen Projekt zur HPV konnten wir an wachen, spontan-atmenden Hunden nachweisen, dass die hochdosierte Gabe von ACZ bei akuter Hypoxie den Anstieg des PAP und des PVR (pulmonary vascular resistance, pulmonal-vaskulärer Widerstand) verhindert<sup>100</sup>. Dabei zeigte sich, dass wache Hunde aufgrund der ACZ-induzierten metabolischen Azidose stärker hyperventilieren als die Kontrollgruppe ohne ACZ. Dies führt unter Berücksichtigung der alveolären Gasgleichung (s. Kapitel 1.2.1) zum erhöhten alveolären  $PO_2$ <sup>117</sup>. Die HPV könnte demnach durch das Vorliegen eines lokal höheren  $PO_2$ , welcher den Stimulus der HPV abschwächt, unterdrückt werden. Um diesen Effekt auszuschließen,

senkten wir die  $F_iO_2$  von 0,1 auf 0,08 und erreichten vergleichbare  $P_aO_2$ -Werte. Die HPV wurde dennoch gesenkt<sup>100</sup>. Auch andere Studien, in denen  $P_aO_2$  und  $P_aCO_2$  konstant gehalten wurden, kamen zu ähnlichen Ergebnissen<sup>107, 108</sup>. Deshalb hat die respiratorische Stimulation durch Induktion einer metabolischen Azidose mittels ACZ keinen Einfluss auf die HPV.

#### 1.4.1.1.2 ACZ inhibiert den $Ca^{2+}$ -Einstrom

In einem etablierten Modell an isolierten PSMCs konnte die mit uns kooperierende Arbeitsgruppe um Larissa Shimoda (Baltimore, USA) zeigen, dass es unter hypoxischen Bedingungen zum Anstieg des intrazellulären  $Ca^{2+}$  kommt und dass dieser Anstieg durch ACZ-Zugabe dosisabhängig aufgehoben werden kann. Um zu überprüfen, ob die Wirkung von ACZ ein Effekt der intra- oder der extrazellulären Hemmung der CA ist, wurden zusätzlich die CAI Benzolamid und Ethoxolamid untersucht. Benzolamid ist ein stärkerer CAI als ACZ, kann aber aufgrund seiner hydrophilen Eigenschaften nur extrazellulär wirken. Es hemmt selektiv die membranständige CA (IV) am Gefäßendothel der Lunge<sup>118</sup>. Ethoxolamid dagegen ist ein starker CAI, der aufgrund seiner Lipophilie hauptsächlich intrazellulär wirkt. Alle untersuchten CAI senkten den basalen  $pH_i$  (s. Kapitel 1.4.1.1.3), aber nur ACZ unterdrückte den  $Ca^{2+}$ -Einstrom. Um diese Ergebnisse auch in vivo zu verifizieren, wurden die CAI Benzolamid und Ethoxolamid in unserem Ganztiermodell untersucht. Keiner dieser Stoffe unterdrückte die HPV<sup>101</sup>.

#### 1.4.1.1.3 ACZ reduziert den intrazellulären pH-Wert der PSMCs

Der  $pH_i$  kann eine Reihe von Zellfunktionen modulieren, unter anderem auch die Kontraktion der PSMCs<sup>119</sup>. Verschiedene Studien zeigen, dass ein alkalischer  $pH_i$  zur Verstärkung und ein azidotischer zur Abschwächung der HPV bei isolierten perfundierten Rattenlungen führt<sup>120, 121</sup>. Shimoda et al. zeigten, dass ACZ, Benzolamid und Ethoxolamid einen geringen, aber statistisch signifikanten Abfall des  $pH_i$ s bewirken<sup>106</sup>. Da jedoch weder Benzolamid noch Ethoxolamid den  $Ca^{2+}$ -Anstieg der PSMCs auf zellulärer Ebene oder die HPV bzw. den PVR im Ganztiermodell unterdrückt, kann dieser Mechanismus die Wirkung von ACZ auf die HPV nicht erklären.

#### 1.4.1.1.4 Die Wirkung von ACZ auf das Membranpotential der PSMCs

Pickkers und Tricarico vermuteten, dass ACZ die Aktivität der  $Ca^{2+}$ -aktivierten  $K^+$ -Kanäle (s. Kapitel 1.2.1.1) verändert und darüber zur Hyperpolarisation führt<sup>113, 122</sup>. Da vermutet wird, dass eine Depolarisation dem Hypoxie-induzierten Anstieg des intrazellulären  $Ca^{2+}$ -

Anstiegs vorangeht<sup>15</sup>, könnte eine ACZ-induzierte Hyperpolarisation die Aktivierung von L-Typ-Ca<sup>2+</sup>-Kanälen hemmen und somit den Ca<sup>2+</sup>-Anstieg unter Hypoxie und die Kontraktion der PASMCs unterdrücken. Auch dieser These gingen Shimoda et al. in ihren Studien an isolierten PASMCs nach. Sie zeigten, dass ACZ an isolierten PASMCs keinen Einfluss auf das Membranpotential in Ruhe oder unter Hypoxie hat.

#### 1.4.1.1.5 Die Wirkung von ACZ auf die KCl-induzierte Ca<sup>2+</sup>-Antwort

Um auszuschließen, dass der Effekt von ACZ auf die Hypoxie-induzierte Ca<sup>2+</sup>-Antwort nicht durch eine unspezifische Ca<sup>2+</sup>-Inhibition entstanden ist, untersuchten Shimoda et al. den Effekt von ACZ auf eine durch KCl-Applikation induzierte Ca<sup>2+</sup>-Antwort. KCl verursachte einen signifikanten Ca<sup>2+</sup>-Anstieg, der durch ACZ nicht beeinflusst werden konnte. Dies gilt als Beweis dafür, dass ACZ selektiv die *Hypoxie*-induzierte Ca<sup>2+</sup>-Antwort hemmt.

#### 1.4.1.1.6 Zusammenfassung

ACZ hemmt die Hypoxie-induzierte intrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Antwort auf zellulärer Ebene und die HPV im Ganztiermodell. Diese Wirkung ist unabhängig von einer durch die Hemmung der CA bedingten intrazellulären Azidose. Somit bleibt der molekulare Rezeptor, der die Wirkung von ACZ vermittelt, unbekannt. Aus den oben beschriebenen Ergebnissen ergab sich die Idee, ein modifiziertes ACZ-Molekül – *NMA* – einzusetzen. In diesem Molekül ist die hemmende Wirkung auf die CA aufgehoben. Es weist aber alle übrigen Eigenschaften des ACZ-Moleküls auf.

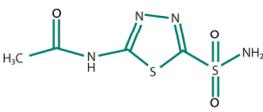
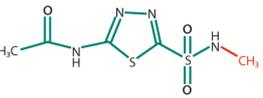
### 1.4.2 N-Methyl-Acetazolamid

NMA ist ein analoges ACZ, in dem ein terminales Hydrogen der Sulfonamid-Gruppe (SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) durch eine Methyl-Gruppe ersetzt wurde<sup>110</sup> (s. Tab. 2). Dieses Molekül wurde 1956 von Maren et al. als eine mögliche Kontrollsubstanz für CAIs untersucht<sup>123</sup>. Ziel war es, ein Molekül zu finden, welches die gleichen chemischen und physikalischen Eigenschaften aufweist wie ACZ, jedoch keine CAI-Wirkung hat. Bereits 1940 erfolgte durch Mann und Keilin der Nachweis, dass jede Substitution an dem Sulfonamid-Stickstoff in *vitro* die Aktivität von CAIs außer Kraft setzt<sup>124</sup>. Es stellte sich jedoch heraus, dass N<sup>5</sup>-Isopropyl-Derivate in *vivo* (in Ratten und Hunden) durch Spaltung zu einem CAI metabolisiert werden. Aus diesem Grund wurden verschiedene N<sup>5</sup>-Derivate von ACZ untersucht. Eines dieser Präparate war NMA. Maren et al. zeigten an Hunden, dass bei der i.v.-Gabe von 50 mg/kgKG das NMA eine CAI-Aktivität von ca. 2% aufwies. Diese Dosis entspricht einer renalen

Wirkung von etwa 1/100 der ACZ-Wirkung. Insgesamt konnten vom NMA ca. 50% unverstoffwechselt im Urin nachgewiesen werden. Das entspricht der Pharmakodynamik des ACZ. Vor diesem Hintergrund wählten wir NMA aus, da es die geringste Umwandlung zu ACZ und chemische gesehen die größte Ähnlichkeit aufweist (s. Tab. 2).

Tab. 2: Vergleich der chemischen und physikalischen Eigenschaften von NMA und ACZ<sup>106, 123</sup>

MW: Molekulargewicht; CAI in vitro: CA-Inhibition in vitro;  $K_i$  vs. CA II: Dissoziationskonstante für die Bindung an die CA II; CAI in vivo: CA-Inhibition in vivo;  $pK_a$ : Säurekonstante

Strukturformel	Schmelzpunkt	MW	CAI in vitro	$K_i$ vs CA II	CAI in vivo	$pK_a$
Acetazolamid 	258-259°C	222	100%	8	100%	7,4
N-Methyl-Acetazolamid 	256-260°C	236	0,04-0,15%	1600	2%	7,7

Shimoda et al. untersuchten 2006 den Effekt von NMA auf isolierte PSMCs. Im Gegensatz zu ACZ, Benzolamid und Ethoxolamid hatte NMA keinen Effekt auf den basalen  $pH_i$ . Es führte dagegen zu einem statistisch signifikanten Anstieg der basalen intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration und zur Inhibition der Hypoxie-induzierte  $Ca^{2+}$ -Antwort. Aus diesen Untersuchungen folgt, dass keine intrazelluläre Azidose oder Veränderung des Membranpotential in den PSMCs der Unterdrückung der HPV durch ACZ zugrunde liegt und dass dieser Mechanismus unabhängig von der CAI ist<sup>101, 106</sup>. Die vorliegende Arbeit soll prüfen, ob NMA auch in vivo die HPV unterdrückt.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere

Die Versuche wurden mit 9 weiblichen Beagle-Hunden (Alter: 1-2 Jahre; Gewicht:  $14 \pm 0,5$  kg) durchgeführt, welche nach Sozialverhalten und ihrer Akzeptanz gegenüber kleineren experimentellen Eingriffen (z.B. Legen eines Blasenkatheters) ausgewählt wurden. Bezogen wurden die Tiere von der Fa. Harlan-Winkelmann GmbH (D-33178 Borcheln, Deutschland), die die Tiere noch vor der Lieferung nach geltender FELASA-Empfehlung (2002) (Federation of European Laboratory Animal Science Association) gegen Viren sowie Ekto- und Endoparasiten impfte und entwurmt. Die in dieser Arbeit vorgestellten Versuche wurden durch die zuständige Tierversuchskommission beim Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit genehmigt (TVA G 0084/04).

### 2.2 Tierhaltung und Ernährung

#### 2.2.1 Tierhaltung

Besondere räumliche und technische Bedingungen im Biomedizinischen Forschungszentrum der Charité Campus Virchow Klinikum sowie eine standardisierte Hundehaltung durch erfahrene Tierpfleger führten zu optimalen Versuchsbedingungen und einer tierschutzgerechten Haltung. Um dies sicherzustellen, protokollierten die Tierpfleger für jeden Hund täglich den allgemeinen Gesundheitszustand, die Nahrungsaufnahme, die Körpertemperatur und das Gewicht, die Defäkation, das Sozialverhalten sowie besondere Vorkommnisse (z.B. Zyklusblutungen). Die Hunde wurden in der Meute mit ausreichend Auslauf gehalten: Gegen 9:00 Uhr wurden die Hunde in einen ca. 100 m<sup>2</sup>-Auslauf auf dem Dach der tierexperimentellen Einrichtung geführt, nachmittags und nachts teilten sich je zwei Tiere einen ca. 5 m<sup>2</sup> großen und 2 m hohen bei 21°C und 55-60 % Luftfeuchtigkeit klimatisierten Zwinger mit Hundehütte (Bodenhaltung). Diese Haltung sicherte ein gesundes Sozialverhalten und ermöglichte es, die Hunde nach Ende der Versuchsreihe in Privathaushalte zu vermitteln.

#### 2.2.2 Ernährung

Außerhalb der Versuchsperioden erhielt jeder Hund um 8:30 Uhr ein seinem Körpergewicht entsprechendes Mischfutter aus PREMIUM<sup>®</sup> oder JUNIOR<sup>®</sup>-Dosenfutter und Trockenfutter (Fa. Allco, Morsum, Deutschland). Tagsüber stand Wasser ad libitum zur Verfügung.

### **2.3 Eingewöhnung und Training der Hunde**

Die Versuchsdurchführung an wachen, nicht sedierten Hunden erfordert ein spezielles Training, welches nach einer zweiwöchigen Eingewöhnungszeit begann. Zunächst wurden die Hunde an den Versuchsraum und die untersuchenden Personen gewöhnt. Anschließend lernten sie, auf einem leicht gepolsterten Versuchstisch mit einer Wärmedecke (35°C), auf der rechten Körperseite zu liegen. Gleichzeitig wurden sie an eine speziell von der Arbeitsgruppe entwickelte Atemmaske gewöhnt. Die Maske ist in der Veterinärmedizin zur Narkoseeinleitung gebräuchlich und wurde für unsere Zwecke verkürzt, um den Totraum zu verkleinern. Zudem ermöglichte ein individuell angepasster Gummiring einen dichten Verschluss der Maske gegenüber der Umwelt. Sobald die Hunde die Maske tolerierten, wurden sie an die Spontanatmung am Respirator (Servo 900 C<sup>®</sup>, Siemens Company, Lund, Schweden) gewöhnt. Dabei erlernten sie zuerst das Atmen von Raumluft (Normoxie) und anschließend das Atmen eines hypoxischen Gasgemischs (Hypoxie), welches durch die Zumischung von Stickstoff (N<sub>2</sub>) hergestellt wurde. Die Dauer der Liegeübungen wurde kontinuierlich gesteigert. Zuletzt brachten wir den Hunden das Liegen auf dem Rücken bei und gewöhnten sie an das Legen eines Blasenkatheters, Spülen der Blase und Gefäßpunktionen (V. cephalica und A. femoralis) unter Lokalanästhesie. Während der Zyklusblutung und zwei Wochen danach wurde das Training fortgesetzt, der Hund hatte jedoch keine Versuche.

### **2.4 Versuchsvorbereitung**

#### **2.4.1 Eigenblutspende**

Mindestens 7 Tage vor jedem Versuch entnahmen wir den Hunden 80 ml venöses Blut aus der V. cephalica. Das Blut wurde direkt in eine Blutkonserve (Compoflex<sup>®</sup> CDPA-1, Fresenius HemoCare GmbH, Redmond, NE, USA) abgenommen, welche mit CDPA-1-Stabilisator (Inhaltsstoffe: 26,3g/l Natriumcitrat-Dihydrat; 3,27g/l Citrat, 2,51 g/l Natriumdihydrogenphosphat, 31,9 g/l Glucose ad 1000 ml Aqua ad iniectabilia) präpariert war. Danach wurde die Blutkonserve luftdicht verschlossen und bei 4-6°C aufbewahrt. Mit dieser Blutkonserve konnte ein konstantes Blutvolumen während des Versuchs trotz Blutentnahmen sichergestellt und den durch Blutverlust induzierten hormonellen Regulationsvorgängen vorgebeugt werden.

#### **2.4.2 Diät und Versuchsvorbereitung**

Um eine ausgeglichene Ein- und Ausfuhr von Kochsalz, K<sup>+</sup> und Wasser sowie eine vergleichbare Ausgangsstimulation des RAAS zu sichern, erhielt jeder Hund 5 Tage vor

Versuchsbeginn eine standardisierte Diät. Diese führte zur Gesamtenergieaufnahme von 277 KJ/kgKG/d und entspricht einer normalen Hundeernährung. Das Gewicht blieb darunter konstant.

Tab. 3: **Standardisierte Diät** (Alle Angaben sind bezogen auf Kilogramm Körpergewicht (kgKG) und Tag)

Reis (gekocht)	58 g
Fleisch (zerkleinertes Rinderherz)	12 g
Natrium	2,5 mmol
Kalium	3,5 mmol
Wassergehalt (insgesamt)	91 ml

Einen Tag vor dem Versuch wurden die Tiere von den Tierpflegern gebadet und Hals, Leisten und Pfoten rasiert, um eine Gefäßpunktion mit hohem hygienischen Standard sicherzustellen. Die Diät endete nach dem jeweiligen Versuch und der Hund erhielt normale Hundenahrung. Auf jeden Versuch folgte eine mindestens vierzehntägige Versuchspause für den Hund.

## 2.5 Versuchsdurchführung

Am Morgen vor Versuchsbeginn wurden die Hunde gewogen und rektal die Körpertemperatur gemessen. Die Hunde blieben während des Versuchs nüchtern, wach und nicht sediert.

### 2.5.1 Anlage des Blasenkatheters und der Venenverweilkanüle

Gegen 8:30 Uhr erfolgte im Versuchsraum unter Lokalanästhesie mittels Lidocain-Gel die Anlage eines Blasenkatheters (Norta<sup>®</sup> 16 CH Foley catheter, Beiersdorf AG, Hamburg Deutschland). Anschließend wurde eine Venenverweilkanüle (Braunüle<sup>®</sup> 20 G, B. Braun, Melsungen, Deutschland) in die linke Vorderpfotenvene (V. cephalica) gelegt. Zur quantitativen Schätzung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) mittels einer exogenen Kreatinin-Clearance, wurden 2,8 g Kreatinin (FA. E. Merck, Darmstadt, Deutschland) in 50 ml einer 5%igen Glucose-Lösung gelöst und über eine Infusionspumpe in die Venenverweilkanüle injiziert. Dabei wurde zunächst über 30 Minuten kontinuierlich eine Sättigungsdosis von 1,4 g infundiert. Danach entleerten wir die Blase und warteten ca. 20 Minuten, um eine gleichmäßige Verteilung des exogenen Kreatinins im Extrazellulärraum zu gewährleisten. Anschließend wurde als Erhaltungsdosis 3,7 mg Kreatinin/min kontinuierlich infundiert. Dadurch wurde die Plasmakreatininkonzentration ( $P_{\text{Krea}}$ ) konstant auf über 7 mg/dl angehoben. Während des Versuchs bestimmten wir stündlich  $P_{\text{Krea}}$  und  $U_{\text{Krea}}$  (Urinkreatininkonzentration), die zur Schätzung

der GFR mittels der Kreatinin-Clearance-Formel benötigt werden. Die Reliabilität dieser Methode zur Schätzung der GFR wurde durch unserer Arbeitsgruppe überprüft<sup>125</sup>.

### 2.5.2 Anlage des Aortenkatheters

Zur kontinuierlichen Blutdruckmessung nutzten wir einen perkutan über die A. femoralis dexter positionierten Aortenkatheter. Dazu wurde die Leistenregion steril abgedeckt, desinfiziert und mittels 2%igem Lidocain (B. Braun Melsungen Deutschland) betäubt. Anschließend wurde mittels Seldinger Technik<sup>126</sup> ein 20 cm langer einlumiger 3 French Katheter (BD Careflow TM, ReF Nr.: 681642, Singapore) in die Aorta abdominalis eingeführt. Dieser ermöglichte über einen vor Versuchsbeginn kalibrierten Einmaldruckumwandler (0 und 100 mmHg-Abgleich) (RKV-Set, Abbott, Sligo, Ireland) eine kontinuierliche Messung des MAP und der HF sowie die Entnahme arterieller Blutproben.

### 2.5.3 Anlage des Swan-Ganz-Katheters

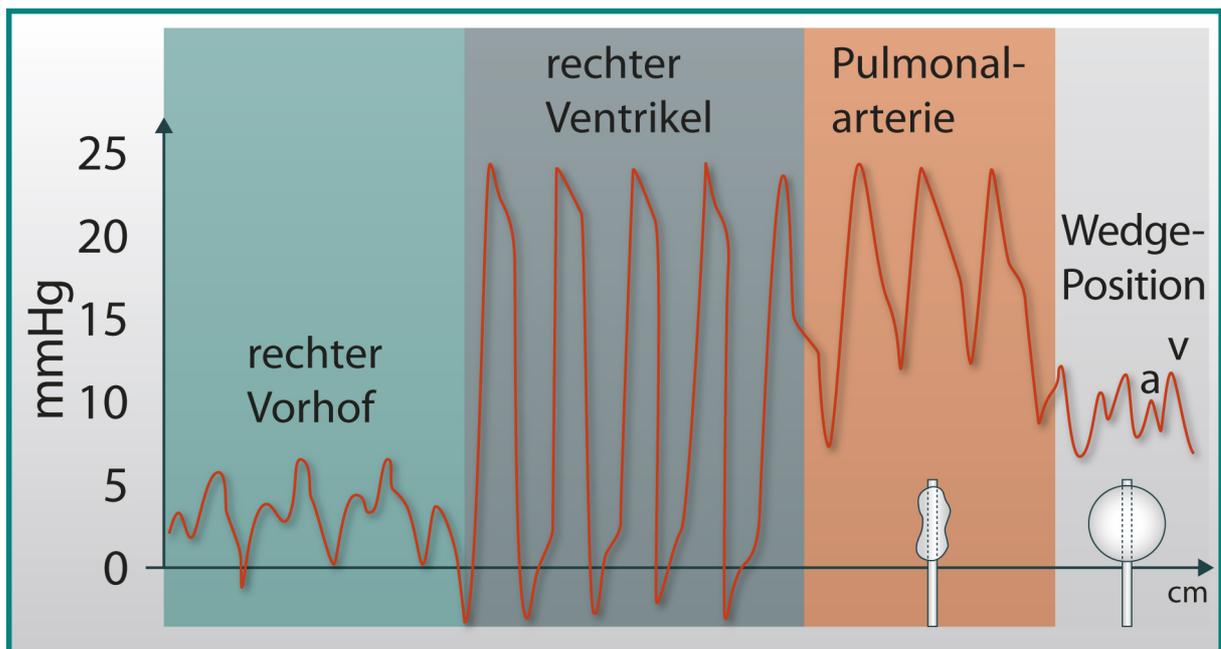


Abb. 5: **Druckverlauf beim Einschwennen eines pulmonal-arteriellen Katheters**

Abszisse: Einführtiefe des Katheters von der Punktionsstelle an; Ordinate [mmHg]: der intravasale Druck<sup>127</sup>

Zur Anlage des Swan-Ganz-Katheters wurde unter Lokalanästhesie mittels Seldingertechnik eine Schleuse (Arrow-Flex<sup>®</sup> 6 French, Prod. Nr.: SI-09600, Arrow international, Reading, USA) in die V. jugularis externa dextra gelegt. Über diese wurde ein 5 French Thermodilutionskatheter (Swan-Ganz<sup>®</sup>, 5 French, Edwards Lifescience LLC, Irvine, CA, USA) eingeführt, der über einen Einmaldruckwandler an einen Monitor (Danica, Dialogue 2000 Elektronik, DK) angeschlossen wurde. So konnte unter visueller Kontrolle der Druckkurven der

Katheter durch das rechte Atrium und den rechten Ventrikel in die A. pulmonalis eingeschwenkt werden. Dabei wurde ab einer Einföhrlänge von 17 cm der Ballon an der Katheterspitze mit 0,7 ml Luft gefüllt und solange vorgeschoben, bis die charakteristische Druckkurve für eine pulmonal-arterielle Verschlussposition (Wedge Position) auf dem Monitor sichtbar wurde. Die Lage des Katheters in einem Hauptast der Pulmonalarterie galt als gesichert, wenn nach Ablassen der Luft aus dem Ballon an der Katheterspitze die typischen Druckkurven für die A. pulmonalis sichtbar wurden (s. Abb. 5). Dieser Katheter ermöglichte es, den MPAP, den PCWP (pulmonary capillary wedge pressure) und das HZV zu ermitteln.

#### 2.5.4 Versuchsprotokolle

Wir untersuchten 9 Beagle-Hunde in randomisierter Reihenfolge in folgenden Protokollen:

1. Kontrolle
2. Acetazolamid: ACZ 2 mg/kgKG Bolus und 2 mg/kgKG/h i.v.
3. NMA-low-dose: NMA 250 mg Bolus und 5 mg/kgKG/h i.v.
4. NMA-high-dose: NMA 10 mg/kgKG Bolus und 10 mg/kgKG/h i.v.

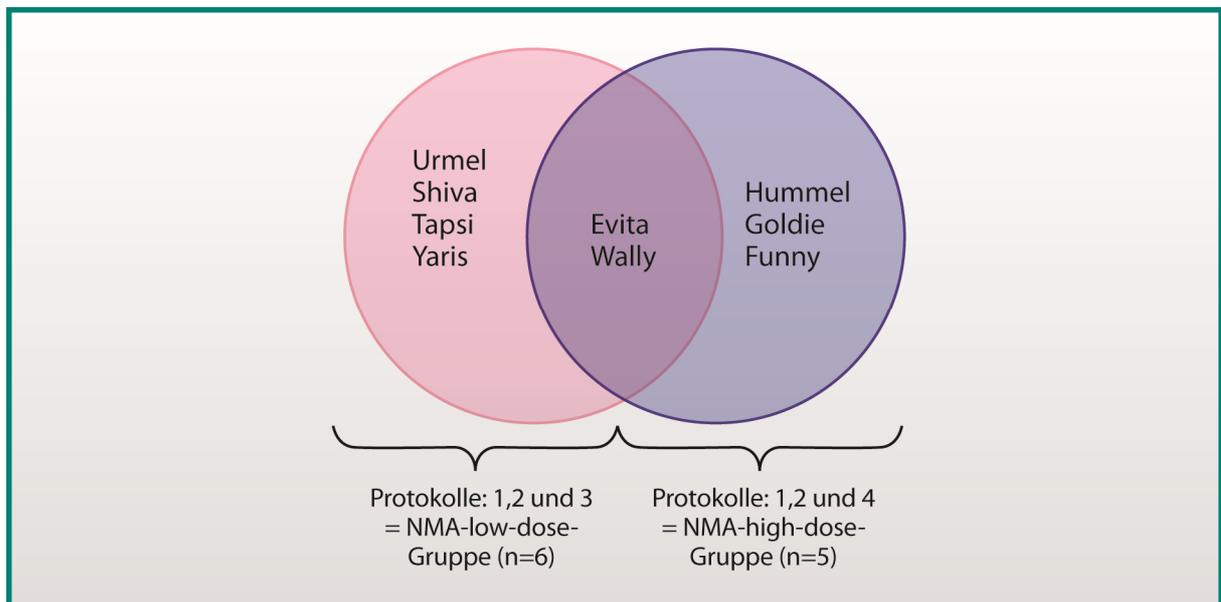


Abb. 6: Einteilung der Versuchstiere in NMA-low-dose- und NMA-high-dose-Gruppe

Dabei durchliefen zwei Hunde (Evita & Wally) alle Protokolle, vier Hunde (Urmel, Shiva, Tapsi & Yaris) nur 1, 2 und 3 und drei Hunde (Hummel, Goldie & Funny) nur die 1, 2 und 4. Für die Auswertung und Diskussion teilten wir die Versuche in zwei Gruppen auf:

1. NMA-low-dose-Gruppe
2. NMA-high-dose-Gruppe (s. Abb.6).

### 2.5.4.1 Protokoll 1: Kontrollversuch

#### 2.5.4.1.1 Versuchsbeginn

Gegen 9:00 Uhr, nach Anlage sämtlicher Katheter (s. Kapitel 2.5), wurde der Hund auf der rechten Seite gelagert. In dieser Position wurde die Maske angelegt, durch die der Hund über den Respirator spontan Raumluft ( $F_{iO_2} = 0,21$ ) atmete. Sobald der Kreatininbolus (s. Kapitel 4.5.1) vollständig infundiert war, wurde die Blase mittels Luftspülung entleert, der Urin verworfen und dieser Zeitpunkt als Versuchsbeginn notiert. Außerdem erfolgte eine arterielle Blutgasanalyse (BGA) sowie eine Ausgangswertbestimmung der  $P_{Krea}$ .

#### 2.5.4.1.2 Versuchsablauf

Während der ersten Versuchsstunde - der Normoxie - atmete der Hund Raumluft ( $F_{iO_2} 0,21$ ). In der zweiten und dritten Versuchsstunde (Hypoxie I und Hypoxie II) atmete der Hunde durch das Zumischen von  $N_2$  ein hypoxisches Gasgemisch. Das richtige Mischungsverhältnis wurde durch arterielle BGAs ermittelt, dabei war das Ziel ein  $P_aO_2$  von 36-40 mmHg. In der Kontrollgruppe entsprach das etwa einer  $F_{iO_2}$  von 0,1. Die Hunde atmeten während des gesamten Versuchs über den Respirator im CPAP-Modus (continuous positive airway pressure). In diesem Modus hatten die Hunde sowohl bei Inspiration als auch bei Expiration einen kontinuierlichen positiven Atemwegsdruck von 3,75 mmHg, der die systembedingten Atemwegswiderstände ausgleichen sollte.

#### 2.5.4.1.3 Kontinuierliche Bestimmung der hämodynamischen und respiratorischen Parameter

Während der Versuche wurden folgende hämodynamischen und respiratorischen Parameter kontinuierlich auf einem Monitor (Danica, Dialogue 2000 Elektronik, DK) dargestellt:

- arterieller Mitteldruck, MAP
- Herzfrequenz, HF
- mittlerer pulmonal-arterieller Druck, MPAP
- zentraler Venendruck, ZVD
- Atemzugvolumen, AZV
- Atemminutenvolumen, AMV
- applizierter CPAP.

Gleichzeitig wurden alle 20 s Mittelwerte berechnet und auf einem Computer (Vectra 486/33 VL, Hewlett Packard, USA) gespeichert. Aus den Daten wurden nach jedem Versuch die 1-, 5-, 10-, 20-, 30-, 60-Minuten-Mittelwerte berechnet. Diese dienten der Verlaufskontrolle und der Überprüfung der zu den Messzeitpunkten abgelesenen Werte (s. Abb.7).

#### 2.5.4.1.4 Messperiode

15 Minuten vor Ende jeder Versuchsstunde begann die Messperiode. Zunächst wurden sowohl die hämodynamischen als auch die respiratorischen Parameter zum Messzeitpunkt notiert. Den Mittelwert der aufgezeichneten zentralvenösen Druckkurve erfassten wir als ZVD. Das proximale Lumen des Swan-Ganz-Katheters befand sich dabei im rechten Atrium oder in der V. cava superior. Der mit diesem Lumen verbundene Druckaufnehmer war in konstanter Höhe 10,5 cm über dem Versuchstisch justiert. Diese Höhe entspricht in etwa dem Vorhofniveau des liegenden Hundes. Die Höhe des Druckaufnehmers wurde vor jedem Versuch überprüft.

Bei gefülltem und in pulmonal-arterieller Okklusionposition liegendem Ballon wurde nach 3 Atemzügen der angezeigte diastolische Druck in der Pulmonalarterie als PCWP festgehalten. Diesen Wert benötigten wir, um später den PVR zu berechnen.

Nach der Methode von Jansen und Schreuder<sup>128, 129</sup> ermittelten wir das mittlere HZV. Hierfür injizierten wir 5 ml 4°C kalte Glucose-Lösung (5%) über den proximalen Schenkel des Swan-Ganz-Katheters in den rechten Vorhof. Dabei errechnet sich das HZV unter Berücksichtigung der atmungsabhängigen Schwankungen als Mittelwert aus 3 von 5 direkt aufeinander gemessenen Werten. Der höchste und der niedrigste Wert wurden verworfen. Nach der Formel von Hoefl<sup>130</sup> wurde mit dem HZV-Monitor (Vigilance®, Typ VGS1, Baxter & Edwards, Lifescience LLC, Irvine, CA, USA) das HZV berechnet und die Thermodilutionskurve dargestellt.

Des Weiteren entnahmen wir den Hunden ca. 25 ml arterielles Blut aus dem Aortenkatheter. Diese Proben dienten zur Bestimmung der Plasmakonzentrationen von

- Aldosteron, PAC
- Angiotensin II, AII
- Endothelin I, ET-I
- antidiuretisches Hormon, ADH
- Kreatinin,  $P_{\text{Krea}}$
- Natrium,  $P_{\text{Na}}$
- Kalium,  $P_{\text{K}}$
- Plasmareninaktivität, PRA
- Hämoglobingehalt, Hb

und der BGA bzw. des Säure-Basen-Haushalts. Zuletzt wurde die Harnblase manuell komprimiert und über ein Blasenspülssystem mit 250 ml vorgewärmtem (37°C) Aqua destilla (Ecotrainer® Aqua B. Braun, Melsungen, Deutschland) gespült und entleert. Durch eine zusätzliche Luftspülung mit zweimal 50 ml versuchten wir den Urinsammelfehler weiter zu minimieren. Das Urinvolumen wurde anschließend mit Aqua destilla auf 500 ml verdünnt.

Mit dem somit gewonnenen Urin ermittelten wir folgende Werte:

- Stundenharmmenge,  $U \dot{V}$
- Urin-Natriumkonzentration,  $U_{Na} \dot{V}$
- Urin-Kaliumkonzentration,  $U_K \dot{V}$
- Urinkreatininkonzentration,  $U_{Krea} \dot{V}$

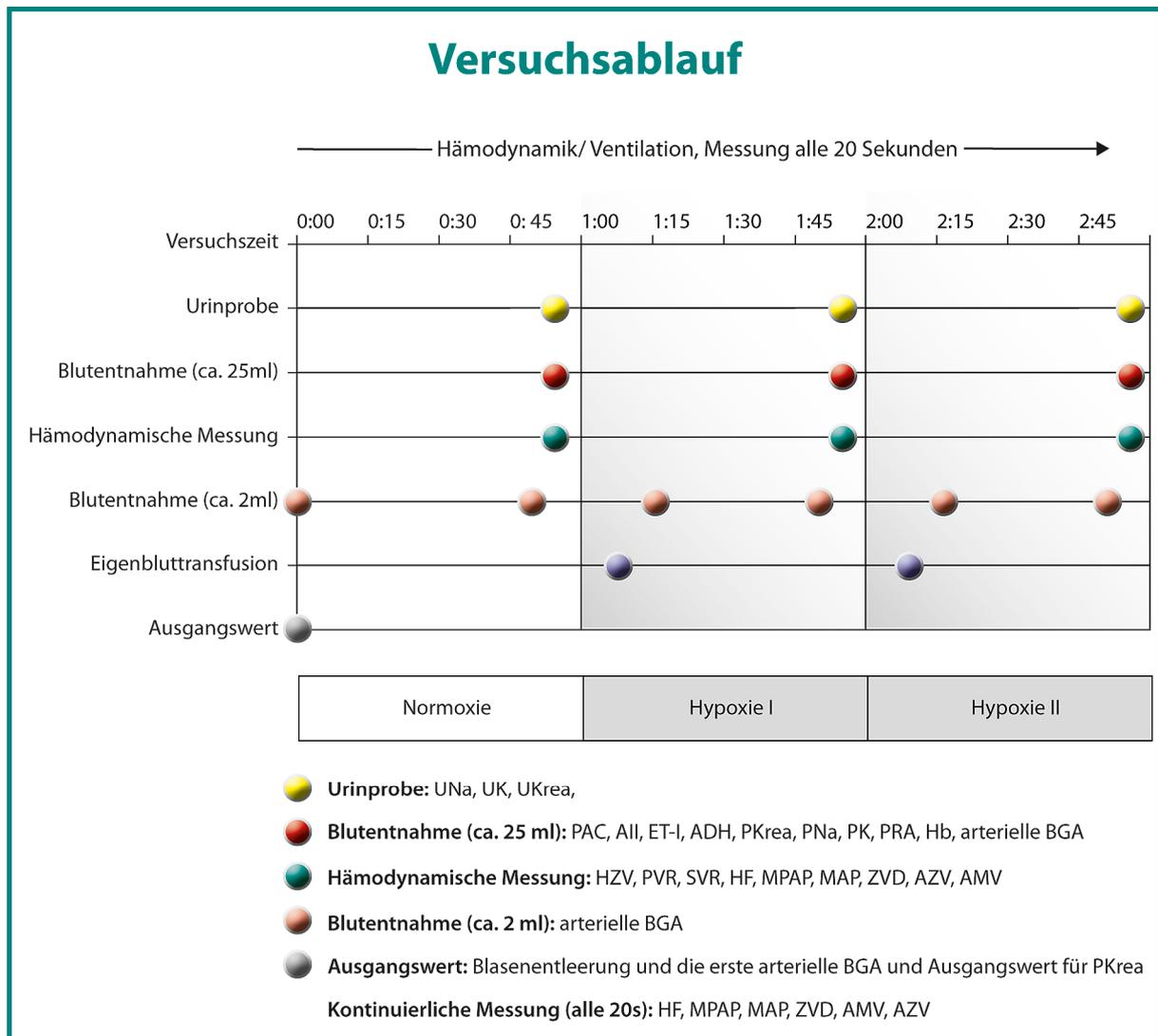


Abb. 7: Übersicht über den Versuchsablauf

#### 2.5.4.2 Protokoll 2: Acetazolamid

Die Versuchsdurchführung entspricht den Kontrollversuchen. Die Hunde erhielten zusätzlich 15 min vor Versuchsbeginn einen i.v. Aufsättigungsbolus ACZ (2 mg/kgKG). Anschließend erfolgte während des gesamten Versuchs die Gabe einer Erhaltungsdosis von 2 mg/kgKG/h ACZ (Diamox®) i.v. Die Inhibition der CA führte über eine Stimulation peripherer Chemo-rezeptoren im Glomus carotium zum gesteigerten Atemantrieb der Hunde. Daher mussten wir zur Sicherung vergleichbarer  $P_aO_2$ -Werte entsprechend der alveolären Gasgleichung (s. Kapitel 1.2.1) die  $F_iO_2$  auf Werte um 0,09-0,08 herabsetzen<sup>109</sup>.

#### 2.5.4.3 Protokoll 3: NMA-low-dose

Die Versuchsdurchführung entspricht den Kontrollversuchen. Nachdem die Hunde 15 min vor Versuchsbeginn einen i.v.-Aufsättigungsbolus von 250 mg NMA erhalten hatten, folgte eine Erhaltungsdosis von 5 mg/kgKG/h NMA i.v. über den gesamten Versuchszeitraum. Die Synthese und Reinigung des verwendeten NMAs erfolgte wie von Maren beschrieben<sup>123</sup>.

#### 2.5.4.4 Protokoll 4: NMA-high-dose

Die Versuchsdurchführung entspricht den Kontrollversuchen. Außerdem erhielten die Hunde 15 min vor Versuchsbeginn einen i.v.-Aufsättigungsbolus NMA (10 mg/kgKG). Anschließend erfolgte die Applikation einer Erhaltungsdosis von 10 mg/kgKG/h NMA i.v. über den gesamten Versuchszeitraum.

## 2.6 Quantitative Laboranalytik

Die gewonnenen Urin- und Blut- bzw. Plasmaproben dienten der Bestimmung der Elektrolyte, des Kreatinins, der Osmolarität, der Blutgase sowie einiger ausgewählter Hormone.

### 2.6.1 Analyse der Elektrolyte in den Urin- und Plasmaproben

Durch Zentrifugieren der arteriellen Blutproben wurden Plasmaproben hergestellt, in denen bestimmten wir  $P_{\text{Na}}$  und  $P_{\text{K}}$  mittels Flammenphotometrie. Auch die  $U_{\text{Na}} \dot{V}$  und die  $U_{\text{K}} \dot{V}$  wurden flammenphotometrisch gemessen.

### 2.6.2 Analyse von $U_{\text{Krea}}$ und $P_{\text{Krea}}$

Mit Hilfe der Jaffé-Reaktion, einem photometrisch-kinetischen Testverfahren, bestimmten wir die Kreatininkonzentration in Urin und Plasma. Bei dieser Reaktion bildet Kreatinin mit Pikrinsäure in stark alkalischer Lösung einen gelbroten Farbstoff, dessen Extinktionszunahme bei 512 nm proportional zur Kreatininkonzentration in den Proben ist.

### 2.6.3 Blutgasanalyse

Wir entnahmen arterielle Blutproben aus dem Aortenkatheter. In diesen Proben ermittelten wir den  $P_{\text{aO}_2}$ , den  $P_{\text{aCO}_2}$  und den  $\text{pH}_{\text{a}}$  (arteriellen pH-Wert) mit Hilfe eines Blutgasanalysators (ABL 705, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark). Dieser berechnete auch das aktuelle Bikarbonat (ABC) und den aktuellen „Base Excess“ (ABE).

### 2.6.4 Hämoglobinkonzentration und O<sub>2</sub>-Sättigung

Sowohl die Hb-Konzentration als auch die O<sub>2</sub>-Sättigung wurden mit einem auf Hundeblut geeichten Hämoxymeter (COSM3, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) bestimmt.

### 2.6.5 Hormonanalyse

Für die Hormonanalyse wurden die Blutproben in mit Kalium-EDTA beschichtete Röhrchen gefüllt, im Eisbad gekühlt, bei 4°C in einer Kühlzentrifuge zentrifugiert und das abpipettierte Plasma bei -22°C gelagert.

#### 2.6.5.1 Analyse von PRA, AII, PAC und ADH

Wir bestimmten PRA, AII, PAC und ADH nach dem Prinzip des kompetitiven radioimmunologischen Assays (RIA), (YALOW, 1959). Hierbei konkurrieren die in einer Probe vorhandenen Substanzen mit einer definierten Menge derselben, aber radioaktiv markierten Substanz um eine feste Anzahl von freien Bindungsstellen an spezifischen Antikörpern. Nach Inkubation misst man die Strahlungsaktivität der Probe. Diese ist umgekehrt proportional zur Konzentration der untersuchten Substanz.

Da eine direkte Bestimmung von Renin in Hundeplasma nicht möglich ist, wurde die PRA nach folgendem Prinzip bestimmt: Das Renin setzt sich im Probenansatz innerhalb einer definierten Zeit von Angiotensinogen zu AI um. Dieses konnte mittels RIA bestimmt werden. Deshalb lautet die Einheit für PRA  $\text{pg AI ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$ .

Tab. 4: Übersicht über die verwendeten Kits zur Hormonanalyse

Hormon	Probe	Methode	Kit
PRA	Plasma aus 4 ml arteriellem EDTA-Blut	RIA	RENCTK (P2721), DiaSorin GmbH, Düsseldorf, Deutschland (Intraassay-VK 7,6%, Interassay-VK 9,1%)
AII	Plasma aus 4 ml arteriellem EDTA-Blut	RIA	Angiotensin II, RIA, Cat. No. RB 320, Euro-Diagnostica AB, Malmö, Schweden (Intraassay-VK 3,0-3,3%, Interassay-VK 3,9-4,8%)
PAC	Plasma aus 4 ml arteriellem EDTA-Blut	RIA	Aldock-2 (P2714), DiaSorin GmbH, Düsseldorf, Deutschland (Intraassay-VK 8,2-11,2%, Interassay-VK 6,6-17,7%)
ADH	Plasma aus 7 ml arteriellem Blut in einem heparinisierten Reagenzglas gewonnen	RIA	Vasopressin (ADH)-RIA, RK-AR1, Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland (Intraassay-VK 2,6-11,2%, Interassay VK 6,6-17,7%)

#### 2.6.5.2 ET-I

Für die Analyse von ET-I versetzten wir 4 ml EDTA-Blut mit 80  $\mu\text{l}$  des Proteinaseinhibitors Aprotinin (Tyrasol<sup>®</sup> 500.000 KIE, Fa. Bayer, Leverkusen, Deutschland), zentrifugierten diese

Probe und nutzten das Plasma für einen Endothelin-spezifischen enzymimmunologischen Sandwich ELISA (Endothelin, Kat. Nr. BI-20052, Biomedica, Wien, Österreich [Intraassay-VK 4,4-4,5%, Interassay-VK 6,9-7,6%]). Bei dieser Technik werden zwei Antikörper verwendet, die beide an das nachzuweisende Antigen binden. Der erste Antikörper – *Coating-Antikörper* – wird an die Mikrotiterplatte gebunden. Dieser bindet das Antigen (ET-I) aus der Probe. Durch Zufügen des zweiten Antikörpers - *Detection-Antikörpers* - entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex. Zu diesem wird ein mit Peroxidase konjugierter Antikörper hinzugefügt. Zwischen den einzelnen Versuchsschritten werden jeweils nach Inkubation die ungebundenen Bestandteile durch Waschen entfernt. Zuletzt erfolgt die Zugabe von Tetramethylbenzidin (TMB). Dieses wird durch die Peroxidase zu einem photometrisch messbaren Farbstoff umgewandelt. Die Konzentration des Farbstoffs (pg/mg) ist direkt proportional zur Konzentration von ET-I.

## 2.7 Statistische Auswertung

Während des Versuchs wurden die Kreislauf- und Ventilationsparameter kontinuierlich auf einem PC gespeichert. Die Analyse der Daten erfolgte in zwei Gruppen. In der *NMA-low-dose-Gruppe* wurden 6 Hunde analysiert, die die Protokolle 1, 2 und 3 durchliefen. In der *NMA-high-dose-Gruppe* wurden 5 Hunde zusammengefasst, die die Protokolle 1, 2 und 4 durchliefen (s. Kapitel 2.5.4, Abb. 6).

Anschließend wurde die Auswertung mit dem Statistikprogramm Number Cruncher Statistical Systems (NCSS), (Kaysville, Utah, USA, 2001) durchgeführt. Zunächst wurden die Mittelwerte der verschiedenen Versuchsperioden längs, d.h. über die Zeit, innerhalb eines jeden Protokolls und quer, d.h. zwischen zeitgleichen Versuchsperioden, der Versuchsprotokolle (s. 2.5.4) mittels einer globalen Varianzanalyse (GLM ANOVA) auf Unterschiede untersucht. Danach erfolgte bei signifikanten Unterschieden zwischen der Kontrollgruppe und der jeweiligen Interventionsgruppe für den jeweiligen Parameter eine Folgeanalyse in Form des gepaarten Student t-Test mit einer  $\alpha$ -Adjustierung in einer Variante der nach Schaffer<sup>131</sup> modifizierten Holm-Bonferroni Prozedur. Hierfür wurde eine globale Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,05$  festgelegt. Die Nullhypothese wurde verworfen, wenn galt:  $p < \alpha$ .

In den verwendeten Abbildungen wird jeweils das arithmetische Mittel und der Standardfehler (SEM) des Mittelwertes angegeben, im Text und den Tabellen dagegen das arithmetische Mittel und die Standardabweichung (SD).

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Ventilation, Blutgase und Säure-Basen-Haushalt

#### 3.1.1 Blutgase und Säure-Basen-Haushalt der NMA-low-dose-Gruppe und der NMA-high-dose-Gruppe

Der  $P_aO_2$  fällt in allen Versuchen unter Hypoxie auf Werte zwischen 35 und 40 mmHg ab. Bei den ACZ-Versuchen in der NMA-low-dose-Gruppe liegen die Werte in Normoxie und Hypoxie I höher als in den Kontrollversuchen. In der NMA-high-dose-Gruppe kann dieser Unterschied zwischen den ACZ-Versuchen und den Kontrollversuchen in allen Versuchsstunden gezeigt werden (s. Tab. 5).

Der  $P_aCO_2$  fällt in allen Versuchen auf unter 31 mmHg unter Hypoxie ab. In der Normoxie-Phase der ACZ-Versuche der NMA-low-dose-Gruppe wurde im Durchschnitt ein geringerer Wert als in den Kontrollen gemessen. Diese Beobachtung konnte in der NMA-high-dose-Gruppe in allen Versuchsphasen der ACZ-Versuche dokumentiert werden (s. Tab. 5).

Der  $pH_a$  steigt in den Kontrollen beider Gruppen und in den NMA-high-dose- und NMA-low-dose-Versuchen beim Vergleich von Normoxie und Hypoxie an. In den ACZ-Versuchen der NMA-low-dose-Gruppe bleibt der  $pH_a$  konstant und unterscheidet sich in Hypoxie II von den Kontrollen. In den ACZ-Versuchen der NMA-high-dose-Gruppe zeigt sich zwar ein Anstieg des pH-Wertes, dieser ist jedoch geringer als in der Kontrolle (s. Tab. 5).

Die  $ABC$  bleibt in den Kontrollen der NMA-low-dose-Gruppe über die gesamte Versuchsperiode konstant zwischen  $22,4 \pm 1$  und  $20,4 \pm 3$  mmol/l. Im Gegensatz dazu zeigt sich sowohl bei den ACZ – als auch bei den NMA-low-dose-Versuchen ein – im Vergleich zur Normoxie – kontinuierlicher Abfall. Außerdem ist unter Normoxie das  $ABC$  in den ACZ-Versuchen niedriger als in den Kontrollen (s. Tab. 5).

Die Beobachtungen in der NMA-high-dose-Gruppe entsprechen in etwa denen in der NMA-low-dose-Gruppe: Auch hier bleibt die  $ABC$  in den Kontrollen konstant und die ACZ-Versuche unterscheiden sich in allen Versuchsstunden von den Kontrollen.

Die  $ABE$  zeigt in allen Kontrollen und den NMA-low-dose- und NMA-high-dose-Versuchen keine Veränderungen. Dagegen beobachteten wir in den ACZ-Versuchen beider Versuchsgruppen höhere Werte in allen Versuchsphasen außer in der Normoxie-Stunde der NMA-high-dose-Gruppe. (s. Tab. 5).

Tab. 5: Blutgaswerte der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose-Gruppe (n=5)

$P_aO_2$ ,  $P_aCO_2$ ,  $pH_a$ ,  $Hb_aO_2$  (arterielle Sauerstoffsättigung), ABC und ABE unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $\bar{x} \pm SD$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

	NMA-low-dose-Gruppe				NMA-high-dose-Gruppe			
	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
$P_aO_2$ [mmHg]	Kontrolle	92 ± 2	35 ± 2 #	37 ± 3 #	Kontrolle	93 ± 2	35 ± 1 #	37 ± 1 #
	ACZ i.v.	109 ± 5 *	37 ± 1 #*	39 ± 2 #	ACZ i.v.	108 ± 2*	40 ± 1 #*	40 ± 1 #*
	NMA-low-dose	97 ± 4	36 ± 2 #	38 ± 1 #	NMA-high-dose	97 ± 4	37 ± 1 #	38 ± 1 #
$P_aCO_2$ [mmHg]	Kontrolle	38 ± 1	31 ± 2 #	30 ± 4 #	Kontrolle	38 ± 1	30 ± 1 #	28 ± 1 #
	ACZ i.v.	34 ± 2 *	29 ± 3 #	28 ± 2 #	ACZ i.v.	33 ± 1 *	28 ± 1 #*	26 ± 1 #*
	NMA-low-dose	37 ± 3	29 ± 2 #	27 ± 1 #	NMA-high-dose	37 ± 1	27 ± 1 #	27 ± 1 #
$pH_a$	Kontrolle	7,38 ± 0,02	7,45 ± 0,03 #	7,46 ± 0,03 #	Kontrolle	7,38 ± 0,01	7,45 ± 0,01 #	7,47 ± 0,01 #
	ACZ i.v.	7,39 ± 0,02	7,42 ± 0,03	7,41 ± 0,03 *	ACZ i.v.	7,38 ± 0,01	7,42 ± 0,02 #*	7,42 ± 0,02 #
	NMA-low-dose	7,38 ± 0,01	7,44 ± 0,01 #	7,47 ± 0,01 #	NMA-high-dose	7,38 ± 0,01	7,46 ± 0,02 #	7,47 ± 0,003 #
$Hb_aO_2$ [%]	Kontrolle	95 ± 3	66 ± 6 #	68 ± 5 #	Kontrolle	96 ± 1	68 ± 2 #	73 ± 1 #
	ACZ i.v.	96 ± 1	70 ± 5 #	71 ± 5 #	ACZ i.v.	97 ± 1	75 ± 3 #	75 ± 2 #
	NMA-low-dose	94 ± 2	66 ± 5 #	68 ± 4 #	NMA-high-dose	97 ± 1	74 ± 2 #	75 ± 2 #
ABC [mmol/l]	Kontrolle	22,4 ± 1	20,4 ± 3	20,5 ± 4	Kontrolle	21,5 ± 0,6	20,8 ± 0,4	19,7 ± 0,6
	ACZ i.v.	20,2 ± 1 *	18,8 ± 2	18,1 ± 1 #	ACZ i.v.	19,4 ± 0,6*	17,8 ± 0,7 *	16,3 ± 0,7#*
	NMA-low-dose	21,2 ± 1	19,6 ± 1	18,7 ± 1 #	NMA-high-dose	21,2 ± 0,6	18,4 ± 0,7 #*	19,2 ± 0,7
ABE [mmol/l]	Kontrolle	-1,8 ± 1	-1,4 ± 1	-1,7 ± 3	Kontrolle	-2,7 ± 0,7	-1,6 ± 0,4	-2,1 ± 0,6
	ACZ i.v.	-3,7 ± 1 *	-4,3 ± 1 *	-5,4 ± 1 #*	ACZ i.v.	-4,2 ± 0,6	-4,8 ± 0,8 *	-6,1 ± 0,8 *
	NMA-low-dose	-2,9 ± 1	-2,9 ± 1	-3,1 ± 1	NMA-high-dose	-2,9 ± 0,6	-3,0 ± 0,7	-2,5 ± 0,6

## 3.1.2 AMV und AZV in der NMA-low-dose- und NMA-high-dose-Gruppe

Beim AMV kann in den Kontrollen und in den ACZ-Versuchen der NMA-low-dose-Gruppe nur in der Hypoxie-Stunde II der ACZ-Versuche ein Anstieg nachgewiesen werden. In der NMA-high-dose-Gruppe steigt das AMV in den Kontrollen unter Hypoxie an. Sowohl die NMA-low-dose- als auch die NMA-high-dose-Versuche zeigen in den Hypoxie-Phasen einen Anstieg. Bei Betrachtung der absoluten Zahlenwerte fällt auf, dass das AMV der NMA-high-dose-Versuche stärker ansteigt als das der NMA-low-dose-Versuche (s. Tab. 6).

Das AZV beider Gruppen ist in den ACZ-Versuchen unter Hypoxie höher als in den Kontrollen (s. Tab. 6).

Tab. 6: AMV und AZV der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und NMA-high-dose-Gruppe (n=5)

AMV und AZV unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $\bar{x} \pm \text{SD}$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

	NMA-low-dose-Gruppe				NMA-high-dose-Gruppe			
	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
AMV [l/min]	Kontrolle	3,7 ± 1,2	5,5 ± 2,0	5,3 ± 1,9	Kontrolle	2,7 ± 0,3	4,1 ± 1,1 #	4,5 ± 0,9 #
	ACZ i.v.	3,8 ± 0,8	5,7 ± 1,9	6,5 ± 2,1 #	ACZ i.v.	4,1 ± 1,2 *	5,8 ± 1,8	6,1 ± 1,9
	NMA-low-dose	3,4 ± 0,9	4,6 ± 0,9 #	4,5 ± 0,4 #	NMA-high-dose	3,0 ± 0,7	5,5 ± 2,0 #	5,6 ± 2,1 #
AZV [ml]	Kontrolle	255 ± 64	300 ± 84	290 ± 75	Kontrolle	247 ± 57	343 ± 82	329 ± 99
	ACZ i.v.	345 ± 95	424 ± 89 *	444 ± 101 *	ACZ i.v.	359 ± 120	458 ± 85	475 ± 102 *
	NMA-low-dose	272 ± 74	312 ± 63	362 ± 46 #	NMA-high-dose	289 ± 74	315 ± 70	303 ± 69

## 3.2 Hämodynamik

### 3.2.1 Systemische Hämodynamik der NMA-low-dose- und NMA-high-dose-Gruppe

Die *HF* steigt in allen Versuchen der NMA-high-dose-Gruppe unter Hypoxie an. In der NMA-low-dose-Gruppe steigt die *HF* nur in Hypoxie I der Kontrollen an (s. Tab. 7).

Tab. 7: Systemische Hämodynamik der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose-Gruppe (n=5)

HF, MAP, ZVD, HZV und SVR unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $\bar{x} \pm \text{SD}$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

	NMA-low-dose-Gruppe				NMA-high-dose-Gruppe			
	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
<b>HF</b> [1/min]	Kontrolle	79 ± 13	111 ± 23 #	99 ± 21	Kontrolle	75 ± 9	118 ± 17 #	107 ± 12 #
	ACZ i.v.	74 ± 12	95 ± 19	89 ± 27	ACZ i.v.	77 ± 12	106 ± 23 #	108 ± 19 #
	NMA-low-dose	70 ± 12	88 ± 17	92 ± 22	NMA-high-dose	70 ± 11	109 ± 18 #	106 ± 13 #
<b>MAP</b> [mmHg]	Kontrolle	94 ± 8	107 ± 9	104 ± 21	Kontrolle	89 ± 6	101 ± 7 #	99 ± 12
	ACZ i.v.	89 ± 11	97 ± 20	107 ± 16 #	ACZ i.v.	87 ± 8	94 ± 13	99 ± 12
	NMA-low-dose	90 ± 7	103 ± 9 #	105 ± 17	NMA-high-dose	86 ± 8	105 ± 6 #	99 ± 14
<b>ZVD</b> [mmHg]	Kontrolle	2 ± 1	3 ± 1	2 ± 1	Kontrolle	3 ± 1	3 ± 1	2 ± 0,4
	ACZ i.v.	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	ACZ i.v.	3 ± 1	2 ± 0,4	3 ± 0,4
	NMA-low-dose	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	NMA-high-dose	3 ± 0,4	2 ± 0,4	3 ± 0,9
<b>HZV</b> [l/min]	Kontrolle	2,8 ± 0,5	3,1 ± 0,6	2,9 ± 0,4	Kontrolle	2,4 ± 0,8	3,0 ± 0,7	2,8 ± 0,5
	ACZ i.v.	2,4 ± 0,6	2,4 ± 0,5	2,3 ± 0,2 *	ACZ i.v.	2,3 ± 1,2	2,7 ± 0,7	2,7 ± 0,6
	NMA-low-dose	2,6 ± 0,8	2,7 ± 0,5	2,8 ± 0,5	NMA-high-dose	2,6 ± 0,8	3,0 ± 0,7	2,9 ± 0,4
<b>SVR</b> [dyn·s·cm <sup>-5</sup> ]	Kontrolle	2696 ± 663	2788 ± 686	2896 ± 898	Kontrolle	3104 ± 993	2766 ± 708	2871 ± 700
	ACZ i.v.	3074 ± 913	3137 ± 791	3651 ± 735	ACZ i.v.	3366 ± 1352	2806 ± 710	2933 ± 887
	NMA-low-dose	3017 ± 1182	3195 ± 964	3107 ± 897	NMA-high-dose	2745 ± 1004	2888 ± 786	2651 ± 455

### 3.2.2 Pulmonale Hämodynamik der NMA-low-dose- und NMA-high-dose-Gruppe

#### 3.2.2.1 Der pulmonal-arterielle Mitteldruck

Der MPAP der *NMA-low-dose-Gruppe* steigt in den Kontrollen von  $13 \pm 2$  mmHg auf  $20 \pm 3$  mmHg in Hypoxie I und II (s. Abb. 8a, Tab. 8). In den Kontrollen der *NMA-high-dose-Versuche* steigt der MPAP von  $11 \pm 2$  (Normoxie) auf  $17 \pm 3$  mmHg (Hypoxie I und II).

Im Gegensatz dazu bleiben die Werte in den ACZ-Versuchen beider Gruppen über den gesamten Versuchszeitraum auf einem konstant niedrigen Niveau. Der MPAP liegt über den gesamten Versuchszeitraum zwischen 12 und 13 mmHg.

Betrachtet man die *NMA-low-dose-Versuche*, so ist auch hier ein Anstieg von  $13 \pm 2$  mmHg auf  $17 \pm 3$  mmHg unter Hypoxie zu beobachten (s. Abb. 8 a, Tab. 8).

In den *NMA-high-dose-Versuchen* steigt der MPAP von  $12 \pm 2$  in der Normoxie auf  $16 \pm 3$  bzw.  $15 \pm 3$  mmHg unter Hypoxie I und II. Dieser Anstieg ist statistisch nicht signifikant ( $p < 0,05$  vs. Normoxie, s. Abb. 8 b, Tab. 8).

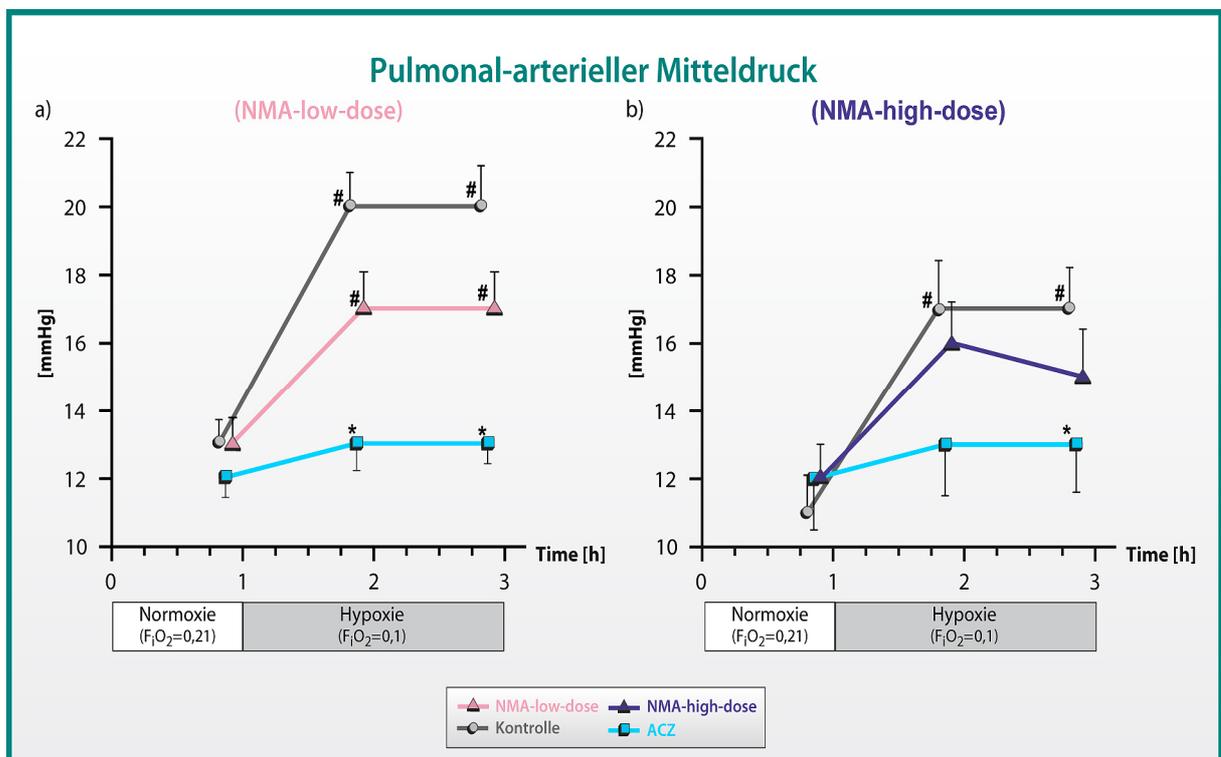


Abb. 8: Der pulmonal-arterielle Mitteldruck

a) MPAP in der NMA-low-dose-Gruppe (n=6)

b) MPAP in der NMA-high-dose-Gruppe (n=5)

unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $\bar{x} \pm \text{SEM}$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

Betrachtet man das *dMPAP* (*Delta des pulmonal-arteriellen Mitteldrucks*) der NMA-high-dose-Versuche, so steigt es von  $0 \pm 0$  mmHg in der Normoxie auf  $3 \pm 1$  mmHg in beiden Hypoxie-Stunden. Dieser Anstieg ist niedriger als der der Kontrolle (s. Tab. 8).

Tab. 8: **Pulmonale Hämodynamik der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose-Gruppe (n=5)** MPAP und dMPAP unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $\bar{x} \pm SD$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

	NMA-low-dose-Gruppe				NMA-high-dose-Gruppe			
	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
MPAP [mmHg]	Kontrolle	$13 \pm 2$	$20 \pm 2 \#$	$20 \pm 3 \#$	Kontrolle	$11 \pm 2$	$17 \pm 3 \#$	$17 \pm 3 \#$
	ACZ i.v.	$12 \pm 2$	$13 \pm 2^*$	$13 \pm 2^*$	ACZ i.v.	$12 \pm 3$	$13 \pm 3$	$13 \pm 3^*$
	NMA-low-dose	$13 \pm 2$	$17 \pm 3 \#$	$17 \pm 3 \#$	NMA-high-dose	$12 \pm 2$	$16 \pm 3$	$15 \pm 3$
dMPAP [mmHg]	Kontrolle	$0 \pm 0$	$7 \pm 2 \#$	$7 \pm 2 \#$	Kontrolle	$0 \pm 0$	$6 \pm 1 \#$	$6 \pm 1 \#$
	ACZ i.v.	$0 \pm 0$	$1 \pm 2^*$	$0 \pm 1^*$	ACZ i.v.	$0 \pm 0$	$1 \pm 0 \#^*$	$1 \pm 1 \#^*$
	NMA-low-dose	$0 \pm 0$	$4 \pm 2 \#$	$4 \pm 2 \#$	NMA-high-dose	$0 \pm 0$	$3 \pm 2 \#^*$	$3 \pm 2 \#^*$

### 3.2.2.2 Der pulmonal-vaskuläre Widerstand

Der *PVR* steigt in den Kontrollen der *NMA-low-dose-Gruppe* von  $249 \pm 70$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> auf  $429 \pm 135$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> und  $448 \pm 105$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> in Hypoxie I und II.

Dagegen bleiben die Mittelwerte unter ACZ konstant zwischen  $294 \pm 87$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> und  $327 \pm 76$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> über den gesamten Versuchszeitraum und sind in Hypoxie II niedriger als in der Kontrolle.

Die *NMA-low-dose-Versuche* weisen einen Anstieg von  $288 \pm 80$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> unter Normoxie auf  $417 \pm 99$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> in Hypoxie I auf. In Hypoxie II ist dieser Anstieg jedoch nicht mehr nachweisbar ( $397 \pm 144$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> s. Abb. 9 a, Tab. 9).

Entsprechend den Beobachtungen der *NMA-low-dose-Gruppe* zeigt sich auch in den Kontrollen der *NMA-high-dose-Gruppe* ein Anstieg des *PVR* unter Hypoxie-Bedingungen von  $222 \pm 69$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> auf  $354 \pm 64$  dyn·s·cm<sup>-5</sup>. Auch die ACZ-Versuche bleiben auf konstant niedrigem Niveau und unterscheiden sich in der Hypoxie I und II von der Kontrolle. Einzig die *NMA-high-dose-Versuche* unterscheiden sich von den *NMA-low-dose-Versuchen*: Sie bleiben über den gesamten Zeitraum konstant und zeigen keinen signifikanten Anstieg (vergleiche Abb. 9a und b).

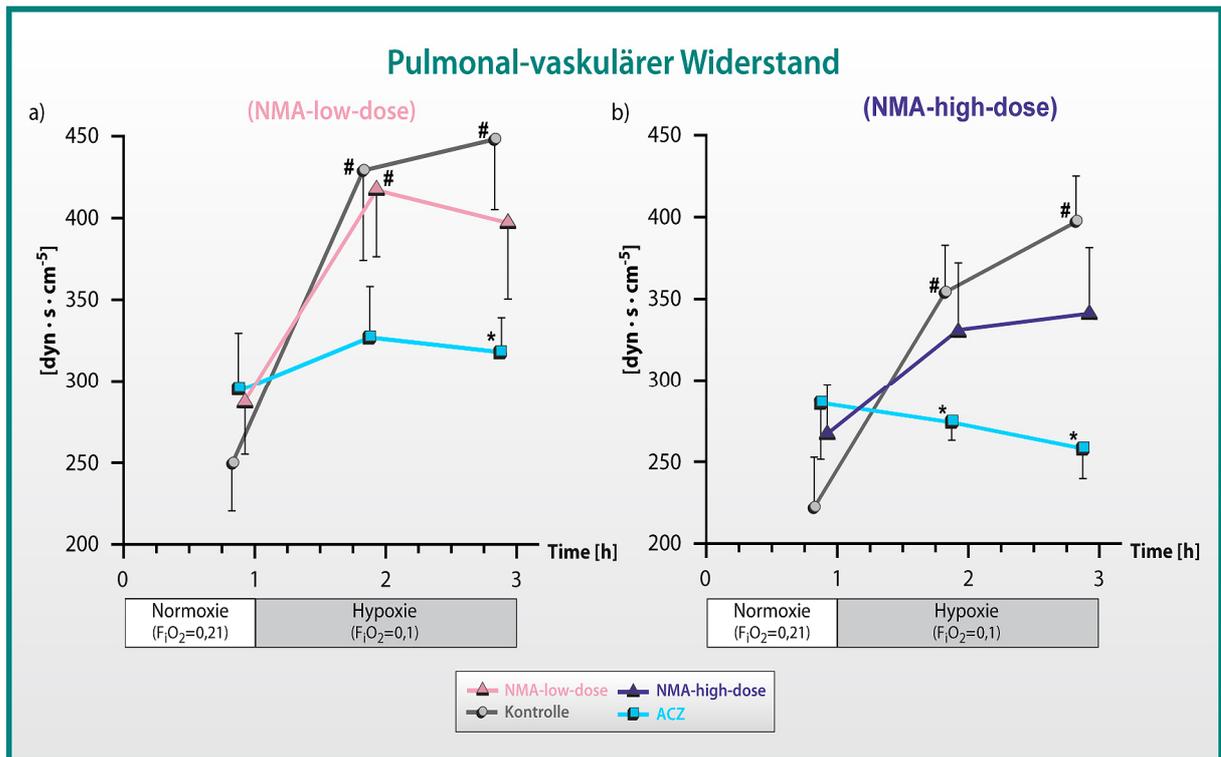


Abb. 9: Der pulmonal-vaskuläre Widerstand

a) PVR in der NMA-low-dose-Gruppe (n=6)

b) PVR in der NMA-high-dose-Gruppe (n=5) unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $\bar{x} \pm \text{SEM}$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

Betrachtet man das *Delta des PVRs* ( $dPVR$ ) der *NMA-low-dose-Gruppe*, so zeigen sich in beiden Hypoxie-Stunden niedrigere Werte in den ACZ-Versuchen ( $33 \pm 113$  und  $18 \pm 87 \text{ dyn}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-5}$ ) als in den Kontrollen ( $179 \pm 87$  und  $180 \pm 82 \text{ dyn}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-5}$ ). Der Anstieg des PVR in den NMA-low-dose-Versuchen unter Hypoxie beträgt  $129 \pm 48$  (Hypoxie I) und  $104 \pm 84 \text{ dyn}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-5}$  (Hypoxie II) (s. Tab. 9).

Bei dem  $dPVR$  der *NMA-high-dose-Gruppe* stimmten die Ergebnisse der Kontrollen der ACZ-Versuche mit denen der NMA-low-dose-Gruppe überein. In den NMA-high-dose Versuchen konnte ein Anstieg des  $dPVRs$  nur in Hypoxie I ( $65 \pm 59 \text{ dyn}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-5}$ ) nachgewiesen werden (s. Tab. 9).

Tab. 9: Pulmonale Hämodynamik der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose-Gruppe (n=5) PVR und dPVR unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $x \pm SD$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

	NMA-low-dose-Gruppe				NMA-high-dose-Gruppe			
	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
PVR [dyn·s·cm <sup>-5</sup> ]	Kontrolle	249 ± 70	429 ± 135 #	449 ± 105 #	Kontrolle	222 ± 69	354 ± 64 #	397 ± 62 #
	ACZ i.v.	294 ± 87	327 ± 76	318 ± 51 *	ACZ i.v.	286 ± 77	274 ± 24 *	258 ± 41 *
	NMA-low-dose	288 ± 80	417 ± 99 #	397 ± 114	NMA-high-dose	267 ± 68	331 ± 91	341 ± 90
dPVR [dyn·s·cm <sup>-5</sup> ]	Kontrolle	0 ± 0	179 ± 87 #	180 ± 82 #	Kontrolle	0 ± 0	132 ± 41 #	175 ± 44 #
	ACZ i.v.	0 ± 0	33 ± 113 *	18 ± 87 *	ACZ i.v.	0 ± 0	-12 ± 73 *	-28 ± 99 *
	NMA-low-dose	0 ± 0	129 ± 48 #	104 ± 84 #	NMA-high-dose	0 ± 0	65 ± 53 #	74 ± 90

### 3.2.2.3 Der pulmonal-kapilläre Verschlussdruck (PCWP) in der NMA-low-dose- und NMA-high-dose-Gruppe

Tab. 10: Pulmonale Hämodynamik der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose-Gruppe (n=5) PCWP unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $x \pm SD$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

	NMA-low-dose-Gruppe				NMA-high-dose-Gruppe			
	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
PCWP [mmHg]	Kontrolle	4 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	Kontrolle	4 ± 0	4 ± 1	4 ± 1
	ACZ i.v.	4 ± 1	3 ± 1	4 ± 1	ACZ i.v.	4 ± 1	4 ± 1	4 ± 1
	NMA-low-dose	4 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	NMA-high-dose	4 ± 1	4 ± 1	3 ± 1

## 3.3 Renale Exkretion und Plasmaelektrolyte

Die  $U_{Na}\dot{V}$  zeigt in den Kontrollen beider Versuchsgruppen keinen Anstieg. In den NMA-low-dose-Versuchen steigt die  $U_{Na}\dot{V}$  von  $0,3 \pm 0,2 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$  auf  $1,2 \pm 0,8 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$  an. Des Weiteren ist die  $U_{Na}\dot{V}$  in den ACZ-Versuchen über die gesamte Versuchsperiode größer als in den Kontrollen (s. Tab. 11).

Die  $FE_{Na}$  bleibt über alle Versuchsphasen konstant. Nur in den ACZ-Versuchen der NMA-high-dose-Gruppe zeigt sich ein Anstieg von  $1,11 \pm 0,23 \%$  auf  $1,71 \pm 0,18 \%$ . Außerdem ist die  $FE_{Na}$  in allen ACZ-Versuchen höher als in den Kontrollen (s. Tab.11).

Tab. 11: Renale Exkretion und Plasmaelektrolyte der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose Gruppe (n=5)

$U \dot{V}$ ,  $U_{Na} \dot{V}$ ,  $FE_{Na}$ ,  $U_K \dot{V}$ , GFR,  $P_{Na}$  und  $P_K$  unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $\bar{x} \pm SD$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

	NMA-low-dose-Gruppe				NMA-high-dose-Gruppe			
	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
$U \dot{V}$ [ $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]	Kontrolle	29 ± 29	51 ± 36	29 ± 21	Kontrolle	28 ± 30	46 ± 41	26 ± 22
	ACZ i.v.	99 ± 36	130 ± 64	60 ± 18	ACZ i.v.	61 ± 31	69 ± 51	59 ± 27
	NMA-low-dose	56 ± 47	86 ± 40	39 ± 29	NMA-high-dose	35 ± 16	88 ± 67	35 ± 41
$U_{Na} \dot{V}$ [ $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]	Kontrolle	0,4 ± 0,3	0,6 ± 0,5	1,7 ± 3,1	Kontrolle	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,5	2,2 ± 3,2
	ACZ i.v.	4,0 ± 1,0 *	4,3 ± 1,0 *	6,4 ± 2,4 *	ACZ i.v.	4,4 ± 1,0 *	6,0 ± 2,4 *	7,7 ± 2,0 #*
	NMA-low-dose	0,3 ± 0,2	0,7 ± 0,5	1,2 ± 0,8 #	NMA-high-dose	0,5 ± 0,5	1,1 ± 1,0	1,4 ± 0,9
$FE_{Na}$ [%]	Kontrolle	0,07 ± 0,06	0,11 ± 0,12	0,30 ± 0,52	Kontrolle	0,04 ± 0,01	0,12 ± 0,10	0,38 ± 0,54
	ACZ i.v.	0,91 ± 0,20 *	0,93 ± 0,17*	1,35 ± 0,45 *	ACZ i.v.	1,11 ± 0,23 *	1,39 ± 0,47 *	1,71 ± 0,18 #*
	NMA-low-dose	0,06 ± 0,05	0,13 ± 0,10	0,29 ± 0,27	NMA-high-dose	0,08 ± 0,08	0,21 ± 0,17	0,27 ± 0,19
$U_K \dot{V}$ [ $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]	Kontrolle	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,3	1,4 ± 2,4	Kontrolle	0,3 ± 0,3	0,9 ± 0,9	2,7 ± 2,4
	ACZ i.v.	5,1 ± 3,3 *	5,1 ± 2,6 *	6,0 ± 3,7 *	ACZ i.v.	6,1 ± 3,3 *	6,1 ± 2,1 *	6,7 ± 3,7
	NMA-low-dose	0,6 ± 0,5	0,8 ± 0,3	1,0 ± 0,7	NMA-high-dose	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,5	1,0 ± 0,7
GFR [ $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]	Kontrolle	3,8 ± 0,6	3,8 ± 0,4	3,6 ± 0,5	Kontrolle	3,3 ± 0,8	3,5 ± 0,9	3,4 ± 0,8
	ACZ i.v.	3,2 ± 0,2 *	3,2 ± 0,3*	3,4 ± 0,6	ACZ i.v.	2,8 ± 0,4	3,0 ± 0,7	3,1 ± 0,7
	NMA-low-dose	4,2 ± 1,6	3,5 ± 0,5	3,3 ± 0,7	NMA-high-dose	3,9 ± 1,0	3,6 ± 0,9	3,5 ± 0,7
$P_{Na}$ [mmol/l]	Kontrolle	144 ± 3	139 ± 2 #	141 ± 4	Kontrolle	146 ± 4	143 ± 4	146 ± 6
	ACZ i.v.	140 ± 7	144 ± 5	141 ± 3	ACZ i.v.	144 ± 5	147 ± 5	144 ± 5
	NMA-low-dose	145 ± 4	146 ± 4 *	143 ± 2	NMA-high-dose	148 ± 3	149 ± 4	145 ± 7
$P_K$ [mmol/l]	Kontrolle	3,6 ± 0,2	3,2 ± 0,2 #	3,1 ± 0,1 #	Kontrolle	3,5 ± 0,2	3,4 ± 0,2	3,3 ± 0,2
	ACZ i.v.	2,9 ± 0,2 *	2,9 ± 0,3 *	2,9 ± 0,3	ACZ i.v.	3,1 ± 0,3	3,2 ± 0,3	3,0 ± 0,2
	NMA-low-dose	3,6 ± 0,2	3,4 ± 0,2	3,2 ± 0,2	NMA-high-dose	3,5 ± 0,4	3,3 ± 0,5	3,1 ± 0,4

Bei der Auswertung der  $U_K \dot{V}$  kommt man zu einem ähnlichen Ergebnis wie bei der  $U_{Na} \dot{V}$  (s.o.). In den Kontrollen, ACZ- und NMA-high-dose- sowie NMA-low-dose-Versuchen zeigt sich kein Unterschied zwischen Normoxie und Hypoxie. In den ACZ-Versuchen sind die Werte zu allen Messzeitpunkten höher als in den Kontrollen (s. Tab.11).

Die  $GFR$  bleibt in den Kontrollen der NMA-low-dose-Gruppe konstant zwischen  $3,8 \pm 0,6$  und  $3,6 \pm 0,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$  und in den Kontrollen der NMA-high-dose-Gruppe konstant zwischen  $3,3 \pm 0,8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$  und  $0,3 \pm 0,9 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Auch die ACZ- und NMA-Versuche bleiben konstant auf einem Niveau. Dabei sind die in den ACZ-Versuchen der NMA-low-dose-Gruppe gemessenen Werte in Normoxie und Hypoxie I jedoch niedriger als die Kontrollen (s. Tab. 11).

Die  $P_K$  fällt in den Kontrollen der *NMA-low-dose-Gruppe* von  $3,6 \pm 0,2 \text{ mmol/l}$  auf  $3,2 \pm 0,2 \text{ mmol/l}$  bzw.  $3,1 \pm 0,1 \text{ mmol/l}$  in Hypoxie I bzw. II ab. Die  $P_K$  der ACZ-Versuche der NMA-low-dose-Gruppe sind in den Versuchsstunden I und II niedriger als in den Kontrollen und bleiben konstant auf  $2,9 \pm 0,3 \text{ mmol/l}$  (s. Tab. 11).

### 3.4 Acetazolamidspiegel

Bei der *NMA-high-dose-Gruppe* wurde die ACZ-Plasma-Konzentration der ACZ-Versuche, der NMA-high-dose-Versuche sowie stichprobenhaft randomisiert der Hälfte der Kontrollen gemessen. Dabei bleibt der ACZ-Spiegel in den ACZ-Versuchen konstant größer als  $6,1 \pm 1,4 \mu\text{g/ml}$ . In den Kontrollen und den NMA-high-dose-Versuchen liegt der ACZ-Spiegel über den gesamten Versuchszeitraum konstant bei  $0 \pm 0 \mu\text{g/ml}$  (s. Tab. 12).

Tab. 12: Acetazolamidspiegel in der NMA-high-dose-Gruppe

unter Normoxie (\*n=3), Hypoxie I (n=5) und Hypoxie II (n=5)  $\bar{x} \pm \text{SD}$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

ACZ [ $\mu\text{g/ml}$ ]	NMA-high-dose-Gruppe			
	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
Kontrolle*		$0 \pm 0$	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$
ACZ i.v.		$6,1 \pm 2,6$ *	$7,9 \pm 2,0$ *	$8,1 \pm 1,1$ *
NMA-high-dose		$0 \pm 0$	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$

### 3.5 Hämoglobinkonzentration

Wir untersuchten den *Hb* in den Kontrollen der NMA-low-dose Gruppe und in den NMA-low-dose Versuchen. In den Kontrollen bleibt der *Hb* konstant bei  $14,4 \pm 1,1$  g/dl (Normoxie) und  $15,1 \pm 0,8$  bzw.  $15,2 \pm 1,7$  g/dl in Hypoxie I bzw. II. Auch in den NMA-low-dose-Versuchen bleiben die *Hb*-Werte stabil ( $12,8 \pm 1,7$  g/dl bei Normoxie,  $12,6 \pm 1,7$  g/dl bei Hypoxie I und  $13,5 \pm 1,3$  g/dl bei Hypoxie II).

### 3.6 Hormone

#### 3.6.1 PRA, PAC, AII und ADH

Wir untersuchten PRA, PAC, AII und ADH nur in der *NMA-high-dose-Gruppen* (n=5).

Tab. 13: Analyse der Hormone der NMA-high-dose-Gruppe (n=5)

PRA, PAC, AII und die ADH unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $\bar{x} \pm SD$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

	NMA-high-dose-Gruppe			
	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
PRA [pg Al ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> ]	Kontrolle	$3,2 \pm 1,9$	$1,5 \pm 0,5$	$1,3 \pm 0,5$
	ACZ i.v.	$3,7 \pm 0,8$	$3,8 \pm 1,2^*$	$5,5 \pm 3,3^*$
	NMA-high-dose	$2,5 \pm 1,3$	$2,0 \pm 1,1$	$2,0 \pm 1,3$
PAC [pg/ml]	Kontrolle	$99 \pm 55$	$65 \pm 14$	$44 \pm 14$
	ACZ i.v.	$107 \pm 66$	$101 \pm 55$	$101 \pm 73$
	NMA-high-dose	$82 \pm 40$	$55 \pm 18$	$55 \pm 16$
AII [pg/ml]	Kontrolle	$7,5 \pm 3,9$	$6,8 \pm 4,0$	$4,7 \pm 1,5$
	ACZ i.v.	$12,2 \pm 3,3$	$8,8 \pm 2,2$	$11,3 \pm 4,8^*$
	NMA-high-dose	$9,9 \pm 6,1$	$7,0 \pm 3,3$	$5,5 \pm 1,6$
ADH [pg/ml]	Kontrolle	$0,1 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,9$	$1,1 \pm 1,2$
	ACZ i.v.	$0 \pm 0$	$1,0 \pm 2,1$	$0,8 \pm 0,8$
	NMA-high-dose	$0 \pm 0$	$0 \pm 0$	$1,5 \pm 3,4$

Die *PRA* bleibt in den Kontrollen, den ACZ- und den NMA-high-dose-Versuchen konstant. In den ACZ-Versuchen ist die *PRA* unter Hypoxie höher als in den Kontrollen (s. Tab. 13).

Die *AII* bleibt konstant und zeigt keine Unterschiede zwischen den Interventionsversuchen und den Kontrollen. Nur in Hypoxie II der ACZ-Versuche ist die *AII*-Konzentration höher als in den Kontrollen (s. Tab. 13).

Die *ADH*-Konzentration bleibt über den gesamten Versuchszeitraum konstant. Während der Normoxie der ACZ-Versuche und in Normoxie und Hypoxie I der NMA-high-dose-Versuche bleiben die *ADH*-Spiegel unter der Nachweisgrenze des *ADH*-Kits von ca. 0,2 pg/ml.

### 3.6.2 ET-I

Auch *ET-I* wurde nur in der NMA-high-dose-Gruppe (n=5) untersucht. Die Werte bleiben über den gesamten Versuchszeitraum konstant und zeigen keinen Unterschied zwischen den Interventionsversuchen und den Kontrollen (s. Tab. 14).

Tab. 14: Analyse des *ET-I*-Spiegels der NMA-high-dose-Gruppe (n=5)

*ET-I*-Konzentration unter Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II  $\bar{x} \pm \text{SD}$ , #  $p < 0,05$  vs. Normoxie, \*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle.

	NMA-high-dose-Gruppe			
	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
ET-I [pg/ml]	Kontrolle	12,8 ± 7,1	14,7 ± 8,4	14,9 ± 9,2
	ACZ i.v.	14,8 ± 4,6	14,9 ± 4,6	16,0 ± 5,6
	NMA-high-dose	15,5 ± 4,4	15,7 ± 3,6	16,8 ± 3,9

## 4 Diskussion

### 4.1 Methodenkritik

#### 4.1.1 Der wache Hund

Die Versuche wurden an wachen Hunden durchgeführt, da nur am wachen, spontan-atmenden und nicht sedierten Organismus die vegetativen und hormonellen Regelkreisläufe unbeeinflusst von potentiellen Störfaktoren wie Allgemeinanästhesie, positiver Druckbeatmung und chirurgischen Stimuli bleiben. Andererseits erfordert die Arbeit mit wachen Tieren ein hohes Maß an Training, da sowohl die Instrumentierung als auch der Versuch selbst unter optimalen Bedingungen einen potentiellen Stressfaktor darstellen. Für stressarme Versuchsbedingungen in dieser Studie spricht die Tatsache, dass die gemessenen Kontrollwerte bekannter Indikatoren für den Sympathikusstress (wie z.B. HF, MAP) mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen und in beiden vorgestellten Versuchsgruppen (s. Tab. 7) nahezu übereinstimmen<sup>100, 132</sup>. Wir beobachteten jedoch trotz des intensiven Trainings, dass einige Tiere die Versuchsdurchführung gelassen annahmen, während andere deutliche Anzeichen einer Stressreaktion unter Hypoxie zeigten (s. Abb. 10).

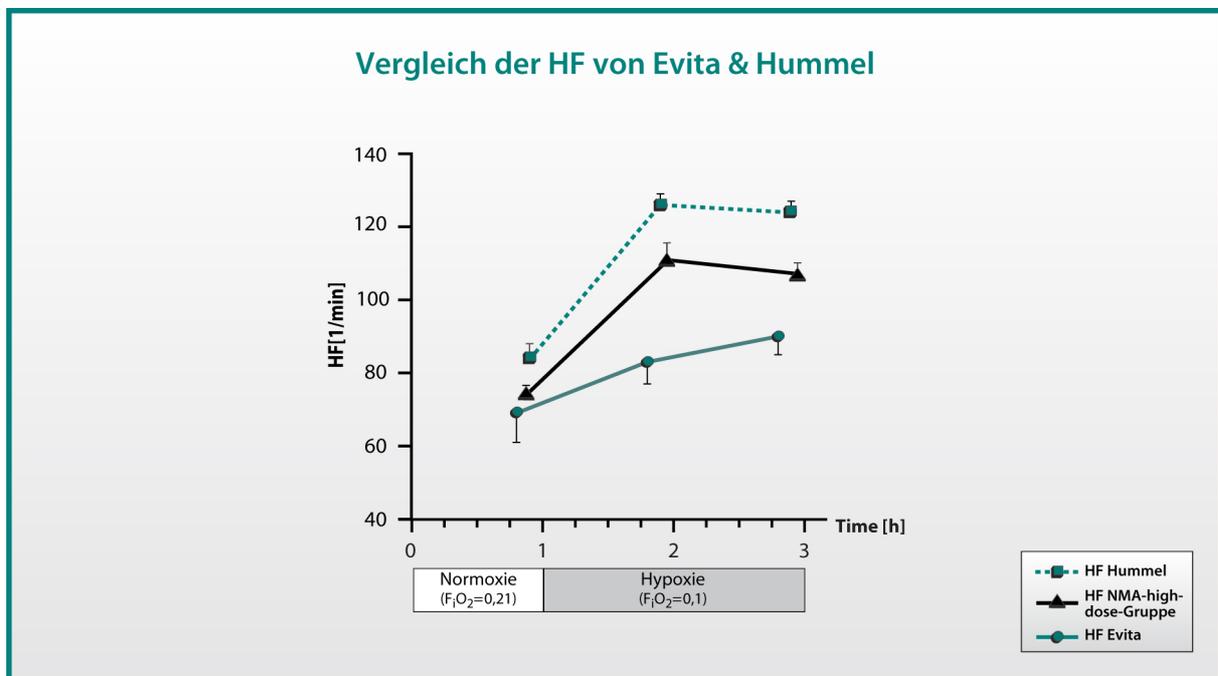


Abb. 10: Vergleich der Mittelwerte der HF von Hummel und Evita in der NMA-high-dose Gruppe

Mittelwert und SEM von Hummel und Evita wurden jeweils aus dem Stundenwerten von Normoxie, Hypoxie I und II der Versuche (Kontrolle, ACZ, NMA-high-dose) gebildet. Die NMA-high-dose-Gruppe umfasst alle Hunde und alle Versuche der NMA-high-dose-Gruppe (n=15).

Abb. 10 zeigt, dass sich Evita sehr schnell an das Training gewöhnte und den Versuch entspannt annahm. Im Gegensatz dazu deuten Hummels hämodynamische Parameter darauf hin, dass sie besonders zu Beginn der Hypoxie einem erhöhten Sympathikusstress ausgesetzt war. Leider konnte diese individuelle Reaktion auch durch intensives Training nicht gänzlich überwunden werden.

Dennoch sind diese individuellen Schwankungen insgesamt gering. In allen Versuchen der NMA-high-dose-Gruppe steigt die HF unter Hypoxie an. Diese Beobachtung kann in der NMA-low-dose-Gruppe nur in Hypoxie I der Kontrollen gemacht werden (s. Tab. 7). Auch wenn der Anstieg der HF zwischen Normoxie und Hypoxie in der NMA-high-dose-Gruppe signifikant und in der NMA-low-dose-Gruppe nicht signifikant ist, kommt es in beiden Fällen zum leichten Anstieg, betrachtet man die absoluten Zahlenwerte. Diese Beobachtung entspricht in etwa der aktuellen Studienlage zur Reaktion des Organismus auf Hypoxie<sup>133</sup>. Deshalb ist dieser Anstieg der HF vermutlich nicht auf den Stress unter den Versuchsbedingungen zurückzuführen, sondern als sympathische Reaktion auf die akut einsetzende Hypoxie zu werten<sup>41</sup>. Beweise hierfür liefert die Tatsache, dass die Ruhe-HF in unseren Versuchen bei allen Hunden zwischen 60 und 91/min lag. Dies entspricht der Ruhe-HF eines Hundes von der Größe eines Beagles.

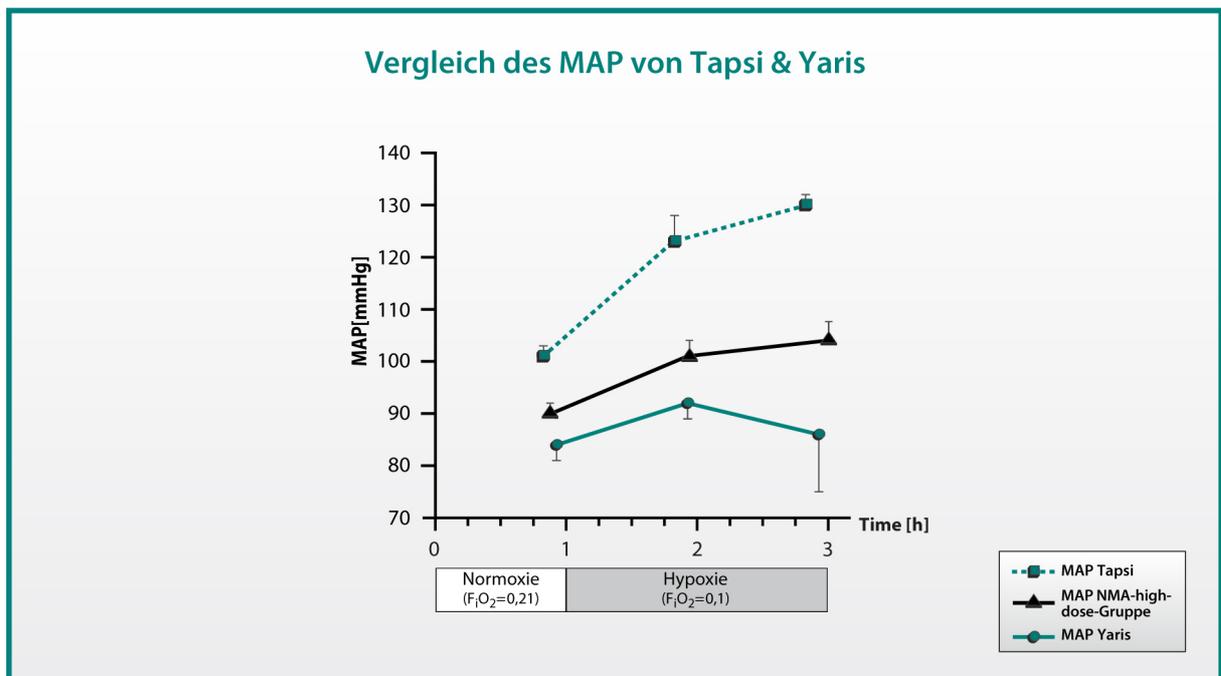


Abb. 11: Vergleich der Mittelwerte des MAP von Tapsi und Yaris in der NMA-low-dose-Gruppe

Mittelwert und SEM von Tapsi und Yaris wurden jeweils aus den Stundenwerten von Normoxie, Hypoxie I und II der Versuche (Kontrolle, Acetazolamid, NMA-low-dose) gebildet. Die NMA-low-dose-Gruppe umfasst alle Hunde und alle Versuche der NMA-low-dose-Gruppe (n=18).

Auch der MAP bleibt konstant oder zeigt einen leichten Anstieg in Hypoxie I (s. Tab. 7). Diese Beobachtung entspricht ebenfalls vorangegangenen Studien am Menschen: hier wurde unter akuter Hypoxie sowohl ein Anstieg<sup>134, 135</sup> als auch ein konstanter MAP beobachtet<sup>133</sup>. Dies deutet darauf hin, dass bei den Probanden eine unterschiedlich starke sympathische Aktivität vorlag. Gestützt wird diese Vermutung dadurch, dass ein unter Höhenklima auftretender Hypertonus durch  $\beta$ -Blocker inhibierbar ist<sup>136</sup>. Auch diese individuellen Unterschiede sind in unseren Versuchen zu beobachten (s. Abb. 11).

Diese Ergebnisse zeigen, dass es trotz intensiven Trainings nicht gelingt, alle individuellen Unterschiede zu unterdrücken. Dennoch ermöglicht nur die Untersuchung am wachen, spontan-atmenden Organismus die physiologische Interaktion zwischen Atmung, Kreislauf und renaler sowie endokriner Regulation nachzuvollziehen. Auch Allgemeinanästhesie und positive Druckbeatmung könnten das zentrale Thema dieser Arbeit – die HPV – beeinflussen<sup>137, 138</sup>. Außerdem könnten auch die Auswirkungen der Inhibition der CA durch diese Interventionen fehlergeschätzt werden, da den Tieren die Möglichkeit zur Ventilationsadaptation fehlen würde. Dies gilt auch für die ventilatorische Antwort auf den hypoxischen Stimulus. Aus diesem Grund atmeten unsere Hunde spontan am Respirator im CPAP-Modus. In diesem Modus hatten die Hunde sowohl bei Inspiration als auch bei Expiration einen kontinuierlich positiven Atemwegsdruck von ca. 3,75 mmHg, der die systembedingten Atemwegswiderstände überwinden sollte (s. Kapitel 2.5.4.1.2).

#### 4.1.2 Die Atemmaske

Die Hunde atmeten während der gesamten Versuchsdauer über eine dichtsitzende Atemmaske am Respirator. Bei Verwendung einer solchen Maske könnte es durch ein Leck zur Vermischung der applizierten Atemgasgemische mit der Umgebungsluft kommen. In der vorliegenden Arbeit kann dieser Fehler ausgeschlossen werden. Wie in vorangegangenen Untersuchungen zur HPV an tracheotomierten Hunden<sup>100</sup>, konnte auch in dieser Arbeit ein  $P_aO_2$  von 35-40 mmHg erreicht werden, ohne dass die  $F_iO_2$  in den Kontrollen unter 0,1 und in den ACZ-Versuchen unter 0,08 gesenkt wurde (s. Tab. 15).

Zusätzlich besteht die Gefahr der  $CO_2$ -Rückatmung. Durch Anpassung der Länge der Maske an die individuelle Hundeschnauze erfolgte eine Verkleinerung des Totraums. Messungen des  $P_aCO_2$  im arteriellen Blut beweisen, dass dadurch dieser Fehler minimiert werden konnte (s. Tab. 15). Die ermittelten Werte unter Normoxie stimmen mit dem  $P_aCO_2$  (bei vergleichbarem

Körpergewicht, gleicher Ernährung und vergleichbaren respiratorischen Parametern) überein, der in der Literatur als physiologisch für Hunde gilt<sup>139</sup>.

Tab. 15: Vergleich des  $P_aO_2$  und des  $P_aCO_2$  der NMA-high-dose-Gruppe mit einer Untersuchung unserer Arbeitsgruppe von 2004, bei der die Hunde über ein Tracheostoma beatmet wurden

Verglichen werden jeweils die Kontrollen in Normoxie und Hypoxie II  $P_aO_2$  und  $P_aCO_2$  [mmHg].

	Maske		Tracheotomie <sup>186</sup>	
$F_iO_2$	0,21	0,1	0,21	0,1
$P_aO_2$	93 ± 1,9	37 ± 0,8	94 ± 1	38 ± 2
$P_aCO_2$	38 ± 0,8	28 ± 0,9	34 ± 1	26 ± 1
	Normoxie	Hypoxie II	Normoxie	Hypoxie II

#### 4.1.3 Die normobare und die hypobare Hypoxie

In unserem HPV-Modell erzeugten wir durch das Zumischen von Stickstoff ( $N_2$ ) eine normobare Hypoxie. Seit Bert (1878)<sup>140</sup> und Barcroft (1925)<sup>141</sup> wurden Studien zur Reaktion des Organismus auf Hypoxie durchgeführt, indem man den  $PO_2$  in der Umgebungsluft reduzierte. Dies kann entweder durch Absenken des  $P_B$  – *hypobare Hypoxie* – oder durch Absenken der  $F_iO_2$  – *normobare Hypoxie* – erreicht werden<sup>140</sup>.

Da das hier vorgestellte HPV-Modell u.a. als Modell für Hypoxie in großen Höhen dienen soll, stellt sich die Frage, ob relevante Unterschiede in der Reaktion des Organismus auf die normobare im Vergleich zur hypobaren Hypoxie bestehen.

Roach et al. beobachteten 1996, dass beim gleichen  $PO_2$  in der Einatemluft unter hypobarer Hypoxie AMS stärker und früher auftrat<sup>142</sup>. Als Erklärung für diese Beobachtung wurde eine intravasale Bläschenbildung diskutiert. Diese könnte durch die  $P_B$ -Reduktion<sup>143</sup>, die Vergrößerung des alveolären Totraums<sup>144</sup>, ein Ungleichgewicht von Ventilation und Perfusion oder eine veränderte Gasdichte bzw. Flüssigkeitspermeabilität durch das alveoläre Epithel entstehen. Dennoch konnte bisher keiner dieser Ansätze überzeugen<sup>144</sup>. Doch welche Wirkung haben normobare und hypobare Hypoxie auf HPV und HAPE?

##### 4.1.3.1 Die Wirkung normobarer und hypobarer Hypoxie auf die HPV und die Entstehung des HAPE

1988 untersuchten Levine et al. an chronisch instrumentierten Schafen die Wirkung des  $P_B$  auf den pulmonalen Flüssigkeitshaushalt und Sauerstofftransport. Dabei kamen sie zu dem Ergebnis, dass es sowohl unter normobarer als auch unter hypobarer Hypoxie zu einem etwa gleichstarken Anstieg des PAP kommt. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass auch eine

*hypobare Normoxie* zu einem kleineren, aber signifikanten PAP-Anstieg führt<sup>145</sup>. Somit könnte die überschießende HPV – der Schlüsselmechanismus des HAPE – nicht nur durch Hypoxie entstehen, sondern zusätzlich durch hypobare Bedingungen verstärkt werden. Die genaue Bedeutung des  $P_B$ -Abfalls für die Pathophysiologie des HAPE ist allerdings unklar.

Außerdem konnte in verschiedenen Studien an Menschen<sup>144</sup> und an Tieren<sup>145</sup> demonstriert werden, dass hypobare Hypoxie im Vergleich zur normobaren mit dem gleichen  $PO_2$  in der Einatemluft zu verstärkter Hypoxie, Hypokapnie, Alkalose und einem niedrigeren  $P_aO_2$  führt. Besonders die Beobachtung, dass der  $P_aO_2$  unter hypobarer Hypoxie geringer sein soll, verwundert. Setzt man voraus, dass die  $F_iO_2$  in den Studien adäquat kontrolliert wurde und dass der RQ (Gleichung 2) stabil war, so müsste nach der alveolären Gasgleichung (Gleichung 1) der alveoläre  $PO_2$  unter hypobarer Hypoxie größer sein als unter normobarer (s. Kapitel 1.2.1). Es muss daher angenommen werden, dass der alveolär-arterielle Gradient für Sauerstoff durch einen niedrigen  $P_B$  ansteigt. Dies konnte in einigen Studien an Menschen in großen Höhen nachgewiesen werden<sup>146</sup>. Des Weiteren konnten Schoene et al. eine Verbesserung des Gasaustauschs durch eine positive Druckbeatmung zeigen<sup>147</sup>. Dies legt nahe, dass der Abfall des  $P_B$  den Sauerstofftransport unter Höhenbedingungen moduliert. Dabei ist vermutlich eine Veränderung des transvaskulären Flusses über die pulmonalen Kapillarmembranen entscheidend. Gestützt wird diese Hypothese dadurch, dass normobare und hypobare Hypoxie zu einem nahezu identischen PAP-Anstieg führen, sich aber bei hypobarer Hypoxie zusätzlich ein Anstieg der Flüssigkeitsfiltration zeigt<sup>145</sup>. Eine Reihe von Studien zeigen, dass sich der alveoläre Druck direkt auf den interstitiellen Flüssigkeitsdruck überträgt und die transvaskuläre Flüssigkeitsbalance beeinflusst<sup>148, 149</sup>. Deshalb könnte entweder ein Anstieg des kapillären Drucks oder ein Abfall des interstitiellen Drucks oder eine Kombination von beiden zum Anstieg der pulmonalen Filtration führen. Dieser Anstieg beeinträchtigt den Sauerstofftransport und führt zu einem stärkeren Abfall des  $P_aO_2$  unter hypobarer Hypoxie. Des Weiteren könnte der Anstieg der pulmonalen Filtration die Entwicklung des HAPE begünstigen.

Es wird vermutet, dass normobare und hypobare Hypoxie keinen unterschiedlichen Effekt auf die HPV haben. Daher kann die HPV in einem normobaren Hypoxie-Modell untersucht werden. Auch die Unterschiede im  $P_aO_2$  zwischen normobarer und hypobarer Hypoxie beeinträchtigen die Aussagekraft dieses Modells nicht, da die Hypoxie-Phase nicht durch eine vorgegebene  $F_iO_2$ , sondern durch einen vorgegebenen  $P_aO_2$  von 35 bis 40 mmHg definiert ist.

Dieses Modell ist jedoch nur begrenzt aussagekräftig, will man damit die Pathophysiologie des HAPE oder den Sauerstofftransport unter Höhenbedingungen untersuchen.

#### 4.1.3.2 Die Wirkung der normobaren und hypobaren Hypoxie auf den Salz-Wasser-Haushalt

Zu den physiologischen Adaptionsmechanismen bei akuter Hypoxie in großen Höhen gehört die Höhendiurese. In großer Höhe auftretende Flüssigkeitsretention ist einer der Hauptfaktoren in der Pathophysiologie der AMS. Untersuchungen zum Wasserhaushalt unter Hypoxie wurden sowohl unter normobarer Hypoxie als auch unter hypobarer Hypoxie durchgeführt.

2005 untersuchten Loeppky et al. die Wirkung eines  $P_B$ -Abfalls auf den Flüssigkeitshaushalt an jungen gesunden Männern. Die Kombination aus einer Reduktion des  $P_B$  und der  $F_{iO_2}$  führte zu vermehrter Wasserretention durch eine Reduktion des Urinvolumens. Gleichzeitig war das Plasmavolumen höher als unter normobarer Hypoxie und die  $P_{Na}$  fiel (wahrscheinlich als Verdünnungseffekt). Außerdem wurden erhöhte ADH-Konzentrationen im Vergleich zur normobaren Hypoxie beobachtet. Im Gegensatz hierzu sind unter normobarer Hypoxie PAC und  $P_K$  erhöht und es kommt zur verstärkten Diurese<sup>57</sup>.

Diese Beobachtungen zeigen, dass ein Abfall des  $P_B$  die flüssigkeitsretenierenden Prozesse unterstützt und wahrscheinlich ein entscheidender Faktor bei der Entstehung des AMS ist. Es muss jedoch festgehalten werden, dass diese Unterschiede zwischen normobarer und hypobarer Hypoxie erst nach mehreren Stunden Hypoxie zu den beschriebenen Unterschieden führen. In dem Zeitrahmen unserer Versuche von 2 Stunden Hypoxie sind wahrscheinlich keine signifikanten Unterschiede in der Regulation des Salz-Wasser-Haushalts zwischen normobarer und hypobarer Hypoxie zu beobachten.

#### 4.1.4 Eigenblutspende und Hämoglobinkonzentration

Mindestens 7 Tage vor jedem Versuch erfolgte die Entnahme von ca. 80 ml venösem Vollblut. Ziel dieses Vorgehens war es, durch Gabe der Blutkonserve ein konstantes Blutvolumen während des gesamten Versuchs zu gewährleisten, da in vorherigen Untersuchungen dieser Arbeitsgruppe gezeigt werden konnte, dass Blutverluste zu hormonellen Regulationsvorgängen führen<sup>150</sup>. Diese würden eine Interpretation der Wirkung der Hypoxie bzw. der verwendeten Medikamente auf die hormonelle Regulation beeinflussen.

Die Retransfusion erfolgte nach der jeweiligen Messperiode zu Beginn der folgenden Versuchsstunde. Um zu überprüfen, ob ein konstantes Blutvolumen erhalten werden konnte,

erfolgte im Rahmen der Messperiode eine Hb-Kontrolle. Repräsentativ wurden die Daten der Kontrollen in der NMA-low-dose-Gruppe und in den NMA-low-dose-Versuchen analysiert (s. Kapitel 5.5). Es konnte gezeigt werden, dass der Hb über den gesamten Versuchszeitraum konstant blieb.

#### 4.1.5 Standardisierte Diät

Die Regulation des Salz-Wasser-Haushaltes und der daran beteiligten Hormone ist vom aktuellen  $\text{Na}^+$ - und Wasserbestand abhängig. Wie eingangs beschrieben (s. Kapitel 1.2.2), sind die gegensätzlichen Ergebnisse vorangegangener Studien in Bezug auf Wasserausscheidung unter akuter Hypoxie vermutlich z.T. auf einen unterschiedlichen Status des Salz-Wasser-Haushalts zurückzuführen<sup>37, 38</sup>. Eine standardisierte Diät ist eine Grundvoraussetzung für die Erhebung vergleichbarer und reproduzierbarer Daten. Für diese Untersuchungen wurde eine mittlere  $\text{Na}^+$ -Zufuhr ( $\text{Na}^+$  2,5 mmol/kg KG, Wasser 91ml/kg KG pro Tag) gewählt. Diese sicherte vor Versuchsbeginn eine gleichartige Stimulation des RAAS und des ADHs.

#### 4.1.6 Blasenentleerung und Kreatinin-Clearance

Zur Messung der Ausscheidungsparameter sowie zur Berechnung der GFR musste das  $U\dot{V}$  möglichst genau bestimmt werden. Dazu wurde die Harnblase vor Beginn des Versuchs sowie am Ende jeder Versuchsstunde über einen konventionellen Ballon-Blasenkatheter aus Silikon mittels Luftspülung und manueller Kompression geleert. Da schon geringe Restharmengen zu Messungenauigkeiten führen, die sich dann bei der Berechnung der abgeleiteten Parameter ( $U_{\text{Na}}\dot{V}$ ,  $FE_{\text{Na}}$ ,  $U_{\text{K}}\dot{V}$ , GFR) fortpflanzen, wurde die Blase zusätzlich mit 500 ml Aqua destilla, welches zuvor auf Körpertemperatur angewärmt worden war, gespült und der Urin kontrolliert verdünnt. Dadurch fällt möglicher Restharn bei der quantitativen Bestimmung von Harnbestandteilen (Elektrolyte) nicht so stark ins Gewicht.

Die Clearance von exogen zugeführtem Kreatinin zur Schätzung der GFR ist allgemein akzeptiert. In vorherigen Studien unserer Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass die Kreatinin-Clearance auch bei wachen Hunden eine geeignete Methode zur Schätzung der GFR ist<sup>125</sup>. Dabei wird Kreatinin i.v. in einer Dosis (Aufsättigungsbolus 1,4 g und Erhaltungsdosis von 3,7 mg/min) infundiert, die die Plasmakonzentration der Substanz konstant hält. Sind die Urinausscheidungsraten gering, könnte ein Teil des filtrierten und unter diesen Bedingungen auch sezernierten Kreatinins tubulär resorbiert werden<sup>125</sup> und auch im Ureter sowie in der Harnblase kann es zu Konzentrationsveränderungen kommen<sup>151</sup>. Die

Kreatinin-Clearance würde dann falsch zu niedrig ermittelt. Dieser Fehler ist jedoch wahrscheinlich zu vernachlässigen, da die Urinausscheidung im Verlauf unserer Versuche nur sehr selten so gering war.

#### 4.1.7 Dosierung und Applikation der Medikamente

##### 4.1.7.1 ACZ

In Anlehnung an die in der Literatur beschriebene Dosis-Wirkungsbeziehung wählten wir eine i.v.-Dosis von 2 mg/kgKG/h für die ACZ-Versuche aus. Die vormals applizierte Dosis von 10 mg/kgKG/h führt zur kombinierten metabolischen und respiratorischen Azidose. Bei der hier verwendeten niedrigen Dosis bleibt das Isoenzym Typ II der Erythrozyten-CA unbeeinflusst und ermöglicht die vollständige CO<sub>2</sub>-Bildung aus HCO<sub>3</sub><sup>-152</sup>. Dennoch reicht die Dosis aus, um die renalen Isoenzyme und die membranständige CA Typ IV am Gefäßendothel der Lunge zu inhibieren<sup>118</sup>. Um die Wirkung von ACZ auf den Organismus zwischen Normoxie und Hypoxie vergleichen zu können, wurde bereits 20 Minuten vor Versuchsbeginn ein ACZ-Bolus i.v. von 2 mg/kg KG appliziert. Anschließend wurde eine kontinuierliche Erhaltungsdosis von 2 mg/kgKG/h infundiert.

In der vorliegenden Arbeit wählten wir die i.v.-Applikation, um eine Vergleichbarkeit mit NMA herzustellen, welches wir auch i.v. applizierten, da über die Bioverfügbarkeit von NMA nach oraler Gabe bisher wenig bekannt ist. Leider ist diese Applikationsform in großen Höhen schlecht praktikabel. Aus diesem Grund wurde in einer anderen Arbeit (unveröffentlichte Daten) untersucht, ob bei oraler oder inhalativer Gabe von ACZ ebenfalls der gewünschte Effekt erreicht werden kann.

Zur Überprüfung der Bioverfügbarkeit und um eine Verfälschung der Versuchsergebnisse durch Rückstände von ACZ zu vermeiden, erfolgte eine repräsentative Messung der ACZ-Spiegel in der NMA-high-dose-Gruppe (s. Kapitel 3.4 und Tab. 12). Dabei zeigte sich unter ACZ-Applikation ein konstanter Spiegel von über  $6,1 \pm 2,6$  µg/ml in allen Versuchsstunden.

##### 4.1.7.2 NMA

Da wir bei der Wahl der NMA-Dosis nicht auf Erfahrungen aus der Literatur zurückgreifen konnten, wurde zuerst eine niedrig dosierte Versuchsreihe – *die NMA-low-dose-Gruppe* – durchgeführt. Dabei erhielten die Hunde einen Bolus von 250 mg und eine Erhaltungsdosis von 5 mg/kgKG/h i.v. Bei dieser Dosis konnte die HPV (MPAP =  $17 \pm 3$  mmHg) nicht wie in den ACZ-Versuchen (MPAP =  $13 \pm 3$  mmHg) inhibiert werden. Daher erhöhten wir die

kontinuierliche Dosis auf 10 mg/kgKG/h in der *NMA-high-dose-Gruppe*. Dadurch konnte die HPV (MPAP =  $15 \pm 3$  mmHg) während Hypoxie II so stark beeinflusst werden, dass kein MPAP-Anstieg nachweisbar war. Dies deutet auf eine Dosiswirkungsbeziehung von NMA auf die HPV hin (s. Abb. 12). Es bedarf jedoch weiterer Untersuchungen, um diese Vermutung zu verifizieren.

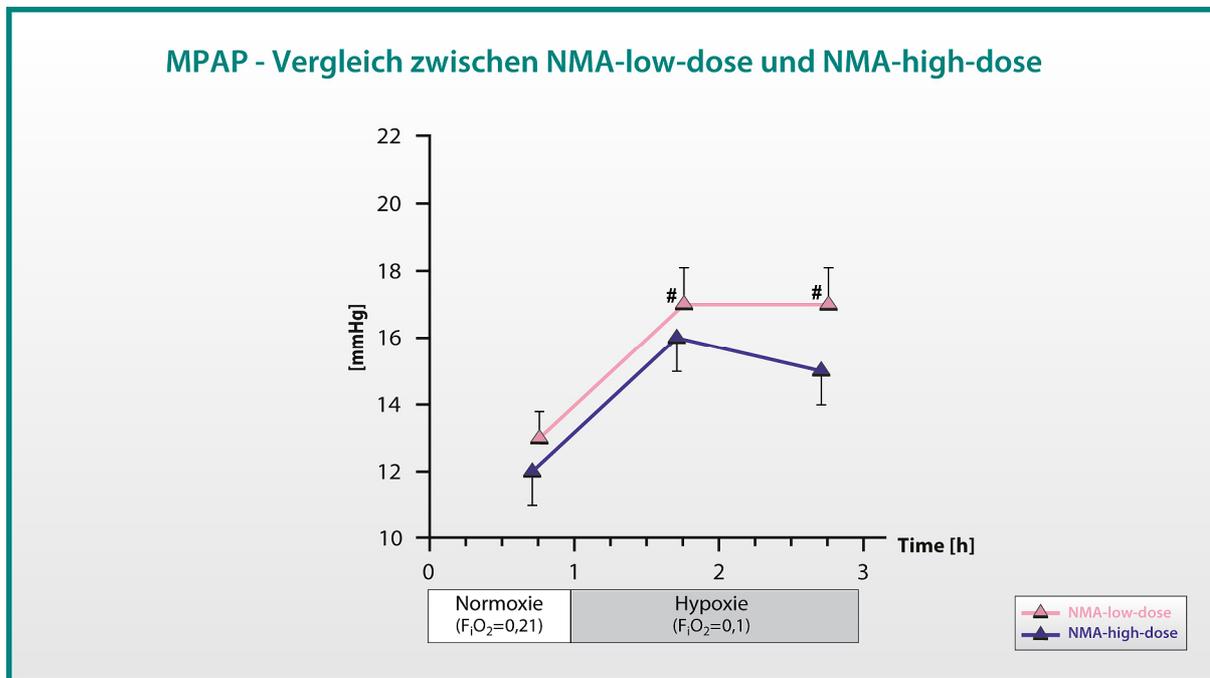


Abb. 12: Vergleich des MPAPs der NMA-low-dose-Versuche mit dem der NMA-high-dose-Versuche  
NMA-low-dose: n=6; NMA-high-dose: n=5; Mittelwert  $\pm$  SEM, # p < 0,05 vs. Normoxie

Um sicherzustellen, dass die Inhibition der HPV in den NMA-high-dose-Versuchen nicht durch eine Metabolisierung des NMA zu ACZ bzw. durch Rückstände aus Vorversuchen resultiert, wurde in jeder Versuchsstunde der ACZ-Spiegel ermittelt. Es war in den NMA-Versuchen zu keinem Zeitpunkt ACZ nachweisbar. Daher können eine Metabolisierung bzw. ACZ-Rückstände als Ursache für die verbesserte Wirkung unter NMA-high-dose ausgeschlossen werden

## 4.2 Ventilation, Blutgase und Säure-Basen-Haushalt

### 4.2.1 Wirkung der Hypoxie auf die Ventilation, die Blutgase und den Säure-Basen-Haushalt

In den Kontrollen erhielten die Hunde keine Medikation und atmeten eine F<sub>i</sub>O<sub>2</sub> von 0,21 unter Normoxie und eine F<sub>i</sub>O<sub>2</sub> von 0,1 in beiden Hypoxie-Stunden. Dies entsprach einem P<sub>a</sub>O<sub>2</sub> von  $35 \pm 2$  und  $37 \pm 3$  mmHg in Hypoxie I bzw. II beider Gruppen (s. Kapitel 3.1.1, Tab. 5).

Auf akute Hypoxie reagiert der Organismus über die hypoxische Stimulation peripherer Chemorezeptoren mit Hyperventilation. Deshalb steigt das AMV in der NMA-high-dose-Gruppe von  $2,7 \pm 0,2$  unter Normoxie um über 60% auf  $4,5 \pm 0,4$  l/min unter Hypoxie an. Man kann aus den registrierten Atemparametern ableiten, dass dieser Effekt aus einer Erhöhung der AF resultiert, da das AZV bei Hypoxie unter Kontroll-Bedingungen konstant ist (s. Kapitel 3.1.2, Tab. 6).

Unter Berücksichtigung der allgemein bekannten physiologischen Grundsätze erwarteten wir im Rahmen der Hyperventilation und der metabolischen Gegenregulation unter Hypoxie einen Abfall des  $P_a\text{CO}_2$ , des ABC und des ABE sowie einen Anstieg des  $\text{pH}_a\text{s}$  (s. auch Kapitel 1.2.2.3). Diese Effekte konnten sowohl in den Kontrollen der NMA-high-dose- als auch in den Kontrollen der NMA-low-dose-Gruppe demonstriert werden.

#### 4.2.2 Wirkung von ACZ auf die Ventilation, die Blutgase und den Säure-Basen-Haushalt unter Normoxie und Hypoxie

In den ACZ-Versuchen beider Versuchsgruppen zeichnet sich unter Normoxie im Vergleich zu den Kontrollen ein erhöhter Ausgangs- $P_a\text{O}_2$  ab ( $92 \pm 1$  bzw.  $93 \pm 2$  in den Kontrollen im Vergleich zu  $109 \pm 2$  bzw.  $108 \pm 2$  mmHg nach ACZ-Behandlung). Dieser Anstieg spiegelt die Steigerung des Atemantriebs wider, die durch die metabolische Azidose in Folge der ACZ-Gabe induziert wird. Damit trotz des erhöhten Atemantriebs eine vergleichbare Hypoxie erreicht werden konnte, wurde die  $F_i\text{O}_2$  in den Hypoxie-Phasen der ACZ-Versuche auf 0,08-0,09 herabgesetzt. In den ACZ-Versuchen konnte ein  $P_a\text{O}_2$  von durchschnittlich unter 40 mmHg unter Hypoxie erreicht werden. Es zeigte aber besonders in den ACZ-Versuchen der NMA-high-dose-Gruppe eine Tendenz zu höheren Werten. Ob diese das Versuchsergebnis beeinflussen, wird im Kapitel 4.5 diskutiert.

Auf den Säure-Basen-Haushalt wirken unter ACZ-Einfluss und akuter Hypoxie zwei entgegengesetzte Mechanismen. An der Niere sezerniert ein peritubulär gelegener  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter Protonen im Austausch gegen  $\text{Na}^+$  in das Tubuluslumen. Intratubulär entsteht aus  $\text{HCO}_3^-$  und  $\text{H}^+$   $\text{H}_2\text{CO}_3$ , das in  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  zerfällt. Es folgt eine CA-vermittelte  $\text{CO}_2$ -Diffusion in die Tubuluszelle. Aus  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  katalysiert die CA intrazellulär  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , das in  $\text{HCO}_3^-$  und  $\text{H}^+$  zerfällt (s. Kapitel 1.2.2.3, Abb. 2).  $\text{Na}^+$  wird durch die  $\text{Na}^+$ -Pumpe ins Gefäßsystem transportiert. Die Blockade der CA durch ACZ führt durch reduzierte  $\text{H}^+$ -Sekretion und verminderte  $\text{HCO}_3^-$ -Rückgewinnung zu einem alkalischen, bikarbonatreichen Harn und durch die  $\text{H}^+$ -Retention und den  $\text{HCO}_3^-$ -Verlust zur metabolischen Azidose. Durch

die Gegenregulation des pulmonalen Systems entsteht unter Normoxie das klassische Bild einer kompensierten metabolischen Azidose: pH-Wert im Normbereich (ca. 7,38),  $P_aCO_2$  im Vergleich zur Kontrolle durch vermehrtes Abatmen reduziert und ABC und ABE in Folge der metabolischen Azidose im Vergleich zur Kontrolle reduziert.

Im Gegensatz dazu führt Hypoxie ohne den Einfluss von ACZ zu einer respiratorischen Alkalose, die im Laufe des Versuchs teilkompensiert wird. Die Ursache dafür, dass die respiratorische Alkalose nicht so rasch kompensiert wird wie die oben beschriebene metabolische Azidose, ist die Trägheit des renalen Systems. Durch eine Veränderung der AF und des AZVs kann eine metabolisch ausgelöste pH-Wert-Verschiebung im wachen spontanatmenden Organismus innerhalb von Minuten ausgeglichen werden, wohingegen die renale Kompensation mehrere Stunden braucht.

Kommt es unter Hypoxie durch ACZ-Gabe zur metabolischen Azidose, so wirkt dies der Hypoxie-induzierten respiratorischen Alkalose entgegen und hilft dem Organismus, seinen pH-Wert im Normbereich (pH-Wert in ACZ-Versuchen unter Hypoxie konstant bei ca. 7,42) zu halten und seine Sauerstoffversorgung zu optimieren. Deshalb ist der alveoläre  $PO_2$  zu jedem gegebenen inspiratorischen  $PO_2$  relativ zur  $F_iO_2$  höher als ohne ACZ<sup>117</sup>. Diese respiratorische Reaktion geht mit einer Steigerung des AZVs einher.

Insgesamt stimmen die Ergebnisse in den Kontrollen und ACZ-Versuchen beider Gruppen mit denen vorheriger Studien und der aktuellen Lehrmeinung zur physiologischen Reaktion unter Hypoxie überein.

#### 4.2.3 Wirkung von *NMA* auf die Ventilation, die Blutgase und den Säure-Basen-Haushalt unter Normoxie und Hypoxie

Um den gewünschten  $P_aO_2$ -Abfall unter Hypoxie in den *NMA*-low-dose- und in den *NMA*-high-dose-Versuchen zu erreichen, wurde eine  $F_iO_2$  von ca. 0,1 eingestellt. Dies entsprach etwa der Einstellung in den Kontrollen. Auch bei den Messungen des  $P_aCO_2$ , des  $pH_a$ , des  $Hb_aO_2$ , des ABC und des ABE zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle. Der einzig auffällige Parameter ist das AMV. Es steigt sowohl in den *NMA*-low-dose- als auch bei den *NMA*-high-dose-Versuchen an. Dabei ist der Anstieg in den *NMA*-high-dose-Versuchen bei Betrachtung der absoluten Zahlenwerte höher als in den *NMA*-low-dose-Versuchen. Dies könnte auf eine Dosis-Wirkungsbeziehung hinweisen. Das AZV bleibt unter

Hypoxie nahezu konstant, was einen Anstieg des AMVs durch eine Frequenzsteigerung andeutet.

Insgesamt muss bei der Interpretation der Atemparameter beachtet werden, dass diese besonders störanfällig sind. Da die Hunde ihren Wärmehaushalt nicht durch Schwitzen sondern durch Hecheln regulieren, kann diese Messung dadurch verfälscht werden. Leider ist dieser Fehler auch durch genaue Einstellung der Raumtemperatur im Labor nicht vollständig zu eliminieren.

### 4.3 Systemische Hämodynamik

Auf die Wirkung der Hypoxie auf HF und MAP ist bereits in Kapitel 4.1.1 ausführlich eingegangen worden. Aus der Literatur ist bekannt, dass die akute Hypoxie zu einem Anstieg der HF durch eine gesteigerte sympathische Aktivität auf Grund der Stimulation peripherer Chemorezeptoren führt<sup>74</sup>. Die gesteigerte sympathische Aktivität führt bei längerem Aufenthalt in großer Höhe zum Anstieg des MAP. Bei akuter Hypoxie wird dieser Mechanismus oft durch eine hypoxische Vasodilatation der systemischen Gefäße aufgehoben. Dieser funktionelle Antagonismus führt bei akuter Hypoxie meist zum unveränderten MAP<sup>74</sup>. Dies könnte eine Erklärung für den unveränderten MAP und SVR in unserer Untersuchung sein. Andererseits ist aus Studien an Hunden bekannt, dass eine Reaktion des MAP proportional zum Grad der Hypoxämie sein kann<sup>42</sup>.

ZVD, HZV und SVR werden nach unseren Messungen weder durch Hypoxie noch durch ACZ oder NMA beeinflusst. Ist der pulmonal-arterielle Katheter richtig positioniert, so liegt die proximale Öffnung im rechten Vorhof. Der Druck im rechten Vorhof stimmt mit dem Druck der Vena cava superior überein. Er gibt Auskunft über den intravasalen Volumenstatus. Da er konstant bleibt, können wir einen Volumenverlust durch Blutentnahmen und/oder durch die verstärkte Diurese bei ACZ-Gabe ausschließen.

### 4.4 Die pulmonale Hämodynamik

#### 4.4.1 Die Wirkung der Hypoxie auf die pulmonale Hämodynamik

In den Kontrollen steigen der MPAP und der PVR bei akuter Hypoxie an. Dieses Phänomen konnte schon in früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe<sup>100, 101</sup> und in Studien an Menschen und Tieren<sup>6, 8</sup> gezeigt werden. Der primäre Stimulus für die Ausbildung der HPV ist der Abfall des  $PO_2$  im alveolären Gasmisch in Bereiche unter 50 mmHg<sup>6</sup>. Welche

Mechanismen diesem so genannten „Sauerstoff-Sensing“ zugrunde liegen, ist noch nicht geklärt. Intrazellulär ist ein Hypoxie-bedingter Anstieg der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration, der den kontraktile Apparat aktiviert, entscheidend. Dieser Anstieg entsteht vermutlich über L-Typ- $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle<sup>153</sup> und über Ryanodin-Rezeptoren des SR<sup>7</sup> (s. Kapitel 1.2.1.1). Ob diese durch NSCCs<sup>10-12</sup>, durch direkte Modulation der L-Typ- $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle durch ROS, durch eine Hypoxie-bedingte Hemmung der  $\text{K}_v$ -Kanäle<sup>15, 154</sup> oder möglicherweise durch ein Zusammenspiel verschiedener Faktoren reagieren, konnte bislang nicht geklärt werden. Es gilt jedoch als bewiesen, dass ein Abfall des  $\text{PO}_2$  in der Einatemluft die HPV induziert. Diesen physiologischen Grundlagen entspricht der Anstieg des MPAP um  $7 \pm 1$  bzw.  $6 \pm 1$  mmHg und der Anstieg des PVR um ca. 40% nach Hypoxie-Induktion in den Kontrollen (s. Kapitel 3.2.2).

#### 4.4.2 Die Wirkung von ACZ auf die pulmonale Hämodynamik unter Normoxie und Hypoxie

ACZ unterdrückt die HPV in beiden Versuchsgruppen. Sowohl in der NMA-low-dose- als auch in der NMA-high-dose-Gruppe bleibt der MPAP unter Normoxie und Hypoxie konstant (s. Abb. 8, Tab. 8). Auch der PVR bleibt konstant und unterscheidet sich signifikant von den jeweiligen Kontrollen (s. Abb. 9, Tab. 9).

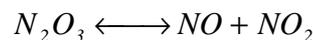
Besonders in den ACZ-Versuchen der NMA-high-dose-Gruppe wurde unter Hypoxie infolge des verstärkten Atemantriebs ein  $\text{P}_a\text{O}_2$  von  $40 \pm 1$  mmHg beobachtet. Diese Tendenz zu erhöhten  $\text{P}_a\text{O}_2$ -Werten beobachteten wir schon in früheren Studien. Im Rahmen dieser konnte durch Anpassung der  $\text{F}_i\text{O}_2$  eine durch ACZ induzierte Hyperventilation, die zu einem erhöhten  $\text{P}_a\text{O}_2$  führte, als Ursache für die Inhibition der HPV durch ACZ ausgeschlossen werden<sup>100</sup>. Aus diesem Grund und weil die HPV in der NMA-high-dose-Gruppe nicht effektiver unterdrückt wurde als in der NMA-low-dose-Gruppe, sehen wir die Tendenz zu höheren  $\text{P}_a\text{O}_2$ -Werten bei diesen Versuchen im Vergleich zu den übrigen als vernachlässigbar an.

In den ACZ-Versuchen bleiben HZV und PCWP unter Hypoxie konstant. Rein rechnerisch hängt der PVR deshalb vollständig vom MPAP ab. Wie ACZ auf den MPAP bzw. die Kontraktion der PSMCs wirkt, ist weiterhin Gegenstand intensiver Forschung. In einem etablierten Modell aus dem Labor von Larissa Shimoda an PSMCs von Ratten konnte gezeigt werden, dass Hypoxie zum Anstieg des intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$  in diesen Zellen führt und dass dieser Anstieg durch die Zugabe von ACZ dosisabhängig aufgehoben werden kann. Ein Einfluss von ACZ auf das Ruhemembranpotential, den  $\text{pH}_i$ , die L-Typ- $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle oder eine Aktivierung der Rho-Kinase konnten als zugrundeliegender Wirkmechanismus für die Prävention der HPV

ausgeschlossen werden. Die Einwirkung auf die  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung aus dem SR, ebenso wie eine Beeinflussung sauerstoffsensitiver Kanäle in der Zellmembran oder Einflüsse auf die Produktion von ROS unter Hypoxie sind nicht abschließend untersucht. Eine aktuelle Untersuchung von Aamand et al. (2009) stellt die Hypothese auf, dass die CA Nitrit als Substrat nutzen könnte, um Stickstoffmonoxid (NO) zu produzieren<sup>116</sup>. NO ist der wichtigste bekannte vasodilatierende Faktor. Es bewirkt eine Dilatation der kleinen Arterien und Arteriolen durch Aktivierung der Guanylatzyklase, die zur Absenkung der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration führt. Chemisch gesehen haben  $\text{HCO}_3^-$  und Nitrit die gleiche trigonal-planare  $\text{sp}^2$ -Hybridisierung und fast identische  $\text{pK}_a$ -Level für die korrespondierenden Basen. Aufgrund dieser Ähnlichkeit kann Nitrit an das aktive Zentrum der CA binden, die  $\text{CO}_2$ -Hydratation inhibieren<sup>155</sup> und zu NO reagieren (Gleichung 4, 5). Diese Reaktion läuft bevorzugt bei einem niedrigen  $\text{pH}_i$  ab. Da ACZ den  $\text{pH}_i$  der PSMCs geringfügig, aber signifikant herabsetzt<sup>106</sup>, könnte dies die HPV-Inhibition mittels ACZ erklären.



Gleichung 4: **Reaktion der CA mit Nitrit**



Gleichung 5: **Der spontane Zerfall des Reaktionsprodukts zu NO und  $\text{NO}_2$**

Aamand et al. untersuchte auch die Wirkung von ACZ auf die CA und den NO-Stoffwechsel. Durch ACZ konnte die CA-katalysierte Produktion von vasoaktivem NO aus Nitrit gesteigert werden. Dies könnte möglicherweise den vasodilatativen Effekt dieses Medikaments erklären. Deshalb scheint nicht der  $\text{pH}_i$  die Wirkung von ACZ auf die HPV zu erklären, sondern dass ACZ an ein anderes aktives Zentrum der CA bindet und dabei die NO-Produktion begünstigt.

Mit dem integrativ physiologischen Ansatz unserer Untersuchungen im Wachtiermodell lassen sich zelluläre oder gar molekulare Wirkmechanismen nicht abschließend klären. Zukünftige Untersuchungen mit Messungen der NO-Konzentration in den pulmonalen Gefäßen sowie in der Expirationsluft könnten Antwort auf die Fragen geben, die der Ansatz von Aamand et al. aufwirft. Aktuell lässt sich anhand unserer Ergebnisse sagen, dass ACZ die HPV im Ganztiermodell effektiv auch in niedriger Dosierung unterdrücken kann.

#### 4.4.3 Die Wirkung von NMA auf die pulmonale Hämodynamik unter Normoxie und Hypoxie

Die Wirkung von NMA auf die HPV ist das zentrale Thema dieser Arbeit. Grundlage bilden Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe, in denen die Wirkung von ACZ, Benzolamid und Ethoxolamid untersucht wurden. Abgesehen von ACZ konnten weder der extrazellulär wirkende CAI Benzolamid noch der intrazellulär wirkende CAI Ethoxolamid die HPV unterdrücken<sup>101</sup>. Die mit uns kooperierende Arbeitsgruppe um Larissa Shimoda kam zu ähnlichen Ergebnissen. Zwar konnte bei Anwendung von allen CAI ein signifikanter Abfall des  $pH_i$ s in den PSMCs nachgewiesen werden, aber nur bei ACZ kam es zur Hemmung des intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Anstiegs unter Hypoxie. NMA hatte bei diesen Untersuchungen keine Wirkung auf den  $pH_i$ , hemmte aber - wie ACZ - den  $Ca^{2+}$ -Anstieg. Ziel dieser Arbeit ist es, zu prüfen, ob diese Hemmung der HPV auch im Ganztiermodell, d.h. in vivo, nachweisbar ist.

##### 4.4.3.1 Die Wirkung von NMA-low-dose auf die pulmonale Hämodynamik unter Normoxie und Hypoxie

Der MPAP steigt in den NMA-low-dose-Versuchen unter Hypoxie um  $4 \pm 1$  mmHg an. Dieser signifikante Anstieg im Vergleich zur Normoxie ist in beiden Hypoxie-Stunden um ca. 40% geringer als unter Kontrollbedingungen. Auch der PVR steigt in beiden Hypoxie-Stunden signifikant um  $129 \pm 20$  bzw. um  $104 \pm 41$  dyn·s·cm<sup>-5</sup>. Aber dieser Anstieg ist geringer als in den Kontrollen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass NMA eine Wirkung auf die HPV hat. Daher folgten Untersuchungen mit NMA in einer höheren Dosierung.

##### 4.4.3.2 Die Wirkung von NMA-high-dose auf die pulmonale Hämodynamik unter Normoxie und Hypoxie

Bei einer Gabe von 10 mg/kgKG NMA als Bolus und 10 mg/kgKG/h konnte unter Hypoxie kein statistischer Nachweis eines MPAP-Anstiegs erbracht werden. Aufgrund der geringen n-Zahl (n=5) untersuchten wir zusätzlich die Deltas des MPAP. Diese weisen zwar einen statistisch signifikanten Anstieg auf, dieser ist jedoch um 50% geringer als in den Kontrollen. Ähnliche Ergebnisse liefert die Analyse des PVRs.

Diese Ergebnisse deuten auf eine Dosis-Wirkungsbeziehung von NMA auf die HPV hin. Sie stützen unsere These, dass die Hemmung der HPV zumindest zum Teil unabhängig von der CA ist. Es wirft jedoch auch die Frage auf, ob eine endotheliale CA-Hemmung durch eine

vermehrte NO-Produktion (s. Kapitel 4.4.2) zur verbesserten Wirkung von ACZ gegenüber NMA beiträgt.

## 4.5 Niere, Salz-Wasser-Haushalt und Endokrinologie

### 4.5.1 Die Wirkung der Hypoxie auf Niere, Salz-Wasser-Haushalt und Endokrinologie

Die Wirkung akuter Hypoxie auf das renale System setzt sich aus Effekten der Hypoxie, die direkt an der Niere wirken, sowie aus systemischen Anpassungsmechanismen wie dem systemischen Säure-Basen-Status, der Atmung, der Modulation durch neuroendokrine Reflexe und der Hämodynamik zusammen. Wie in Kapitel 1.2.2 beschrieben, erwarteten wir unter akuter Hypoxie eine verstärkte Wasser- und  $\text{Na}^+$ -Ausscheidung<sup>37, 38</sup>. Obwohl die zugrundeliegenden Mechanismen für diese sog. „Höhendiurese“ bzw. „Höhennatriurese“ derzeit noch unklar sind, scheint der mit der Reduktion des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens verbundene Anstieg des Hämatokrits und der Sauerstofftransportkapazität von Vorteil zu sein<sup>40</sup>. Umgekehrt sind das Auftreten von AMS, HAPE und HACE oft mit einer Flüssigkeitsretention beim Aufenthalt in großer Höhe assoziiert<sup>43, 156</sup>.

In vorangegangenen Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe konnte die in der Literatur beschriebene Zunahme des  $U\dot{V}$  und der  $U_{\text{Na}}\dot{V}$  ebenfalls gezeigt werden. Allerdings betrug die Versuchsdauer fünf Stunden und der Anstieg in der  $U_{\text{Na}}\dot{V}$  war erst in den Hypoxie-Stunden VI und V zu beobachten<sup>100</sup>. Möglicherweise erklärt dies, warum im hier präsentierten Beobachtungszeitraum weder  $U\dot{V}$  noch die  $U_{\text{Na}}\dot{V}$  oder die  $\text{FE}_{\text{Na}}$  (Maß für die tubuläre  $\text{Na}^+$ -Resorption) in den Kontrollen unter Hypoxie anstiegen.

Auch wenn ein statistischer Nachweis des Anstiegs der  $U_{\text{Na}}\dot{V}$  in der vorliegenden Arbeit nicht möglich ist, zeigt sich bei Betrachtung der Kontrollen ein tendenzieller Anstieg unter Hypoxie. Ähnliche Beobachtungen können bei Betrachtung der  $U_{\text{K}}\dot{V}$  gemacht werden. Durch Hypoxie kommt es zur respiratorischen Alkalose, diese führt zu einem  $\text{H}^+$ -Mangel. Dieser beeinflusst den Hauptregulationsort der  $\text{K}^+$ -Ausscheidung – die  $\text{K}^+$ -Kanäle in den Hauptzellen der Sammelrohre – und führt zu einem  $\text{K}^+$ -Verlust unter Hypoxie. Obwohl kein Anstieg der  $U_{\text{K}}\dot{V}$  gezeigt werden konnte, fiel der  $\text{P}_{\text{K}}$  in den Kontrollen der NMA-low-dose-Gruppe ab.

Bei Auswertung der an der Volumenregulation beteiligten Hormone PRA, PAC, AII und ADH, konnten wir keine signifikanten Änderungen nachweisen. Es zeichneten sich jedoch

auch hier Tendenzen ab: Die PRA fällt von  $3,2 \pm 0,8$  unter Normoxie auf  $1,3 \pm 0,2$  unter Hypoxie II ab. Die Feinabstimmung der Harnzusammensetzung im distalen Nephron erfolgt durch Aldosteron, ADH und ANP. Unter Normoxie wird die Ausschüttung dieser Hormone durch das RAAS gesteuert. Renin wird ausgeschüttet, wenn der renale Perfusionsdruck sinkt oder durch Hyponatriämie sowie durch Aktivierung der  $\beta_1$ -Rezeptoren im Rahmen einer sympathikotonen Reaktion. In früheren Studien unserer Arbeitsgruppe an wachen trainierten Hunden unter standardisierten Umgebungs- und Ernährungsbedingungen konnten wir bereits einen Abfall der PRA sowie des AII und der PAC nachweisen<sup>50</sup>. Die Gründe für einen Abfall des PRA unter akuter Hypoxie sind möglicherweise eine milde Hypoxie-induzierte Hypertension<sup>157</sup> sowie eine Ausschüttung von Adenosin<sup>51</sup>, Endothelin und/oder NO<sup>158</sup>. Das Ziel dieser Regulationsmechanismen könnte sein, durch einen Abfall von AII die Vasokonstriktion der peripheren Gefäße zu mindern, was zur verbesserten Gewebedurchblutung und Oxygenierung führen würde. Im Verlauf führt das bei andauernder Hypoxie über eine stärkere  $\text{Na}^+$ - und Wasserausscheidung zur Hämokonzentration.

Unter Meeresspiegelbedingungen induziert das RAAS einen Anstieg der PAC. Unter Hypoxie scheint diese Aldosteron-Antwort gestört oder nicht vorhanden zu sein. In Voruntersuchungen beobachteten wir, dass sich die PAC unabhängig von der PRA verhielt<sup>51</sup>. Diese Entkopplung beider hormonellen Systeme ist in der vorliegenden Arbeit – wahrscheinlich aufgrund der verkürzten Hypoxie – nicht zu beobachten.

ET-I ist der stärkste bisher bekannte Vasokonstriktor. Die Bedeutung dieses Hormons wird anhand von Ergebnissen früherer Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe klar. Wir konnten in einem Modell an Schweinen zeigen, dass die Inhalation eines ET-Rezeptorantagonisten den MPAP unter Hypoxie senken kann<sup>35</sup>. Verschiedene Untersuchungen an Menschen<sup>66, 67</sup> und im Tiermodell<sup>68</sup> zeigten erhöhte ET-I-Spiegel unter Hypoxie. Des Weiteren konnte eine Korrelation zwischen dem Anstieg von ET-I und der erreichten Höhe bei Bergsteigern nachgewiesen werden und ET-I könnte der Vermittler der frühen diuretischen Antwort sein<sup>59</sup> (s. Abb. 3, Kapitel 1.2.2.3). Im Gegensatz zu vorangegangenen Untersuchungen konnte in dieser Arbeit keine Änderung der ET-I Konzentration unter Hypoxie gezeigt werden. Da diese Änderung in den vorangegangenen Untersuchungen erst nach dreistündiger Hypoxie zu beobachten war<sup>100</sup>, ist auch hier vermutlich die verkürzte Versuchsdauer die Ursache für das abweichende Ergebnis.

Bei Betrachtung dieser renalen Parameter wird klar, dass die renalen Regulationsmechanismen zu träge sind, um sie im vorliegenden Beobachtungszeitraum hinreichend beurteilen zu können.

#### 4.5.2 Die Wirkung von ACZ auf Niere, Salz-Wasser-Haushalt und Endokrinologie unter Normoxie und Hypoxie

ACZ wurde als Diuretikum entwickelt. Es führt durch Hemmung der renalen CA zur verstärkten Ausscheidung von  $\text{HCO}_3^-$ , was aus Gründen der Elektroneutralität auch zur Ausscheidung von  $\text{K}^+$  und  $\text{Na}^+$  führt. Die Wirkung von ACZ auf die Niere konnte durch die Dosisreduktion vermindert werden. Dennoch ist das  $\dot{U}\dot{V}$  unter Normoxie größer als in den Kontrollen und liegt auch in Hypoxie I und II um das Zwei- bis Dreifache über den Werten der Kontrollen. Dass keine statistisch signifikanten Ergebnisse aufzeigbar sind, liegt vermutlich an der großen Streuung der Ergebnisse sowie an der geringen n-Zahl. Zusammen mit der in den Kontrollen größeren  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ausscheidung im Urin spiegeln die vorliegenden Ergebnisse dennoch eine typische Wirkung der CA-Inhibition an der Niere wider.

Es gibt Hinweise darauf, dass Diuretika das RAAS stimulieren<sup>159</sup>. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind komplex und beinhalten die Aktivierung der Macula densa, renaler Barorezeptoren, renaler sympathischer Nerven und von Prostaglandin<sup>160</sup>. Die wahrscheinlichste Erklärung für den PRA-Anstieg unter ACZ-Gabe ist eine durch die Diurese begründete Stimulation des RAAS, die mit einer Reduktion des extrazellulären Volumens einhergeht.

#### 4.5.3 Die Wirkung von NMA auf Niere, Salz-Wasser-Haushalt und Endokrinologie unter Normoxie und Hypoxie

Insgesamt stimmen die Ergebnisse der NMA-Versuche mit denen der Kontrollen überein. Daraus schließen wir, dass NMA keinerlei Wirkung auf die CA der Niere oder die an der Volumenregulation beteiligten Hormone hat. Diese Ergebnisse bestätigen, dass durch die Methylierung der Sulfonamid-Gruppe in diesem modifizierten ACZ-Molekül die CAI vollständig blockiert werden konnte.

## 5 Zusammenfassung

Akute Hypoxie aktiviert physiologische und bzw. oder pathophysiologische Mechanismen der Lunge, der Niere und des endokrinen Systems.

Ein Abfall des alveolären Sauerstoffpartialdrucks unter 50 mmHg führt zu hypoxischer pulmonaler Vasokonstriktion<sup>6</sup>. Obwohl dieser Mechanismus unter Normoxie ( $F_{iO_2}$  0,21) möglicherweise das Ventilations-Perfusions-Verhältnis verbessert<sup>5</sup>, bedeutet er unter globaler Hypoxie – wie z.B. in großen Höhen (über 2500 m) – keinen Vorteil und bewirkt einen Anstieg des pulmonal-arteriellen Drucks und des pulmonal-vaskulären Widerstands. Darüber hinaus kann es infolge einer renalen und endokrinen Malregulation zu einer Flüssigkeitsretention kommen. Diese Prozesse können zum akut lebensbedrohlichen Krankheitsbild des Höhen-lungenödems führen<sup>78</sup>. Deshalb könnte ein verbessertes Verständnis der Pathophysiologie dieser Erkrankung sowie die Identifizierung einer effektiven und nebenwirkungsarmen Prophylaxe die Sicherheit beim Aufstieg in große Höhen verbessern.

In einem vorangegangenen Projekt unserer Arbeitsgruppe konnte nachgewiesen werden, dass die kontinuierliche intravenöse Gabe von 2 mg/kgKG/h des Carboanhydrase-Inhibitors Acetazolamid bei akuter Hypoxie den Anstieg des pulmonal-arteriellen Drucks und des pulmonal-vaskulären Widerstands verhindert<sup>101</sup>. Eine gesteigerte Ventilation aufgrund der Carboanhydrase-Inhibition sowie eine durch Acetazolamid induzierte systemische und intrazelluläre pH-Wert-Änderung waren dort als zugrundeliegende Mechanismen ausgeschlossen worden. Des Weiteren war durch den Einsatz des intrazellulären Carboanhydrase-Inhibitors Ethoxolamid und des extrazellulären Carboanhydrase-Inhibitors Benzolamid – die beide die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion nicht beeinflussten – wahrscheinlich, dass die Wirkung von Acetazolamid unabhängig von der Carboanhydrase-Inhibition ist.

Vor diesem Hintergrund wurde in der vorliegenden Arbeit das modifizierte Acetazolamid-Molekül *N-Methyl-Acetazolamid* eingesetzt. In diesem Molekül wurde die Carboanhydrase-inhibierende funktionelle Gruppe – die Sulfonamid-Gruppe – durch eine Methyl-Gruppe blockiert. In Voruntersuchungen der mit uns kooperierenden Arbeitsgruppe um Larissa Shimoda wurde gezeigt, dass N-Methyl-Acetazolamid den Hypoxie-bedingten  $Ca^{2+}$ -Einstrom in den pulmonal-arteriellen glatten Muskelzellen unterdrückt<sup>106</sup>.

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Wirkung von N-Methyl-Acetazolamid auf pulmonale, renale und endokrine Regulationsmechanismen am wachen, spontan-atmenden Hund (in vivo) zu untersuchen. Dabei interessierte uns vor allem die Wirkung von N-Methyl-Acetazolamid

auf die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion. Wenn die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion mittels N-Methyl-Acetazolamid inhibiert würde, wäre bestätigt, dass die Wirkung von Acetazolamid unabhängig von der Hemmung der Carboanhydrase ist.

Die Untersuchungen erfolgten in vier dreistündigen Versuchsprotokollen (1. Kontrolle, 2. Acetazolamid 2 mg/kgKG als Bolus und 2 mg/kgKG/h, 3. N-Methyl-Acetazolamid-low-dose 250 mg als Bolus und 5 mg/kgKG/h, 4. N-Methyl-Acetazolamid-high-dose 10mg/kgKG als Bolus und 10 mg/kgKG/h) an neun wachen, trainierten weiblichen Beagle-Hunden (Alter 1-2 Jahre). Die Verabreichung der Medikamente in den Interventionsversuchen erfolgte intravenös. Die Hunde atmeten in allen Versuchen spontan über einen Respirator: in der ersten Versuchsstunde Raumluft (Normoxie) und in den Versuchsstunden zwei und drei ein hypoxisches Gasgemisch (Hypoxie I und II). Als wir N-Methyl-Acetazolamid in der niedrigen Dosis (s.o.) einsetzten, konnte *keine* Hemmung der hypoxischen pulmonalen Vasokonstriktion beobachtet werden. Dennoch zeigten die Einzeldaten in der Tendenz einen schwächeren pulmonal-arteriellen Druckanstieg. Aus diesem Grund folgte eine Versuchsreihe mit 10 mg/kgKG/h N-Methyl-Acetazolamid intravenös. Diese höhere N-Methyl-Acetazolamid-Dosis beeinflusste tatsächlich die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion, konnte sie aber nicht wie Acetazolamid vollständig unterdrücken.

Da N-Methyl-Acetazolamid durch Methylierung der Sulfonamid-Gruppe seine Carboanhydrase-inhibierende Wirkung verliert, trat keine Wirkung auf die renale und endokrine Funktion unter Hypoxie auf.

Eine mögliche Erklärung für die verbesserte Wirkung von Acetazolamid im Vergleich zu N-Methyl-Acetazolamid liefern Untersuchungen von Aamand et al., die nachwiesen, dass die Carboanhydrase auch die Umwandlung von Nitrit zu Stickstoffmonoxid katalysiert. Beim Einsatz von Acetazolamid scheint nämlich die Hydratation von Kohlenstoffdioxid gehemmt, gleichzeitig aber die Umwandlung von Nitrit zu Stickstoffmonoxid begünstigt zu werden<sup>116</sup>. Diese Beobachtungen bieten neue Ansätze, die Wirkung von Acetazolamid auf die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion zu erklären. Untersucht werden sollte daher in einem zukünftigen Projekt, ob unter Einsatz von Acetazolamid ein höherer Stickstoffmonoxid-Gehalt in der Ausatemluft und intravasal nachweisbar ist. Erste Voruntersuchungen zu diesem Thema an Kaninchen sind vielversprechend.

## 6 Anhang

### 6.1 Literatur

- 1 Zander R. [Physiology and clinical aspects of the extracellular bicarbonate pool: plea for cognizant use of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]. *Infusionsther Transfusionsmed* 1993;20(5):217-35.
- 2 Boemke W, Krebs MO, Rossaint R. [Blood gas analysis]. *Anaesthesist* 2004;53(5):471-92; quiz 93-4.
- 3 Grocott MP, Martin DS, Levett DZ, McMorrow R, Windsor J, Montgomery HE. Arterial blood gases and oxygen content in climbers on Mount Everest. *N Engl J Med* 2009;360(2):140-9.
- 4 Euler UL, G. Observations on the pulmonary arterial blood pressure of the cat. *Acta Physiol Scand* 1946;12:301-20.
- 5 West JB, Dollery CT, Naimark A. Distribution of Blood Flow in Isolated Lung; Relation to Vascular and Alveolar Pressures. *J Appl Physiol* 1964;19:713-24.
- 6 Aaronson PI, Robertson TP, Knock GA, et al. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: mechanisms and controversies. *J Physiol* 2006;570(Pt 1):53-8.
- 7 Olschewski A, Hong Z, Nelson DP, Weir EK. Graded response of K<sup>+</sup> current, membrane potential, and [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> to hypoxia in pulmonary arterial smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002;283(5):L1143-50.
- 8 Hillier SC, Graham JA, Hanger CC, Godbey PS, Glenny RW, Wagner WW, Jr. Hypoxic vasoconstriction in pulmonary arterioles and venules. *J Appl Physiol* 1997;82(4):1084-90.
- 9 Jabr RI, Toland H, Gelband CH, Wang XX, Hume JR. Prominent role of intracellular Ca<sup>2+</sup> release in hypoxic vasoconstriction of canine pulmonary artery. *Br J Pharmacol* 1997;122(1):21-30.
- 10 Weigand L, Foxson J, Wang J, Shimoda LA, Sylvester JT. Inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by antagonists of store-operated Ca<sup>2+</sup> and nonselective cation channels. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005;289(1):L5-L13.
- 11 Wang J, Shimoda LA, Weigand L, Wang W, Sun D, Sylvester JT. Acute hypoxia increases intracellular [Ca<sup>2+</sup>] in pulmonary arterial smooth muscle by enhancing capacitative Ca<sup>2+</sup> entry. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005;288(6):L1059-69.
- 12 Ward JP, Robertson TP, Aaronson PI. Capacitative calcium entry: a central role in hypoxic pulmonary vasoconstriction? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005;289(1):L2-4.
- 13 Michelakis ED, Thebaud B, Weir EK, Archer SL. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: redox regulation of O<sub>2</sub>-sensitive K<sup>+</sup> channels by a mitochondrial O<sub>2</sub>-sensor in resistance artery smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol* 2004;37(6):1119-36.
- 14 Cornfield DN, Reeve HL, Tolarova S, Weir EK, Archer S. Oxygen causes fetal pulmonary vasodilation through activation of a calcium-dependent potassium channel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(15):8089-94.
- 15 Post JM, Hume JR, Archer SL, Weir EK. Direct role for potassium channel inhibition in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Am J Physiol* 1992;262(4 Pt 1):C882-90.
- 16 Hasunuma K, Rodman DM, McMurtry IF. Effects of K<sup>+</sup> channel blockers on vascular tone in the perfused rat lung. *Am Rev Respir Dis* 1991;144(4):884-7.

- 17 Archer SL, Will JA, Weir EK. Redox status in the control of pulmonary vascular tone. *Herz* 1986;11(3):127-41.
- 18 Leach RM, Hill HM, Snetkov VA, Robertson TP, Ward JP. Divergent roles of glycolysis and the mitochondrial electron transport chain in hypoxic pulmonary vasoconstriction of the rat: identity of the hypoxic sensor. *J Physiol* 2001;536(Pt 1):211-24.
- 19 Tipparaju SM, Saxena N, Liu SQ, Kumar R, Bhatnagar A. Differential regulation of voltage-gated K<sup>+</sup> channels by oxidized and reduced pyridine nucleotide coenzymes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005;288(2):C366-76.
- 20 Dipp M, Evans AM. Cyclic ADP-ribose is the primary trigger for hypoxic pulmonary vasoconstriction in the rat lung in situ. *Circ Res* 2001;89(1):77-83.
- 21 Wolin MS, Gupte SA, Neo BH, Gao Q, Ahmad M. Oxidant-redox regulation of pulmonary vascular responses to hypoxia and nitric oxide-cGMP signaling. *Cardiol Rev*;18(2):89-93.
- 22 Thomas HM, 3rd, Carson RC, Fried ED, Novitch RS. Inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by diphenylethylidenehydrazide. *Biochem Pharmacol* 1991;42(7):R9-12.
- 23 Grimminger F, Weissmann N, Spriestersbach R, Becker E, Rosseau S, Seeger W. Effects of NADPH oxidase inhibitors on hypoxic vasoconstriction in buffer-perfused rabbit lungs. *Am J Physiol* 1995;268(5 Pt 1):L747-52.
- 24 Jones RD, Thompson JS, Morice AH. The NADPH oxidase inhibitors ethylphenyl and cadmium sulphate inhibit hypoxic pulmonary vasoconstriction in isolated rat pulmonary arteries. *Physiol Res* 2000;49(5):587-96.
- 25 Archer SL, Reeve HL, Michelakis E, et al. O<sub>2</sub> sensing is preserved in mice lacking the gp91 phox subunit of NADPH oxidase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(14):7944-9.
- 26 Sommer N, Dietrich A, Schermuly RT, et al. Regulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction: basic mechanisms. *Eur Respir J* 2008;32(6):1639-51.
- 27 Waypa GB, Schumacker PT. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: redox events in oxygen sensing. *J Appl Physiol* 2005;98(1):404-14.
- 28 Olschewski A, Hong Z, Peterson DA, Nelson DP, Porter VA, Weir EK. Opposite effects of redox status on membrane potential, cytosolic calcium, and tone in pulmonary arteries and ductus arteriosus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;286(1):L15-22.
- 29 Waypa GB, Chandel NS, Schumacker PT. Model for hypoxic pulmonary vasoconstriction involving mitochondrial oxygen sensing. *Circ Res* 2001;88(12):1259-66.
- 30 Archer SL, Weir EK, Reeve HL, Michelakis E. Molecular identification of O<sub>2</sub> sensors and O<sub>2</sub>-sensitive potassium channels in the pulmonary circulation. *Adv Exp Med Biol* 2000;475:219-40.
- 31 Drummond RM, Tuft RA. Release of Ca<sup>2+</sup> from the sarcoplasmic reticulum increases mitochondrial [Ca<sup>2+</sup>] in rat pulmonary artery smooth muscle cells. *J Physiol* 1999;516 ( Pt 1):139-47.
- 32 Kang TM, Park MK, Uhm DY. Effects of hypoxia and mitochondrial inhibition on the capacitative calcium entry in rabbit pulmonary arterial smooth muscle cells. *Life Sci* 2003;72(13):1467-79.
- 33 Holden WE, McCall E. Hypoxia-induced contractions of porcine pulmonary artery strips depend on intact endothelium. *Exp Lung Res* 1984;7(2):101-12.

- 34 Robertson TP, Aaronson PI, Ward JP. Ca<sup>2+</sup> sensitization during sustained hypoxic pulmonary vasoconstriction is endothelium dependent. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;284(6):L1121-6.
- 35 Petersen B, Deja M, Bartholdy R, et al. Inhalation of the ETA receptor antagonist LU-135252 selectively attenuates hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;294(2):R601-5.
- 36 Sato K, Morio Y, Morris KG, Rodman DM, McMurtry IF. Mechanism of hypoxic pulmonary vasoconstriction involves ET(A) receptor-mediated inhibition of K(ATP) channel. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;278(3):L434-42.
- 37 Ullmann E. Acute anoxia and the excretion of water and electrolyte. *J Physiol* 1961;155:417-37.
- 38 Granberg PO. Effect of acute hypoxia on renal haemodynamics and water diuresis in man. *Scand J Clin Lab Invest* 1962;(Suppl 63):1-62.
- 39 Colice G, Yen S, Ramirez G, Dietz J, Ou LC. Acute hypoxia-induced diuresis in rats. *Aviat Space Environ Med* 1991;62(6):551-4.
- 40 Honig A. Peripheral arterial chemoreceptors and reflex control of sodium and water homeostasis. *Am J Physiol* 1989;257(6 Pt 2):R1282-302.
- 41 Koller EA, Bischoff M, Buhner A, Felder L, Schopen M. Respiratory, circulatory and neuropsychological responses to acute hypoxia in acclimatized and non-acclimatized subjects. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1991;62(2):67-72.
- 42 Walker BR. Diuretic response to acute hypoxia in the conscious dog. *Am J Physiol* 1982;243(5):F440-6.
- 43 Hackett PH, Rennie D, Hofmeister SE, Grover RF, Grover EB, Reeves JT. Fluid retention and relative hypoventilation in acute mountain sickness. *Respiration* 1982;43(5):321-9.
- 44 Sutton JR, Viol GW, Gray GW, McFadden M, Keane PM. Renin, aldosterone, electrolyte, and cortisol responses to hypoxic decompression. *J Appl Physiol* 1977;43(3):421-4.
- 45 Skwarski KM, Morrison D, Barratt A, Lee M, MacNee W. Effects of hypoxia on renal hormonal balance in normal subjects and in patients with COPD. *Respir Med* 1998;92(12):1331-6.
- 46 Neylon M, Marshall J, Johns EJ. The role of the renin-angiotensin system in the renal response to moderate hypoxia in the rat. *J Physiol* 1996;491 ( Pt 2):479-88.
- 47 Maher JT, Jones LG, Hartley LH, Williams GH, Rose LI. Aldosterone dynamics during graded exercise at sea level and high altitude. *J Appl Physiol* 1975;39(1):18-22.
- 48 Keynes RJ, Smith GW, Slater JD, et al. Renin and aldosterone at high altitude in man. *J Endocrinol* 1982;92(1):131-40.
- 49 Zaccaria M, Rocco S, Noventa D, Varnier M, Opocher G. Sodium regulating hormones at high altitude: basal and post-exercise levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(2):570-4.
- 50 Krebs MO, Boemke W, Simon S, Wenz M, Kaczmarczyk G. Acute hypoxic pulmonary vasoconstriction in conscious dogs decreases renin and is unaffected by losartan. *J Appl Physiol* 1999;86(6):1914-9.

- 51 Hohne C, Krebs MO, Boemke W, Arntz E, Kaczmarczyk G. Evidence that the renin decrease during hypoxia is adenosine mediated in conscious dogs. *J Appl Physiol* 2001;90(5):1842-8.
- 52 Shryock JC, Belardinelli L. Adenosine and adenosine receptors in the cardiovascular system: biochemistry, physiology, and pharmacology. *Am J Cardiol* 1997;79(12A):2-10.
- 53 Weaver DR, Reppert SM. Adenosine receptor gene expression in rat kidney. *Am J Physiol* 1992;263(6 Pt 2):F991-5.
- 54 Lawrence DL, Shenker Y. Effect of hypoxic exercise on atrial natriuretic factor and aldosterone regulation. *Am J Hypertens* 1991;4(4 Pt 1):341-7.
- 55 Claybaugh JR, Wade CE, Sato AK, Cucinell SA, Lane JC, Maher JT. Antidiuretic hormone responses to eucapnic and hypocapnic hypoxia in humans. *J Appl Physiol* 1982;53(4):815-23.
- 56 De Angelis C, Ferri C, Urbani L, Farrace S. Effect of acute exposure to hypoxia on electrolytes and water metabolism regulatory hormones. *Aviat Space Environ Med* 1996;67(8):746-50.
- 57 Loeppky JA, Roach RC, Maes D, et al. Role of hypobarica in fluid balance response to hypoxia. *High Alt Med Biol* 2005;6(1):60-71.
- 58 Blume FD, Boyer SJ, Braverman LE, Cohen A, Dirkse J, Mordes JP. Impaired osmoregulation at high altitude. *Studies on Mt Everest. Jama* 1984;252(4):524-6.
- 59 Hildebrandt W, Ottenbacher A, Schuster M, Swenson ER, Bartsch P. Diuretic effect of hypoxia, hypocapnia, and hyperpnea in humans: relation to hormones and O<sub>2</sub> chemosensitivity. *J Appl Physiol* 2000;88(2):599-610.
- 60 Currie JC, Ullmann E. Polyuria during experimental modifications of breathing. *J Physiol* 1961;155:438-55.
- 61 Swenson ER, Duncan TB, Goldberg SV, Ramirez G, Ahmad S, Schoene RB. Diuretic effect of acute hypoxia in humans: relationship to hypoxic ventilatory responsiveness and renal hormones. *J Appl Physiol* 1995;78(2):377-83.
- 62 Chatelier L. Sur un énoncé général des lois des équilibres chimiques. *Comptes rendus de l'Académie des sciences* 1884;99:786-9.
- 63 Boemke W RH. Säure-Basen-Haushalt. In: Forst RR, Werner, ed. *Die Anästhesiologie*. Springer Verlag ed. Berlin, Heidelberg, New York: Zwissler; 2004:141-57.
- 64 Gledhill N, Beirne GJ, Dempsey JA. Renal response to short-term hypocapnia in man. *Kidney Int* 1975;8(6):376-84.
- 65 Karim F, al-Obaidi M. Modification of carotid chemoreceptor-induced changes in renal haemodynamics and function by carotid baroreflex in dogs. *J Physiol* 1993;466:599-610.
- 66 Morganti A, Giussani M, Sala C, et al. Effects of exposure to high altitude on plasma endothelin-1 levels in normal subjects. *J Hypertens* 1995;13(8):859-65.
- 67 Horio T, Kohno M, Yokokawa K, et al. Effect of hypoxia on plasma immunoreactive endothelin-1 concentration in anesthetized rats. *Metabolism* 1991;40(10):999-1001.
- 68 Ferri C, Bellini C, De Angelis C, et al. Circulating endothelin-1 concentrations in patients with chronic hypoxia. *J Clin Pathol* 1995;48(6):519-24.

- 69 Kohan DE. Endothelins in the kidney: physiology and pathophysiology. *Am J Kidney Dis* 1993;22(4):493-510.
- 70 Pollard AJ MD. *The High Altitude Medicine Handbook*. 3 ed: Radcliff Medical Press Ltd, Abington UK; 2003.
- 71 Silber E, Sonnenberg P, Collier DJ, Pollard AJ, Murdoch DR, Goadsby PJ. Clinical features of headache at altitude: a prospective study. *Neurology* 2003;60(7):1167-71.
- 72 Roach RC BP, Oelz O, . The Lake Louise acute mountain sickness scoring system. In: Sutton JR HC, Coats G, ed. *Hypoxia and molecular medicine*. Burlington: Queen City Press; 1993:272-4.
- 73 Hackett PH, Roach RC. High altitude cerebral edema. *High Alt Med Biol* 2004;5(2):136-46.
- 74 Bartsch P, Gibbs JS. Effect of altitude on the heart and the lungs. *Circulation* 2007;116(19):2191-202.
- 75 Hackett PH, Rennie D, Levine HD. The incidence, importance, and prophylaxis of acute mountain sickness. *Lancet* 1976;2(7996):1149-55.
- 76 Menon ND. High-Altitude Pulmonary Edema: a Clinical Study. *N Engl J Med* 1965;273:66-73.
- 77 Bartsch P, Mairbaurl H, Maggiorini M, Swenson ER. Physiological aspects of high-altitude pulmonary edema. *J Appl Physiol* 2005;98(3):1101-10.
- 78 Hackett PH, Creagh CE, Grover RF, et al. High-altitude pulmonary edema in persons without the right pulmonary artery. *N Engl J Med* 1980;302(19):1070-3.
- 79 Allemann Y, Hutter D, Lipp E, et al. Patent foramen ovale and high-altitude pulmonary edema. *Jama* 2006;296(24):2954-8.
- 80 Durmowicz AG, Noordeweir E, Nicholas R, Reeves JT. Inflammatory processes may predispose children to high-altitude pulmonary edema. *J Pediatr* 1997;130(5):838-40.
- 81 Mairbaurl H, Schwobel F, Hoschele S, et al. Altered ion transporter expression in bronchial epithelium in mountaineers with high-altitude pulmonary edema. *J Appl Physiol* 2003;95(5):1843-50.
- 82 Sartori C, Allemann Y, Duplain H, et al. Salmeterol for the prevention of high-altitude pulmonary edema. *N Engl J Med* 2002;346(21):1631-6.
- 83 Busch T, Bartsch P, Pappert D, et al. Hypoxia decreases exhaled nitric oxide in mountaineers susceptible to high-altitude pulmonary edema. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(2):368-73.
- 84 Scherrer U, Vollenweider L, Delabays A, et al. Inhaled nitric oxide for high-altitude pulmonary edema. *N Engl J Med* 1996;334(10):624-9.
- 85 Duplain H, Sartori C, Lepori M, et al. Exhaled nitric oxide in high-altitude pulmonary edema: role in the regulation of pulmonary vascular tone and evidence for a role against inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(1):221-4.
- 86 Droma Y, Hanaoka M, Ota M, et al. Positive association of the endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with high-altitude pulmonary edema. *Circulation* 2002;106(7):826-30.

- 87 Ahsan A, Mohd G, Norboo T, Baig MA, Pasha MA. Heterozygotes of NOS3 polymorphisms contribute to reduced nitrogen oxides in high-altitude pulmonary edema. *Chest* 2006;130(5):1511-9.
- 88 Bartsch P, Shaw S, Franciulli M, Gnadinger MP, Weidmann P. Atrial natriuretic peptide in acute mountain sickness. *J Appl Physiol* 1988;65(5):1929-37.
- 89 Sartori C, Vollenweider L, Loffler BM, et al. Exaggerated endothelin release in high-altitude pulmonary edema. *Circulation* 1999;99(20):2665-8.
- 90 Schoene RB, Swenson ER, Pizzo CJ, et al. The lung at high altitude: bronchoalveolar lavage in acute mountain sickness and pulmonary edema. *J Appl Physiol* 1988;64(6):2605-13.
- 91 Maggiorini M, Melot C, Pierre S, et al. High-altitude pulmonary edema is initially caused by an increase in capillary pressure. *Circulation* 2001;103(16):2078-83.
- 92 Swenson ER, Maggiorini M, Mongovin S, et al. Pathogenesis of high-altitude pulmonary edema: inflammation is not an etiologic factor. *Jama* 2002;287(17):2228-35.
- 93 West JB, Tsukimoto K, Mathieu-Costello O, Prediletto R. Stress failure in pulmonary capillaries. *J Appl Physiol* 1991;70(4):1731-42.
- 94 Neal CR, Michel CC. Openings in frog microvascular endothelium induced by high intravascular pressures. *J Physiol* 1996;492 ( Pt 1):39-52.
- 95 Hultgren HN. High-altitude pulmonary edema: current concepts. *Annu Rev Med* 1996;47:267-84.
- 96 Tsang JY, Lamm WJ, Starr IR, Hlastala MP. Spatial pattern of ventilation-perfusion mismatch following acute pulmonary thromboembolism in pigs. *J Appl Physiol* 2005;98(5):1862-8.
- 97 Dehnert C, Risse F, Ley S, et al. Magnetic resonance imaging of uneven pulmonary perfusion in hypoxia in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174(10):1132-8.
- 98 Hackett PH, Roach RC. High-altitude illness. *N Engl J Med* 2001;345(2):107-14.
- 99 Forward SA, Landowne M, Follansbee JN, Hansen JE. Effect of acetazolamide on acute mountain sickness. *N Engl J Med* 1968;279(16):839-45.
- 100 Hohne C, Krebs MO, Seiferheld M, Boemke W, Kaczmarczyk G, Swenson ER. Acetazolamide prevents hypoxic pulmonary vasoconstriction in conscious dogs. *J Appl Physiol* 2004;97(2):515-21.
- 101 Hohne C, Pickerodt PA, Francis RC, Boemke W, Swenson ER. Pulmonary vasodilation by acetazolamide during hypoxia is unrelated to carbonic anhydrase inhibition. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292(1):L178-84.
- 102 Teppema LJ, Balanos GM, Steinback CD, et al. Effects of acetazolamide on ventilatory, cerebrovascular, and pulmonary vascular responses to hypoxia. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175(3):277-81.
- 103 Maggiorini M, Brunner-La Rocca HP, Peth S, et al. Both tadalafil and dexamethasone may reduce the incidence of high-altitude pulmonary edema: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006;145(7):497-506.
- 104 Oelz O, Maggiorini M, Ritter M, et al. Nifedipine for high altitude pulmonary oedema. *Lancet* 1989;2(8674):1241-4.

- 105 Berg JT. Ginkgo biloba extract prevents high altitude pulmonary edema in rats. *High Alt Med Biol* 2004;5(4):429-34.
- 106 Shimoda LA, Luke T, Sylvester JT, Shih HW, Jain A, Swenson ER. Inhibition of hypoxia-induced calcium responses in pulmonary arterial smooth muscle by acetazolamide is independent of carbonic anhydrase inhibition. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292(4):L1002-12.
- 107 Deem S, Hedges RG, Kerr ME, Swenson ER. Acetazolamide reduces hypoxic pulmonary vasoconstriction in isolated perfused rabbit lungs. *Respir Physiol* 2000;123(1-2):109-19.
- 108 Emery CJ, Sloan PJ, Mohammed FH, Barer GR. The action of hypercapnia during hypoxia on pulmonary vessels. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1977;13(6):763-76.
- 109 Swenson ER. Carbonic anhydrase inhibitors and ventilation: a complex interplay of stimulation and suppression. *Eur Respir J* 1998;12(6):1242-7.
- 110 Maren TH. Carbonic anhydrase: chemistry, physiology, and inhibition. *Physiol Rev* 1967;47(4):595-781.
- 111 Swenson ER, Robertson HT, Hlastala MP. Effects of carbonic anhydrase inhibition on ventilation-perfusion matching in the dog lung. *J Clin Invest* 1993;92(2):702-9.
- 112 Pickkers P, Garcha RS, Schachter M, Smits P, Hughes AD. Inhibition of carbonic anhydrase accounts for the direct vascular effects of hydrochlorothiazide. *Hypertension* 1999;33(4):1043-8.
- 113 Pickkers P, Hughes AD, Russel FG, Thien T, Smits P. In vivo evidence for K(Ca) channel opening properties of acetazolamide in the human vasculature. *Br J Pharmacol* 2001;132(2):443-50.
- 114 McNaughton NC, Davies CH, Randall A. Inhibition of alpha(1E) Ca(2+) channels by carbonic anhydrase inhibitors. *J Pharmacol Sci* 2004;95(2):240-7.
- 115 Chipperfield AR, Davis JP, Harper AA. An acetazolamide-sensitive inward chloride pump in vascular smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;194(1):407-12.
- 116 Aamand R, Dalsgaard T, Jensen FB, Simonsen U, Roepstorff A, Fago A. Generation of nitric oxide from nitrite by carbonic anhydrase: a possible link between metabolic activity and vasodilation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297(6):H2068-74.
- 117 Swenson ER. Carbonic anhydrase inhibitors and hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Respir Physiol Neurobiol* 2006;151(2-3):209-16.
- 118 Henry RP, Swenson ER. The distribution and physiological significance of carbonic anhydrase in vertebrate gas exchange organs. *Respir Physiol* 2000;121(1):1-12.
- 119 Farrukh IS, Hoidal JR, Barry WH. Effect of intracellular pH on ferret pulmonary arterial smooth muscle cell calcium homeostasis and pressure. *J Appl Physiol* 1996;80(2):496-505.
- 120 Madden JA, Ray DE, Keller PA, Kleinman JG. Ion exchange activity in pulmonary artery smooth muscle cells: the response to hypoxia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280(2):L264-71.
- 121 Raffestin B, McMurtry IF. Effects of intracellular pH on hypoxic vasoconstriction in rat lungs. *J Appl Physiol* 1987;63(6):2524-31.

- 122 Tricarico D, Barbieri M, Mele A, Carbonara G, Camerino DC. Carbonic anhydrase inhibitors are specific openers of skeletal muscle BK channel of K<sup>+</sup>-deficient rats. *J Faseb J* 2004;18(6):760-1.
- 123 Maren TH. Carbonic anhydrase inhibition. V. N5-substituted 2-acetylamino-1,3,4-thiadiazole-5-sulfonamides: metabolic conversion and use as control substances. *J Pharmacol Exp Ther* 1956;117(4):385-401.
- 124 Keilin D, Mann T. Carbonic anhydrase. Purification and nature of the enzyme. *Biochem J* 1940;34(8-9):1163-76.
- 125 Lee KE, Behrendt U, Kaczmarczyk G, Mohnhaupt R, Reinhardt HW. Estimation of glomerular filtration rate in conscious dogs following a bolus of creatinine. Comparison with simultaneously determined inulin clearance. *Pflugers Arch* 1983;396(2):176-8.
- 126 The Seldinger technique. Reprint from *Acta Radiologica* 1953. *AJR Am J Roentgenol* 1984;142(1):5-7.
- 127 Jochen Schulte am Esch HB, Eberhard Kochs, Jens Scholz, Thomas Standl, Christian Werner. *Anästhesie 3ed.* Stuttgart: Alexander und Konstantin Bob; 2007
- 128 Jansen JR, Schreuder JJ, Settels JJ, Kloek JJ, Versprille A. An adequate strategy for the thermodilution technique in patients during mechanical ventilation. *Intensive Care Med* 1990;16(7):422-5.
- 129 Jansen JR, Wesseling KH, Settels JJ, Schreuder JJ. Continuous cardiac output monitoring by pulse contour during cardiac surgery. *Eur Heart J* 1990;11 Suppl I:26-32.
- 130 Hoeft A. *Dilutionstechniken und Ficksches Prinzip.* Heidelberg: Springer-Verlag; 1995.
- 131 Schaffer JP. Modified Sequentially Rejective Multiple Test Procedures *Journal of the American Statistical Association* 1986;81, No 395:826-31.
- 132 Francis RC, Hohne C, Kaczmarczyk G, Boemke W. Effect of angiotensin II and endothelin-1 receptor blockade on the haemodynamic and hormonal changes after acute blood loss and after retransfusion in conscious dogs. *Acta Physiol Scand* 2004;180(4):319-28.
- 133 Kontos HA, Levasseur JE, Richardson DW, Mauck HP, Jr., Patterson JL, Jr. Comparative circulatory responses to systemic hypoxia in man and in unanesthetized dog. *J Appl Physiol* 1967;23(3):381-6.
- 134 Vogel JA, Hartley LH, Cruz JC. Cardiac output during exercise in altitude natives at sea level and high altitude. *J Appl Physiol* 1974;36(2):173-6.
- 135 Kamat SR, Rao TL, Sarma BS, Venkataraman C, Raju VR. Study of cardiopulmonary function on exposure to high altitude. II. Effects of prolonged stay at 3,500 to 4,000 meters and reversal on return to sea level. *Am Rev Respir Dis* 1972;106(3):414-31.
- 136 Wolfel EE, Selland MA, Mazzeo RS, Reeves JT. Systemic hypertension at 4,300 m is related to sympathoadrenal activity. *J Appl Physiol* 1994;76(4):1643-50.
- 137 Nagendran J, Stewart K, Hoskinson M, Archer SL. An anesthesiologist's guide to hypoxic pulmonary vasoconstriction: implications for managing single-lung anesthesia and atelectasis. *Curr Opin Anaesthesiol* 2006;19(1):34-43.
- 138 Lejeune P, Vachiery JL, De Smet JM, et al. PEEP inhibits hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs. *J Appl Physiol* 1991;70(4):1867-73.

- 139 Kaczmarczyk G, Jorres D, Rossaint R, Krebs M, Unger V, Falke K. Extracellular volume expansion inhibits antidiuretic hormone increase during positive end-expiratory pressure in conscious dogs. *Clin Sci (Lond)* 1993;85(5):643-9.
- 140 Bert. La pression barométrique: recherches de physiologie expérimentale. In: Masson, ed. Paris; 1878:p1168.
- 141 Barcroft. Respiratory function of the blood, Part I. In: Cambridge University Press. New York; 1925.
- 142 Roach RC, Loeppky JA, Icenogle MV. Acute mountain sickness: increased severity during simulated altitude compared with normobaric hypoxia. *J Appl Physiol* 1996;81(5):1908-10.
- 143 Coates G, Belbeck LW, Gray GW. Hypobaric hypoxia does not affect lung fluid or protein exchange in awake adult sheep at rest. *Can J Physiol Pharmacol* 1983;61(7):714-6.
- 144 Savourey G, Launay JC, Besnard Y, Guinet A, Travers S. Normo- and hypobaric hypoxia: are there any physiological differences? *Eur J Appl Physiol* 2003;89(2):122-6.
- 145 Levine BD, Kubo K, Kobayashi T, Fukushima M, Shibamoto T, Ueda G. Role of barometric pressure in pulmonary fluid balance and oxygen transport. *J Appl Physiol* 1988;64(1):419-28.
- 146 Reeves JT, Halpin J, Cohn JE, Daoud F. Increased alveolar-arterial oxygen difference during simulated high-altitude exposure. *J Appl Physiol* 1969;27(5):658-61.
- 147 Schoene RB, Roach RC, Hackett PH, Harrison G, Mills WJ, Jr. High altitude pulmonary edema and exercise at 4,400 meters on Mount McKinley. Effect of expiratory positive airway pressure. *Chest* 1985;87(3):330-3.
- 148 Bo G, Hauge A, Nicolaysen G. Alveolar pressure and lung volume as determinants of net transvascular fluid filtration. *J Appl Physiol* 1977;42(4):476-82.
- 149 Mellins RB, Levine OR, Skalak R, Fishman AP. Interstitial pressure of the lung. *Circ Res* 1969;24(2):197-212.
- 150 Hohne C, Boemke W, Schleyer N, Francis RC, Krebs MO, Kaczmarczyk G. Low sodium intake does not impair renal compensation of hypoxia-induced respiratory alkalosis. *J Appl Physiol* 2002;92(5):2097-104.
- 151 Levinsky NG, Berliner RW. Changes in composition of the urine in ureter and bladder at low urine flow. *Am J Physiol* 1959;196(3):549-53.
- 152 Travis DM, Wiley C, Nechay BR, Maren TH. Selective Renal Carbonic Anhydrase Inhibition without Respiratory Effect: Pharmacology of 2-Benzenesulfonamido-1,3,4-Thiadiazole-5-Sulfonamide (CI 11,366). *J Pharmacol Exp Ther* 1964;143:383-94.
- 153 Ohe M, Ogata M, Shirato K, Takishima T. Effects of verapamil and BAY K 8644 on the hypoxic contraction of the isolated human pulmonary artery. *Tohoku J Exp Med* 1989;157(1):81-2.
- 154 Archer SL, Wu XC, Thebaud B, et al. Preferential expression and function of voltage-gated, O<sub>2</sub>-sensitive K<sup>+</sup> channels in resistance pulmonary arteries explains regional heterogeneity in hypoxic pulmonary vasoconstriction: ionic diversity in smooth muscle cells. *Circ Res* 2004;95(3):308-18.
- 155 Innocenti A, Zimmerman S, Ferry JG, Scozzafava A, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of the beta-class enzyme from the methanoarchaeon

Methanobacterium thermoautotrophicum (Cab) with anions. *Bioorg Med Chem Lett* 2004;14(17):4563-7.

156 Leaf DE, Goldfarb DS. Mechanisms of action of acetazolamide in the prophylaxis and treatment of acute mountain sickness. *J Appl Physiol* 2007;102(4):1313-22.

157 Seeliger E, Lohmann K, Nafz B, Persson PB, Reinhardt HW. Pressure-dependent renin release: effects of sodium intake and changes of total body sodium. *Am J Physiol* 1999;277(2 Pt 2):R548-55.

158 Schweda F, Schweda A, Pfeifer M, et al. Role of endothelins for the regulation of renal renin gene expression. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;36(5 Suppl 1):S187-90.

159 Fraser R, James VH, Brown JJ, Isaac P, Lever AF, Robertson JI. Effect of angiotensin and of frusemide on plasma aldosterone, corticosterone, cortisol and renin in man. *Lancet* 1965;2(7420):989-91.

160 Keeton TK, Campbell WB. The pharmacologic alteration of renin release. *Pharmacol Rev* 1980;32(2):81-227.

161 Motley HL, Cournand A, et al. The influence of short periods of induced acute anoxia upon pulmonary artery pressures in man. *Am J Physiol* 1947;150(2):315-20.

## 6.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht über die klassischen Medikamente zur Prophylaxe und Therapie von AMS, HACE, HAPE (Dosierungsempfehlungen nach Hackett und Roach <sup>98</sup> ).....	23
Tab. 2: Vergleich der chemischen und physikalischen Eigenschaften von NMA und ACZ <sup>106, 123</sup> .....	28
Tab. 3: Standardisierte Diät (Alle Angaben sind bezogen auf Kilogramm Körpergewicht (kgKG) und Tag).....	31
Tab. 4: Übersicht über die verwendeten Kits zur Hormonanalyse.....	38
Tab. 5: Blutgaswerte der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose-Gruppe (n=5).....	41
Tab. 6: AMV und AZV der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und NMA-high-dose-Gruppe (n=5).....	42
Tab. 7: Systemische Hämodynamik der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose-Gruppe (n=5).....	43
Tab. 8: Pulmonale Hämodynamik der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose-Gruppe (n=5).....	45
Tab. 9: Pulmonale Hämodynamik der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose-Gruppe (n=5).....	47
Tab. 10: Pulmonale Hämodynamik der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose-Gruppe (n=5).....	47
Tab. 11: Renale Exkretion und Plasmaelektrolyte der NMA-low-dose-Gruppe (n=6) und der NMA-high-dose Gruppe (n=5).....	48
Tab. 12: Acetazolamidspiegel in der NMA-high-dose-Gruppe .....	49
Tab. 13: Analyse der Hormone der NMA-high-dose-Gruppe (n=5).....	50
Tab. 14: Analyse des ET-I-Spiegels der NMA-high-dose-Gruppe (n=5) .....	51
Tab. 15: Vergleich des P <sub>a</sub> O <sub>2</sub> und des P <sub>a</sub> CO <sub>2</sub> der NMA-high-dose-Gruppe mit einer Untersuchung unserer Arbeitsgruppe von 2004, bei der die Hunde über ein Tracheostoma beatmet wurden .....	55

### 6.3 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Zusammenfassung der Mechanismen, die nach aktuellem Kenntnisstand an der Ausbildung der HPV in den PASMCs beteiligt sind. ....	11
Abb. 2: Darstellung der proximalen Tubuluszellen .....	17
Abb. 3: Die möglichen Mechanismen, die eine Diurese und Natriurese induzieren bzw. verhindern .....	19
Abb. 4: HAPE: Pathophysiologie (Zur Verfügung gestellt von Ass.- Prof. T. Küpper, MD Universitätsklinikum Aachen) .....	22
Abb. 5: Druckverlauf beim Einschwenken eines pulmonal-arteriellen Katheters .....	32
Abb. 6: Einteilung der Versuchs-Tiere in NMA-low-dose- und NMA-high-dose-Gruppe .....	33
Abb. 7: Übersicht über den Versuchsablauf .....	36
Abb. 8: Der pulmonal-arterielle Mitteldruck .....	44
Abb. 9: Der pulmonal-vaskuläre Widerstand.....	46
Abb. 10: Vergleich der Mittelwerte der HF von Hummel und Evita in der NMA-high-dose Gruppe .....	52
Abb. 11: Vergleich der Mittelwerte des MAP von Tapsi und Yaris in der NMA-low-dose-Gruppe.....	53
Abb. 12: Vergleich des MPAPs der NMA-low-dose-Versuche mit dem der NMA-high-dose-Versuche.....	60

### 6.4 Verwendete Gleichungen

Gleichung 1: Die alveoläre Gasgleichung .....	7
Gleichung 2: Der respiratorische Quotient .....	7
Gleichung 3: Die Reaktion der Carboanhydrase.....	16
Gleichung 4: Reaktion der CA mit Nitrit .....	65
Gleichung 5: Der spontane Zerfall des Reaktionsprodukts zu NO und NO <sub>2</sub> .....	65

### 6.5 Abkürzungen und Dimensionen

<b>ABC</b>	aktuelle Bikarbonatkonzentration [mmol/l]
<b>ABE</b>	aktuelle Basenabweichung, Base Excess [mmol/l]
<b>ACE</b>	Angiotensin Converting Enzyme, Angiotensin konvertierendes Enzym
<b>ACTH</b>	Adrenocorticotropes Hormon
<b>ACZ</b>	Acetazolamid
<b>ADH</b>	Antidiuretisches Hormon [pg/ml]
<b>AF</b>	Atemfrequenz
<b>AI</b>	Angiotensin I [pg/ml]
<b>AII</b>	Angiotensin II [pg/ml]
<b>AMS</b>	Acute Mountain Sickness, akute Bergkrankheit
<b>AMV</b>	Atemminutenvolumen [l/min]
<b>ANP</b>	Atriales natriuretisches Peptid
<b>ATP</b>	Adenosintriphosphat
<b>AZV</b>	Atemzugvolumen [ml]
<b>BGA</b>	Blutgasanalyse
<b>CA</b>	Carboanhydrase
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Kalzium-Ion
<b>CAI</b>	Carboanhydrase-Inhibitor
<b>CCE</b>	capacitative Calcium entry
<b>cGMP</b>	Cyclisches Guanosinmonophosphat
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Chlorid-Ion
<b>CO<sub>2</sub></b>	Kohlenstoffdioxid
<b>CPAP</b>	Continuous Positive Airway Pressure
<b>dMPAP</b>	Delta des mittleren pulmonal-arteriellen Drucks [mmHg]

---

<b>dPVR</b>	Delta des pulmonal-arteriellen Widerstands [ $\text{dyn}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-5}$ ]
<b>ELISA</b>	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
<b>ET-I</b>	Endothelin-I [ $\text{pg}/\text{ml}$ ]
<b>FELASA</b>	Federation of European Laboratory Animal Science Association
<b>FE<sub>Na</sub></b>	fraktionelle Natriumexkretion [%]
<b>F<sub>i</sub>O<sub>2</sub></b>	fraction of inspired oxygen, Fraktion des inspirierten Sauerstoffs
<b>GFR</b>	glomeruläre Filtrationsrate [ $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ ]
<b>H<sup>+</sup></b>	Proton
<b>H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Kohlensäure
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Wasser-Molekül
<b>HACE</b>	High altitude cerebral edema, Höhenhirnödem
<b>HAPE</b>	High altitude pulmonary edema, Höhenlungenödem
<b>Hb</b>	Hämoglobin [ $\text{mg}/\text{dl}$ ]
<b>Hb<sub>a</sub>O<sub>2</sub></b>	Sauerstoffsättigung
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Bikarbonat-Ion
<b>HF</b>	Herzfrequenz [ $1/\text{min}$ ]
<b>HPV</b>	hypoxische pulmonale Vasokonstriktion
<b>HZV</b>	Herzzeitvolumen [ $1/\text{min}$ ]
<b>i.v.</b>	intravenös
<b>K<sup>+</sup></b>	Kalium-Ion
<b>K<sup>+</sup>-ATP-Kanäle</b>	ATP-abhängige-Kalium-Kanäle
<b>K<sub>v</sub>-Kanäle</b>	spannungsgesteuerte Kalium-Kanäle
<b>MAP</b>	mean artery pressure, mittlerer arterieller Druck
<b>MPAP</b>	mean pulmonary artery pressure, mittlerer pulmonal-arterieller Druck [ $\text{mmHg}$ ]

<b>MRT</b>	Magnet-Resonanz-Tomographie
<b>N<sub>2</sub></b>	Stickstoffmolekül
<b>Na<sup>2+</sup></b>	Natrium-Ion
<b>NADPH</b>	Nikotin-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
<b>NCSS</b>	Number Cruncher Statistical System
<b>NMA</b>	N-Methyl-Acetazolamid
<b>NO</b>	Stickstoffmonoxid
<b>NSCC</b>	nonspecific cation channels, nicht-spezifische Kationen-Kanäle
<b>O<sub>2</sub></b>	Sauerstoff
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Superoxid-Anionen
<b>PAC</b>	Aldosteron [pg/ml]
<b>P<sub>A</sub>CO<sub>2</sub></b>	alveolärer Kohlenstoffdioxidpartialdruck [mmHg]
<b>P<sub>a</sub>CO<sub>2</sub></b>	arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck [mmHg]
<b>P<sub>A</sub>O<sub>2</sub></b>	alveolärer Sauerstoffpartialdruck [mmHg]
<b>P<sub>a</sub>O<sub>2</sub></b>	arterieller Sauerstoffpartialdruck [mmHg]
<b>PAP</b>	pulmonary artery pressure, pulmonal-arterieller Druck
<b>PASMC</b>	pulmonary artery smooth muscle cell
<b>P<sub>B</sub></b>	Barometerdruck
<b>PCO<sub>2</sub></b>	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
<b>PCWP</b>	Pulmonary Capillary Wedge Pressure [mmHg]
<b>P<sub>H2O</sub></b>	Wasserdampfdruck
<b>P<sub>K</sub></b>	Plasma-Kalium-Konzentration [mmol/l]
<b>P<sub>Krea</sub></b>	Plasma-Kreatinin-Konzentration
<b>pK<sub>s</sub>-Wert</b>	Dissoziationskonstante der Puffersäure

<b>P<sub>Na</sub></b>	Plasma-Natrium-Konzentration [mmol/l]
<b>PO<sub>2</sub></b>	Sauerstoffpartialdruck [mmHg]
<b>PRA</b>	Plasma-Renin-Aktivität [pg AngI ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> ]
<b>PVR</b>	pulmonary vascular resistance, pulmonal-vaskulärer Widerstand [dyn·s·cm <sup>-5</sup> ]
<b>RAAS</b>	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
<b>RIA</b>	Radioimmunoassay
<b>ROS</b>	reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffspezies
<b>RQ</b>	Respiratorischer Quotient
<b>SD</b>	Standardabweichung
<b>SEM</b>	Standardfehler
<b>SR</b>	Sarkoplasmatisches Retikulum
<b>SVR</b>	Systemic Vascular Resistance, systemisch vaskulärer Widerstand [dyn·s·cm <sup>-5</sup> ]
<b>U<sub>K</sub> <math>\dot{V}</math></b>	Kaliumexkretion [ $\mu$ l·min <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup> ]
<b>U<sub>Na</sub> <math>\dot{V}</math></b>	Natriumexkretion [ $\mu$ l·min <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup> ]
<b>U<sub>Krea</sub></b>	Urinkreatininkonzentration
<b>U <math>\dot{V}</math></b>	Urinvolumen [ $\mu$ l·min <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup> ]
<b>ZVD</b>	zentraler Venendruck [mmHg]

## 6.6 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Willehad Boemke für seine Betreuung. Dabei schätzte ich besonders, dass meine Fragen stets prompt beantwortet wurden. Ich danke für die konstruktive Kritik bei der Durchsicht und Korrektur der Manuskripte.

Herrn Dr. med. Philipp Pickerodt, Herrn Dr. med. Roland Francis und Frau Friederike Neubert danke ich für die engagierte Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und für die stete Bereitschaft meine Arbeit voranzutreiben.

Den MTAs der Arbeitsgruppe Angewandte Physiologie Frau Daniela Bayerl, Frau Birgit Brandt und Frau Sabine Molling danke ich für die moralische Unterstützung beim Training der Hunde und ihr hilfsbereites Engagement bei der Versuchsdurchführung und den zahlreichen Hormonbestimmungen (RIA, ELISA).

Herr Dipl.-Ing. Reiner Mohnhaupt unterstützte mich in Fragen der Statistik und war mir ein sachkundiger Ansprechpartner.

Mein Dank gilt ebenfalls dem Tierpflegepersonal der Tierlaboratorien des Biomedizinischen Forschungszentrums für die Pflege der Versuchshunde.

Herrn Dr. med. Martin Otto Krebs danke ich dafür, dass er mein Interesse an der Forschung geweckt und mich dieser Arbeitsgruppe vorgestellt hat.

Bei Frau Romina Poschadel bedanke ich mich für die kreative Hilfe bei der Erstellung von Graphen und Tabellen. Meinen Freunden und meiner Familie, allen voran Frau Mirjana Telalbašić, Herrn Nešad Telalbašić, Herrn Henrik Steinkraus, Frau Sabine Hilzinger und Frau Gisela Nihle danke ich für ihr großes Interesse und die Geduld, mit der sie meine Arbeit mit viel Zuspruch begleitet haben.

### **6.7 Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht

## 6.8 Publikationen

### Poster/ Abstracts

- 2009 Schwaiberger D, Telalbasic S, Papadacos PJ, Lachmann B. *Why do we need an open Lung?* The 16th international Symposium on Critical Care and Emergency Medicine 2009, Nusa Dua Bali, Indonesia
- 2010 Telalbasic S, Francis RCE, Philippi-Höhne C, Pickerodt PA, Boemke W, Swenson ER. *N-Methyl-Acetazolamide attenuates hypoxic pulmonary vasoconstriction in conscious dogs* 12. HAI 2010, Hauptstadtkongress der DGAI für Anästhesiologie und Intensivmedizin mit Pflegesymposium, Berlin, Germany, Poster Präsentation
- 2010 Pickerodt PA, Telalbasic S, Francis RCE, Philippi-Höhne C, Boemke W, Swenson ER. *N-Methylation Of Acetazolamide Mitigates Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction* 23rd ESICM Annual Congresses 2010, Barcelona, Spain, Poster presentation

### Vorträge

- 2009 Telalbasic S, Pickerodt PA, Francis RCE, Höhne C, Swenson ER, Boemke W *The Influence of N-methyl-acetazolamide on acute hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV) in conscious dogs* 20th European Students' Conference, Berlin, Germany, oral presentation

### 6.9 Erklärung an Eides Statt

„Ich, Stella Telalbašić, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Die Wirkung von N-Methyl-Acetazolamid auf pulmonale, renale und endokrine Regulationsmechanismen unter Hypoxie* selbst ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Stella Telalbašić