

# *1 EINLEITUNG*

## **1.1 Endothelin**

### **1.1.1 Aufbau, Funktion und Vorkommen**

Das Endothel bildet die anatomische Grenze zwischen dem zirkulierenden Blut und der Gefäßwand. Es ist die einschichtige, zelluläre Auskleidung aller Gefäße und serösen Höhlen unseres Körpers. Neben dieser anatomischen Barrierefunktion hat das Endothel aber auch eine Relevanz als stoffwechselaktives Organ, das durch Synthese und Degradation von vasoaktiven und kreislaufmodulierenden Substanzen aktiv an der Blutdruckregulation in den Gefäßen beteiligt ist.

Die vasorelaxierende Wirkung des Endothelins wird vor allem durch den Faktor Stickstoffmonoxid (NO), bzw. EDRF (endothelium derived relaxing factor) bewirkt. NO und EDRF werden heute als synonyme Stoffe angesehen (PALMER et al., 1987).

Neben der vasodilatatorischen Wirkung des Endothels wurden aber auch potente vasokonstriktorische Substanzen vermutet, welche vom Endothel sezerniert werden sollten. Durch Wirkung von Thrombin, Noradrenalin, Angiotensin II und physikalischen Faktoren wie Hypoxie wurde eine endothelabhängige Vasokonstriktion beobachtet (DENUCCI et al., 1988; KATUSIC et al., 1987; RUBANYI et al., 1985).

Dieser für die Vasokonstriktion verantwortliche Faktor wurde 1988 von Yanagisawa et al. aus dem Überstand von kultivierten Aortenzellen von Schweinen extrahiert. Entsprechend dem Entstehungsort gab man ihm den Namen Endothelin. Es handelte sich um ein bis dahin unbekanntes Protein aus 21 Aminosäuren und zwei intramolekularen Disulfidbrücken, welche die klassische Haarnadelform des Moleküls bedingen.

Ein Jahr später wurden zwei weitere Formen von Endothelin von Inoue et al. identifiziert. Die zuerst entdeckte Form wurde mit Endothelin-1 (ET-1) benannt, die beiden weiteren Formen mit Endothelin-2 (ET-2) und Endothelin-3 (ET-3). Die drei Unterformen unterscheiden sich in ihrer Aminosäuresequenz nur geringfügig.

Die Gene der humanen Endotheline (ET-1, ET-2, ET-3) liegen auf den Chromosomen 6,1 und 20 (ARINAMI et al., 1991). Die Gensequenz enthält fünf Exons und vier Introns. Wesentlich zur Stabilität des Gens trägt eine Region von 250 Basenpaaren am 3`Ende des Gens bei, welche die prä-mRNA des transkribierten Gens am Ende aufweist. Interessanterweise wurde von Bloch et

al. 1989 festgestellt, dass diese Region hoch konserviert ist. Ein Merkmal, das bei Genen auftritt, welche für den Organismus eine entscheidende Rolle spielen.

Man nimmt an, dass die Regulation der Biosynthese von Endothelin auf Ebene der mRNA stattfindet, vor allem, weil bisher noch keine Speichergranula für Endotheline nachgewiesen wurden (NAKAMURA et al., 1993).

Das primäre Translationsprodukt ist Präproendothelin, bestehend aus 203 Aminosäuren. Hieraus wird nach Spaltung durch eine spezifische Peptidase das aus 92 Aminosäuren bestehende Proendothelin-1. Es wird auch Big-Endothelin-1 genannt.

Dieses Proendothelin wird durch ein spezifisches Konversionsenzym (*endothelin-converting-enzyme; ECE*), proteolytisch zum biologisch aktiven ET-1 gespalten (MCMAHON et al., 1991; AHN et al., 1992).

Diese Spaltung ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt in der Endothelinsynthese.

Von dem Konversionsenzym existieren zwei verschiedene Unterformen (ECE-1; ECE-2), welche wiederum unterschiedliche Affinitäten zu den drei Isoformen des Endothelins aufweisen. Zur Konversion von Proendothelin zu ET-1 weist das Enzym die größte Affinität auf, gefolgt von ET-3 (die Aktivität bei der Umwandlung von Proendothelin zu Endothelin liegt im Verhältnis ET-1; ET-2; ET-3 etwa 4:1:2).

Die Unterformen des Konversionsenzym unterscheiden sich vor allem in ihrer Lokalisation: ECE-1 findet sich in der Plasmamembran sowie extrazellulär, ECE -2 ausschließlich intrazellulär am Golgiapparat. Desweiteren gibt es Unterschiede im Vorkommen, ECE-1 findet sich vor allem in Lunge, Pankreas, Plazenta sowie endotheliale Gewebe, ECE-2 in Gehirn, Uterus und Hoden. Außerdem unterscheiden sie sich in der Anzahl der Aminosäuren, in der Aminosäuresequenz der transmembranären Domäne und auch des pH-Optimums. Neben ECE-1 und ECE-2 wird die Existenz weiterer Subtypen angenommen. Die Sekretion von Endothelin-1, sowie auch von Big-Endothelin-1, erfolgt fast ausschließlich basolateral, nur ein sehr geringer Teil erfolgt luminal (ca 80% basolateral, 20% luminal). Es existieren eine Reihe von Faktoren, die die Freisetzung des Endothelins in vitro und in vivo regulieren:

-*Angiotensin II* (BARTON et al., 1997)

-*transforming growth factor-β* (TGF-β) (ZOJA et al., 1991)

-*Thrombin/Thromboxan A<sub>2</sub>* (ZOJA et al., 1991)

-*Gefäßwandspannung* (MILNER et al., 1990)

-*Hypoxie* (KOUREMBANAS et al., 1991)

Weitere Peptide und physiologische endogene Substanzen, die Stimulantien der Präpro-ET1-mRNA-Synthese sind:

-*Adrenalin* (YANAGISAWA et al., 1988)

-*Bradykinin* (MARSDEN et al., 1991)

-*Arginin Vasopressin* (BAKRIS et al., 1991)

-*Insulin* (BAKRIS et al., 1991)

-*Glukose* (YAMAUCHI et al., 1990)

Desweiteren führen auch Pharmaka wie das Immunsuppressivum FK 506 (Tacrolimus) zur verstärkten Endothelinsynthese (TAKEDA et al., 1999).

Der wichtigste Inhibitor der Endothelinsynthese ist NO (Stickstoffmonoxid), der physiologische Gegenspieler von Endothelin. NO wurde im Jahre 1986 von Furchgott et al. entdeckt, für diese Entdeckung wurde ihm 1998 der Nobelpreis verliehen (FURCHGOTT et al., 1986).

Die Hemmung der Inhibition erfolgt hierbei über den zweiten Botenstoff des NO, das cGMP. Andere Mediatoren, die cGMP erhöhen, hemmen folglich ebenfalls die Endothelinsynthese. Dazu zählen zum Beispiel Prostaglandin 2, Prostacyclin, Endothelin-3, atriales natriuretisches Hormon (ANF), Heparin und cAMP.

### 1.1.2 Endothelinrezeptoren

Die Wirkung des Endothelins weist vor allem zwei wesentliche Eigenschaften auf: zum einen die Vasokonstriktion der glatten Muskulatur, für welche ET-1 und ET-2 die stärkeren Agonisten sind, und zum anderen die endothelinabhängige Vasodilatation, für welche die drei Endothelinunterformen nahezu äquipotent sind. Daraus kann man schließen, dass es mindestens zwei unterschiedliche Endothelinrezeptorsubtypen geben muß.

Bisher sind im Wesentlichen drei Rezeptorsubtypen bekannt, über welche Endothelin seine physiologische Wirkung entfaltet. Man teilt die Rezeptorgruppen primär nach ihrer Affinität zu den einzelnen Isoformen des Endothelins ein, benannt sind sie mit *ETA*-, *ETb*- und *ETc*-Rezeptor. Allerdings muß erwähnt werden, dass der *ETc*-Rezeptor höchstwahrscheinlich eine Unterform des *ETA*- oder *ETb*-Rezeptor ist und seine Existenz in Säugetieren konnte bisher nicht sicher belegt werden (BAX et al., 1994).

Die wesentlichen Unterschiede zwischen *ETA*- und *ETb*-Rezeptor sind, neben der Affinität zu den *ET*-Isoformen, ihre unterschiedliche Expression sowie ihre second-messenger-Kaskaden, welche auch für die antagonistische Wirkung zuständig sind:

#### *I. Unterschiede der Rezeptoren in der Affinität zu den Endothelin-Isoformen:*

*ETA*: ET-1 > ET-2 >> ET-3

*ETb*: ET-1 = ET-2 = ET-3

*ETc*: ET-3 >> ET-2 > ET-1

#### *II. Unterschiede in der Expression in verschiedenen Zelltypen:*

Der *ETA* - Subtyp ist verantwortlich für die endothelininduzierte Vasokonstriktion auf allen glatten Gefäßmuskelzellen (BAX et al., 1994). Ebenso ist er in Myozyten des linken Ventrikels und in glomerulären Mesangiumzellen nachweisbar.

Der *ETb*-Rezeptor findet sich hauptsächlich an Endothelzellen der Gefäße, man hat ihn aber auch in Tubuluszellen und Glomerula der Niere gefunden. Er ist im Gegensatz zum *ETA*-Rezeptor für die vasodilatative Wirkung zuständig (TSUKARHARA et al., 1994). Den *ETc*-Rezeptor fand man bislang nur an Membranen der Xenopusleber (KUMAR et al., 1994).

### *III. Unterschied der Rezeptortypen in den Second-Messenger-Kaskaden:*

Beide Rezeptoren, ETa und ETb-Rezeptor, gehören zur Gruppe der rhodopsinähnlichen, G-proteingekoppelten Rezeptoren mit sieben transmembranären Regionen (LIN et al., 1991). Dabei aktiviert der ETa-Subtyp hauptsächlich die Phospholipase C über spezifische G-Proteine. Es entstehen konsekutiv 1,2-Diacylglycerol (DAG) und Inositol-Phosphate, vor allem 1,4,5-Inositol-Triphosphat (IP<sub>3</sub>). IP<sub>3</sub> fungiert als sekundärer Botenstoff und diffundiert über das Cytosol zum endoplasmatischen Retikulum, DAG hingegen stimuliert die Proteinkinase C. IP<sub>3</sub> bewirkt im endoplasmatischen Retikulum die Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung aus intrazellulären Speichern und führt so zu einem schnellen, transienten Anstieg der cytoplasmatischen Konzentration an Calciumionen, welche unabhängig ist von der extrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Konzentration. Dieser Calciumanstieg bewirkt unmittelbar die durch ET-1 über den ETa-Rezeptor vermittelte Muskelkontraktion.

Bei Bindung von ET-1 am ETb-Rezeptor kommt es zunächst zu einer Aktivierung der kalziumsensitiven, konstitutiven NO-Synthase (TSUKARHARA et al., 1994). Diese initiale Produktion von NO erklärt zum einen die primäre vasodilatative Wirkung des Endothelins, zum anderen die ausschließlich vasodilatative Wirkung bei ET-1-Bindung an den ETb-Rezeptor.

Der aktivierte ETb-Rezeptor stimuliert die Phospholipase A<sub>2</sub> (RESINK et al., 1989), was über die Aktivierung der Cyclooxygenase-1 zu einer Freisetzung von Arachidonsäurederivaten (besonders Prostacyclin) führt. Auf glatten Gefäßmuskelzellen wird fast ausschließlich der Eta-Rezeptor exprimiert, in einigen Regionen findet man jedoch auch den Etb-Rezeptor. In diesem Fall wirkt er aber auch vasokonstriktorisch.

In weiterführenden Versuchen konnte für den ETb-Rezeptor außerdem eine Stimulation der Apoptose von humanen Melanomzellen und in Kombination mit Dehnungsreizen eine Stimulation der Apoptose von glatten Gefäßmuskelzellen nachgewiesen werden (OKAZAWA et al., 1998; CATTARUZZA et al., 2000).

### 1.1.3. Endothelin und Lunge

#### Lungenentwicklung:

Während der embryonalen Lungenentwicklung wurde von MacCumber et al. 1989 eine hohe Expression von ET-1- und ET-3- mRNA gefunden. In-situ Hybridisations-Studien über Endothelin-mRNA beim Fetus der Ratte am 19. Schwangerschaftstag zeigten, daß die stärkste Expression im Epithel der Bronchen lokalisiert war, und zwar mit niedrigerem Anteil in den kleineren Gefäßen.

In der menschlichen fetalen Lunge fand man Hinweise auf Endothelin-mRNA-Expression schon in der 12. Schwangerschaftswoche (GIAID et al., 1991). In zwei Studien von Kurihara et al. wird anhand von Mäusen, welche mit einem genetisch angelegten Defizit für Endothelin-1 gezüchtet wurden, gezeigt, daß Endothelin-1 essentiell ist für die normale Entwicklung des Herzens, der großen Gefäße und der kraniofazialen Organe und Gewebe ( KURIHARA et al., 1995; KURIHARA et al., 1994).

#### Atemwege:

In den Atemwegen des Menschen wurden bisher Endothelin-synthetisierende Zellen bei den Epithelzellen der Bronchen gefunden (VITTORI et al., 1992; SHOKEIR et al., 1994), den Endothelzellen der Bronchen (VISNER et al., 1994), den Makrophagen (EHRENREICH et al., 1990) und den pulmonalen endokrinen Zellen (GIAID et al., 1991). Bei der Kultivierung von glatten Muskelzellen vom Trachealtrakt des Rindes konnte man feststellen, dass diese auch Präproendothelin-1-mRNA synthetisierten (ERGUL et al., 1995). Man kann von weiteren, bisher unentdeckten Quellen der Endothelinproduktion im Bronchial- und Trachealsystem ausgehen.

Die in der Lunge am häufigsten vorkommende Isoform des Endothelins scheint das Endothelin-1 zu sein (HEMSEN et al., 1990; MARCINIAK et al., 1992).

Bei Patienten mit symptomatischem Asthma wurden erhöhte Werte von Endothelin-1 im Sekret einer bronchoalveolären Lavage gemessen (MATTOLI et al., 1991).

Desweiteren wurden bei Lungenbiopsien von Patienten mit Asthma in 65% der bronchialen Epithelzellen ET-1 gefunden, während bei Probanden ohne Asthma nur 8% der Zellen ET-1 aufwiesen (CARPI et al., 1993).

### Endothelinrezeptoren in der Lunge:

Man findet in der Lunge vor allem ET<sub>A</sub>-Rezeptoren, diese sind meist lokalisiert in den Atemwegen und an den glatten Muskeln der Gefäße. Ihre Stimulation bewirkt eine Vasokonstriktion, eine Ausschüttung von Mediatoren (*Leukotriene, plättchen-aktivierender Faktor, Zytokine*) und sie erzeugt ein Ödem, außerdem erhöht sie die neuronal induzierte Atemwegskonstriktion. Die Stimulation der ET<sub>B</sub>-Rezeptoren verursacht initial eine Vasodilatation über Ausschüttung von NO und Prostazyklin, in einigen Bereichen - vor allem bei Lokalisation an den glatten Muskelzellen - kann gleichzeitig eine Bronchiokonstriktion unterstützt werden (BARANIUK et al., 1998; GOLDIE et al., 1998). Darüber hinaus hat der ET<sub>B</sub>-Rezeptor in den Endothelzellen der Lunge die wichtige Funktion der Entfernung und des Abbaus (Clearance) von Endothelin und ist somit ein wichtiger Regulationsmechanismus in der neurohumoralen vasokonstriktorischen Achse (DUPUIS et al., 1996; WAGNER et al., 1992). Bei einer einzelnen pulmonalen Transitzeit werden etwa 50% des zirkulierenden ET durch den ET<sub>B</sub>-Rezeptor in der pulmonalen Zirkulation entfernt (WAGNER et al., 1992), wobei die Lunge aber auch einen wesentlichen Bildungsort von Endothelin darstellt (DUPUIS et al., 1996). Außer in den größeren Atemwegen findet man beim Menschen auch Bindungsrezeptoren für ET-1 und ET-2 in den alveolären Septen, den parasymphathischen Nerven und Ganglien des Atemtraktes (POWER et al., 1989; MCKAY et al., 1991) und in der nasalen Schleimhaut (WU et al., 1992).

#### 1.1.4 Endothelinrezeptorantagonisten

Einen wesentlichen Fortschritt in der Charakterisierung der Endothelinrezeptor-Subtypen bewirkte die Entdeckung von spezifischen Rezeptorantagonisten. Der erste identifizierte ETA-Antagonist war das Peptid *BQ-123*, welches auch am besten charakterisiert ist (BAX et al., 1994). Es ist ein Derivat des aus *Streptomyces misakiensis* isoliertem ETA-Rezeptorantagonisten *BE18257B* (IHARA et al., 1992). Meistens werden die Rezeptorblocker intravenös oder oral verabreicht, bisher wurde ihre Effektivität in Tierexperimenten bei Atemwegsentzündungen (FIJITANI et al., 1997; FINSNES et al., 1997) und bei akutem Lungenhochdruck (CHEN et al., 1997; UNDERWOOD et al., 1998; RUBIN et al., 2002) belegt. Ein weiterer früh entdeckter oraler Endothelinantagonist war *Bosentan*, ein nicht-selektiver ETA - wie ETb - Rezeptor-Antagonist (CLOZEL et al., 1993). Inwiefern die Rezeptorselektivität der Antagonisten bei ihrem Einsatz in verschiedenen menschlichen Organsystemen eine Rolle bei ihrer physiologischen Wirkung spielt, bleibt noch genau zu klären (BERGLER-KLEIN et al., 2002). Theoretisch könnte die Blockade der ETb-Rezeptoren einen Nachteil für die Lunge darstellen, da hierdurch die endothelabhängige Vasodilatation durch NO und Prostazyklin via endothelialer ETb-Rezeptoren eventuell vermindert wird und andererseits der Abbau und die Clearance von Endothelin in der Lunge via ETb-Rezeptoren verhindert würde (DUPUIS et al., 1996; SPIEKER et al., 2001). Auch aus diesem Grunde scheint der im Experiment der hier vorliegenden Arbeit benutzte ETA-Rezeptor-spezifische Antagonist *Darusentan* (*LU-135252*) in der Behandlung von Erkrankungen wie ARDS/ALI als sinnvoll, da er ausschließlich die ETA-Rezeptoren blockiert. Bei Experimenten, in welchen ein ETA-Blocker intrapulmonal zugeführt wurde, konnte gezeigt werden, daß eine signifikante Verminderung der antigen-induzierten Entzündungsreaktion bei Mäusen stattfand (FUJITANI et al., 1997), außerdem zeigten sich verschiedene Auswirkungen auf die Bronchiokonstriktion bei verschiedenen Spezies (NOGUCHI et al., 1995); POLAKOWSKI et al., 1996).

## 1.2 ALI (ARDS)

### Definition:

Im Jahr 1967 beschrieben Ashbaugh et al. in ihrem Artikel „Acute respiratory distress in adults“ 12 Patienten mit vorheriger Lungenverletzung, die sich durch ihre uniformen klinischen, physiologischen, röntgenologischen und pathologischen Befunde von insgesamt 272 anderen Patienten mit vorausgegangener Lungenverletzung unterschieden. Die genannten 12 Patienten zeigten eine schwere, akut einsetzende Dyspnoe/Tachypnoe sowie eine Zyanose, die unter Sauerstofftherapie refraktär war, eine verminderte respiratorische Compliance und diffuse alveoläre Infiltrationen in den Röntgenthoraxaufnahmen. Die Autopsien von 7 verstorbenen Patienten zeigten pulmonale Atelektasen, Gefäßzunahme und Hämorrhagie, schweres Lungenödem und hyaline Membranen. Später nannten Petty et al. das Zusammentreffen dieser Symptome in Unterscheidung zum Atemversagen des Neugeborenen *Adult Respiratory Distress Syndrome* (ARDS).

1971 publizierte die Arbeitsgruppe um Ashbaugh und Petty ihre exakten Kriterien zur Diagnosestellung des ARDS. Mit geringfügigen Änderungen war diese Definition bis 1988 weit verbreitet. Im Jahre 1988 veröffentlichten Murray et al. ihre erweiterte Definition des ARDS, die im Wesentlichen aus einer Schweregradeinteilung verschiedener Formen der akuten Lungenschädigung bestand. Sie definierte den Begriff des *acute lung injury* (ALI), woraus sich der so genannte „lung injury score“ herleitete. Diese erweiterte ARDS/ALI-Definition erlaubte es, anhand von standardisierten Kriterien zur Diagnose des ARDS/ALI einheitliche Studienpopulationen für randomisierte kontrollierte Studien zu rekrutieren. Seit 1994 werden jedoch die exakteren Definitionen der Amerikanisch-Europäischen ARDS Consensus Conference genutzt, die streng zwischen ALI und ARDS differenzieren (BERNARD et al., 1994). Pathogenetisch gibt es jedoch prinzipiell keinen Unterschied zwischen ALI und ARDS, beides sind Permeabilitätsödeme. Man unterscheidet sie allein an der unterschiedlichen Werten der PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>-Ratio, welche für ALI <300 und für ARDS <200 sein soll. Wir haben in unserem Versuch allerdings Tiere im Zustand des akuten Lungenversagens untersucht, weshalb ich im Weiteren ausschließlich von dieser Erkrankung (ALI) sprechen werde.

## Ätiologie:

Das ALI tritt auf bei vorher lungengesunden Patienten, wobei es nur durch eine vorherige Lungenschädigung unterschiedlicher Genese entstehen kann. Die vorausgehende direkte pulmonale Schädigung kann zum Beispiel entstehen durch:

- *Aspiration von Mageninhalt / Süß- oder Salzwasser*
- *Inhalation toxischer Gase / hyperbarem Sauerstoff*
- *Intoxikation mit Paraquat*
- *parapneumonisches Entstehen im Gefolge von beatmungspflichtigen Pneumonien*
- *Sepsis*
- *Polytrauma*
- *Schock, Massentransfusion (HEROLD; 2004)*

Die Lungenverletzungen führen entweder zu einem direkten (intraalveolären) oder zu einem indirekten (intravaskulären) Schaden des Lungengewebes. Einige Studien zeigen einen Unterschied in den Folgekrankheiten zwischen der indirekten und der direkten Form des Gewebeschadens. ( HUDSON et al., 1995; SUNTHARALINGAM et al., 2001; TASAKA et al., 2002). Die Sterblichkeit des ALI liegt nach zwei Studien aus den USA und aus England bei ca. 35% (MILBERG et al., 1995; ABEL et al., 1998), ist aber abhängig von der vorausgegangenen Lungenschädigung (bei vorheriger Sepsis Letalität ca. 80 %, bei posttraumatischem ALI ohne Thoraxtrauma nur ca. 10 %).

## Pathogenese:

Das ALI ist eine akute Funktionsstörung der Gasaustauschstrecke der Lunge auf dem Weg zwischen Kapillare - Interstitium - Alveole. Diese Funktionsstörung ist unabhängig vom zentralen Atemantrieb, dem Gasfluß innerhalb der Luftwege der Lunge, des Blutflusses in den großen pulmonalen Blutgefäßen und der linksventrikulären Funktion.

In der gesunden Lunge findet man drei eigenständige Barrieren, welche die Schranke zwischen der Luft und dem Blutgefäßsystem bilden: das alveoläre Epithel, bestehend aus Alveolar-epithelzellen vom Typ I und Typ II, gefolgt von der Basalmembran und dem pulmonalen Kapillarendothel (SHIMABUKURO et al., 2003). Die das ALI auslösenden Ereignisse können primär über den Intravasalraum oder über den Alveolarraum Zugang zum Lungenparenchym erhalten. Bei einer systemischen Auslösung wird die pulmonalvaskuläre Einschwemmung von Produkten aktivierter Kaskadensysteme, aktivierter inflammatorisch kompetenter Zellen oder auch bakterieller Toxine als wesentlich angesehen. Diese Effektoren lösen eine pathogenetische Reaktion im Lungenparenchym aus: durch Zerstörung des Kapillarendothels kommt es zum Übertritt proteinreicher Flüssigkeit in das Interstitium und von dort in die Alveolen, wo es die Pneumozyten Typ I wie Typ II zerstört und so zu einer lokalen Gewebehypoxie wie zu einem verschlechterten Gasaustausch kommt. Durch die Zerstörung der Pneumozyten verringert sich der Surfactant, was sich wiederum schlecht auf die Gasaustauschsituation der Alveolen auswirkt. Durch die offene Verbindung zwischen Blut und Luft durch die Zerstörung der Barriere wird die Einschwemmung von Mikroorganismen in den systemischen Kreislauf erleichtert, somit steigt das Risiko für die Entwicklung einer Bakteriämie und eines septischen Schocks.

Nach etwa fünf Tagen führt diese Reaktion dann zum Entstehen einer fibrosierenden Alveolitis, ausgelöst durch die ungeordnete Neubildung und Reorganisation des Lungengewebes, die Ausbildung hyaliner Membranen und die fibroblastische Proliferation. Falls diese Phase überlebt wird, entstehen als Folgekrankheiten häufig pulmonaler Hochdruck, verringerte Lungenleistung und erhöhte Anfälligkeit für Pneumonien und wiederholtes akutes Lungenversagen.

## Klinik:

Die klinischen Beweise für ALI sind erbracht, wenn - nach vorher aufgetretener Lungenschädigung - folgendes zusammenkommt:

- *akute, bilaterale Infiltrate im Röntgenbild*
  - *therapierefraktäre Hypoxämie / Zyanose infolge intrapulmonaler Rechts-Links-Shunts*
  - *„Wedge“-Druck zum Zeitpunkt der ALI-Entwicklung < 18mmHg oder keine klinischen Anzeichen einer Links-Herz-Hypertonie (Ausschluß eines Lungenödems durch LH-insuffizienz)*
  - *PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> – Ratio (benötigte Sauerstoffgabe im Verhältnis zum erreichten arter. O<sub>2</sub> -Gehalt)*
    - < 300mmHg für ALI und*
    - < 200 mmHg für ARDS*
  - *reduzierte Compliance, verminderte Diffusionskapazität; akute Atemnot*
- (SHIMABUKURO et al., 2003).

### **Abb.1.1 Liegethoraces eines ALI-Patienten**



Abb. 1.1: Liegethoraces, Verlauf. Zustand nach Unterlappenresektion. Wenige Tage postoperativ entwickeln sich Infiltrate mit respiratorischer Insuffizienz. Nach Abklingen der Infiltrate verbleibt ein retikuläres Verdichtungsmuster als Hinweis auf die resultierende Fibrose. ([www.jend.de/lunge/SammlFib.html](http://www.jend.de/lunge/SammlFib.html); 2005)

**Tab. 1.1: vier Phasen des akuten Lungenversagens**

| Phase | klinische Symptome  | Thorax-Röntgen-Bild  | physiologische Veränderungen   | morphologische Veränderungen  |
|-------|---|--|--|---|
| I     | Dyspnoe,<br>Tachypnoe   | Normalbefund   | milde pulmonale Hypertonie,<br>Normoxämie oder milde<br>Hypoxämie, □Hypokapnie   | Neutrophilen-Sequestrierung,<br>□kein eindeutiger Gewebsschaden   |
| II    | Dyspnoe,<br>Tachypnoe,<br>Zyanose,<br>Tachykardie,<br>Desorientierung   | fleckförmige,<br>alveoläre<br>Infiltrate, □beginnend<br>in abhängigen<br>Lungenarealen   | pulmonale Hypertension,<br>normaler PCWP, □erhöhte<br>Lungenpermeabilität, □vermehrtes<br>Lungenwasser, □erhöhter Rechts-<br>Links-Shunt, progressiver<br>Compliance-Verlust, □moderate<br>bis schwere Hypoxämie | Neutrophilen-Infiltration,<br>vermehrte Vaskulisierung,<br>Fibrinansammlungen,<br>Thrombozyten- und<br>Neutrophilien-Aggregate, alveolo-<br>septales Ödem, □Typ-I-<br>Epithelzellschaden  |
| III   | Tachypnoe,<br>Tachykardie,<br>hyperdynamie<br>Sepsis, □ggf.<br>Konsolidierung   | diffuse alveoläre<br>Infiltrate,<br>Luftbronchogramm   | Progression der Veränderungen in<br>Phase II, □erhöhtes Ventilations-<br>Minuten-Volumen, □gestörte O <sub>2</sub> -<br>Extraktion, Lactatacidose  | Vermehrung des interstitiellen und<br>alveolären inflammatorischen<br>Exsudats, □Typ-II-<br>Zellproliferation, □beginnende<br>Fibroblasten-<br>proliferation, □thromboembolische<br>Okklusionen   |
| IV    | Tachypnoe,<br>Tachykardie,<br>hyperdynamie<br>Sepsis, □ggf.<br>Konsolidierung,<br>unkontrollierte<br>Sepsis,<br>Bronchopneumonie,<br>Multiorganversagen | persistierende diffuse<br>Infiltrate,<br>□Überlagerung<br>pneumonischer<br>Infiltrate,<br>Pneumothorax,<br>□evtl. vergrößerter<br>Herzschatten □(Cor<br>pulmonale) | Progression der Veränderungen in<br>Phase III, Pneumonie,<br>Pneumothorax, progressive<br>Lungenrestriktionsstörung,<br>gestörte Gewebsoxygenierung,<br>Multiorganversagen                                       | Typ-II-<br>Zellhyperplasie, □interstitielle<br>Verdickungen, □Infiltration aus<br>Lymphozyten, Makrophagen,<br>Fibroblasten, □Pneumonie<br>und/oder □interstitielle<br>Fibrose, □Mediaverdickung und<br>Arterioenumbau, □hyaline<br>Membranen |

Tab 1.1: die vier Krankheitsphasen des akuten Lungenversagens mit klinischen Symptomen, Auffälligkeiten im Röntgenbild, physiologischen und morphologischen Veränderungen ([www.talessin.de/scripte/medizin/ards1.html](http://www.talessin.de/scripte/medizin/ards1.html) ; 2005)

## Histologie:

Histologisch charakterisiert das ALI ein Vorliegen von diffusem alveolärem Schaden mit interstitieller und alveolärer Infiltration von Neutrophilen und Makrophagen. Auf der entblößten Basalmembran formieren sich hyaline Membranen, hervorgehend aus der Zerstörung des alveolären Epithels und Untergang von Pneumozyten Typ II (ANDERSEN et al., 1992; BACHOFEN et al., 1982; GATTINONI et al., 1994). Die Zerstörung der Pneumozytenbarriere hat eine Reihe komplikationsreicher Nebenwirkungen zur Folge wie zum Beispiel Einschwemmung von Bakterien, deren Ausbreitung und somit das Entstehen einer Sepsis. Desweiteren bewirkt die Zerstörung der Blut-Luft-Schranke einen anormalen Ionentransport am Epithel, welcher zusammen mit der Abnahme der Surfactantkonzentration und dem Offenliegen der Basalmembran in der Summe zu einer weiteren Rekrutierung von Neutrophilen und Makrophagen führt, was wiederum eine erhöhte Zytokinbildung zur Folge hat (LEWIS et al., 1993; SZNAJDER et al., 1999).

### 1.2.2 Rolle des Endothelins beim ALI

Wie im vorherigen Kapitel erläutert, so ist der entstehende Endothelschaden beim akuten Lungenversagen eines der Hauptmerkmale des Krankheitsgeschehens.

In diesem Zusammenhang gibt es viele Studien, welche den endothelialen Vasokonstriktor Endothelin-1 und seine Funktion bei der Pathophysiologie des ALI und der Sepsis untersuchen (SANAI et al., 1996; MITAKA et al., 1993; SIMMET et al., 1992). Die Arbeitsgruppe um Sanai et al. bestimmte in ihrer Untersuchung von 1996 die Endothelinwerte im Plasma von an Sepsis erkrankten Patienten, wobei sie feststellten, dass die Plasma-Endothelinwerte signifikant erhöht waren bei Patienten mit alleiniger Sepsis und mit Sepsis und ALI. In weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß das Plasmaendothelin positiv korrelierte mit der Schwere des folgenden Organversagens und mit der Verschlechterung des Sauerstoffverbrauchs, aber negativ korrelierte mit der  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Ratio. Außerdem waren die Endothelinwerte von nichtüberlebenden Patienten höher als die der überlebenden Patienten (SANAI et al., 1996).

Diese Erkenntnisse legten die Vermutung nahe, dass die erhöhte Endothelinproduktion bei der Sepsis die Entstehung von erhöhtem vaskulärem Widerstand und Hypoperfusion begünstigt und dadurch einen Beitrag zur Verschlechterung der Situation beim akuten Lungenversagen leistet (SANAI et al., 1996). Zusammenfassend kann man also festhalten, das Endothelin in der Pathogenese des akuten Lungenversagens - ebenso wie bei pulmonalen Hochdruckerkrankungen - eine bedeutende Rolle spielt. Die gemessenen Endothelinwerte bei Patienten, die an ALI erkrankt waren, zeigten sich in mehreren Studien signifikant erhöht, wobei speziell die Endothelin – 1 – Werte erhöht waren (DRUML et al., 1993).

### 1.2.2 ALI im Tiermodell

Die Induktion des akuten Lungenversagens erfolgte in unserem Versuch wie bei Lachmann et al. beschrieben, nämlich durch eine bilaterale Lungenlavage bei den Tieren, durch welche sich in vivo ein Surfactant-Defizit herstellen läßt.

Diese Technik simuliert sehr gut den Zustand des akuten Lungenversagens und sie läßt sich gut einsetzen bei der Evaluation von Pharmaka und verschiedenen Arten von künstlicher Beatmung, welche auf ihre Effektivität bei der Behandlung des ALI geprüft werden sollen (LACHMANN et al., 1980). Dieses Verfahren von Lachmann et al. gilt als das etablierteste, um die Situation eines ALI zu simulieren, da es pathophysiologisch dem humanen Krankheitsbild am ähnlichsten ist.

Es wurden bei Lachmann et al. sechs der Testtiere fünf Minuten nach der zehnten Lavage getötet, um ihnen Lungengewebeproben zur Untersuchung entnehmen zu können.

In diesen entnommenen Proben beschreiben Lachmann et al. Atelektaseherde, welche zwischen rein fokalen Herden und stark ausgeweiteten Herdgebieten variieren. Ebenso fand man eine bei den verschiedenen Tieren mehr oder weniger stark ausgeprägte Desquamation des Bronchialepithels.

Bei allen Tieren konnte man ein frisches peribronchiales Entzündungsgeschehen beobachten, charakterisiert durch Ödem und Infiltration des Gewebes durch polymorphkernige Leukozyten und Eosinophile, Makrophagen und Neutrophile (LACHMANN et al., 1980).

Im Elektronenmikroskop fand man bei allen Tieren Läsionen des alveolären Epithels.

Diese Läsionen waren zumeist durch Nekroseherde und Desquamation der Alveolarepithelmembranen charakterisiert.

Die offen liegenden Basalmembranen des alveolären Epithels waren zum Teil mit Zelltrümmern bedeckt, zum Teil hefteten sich Makrophagen an ihr fest.

Einige der Pneumozyten waren ebenfalls nekrotisch, doch die Mehrzahl dieser Zellen schien intakt zu sein. In einigen Arealen war ein interstitielles Ödem zu finden.

Der histologische Zustand dieser Lungen ist dem Zustand einer menschlichen Lunge bei einem akuten Lungenversagen nahezu identisch.