

## *5 DISKUSSION*

In der durchgeführten Studie wurde deutlich gemacht, dass die Inhalation des Endothelinrezeptorantagonisten LU-135252 im experimentellen akuten Lungenversagen positiven Einfluß hatte auf die Mortalität, die Hämodynamik sowie auf den Gasaustausch der Lungen.

Ebenso fanden wir eine verbesserte entzündliche Situation des Lungengewebes bei den behandelten Tieren vor.

Die Werte des Sauerstoffpartialdruckes, des intrapulmonalen Shunts und des mittleren pulmonalarteriellen Druckes waren signifikant besser bei den mit LU-1235252 behandelten Tieren als bei der unbehandelten Tiergruppe. Dies lässt auf eine positivere pathophysiologische Verfassung der Lungen der behandelten Tiere schließen durch den ETA-Antagonismus des LU-135252. Die ausgelöste Anhebung der Sauerstoffversorgung erklärt primär auch die erhöhte Lebenserwartung der behandelten Versuchstiere, da scheinbar über längere Zeit ein besserer Gasaustausch in der Lunge möglich war als bei den unbehandelten Tieren.

Die anderen Werte der hämodynamischen Messungen zeigten keine signifikanten Unterschiede bei den beiden Versuchsgruppen, wobei man aber sagen muß, dass die Werte des intrapulmonalen Shuntes und die des Sauerstoffpartialdruckes sehr wesentliche Werte bei der Beurteilung der Lungenfunktion sind. Die Tatsache, daß es zu keinen extremen Blutdruckschwankungen unter der Medikamentengabe gekommen ist, kann ebenfalls als positives Ergebnis auf die systemische Situation der Tiere interpretiert werden, worauf später noch eingegangen wird.

Bei den Werten der histologischen und biochemischen Untersuchung fanden wir erniedrigte Werte von Interleukin-6 und der Makrophagenzahl, was auf eine verbesserte entzündliche Situation des Lungengewebes der behandelten Tiere schließen läßt. Die Werte von Endothelin, von TNF $\alpha$ , Interleukin-1 und CD3-Zellen waren hingegen nicht statistisch signifikant erniedrigt bei den mit LU-135252 behandelten Tieren.

Bei der Frage nach der Entstehung dieser verbesserten kann man sicher die Behauptung gelten lassen, daß die markant verbesserte hämodynamische Situation mit einer um vieles besseren Sauerstoffversorgung auch zu einer geringeren Ausprägung der entzündlichen Situation der Lungen führen muss. Allerdings ging es in unserer Studie darum zu belegen, daß auch die Präsenz von ETA als solches eine Entzündungsreaktion in der Lunge fördert, welche dann folglich durch ETA-Antagonisten wie LU-135252 beeinflusst werden kann.

Über die Wirkung des ET-Systems auf hämodynamische und inflammatorische Prozesse in der Lunge (vor allem in Bezug auf das ALI) gibt es erst einige wenige Studien. Diese zeigen jedoch, das ET-1 als ein potentes inflammatorisches Zytokin anzusehen ist:

von B. Hoher et al. konnte im Jahr 2000 gezeigt werden, das es bei ET-1-transgenen Mäusen zu einem Einwandern von Entzündungszellen in die Lungen gekommen ist. Es war die erste Studie, die zeigen konnte, daß ein aktiviertes pulmonales ET-System, ohne zusätzliche Wirkung anderer Stimuli, eine Infiltration von mononukleären Zellen in erster Linie um mittelgroße pulmonale Arterien bewirken konnte - also eine entzündliche Reaktion hervorrief.

Zusätzlich wurde in dieser Studie der Beweis dafür erbracht, daß die alleinige Aktivierung des ET-1-Systems in der Lunge das progressive Fortschreiten einer Lungenfibrose bewirkt, mit vorausgegangenem pulmonalentzündlichem Geschehen (HOCHER et al., 2000).

In genaueren Analysen der eingewanderten Entzündungszellen im Rahmen dieser Studie (durch immunhistochemischen Nachweis von Neutrophilen, Makrophagen, CD-4, CD-8 und CD-19 positive Zellen) wurde festgestellt, das speziell die Zahl der CD4 - Zellen stark anstieg bei 3 und 12 Monate alten ET-1 transgenen Mäusen.

Die genauen molekularen Mechanismen, die zu dieser Ansammlung der CD-4 Zellen um die Blutgefäße führen, sind bisher noch relativ unklar.

Die Studie von Hoher et al. brachte also die Annahme in die Diskussion, das ET-1 eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung inflammatorischer pulmonaler Erkrankungen spielt, und somit folglich auch beim Entstehen einer progressiven Lungenfibrose mitwirkt.

In einer weiteren Studie von Filep et al., 1995, wurde bewiesen, das ET-1 ein proinflammatorischer Mediator ist und die pulmonalentzündliche Abwehrreaktion in der Lunge von Guineaschweinen fördert durch Einwandern von neutrophilen und eosinophilen Entzündungszellen. Durch Blockade der ETA- und ETb-Rezeptoren (Bosentan) wurde der proinflammatorische Effekt von ET-1 unterdrückt (FILEP et al., 1995).

Somit stieg das Interesse an der genauen Erforschung dieser Einflüsse und der differenzierteren Betrachtung der Unterschiede zwischen ETA-und ETb-Rezeptoren.

Verma et al. untersuchten in ihrer Arbeit im Jahre 2002 ebenfalls die Wirkung von Bosentan auf die Immunantwort von Gefäßen. Sie stimulierten die Endothelzellen einer gezüchteten Vena saphena mit humanem rekombinantem C-reaktiven Protein (CRP). Dabei konnten Sie zeigen, das eine unmerklich steigende Sekretion von Endothelin-1 stattfand, ebenfalls von IL-6 und eine erhöhte Expression des Gefäßzellen anheftenden Moleküls *VCAM-1* (VERMA et al., 2000).

Die Studie vermutete einen wichtigen Zusammenhang zwischen ET-1, IL-6 und CRP, sie stellte somit einen weiteren Ansatz zur Untersuchung des ET-Systems im Rahmen entzündlicher Prozesse dar.

Weiterhin wurde von Achmad et al. gezeigt, daß ET-1 dosisabhängig chemotaktische Eigenschaften gegenüber menschlichen Monozyten hat (ACHMAD et al., 1992). Es wurde außerdem gezeigt, daß ET-1 ein potenter Stimulus für die Expression inflammatorischer Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL8 und Granulocyte-Macrophage-Colony Factor der Monozyten ist (CUNNINGHAM et al., 1997).

Somit stieg das Interesse an der genauen Erforschung des differenzierten Einflusses von ETA- und ETB-Rezeptoren auf das pulmonale Entzündungsgeschehen.

Die vorliegende Arbeit ist der erste Versuch, die Auswirkungen eines ET-Antagonisten auf die entzündliche Situation der Lunge beim ALI zu untersuchen.

Der protektive Effekt des ETA-Antagonisten, welcher sich hier zeigte, reduziert die akute Gewebeverletzung der Lungen, welche ja wiederum ein früher Schritt bei der Entwicklung einer Lungenfibrose ist. Somit könnten damit auch die Chancen auf weniger Spätfolgen eines ALI erhöht werden und die Anzahl der progredienten Verläufe könnte verringert werden.

Wir schlußfolgern also aus unseren Ergebnissen, daß der Einsatz von ETA-Antagonisten beim ALI zwei positive Effekte hat:

1. die verbesserte Oxygenierung der Lungen und die verbesserte hämodynamische Situation,
2. die verbesserte Immunsituation der Lungen, was auch einem progredienten Gewebeschaden und einem fibrotischen Geschehen vorbeugt.

Das der zweite Punkt einen spezifischen Effekt der ETA-Blockade darstellt und nicht ausschließlich als Folge der verbesserten pulmonalen Hämodynamik und des Gasaustausches interpretiert werden kann wird von einigen anderen Studien untermauert, welche positive Effekte von ETA-Antagonisten bei verschiedenen Modellen eines entzündlichen Geschehens in der Lunge feststellen konnten:

Fujitani et al. zeigten positive Effekte eines ETA - Antagonisten und auch eines dualen Rezeptorblockers auf Neutrophilen - und Eosinophileninfiltration bei antigeninduzierter Lungenentzündung. Die selektive ETB-Blockade zeigte hingegen keine positiven Effekte auf die Granulozyteninfiltration oder Zytokinsekretion (FUJITANI et al., 1997).

Ähnliche Ergebnisse wurden bei einer Studie von Battistini et al. erzielt, welche die Entzündungszellakkumulation bei immunkomplexinduziertem Lungenversagen durch ETA-Antagonistengabe verhindern bzw. einschränken konnten (BATTISTINI et al., 1998).

Eine weitere Studie von Sampaio et al. erzielte bei einem LPS-induzierten Lungenversagen einen Rückgang der Neutrophilen - und Eosinophilenakkumulation durch den Einsatz eines ETA-Antagonisten (SAMPAIO et al., 2004). Interessanterweise stellte die Arbeitsgruppe ebenfalls einen Rückgang von Interleukin-6 bei den behandelten Tieren fest - ebenso wie es in unserer Studie auch der Fall war.

Nach Diskussion der Ergebnisse ist es nun noch wichtig darauf hinzuweisen, daß die Applikation des ETA-Antagonisten LU-135252 in unserem Falle topisch geschah, also per inhalationem direkt in das Lungengewebe eingebracht wurde.

Pilotstudien zeigten, daß eine systemische i.v. Gabe des ETA- Rezeptorantagonisten die Sterblichkeit signifikant erhöhte durch den stark blutdrucksenkenden Effekt bei bereits schon hypodensen Tieren, welche durch das ALI ja schon kurz vor einer klinischen Schocksymptomatik stehen ( unpublizierte Studien von W.B., U.K. und B.H.).

Das Besondere an unserer Studie war also, daß bei Inhalation des ETA-Antagonisten kein Einfluß auf die systemische Hämodynamik beobachtet werden konnte; der hämodynamische Effekt war somit auf die Lunge begrenzt. Dies belegt, dass sowohl in zukünftigen Tierexperimenten, wie auch in Studien am Patienten der topischen Anwendung aufgrund des günstigeren hämodynamischen Nebenwirkungsprofils der Vorzug gegeben werden sollte.

Wie im Ergebnisteil schon angekündigt, so muß im Rahmen der Diskussion noch auf einige methodische Schwierigkeiten der vorliegenden Arbeit eingegangen werden, welche das Faktum der hohen Mortalität in der Kontrollgruppe und seine Auswirkungen auf die Ergebnisse unserer Studie betreffen:

Bei der Untersuchung der hämodynamischen Situation konnten nur Tiere, welche die hämodynamischen Messungen (fünf Stunden nach Induktion des ALI) noch erlebten in die Versuchsauswertung mit einbezogen werden. Dies führt sicherlich zu einem Selektionsfehler in Richtung "besserer" Tiere in der Kontrollgruppe. Für die Ergebnisse der hämodynamischen Messungen bedeutet dies, daß möglicherweise der Effekt der Behandlung unterschätzt wird.

Bei der Untersuchung der histologischen und biochemischen Situation dagegen wurden alle Tiere mit einbezogen, welche die Einschlusskriterien der Studie (Vollbild des ALI nach Lavage) erfüllten, also auch jene, welche bereits nach Ende des Versuches am ALI verstorben waren.

Dadurch ergibt sich bezüglich der biochemischen und histologischen Parameter eine Inhomogenität in der Kontrollgruppe seitens des Zeitpunktes der Gewebegewinnung. Hätte man jedoch alle Tiere, welche schon vor Ende des Versuches gestorben waren aus der Wertung

genommen, so hätte es eine klare Selektion in der unbehandelten Tiergruppe gegeben, da ja die Tiere, denen es im Prinzip am schlechtesten ging (sie sind daran verstorben), herausfallen würden und der Durchschnitt dieser Gruppe stark zum Positiven verfälscht werden würde.

Diese Annahme wird bestätigt durch die statistischen Daten unter Ausschluß der vorzeitig verstorbenen Tiere: bei Ihnen zeigte sich in der Tat aus dem oben angeführten Grund keine signifikante Unterscheidung zur behandelten Gruppe hinsichtlich der histologischen und biochemischen Parameter.

Natürlich entsteht durch das Einbeziehen der auch frühzeitig verstorbenen Tiere ein Selektionsfehler zu im Durchschnitt etwas früheren Entnahmezeitpunkten der Gewebeproben in der Kontrollgruppe. Dies hat jedoch zur Folge, daß der Zeitrahmen für das Entwickeln einer Entzündungsreaktion kleiner war als bei den überlebenden Tieren. Daraus folgt, daß auch hier der Effekt der Behandlung möglicherweise unterschätzt wird, da der Kontrollgruppe durchschnittlich etwas weniger Zeit zur Verfügung stand, somit also auch hier eine Selektion zu "besseren" Tieren in der Kontrollgruppe nicht völlig ausgeschlossen ist.

Zusammenfassend kann man sagen, daß diese prognostisch günstige Verbesserung des Zustandes der Lungen - in Anbetracht der schlechten Prognose des ALI - einen Schritt eröffnen kann in eine erfolgreichere Behandlung von an ALI erkrankten Patienten.

Bisher ist der positive Effekt des LU-135252 jedoch nur im experimentellen Tierversuch bewiesen. Das positive Ergebnis der Behandlung kann jedoch zu einem neuen Umgang mit akuten Lungenerkrankungen führen.

Im Hinblick darauf, daß die Endothelinantagonisten in Zukunft regelhaft eingesetzte Pharmaka werden könnten, so müßte man sich bei ihrem Einsatz nicht nur auf Patienten mit ALI beschränken. Auch Patienten mit durch Bleomycin induzierter Lungenverletzung oder Lungenverletzung nach Bestrahlung könnten in Zukunft erfolgreich mit Endothelinantagonisten therapiert werden.

Bis diese Vorstellung in die Realität umgesetzt werden kann, bedarf es allerdings weiterer wissenschaftlicher Untersuchungen zur entzündlichen wie hämodynamischen Wirkung von Endothelinantagonisten bei akuten Lungenerkrankungen.

