## Aus der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin der Medizinischen Fakultät Charité- Universitätsmedizin Berlin

## **DISSERTATION**

# In vitro Vergleich unterschiedlicher Applikationsverfahren von Stickstoffmonoxid in das Beatmungssystem

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité- Universitätsmedizin Berlin

von

Moritz Benjamin Teja Hofferberth

aus Berlin

Datum der Promotion: 10.3.2017

Inhaltsverzeichnis

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	111
1 Einleitung	1
1.1 Stickstoffmonoxid	1
1.1.1 Die physiologische Rolle von NO	1
1.2 Medizinische Anwendungsgebiete von NO	3
1.2.1 Acute respiratory distress syndrome	5
1.2.2 Nebenwirkungen und toxische Effekte der iNO-Therapie	5
1.3 Technische Lösungen zur Applikation von iNO	6
1.4 Ziel der Untersuchungen	9
2 Material und Methoden	11
2.1 Konstruktion des künstlichen Lungenmodells	11
2.2 Versuchsaufbau	13
2.3 iNO-Applikationssystem	15
2.4 Ventilator	18
2.5 NO-Analysator	18
2.5.1 Ermittlung der Transportverzögerung des NOA™ 280i	19
2.6 Kalibration	20
2.7 Versuchsablauf	20
2.8 NO-Konzentrationsmessungen	21
2.9 Untersuchte Variablen	22
2.9.1 Eingestellte NO-Dosis	22
2.9.2 Atemzeitverhältnis	22
2.9.3 Beatmungsform	22
2.9.4 Tidalvolumina	23
2.9.5 Modus der NO-Applikation	23
2.9.6 Ort der iNO-Applikation in das Beatmungsschlauchsystem	24

2.10 Datenaufzeichnung und -auswertung	24
3 Ergebnisse	26
3.1 Mittlere NO-Konzentrationen im Inspirationsgasgemisch	26
3.2 Mittlere NO-Konzentrationen in der künstlichen Lunge	28
3.2.1 Bolusmodus im Vergleich mit Normalmodus	28
3.2.2 Bolusmodus im Vergleich mit kontinuierlichem Modus	31
3.3 Vergleich Y-Stück-naher und -ferner iNO-Applikation im Bolusmodus	33
3.4 Maximalkonzentrationen	35
3.4.1 Maximale NO-Konzentrationen	35
3.4.2 Maximale NO <sub>2</sub> Konzentrationen	37
4 Diskussion	39
4.1 Methodenkritik	40
4.1.1 Art der Daten	40
4.1.2 Beatmungsform	40
4.1.3 Ventilator	40
4.1.4 Versuchsaufbau	41
4.2 NO-Konzentrationen im Inspirationsgasgemisch	42
4.3 Bolusmodus im Vergleich zu Normal- und kontinuierlichem Modus	43
4.4 Effekt der Y-Stück-nahen NO-Applikation im Bolusmodus	47
4.5 Maximale NO- und NO <sub>2</sub> -Konzentrationen	49
5 Zusammenfassung	52
6 Literaturverzeichnis	54
7 Anhang	59
7.1 Abstract	59
7.2 Danksagung	62
7.3. Eidesstattliche Versicherung	63
7.4 Lebenslauf	64

## Abkürzungsverzeichnis

**AMV** Atemminutenvolumen

**ARDS** Acute respiratory distress syndrome

**bNOS** Bakterielle Stickstoffmonoxidsynthase

**BIPAP** Biphasic positive airway pressure

**C**dyn Dynamische Compliance

**cGMP** Zyklisches Guanosinmonophosphat

**ECMO** Extracorporeal membrane oxygenation

**EDRF** Endothelium-derived relaxing factor

**eNOS** Endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase

**F**<sub>1</sub>**O**<sub>2</sub> Inspiratorische Sauerstoffraktion

FRC Funktionelle Residualkapazität

**HPV** Hypoxische pulmonale Vasokonstriktion

**iNO** Inhaliertes Stickstoffmonoxid

**iNOS** Induzierbare Stickstoffmonoxidsynthase

**IPPV** Intermittent positive pressure ventilation

**KG** Körpergewicht

mtNOS Mitochondriale Stickstoffmonoxidsynthase

**nNOS** Neuronale Stickstoffmonoxidsynthase

N<sub>2</sub> Elementarer Stickstoff

NO Stickstoffmonoxid

NO<sub>2</sub> Stickstoffdioxid

NO<sub>2</sub>- Nitrit

NO<sub>x</sub> Stickoxide

NOS Stickstoffmonoxidsynthase

**O**<sub>2</sub> Sauerstoff

Ozon

PaO<sub>2</sub> Arterieller Sauerstoffpartialdruck

**PAP** Pulmonalarterieller Druck

**PEEP** Positive endexpiratory pressure (positiver endexspiratorischer Druck)

**ppb** Parts per billion

P<sub>insp</sub> Inspirationsdruck

**PPH** Primäre pulmonale Hypertonie

**PPHN** Persistierende pulmonale Hypertonie beim Neugeborenen

**ppm** Parts per million

**PVR** Pulmonalvaskulärer Widerstand

**SD** Standardabweichung

**TNF-α** Tumornekrosefaktor  $\alpha$ 

Vt Tidalvolumen (Atemzugvolumen)

## 1 Einleitung

#### 1.1 Stickstoffmonoxid

Stickstoffmonoxid (NO) ist ein farb- und geruchloses Gas mit einer molaren Masse von 30,01 g/mol. Es kommt ubiquitär in Konzentrationen von 10-500 *parts per billion* (ppb) in der Atmosphäre vor. In verkehrsreichen, städtischen Gebieten kann die NO-Konzentration jedoch durchaus 1,5 *parts per million* (ppm) übersteigen (35).

In Gegenwart von Sauerstoff (O<sub>2</sub>) wird NO schnell zum giftigen Stickstoffdioxid (NO<sub>2</sub>) oxidiert, was seine Rolle als Umweltgift erklärt. Ein ungepaartes Elektron macht NO zu einem hochreaktiven freien Radikal mit einer Halbwertszeit von wenigen Sekunden. NO diffundiert ungehindert über Zellmembranen. Es kann in biologischen Lösungen sowohl durch Komplexbildung stabilisiert werden, als auch zum stabileren Nitrit (NO<sub>2</sub>-) oxidiert werden. NO kann dann unter bestimmten Umständen unabhängig von der NO-Synthase (NOS) durch Reduktion von NO<sub>2</sub>- wieder freigesetzt werden (36).

Laut Bericht der ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft von 2014 beträgt die maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK) von NO 0,5 ppm mit einem Überschreitungsfaktor von 2. Ob NO fruchtschädigend ist, lässt sich aufgrund der nicht ausreichenden Datenlage derzeit nicht beurteilen (Schwangerschaftsgruppe D) (15).

#### 1.1.1 Die physiologische Rolle von NO

Entdeckt in den 1970er Jahren als endothelium-derived relaxing factor (EDRF), spielt NO eine wichtige Rolle in der Regulation des Tonus der glatten Gefäßmuskulatur als einer der potentesten bekannten Vasodilatatoren. Im Menschen wird NO vom NOS-Enzymsystem synthetisiert. Bei den NO-Synthasen handelt sich um Multidomänenmetalloproteine, die NO in Gegenwart von O2 durch Umwandlung der semiessenziellen Aminosäure L-Arginin zu L-Citrullin und NO synthetisieren. Bislang sind drei menschliche Isoformen von NOS entdeckt worden. Die konstitutionellen Enzyme neuronale NOS (nNOS) und endotheliale NOS (eNOS) sowie die induzierbare NOS (iNOS). Weitere bekannte Isoformen sind die bakteriellen NOS (bNOS), welche den in Säugetieren gefundenen NOS stark ähneln (10, 11, 35).

Jedoch gibt es deutliche Hinweise auf die Existenz einer vierten, mitochondrialen Isoform von NOS (mtNOS) im Menschen, welche durch reversible Hemmung von Enzymen der Atmungskette in die Regulation des mitochondrialen O<sub>2</sub>-Verbrauchs eingreift (23).

Wie oben bereits erwähnt, kann NO durch Nitritreduktion generiert werden. Dies kann auf verschiedenen, komplexen Stoffwechselwegen unter der Beteiligung von Hämo-, Myo- und Neuroglobin, Ascorbat, Polyphenolen, Xanthinoxidoreduktase oder Carboanhydrase geschehen. Diese NOS-unabhängige NO-Synthese findet vermehrt unter hypoxischen und azidotischen Bedingungen statt. Umstände also, unter denen die Enzymaktivität der sauerstoffabhängigen NOS reduziert ist (36). Die NOS-unabhängigen Stoffwechselwege der NO-Bereitstellung scheinen zur physiologischen Antwort auf dysoxischen Stress beizutragen.

Die gefäßerweiternden Eigenschaften von NO werden hauptsächlich durch das von eNOS im Endothel produzierte NO vermittelt. NO diffundiert in die glatten Muskelzellen der Blutgefäßwand. Dies führt zu einem Konzentrationsanstieg des second messengers Guanosinmonophosphat (cGMP), welches über seine Proteinkinasen die Relaxation der glatten Muskulatur bewirkt. Außerdem beeinflusst NO das Gerinnungssystem durch Hemmung der Thrombozytenaktivierung. Es wird kontrovers diskutiert, ob ein durch Aktivierung der löslichen Guanylylcyclase verursachter **Anstieg** von cGMPfür die Thrombozytenfunktionshemmung verantwortlich ist (5, 30). In Untersuchungen der Erektionsfunktion wurde NO auch als Neurotransmitter identifiziert, der von nichtadrenergen, nichtcholinergen Neuronen freigesetzt wird, welche die Relaxation des Corpus cavernosum von Kaninchen auf elektrischen Reiz vermitteln (30). Aufgrund seiner antimikrobiellen Aktivität auf ein breites Spektrum von Mikroorganismen spielt NO auch eine Rolle in der unspezifischen Immunabwehr. NO, das in großer Menge von den Sinus paranasales produziert und anschließend autoinhaliert wird, erhöht die Zilienschlagfrequenz des respiratorischen Epithels und wird als wichtig für die Abwehr von Mikroorganismen im oberen Respirationstrakt und die Regulation des pulmonalvaskulären Tonus angesehen (11, 19, 38, 39, 48). Die Tatsache, dass kürzlich gezeigt werden konnte, dass von gramnegativen als auch grampositiven Bakterien sezernierte Substanzen die NO-Produktion im Epithel des oberen Respirationstrakt über verschiedene Signalwege steigern, unterstreicht die Rolle von NO als endogene antimikrobielle Substanz (7, 34).

Forschungen zum Einfluss von NO auf das Wachstum von Tumoren haben bislang widersprüchliche Ergebnisse erbracht. Sowohl tumorzerstörende als auch das Tumorwachstum befördernde Effekte von NO wurden berichtet. (14, 32, 35).

## 1.2 Medizinische Anwendungsgebiete von NO

Therapeutische Anwendungen nutzen die selektive Wirkung von inhaliertem NO (iNO) auf die Lungengefäße im ventilierten Bereich der Lunge, wo NO, nachdem es den Blutstrom erreicht hat, durch Bindung an Hämoglobin nahezu vollständig inaktiviert wird. Damit wird eine systemische Wirkung und die Wirkung auf benachbarte, nicht ventilierte Lungenareale größtenteils vermieden. Resultat ist eine pulmonalvaskuläre Dilatation zugunsten ventilierter Areale mit einer Reduktion der venösen Beimischung und Senkung des pulmonalvaskulären Widerstands (PVR). Die unterschiedlichen therapeutischen Ziele einer a) Verbesserung der Oxygenierung und b) Reduktion des PVR mit Senkung des pulmonalarteriellen Drucks werden in unterschiedlichen Dosisbereichen von iNO erreicht, wobei eine nichtlineare Dosis-Wirkungs-Beziehung beschrieben wird (11, 17). Für eine maximale Reduktion des PVR werden iNO-Dosen im Bereich von 10-80 ppm benötigt. Dabei wird der Dosisbereich für eine optimale überschritten die Oxygenierung von 1-20 ppm oft und erzielte ventilierten Oxygenierungsverbesserung durch selektive Vasodilatation in Lungenarealen nimmt wieder ab (siehe Abbildung 1). Aufgrund der schnellen Inaktivierung von NO bei Erreichen des Blutstroms kommt es bis zur üblichen Höchstdosis von 80 ppm zu praktisch keinen systemischen Effekten von NO (16, 18, 28, 35).

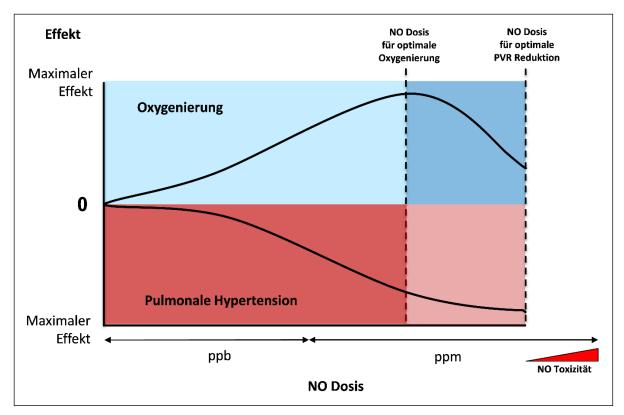


Abbildung 1. Schematische Dosis-Wirkungs-Kurve von iNO anhand mit iNO behandelter ARDS-Patienten. NO: Stickstoffmonoxid; iNO: inhaliertes Stickstoffmonoxid; PVR: pulmonalvaskulärer Widerstand; ppb: parts per bilion; ppm: parts per milion. Modifiziert nach (35).

Oxygenierungsverbesserung und/oder Senkung des pulmonalarteriellen Drucks (PAP) bei persistierender pulmonaler Hypertonie beim Neugeborenen (PPHN) sowie Verbesserung von Oxygenierung, rechtsventrikulärer Funktion und pulmonaler Hypertonie peri- und intraoperativ im Zusammenhang mit Herzchirurgie sind derzeit die einzigen zugelassenen Indikationen für iNO in Deutschland (1). Es gibt jedoch eine Reihe von Krankheitsbildern, in denen ein off-label-Gebrauch von iNO stattfindet. Bei Hypoxie in reifen Neugeborenen ohne manifeste PPHN verbessert iNO die Oxygenierung und kann die Notwendigkeit einer Therapie mit extrakorporaler Membranoxygenierung (ECMO) reduzieren. Während einer vaso-okklusiven Episode bei Patienten mit Sichelzellanämie kann es zur sogenannten acute chest crisis kommen. Hierbei tritt oft eine sekundäre pulmonale Hypertonie auf, welche bereits erfolgreich mit iNO behandelt wurde. Aufgrund mangelnder Daten ist derzeit die routinemäßige Anwendung von iNO bei Sichelzellanämie nicht empfohlen (3, 11, 35). In einer prospektiven, randomisierten Untersuchung zur Anwendung von 80 ppm iNO als supportive Therapie in der acute chest crisis bei Sichelzellanämie fanden Maitre et al. allerdings kürzlich Hinweise darauf, dass iNO das Therapieversagen bei schwerer acute chest crisis reduzieren könnte (37).

#### 1.2.1 Acute respiratory distress syndrome

Das *Acute respiratory distress syndrome* (ARDS) ist eine akute Erkrankung der Lunge heterogener Genese. Kennzeichnend sind der akute Beginn (binnen einer Woche nach einem sogenannten "klinischem Insult"), eine Oxygenierungsstörung mit Hypoxämie unter Raumluft, eine Beteiligung beider Lungenflügel, ein erhöhter PVR und ein Lungenödem nichtkardialer Genese (49).

Neben der Pneumonie als häufigste Ursache eines außerhalb des Krankenhauses erworbenen ARDS (4), ist eine beträchtliche Anzahl weiterer Auslöser eines ARDS bekannt, darunter Aspiration, Polytrauma, Pankreatitis, Sepsis, Massivtransfusion oder systemische Intoxikationen (29). Obwohl die möglichen Auslöser auf den ersten Blick heterogen erscheinen, ist heute ein alveoläres Trauma als gemeinsamer, zugrundeliegender Pathomechanismus identifiziert. Dieses alveoläre Trauma führt zur Störung der alveolokapillären Barrierefunktion durch Freisetzung von Entzündungsmediatoren wie Tumornekrosefaktor α (TNF-α) und Interleukinen mit Leukozyteneinwanderung und gesteigerter Produktion freier Sauerstoffradikale (22, 46).

Das moderate und schwere ARDS mit Oxygenierungsindices (arterieller Sauerstoffpartialdruck  $(P_aO_2)$ /inspiratorische Sauerstoffraktion  $(F_1O_2)$ )  $\leq 200$  mmHg gemäß der "Berlin Definition" des ARDS (49) sind ein weiteres Anwendungsgebiet für iNO. Hier verbessert iNO die Oxygenierung in erster Linie durch Verbesserung des Ventilations-/Perfusionsverhältnisses (3, 11, 35). Da trotz dessen bislang kein Überlebensvorteil für die iNO-Therapie im ARDS gezeigt werden konnte, wird empfohlen, die Anwendung auf Fälle mit therapierefraktärer Hypoxämie zu beschränken (2, 3).

### 1.2.2 Nebenwirkungen und toxische Effekte der iNO-Therapie

Miller et al. konnten an zehn freiwilligen Probanden zeigen, dass die wiederholte Inhalation von 160 ppm NO über 30 min weder die Lungenfunktion beeinträchtigte, noch eine Inflammationsreaktion oder endotheliale Aktivierung hervorrief (40). Trotzdem ist die breit akzeptierte und klinisch gebräuchliche obere Dosisgrenze von iNO 80 ppm. Bis zu dieser Grenze treten wenige bis keine systemischen unerwünschten Wirkungen auf (13, 20, 35).

Toxische Wirkungen hoher NO-Konzentrationen resultieren einerseits aus einer erhöhten NO<sub>2</sub>-Bildung, anderseits sind sie den systemischen Effekten von NO geschuldet. Diese beinhalten Methämoglobinämie, systemische Hypotension, reduzierte Thrombozytenaggregation, Erhöhung des Atemwegswiderstandes, Lungenödem und Beeinträchtigung der renalen Funktion (2, 5, 21). Die Methämoglobinkonzentration sollte daher vier Stunden nach Beginn einer Therapie mit iNO und anschließend täglich kontrolliert werden. Eine Reduktion der applizierten iNO-Dosis sollte ab einer Methämoglobinkonzentration von fünf Prozent in Betracht gezogen werden, bei Vorliegen einer hereditären Methämoglobinämie ist iNO kontraindiziert (13, 20). Bei einem Teil der mit iNO behandelten Patienten kommt es, vor allem nach abruptem Absetzen der iNO-Therapie zu einem *rebound* mit signifikantem Anstieg des PAP, Zunahme der venösen Beimischung und unter Umständen akuter Rechtsherzbelastung, so dass eine Wiederaufnahme der iNO-Therapie notwendig werden kann (9, 41).

Bezüglich der Konzentration von NO<sub>2</sub> im inspiratorischen Gasgemisch ist eine Obergrenze von 2 ppm mit kontinuierlichem Monitoring von NO<sub>2</sub> der allgemein akzeptierte Konsens für den klinischen Einsatz von iNO. Für die Anwendung von iNO über einen längeren Zeitraum ist eine Dosisbegrenzung auf 10 ppm möglicherweise nützlich, um unerwünschte Wirkungen durch Langzeiteinwirkung von NO<sub>2</sub> zu verhindern (13, 20). Es existieren Untersuchungen, die nahelegen, dass bei besonders empfindlichen Menschen (z. B. Asthmatikern, Allergikern) schon NO<sub>2</sub>-Konzentrationen zwischen 0,2 bis 0,6 ppm unerwünschte Wirkungen auslösen können. Diese unerwünschten Wirkungen waren zwar mild und vorübergehend, es unterstreicht jedoch die Vermutung, dass eine Untergrenze, unter welcher NO<sub>2</sub> keine negativen Effekte hat, nicht existiert (26).

## 1.3 Technische Lösungen zur Applikation von iNO

Die Anfänge des klinischen Einsatzes von iNO zur Behandlung von Hypoxämie und pulmonaler Hypertension reichen zurück bis in die frühen 1990er Jahre, nachdem Tim Higenbottam 1988 erstmals über die erfolgreiche Anwendung von inhaliertem NO zu Senkung des PAP bei sieben Patienten mit primärer pulmonaler Hypertonie (PPH) berichtet hatte (27). Damals waren weder kommerzielle Systeme zur iNO-Applikation erhältlich, noch existierten allgemein akzeptierte und bewährte Regime für die Anwendung von iNO am Menschen. Einrichtungen, die Patienten mit iNO behandelten,

verwendeten selbstgebaute Aufbauten, um NO in das Kreisteil eines Ventilators zu applizieren (13).

Für den Entwurf eines Systems zur Applikation von iNO müssen drei grundlegende Kriterien bedacht werden:

- 1) Herstellung des Inspirationsgases. Das inspiratorische Gasgemisch mit der gewünschten F<sub>1</sub>O<sub>2</sub> und NO-Konzentration wird durch Mischen von NO, elementarem Stickstoff (N<sub>2</sub>), O<sub>2</sub> und Luft gewonnen. Dies kann außerhalb des Ventilators geschehen. Anschließend wird das fertig gemischte Inspirationsgas in den Gasanschluss des Ventilators geleitet. Alternativ kann das Mischen des Inspirationsgases im Ventilator erfolgen, dafür müssen jedoch NO, N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> und Luft separat in den Ventilator geleitet werden. Das Einspeisen eines NO/N<sub>2</sub>-Gasgemisches in den Inspirationsschenkel des Ventilators, nachdem das Mischen von O<sub>2</sub> und Luft bereits stattgefunden hat, ist eine weitere Möglichkeit.
- 2) Ort der NO/N<sub>2</sub>-Applikation in das Ventilatorbeatmungsteil. Wenn ein NO/N<sub>2</sub>-Gemisch über das Schlauchsystem eines Ventilators zugeführt werden soll, muss festgelegt werden, ob das NO/N<sub>2</sub>-Gemisch im Inspirationsschenkel nahe dem Ventilator oder nahe dem Y-Stück, am oder nach dem Y-Stück, oder in den Endotrachealtubus appliziert werden soll.
- 3) *Muster der NO-Applikation.* NO kann kontinuierlich während des gesamten Atemzyklus, nur während der Inspiration oder während Teilen der Inspiration appliziert werden. Die applizierte Menge an NO kann unabhängig vom oder proportional zum inspiratorischen Gasfluss sein.

Eine Vielzahl der so möglichen Kombinationen von iNO-Applikationsystemen wurden in der Vergangenheit verwendet und teils systematisch untersucht (13, 31). Bereits 1994 formulierte *J. D. Young* in einem, im *British Journal of Anaesthesia* erschienenen Artikel die Anforderungen an das ideale iNO-Applikationssystem: "The ideal nitric oxide delivery system should produce a fixed inspired nitric oxide fraction in the inspired gas, independent of changes in ventilator settings." und präsentierte den Prototypen eines Ventilator-unabhängigen iNO-Applikationssystems (51).

Die bis Mitte der 1990er Jahre gemachten Erfahrungen mit der klinischen Anwendung von NO führten zu den ersten kommerziell erhältlichen iNO-Applikationssystemen. Diese Applikationssysteme verabreichten ein Gemisch aus NO

und N2 in den Inspirationsschenkel des Ventilators. Um eine eingestellte NO-Konzentration angesichts eines wechselnden Atemminutenvolumens (AMV) und/oder Frischgasflusses aufrecht zu erhalten, waren sie mit einem externen Flusssensor (Flowsensor) ausgerüstet. Allerdings konnten diese iNO-Applikationssysteme nur in Kombination mit Ventilatoren desselben Herstellers verwendet werden. Das erste kommerzielle iNO-Applikationsystem mit eigener Flowmessung, das mit beliebigen Ventilatoren verwendet werden konnte, war der von Datex-Ohmeda hergestellte iNOvent™. Aktuelle Systeme zur iNO-Applikation bieten alle ähnliche Ausstattungsmerkmale. Sie liefern NO gemischt mit N2 in fixem Verhältnis aus einem einzigen Gaszylinder. Die Abgabe von NO erfolgt in den Inspirationsschenkel des Beatmungssystems ausschließlich während der Inspiration und die abgegebene NO-Menge wird proportional zum inspiratorischen Gasfluss geregelt unter Verwendung eines externen Flowsensors oder einer Datenverbindung zwischen Ventilator und iNO-Applikationssystem (13, 52). Sollten eine Flowmessung oder eine Datenverbindung fehlen oder ausfallen, bieten die meisten Applikationssysteme eine kontinuierliche, flussunabhängige NO-Abgabe während des ganzen Atemzyklus als "Notfallmodus".

In den letzten Jahren wurde untersucht, ob eine bolusförmige Abgabe von NO nur während der frühen Phase der Inspiration geeignet ist, um mit geringeren Mengen NO-Gas den herkömmlichen Applikationsmodi vergleichbare therapeutische Effekte erzielen zu können und die iNO-Therapie so effizienter und kostengünstiger zu gestalten. Von einem gegebenen Tidalvolumen (V<sub>t</sub>) erreicht nur das in der frühen Inspiration inhalierte Gasvolumen die für den Gasaustausch relevanten Lungenabschnitte. Theoretisch sollte eine stoßweise während der frühen Inspiration applizierte NO-Dosis effektiver hinsichtlich Oxygenierungsverbesserung und PAP-Reduktion sein, als die Applikation der gleichen Dosis während der gesamten Inspiration bei gleichzeitig reduzierter NO-Konzentration in der Ausatemluft. Tierexperimentelle Untersuchungen konnten an Pferden und Schweinen unter Allgemeinanästhesie zeigen, dass eine bolusförmige Abgabe von iNO während der frühen Inspiration effektiv bzgl. Reduktion des PAP und Verbesserung der Oxygenierung sowie sicher bzgl. Methämoglobinbildung und NO2-Formation ist (24, 25, 45). Des Weiteren wird die aus dem anatomischen Totraum ausgeatmete NO-Menge reduziert, wodurch im Nichtrückatemsystem die Belastung der Umgebungsluft mit NO und NO2 sinkt. In einem Rückatemsystem wird das Risiko einer

Akkumulation von NO im Schlauchsystem und daraus resultierender Dosisschwankungen reduziert (24, 25, 45).

## 1.4 Ziel der Untersuchungen

Die vorliegende experimentelle Untersuchung wurde durchgeführt, um unter Rahmenbedingungen, welche dem klinischen Alltag möglichst nahe kommen, die folgenden Fragestellungen zu untersuchen:

- 1) Wird die eingestellte NO-Zielkonzentration bei bolusförmiger iNO-Applikation in der frühen Inspiration im Inspirationsgasgemisch erreicht? Werden durch die bolusförmige iNO-Applikation in der frühen Inspiration bei gleicher NO-Zielkonzentration höhere mittlere NO-Konzentrationen im Zielorgan (hier: ein künstliches Lungenmodell) erreicht, als durch iNO-Applikation während der gesamten Inspiration bzw. während des gesamten Atemzyklus?
- 2) Durch die bislang übliche, ventilatornahe Applikation von iNO in den Inspirationsschenkel ist durch ungewollte Durchmischung des Atemgases im Schlauchsystem eine Abschwächung des Effekts der bolusförmigen iNO-Applikation zu erwarten. Der typische NO-Konzentrationsverlauf bei ventilatornaher, bolusförmiger Applikation entlang des Schlauchsystems ist in Abbildung 2 dargestellt. Hieraus ergibt sich die Frage, ob sich durch eine bolusförmige iNO-Applikation in der frühen Inspiration nahe dem Y-Stück höhere mittlere NO-Konzentrationen im Zielorgan erzielen lassen als durch ventilatornahe Applikation in den Inspirationsschenkel.
- 3) Werden bei Verwendung der bolusförmigen iNO-Applikation die empfohlenen maximalen Konzentrationen für NO (80 ppm) und NO<sub>2</sub> (2 ppm) überschritten?

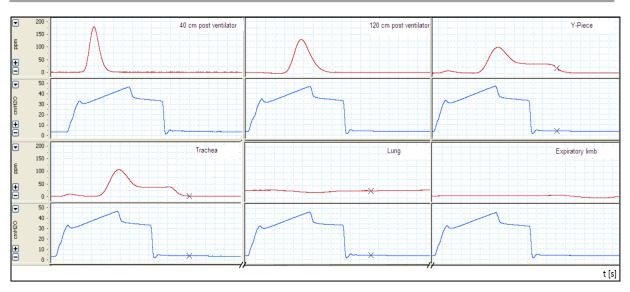


Abbildung 2. NO-Konzentration bei bolusförmiger Applikation an den verschiedenen Messorten. Rote Linie= NO-Konzentration, blaue Linie= Atemwegsdruck, Abstand der vertikalen Gitternetzlinien  $\triangleq$  200 ms

## 2 Material und Methoden

## 2.1 Konstruktion des künstlichen Lungenmodells

Um die, *in vivo* nahezu komplette, vor allem durch Bindung an Hämoglobin bedingte Aufnahme von inhaliertem NO in der menschlichen Lunge zu simulieren (50), wurde ein Lungenmodell in Anlehnung an die Arbeiten von *Imanaka* und *Kirmse* (31, 33) konstruiert, welches die Rückatmung von NO-reichem Gasgemisch in das Schlauchsystem verhindert. Ansonsten würde Gas, das hohe Konzentrationen an NO enthält, nach Ende der Exspiration in Totraum und Exspirationsschenkel verbleiben. Das Füllen von Totraum und Exspirationsschenkel des Versuchsaufbaus mit NO-freier Umgebungsluft am Ende eines jeden Atemzyklus ist jedoch Voraussetzung für die Atemzug-zu-Atemzug-Aufzeichnung und –Analyse des Konzentrationsverlaufs von NO im inhalierten Gasgemisch.

Kernstück des Lungenmodells sind zwei identische Lungensimulatoren (Quicklung™, IngMar Medical, Pittsburgh, USA). Für jeden Lungensimulator können Compliance (1, 20 oder 50 ml/cmH<sub>2</sub>O, Gleichung A) und Resistance (5, 20 oder 50 cmH<sub>2</sub>O/l/s; Gleichung B) separat eingestellt werden.

[A] Compliance 
$$C = \frac{\Delta V}{\Delta P}$$
 [B] Resistance  $R = \frac{\Delta P}{V}$ 

Für die vorliegende Untersuchung wurden für beide Lungensimulatoren identische Einstellungen für Compliance (50 ml/cmH<sub>2</sub>O) und Resistance (5 cmH<sub>2</sub>O/l/s) gewählt. Beide Lungensimulatoren wurden parallel auf eine Aluminumgrundplatte montiert und anschließend auf ihrer Oberseite mittels einer Aluminumstrebe starr verbunden (siehe Abbildung 3). So führt das Aufblasen eines Lungensimulators (die maschinelle Ventilation) zur Expansion des starr verbundenen, zweiten Lungensimulators auf das gleiche Volumen.

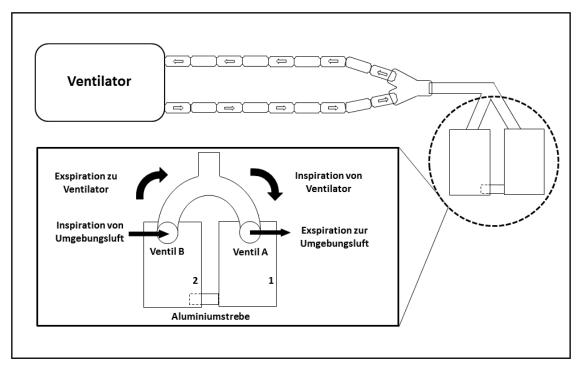


Abbildung 3. Schematischer Aufbau des Lungenmodells. 1= Inspirationsseite, 2= Exspirationsseite

Einen Überblick über die resultierende dynamische Compliance (C<sub>dyn</sub>, Gleichung C), gemessen mit einem Evita™ V500 Infinity® Ventilator (Dräger Medical AG & Co.KG, Lübeck, Deutschland) zeigt Abbildung 3.

[C] dynamische Compliance 
$$C_{dyn} = \frac{Exspiratorisches Tidalvolumen (ml)}{Spitzenddruck-PEEP_{total} (mbar)}$$

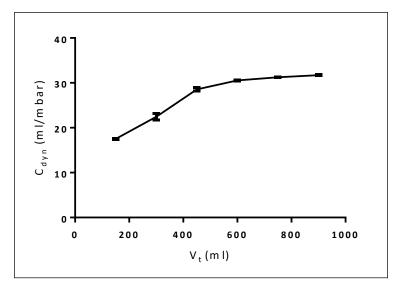


Abbildung 4.  $C_{dyn}$  des Zwei-Flügel-Lungenmodells. n=10 Atemzüge pro  $V_t$ ; Alle Werte sind als Mittelwerte mit Standardabweichungen dargestellt.

Um den Gasstrom in die gewünschten Richtungen zu leiten, wurden zwei zusätzliche Ventile in das Lungenmodell integriert (Abbildung 3, Ventile A und B). Ventil A (Ventil für Oxylog® 2000/3000, Artikelnr. 8412001, Dräger Medical Ag & Co.KG, Lübeck, Deutschland) ist ein Beatmungsventil, wie es in gebräuchlichen halboffenen Ein-Schlauch-Ventilator-Systemen Verwendung findet. Während der Inspiration lässt dieses Ventil ausschließlich Gasfluss aus dem Inspirationsschenkel in den Lungensimulator 1 zu. Während der Exspiration sorgt Ventil A dafür, dass Gas aus dem Lungensimulator 1 nur in den umgebenden Raum, nicht aber zurück in das Schlauchsystem abgeben wird. Um Gasproben aus dem Lungensimulator 1 zu nehmen, wurde ein 10 cm langer Probengasschlauch von 2 mm Durchmesser eingebracht, der in einem männlichen Luerlock-Anschluss zwischen Ventil A und Lungensimulator 1 abschließt. Ventil B ist ein Nichtrückatemventil (T-Ventil, Artikelnr. 1954, Intersurgical GmbH, St. Augustin, Deutschland), durch welches Umgebungsluft während der Inspiration in den Lungensimulator 2 strömt. In der Exspiration entlässt Ventil B die Umgebungsluft in Lungensimulator nur in Richtung des Schlauchsystems, wodurch der Totraum des Versuchsaufbaus und der Exspirationsschenkel mit Umgebungsluft gefüllt werden.

#### 2.2 Versuchsaufbau

Klinisch gebräuchliche, latexfreie Beatmungsschläuche mit 22 mm Innendurchmesser (Modell RT200, Fisher & Paykel Healthcare, Berkshire, Großbritannien) mit einer Länge von 150 cm, gemessen vom Ventilatoranschluss bis zum Y-Stück wurden für die vorliegende Untersuchung verwendet. Durch Platzierung eines Pneumotachographen direkt hinter den Ventilatorausgang und aufgrund weiterer Modifikationen, um iNO applizieren und Gasproben an verschiedenen Stellen des Schlauchsystems nehmen zu können, ergab sich eine endgültige Länge von 182 cm für den Inspirationsschenkel und 160 cm für den Exspirationsschenkel.

Der verwendete Pneumotachograph war ein Pneumotachograph nach Fleisch (Modell Nr. 2.7128, Metabo, Epalinges, Schweiz), der die Stromgeschwindigkeit des Atemgases mittels des proportionalen Druckabfalls über einen bekannten Widerstand misst. Der Pneumotachograph wurde mit einem Druckwandler verbunden (ICU-Lab Pressure Box, KleisTek Advanced Electronics Systems, Bari, Italien). Der Atemwegsdruck wurde mittels einer 210 cm langen Messleitung mit einem separaten Druckwandler (Logical®

Single Pressure Monitoring Kit, Art. Nr. MX9605, Smiths Medical, Lancashire, Großbritannien) am Y-Stück gemessen.

Um die *in vivo* Bedingungen eines intubierten bzw. tracheotomierten Patienten zu simulieren, wurde ein Mallinckrodt™ Endotrachealtubus (Ref no 107-90, Covidien Inc, Mansfield, USA) von 9 mm Innendurchmesser mit dem Y-Stück verbunden und dient als künstliche Trachea. In der Mitte der künstlichen Trachea wurde eine weitere Probengasentnahmemöglichkeit geschaffen. Der Endotrachealtubus wurde oberhalb des Murphyauges auf eine Länge von 30 cm gekürzt und zwei identische, 11cm lange Schlauchstücke (Innendurchmesser 22 mm) wurden über ein zweites Y-Stück an das patientenseitige Tubusende angeschlossen, um als künstliche Hauptbronchien zu dienen. Diese künstlichen Hauptbronchien wurden über Ventil A und B mit je einem Lungensimulator verbunden (siehe Abbildung 2). Insgesamt kann iNO an zwei Stellen in das Schlauchsystem eingeleitet werden. Hierfür wurden klinisch gebräuchliche Adapterstücke (Ref. Nr. 10002245, EKU Elektronik GmbH, 56291 Leiningen, Deutschland) in das Schlauchsystem eingefügt.

Die Applikation von iNO wurde an den folgenden Stellen implementiert (siehe Abbildung 5):

- Im Inspirationsschenkel 20 cm stromabwärts des Ventilatorausgangs
- Im Inspirationsschenkel 10 cm stromaufwärts des Y-Stücks.

Als Probengasentnahmestellen entlang des Schlauchsystems dienten Luerlock-Adapter aus Hartplastik, die über ein Bohrloch eingeführt und anschließend mit Dichtungsklebstoff fixiert wurden. Sie ragen ca. 1 mm in das Schlauchlumen hinein. Folgende sieben Probengasentnahmestellen wurden implementiert (siehe Abbildung 4):

- Im Inspirationsschenkel 40 cm stromabwärts des Ventilatorausganges, also 20 cm stromabwärts der ersten NO-Applikationsmöglichkeit
- Im Inspirationsschenkel 120 cm stromabwärts des Ventilatorausganges, also 100 cm stromabwärts der ersten iNO-Applikationsmöglichkeit
- Im Inspirationsschenkel 4 cm stromaufwärts des Y-Stücks (Messpunkt ausschließlich für CARDINO™)
- Am Y-Stück vor der künstlichen Trachea

- In der Mitte der künstlichen Trachea
- Im Lungensimulator 1
- Am Ende des Exspirationsschenkels direkt vor dem Ventilatoreingang.

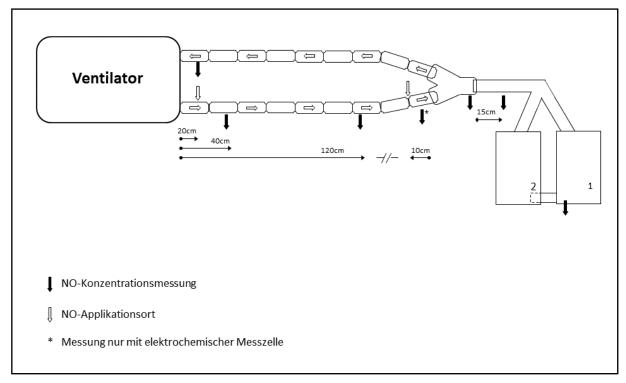


Abbildung 5. NO-Applikations- und Messorte. 1= Inspirationslunge, 2= Exspirationslunge

#### 2.3 iNO-Applikationssystem

Für sämtliche Versuche wurde ein CARDINO™ iNO-Applikationssystem (EKU Elektronik GmbH, 56291 Leiningen, Deutschland) mit der Softwareversion 1.4.4 verwendet. Die NO-Zielkonzentration kann zwischen 0,1 bis 99,9 ppm in 0,1 ppm Schritten gewählt werden. Als NO-Quelle diente ein kommerzielles NO/N2-Gemisch mit 800 ppm NO in einem 10 l Druckgaszylinder (INOmax 800 ppm, INO Therapeutics AB, Lidingö, Sweden), der mit dem iNO-Applikationssystem verbunden wurde. Um die abgegebene NO-Menge an wechselnde AMV anzupassen, kann entweder ein externer Flowsensor angeschlossen, oder eine serielle Datenverbindung mit dem Ventilator hergestellt werden. Für alle hier reportierten Experimente wurde das iNO-Erwachsenenmodus betrieben. Applikationssystem im Eine Messung der Konzentrationen von NO, NO2 und O2 im Nebenstromprinzip wurde ebenfalls integriert. 2 Material und Methoden

Hierfür wurde Probengas mit einer Rate von 180 ml/min aus dem Beatmungsschlauchsystem abgesogen.

Das iNO-Applikationssystem beherrscht drei verschiedene Muster der NO-Dosierung, wovon die ersten beiden klinisch angewendet werden, der letzte sich jedoch in Erprobung befindet und dem Endanwender bislang nicht zugänglich ist.

1) Gleichbleibende NO Abgabe während der gesamten Inspiration, keine NO Abgabe während der Exspiration, im weiteren "**Normalmodus**" genannt.

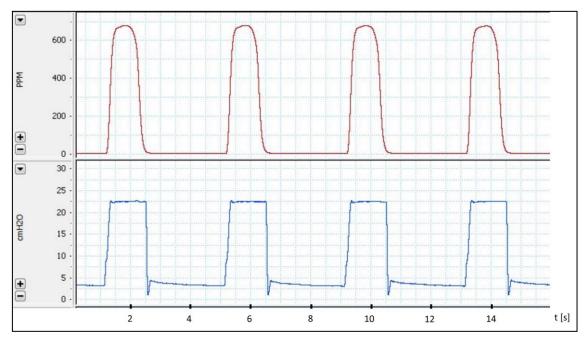


Abbildung 6. Typischer NO-Konzentrationsverlauf (rot) und Atemwegsdruck (blau) bei Verwendung des Normalmodus während druckkontrollierter Beatmung.

2) Gleichbleibende NO-Abgabe während des gesamten Atemzyklus mit einer Frequenz von 104/min, im Weiteren "kontinuierlicher Modus" genannt.

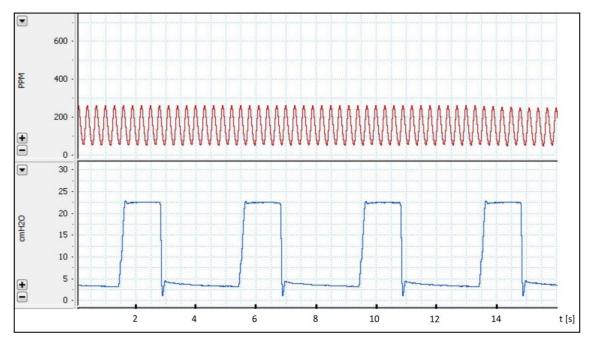


Abbildung 7. Typischer NO-Konzentrationsverlauf (rot) und Atemwegsdruck (blau) bei Verwendung des kontinuierlichen Modus während druckkontrollierter Beatmung.

3) Bolusförmige NO-Abgabe innerhalb des ersten Drittels der Inspiration, keine Abgabe während der Exspiration, im weiteren "**Bolusmodus**" genannt.

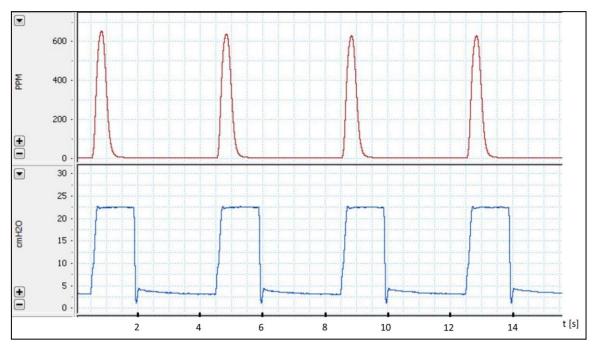


Abbildung 8. Typischer NO-Konzentrationsverlauf (rot) und Atemwegsdruck (blau) bei Verwendung des Bolusmodus während druckkontrollierter Beatmung.

2 Material und Methoden 18

#### 2.4 Ventilator

Für die vorliegende Untersuchung wurde ein Evita™ XL Ventilator mit Softwareversion 07.02 (Dräger Medical AG & Co.KG, Lübeck, Deutschland) verwendet. Dieser Ventilator war ausgerüstet, die für die NO-Dosierung notwendigen Daten an das iNO-Applikationssytem auszugeben. Dies geschah über einen COM-Anschluss mit einer Symbolrate von 9600 Baud unter Verwendung des von beiden Herstellern zugelassenen MEDIBUS®-Protokolls. Medizinischer Sauerstoff und Luft wurden von einem Nullluftgenerator (Eco Physics GmbH, München, Deutschland) von Stickoxiden (NO<sub>x</sub>) und Ozon (O<sub>3</sub>) befreit, bevor sie in den Ventilator eingespeist wurden, um einer Verfälschung der Konzentrationsmessungen durch Kontamination des Atemgasgemisches vorzubeugen. Sauerstoff und Druckluft wurden über eine zentrale Gasversorgung bereitgestellt, werden jedoch auf dem Gelände der in einer Großstadt gelegenen, Klinik aus Umgebungsluft gewonnen. In Untersuchungen auf einer Pariser Intensivstation konnten Eric Mourgeon et al. NO-Konzentrationen über 600 ppb in der Raumluft messen. Diese wurden jedoch nicht durch die Anwendung von iNO bis 5 ppm an Patienten beeinflusst, korrelierten allerdings stark mit der NO-Belastung der Luft unter freiem Himmel (42).

#### 2.5 NO-Analysator

Im verwendeten iNO-Applikationssystem wird die NO-Konzentration mittels einer elektrochemischen Reaktionszelle gemessen. Mit einer Reaktionszeit von 10 s für NO bzw. 40 s für NO<sub>2</sub> bis 90% des Vollausschlages ist die zeitliche Auflösung dieses Messverfahrens zu gering, um schnelle Konzentrationsänderungen zu erfassen.

Um die Analyse von NO-Konzentrationsverläufen während eines Atemzyklus untersuchen zu können, wurde daher zusätzlich ein NOA™ 280i (Sievers Instruments Inc., Boulder, USA) als NO-Analysator verwendet. Dieser Analysator bietet einen Messbereich von 0,0001-500 ppm für NO. Mit einer Reaktionszeit von 67 ms bis 90 % des Vollauschlages. Probengas wurde mit einer Rate von ca. 200 ml/min aus dem Atemkreissystem angesogen. Der NOA™ 280i verwendet die Chemolumineszenzmethode um NO zu messen. Dafür wird der Gasprobe O₃ im Überfluss beigefügt und die folgenden Reaktionen laufen ab:

[1] 
$$NO + O_3 \rightarrow NO_2 + O_2$$

2 Material und Methoden 19

[2] 
$$NO + O_3 \rightarrow NO_2^* + O_2$$
.

Zu 20 % wird angeregtes NO<sub>2</sub>\* gebildet (Reaktion [2]), welches unter Emission von elektromagnetischer Strahlung von 600-3200 nm Wellenlänge wieder in den Grundzustand zurückkehrt:

[3] 
$$NO_2^* \rightarrow NO_2 + h\nu$$
.

Die so emittierte elektromagnetische Strahlung wird photoelektrisch detektiert. Beide Geräte wurden mit einer 300 cm langen Probengasleitung (GE Healthcare, Solingen, Deutschland, Ref-Nr. 73319) mit dem Beatmungsschlauchsystem verbunden.

#### 2.5.1 Ermittlung der Transportverzögerung des NOA™ 280i

Bedingt durch die Länge der Probengasleitung und die interne Verarbeitungszeit der Gasprobe im NOA™ 280i Anaysator erreicht das NO-Signal die Software zur Datenaufzeichnung verzögert im Vergleich zum Atemwegsdruck- und Flowsignal. Um diese Transportverzögerung während der Datenanalyse berücksichtigen zu können, wurde sie experimentell bestimmt.

Atemwegsdruck- und NO-Messleitung wurden mit einem T-Stück verbunden, anschließend wurde die NO-Messleitung mit reichlich NO- und NO<sub>2</sub>-freier Luft aus dem Nullluftgenerator gespült. Nun wurde das T-Stück mit einem geschlossenen Dreiwegehahn verbunden, auf den eine manuell unter Druck gesetzte 5 ml Spritze aufgesteckt war, die mit 800 ppm NO-Gas gefüllt war. Der Dreiwegehahn wurde geöffnet und das NO-Gas entleerte sich explosionsartig in Richtung von NO- und Druckmessung. Die Messung wurde fünfmal wiederholt und die Zeitdifferenz zwischen Beginn des Druckanstiegs und Beginn des NO-Konzentrationsanstiegs wurde mittels der Datenaufzeichungs- und Analysesoftware Labchart 7 Pro ermittelt.

Tabelle 1. Zeitdifferenzen (Δt) zwischen Anstieg des Atemwegsdruck und NO-Konzentration.

Messung	1	2	3	4	5
Δt in ms	1420	1420	1425	1420	1420

Im Mittelwert ergab sich eine Transportverzögerung von 1421 ms mit einer Standardabweichung (SD) von 2 ms.

#### 2.6 Kalibration

Eine Zweipunktkalibration des NOA™ 280i Analysators wurde täglich vor Versuchsbeginn durchgeführt. Für die Nullpunktkalibration wurde der vom Hersteller empfohlene Nullluftfilter (Artikelnr. ACT 01400, Sievers Instruments Inc., Boulder, USA) benutzt. Für den zweiten Kalibrationspunkt bei 90 ppm wurde ein Eichgas mit 90 ppm NO in N₂ (Produktnr. A 04010110, Westfalen AG, Münster, Deutschland) verwendet.

Kalibration des NO-Nullpunktes, des NO<sub>2</sub>-Nullpunktes und des 21% O<sub>2</sub>-Punktes des CARDINO™ wurden täglich gemäß der Herstelleranweisung durchgeführt. Kalibration der Hochpunkte für NO, NO<sub>2</sub> und der 100% O<sub>2</sub>-Punkt wurden regelmäßig durch den Hersteller vorgenommen. Eine Zweipunktkalibration des Pneumotachographen wurde täglich mit einer geeichten 2 L Kalibrationsspritze (Artikelnr. 720253, Erich Jaeger GmbH, Höchberg, Deutschland) durchgeführt. Die Messung des Atemwegdrucks wurde ebenfalls einer täglichen Zweipunktkalibration mit einem geeichten Präzisionsquecksilbermanometer unterzogen.

#### 2.7 Versuchsablauf

Unter iNO-Therapie eines maschinell beatmeten Patienten nimmt mit steigender  $F_1O_2$  auch die Oxidation von NO zu toxischem  $NO_2$  zu. Um die höchste  $NO_2$ -Bildung im Sinne eines worst case scenario zu erreichen, wurden alle Versuche bei einer  $F_1O_2$  von 1 durchgeführt. Alle Versuche wurden mit einer Atemfrequenz von 15 min<sup>-1</sup> durchgeführt. Bei Verwendung des kontinuierlichen Modus muss das erwartete Minutenvolumen am iNO-Applikationssystem manuell eingestellt werden. Da das Minutenvolumen am iNO-Applikationssystem nicht frei wählbar ist, sondern bestimmte Intervalle vorgegeben sind, wurden die jeweils nächstmöglichen Minutenvolumina zum Ziel-Minutenvolumen (untersuchtes  $V_t$  x Atemfrequenz 15/min) eingestellt. Für Versuche mit  $V_t$ =230 ml wurde 3,5 l/min, für Versuche mit  $V_t$ =450 ml wurde 6,5 l/min und für Versuche mit  $V_t$ =750 ml wurde 11 l/min eingestellt.

Um im Lungensimulator 1 (siehe Abbildung 2) nach Ende der Exspiration ein Restvolumen analog der funktionellen Residualkapazität (FRC) des Menschen zu erhalten, wurde ein positiver endexspiratorischer Druck (PEEP) von 3 cm $H_2O$  angewendet. Jeder einzelne Versuch begann mit einer Äquilibrierungsphase von 180 s Dauer. Nachdem alle Einstellungen an Ventilator und iNO-Applikationssystem

vorgenommen wurden, wurden Beatmung, NO-Dosierung und Datenaufzeichnung in LabChart™ gestartet und die Äquilibrierungsphase begann. Die Äquilibrierungsphase diente dazu, stabile Messungen für NO und NO₂ am CARDINO und NOA 280i zu erhalten, eine möglichst konstante, AMV-abhängige NO-Dosierung zu erreichen sowie Inspirationsschenkel und Probengasleitungen mit dem für den Versuch gewünschten Gasgemisch zu füllen. Ohne Unterbrechung von Ventilation, NO-Dosierung oder Datenaufzeichnung schloss sich der Äquilibrierungsphase eine Versuchsphase von 120 s Dauer an.

## 2.8 NO-Konzentrationsmessungen

Während der Experimente fand die Probenentnahme für die NO-Konzentrationsmessung mittels der elektrochemischen Reaktionszelle des iNO-Applikationssystems an der vom Hersteller empfohlenen Position statt. Diese Position soll im Inspirationsschenkel so nah wie möglich am Y-Stück liegen mit einem Mindestabstand von 500 mm (im Erwachsenenmodus) zu der iNO-Applikationsstelle. Mit dem elektrochemischen Sensor gemessene NO-Werte wurden während aller Experimente bei 60 und 120 s manuell aufgezeichnet.

Daraus ergibt sich, dass in den Versuchen, in denen die iNO-Applikation 10cm stromaufwärts vom Y-Stück erfolgte, der oben genannte Mindestabstand von 500 mm nicht eingehalten werden konnte (siehe Abbildung 5).

Die NO-Konzentrationsmessungen mit dem NOA™ 280i Analysator wurden an sechs alternativen Messpunkten entlang des Versuchsaufbaus durchgeführt (siehe Abbildung 5):

- Im Inspirationsschenkel 40 cm stromabwärts des Ventilatorausganges, also 20 cm stromabwärts der ersten iNO-Applikationsmöglichkeit
- Im Inspirationsschenkel 120 cm stromabwärts des Ventilatorausganges, also 100 cm stromabwärts der ersten iNO-Applikationsmöglichkeit
- Am Y-Stück vor der künstlichen Trachea
- In der Mitte der künstlichen Trachea
- Im Lungensimulator 1

Am Ende des Exspirationsschenkels direkt vor dem Ventilatoreingang.

#### 2.9 Untersuchte Variablen

Die folgenden Variablen wurden in den fünfminütigen Einzelversuchen, bestehend aus 180 s Äquilibrierungsphase und 120 s Versuchsphase, untersucht. Die verschiedenen Kombinationen der u.g. Variablen ergab eine Gesamtzahl von 1104 Versuchen.

#### 2.9.1 Eingestellte NO-Dosis

Die Versuche wurden mit, am iNO-Applikationssystem eingestellten Zielkonzentrationen von 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm oder 40 ppm durchgeführt.

#### 2.9.2 Atemzeitverhältnis

Zwei verschiedene Atemzeitverhältnisse wurden untersucht. Einerseits das physiologische Atemzeitverhältnis des Erwachsenen von 1:1,9, welches im Allgemeinen während der maschinellen Beatmung von Lungengesunden eingesetzt wird. Anderseits ein Atemzeitverhältnis von 1:1, um Beatmungsstrategien, wie sie bei ARDS-Patienten mit stark reduzierter Compliance zum Einsatz kommen, zu repräsentieren.

#### 2.9.3 Beatmungsform

Alle Experimente wurden unter volumen- und druckkontrollierter Beatmung durchgeführt. Als Vertreter der volumenkontrollierten Beatmung mit konstantem Flow wurde der IPPV (intermittent positive pressure ventilation) Modus des Ventilators gewählt. Der Frischgasfluss wurde auf 35 l/min eingestellt, so dass ein Vt von 750 ml bei einem Atemzeitverhältnis von 1:1 und einer Atemfrequenz von 15/min vom Ventilator zuverlässig abgegeben werden konnte. Für die Versuche unter druckkontrollierter Beatmung kam der BIPAP (biphasic positive airway pressure) Modus des Ventilators zum Einsatz. Die Druckanstiegszeit, also die Zeit zwischen Inspirationsbeginn und Erreichen des vorgegebenen inspiratorischen Druckniveaus, betrug 200 ms. Für beide Beatmungsformen wurden die Autoflowfunktion, die Tubuskompensation sowie die Leckagekompensation deaktiviert. Um zu verhindern, dass irrtümlich die Unterstützung

für Spontanatemversuche ausgelöst wird, wurde die Flowtriggerempfindlichkeit auf 15 l/min eingestellt.

#### 2.9.4 Tidalvolumina

Die Versuche wurden mit drei Tidalvolumina durchgeführt, um unterschiedliche klinische Beatmungsstrategien zu repräsentieren:

- 230 ml: ungefähr 3 ml/kg Körpergewicht (KG) eines 75 kg schweren Patienten; ein als "ultralungenprotektiv" bezeichnetes V<sub>t</sub>, wie es bei Patienten mit ARDS angewandt wird, die häufig zusätzlich eine extrakorporale Unterstützung des Gasaustauschs erhalten (6).
- 450 ml: 6 ml/kg eines 75 kg schweren Patienten; "lungenprotektives" V<sub>t</sub>, wie es in der Intensivmedizin zur Vorbeugung Ventilator-assoziierter Lungenschäden zum Einsatz kommt (43).
- $\bullet$  750 ml: 10 ml/kg eines 75 kg schweren Patienten; "konventionelles"  $V_t$ , beispielsweise während Allgemeinanästhesie.

Um den Inspirationsdruck ( $P_{insp}$ ) zu bestimmen, welcher unter druckkontrollierter Beatmung möglichst genau das gewünschte  $V_t$  von 230, 450 oder 750 ml liefert, waren Anpassungen des  $P_{insp}$  während der ersten 60 s der Äquilibrierungsphase erlaubt. Auskunft über die benötigten  $P_{insp}$  bei gegebenem Atemzeitverhältnis gibt Tabelle 1.

Tabelle 2. Benötigte Inspirationsdrucke in mbar. n=93; Werte sind als Mitttelwerte  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.

I:E Verhältnis	1 zu 1			1 zu 1,9		
Tidalvolumen	230 ml	450 ml	750 ml	230 ml	450 ml	750 ml
Inspirationsdruck	15 ± 0,28	22,1 ± 0,49	31,42 ± 0,6	15,02 ± 0,14	22,23 ± 0,42	34,15 ± 0,69

#### 2.9.5 Modus der NO-Applikation

Alle drei Applikationsmodi des CARDINO™ iNO-Applikationssystems wurden verwendet. Der Bolusmodus, die flowproportionale Abgabe während der gesamten

Inspiration (hier "Normalmodus" genannt) und schließlich der kontinuierliche Modus (siehe auch 2.3).

#### 2.9.6 Ort der iNO-Applikation in das Beatmungsschlauchsystem

Prinzipiell wurde NO in den Inspirationsschenkel unmittelbar stromabwärts des Pneumotachographen, also nahe dem Ventilatorausgang, zugeführt, wie im klinischen Alltag üblich und vom Hersteller des iNO-Applikationssystems gefordert. Um zu untersuchen, ob eine Y-stücknahe iNO-Applikation bei Verwendung des Bolusmodus vorteilhaft hinsichtlich der NO-Konzentration in der künstlichen Lunge ist, wurden zusätzlich Versuche mit iNO-Applikation im Inspirationsschenkel 10 cm stromaufwärts des Y-Stücks durchgeführt.

## 2.10 Datenaufzeichnung und -auswertung

Der am Y-Stück gemessene Atemwegsdruck, der mit dem Pneumotachographen gemessene Atemgasfluss sowie die NO-Konzentrationen, gemessen mit dem NOA™ 280i Analysator, wurden mit einer Abtastrate von 200 Hertz von der Physiologieplattform Powerlab™ (ADInstruments GmbH, Spechbach, Deutschland) und einem Computer, ausgestattet mit der Datenaufzeichnungs- und Analysesoftware LabChart™ 7 Pro (Software Version 7.3.7, ADInstruments GmbH, Spechbach, Deutschland) aufgezeichnet und digital gespeichert. Die am CARDINO™ gemessenen Konzentrationen von NO und NO₂ jeweils 60 und 120 s nach Versuchsbeginn, der eingestellte Inspirationsdruck (bei druckkontrollierter Beatmung) sowie das von iNO-Applikationssystem und Ventilator angezeigte AMV bei Versuchsbeginn wurden manuell aufgezeichnet und nach Versuchsende in eine Excel-Tabelle übertragen und digital gespeichert.

Mittels der Analysefunktion der LabChart™ Software wurden minimale, maximale und mittlere NO-Konzentration sowie minimaler, maximaler und mittlerer Atemwegsdruck für jedes 120-sekündige Experiment automatisiert ermittelt. Für die 30 individuellen Atemzüge eines Experiments wurden zusätzlich der Zeitpunkt des Inspirationsbeginns, Zeitpunkt der maximalen NO-Konzentration, Vt und NO-Menge in µl ermittelt. Um die absolute Menge NO-Gas, welche während eines Atemzuges einen der Messpunkte passiert hat, zu ermitteln, wurde zunächst die NO-Konzentrationskurve mit der Flowkurve multipliziert. Die Dimension der Datenpunkte der resultierenden Kurve ist das Produkt der Dimensionen der Ausgangskurve, also:

 $\frac{l}{s} \times ppm$ . Da  $ppm = \frac{\mu l}{l}$ , ergibt sich  $\frac{l}{s} \times \frac{\mu l}{l} \Rightarrow \frac{\mu l}{s}$ .

Anschließend wurde die resultierende Kurve integriert. Für die Dimension des Integrals ergibt sich:  $\frac{\mu L}{s} \times s \Rightarrow \mu l$ .

Zur Ermittlung der mittleren NO-Konzentration des einzelnen Atemzuges wurde die gemessene Menge NO-Gas durch das pneumotachographisch gemessene Tidalvolumen geteilt. Sämtliche angegebenen NO-Konzentrationen beziehen sich auf Messungen mit dem NOA 280i<sup>TM</sup> Analysator, wenn nicht anders angegeben. Sämtliche angegebenen NO<sub>2</sub>-Konzentrationen beziehen sich auf Messungen mit dem CARDINO<sup>TM</sup> iNO-Applikationssystem. Die statistische Auswertung wurde mit den Programmen Prism 6 (Version 6.01, GraphPad Software, La Jolla, Kalifornien, USA) und Excel 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) vorgenommen. Für alle statistischen Tests wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha$ =0,05 festgelegt. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant angesehen und die Nullhypothese in diesem Fall zugunsten der Alternativhypothese verworfen.

## 3 Ergebnisse

## 3.1 Mittlere NO-Konzentrationen im Inspirationsgasgemisch

Um zu untersuchen, ob die, am iNO-Applikationssystem eingestellte NO-Zielkonzentration im Inspirationsgasgemisch im Bolusmodus erreicht wird, wurden die Werte des Messortes 120 cm stromabwärts des Ventilators betrachtet. Es wurde ein Messort im Inspirationsschenkel möglichst weit von der iNO-Applikationsstelle gewählt, um insbesondere für Vergleichsmessungen im Normal- und kontinuierlichen Modus eine möglichst homogene Durchmischung des Inspirationsgemisches zu gewährleisten. Es wurde nicht der noch weiter von der iNO-Applikationsstelle entfernte Messort am Y-Stück gewählt, da hier eine retrograde Probennahme aus der Trachea und dem Exspirationsschenkel prinzipiell nicht ausgeschlossen werden kann.

Abhängig von Tidalvolumen und NO-Zielkonzentration sind die Ergebnisse für den Bolusmodus in Abbildung 9 dargestellt. Die mittleren NO-Konzentrationen pro Atemzug (n = 120) wurden mittels des *Wilcoxon*-Vorzeichenrangtestes mit der jeweiligen NO-Zielkonzentration verglichen. Ein "\*" markiert einen signifkanten Unterschied zur NO-Zielkonzentration.

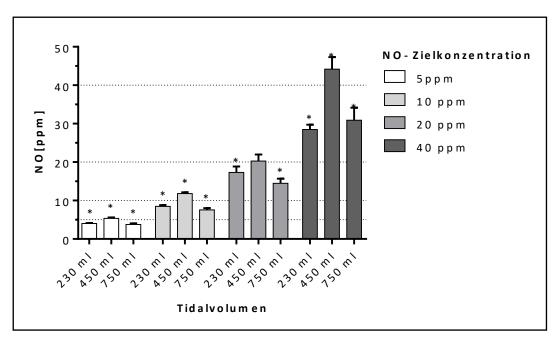


Abbildung 9. <u>Bolusmodus</u>: Mittlere NO-Konzentrationen mit SD pro Atemzug am Messort 120 cm nach Ventilatorausgang. n = 120; \* = signifikanter Unterschied zur NO-Zielkonzentration.

Einzig bei Versuchen mit Tidalvolumen 450 ml und 20 ppm NO-Zielkonzentration fand sich mit 20,26  $\pm$  1,73 ppm kein signifikanter Unterschied zwischen Ist- und Zielkonzentration. Bei Versuchen mit 450 ml V $_{t}$  und NO-Zielkonzentrationen 5 ppm, 10 ppm und 40 ppm lagen die mittleren NO-Konzentrationen mit 5,34  $\pm$  0,28 ppm, 11,81  $\pm$  0,35 ppm sowie 44,19  $\pm$  3,13 ppm signifikant über der Zielkonzentration. In den übrigen Gruppen waren die mittleren NO-Konzentrationen signifikant geringer als die Zielkonzentration (siehe Abbildung 9).

Abbildung 10 zeigt die mittleren NO-Konzentrationen im Inspirationsgasgemisch unter Verwendung aller drei Applikationsmodi im Verhältnis zu den Zielkonzentrationen in Prozent. Bei nicht gegebener Normalverteilung wurden die drei Dosiermodi mittels des *Kruskal-Wallis-*Tests mit *Dunn's* Korrektur für multiples Testen verglichen.

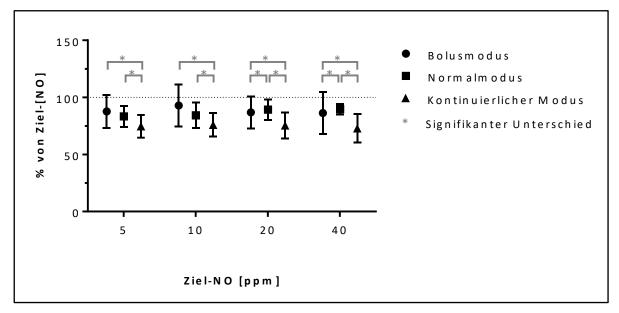


Abbildung 10. Mittlere NO-Konzentrationen im Inspirationsgas relativ zur Zielkonzentration bei den drei untersuchten Applikationsmodi. Mittelwerte mit SD, n = 360 (bzw. 354 bei Normalmodus, 5 ppm).

Die mittleren NO-Konzentrationen im Inspirationsgas unterschieden sich zwischen Bolus- und Normalmodus bei den Zielkonzentrationen 5 ppm (87,69  $\pm$  14,41 % vs. 83,36  $\pm$  9,16 %) und 10 ppm (92,86  $\pm$  18,57 % vs. 84,32  $\pm$  11,2 %) nicht signifikant Bei den Zielkonzentrationen 20 ppm (86,79  $\pm$  14 % vs. 89,21  $\pm$  9,12 %) und 40 ppm (86,32  $\pm$  18,54 % vs. 89,6  $\pm$  4,59 %) waren die mittleren NO-Konzentrationen im Inspirationsgas im Bolusmodus geringer als im Normalmodus. Bei Verwendung des kontinuierlichen

Modus waren die mittleren NO-Konzentrationen im Inspirationsgas bei allen Zielkonzentrationen geringer verglichen mit Bolus- als auch Normalmodus (siehe Abbildung 10).

## 3.2 Mittlere NO-Konzentrationen in der künstlichen Lunge

Es wurde die mittlere NO-Konzentration pro Atemzug der Einzelexperimente im Bolusmodus mit den anderen beiden Dosiermodi verglichen. Jedes Experiment stellt eine einmalige Kombination der untersuchten Variablen (Ziel-[NO],  $V_t$ , Beatmungsform, Atemzeitverhältnis) dar. Entsprechend einer zweiminütigen Versuchsdauer bei einer Atemfrequenz von 15/min, betrug der Stichprobenumfang stets n=30.

Innerhalb der einzelnen Stichproben ist von Normalverteilung der Daten auszugehen. Stichprobenartige Durchführung des *Shapiro-Wilk-*Tests auf Normalverteilung sowie Betrachtung von Boxplot und Histogramm gab kein Anlass, die Annahme einer Normalverteilung zu verwerfen. Bei Berechnung des *Brown-Forsythe-*Tests auf Varianzhomogenität für die zu vergleichenden Gruppen aus drei Stichproben (Bolusmodus, Normalmodus, kontinuierlicher Modus) zeigte sich für 36 von 48 (75%) Dreiergruppen ein signifikantes Ergebnis, so dass die Nullhypothese, nämlich Annahme der Varianzhomogenität verworfen werden musste.

Daher wurde der nicht-paramatrische *Kruskal-Wallis-*Test verwendet. Bei signifikantem Ergebnis wurde als *Post-Hoc-*Test *Dunn's* Test mit Korrektur für multiples Testen berechnet. Ein positiver Wert in der Spalte "Unterschied mittlerer Rang" in den Tabellen 3 und 4 bei signifikantem Ergebnis bedeutet, dass die mittleren NO-Konzentrationen bei Verwendung des Bolusmodus höher waren als im Normalmodus. Ein negativer Wert bei signifikantem Ergebnis bedeutet, dass die mittleren NO-Konzentrationen bei Verwendung des Bolusmodus niedriger waren als im Normalmodus.

#### 3.2.1 Bolusmodus im Vergleich mit Normalmodus

Die mittlere NO-Konzentration in der künstlichen Lunge war bei allen Experimenten mit  $V_t$ = 750 ml im Bolusmodus geringer als im Normalmodus. Bei einer NO-Zielkonzentration von 40 ppm war die mittlere NO-Konzentration auch bei Experimenten mit  $V_t$ = 230 ml bei Verwendung des Bolusmodus geringer als im

Normalmodus (siehe Tabelle 3). Bei den Experimenten mit  $V_t$  230 ml, NO-Zielkonzentration 5 ppm, druckkontrollierter Beatmung, Atemzeitverhältnis 1:1 sowie mit  $V_t$  230 ml, Ziel-[NO] 20 ppm, druckkontrollierter Beatmung, Atemzeitverhältnis 1:1,9 unterschieden sich die mittleren NO-Konzentrationen zwischen Bolus- und Normalmodus nicht. Bei allen übrigen Experimenten war die mittlere NO-Konzentration in der künstlichen Lunge bei Verwendung des Bolusmodus signifikant höher als bei Verwendung des Normalmodus. Zusammenfassend war die mittlere NO-Konzentration in der künstlichen Lunge bei Verwendung des Bolusmodus in 54,2 % der verglichenen Experimente höher, in 41,6 % niedriger und in 4,2 % ohne Unterschied im Vergleich zum Normalmodus.

Ziel [NO]	Versuchsparameter	Bolusmodus Mittelwert (SD)	Normalmodus Mittelwert (SD)	Unterschied mittlerer Rang	Adjustierter P-Wert
5 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	3,14 (0,02)	3,12 (0,02)	12,1	0,147
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	4,27 (0,03)	3,32 (0,02)	30	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	3,27 (0,07)	4,08 (0,02)	-60	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	3,26 (0,02)	2,99 (0,02)	59,8	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	4,35 (0,04)	3,34 (0,02)	60	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	3,4 (0,05)	4,07 (0,01)	-57,2	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	3,45 (0,02)	3,19 (0,02)	59,9	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	4,29 (0,02)	3,61 (0,02)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	3,61 (0,04)	3,85 (0,01)	-38,1	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	3,43 (0,03)	3,17 (0,02)	55,5	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	4,26 (0,03)	3,63 (0,01)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	3,66 (0,03)	3,86 (0,01)	-49	< 0,0001
10 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	6,83 (0,05)	6,24 (0,05)	30,1	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	9,11 (0,05)	7,27 (0,04)	30	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	6,63 (0,06)	8,52 (0,04)	-60	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	6,7 (0,03)	6,35 (0,03)	34,2	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	8,94 (0,04)	7,59 (0,04)	30	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	6,9 (0,04)	8,27 (0,05)	-59,7	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	7,04 (0,02)	6,63 (0,03)	50,9	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	8,75 (0,03)	7,14 (0,04)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	7,17 (0,06)	7,9 (0,04)	-59,8	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	7,07 (0,02)	6,55 (0,02)	52,1	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	8,75 (0,04)	7,46 (0,04)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	7,27 (0,05)	8,18 (0,04)	-60	< 0,0001
20 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	13,47 (0,11)	12,85 (0,45)	42,8	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	17,1 (0,07)	15,31 (0,06)	30	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	12,52 (0,3)	16,64 (0,04)	-30	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	13,2 (0,1)	13,26 (0,07)	-9,37	0,3298
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	16,6 (0,04)	15,57 (0,07)	30	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	13,01 (0,17)	16,59 (0,06)	-30	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	13,81 (0,05)	13,13 (0,05)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	16,25 (0,21)	15,17 (0,08)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	13,54 (0,15)	15,17 (0,05)	-30	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	13,69 (0,04)	12,96 (0,04)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	16,14 (0,18)	15,58 (0,07)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	13,68 (0,19)	16,09 (0,09)	-30	< 0,0001
40 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	25,11 (0,16)	26,98 (0,13)	-30	< 0,0001
. о рр	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	32,11 (0,29)	31,46 (0,21)	28	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	27,25 (0,51)	34,17 (0,12)	-60	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	24,44 (0,14)	26,26 (0,11)	-30	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	33,19 (0,19)	31,58 (0,18)	30	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	27,88 (0,55)	33,06 (0,1)	-40,5	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	25,22 (0,5)	26,57 (0,07)	-30	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	32,86 (0,23)	30,14 (0,12)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	29,5 (0,46)	30,95 (0,13)	-29,9	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	26,16 (0,11)	26,67 (0,06)	-30	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	32,64 (0,29)	30,22 (0,1)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	29,75 (0,32)	31,92 (0,1)	-31	< 0,0001

#### 3.2.2 Bolusmodus im Vergleich mit kontinuierlichem Modus

Die mittlere NO-Konzentration in der künstlichen Lunge war bei allen Experimenten mit  $V_t$ = 750 ml im Bolusmodus geringer als im kontinuierlichen Modus (siehe Tabelle 4). Bei einer NO-Zielkonzentration von 20 ppm war die mittlere NO-Konzentration auch bei Experimenten mit  $V_t$ = 230 ml bei Verwendung des Bolusmodus geringer als im kontinuierlichen Modus, ausgenommen das Experiment mit druckkontrollierter Beatmung und Atemzeitverhältnis 1:1. In allen übrigen Experimenten war die mittlere NO-Konzentration in der künstlichen Lunge bei Verwendung des Bolusmodus höher als bei Verwendung des kontinuierlichen Modus. Zusammenfassend war Die mittlere NO-Konzentration in der künstlichen Lunge bei Verwendung des Bolusmodus in 60,4 % der verglichenen Experimente signifikant höher und in 39,6 % niedriger im Vergleich zum kontinuierlichen Modus.

Ziel [NO]	Versuchsparameter	Bousmodus Mittelwert (SD)	Kont. Modus Mittelwert (SD)	Unterschied mittlerer Rang	Adjustierter P-Wert
5 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	3,14 (0,02)	2,38 (0,06)	51	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	4,27 (0,03)	3,11 (0,04)	60	< 0,0001
i	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	3,27 (0,07)	3,87 (0,03)	-30	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	3,26 (0,02)	3,17 (0,02)	29,6	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	4,35 (0,04)	3,46 (0,02)	30	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	3,4 (0,05)	4,03 (0,03)	-32,8	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	3,45 (0,02)	3,38 (0,02)	29,9	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	4,29 (0,02)	3,29 (0,02)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	3,61 (0,04)	3,87 (0,02)	-52	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	3,43 (0,03)	3,4 (0,02)	20,9	0,0038
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	4,26 (0,03)	3,32 (0,02)	60	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	3,66 (0,03)	3,85 (0,02)	-41	< 0,0001
10 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	6,83 (0,05)	6,11 (0,03)	59,9	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	9,11 (0,05)	6,94 (0,04)	60	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	6,63 (0,06)	8,15 (0,05)	-30	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	6,7 (0,03)	6,31 (0,03)	55,8	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	8,94 (0,04)	6,97 (0,03)	60	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	6,9 (0,04)	8,01 (0,07)	-30,3	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	7,04 (0,02)	6,65 (0,02)	39,1	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	8,75 (0,03)	6,75 (0,04)	60	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	7,17 (0,06)	7,81 (0,02)	-30,2	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	7,07 (0,02)	6,58 (0,03)	37,9	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	8,75 (0,04)	6,71 (0,03)	60	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	7,27 (0,05)	7,71 (0,03)	-30	< 0,0001
20 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	13,47 (0,11)	13,08 (0,07)	35,5	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	17,1 (0,07)	14,7 (0,14)	60	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	12,52 (0,3)	17,33 (0,08)	-60	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	13,2 (0,1)	13,52 (0,04)	-49,7	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	16,6 (0,04)	14,96 (0,06)	60	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	13,01 (0,17)	17,51 (0,11)	-60	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	13,81 (0,05)	14,1 (0,04)	-30	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	16,25 (0,21)	14,34 (0,06)	60	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	13,54 (0,15)	17,13 (0,08)	-60	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	13,69 (0,04)	14,04 (0,04)	-30	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	16,14 (0,18)	14,36 (0,07)	60	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	13,68 (0,19)	17,02 (0,05)	-60	< 0,0001
40 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	25,11 (0,16)	22,68 (0,11)	30	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	32,11 (0,29)	27,1 (0,27)	59	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	27,25 (0,51)	33,3 (0,18)	-30	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	24,44 (0,14)	23,32 (0,05)	30	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	33,19 (0,19)	27,95 (0,22)	60	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	27,88 (0,55)	33,16 (0,18)	-49,6	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	25,22 (0,5)	23,84 (0,09)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	32,86 (0,23)	26,2 (0,11)	60	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	29,5 (0,46)	32,24 (0,11)	-59,9	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	26,16 (0,11)	23,75 (0,04)	30	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	32,64 (0,29)	26,14 (0,14)	60	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	29,75 (0,32)	32,21 (0,15)	-59	< 0,0001

## 3.3 Vergleich Y-Stück-naher und -ferner iNO-Applikation im Bolusmodus

Unter iNO-Applikation im Bolusmodus wurden die mittleren NO-Konzentrationen in der künstlichen Lunge bei Applikation in herkömmlicher Postition 20 cm nach Ventilatorausgang mit Applikation 10 cm vor dem Y-Stück verglichen (siehe Tabelle 5).

Innerhalb der einzelnen Stichproben wird eine Normalverteilung der Daten angenommen. Stichprobenartige Durchführung des *Shapiro-Wilk-*Tests auf Normalverteilung sowie Betrachtung von Boxplot und Histogramm gaben kein Anlass, die Annahme einer Normalverteilung zu verwerfen. Für jedes zu vergleichende Stichprobenpaar wurde der *Brown-Forsythe-*Test auf Varianzhomogenität berechnet. Da die Varianzhomogenität nicht für alle Stichprobenpaare gegeben war, wurde der T-Test für unverbundene Stichproben mit *Welch-*Korrektur für ungleiche Varianzen verwendet.

Bei den beiden Experimenten mit NO-Zielkonzentration 5 ppm, volumenkontrollierter Beatmung, Atemzeitverhältnis 1:1 und Tidalvolumina 230 ml und 450 ml war die mittlere NO-Konzentration in der Lunge höher unter Y-Stück ferner NO-Applikation. Unter den übrigen 46 verglichenen Versuchsbedingungen war die mittlere NO-Konzentration unter iNO-Applikation nahe dem Y-Stück signifikant höher als unter Applikation 20 cm nach dem Ventilatorausgang.

Ziel [NO]	Versuchsparameter	Y-Stück nah Mittelwert (SD)	Y-Stück fern Mittelwert (SD)	Unterschied der Mittelwerte	95% CI der Unterschiede	P-Wert
5 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	4,674(0,1)	3,14 (0,02)	1,51	1,47 bis 1,55	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	5,04 (0,08)	4,27 (0,03)	0,76	0,73 bis 0,8	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	5,1 (0,08)	3,27 (0,07)	1,82	1,79 bis 1,86	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	4,25 (0,1)	3,26 (0,02)	1	0,96 bis 1,03	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	4,94 (0,07)	4,35 (0,04)	0,6	0,57 bis 0,62	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	4,94 (0,05)	3,4 (0,05)	1,55	1,52 bis 1,57	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	3,24 (0,09)	3,45 (0,02)	-0,21	-0,24 bis -0,17	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	4,2 (0,04)	4,29 (0,02)	-0,09	-0,11 bis -0,08	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	4,58 (0,04)	3,61 (0,04)	0,98	0,96 bis 1	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	3,95 (0,06)	3,43 (0,03)	0,52	0,5 bis 0,54	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	4,56 (0,05)	4,26 (0,03)	0,29	0,27 bis 0,31	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	4,72 (0,05)	3,66 (0,03)	1,07	1,05 bis 1,09	< 0,0001
10 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	8,36 (0,31)	6,83 (0,05)	1,53	1,41 bis 1,64	< 0,0001
10 pp	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	9,44 (0,18)	9,11 (0,05)	0,33	0,26 bis 0,4	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	9,76 (0,12)	6,63 (0,06)	3,12	3,07 bis 3,17	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	8,07 (0,17)	6,7 (0,03)	1,37	1,30 bis 1,43	< 0,0001
				0,91		< 0,0001
	PCV: Vt 450ml; I:E 1:1,9	9,85 (0,17)	8,94 (0,04)		0,88 bis 0,95	
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	9,89 (0,09)	6,9 (0,04)	2,99	2,96 bis 3,03	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	7,65 (0,23)	7,04 (0,02)	0,6	0,52 bis 0,69	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	10 (0,06)	8,75 (0,03)	1,25	1,23 bis 1,28	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	10,24 (0,1)	7,17 (0,06)	3,07	3,03 bis 3,12	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	7,7 (0,27)	7,07 (0,02)	0,64	0,54 bis 0,74	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	9,73 (0,05)	8,75 (0,04)	0,97	0,95 bis 1	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	9,8 (0,12)	7,27 (0,05)	2,53	2,48 bis 2,58	< 0,0001
20 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	16,03 (0,67)	13,47 (0,11)	2,55	2,30 bis 2,81	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	19,35 (0,18)	17,1 (0,07)	2,25	2,18 bis 2,32	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	20,39 (0,28)	12,52 (0,3)	7,86	7,71 bis 8,01	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	13,95 (0,4)	13,2 (0,1)	0,75	0,6 bis 0,9	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	19,58 (0,31)	16,6 (0,04)	2,98	2,87 bis 3,1	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	19,9 (0,16)	13,01 (0,17)	6,89	6,8 bis 6,97	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	14,99 (0,11)	13,81 (0,05)	1,18	1,13 bis 1,23	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	19,03 (0,12)	16,25 (0,21)	2,77	2,68 bis 2,86	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	20,33 (0,24)	13,54 (0,15)	6,79	6,69 bis 6,89	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	14,78 (0,4)	13,69 (0,04)	1,1	0,95 bis 1,25	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	19,1 (0,1)	16,14 (0,18)	2,94	2,86 bis 3,02	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	20,11 (0,37)	13,68 (0,19)	6,43	6,28 bis 6,58	< 0,0001
40 ppm	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1	35,2 (1,5)	25,11 (0,16)	9,52	9,52 bis 10,7	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1	39,27 (0,59)	32,11 (0,29)	7,16	6,92 bis 7,4	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1	42,15 (0,57)	27,25 (0,51)	14,9	14,6 bis 15,2	< 0,0001
	PCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	31,86 (0,75)	24,44 (0,14)	7,42	7,13 bis 7,7	< 0,0001
	PCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	39,19 (0,45)	33,19 (0,19)	6	5,82 bis 6,18	< 0,0001
	PCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	41,14 (0,47)	27,88 (0,55)	13,3	13 bis 13,5	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1	32,45 (0,88)	25,22 (0,5)	7,23	6,86 bis 7,6	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1	39,14 (0,2)	32,86 (0,23)	6,27	6,16 bis 6,39	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1	40,93 (0,63)	29,5 (0,46)	11,4	11,1 bis 11,7	< 0,0001
	VCV; Vt 230ml; I:E 1:1,9	33,91 0,89)	26,16 (0,11)	7,75	7,42 bis 8,09	< 0,0001
	VCV; Vt 450ml; I:E 1:1,9	39,04 (0,15)	32,64 (0,29)	6,4	6,28 bis 6,52	< 0,0001
	VCV; Vt 750ml; I:E 1:1,9	40,87 (0,43)	29,75 (0,32)	11,1	10,9 bis 11,3	< 0,0001

#### 3.4 Maximalkonzentrationen

#### 3.4.1 Maximale NO-Konzentrationen

Die insgesamt höchste NO-Konzentration betrug 199,768 ppm, gemessen am trachealen Messsort während Versuch Nr. 744 (volumenkontrollierte Beatmung; Atemzeitverhältnis 1:1,9; Vt 750 ml, Ziel NO-Konzentration 40 ppm). Es muss angemerkt werden, dass iNO bei diesemVersuch 10 cm stromaufwärts des Y-Stücks im Bolusmodus appliziert wurde. Unter diesen Versuchsbedingungen wurde mit 54,06 ppm auch die maximale NO-Konzentration in der künstlichen Lunge gemessen (Versuch Nr. 747).

Im Falle der iNO-Applikation in der Standardposition nahe dem Ventilatorausgang betrugen die maximalen NO-Konzentrationen 121,36 ppm im Normalmodus (Versuch Nr. 225), 199,921 ppm im kontinuierlichen Modus (Versuch Nr. 996) und 184,731 ppm im Bolusmodus (Versuch Nr. 513). Alle drei Maximalwerte wurden am ersten Messort 40cm stromabwärts des Ventilatorausganges unter volumenkontrollierter Beatmung mit einem Vt von 750 ml und einer NO-Zielkonzentration von 40 ppm aufgezeichnet.

Um die Entwicklung der Spitzenkonzentrationen von NO entlang des Versuchsaufbaus während eines Versuchs zu demonstrieren, zeigt Tabelle 6 die Spitzenkonzentrationen an allen Messorten. Es wurde der Bolusmodus unter volumenkontrollierter Beatmung mit  $V_t=750\,$  ml, Atemzeitverhältnis 1:1 und NO-Zielkonzentration von 40 ppm verwendet. Zum Vergleich ist die höchste, mit der elektrochemischen Messzelle des iNO-Applikationssystems registrierte NO-Konzentration gezeigt. Die verhältnismäßig hohe NO-Spitzenkonzentration im Exspirationsschenkel erklärt sich durch NO-reiches Inspirationsgasgemisch, das am Ende der Inspiration im Totraum verblieben ist und während der Exspiration in den Exspirationsschenkel bewegt wird.

Tabelle 6. Maximale NO-Konzentrationen in ppm entlang der verschiedenen Messorte.

40 cm nach Ventilator	120 cm nach Ventilator	Y-Stück	Trachea	Lunge	NO Applikator
184,731	133,026	103,325	107,491	33,675	28,3

NO-Konzentrationsmaxima deutlich größer als 80 ppm wurden wiederholt ventilatornah kurz nach der iNO-Einspeisung in das Schlauchsystem gemessen. Um zu überprüfen, ob ein Patient Konzentrationen über 80 ppm ausgesetzt werden könnte,

wurde Inspirationsgasgemisch, das aus der Mitte der künstlichen Trachea entnommen wurde, näher untersucht. Übertragen auf den Menschen käme es an diesem Messort zu Kontakt von NO-Gas mit der Schleimhaut der oberen Atemwege. Tabelle 7 zeigt die durchschnittliche NO-Spitzenkonzentration pro Atemzug, unterschieden nach Dosierungsmodus und Ziel NO-Konzentration.

Tabelle 7. NO-Maximalkonzentrationen am Messort "Trachea".

Ziel [NO]	Normalmodus Kontinuierlich Modus		Bolusmodus	Bolusmodus mit iNO am Y-Stück	
5 ppm	6,27 ± 1,22	8,1 ± 2,59	8,73 ± 3,41	17,83 ± 5,66	
10 ppm	12,22 ± 2,58	14,81 ± 4,62	16,15 ± 5,64	29,4 ± 6,27	
20 ppm	23 ± 3,69	31,02 ± 9,92	33,35 ± 13,45	73,11 ± 24,25	
40 ppm	45,21 ± 7,1	59,57 ± 20	68,4 ± 30,14	147,73 ± 38,1	

Dargestellt sind Mittelwerte mit Standardabweichung, n=360.

Angesichts der großen Standardabweichungen wurden Konstellationen, bei denen der Mittelwert plus die doppelte Standardabweichung NO-Konzentrationen über 80 ppm ergab, weiter untersucht. Dies traf zu für die Werte bei 20 ppm Zielkonzentration im Bolusmodus mit iNO-Applikation am Y-Stück sowie für die Werte mit einer 40 ppm Zielkonzentration sowohl im kontinuierlichen Modus, im Bolusmodus und im Bolusmodus bei iNO-Applikation am Y-Stück (siehe Tabelle 7). Hier wurden die NO-Maximalkonzentrationen weiter differenziert nach V<sub>t</sub>. Einen Überblick über die durchschnittliche NO-Maximalkonzentration bei den verschiedenen V<sub>t</sub> gibt Abbildung 11.

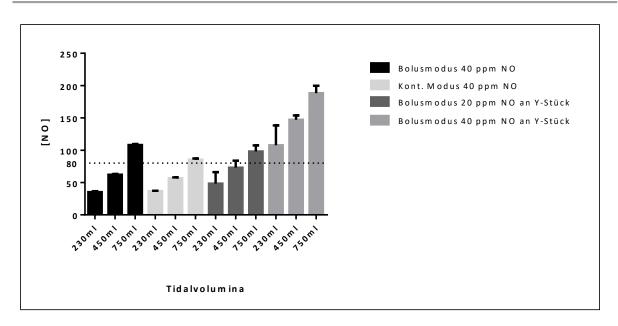


Abbildung 11. NO-Maximalkonzentrationen am Messort "Trachea", differenziert nach Tidalvolumen für Gruppen mit Maxima über 80 ppm. Mittelwerte mit Standardabweichung in ppm, n=120.

Die Differenzierung nach den untersuchten Tidalvolumna (siehe Abbildung 11) zeigt, dass die durchschnittliche Maximalkonzentration von NO in der Trachea nur unter den folgenden Versuchsbedingungen über 80 ppm lag:

- 1) Bolusmodus;  $V_t = 750 \text{ ml}$ ; Ziel [NO] = 40 ppm (107,99 ± 1,66 ppm)
- 2) Kontinuierlicher Modus;  $V_t = 750 \text{ ml}$ ; Ziel [NO] = 40 ppm (85,28 ± 1,95 ppm)
- 3) Bolusmodus mit NO-Applikation nahe Y-Stück;  $V_t = 750$  ml; Ziel [NO] = 20 ppm (98,12  $\pm$  9,32 ppm)
- 4) Bolusmodus mit NO-Applikation nahe Y-Stück;  $V_t$  = 230 ml; Ziel [NO] = 40 ppm (107,75 ± 30,64 ppm)
- 5) Bolusmodus mit NO-Applikation nahe Y-Stück;  $V_t$  = 450 ml; Ziel [NO] = 40 ppm (147,24 ± 6,68 ppm)
- 6) Bolusmodus mit NO-Applikation nahe Y-Stück;  $V_t = 750$  ml; Ziel [NO] = 40 ppm (188,21 ± 11,47 ppm).

Die <u>mittleren</u> NO-Konzentrationen in der künstlichen Trachea und in der Lunge, lagen jedoch bei allen Versuchen unter 50 ppm.

#### 3.4.2 Maximale NO<sub>2</sub>-Konzentrationen

Die insgesamt höchste NO<sub>2</sub>-Konzentration betrug 1,9 ppm. Dieser Wert wurde insgesamt sechs Mal in sechs verschiedenen Experimenten detektiert. Während aller

dieser sechs Experimente wurde iNO im kontinuierlichen Modus mit einer NO-Zielkonzentration von 40 ppm appliziert.

Unter Verwendung des Normalmodus betrug die maximale NO<sub>2</sub>-Konzentration 1,4 ppm. Dieser Wert wurde in vier Versuchen erreicht. Die maximale NO<sub>2</sub>-Konzentration unter Verwendung des Bolusmodus betrug 1 ppm. Dieser Wert wurde einmalig erreicht.

Es ist erwähnenswert, dass alle elf Versuche, während derer die maximalen  $NO_2$ -Konzentrationen für die jeweiligen Dosierungsmodi gemessen wurden, mit volumenkontrollierter Beatmung, einem  $V_t$  von 450 ml und einer NO-Zielkonzentration von 40 ppm durchgeführt wurden.

## 4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob sich mit der bolusförmigen Applikation von iNO in der frühen Inspirationsphase ähnlich hohe mittlere NO-Konzentrationen im Zielorgan, einem Lungenmodell, erzielen lassen, wie mit der Applikation während der gesamten Inspirationsphase oder während des gesamten Atemzyklus und ob die eingestellten NO-Zielkonzentrationen im Inspirationsgasgemisch erreicht werden. Des Weiteren wurde untersucht, ob durch die Y-Stück-nahe Applikation von iNO im Bolusmodus höhere mittlere NO-Konzentrationen im Zielorgan erzielt werden, als durch die iNO-Applikation an bislang üblicher Stelle, d.h. im Inspirationsschenkel, nahe dem Ventilatorausgang. Darüber hinaus wurde untersucht, ob bei der bolusförmigen, Y-Stück-fernen bzw. Y-Stück-nahen iNO-Applikation NO- oder NO<sub>2</sub>-Konzentrationen auftreten, die die etablierten Obergrenzen dieser Substanzen überschreiten.

Es konnte gezeigt werden, dass durch die die bolusförmige iNO-Applikation mit Tidalvolumina bis 450 ml und NO-Zielkonzentrationen bis 10 ppm höhere mittlere NO-Konzentrationen erzielt wurden als durch iNO-Applikation mittels der anderen Dosiermodi. Durch bolusförmige iNO-Applikation in den Inspirationsschenkel nahe dem Y-Stück statt nahe dem Ventilatorausgang ließen sich mit allen untersuchten Vt (230, 450, 750 ml) und mit allen NO-Zielkonzentrationen (5, 10, 20, 40 ppm) höhere mittlere NO-Konzentrationen im Zielorgan, einer künstlichen Lunge, erzielen. Die am iNO-Applikationssystem eingestellte NO-Zielkonzentration im Inspirationsgasgemisch wurde unabhängig vom Dosiermodus regelhaft unterschritten. Einzig bei Verwendung des Bolusmodus wurde die NO-Zielkonzentration im Inspirationsgemisch in einem Teil der Experimente erreicht. Toxische NO-Konzentrationen in der künstlichen Lunge wurden während keinem der Experimente detektiert. Ebenfalls wurden keine toxischen NO2-Konzentrationen im Beatmungsschlauchsystem detektiert.

### 4.1 Methodenkritik

#### 4.1.1 Art der Daten

Bei den in der vorliegenden Untersuchung gewonnen Daten handelt es sich ausschließlich um in vitro Daten. Obwohl für den Menschen bisher systematische zur bolusförmigen iNO-Applikation während Untersuchungen Inspirationsphase weitgehend fehlen, sind die Dosis-Wirkungs-Beziehungen für iNO beim Menschen in der Vergangenheit bereits vielfältig untersucht worden (17, 18, 47). Schlussfolgerungen aus den in dieser Untersuchung angestellten NO-Konzentrationsmessungen sollten daher prinzipiell auf in vivo Bedingungen übertragbar sein.

### 4.1.2 Beatmungsform

Es wurden ausschließlich kontrollierte Beatmungsformen untersucht. Eine Untersuchung der iNO-Applikation im Bolusmodus während Spontanatmung oder assistierter Spontanatmung fand nicht statt. Die Anwendung des Bolusmodus in Verbindung mit Spontanatemformen erscheint jedoch nicht unproblematisch, da das iNO-Applikationssystem im Bolusmodus die zu applizierende NO-Menge für jeden Atemzug anhand der Tidalvolumina der vorangegangenen drei Atemzüge berechnet. Daher ist bei einem Atemmuster mit stark schwankenden Tidalvolumina, z.B. Spontanatmung oder Spontanatmung mit intermittierenden assistierten Atemzügen, anfällig für Dosierfehler. Da das iNO-Applikationssystem im Bolusmodus die Information, wann die Inspiration beginnt, vom Ventilator übermittelt bekommt, der Ventilator bei Spontanatmung den Inspirationsbeginn zunächst jedoch selbst detektieren muss, wird die Abgabe des NO-Bolus verzögert und damit unter Umständen weniger effektiv.

#### 4.1.3 Ventilator

Die Versuche der vorliegenden Arbeit wurden lediglich mit einem einzigen Ventilatormodell durchgeführt. Da die Abgabe des NO-Bolus durch das iNO-Applikationsystem von der digitalen Übermittlung des Inspirationsbeginns seitens des Ventilators abhängt, entsteht eine, von der internen Bearbeitungszeit des Ventilators abhängige, zeitliche Verzögerung. Diese Verzögerung kann sowohl mit der Version der

Gerätesoftware variieren, als auch zwischen verschiedenen Ventilatormodellen eines Herstellers und auch zwischen den Geräten verschiedener Hersteller [persönliche Kommunikation mit den Herstellern von Ventilator und iNO-Applikationsgerät, 2013].

In der vorliegenden Arbeit wurden nur kontrollierte Beatmungsformen ohne Hintergrundfluss seitens des Ventilators verwendet. Viele gebräuchliche Ventilatoren arbeiten jedoch mit einem kontinuierlichen Hintergrundfluss von Frischgas (auch "Bias flow" genannt), um Spontanatemaktivität zu detektieren. Ob ein solcher Hintergrundfluss die iNO-Applikation im Bolusmodus beeinflusst, kann anhand der vorliegenden Arbeit nicht beantwortet werden. Mutmaßlich ist ein Hintergrundfluss der iNO-Applikation im Bolusmodus jedoch abträglich, da zusätzlicher Fischgasfluss ein Mehr an Durchmischung des Atemgases im Inspirationsschenkel bedeutet, was dem Konzept der bolusförmigen iNO-Applikation zuwiderläuft.

#### 4.1.4 Versuchsaufbau

Wie oben schon dargelegt, ist nach bolusförmiger Applikation einer NO-Dosis eine möglichst geringe Durchmischung mit dem Atemgasgemisch im Beatmungsschlauch wünschenswert. Eine inhomogene Verteilung von NO-Gas innerhalb des applizierten  $V_t$  zugunsten des zuerst inhalierten Teils ist schließlich Ziel des Bolusmodus. Umstände, welche die Durchmischung des Atemgasgemisches beeinflussen, beispielsweise Kontaktzeit im Schlauchsystem, Turbulenzen oder Flussgeschwindigkeit, werden die Effektivität der bolusförmigen iNO-Applikation beeinflussen. In der Praxis sind hier Länge, Durchmesser, Beschaffenheit, aber auch die Führung der Beatmungsschläuche oder zusätzlicher Totraum, beispielsweise durh Einsatz eines Heat-Moisture-Exchange-Filters, naheliegende Einflussgrößen, die jedoch nicht untersucht wurden.

Mit steigendem Totraum und sinkendem Tidalvolumen steigt das Risiko, dass Teile der applizierten NO-Dosis nicht das alveoläre Kompartiment erreichen. Dies scheint insbesondere bei der Anwendung in Pädiatrie und Neonatalogie relevant und sollte vor einer klinischen Anwendung des Bolusmodus gesondert untersucht werden. Obwohl es in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht wurde, scheint es sinnvoll, auf eine exzessive Vergößerung des Totraums, zum Beispiel durch Verwendung flexibler Verbindungen zwischen Patient und Y-Stück (die sogenannte "Gänsegurgel") zu verzichten, wann immer dies möglich ist.

## 4.2 NO-Konzentrationen im Inspirationsgasgemisch

Im Bolusmodus wurde nur während Versuchen mit NO-Zielkonzentration 20 ppm und Vt 450 ml die Zielkonzentration im Inspirationsgasgemisch erreicht. Bei Versuchen mit 450 ml V<sub>t</sub> und NO-Zielkonzentrationen 5 ppm, 10 ppm und 40 ppm lagen die mittleren NO-Konzentrationen, gemessen 120 cm nach Ventilatorausgang, signifikant über der Zielkonzentration (siehe Abbildung 9). Damit ist der Bolusmodus der einzige der drei Dosiermodi, in dem eine Gruppe die Zielkonzentration erreicht hat, aber auch der einzige Modus, in welchem Gruppen die Zielkonzentration überschritten haben. Im kontinuierlichen und Normalmodus waren die durchschnittlichen NO-Konzentrationen im Inspirationsgemisch in allen Gruppen geringer als die Zielkonzentration. Insgesamt unterschied sich die durchschnittliche NO-Konzentration im Bolusmodus bei NO-Zielkonzentrationen von 5 und 10 ppm nicht von den im Normalmodus erzielten Bei 20 und 40 ppm NO-Zielkonzentration waren die durchschnittlichen NO-Konzentrationen im Inspirationsgemisch im Bolusmodus zwar geringer als im Normalmodus, befanden sich jedoch in der gleichen Größenordnung (siehe Abbildung 10). Im Vergleich zum kontinuierlichen Modus waren die durchschnittlichen NO-Konzentrationen im Inspirationsgemisch im Bolusmodus bei allen NO-Zielkonzentrationen höher.

Bei ventilatornaher NO-Applikation als Bolus in der frühen Inspiration ließen sich also den gebräuchlichen Dosiermodi vergleichbare und mitunter sogar höhere NO-Konzentrationen im Inspirationsgas erzielen, ohne dass kritisch hohe oder niedrige Werte aufgetreten wären.

Dass in der Mehrzahl der untersuchten Anwendungsszenarien die Ist-Konzentrationen geringer als die Zielkonzentration waren, kann auf eine konservative Dosisberechnung seitens des Herstellers des iNO-Applikationssystems hinweisen, mit dem Ziel, höhere NO-Konzentrationen (Überdosierungen) als die eingestellte Zielkonzentration zu vermeiden. Es ist auch zu bedenken, dass das System, in das NO durch das iNO-Applikationssystem abgegeben wird, für den Hersteller eine "black box" ist. Länge, Durchmesser und Beschaffenheit der Beatmungsschläuche, genaue Position der NO-Einspeisung und Ventilator sind unbekannt, können aber Einfluss auf die NO-Konzentration im Inspirationsgas nehmen. Ein diesbezüglich abgewandelter Versuchsaufbau könnte andere NO-Konzentrationen im Inspirationsgas ergeben. Auch eine nichtvollständige Durchmischung des NO-Gases mit dem Inspirationsgas am

Messort ist denkbar. Um diesen Aspekt zu untersuchen, wäre ein Vergleich der vom iNO-Applikationssystem für einen individuellen Atemzug als abzugeben bestimmten Menge NO-Gas mit der gemessenen interessant.

Es bleibt festzuhalten, dass iNO ein Medikament ist, das nicht in starren Dosierungen angewendet wird, sondern üblicherweise innerhalb des therapeutischen Bereiches nach Wirkung titriert wird, da der interindividuelle Effekt stark variieren kann (17, 18). Die eingestellte NO-Zielkonzentration richtet sich somit nach den therapeutischen Effekten (z.B. Abnahme des pulmonalarteriellen Widerstands, Verbesserung der Oxygenierung und Rechtherzentlastung).

## 4.3 Bolusmodus im Vergleich zu Normal- und kontinuierlichem Modus

Verglichen mit dem kontinuierlichen und Normalmodus waren die mittleren NO-Konzentrationen in der künstlichen Lunge im Bolusmodus bei Zielkonzentrationen von 5 und 10 ppm mit einem Tidalvolumen von 230 ml signifikant höher unabhängig von Atemzeitverhältnis und Beatmungsform. Lediglich die Vergleiche zwischen Bolusmodus und kontinuierlichem Modus bei 5 ppm NO-Zielkonzentration, PCV, I:E 1:1, Vt 230 ml und bei 20 ppm NO-Zielkonzentration, PCV, I:E 1:1,9, Vt 230 ml zeigten keinen signifikanten Unterschied. Bei 450 ml Tidalvolumen kam es im Bolusmodus in allen Versuchen zu signifikant höheren mittleren NO-Konzentrationen im Zielorgan. Bei 750 ml Tidalvolumen jedoch kam es im Bolusmodus in allen Versuchen zu signifikant geringeren mittleren NO-Konzentrationen als Normalmodus im und kontinuierlichem Modus (siehe Tabellen 3 und 4).

Ursächlich für die Tatsache, dass der Bolusmodus bei niedrigen (230 ml) und mittleren (450 ml) Tidalvolumina effektiver als der kontinuierliche und Normalmodus war, ist die Dauer des Gasflusses während der Inspiration. Diese beträgt hier nur einen Bruchteil der Inspirationszeit. Bei gleichmäßiger Verteilung der zu applizierenden NO-Dosis über die gesamte Inspirationszeit respektive den ganzen Atemzyklus wird dementsprechend nur ein Bruchteil der Dosis appliziert, während tatsächlich Inspirationsgas in Richtung des Zielorgans fließt.

#### Zur Veranschaulichung:

 Bei einer Atemfrequenz von 15/min und einem I:E Verhältnis von 1:1 beträgt die Dauer eines Atemzyklus 4 s, die Inspirationszeit also 2 s

• Unter VCV mit konstantem Frischgasfluss von 35 l/min beträgt der Frischgasfluss pro Sekunde 35000 ml/60 s = 583 ml/s

• Ein Tidalvolumen von 230 ml ist also in 395 ms, eines von 450 ml in 771 ms appliziert.

Im Bolusmodus wird in der Phase des inspiratorischen Gasflusses ein größerer Anteil der zu applizierenden Dosis abgegeben und so zum Zielorgan transportiert. Dass dieser Vorteil im Bolusmodus bei Versuchen mit 230 ml Tidalvolumen nur bei geringeren NO-Zielkonzentrationen und auch nur in geringerem Ausmaß zum Tragen kommt, hat zwei Gründe.

1) Es existiert eine variable zeitliche Verzögerung zwischen Beginn des inspiratorischen Gasflusses und dem Beginn der NO-Abgabe (Siehe Abbildung 12).

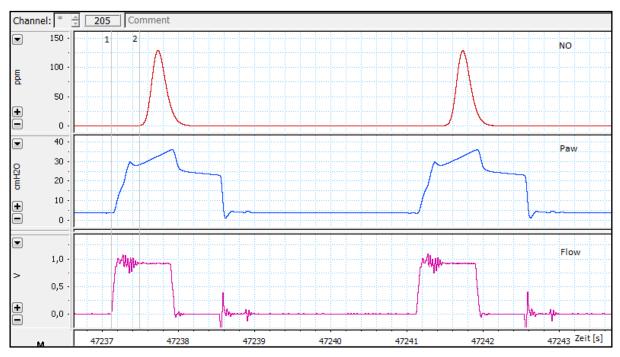


Abbildung 12. Verhältnis des NO-Bolus zum Inspirationsfluss. Messort 40 cm n. Ventilator; VCV; I:E 1:1,9; Vt 450 ml, Ziel-NO 40 ppm. Vertikale Markierungen: 1 = Beginn Inspirationsfluss, 2 = Beginn NO-Bolus.

Zu dieser Verzögerung tragen Zeit für elektronische Datenverarbeitung durch Ventilator und iNO-Applikationssystem, verschiedene Ventilöffnungszeiten am iNO-Applikationssystem je nach Flussrate der zu öffnenden Ventile und Länge als auch Compliance der NO-Leitung zum Beatmungsschlauchsystem bei.

2) Bei steigender NO-Zielkonzentration nimmt die Dauer des NO-Bolus im Bolusmodus zu. Bei sehr kurzer inspiratorischer Gasflussphase (*ergo:* kleinen Tidalvolumina) steigt so der Anteil der NO-Dosis, welcher in der *No-flow-*Phase der Inspiration appliziert wird.

Unter allen untersuchten Versuchsbedingungen ließen sich durch Verwendung des Bolusmodus im Zielorgan NO-Konzentrationen erzielen, die den Konzentrationen, die unter Verwendung von Normal- oder kontinuierlichem Modus erzielt wurden, vergleichbar waren. In Anwendungsszenarien, in denen iNO in Dosierungen bis 10 ppm während maschineller Ventilation mit kleinen Tidalvolumina angewendet wird, kann die Anwendung des Bolusmodus von Vorteil gegenüber Normal- und kontinuierlichem Modus sein (siehe Abbildung 13).

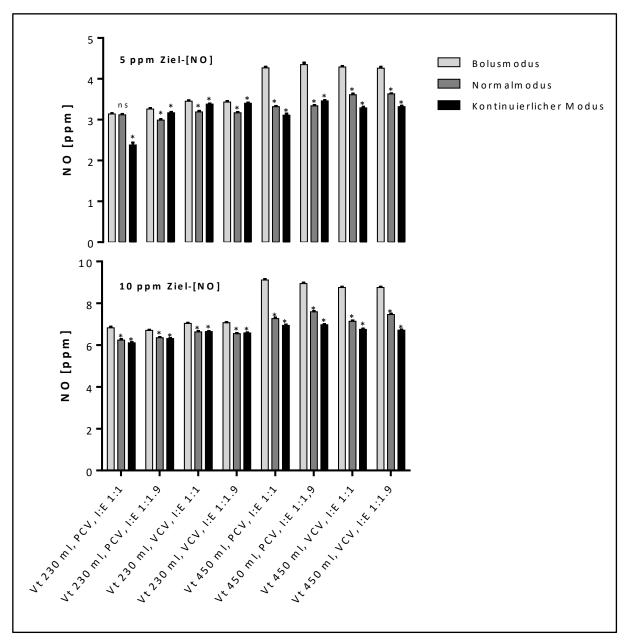


Abbildung 13. Bolusmodus bei niedrigen Vt und NO-Zielkonzentrationen im Vergleich mit kont. und Normalmodus. Mittelwerte mit SD. \* = signifikant niedriger als Bolusmodus, ns = kein signifikanter Unterschied zum Bolusmodus.

In der Behandlung von ARDS-Patienten, die lungenprotektiv mit Tidalvolumina um 6 ml/kg KG, oder sogar ultra-lungenprotektiv mit Tidalvolumina um 3 ml/kg KG beatmet werden (6, 43) und iNO zur Therapie eines erhöhten PAP erhalten (12), kann der Einsatz des Bolusmodus den iNO-Verbrauch reduzieren und die Kontamination der Umgebungsluft mit NO minimieren (24).

## 4.4 Effekt der Y-Stück-nahen NO-Applikation im Bolusmodus

Die mittleren NO-Konzentrationen in der künstlichen Lunge waren bei Y-Stück naher iNO-Applikation 10 cm stromaufwärts des Y-Stücks in 95,8% der untersuchten Anwendungsszenarien signifikant höher als bei iNO-Applikation 20 cm nach dem Ventilatorausgang (siehe Tabelle 6) und damit auch näher an der jeweiligen NO-Zielkonzentration.

Lediglich in zwei Fällen, nämlich bei Applikation von 5 ppm NO unter volumenkontrollierter Beatmung mit Tidalvolumina von 230 und 450 ml, waren die mittleren NO-Konzentrationen im Zielorgan bei Y-Stück-ferner iNO-Applikation signifikant höher. Angesichts der Tatsache, dass bei Verwendung von 10, 20 und 40 ppm NO-Zielkonzentration die NO-Konzentrationen unter diesen Bedingungen bei Y-Stück naher Applikation höher waren, scheinen die höheren Konzentrationen bei Y-Stück ferner Applikation nicht plausibel. Mit -0,25 ppm (5 ppm; VCV; Vt 230ml; I:E 1:1 und -0,09 ppm (5 ppm; VCV; Vt 450ml; I:E 1:1) handelt es sich außerdem um die Versuche mit den geringsten Unterschieden der mittleren NO-Konzentration. Eine intensive Inspektion der Rohdaten bot zwar keinen Anhalt für eine technische Fehlfunktion, trotzdem scheint der Einfluss einer unerkannten Störgröße (bspw. Fehlerhafte NO-Dosierung durch iNO-Applikationssystem, Fehler der Datenübermittlung von Ventilator an das iNO-Applikationssystem) möglich. Insgesamt ist der Vorteil der Y-Stück nahen iNO-Applikation im Bolusmodus unabhängig von den untersuchten Ausprägungen der Variablen NO-Zielkonzentration, Tidalvolumen, Atemzeitverhältnis und Beatmungsform.

Schon 1994 sah *Young* bei seinem Vorschlag für ein ideales, universell einsetzbares iNO-Applikationssystem eine NO-Applikation zwischen Y-Stück und Patient vor und merkte an, dass eine NO-Applikation am Eingang des Endotrachealtubus zu geringerer NO<sub>2</sub>-Formation und zu geringeren Dosisschwankungen bei Verwendung eines (partiellen) Rückatemsystems führen könnte (51). Für experimentelle Untersuchungen der bolusförmigen iNO-Applikation während der frühen Inspiration war die patientennahe iNO-Applikation, zumeist durch Injektion am Beginn des Endotrachealtubus, seitdem der *de-facto-*Standard.

Channick et al. konnten an acht spontanatmenden Patienten mit PPH, denen, getriggert durch die Inspiration, Gas mit 80 ppm NO für 100 ms über eine nasale Kanüle verabreicht wurde, eine signifikante Reduktion des PAP und des PVR zeigen, ohne dass in der Ausatemluft NO oder NO<sub>2</sub> nachweisbar waren (8). Im Jahr 2000 untersuchten

Heinonen et al. an Schweinen, in denen eine HPV durch Inhalation eines hypoxischen Gasgemisches induziert wurde, die Effekte der Inhalation einer konstanten NO-Menge pro Zeiteinheit. NO wurde am Beginn des Endotrachealtubus entweder während des ersten Drittels, während der ersten zwei Drittel, oder während der gesamten Inspiration appliziert. Mit allen drei Applikationsregimen ließ sich eine vergleichbare PAP-Reduktion erzielen, die Menge an ausgeatmetem NO aus dem Totraum nahm mit steigender Applikationsdauer jedoch zu (24). Wenn während des ersten Drittels der Inspiration verabreicht, konnte mit einem Drittel der NO-Dosis im Vergleich zur Gabe während der gesamten Inspiration also eine vergleichbare PAP-Reduktion bei minimaler Kontamination der Ausatemluft erreicht werden. Dies unterstreicht die Relevanz einer patientennahen NO-Applikation im ersten Drittel des inspirierten  $V_{\rm t}$ .

Die Tatsache, dass iNO, welches in der zweiten Hälfte der Inspiration appliziert wird, hauptsächlich Areale des Tracheobronchialsystems und der Lunge erreicht, die nicht am Gasaustausch teilnehmen, also Teil des Totraumes sind, unterstreicht eine Untersuchung von Heinonen et al. an Pferden. Pferde sind bekannt dafür, in Allgemeinanästhesie im Liegen zügig Atelektasen mit "Ventilations-Perfusions-Mismatch" und einer konsekutiv beeinträchtigten Oxygenierung zu entwickeln (44). In dieser Untersuchung verabreichten Heinonen et al. spontanatmenden Pferden in Allgemeinanästhesie iNO am Beginn des Endotrachealtubus während der ersten 30 %, der ersten 60 % und zwischen 50 und 80 % der Inspirationszeit. NO-Applikation während der ersten 30 und 60% bewirkte eine signifikant reduzierte venöse Beimischung und erhöhte den PaO2 signifikant. Bei einer NO-Gabe während der ersten 30 bzw 60 % der Inspirationszeit bestand trotz doppelter verabreichter NO-Menge kein Unterschied bzgl. Der Reduktion der venösen Beimischung und der Erhöhung des PaO₂. Die NO-Applikation zwischen 50 und 80% der Inspirationszeit führte weder zu einer reduzierten venösen Beimischung noch zu einer Erhöhung des PaO2, jedoch zu einem starken Anstieg der NO-Konzentration in der Ausatemluft (25). Es ist also anzunehmen, dass bei NO-Applikation während 50-80 % der Inspirationszeit weniger NO die Alveolen erreichte und daher die selektive Vasodilatation in den ventilierten Lungenabschnitten geringer ausfiel, als während der NO-Applikation in der frühen Inspirationsphase.

Unter Berücksichtigung der dargestellten Arbeiten werden die, in der vorliegenden Untersuchung gezeigten, höheren mittleren NO-Konzentration im Zielorgan bei Y-Stück naher Applikation, auf die zuverlässige Abgabe des NO-Bolus innerhalb der ersten Hälfte

der Inspiration zurückgeführt. Ursächlich für die im Vergleich niedrigeren Konzentrationen bei patientenferner NO-Applikation, ist die Abschwächung des Effekts der frühinspiratorischen, bolusförmigen NO-Gabe bei patientenferner Applikation nahe dem Ventilatorausgang. Wie schon Abbildung 2 zeigt, kommt es bei Transport des NO-Bolus entlang des Inspirationsschenkels zu einer "Verplumpung" und Verschiebung der NO-Kurve in Richtung des Inspirationsendes durch Durchmischung mit dem Atemgasgemisch. Auch die, in Tabelle 6 dargestellte, Abnahme der maximalen NO-Konzentration im Atemgasgemisch während des Transportes im Schlauchsystem nach patientenferner NO-Applikation, verdeutlicht die Durchmischung des NO-Bolus mit dem applizierten Tidalvolumen.

### 4.5 Maximale NO- und NO<sub>2</sub>-Konzentrationen

Bei Betrachtung der Maximalkonzentrationen von NO, die in dieser Untersuchung gemessen wurden, ist es bedenkenswert, dass die gebräuchlichen therapeutischen Dosierungen und Konzentrationsobergrenzen sich auf konstante oder durchschnittliche Konzentrationen von iNO beziehen. Ein einheitlicher Messort oder Messverfahren zur Überwachung der NO- und NO2-Konzentration existiert jedoch nicht. Der Hersteller des iNO-Applikationssystems beispielsweise fordert in der Betriebsanleitung lediglich, "den Gasmessschlauch mit Hilfe eines Adapters patientennah am Y-Stück" anzuschließen. Wie die in Tabelle 7 beispielhaft dargestellten, NO-Maximalkonzentrationen bei Applikation eines Tidalvolumens von 750 ml mit NO-Zielkonzentration 40 ppm im Bolusmodus verdeutlichen, ist die langsam reagierende elektrochemische Messzelle des iNO-Applikationssytems nicht in der Lage, die tatsächliche Spitzenkonzentration zu messen. Während der zeitlich hoch auflösende Chemolumineszenz-NO-Analysator am Y-Stück maximal 103,33 ppm registrierte, maß das iNO-Applikationssystem wenige cm stromaufwärts im Inspirationsschenkel maximal 28,3 ppm.

Alle gemessenen NO-Konzentrationen, die 80 ppm überstiegen, waren Konzentrationsspitzen mit einer Breite im Bereich von Sekundenbruchteilen. Zumeist wurden diese Werte im Beatmungsschlauchsystem nahe dem Applikationsort des 800 ppm NO-Gases registriert, bevor eine Durchmischung mit und damit Verdünnung durch das Atemgasgemisch stattfinden konnte.

Wie oben erwähnt, wurde während eines Experiments mit NO-Applikation 10 cm stromaufwärts des Y-Stücks im Bolusmodus eine Maximalkonzentration von 199,768 ppm NO in der künstlichen Trachea gemessen. Trotz der relativ kurzen Entfernung (40 cm) vom trachealen Messort zum Zielorgan, der künstlichen Lunge, betrug die maximal gemessene NO-Konzentration in der Lunge unter diesen Versuchsbedingungen nur 54,06 ppm. Man kann annehmen, dass unter diesen Bedingungen mit einem NO Spitzenwert von etwa 200 ppm in der Trachea, trotz weiterer Verdünnung durch Transport des Atemgases entlang des Tracheobronchialsystems, die Schleimhaut der distalen Trachea und der großen Bronchi NO-Konzentrationen von mehr als 80 ppm ausgesetzt ist. Dies könnte zu unerwünschten Wirkungen, wie Bronchokonstriktion, gesteigerter airway hyperresponsiveness oder inflammatorischen Reaktionen führen (2, 21, 26). Angesichts der kurzen Kontaktzeit mit einer angenommenen NO-Konzentration über 80 ppm scheint das Auftreten von unerwünschten Wirkungen jedoch unwahrscheinlich. Miller et al. haben kürzlich an zehn gesunden Freiwilligen demonstriert, dass die wiederholte Inhalation von NO in einer Konzentration von 160 ppm für 30 min weder die spirometrisch gemessene Lungenfunktion und arterielle Sauerstoffsättigung beeinträchtigte, noch in einer Entzündungsreaktion oder endothelialer Aktivierung resultierte (40).

Die Konzentrationsobergrenze für  $NO_2$  von 2 ppm wurde in der vorliegenden Untersuchung nie überschritten. Die höchste, gemessene  $NO_2$ -Konzentration betrug 1,9 ppm. Diese hohen  $NO_2$ -Konzentrationen traten bei Verwendung des kontinuierlichen Modus mit einer  $F_1O_2$  von 1 auf und der höchsten, untersuchten NO-Zielkonzentration (40ppm). Da bei Verwendung des kontinuierlichen Modus die NO-Abgabe während des gesamten Atemzyklus stattfindet, akkumuliert NO-Gas, welches während der Exspiration abgegeben wird, im Inspirationsschenkel des Schlauchsystems. Es ist anzunehmen, dass die, im kontinuierlichen Modus längere Kontaktzeit von NO und sauerstoffangereichertem Atemgasgemisch zu einer stärkeren  $NO_2$  Bildung führt, als unter Verwendung eines Dosierungsregimes, das NO nur während der Inspiration appliziert.

Zusammenfassend sollte der Anwender bedenken, dass das Risiko toxischer NO<sub>2</sub>-Konzentrationen über 2 ppm steigt, wenn: 1) NO-Zielkonzentrationen über 40 ppm verwendet werden, 2) eine hohe F<sub>1</sub>O<sub>2</sub> verwendet wird und 3) iNO-Applikation im kontinuierlichen Modus stattfindet. Eine typische Konstellation, unter der die o.g.

Umstände eintreten könnten, ist der Transport eines Intensivpatienten unter hochdosierter iNO-Therapie. Der für den Transport verwendete Ventilator unterstützt häufig die Datenverbindung zum iNO-Applikationssystem nicht (oder umgekehrt) und auf die Verwendung eines externen Flowsensors wird oft verzichtet oder sie scheitert aus technischen Gründen. Dies zwingt den Anwender, das iNO-Applikationssystem im Modus der kontinuierlichen NO-Abgabe zu verwenden. Aus Gründen der Patientensicherheit oder wegen einer fehlenden Druckluftquelle am Transportventilator wird die  $F_1O_2$  für den Transport häufig auf 1 erhöht. Sollte der Grund für den Transport eines Patienten eine zeitaufwändigere Maßnahme, wie beispielsweise eine interventionelle Angiografie, sein, könnte es während dieser Zeit zu einer relevanten  $NO_2$ -Exposition kommen.

# 5 Zusammenfassung

Die Inhalation von Stickstoffmonoxid während maschineller Ventilation ist ein seit den frühen 90er Jahren etabliertes Verfahren zur Senkung des pulmonalarteriellen Drucks und zur Verbesserung der Oxygenierung bei verschiedenen Krankheitsbildern. Der durch NO vermittelte Konzentrationsanstieg von zyklischem Guanosinmonophosphat in der Gefäßmuskelzelle bewirkt eine Relaxation der Gefäßmuskelzelle. Hierdurch sinkt der pulmonalarterielle Druck und das Missverhältnis von Ventilation zu Perfusion in der Lunge wird reduziert.

Im klinischen Alltag wird NO mittels eines separaten Geräts zur NO-Applikation kurz hinter dem Ventilatorausgang in den Inspirationsschenkel Beatmungsschlauchsystems eingespeist. NO wird hier entweder während der ganzen Inspiration oder während des gesamten Atemzyklus appliziert. Die bolusförmige iNO-Applikation nur während der frühen Phase der Inspiration patientennah am Beginn des Endotrachealtubus ist ein experimentell gut etabliertes Verfahren. Tierexperimentelle Studien an verschiedenen Spezies konnten für diese Applikationsform einen geringeren Bedarf an NO für vergleichbare klinische Effekte sowie eine geringere Belastung der Umgebungsluft mit NO nachweisen. Dies erklärt sich dadurch, dass eine NO-Dosis, welche nur während der frühen Inspiration appliziert wird, genau dem Anteil des Tidalvolumens beigemischt wird, der das alveoläre Kompartiment erreicht, während NO, das während der späten Inspirationsphase appliziert wird, im Totraum verbliebe.

In der vorliegenden Arbeit wurde *in vitro* untersucht, ob sich mittels bolusförmiger NO-Applikation während der frühen Inspirationsphase, die in einem klinisch gebräuchlichen iNO-Applikationssystem implementiert wurde, wirksame NO-Konzentrationen in einem künstlichen Lungenmodell erzielen lassen auch wenn die iNO-Applikation patientenfern geschieht. Die so erzielten NO-Konzentrationen wurden verglichen mit Konzentrationen, die durch patientennahe bolusförmige iNO-Applikation sowie durch Verwendung der herkömmlichen Dosiermodi erzielt wurden. Ferner wurde untersucht, ob bei bolusförmiger iNO-Applikation während der frühen Inspiration toxische NO- oder NO<sub>2</sub>-Konzentrationen auftreten. Es konnte gezeigt werden, dass die bolusförmige iNO-Applikation während der frühen Inspiration mit einem handelsüblichen iNO-Applikationssystem auch bei patientenferner iNO-Einspeisung in das Beatmungsschlauchsystem *in* vitro zuverlässig funktioniert und den herkömmlichen

Dosiermodi vergleichbare NO-Konzentrationen in einer künstlichen Lunge erzielt werden. Bei Anwendung von kleinen bis mittleren Tidalvolumina und NO-Zielkonzentrationen bis 10 ppm wurden durch Einsatz der bolusförmigen iNO-Applikation signifikant höher NO-Konzentrationen erzielt als durch Einsatz der iNO-Applikation während der gesamten Inspiration oder während des gesamten Atemzyklus. Toxische NO- oder NO<sub>2</sub>-Konzentrationen traten nicht auf. Durch die bolusförmige NO-Applikation am Y-Stück ließen sich bei gleicher NO-Zielkonzentration deutlich höhere NO-Konzentrationen in der künstlichen Lunge erzielen, als durch die patientenferne NO-Applikation. bolusförmige Diese Beobachtung erklärt sich "Abschwächung" des Boluseffektes durch Durchmischung des NO-Bolus mit dem Inspirationsgasgemisch während des Transportes im Inspirationsschenkel.

Zusammenfassend stellt die patientenferne bolusförmige iNO-Applikation während der frühen Inspiration anhand der vorgelegten Daten eine praktikable Alternative zu den herkömmlichen Verfahren der iNO-Applikation dar. Um den positiven Effekt der bolusförmigen iNO-Applikation maximal nutzen zu können, wären weitere Untersuchungen zur klinischen Durchführbarkeit einer patientennahen iNO-Applikation wichtig und wünschenswert. Ob die, bei patientennaher iNO-Applikation möglichen NO-Spitzenkonzentrationen über 80 ppm in den Atemwegen zu vermehrten unerwünschten Wirkungen führen, sollte ebenfalls Gegenstand dieser Untersuchungen sein.

## 6 Literaturverzeichnis

- 1. http://online.rote-liste.de/suche/praep/21177. 2015.
- 2. **Adhikari NK, Burns KE, Friedrich JO, Granton JT, Cook DJ, and Meade MO**. Effect of nitric oxide on oxygenation and mortality in acute lung injury: systematic review and meta-analysis. *Bmj* 334: 779, 2007.
- 3. **Afshari A, Brok J, Moller AM, and Wetterslev J**. Inhaled nitric oxide for acute respiratory distress syndrome and acute lung injury in adults and children: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Anesthesia and analgesia* 112: 1411-1421, 2011.
- 4. **Baumann WR, Jung RC, Koss M, Boylen CT, Navarro L, and Sharma OP**. Incidence and mortality of adult respiratory distress syndrome: a prospective analysis from a large metropolitan hospital. *Critical care medicine* 14: 1-4, 1986.
- 5. **Beghetti M, Sparling C, Cox PN, Stephens D, and Adatia I**. Inhaled NO inhibits platelet aggregation and elevates plasma but not intraplatelet cGMP in healthy human volunteers. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 285: H637-642, 2003.
- 6. Bein T, Weber-Carstens S, Goldmann A, Müller T, Staudinger T, Brederlau J, Muellenbach R, Dembinski R, Graf B, Wewalka M, Philipp A, Wernecke K-D, Lubnow M, and Slutsky A. Lower tidal volume strategy (≈3 ml/kg) combined with extracorporeal CO2 removal versus 'conventional' protective ventilation (6 ml/kg) in severe ARDS. *Intensive care medicine* 1-10, 2012.
- 7. Carey RM, Workman AD, Chen B, Adappa ND, Palmer JN, Kennedy DW, Lee RJ, and Cohen NA. Staphylococcus aureus triggers nitric oxide production in human upper airway epithelium. *Int Forum Allergy Rhinol* 2015.
- 8. **Channick RN, Newhart JW, Johnson FW, Williams PJ, Auger WR, Fedullo PF, and Moser KM**. Pulsed delivery of inhaled nitric oxide to patients with primary pulmonary hypertension: an ambulatory delivery system and initial clinical tests. *Chest* 109: 1545-1549, 1996.
- 9. **Christenson J, Lavoie A, O'Connor M, Bhorade S, Pohlman A, and Hall JB**. The incidence and pathogenesis of cardiopulmonary deterioration after abrupt withdrawal of inhaled nitric oxide. *American journal of respiratory and critical care medicine* 161: 1443-1449, 2000.
- 10. **Crane BR, Sudhamsu J, and Patel BA**. Bacterial Nitric Oxide Synthases. *Annual Review of Biochemistry* 79: 445-470, 2010.
- 11. **Creagh-Brown BC, Griffiths MJ, and Evans TW**. Bench-to-bedside review: Inhaled nitric oxide therapy in adults. *Critical care* 13: 221, 2009.

12. **Dellinger RP, Zimmerman JL, Taylor RW, Straube RC, Hauser DL, Criner GJ, Davis K, Jr., Hyers TM, and Papadakos P**. Effects of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome: results of a randomized phase II trial. Inhaled Nitric Oxide in ARDS Study Group. *Critical care medicine* 26: 15-23, 1998.

- 13. **DiBlasi RM, Myers TR, and Hess DR**. Evidence-based clinical practice guideline: inhaled nitric oxide for neonates with acute hypoxic respiratory failure. *Respir Care* 55: 1717-1745, 2010.
- 14. **El-Sehemy A, Chang AC, Azad AK, Gupta N, Xu Z, Steed H, Karsan A, and Fu Y**. Notch activation augments nitric oxide/soluble guanylyl cyclase signaling in immortalized ovarian surface epithelial cells and ovarian cancer cells. *Cellular signalling* 25: 2780-2787, 2013.
- 15. **Deutsche Forschungsgemeinschaft**. Stoffliste. In: *MAK- und BAT-Werte-Liste* 2014Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2014, p. 19-160.
- 16. **Frostell C, Fratacci MD, Wain JC, Jones R, and Zapol WM**. Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 83: 2038-2047, 1991.
- 17. **Gerlach H, Keh D, Semmerow A, Busch T, Lewandowski K, Pappert DM, Rossaint R, and Falke KJ**. Dose-response characteristics during long-term inhalation of nitric oxide in patients with severe acute respiratory distress syndrome: a prospective, randomized, controlled study. *American journal of respiratory and critical care medicine* 167: 1008-1015, 2003.
- 18. **Gerlach H, Rossaint R, Pappert D, and Falke KJ**. Time-course and doseresponse of nitric oxide inhalation for systemic oxygenation and pulmonary hypertension in patients with adult respiratory distress syndrome. *Eur J Clin Invest* 23: 499-502, 1993.
- 19. **Gerlach H, Rossaint R, Pappert D, Knorr M, and Falke KJ**. Autoinhalation of nitric oxide after endogenous synthesis in nasopharynx. *Lancet* 343: 518-519, 1994.
- 20. Germann P, Braschi A, Della Rocca G, Dinh-Xuan AT, Falke K, Frostell C, Gustafsson LE, Herve P, Jolliet P, Kaisers U, Litvan H, Macrae DJ, Maggiorini M, Marczin N, Mueller B, Payen D, Ranucci M, Schranz D, Zimmermann R, and Ullrich R. Inhaled nitric oxide therapy in adults: European expert recommendations. *Intensive care medicine* 31: 1029-1041, 2005.
- 21. **Greenbaum R, Bay J, Hargreaves MD, Kain ML, Kelman GR, Nunn JF, Prys-Roberts C, and Siebold K**. Effects of higher oxides of nitrogen on the anaesthetized dog. *British journal of anaesthesia* 39: 393-404, 1967.
- 22. **Han S, and Mallampalli RK**. The acute respiratory distress syndrome: from mechanism to translation. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)* 194: 855-860, 2015.
- 23. **Haynes V, Elfering SL, Squires RJ, Traaseth N, Solien J, Ettl A, and Giulivi C.** Mitochondrial nitric-oxide synthase: role in pathophysiology. *IUBMB life* 55: 599-603, 2003.

24. **Heinonen E, Hogman M, and Merilainen P**. Theoretical and experimental comparison of constant inspired concentration and pulsed delivery in NO therapy. *Intensive care medicine* 26: 1116-1123, 2000.

- 25. **Heinonen E, Nyman G, Merilainen P, and Hogman M**. Effect of different pulses of nitric oxide on venous admixture in the anaesthetized horse. *British journal of anaesthesia* 88: 394-398, 2002.
- 26. **Hesterberg TW, Bunn WB, McClellan RO, Hamade AK, Long CM, and Valberg PA**. Critical review of the human data on short-term nitrogen dioxide (NO2) exposures: evidence for NO2 no-effect levels. *Critical reviews in toxicology* 39: 743-781, 2009.
- 27. **Higenbottam T, Pepke-Zaba J, Scott J, Woolman P, Coutts C, and Wallwork J**. Inhaled endothelium derived-relaxing factor (EDRF) in primary hypertension (PPH). In: *Am Rev Resp Dis Suppl*1988.
- 28. **Hsu CW, Lee DL, Lin SL, Sun SF, and Chang HW**. The initial response to inhaled nitric oxide treatment for intensive care unit patients with acute respiratory distress syndrome. *Respiration; international review of thoracic diseases* 75: 288-295, 2008.
- 29. **Hudson LD, Milberg JA, Anardi D, and Maunder RJ**. Clinical risks for development of the acute respiratory distress syndrome. *American journal of respiratory and critical care medicine* 151: 293-301, 1995.
- 30. **Ignarro L**. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: A historical overview. *Journal of Physiology and Pharmacology* 53: 503-514, 2002.
- 31. **Imanaka H, Hess D, Kirmse M, Bigatello LM, Kacmarek RM, Steudel W, and Hurford WE**. Inaccuracies of nitric oxide delivery systems during adult mechanical ventilation. *Anesthesiology* 86: 676-688, 1997.
- 32. **Kielbik M, Klink M, Brzezinska M, Szulc I, and Sulowska Z**. Nitric oxide donors: spermine/NO and diethylenetriamine/NO induce ovarian cancer cell death and affect STAT3 and AKT signaling proteins. *Nitric oxide : biology and chemistry / official journal of the Nitric Oxide Society* 35: 93-109, 2013.
- 33. **Kirmse M, Hess D, Fujino Y, Kacmarek RM, and Hurford WE**. Delivery of inhaled nitric oxide using the Ohmeda INOvent Delivery System. *Chest* 113: 1650-1657, 1998.
- 34. **Lee RJ, Chen B, Redding KM, Margolskee RF, and Cohen NA**. Mouse nasal epithelial innate immune responses to Pseudomonas aeruginosa quorum-sensing molecules require taste signaling components. *Innate Immun* 20: 606-617, 2013.
- 35. **Lewandowski K**. Nitric oxide as an adjunct. In: *Principles and Practice of Mechanical Ventilation*, edited by Tobin MJMcGraw Hill, New York, 2013, p. 1389-1403.
- 36. **Lundberg JO, Weitzberg E, and Gladwin MT**. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature reviews Drug discovery* 7: 156-167, 2008.

37. Maitre B, Djibre M, Katsahian S, Habibi A, Stankovic Stojanovic K, Khellaf M, Bourgeon I, Lionnet F, Charles-Nelson A, Brochard L, Lemaire F, Galacteros F, Brun-Buisson C, Fartoukh M, and Mekontso Dessap A. Inhaled nitric oxide for acute chest syndrome in adult sickle cell patients: a randomized controlled study. *Intensive care medicine* 41: 2121-2129, 2015.

- 38. **McMullin BB, Chittock DR, Roscoe DL, Garcha H, Wang L, and Miller CC**. The Antimicrobial Effect of Nitric Oxide on the Bacteria That Cause Nosocomial Pneumonia in Mechanically Ventilated Patients in the Intensive Care Unit. *Respiratory Care* 50: 1451-1456, 2005.
- 39. **Miller C, McMullin B, Ghaffari A, Stenzler A, Pick N, Roscoe D, Ghahary A, Road J, and Av-Gay Y**. Gaseous nitric oxide bactericidal activity retained during intermittent high-dose short duration exposure. *Nitric oxide : biology and chemistry / official journal of the Nitric Oxide Society* 20: 16-23, 2009.
- 40. **Miller C, Miller M, McMullin B, Regev G, Serghides L, Kain K, Road J, and Av-Gay Y**. A phase I clinical study of inhaled nitric oxide in healthy adults. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society* 11: 324-331, 2012.
- 41. **Miller OI, Tang SF, Keech A, and Celermajer DS**. Rebound pulmonary hypertension on withdrawal from inhaled nitric oxide. *Lancet* 346: 51-52, 1995.
- 42. **Mourgeon E, Levesque E, Duveau C, Law-Koune JD, Charbit B, Ternissien E, Coriat P, and Rouby JJ**. Factors influencing indoor concentrations of nitric oxide in a Parisian intensive care unit. *American journal of respiratory and critical care medicine* 156: 1692-1695, 1997.
- 43. **The ARDS Network Group**. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *The New England journal of medicine* 342: 1301-1308, 2000.
- 44. **Nyman G, Funkquist B, Kvart C, Frostell C, Tokics L, Strandberg A, Lundquist H, Lundh B, Brismar B, and Hedenstierna G**. Atelectasis causes gas exchange impairment in the anaesthetised horse. *Equine veterinary journal* 22: 317-324, 1990.
- 45. **Nyman G, Grubb TL, Heinonen E, Frendin J, Edner A, Malavasi LM, Frostell C, and Hogman M**. Pulsed delivery of inhaled nitric oxide counteracts hypoxaemia during 2.5 hours of inhalation anaesthesia in dorsally recumbent horses. *Veterinary anaesthesia and analgesia* 39: 480-487, 2012.
- 46. **Piantadosi CA, and Schwartz DA**. The Acute Respiratory Distress Syndrome. *Annals of Internal Medicine* 141: 460-470, 2004.
- 47. **Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Slama K, Pison U, and Zapol WM**. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *The New England journal of medicine* 328: 399-405, 1993.
- 48. **Runer T, Cervin A, Lindberg S, and Uddman R**. Nitric oxide is a regulator of mucociliary activity in the upper respiratory tract. *Otolaryngology--head and neck*

surgery: official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery 119: 278-287, 1998.

- 49. **The ARDS Definition Task Force**. Acute respiratory distress syndrome: The berlin definition. *JAMA* 307: 2526-2533, 2012.
- 50. **Westfelt UN, Lundin S, and Stenqvist O**. Uptake of inhaled nitric oxide in acute lung injury. *Acta anaesthesiologica Scandinavica* 41: 818-823, 1997.
- 51. **Young JD**. A universal nitric oxide delivery system. *British journal of anaesthesia* 73: 700-702, 1994.
- 52. **Young JD, Roberts M, and Gale LB**. Laboratory evaluation of the I-NOvent nitric oxide delivery device. *British journal of anaesthesia* 79: 398-401, 1997.

# 7 Anhang

#### 7.1 Abstract

Inhalation of nitric oxide (NO) during mechanical ventilation is a well-established treatment for reducing pulmonary artery pressure and improving oxygenation in critically ill patients. Currently, NO is delivered during the entire inspiration or the entire respiratory cycle into the inspiratory limb close to the ventilator. Delivery of NO at the early inspiration during mechanical ventilation has been previously shown to be effective and safe in animal studies. In this study the feasibility, efficacy and safety of pulsed NO delivery during early inspiration was investigated *in vitro* using a commercially available NO delivery system.

An artificial lung model was established to allow measurements of NO concentrations using a fast responding chemiluminescence NO analyser. Automatic flushing of the dead space with ambient air after each inspiration facilitated breath-by-breath analyses. NO was administered into the inspiratory limb 20 cm downstream from the ventilator using either pulsed delivery during the first third of the inspiration, delivery during the entire inspiration or during the entire respiratory cycle. Additionally, NO was administered into the inspiratory limb close to the y-piece using pulsed delivery to allow comparisons between the two sites of delivery. NO target concentrations of 5, 10, 20 and 40 ppm were investigated using pressure and volume controlled ventilation, different inspiration-to-expiration ratios, and tidal volumes of 230, 450 and 750 ml.

The data show that pulsed NO delivery during the early inspiration is working reliably *in vitro*. When applied close to the ventilator, pulsed delivery achieves NO concentrations in the artificial lung comparable to those achieved using the other two modes of NO delivery. When applying low to medium tidal volumes and NO target concentrations up to 10 ppm pulsed delivery yields significantly higher NO concentrations compared to the other delivery modes. In the artificial lung, no toxic NO or NO<sub>2</sub> concentrations were recorded during any experiment. By pulsed NO delivery close to the y-piece significantly higher NO concentrations can be achieved in the artificial lung compared to pulsed NO delivery close to the ventilator using equal NO target concentrations.

In summary, the data presented in this investigation show that 1) pulsed delivery of NO during the first third of the inspiration is feasible and that 2) pulsed delivery of NO distant from the endotracheal tube, while less effective than pulsed delivery close to the y-piece, may still be advantageous in settings where lower tidal volumes and NO concentrations up to 10 ppm are used.

Die Inhalation von Stickstoffmonoxid (NO) während maschineller Beatmung ist ein etabliertes Verfahren zur Behandlung eines erhöhten pulmonalarteriellen Druckes und zur Verbesserung der Oxygenierung bei kritisch kranken Patienten. Aktuell wird NO entweder während der Inspiration oder während des gesamten Atemzyklus in den Inspirationsschenkel nahe dem Ventilatorausgang appliziert. Tierexperimentelle Arbeiten konnten zeigen, dass auch eine bolusförmige Gabe von NO während der frühen Inspiration effektiv und sicher ist. In dieser Studie wurde die Machbarkeit, Effektivität und Sicherheit einer bolusförmigen NO-Gabe während der frühen Inspiration *in vitro* unter Verwendung eines klinisch gebräuchlichen INO-Applikationssystems untersucht.

Ein künstliches Lungenmodell, welches NO-Konzentrationsmessungen mit einem schnell reagierenden Chemolumineszenzanalysator erlaubt, wurde konstruiert. Durch automatisches Spülen des Totraums mit Raumluft nach jeder Inspiration wurden Messungen von Atemzug zu Atemzug möglich. NO wurde in den Inspirationsschenkel 20 cm nach dem Ventilatorausgang appliziert unter Verwendung von bolusförmiger Gabe während des ersten Drittels der Inspiration, Gabe während der gesamten Inspiration oder während des gesamten Atemzyklus. Zusätzlich wurde NO in den Inspirationsschenkel nahe dem Y-Stück unter Verwendung der bolusförmigen Gabe appliziert, um beide Applikationsorte vergleichen zu können. NO Zielkonzentrationen von 5, 10, 20 und 40 ppm wurden untersucht während druckund volumenkontrollierter Beatmung, verschiedener Atemzeitverhältnisse und Tidalvolumina von 230, 450 und 750ml.

Die erhobenen Daten zeigen, dass bei Anwendung der bolusförmigen NO-Gabe nahe dem Ventilatorausgang NO-Konzentrationen in der künstlichen Lunge erreicht werden, die prinzipiell vergleichbar mit jenen sind, die unter Verwendung der anderen beiden Applikationsmuster erzielt werden. Unter Verwendung von niedrigen bis mittleren Tidalvolumina und NO-Zielkonzentrationen bis 10 ppm konnten mit bolusförmiger NO

Applikation signifikant höhere NO-Konzentrationen als mit den anderen Applikationsarten erzielt werden. Während keines Experiments wurden toxische NO-oder NO<sub>2</sub>-Konzentrationen festgestellt. Durch bolusförmige NO-Applikation in den Inspirationsschenkel nahe dem Y-Stück konnten bei gleichen Zielkonzentrationen signifikant höhere NO-Konzentrationen in der künstlichen Lunge erzielt werden verglichen mit Y-stück ferner NO-Gabe.

Zusammenfassend zeigen die gewonnen Daten, dass die bolusförmige NO-Gabe während der frühen Inspiration *in vitro* zuverlässig funktioniert. Des weiteren zeigt sich, dass die bolusförmige NO-Gabe fern des Endotrachealtubus, obwohl weniger effektiv als die Gabe nahe dem Y-Stück, in Situationen, in denen niedrigere Tidalvolumina und NO-Zielkonzentrationen bis 10 ppm verwendet werden, von Vorteil gegenüber den herkömmlichen Applikationsverfahren sein könnte.

### 7.2 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Maria Deja und meinem Freund und Kollegen Dr. Philipp A. Pickerodt für Ihre andauernde Unterstützung und das in mich gesetzte Vertrauen während dieser Promotion.

Für seinen fachlichen Rat mit großer wissenschaftlicher Kompetenz möchte ich auch Prof. Dr. Willehad Boemke herzlich danken.

Herrn Dr. Rainer Köbrich und Dr. Thilo Busch möchte ich für ihr stets offenes Ohr in technischen Fragen danken.

Nicht zuletzt gilt mein Dank meiner Frau Antje Backhaus und meinen Eltern Angelika und Klaus Schürmann, ohne deren Unterstützung weder mein erfolgreiches Medizinstudium noch diese Promotion möglich gewesen wären.

## 7.3. Eidesstattliche Versicherung

"Ich, Moritz Benjamin Teja Hofferberth, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: "In vitro Vergleich unterschiedlicher Applikationsverfahren von Stickstoffmonoxid in das Beatmungssystem" selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe "Uniform Requirements for Manuscripts (URM)" des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst."

Datum Unterschrift

# 7.4 Lebenslauf

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