

Aus der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin
(CCM/CVK) der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Therapeutischer Einsatz von intravenösem Natriumnitrit in
einem Surfactant-Depletionsmodell des schweren akuten
Lungenversagens

–

Auswirkungen auf die pulmonale Shuntfraktion und den
pulmonalarteriellen Gefäßwiderstand

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Sebastian Kronfeldt

aus Frankfurt (Oder)

Datum der Promotion: 18.12.2020

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	5
Abstract	6
1. Einleitung	8
1.1 Das akute Lungenversagen.....	8
1.1.1 Erstbeschreibung und aktuelle Definition.....	8
1.1.2 Inzidenz und Letalität	9
1.1.3 Ätiologie und Pathogenese	10
1.1.4 Pulmonale Hypertonie im Rahmen des ARDS.....	11
1.1.5 Therapieoptionen.....	12
1.2 Pathophysiologische Bedeutung von NO und Nitrit beim ARDS.....	13
1.2.1 Stickstoffmonoxid.....	13
1.2.1.1 Stickstoffmonoxid als Vasodilatator.....	13
1.2.1.2 Klassische Synthese von Stickstoffmonoxid.....	13
1.2.1.3 Inhalatives Stickstoffmonoxid in der Therapie des ARDS	14
1.2.2 Nitrit	15
1.2.2.1 Nitrit als Quelle für Stickstoffmonoxid.....	15
1.2.2.2 Effekte von Nitrit auf die Hämodynamik	15
1.2.2.3 Zytoprotektive Effekte von Nitrit	17
1.3 Entwicklung der Fragestellung	17
2. Methoden	20
2.1 Versuchstiere und Haltung.....	20
2.2 Ernährung.....	20
2.3 Versuchsprotokoll	20
2.4 Versuchsdurchführung.....	23

Inhaltsverzeichnis	3
2.4.1 Anästhesie und Instrumentierung	23
2.4.2 Beatmung und Messung von exhalierem Stickstoffmonoxid	24
2.4.3 Induktion des Lungenschadens	25
2.4.4 Messung hämodynamischer und respiratorischer Parameter	25
2.4.4.1 Hämodynamische Parameter und Urinvolumen	25
2.4.4.2 Respiratorische Parameter.....	27
2.4.5 Quantitative Laboranalyse	27
2.4.5.1 Blutgasanalysen.....	27
2.4.5.2 Plasmakonzentrationen von Nitrit, Nitrat und Zytokinen.....	29
2.4.5.3 Quantifizierung des Lungenödems	29
2.5 Statistische Analyse	30
3. Ergebnisse.....	31
3.1 Versuchstieranzahl, -gewicht und Sterblichkeit.....	31
3.2 Plasmakonzentrationen von Nitrit und Nitrat.....	31
3.3 Blutgase	33
3.4 Säure-Basen-Haushalt	40
3.5 Respiration	41
3.6 Hämodynamik	42
3.7 Lungenödem.....	46
3.8 Inflammatorische Zytokine in der Bronchoalveolären Lavage	48
4. Diskussion.....	49
4.1 Zielsetzung der Arbeit	49
4.2 Methodenkritik.....	49
4.2.1 Anwendung des Lavage-induzierte ARDS Modell beim Schwein	49
4.2.2 Die Dosierung und Plasmakonzentrationen von Nitrit und Nitrat.....	50
4.2.3 Bestimmung der Zytokine in der Bronchoalveolären Lavage	51

Inhaltsverzeichnis	4
4.3 Überleben.....	52
4.4 Oxygenierung	52
4.5 Säure-Basen-Haushalt und Respiration.....	54
4.6 Hämodynamik	55
4.6.1 Pulmonale Hämodynamik	55
4.6.2 Systemische Hämodynamik	56
4.7 Lungenödem.....	56
4.8 Inflammatorische Zytokine in der Bronchoalveolären Lavage	57
5. Zusammenfassung	59
6. Literaturverzeichnis.....	61
7. Anhang	71
7.1. Abkürzungsverzeichnis	71
7.2 Abbildungsverzeichnis	74
7.3 Tabellenverzeichnis	74
7.4 Erklärung an Eides Statt	75
7.5 Publikationen.....	76
7.6 Anteilserklärung an erfolgten Publikationen	77
7.7 Curriculum vitae	78
7.8 Danksagung	79

Vorwort

Auszüge der in der vorgelegten Arbeit enthaltenen Daten wurden in Form von Poster-Präsentationen bei den Kongressen der *American Thoracic Society* (ATS) 2014 in San Diego, sowie der *European society of intensive care medicine* (ESICM) 2015 in Berlin vorgestellt und als Abstracts veröffentlicht (1, 2). Darüber hinaus wurden Daten in Form eines Vortrages beim 44. Seminar über Versuchstiere und Tierversuche 2015 in Berlin vorgestellt.

Abstract

Das schwere akute Lungenversagen (ARDS) hat trotz Einführung der lungenprotektiven Beatmungsstrategien eine unvermindert hohe Letalität von ca. 40%. Dabei gibt es bisher keine etablierte medikamentöse Therapie, welche die Sterblichkeit des ARDS nachgewiesen senkt. Für die Inhalation von Stickstoffmonoxid (NO), welches als endogen vorkommender, potenter Vasodilatator bekannt ist, konnten bisher Verbesserungen in der Oxygenierung des Blutes, aber keine Reduktion der Sterblichkeit gezeigt werden. Nitrit (NO_2^-) ist ein Abbauprodukt von NO, kann aber selbst als vasoaktiver NO-Donator fungieren. Darüber hinaus hat es zytoprotektive Eigenschaften. Pickerodt *et al.* konnten einen lungenprotektiven Effekt von intravenös (iv.) appliziertem NO_2^- auf die Entwicklung eines Ventilator-induzierten Lungenschadens bei Ratten zeigen, wenn es vor der Schadensinduktion appliziert wird. Mit dem hier präsentierten Forschungsvorhaben wurde überprüft, ob iv. appliziertes Natriumnitrit (NaNO_2) diesen positiven Effekt der Lungenprotektion auch auf einen bereits vorhandenen Lungenschaden hat. Im Fokus der Untersuchung standen vor allem die Einflüsse auf die pulmonale Hämodynamik sowie auf den Gasaustausch. Aufgrund des notwendigen invasiven Monitoring, rezidivierender Blutentnahmen sowie der guten Übertragbarkeit des Modells auf den Menschen wurde ein Schweinmodell gewählt. Der Lungenschaden wurde mittels Surfactant-Depletion induziert, da dies ein stabiles und gut reproduzierbares Schadensmodell der Lunge ist. Es wurden drei Gruppen untersucht: Kontrollen (n=7), iv. NaNO_2 Hochdosis (3.0 mg/kg KG Bolus über 20 Minuten, gefolgt von 1.725 mg/kg/h kontinuierlich; n=6) und iv. NaNO_2 Niedrigdosis (0.3 mg/kg KG Bolus über 20 Minuten, gefolgt von 0.1725 mg/kg/h kontinuierlich; n=6). Mit der Behandlung wurde nach Induktion des Lungenschadens begonnen. Unsere Untersuchungen zeigen eine Nitrit-induzierte pulmonale Vasodilatation mit einem Abfall des pulmonalarteriellen Druckes sowie des pulmonalarteriellen Gefäßwiderstandes. Gegenüber der Kontrollgruppe konnte dabei aber kein verbesserter Gasaustausch, keine Reduktion des Lungenödems sowie keine erniedrigten intrapulmonalen Entzündungsmediatoren erreicht werden. Aus dieser Arbeit ergibt sich zusammenfassend kein Hinweis darauf, dass Nitrit nach iv. Applikation das Ausmaß oder die Schwere eines Lavage-induzierten Lungenversagens beim Schwein reduziert. Limitierend ist dabei der kurze Untersuchungszeitraum und dass nur eine Art des Lungenschadens abgebildet ist.

Although lung protective ventilation is well established, the acute respiratory distress syndrome (ARDS) has a very high mortality of ~ 40%. There is no evidence that any drug therapy reduces the mortality of ARDS. Nitric oxide (NO) is known as a strong endogenous vasodilator. There is evidence for improvements in oxygenation when NO is inhaled in ARDS but a reduction of the mortality of ARDS has not been shown. Nitrite (NO_2^-) is the end product in the NO metabolism, but NO_2^- is also known to act via NO dependent mechanisms as a vasodilator and for having cytoprotective effects during stress and hypoxia. Pickerodt *et al.* have shown that intravenous nitrite has lung protective effects in ventilator-induced lung injury in rats (pre-treatment therapy). With this research project we examined whether intravenous sodium nitrite (NaNO_2) has the same lung protective effects on an already existing lung injury. In particular we focused on changes in pulmonary hemodynamics and gas exchange in the lung. To test our hypothesis by repetitive blood samples and more invasive monitoring as compared to the previously used rat model, we chose to work in pigs. Lung injury was induced by repetitive surfactant depletion by lung lavages. This leads to a stable and reproducible lung injury. We investigated three groups: controls (n=7), high dose iv. NaNO_2 (3.0 mg/kg BW bolus for 20 minutes, followed by 1.725 mg/kg/h continuously; n=6) and low dose iv. NaNO_2 (0.3 mg/kg BW bolus for 20 minutes, followed by 0.1725 mg/kg/h continuously; n=6). The infusion started after the lung injury was induced. We found that the treatment with iv. NaNO_2 induces a pulmonary vasodilation with a decrease in pulmonary artery pressure and pulmonary artery resistance. An improvement in gas exchange, a reduced lung edema or decreased intrapulmonary inflammatory cytokines could not be shown. In summary, there is no evidence that iv. NaNO_2 reduces the severity of lavage induced ARDS in pigs. Our findings are limited by the short time frame of our investigation and does not allow conclusions to the effects of NaNO_2 in other models of lung injury.

1. Einleitung

1.1 Das akute Lungenversagen

1.1.1 Erstbeschreibung und aktuelle Definition

Die Erstbeschreibung des akuten Lungenversagens (*Acute Respiratory Distress Syndrom*, ARDS) in der wissenschaftlichen Literatur fand im Jahre 1967 durch Ashbaugh *et al.* anhand der Symptome von 12 Patienten mit schwerer Tachydyspnoe, Sauerstoff-refraktärer Zyanose, verschlechterter Lungencompliance sowie diffusen alveolären Infiltraten im Röntgenbild statt (3). Nach der Erstbeschreibung fehlten jedoch bis zum Jahr 1988 weiterhin spezifische Kriterien zur Definition des ARDS, um Patienten systematisch zu erkennen, hinsichtlich der Erkrankungsschwere zu stratifizieren und im Rahmen von wissenschaftlichen Untersuchungen vergleichbar zu machen (4). Murray *et al.* führten 1988 ein 4-Punkte System ein, mit dem die Schwere des ARDS anhand vergleichbarer spezifischer Parameter definiert werden konnte. Hierfür nutzten sie den Horowitz-Quotienten (Arterieller Sauerstoffpartialdruck (P_{aO_2}) / Inspiratorische Sauerstofffraktion (F_{iO_2})) als Maß der Hypoxämie, die Höhe des positiven endexpiratorischen Druck (*positive endexpiratory pressure*, PEEP), die statische Compliance der Lunge sowie den Grad von Lungeninfiltraten im Röntgenbild (5). Im Jahr 1994 entwickelte die *American-European Consensus Conference on ARDS* (AECC) Kriterien zur Vereinheitlichung der Definition des ARDS. Hiernach wurden die Patienten, je nach Schwere des Lungenversagens, in die zwei Gruppen *Acute Lung Injury* (ALI) und ARDS eingeteilt. Die Zuordnung erfolgte mit Hilfe des P_{aO_2} / F_{iO_2} -Quotienten: Die Erkrankung der Patienten mit einem Quotienten < 300 mmHg wurde als ALI und die der Patienten mit einem Quotienten < 200 mmHg als ARDS klassifiziert. Weitere Kriterien zur Erfüllung der Definition der AECC sind der akute Beginn des respiratorischen Versagens, bilaterale Infiltrate im Thorax-Röntgenbild sowie ein pulmonal-kapillärer Verschlussdruck (*Pulmonary Capillary Wedge Pressure*, PCWP) < 18 mmHg bzw. die klinische Abwesenheit von Linksherzversagen (6). Die AECC Definition wurde 2012 von der Berlin-Definition abgelöst, welche die Einteilung in ALI und ARDS beendete. Stattdessen werden nun 3 Schweregrade des ARDS anhand des P_{aO_2} / F_{iO_2} -Quotienten in mild, moderat und schwer unterschieden (s. Tabelle 1).

Tabelle 1. Berlin Definition des ARDS von 2012 nach Ranieri VM et al. (7)

	ARDS		
Schweregrad	Mild	Moderat	Schwer
Hypoxämie anhand P _a O ₂ / F _i O ₂ bei PEEP ≥ 5 H ₂ O	201-300 mmHg	101-200 mmHg	≤ 100 mmHg
Radiologischer Befund	Bilaterale Verschattungen im Röntgen oder Computertomographie, welche nicht durch ein kardial bedingtes Ödem, einen Kollaps der Lungen oder noduläre Infiltrate vollständig zu erklären sind		
Ätiologie des respiratorischen Versagens	Fehlende Erklärbarkeit durch Herzversagen oder Flüssigkeitsüberladung		
Zeitlicher Verlauf des respiratorischen Versagens	Akuter Beginn innerhalb einer Woche		

Im Gegensatz zu der ARDS Definition der AECC, besitzt die Einteilung der Berlin Definition eine bessere Vorhersagekraft bezüglich der Mortalität (7).

1.1.2 Inzidenz und Letalität

Die Inzidenz des ARDS in Europa beträgt 5 bis 7,2 / 100.000 Einwohner pro Jahr (8-10). Aktuelle Daten der internationalen multizentrischen prospektiven Kohorten-Observationsstudie „Lung-Save“ von Bellani G *et al.* zeigen, dass 10,4 % aller Patienten, welche im Studienzeitraum von 4 Wochen auf einer Intensivstation aufgenommen werden, die Kriterien eines ARDS erfüllen. Die Anzahl wächst bei beatmeten Patienten auf 23,4 % (11). Die Letalität des ARDS ist trotz intensiver Bemühungen die Behandlungsstrategien zu verbessern, seit Jahren unverändert hoch bei ca. 40 % (9, 11-13).

1.1.3 Ätiologie und Pathogenese

Ein ARDS kann die Folge einer direkten oder indirekten Lungenschädigung sein. Die Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Gründe, die für die Entstehung eines ARDS verantwortlich sein können. Eine Kombination mehrerer Risikofaktoren erhöht die Wahrscheinlichkeit, ein ARDS zu entwickeln (4, 13).

Tabelle 2. Gründe für indirekte und direkte Lungenschädigungen nach Ware LB and Matthay MA (4, 13)

	Häufige Gründe	Seltene Gründe
Direkte Lungenschädigung	Pneumonie Aspiration von Mageninhalt	Lungenkontusionen Beinnaheertrinken Fett- / Luftembolie Inhalationstrauma Reperfusionsschäden
Indirekte Lungenschädigung	Sepsis Shock Trauma Massive Bluttransfusionen	Intoxikationen Kardiopulmonaler Bypass Akute Pankreatitis

Unabhängig von den jeweiligen Ursachen der Lungenschädigung läuft die Pathogenese des ARDS weitgehend gleich ab. Die akute Phase, welche auch exsudative Phase genannt wird, ist durch eine entzündliche Schädigung der alveo-kapillären Schranke gekennzeichnet, die zum histologischen Bild eines diffusen alveolären Schadens mit Mikrothromben im pulmonalen Kapillarbett führt (4). Es kommt zum alveolären Einstrom eines protein- und zellreichen Lungenödems mit Erythrozyten, Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und der Freisetzung proinflammatorischer Zytokine. Am zerstörten Alveolarepithel zeigen sich fibrinhaltige hyaline Membranen, und die Diffusionsstrecke für den Gasaustausch vergrößert sich (14-16). Es kommt im Verlauf zu einer Schädigung der Pneumozyten Typ II und damit

einhergehend zu einer verminderten Produktion von Surfactant sowie zu einem verringerten Flüssigkeitstransport aus der Alveole. Darüber hinaus wird bereits vorhandenes Surfactant durch Plasmaproteine und inflammatorische Zytokine inaktiviert. Die so erhöhte Oberflächenspannung in den Alveolen ist Grund für die Bildung von Atelektasen, wodurch eine Vergrößerung des intrapulmonalen Rechts-Links Shunts verursacht wird (17). Ergebnis ist ein Missverhältnis zwischen Lungenperfusion und -ventilation mit dem Bild einer sauerstoffrefraktären Hypoxämie und erniedrigter Lungencompliance (18).

Der exsudativen Phase anschließend kann es in der proliferativen Phase zu einer fibrosierenden Alveolitis mit fortschreitender Verschlechterung der Lungencompliance und anhaltender Hypoxämie kommen (4). Im Genesungsprozess müssen sowohl beschädigtes Gefäßendothel als auch Alveolarepithel erneuert und das Ödem sowie die Entzündungszellen aus den Alveolen entfernt werden. Darüber hinaus muss fibrotisches Lungengewebe wieder in funktionsfähiges Lungengewebe umgebaut werden, was allerdings nur sehr eingeschränkt geschieht (14).

1.1.4 Pulmonale Hypertonie im Rahmen des ARDS

Das ARDS ist durch einen Anstieg des pulmonal-arteriellen Druckes (*Pulmonary artery pressure, PAP*) und des pulmonal-vaskulären Widerstandes (*Pulmonary vascular resistance, PVR*) gekennzeichnet. Das zeigten Zapol *et al.* bereits 1977 an 30 Patienten, welche an einem ARDS litten und mit einer pulmonal-arteriellen Druckmessung ausgestattet waren (19). Die pulmonale Hämodynamik wird von endogenen vasoaktiven Mediatoren und der hypoxisch pulmonalen Vasokonstriktion (HPV) beeinflusst (20). Die HPV ist ein physiologischer Vorgang, bei dem in wenig ventilerten Lungenarealen der Gefäßtonus erhöht und der Blutfluss somit in gut ventilierte Bereiche umgeleitet wird. Es resultiert eine Verbesserung des Ventilations/Perfusions (V/Q) Verhältnisses und der Oxygenierung des Blutes (21). Dieser Mechanismus führt auch bei einem ARDS zu einem verbesserten V/Q Verhältnis, trägt gleichzeitig aber zu einem Anstieg des PAP bei (22). Da die pulmonale Hypertonie im Rahmen des ARDS auch nach Ausgleich der Hypoxämie weiter besteht (19), müssen noch andere Faktoren eine Rolle spielen. Strukturelle Veränderungen, wie die ödematöse oder durch Fibrosierung bedingte Gefäßkompression, Thromboembolien in der pulmonalen Gefäßstrombahn und der Umbau pulmonaler Gefäße sind weitere Gründe für die pulmonale Hypertonie. Auch externe Einflüsse wie Überdruckbeatmung mit PEEP spielen eine Rolle (20).

Folge des erhöhten PAP kann die Beeinträchtigung der rechtsventrikulären Pumpfunktion bis zum akuten *Cor pulmonale* sein (23, 24). Bull *et al.* konnten zeigen, dass ein erhöhter PVR-Index (PVR / Körperoberfläche) und ein erhöhter transpulmonaler Gradient (PAP – PCWP) im ARDS prädiktiv für eine erhöhte Letalität innerhalb von 60 Tagen sind (25). Passend dazu zeigten Mekontso Dessap *et al.*, dass ein schweres *Cor pulmonale* im ARDS mit einer erhöhten Letalität assoziiert ist (24).

1.1.5 Therapieoptionen

Trotz intensiver Bemühungen neue Therapien zu entwickeln, gibt es derzeit nur wenig Therapieoptionen, die mit nachgewiesener Wirksamkeit die Letalität des ARDS positiv beeinflussen. Die lungenprotektive Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina ist eine der wichtigsten Therapiestrategien und führt zu einer Senkung der Sterblichkeit von Patienten mit ARDS (26). Darüber hinaus scheint eine Bauchlagerung in der Frühphase des ARDS das Überleben von Patienten mit einem $P_aO_2 / F_iO_2 < 150$ zu verbessern (27, 28). Der Einsatz von Muskelrelaxantien innerhalb der ersten 48 Stunden nach Diagnosestellung eines ARDS schien nach den Untersuchungen von Papazian *et al.* von 2010 eine mögliche medikamentöse Therapieoption des ARDS zu sein, um die Sterblichkeit zu senken (28). Zur Überprüfung dieses Ergebnisses wurden im Zeitraum von 2016 bis 2018 Patienten (n=1006) mit einem ARDS in einer randomisierten Multicenterstudie untersucht. Wie bei Papazian *et al.* wurden die Patienten der Interventionsgruppe in den ersten 48 Stunden nach Einschluss in die Studie mit einem Muskelrelaxans behandelt. Die von Moss *et al.* 2019 veröffentlichten Ergebnisse zeigten keine Reduktion der Sterblichkeit durch eine Muskelrelaxierung (29). Die Frage nach dem Nutzen einer Muskelrelaxierung in der Frühphase des ARDS bleibt damit vorerst offen. Eine Beatmung mit höheren PEEP Werten, die individuelle Justierung des PEEP anhand des transpulmonalen Druckgradienten (mit Hilfe der Messung des Ösophagusdruckes) und ein restriktives Flüssigkeitsmanagement konnten in Studien die Oxygenierung (30-32) und Lungenmechanik (31) verbessern, oder zu einer Reduktion der Beatmungstage beitragen (32). Ein Überlebensvorteil für die Patienten konnte dabei, auch in der 2019 von Beitler *et al.* veröffentlichten EPVent-2 Studie zur Ösophagusdruck-gesteuerten PEEP Titration aber bisher nicht gezeigt werden (30-33). Auch für die Behandlung mit inhalativem Stickstoffmonoxid (iNO) konnte keine Verminderung der Mortalität gezeigt werden (34). Demnach gibt es derzeit

mit Ausnahme der Muskelrelaxierung keine pharmakologische Therapieoption, für die eine Reduktion der Letalität des ARDS gezeigt wurde.

1.2 Pathophysiologische Bedeutung von NO und Nitrit beim ARDS

1.2.1 Stickstoffmonoxid

1.2.1.1 Stickstoffmonoxid als Vasodilatator

Stickstoffmonoxid (NO) ist ein freies Radikal, welches als Botenstoff an zahlreichen biologischen Vorgängen beteiligt ist (35). Unter anderem aktiviert NO die Guanylatzyklase in glatter Muskulatur. So führt es über die Bildung von cyclischem Guanosinmonophosphat zu einer Vasodilatation und ist Bestandteil der Blutdruck- und Blutfluss-Regulation (36). Die große Bedeutung von NO wurde unter anderem durch den im Jahre 1998 an Furchgott, Ignarro und Murad verliehenen *Nobelpreis für Physiologie oder Medizin* deutlich. Alle drei leisteten einen wichtigen Beitrag zur Identifizierung von NO als endogenen Vasodilatator. So erkannte Murad 1977 den Zusammenhang von NO und einer verstärkten Aktivität der Guanylatzyklase und vermutete, dass NO so an der vasodilatierenden Wirkung stickstoffhaltiger Substanzen beteiligt sein könnte (37). Drei Jahre später entdeckten Furchgott und Zawadzki, dass die durch Acetylcholin induzierte Vasodilatation von der Intaktheit des Gefäßendothels abhängig ist. Sie postulierten einen hierfür verantwortlichen, vom Endothel ausgehenden „relaxierenden Faktor“ (*Endothelium-derived relaxing factor*, EDRF) (38). Doch erst 1987 konnten Ignarro *et al.* zeigen, dass es sich bei dem EDRF um NO handelte (39). Unabhängig davon präsentierte die Gruppe um Moncada noch im gleichen Jahr ihre Untersuchungen mit demselben Ergebnis (40). Bei der Ehrung durch das Nobelpreiskomitee wurde dies allerdings nicht berücksichtigt.

1.2.1.2 Klassische Synthese von Stickstoffmonoxid

Die klassische NO-Synthese wird durch die NO-Synthasen (NOS) katalysiert. Derzeit unterscheidet man drei Isoenzyme: Die in neuronalem Gewebe und Skelettmuskulatur vorkommende *neuronale* NOS (41, 42), die im Gefäßendothel nachgewiesene *endotheliale* NOS (43), sowie die in diversen Zellen durch bakterielle Lipopolysaccharide und proinflammatorische Zytokine *induzierbare* NOS (44). Ausgehend von L-Arginin katalysieren

sie die von Sauerstoff und Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat-H (NADPH) abhängige Reaktion zu Citrullin und NO (45).

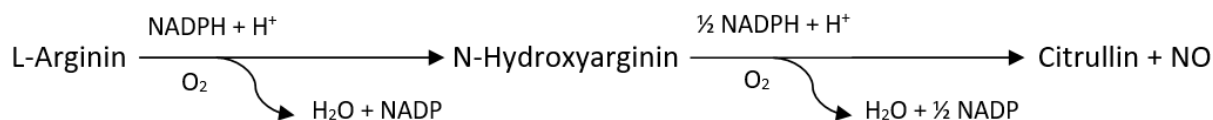


Abbildung 1. Durch NOS katalysierte NO-Synthese nach Knowles und Moncada [43]

NO besitzt eine sehr kurze Halbwertszeit und wird rasch durch Hämoglobin, Myoglobin und andere Radikale zu Nitrit (NO_2^-) und Nitrat (NO_3^-) oxidiert. Dadurch kann es nicht über die Blutbahn transportiert werden und seine Wirkung nur innerhalb einer kleinen Diffusionsstrecke entfalten (46).

1.2.1.3 Inhalatives Stickstoffmonoxid in der Therapie des ARDS

Der therapeutische Einsatz von iNO bei Patienten mit akutem Lungenversagens führt zwar zu einer verbesserten Oxygenierung, eine Reduktion der Letalität konnte aber nicht gezeigt werden (34). Dass Patienten mit ARDS zu ca. 45 % am Multiorganversagen und nicht an der Hypoxämie versterben (9), könnte ein Grund für den fehlenden Erfolg der inhalativen NO Therapie sein. Zusätzlich hat NO unerwünschte Arzneimittelwirkungen. So scheint NO in physiologischen Konzentrationen einerseits zytoprotektive Eigenschaften zu besitzen, in höheren Konzentrationen aber an Nekrose und Apoptoseinduktion beteiligt zu sein (47). Zusätzlich kann NO mit Sauerstoffradikalen reagieren, hochreaktive Stickstoffverbindungen wie Peroxinitrit bilden und durch Oxidation von Proteinen und Lipiden unter anderem Zellmembranen degradieren und gewebeschädigend wirken. Darüber hinaus wird bei der Reaktion von NO mit oxygeniertem Hämoglobin das zweiwertige Eisen zu dreiwertigem Eisen oxidiert. Das so entstandene Methämoglobin (MetHb) ist nicht mehr in der Lage Sauerstoff zu binden(48). Bei Patienten mit ARDS kann dies dazu führen, dass ein bereits erniedrigtes Sauerstoffangebot weiter verringert wird.

1.2.2 Nitrit

1.2.2.1 Nitrit als Quelle für Stickstoffmonoxid

Das Anion NO_2^- galt bis Mitte der neunziger Jahre als einfaches Abbauprodukt im NO-Stoffwechsel, doch inzwischen wird es vielmehr als eine von der NOS unabhängige Quelle der NO-Synthese verstanden (46). Durch die Oxidation zu NO_2^- kann das flüchtige NO stabilisiert werden und so nicht nur als auto- und parakriner, sondern auch als endokriner Botenstoff durch das Blut transportiert werden (46). Die Reduktion von NO_2^- zu NO findet unter anderem durch Protonen im sauren Milieu statt. Dies wurde bereits 1994 von Lundberg *et al.* gezeigt. Sie konnten nachweisen, dass bei dem Verzehr von NO_2^- und NO_3^- haltigem Eisbergsalat nach Kontakt mit Magensäure NOS-unabhängig NO produziert wird (49). Darüber hinaus kann NO_2^- beispielsweise durch Hämoglobin, Myoglobin, Neuroglobin, die Xanthinoxidase (XO) und Aldehydoxidase (AO) sowie durch Enzyme der Atmungskette zu NO reduziert werden (50).

1.2.2.2 Effekte von Nitrit auf die Hämodynamik

Bereits seit Anfang der achtziger Jahre des 20. Jahrhunderts sind durch *in vitro* Versuche vasodilatorische Effekte von Natriumnitrit (NaNO_2) bekannt (51). In mehreren Studien konnten seitdem die NO vermittelten Effekte von NO_2^- sowohl auf die systemische wie auch pulmonale Hämodynamik gezeigt werden. So zeigten Hunter *et al.*, dass inhaliertes Natriumnitrit (iNaNO_2) zu einer Minderung der Hypoxie-induzierten pulmonalen Hypertonie bei Lämmern um ca. 65 % führt. Gleichzeitig kommt es zu einem Anstieg von exhalieren NO (NO_{ex}) (52). Simon *et al.* zeigten bei Patienten mit chronischer pulmonaler Hypertonie ebenfalls eine Reduktion des PAP sowie eine Reduktion des systemischen Blutdrucks (53). Neben der Inhalation von Natriumnitrit zeigt auch die intravasale Gabe von NaNO_2 eine Wirkung auf die Hämodynamik: Bereits 2003 konnten Cosby *et al.* zeigen, dass die Infusion von NaNO_2 in den Unterarm eines Menschen in einer Vasodilatation resultiert (51). Mittels echokardiografischer Messungen an Probanden konnten Ingram *et al.* darüber hinaus zeigen, dass kleine Dosen von NaNO_2 auch zu einer Reduktion des PAP führen können. Doch ob dies auch zu einer Reduktion des PVR führte, ließ sich aufgrund fehlender invasiver Messungen nicht sicher beurteilen (54). Eine dosisabhängige Reduktion des systemischen Blutdruckes durch eine Infusion von NaNO_2 konnten Rosenbaek *et al.* 2017 an gesunden Probanden

nachweisen. Eine genaue Charakterisierung der pulmonalen Hämodynamik fand hier aber nicht statt (55).

Über welchen Weg NO_2^- hauptsächlich zu NO reduziert wird, ist momentan noch Gegenstand von Diskussionen und wissenschaftlicher Untersuchungen. Während oxygeniertes Hämoglobin als NO-Scavenger (Fänger) wirkt (36), kann deoxygeniertes Hämoglobin bei der Reaktion mit NO_2^- unter MetHb-Bildung als Nitritreduktase fungieren (46). Die höchste Aktivität besitzt es dabei bei einer Sauerstoffsättigung von 50 % (56). So zeigten Cosby *et al.* in Ihren Untersuchungen zu vasodilatierenden Effekten von NO_2^- , dass die Reaktion von NO_2^- zu NO bei vermehrt deoxygeniertem Hämoglobin ansteigt (51). Auch Hunter *et al.* zeigten eine stärkere NO_2^- vermittelte Reduktion des PAP im Rahmen einer Hypoxie-induzierten pulmonalen Hypertonie, verglichen mit einer normoxyschen pulmonalen Hypertonie (52). Ein Kritikpunkt an der Funktion von deoxygeniertem Hämoglobin als physiologisch relevante Nitritreduktase ist die Auffassung, dass in Erythrozyten entstandenes NO direkt wieder von anderen Hämgruppen abgefangen werden müsste (57). Deem *et al.* zeigten, dass NaNO_2 die HPV in mit Pufferlösung perfundierten Rattenlungen inhibieren kann, doch die Zugabe einer physiologischen Konzentration von freiem Hämoglobin oder von Erythrozyten in physiologischer Konzentration die Nitritwirkung aufhob (58). In Übereinstimmung damit zeigten Blood *et al.*, dass die durch eine kontinuierliche Infusion von freiem Hb hervorgerufene pulmonale Vasokonstriktion (Anstieg des PAP) nicht durch eine gleichzeitige NaNO_2 -Infusion reduziert werden kann, wohingegen eine Inhalation von NaNO_2 den PAP senken konnte. Sie schließen daraus, dass iNaNO_2 in den Atemwegen und dem Lungengewebe, nicht jedoch im Blut, zu NO reduziert wird (59).

Neben der durch Erythrozyten vermittelten Nitritreduktion werden vor allem die Molybdo-Flavoenzyme XO und AO als Hauptreduktasen diskutiert. NO_2^- wird dabei durch das Molybdän reduziert (50). Die Reduktion findet sowohl unter Normoxie, als auch unter Hypoxie statt (60), wobei die XO eine gesteigerte enzymatische Aktivität unter hypoxischen Bedingungen aufweist (61). Li *et al.* zeigten anhand von *in vitro* Versuchen, dass die NO_2^- abhängige NO-Produktion in Gewebshomogenaten von Leber, Herz oder Aorta deutlich größer ist als die NO-Produktion von Blut oder isoliertem Hämoglobin, welches mit Nitrit inkubiert wurde. Die Applikation von spezifischen Inhibitoren der XO (Oxypurinol) und AO (Raloxifen) zu den Geweben reduzierte die NO Bildung um 70 % (62). Passend dazu konnten Casey *et al.* zeigen, dass die vasodilatierenden Effekte von Nitrit in der pulmonalen Gefäßstrombahn von Ratten

durch den XO Inhibitor Allopurinol aufgehoben werden (63). Sowohl die XO als auch die AO scheinen also einen wichtigen Anteil an der physiologischen Nitritreduktion zu haben.

1.2.2.3 Zytoprotektive Effekte von Nitrit

Es gibt eine Reihe von wissenschaftlichen Belegen, welche die zytoprotektiven Eigenschaften von NO_2^- in Ischämie/Reperfusions-Modellen von Herz, Gehirn, Leber und Niere zeigen (64-67). Der zugrunde liegende Mechanismus ist komplex und bis heute nicht vollends verstanden. Die protektiven Effekte scheinen dabei NO-abhängig durch Einflussnahme auf den Stoffwechsel der Mitochondrien vermittelt zu sein (46). Ein Mechanismus besteht hierbei möglicherweise in der Inhibierung Eisen-abhängiger oxidativer Schäden an der Mitochondrienwand und der damit unterbleibenden Einleitung der Apoptose unter Hypoxie (68). Zuckerbraun *et al.* konnten protektive Effekte von NO_2^- auf eine proliferative und inflammatorische Vaskulopathie mit einhergehender pulmonaler Hypertonie zeigen. Hierfür untersuchten sie Ratten, welche entweder chronisch einem hypoxischen Gasgemisch ausgesetzt waren oder einmalig Monocrotalin subkutan erhielten. Die Versuchstiere wurden dabei mittels wiederholter Gabe von kleinen Dosen iNaNO_2 behandelt. Zur Quantifizierung der Vaskulopathie und der pulmonalen Hypertonie wurden die Lungenhistologie betrachtet der rechtsventrikuläre Druck gemessen sowie die Rechtsherzhypertrophie beurteilt. Es zeigte sich in beiden Gruppen eine Reduktion der pulmonalen Hypertonie. Eine Inhibierung der XO führte dabei zu einer Aufhebung des protektiven Effekts von NO_2^- (69). Webb *et al.* und Tripatara *et al.* identifizierten in ihren Ischämie/Reperfusions-Modellen ebenfalls die XO als die für die zytoprotektiven Effekte notwendige Nitritreduktase (66, 67).

1.3 Entwicklung der Fragestellung

Das ARDS hat trotz aller therapeutischer Bemühungen eine anhaltend hohe Letalität von ca. 40 % (9, 11-13). Das nunmehr seit über 20 Jahren verwendete NO (70) führt zwar zu einer verbesserten Oxygenierung, kann das Überleben des Patienten aber nicht verbessern (34). Dabei besitzt es in supraphysiologischen Konzentrationen zusätzlich noch potentiell schädliche Wirkungen (47, 48). Besonders schwer erkrankte Patienten sind aufgrund ihres ARDS zum Teil gar nicht mehr zu beatmen und können dementsprechend auch kein NO inhalieren. Das nun seit einiger Zeit als endogener NO Donator bekannte NO_2^- besitzt Eigenschaften, die es als potentielles Therapeutikum im ARDS interessant machen.

Grundlagenwissenschaftliche Daten belegen, dass NO_2^- sowohl zu einer pulmonalen Vasodilatation führt, als auch zytoprotektive Eigenschaften besitzt (46). Gegenüber der Applikation von inhaliertem NO bietet NO_2^- Vorteile wie z.B. die Möglichkeit der intravenösen (iv.) Gabe und eine längere Halbwertszeit (71) mit der damit verbundenen Möglichkeit im Blutstrom durch den menschlichen Organismus zu zirkulieren oder im Gewebe gespeichert zu werden. Außerdem können aus NO_2^- kleine Mengen NO gezielt in den erkrankten Geweben gebildet werden und so der Blutfluss über eine Vasodilatation selektiv in unterversorgte Regionen geleitet werden. Pickerodt *et al.* haben zeigen können, dass die Vorbehandlung von Ratten mit iv. NaNO_2 den Ventilator-induzierten Lungenschaden (VILI) verringern kann. Es konnte eine Verbesserung des Gasaustausches, eine Verringerung des Lungenödems und eine Reduktion des hämorrhagischen Alveolarödems im lungenhistologischen Bild gezeigt werden (72). Wie von Pickerodt *et al.* schon angemerkt wurde, konnte durch das Fehlen von invasiven Messungen in der pulmonalen Gefäßstrombahn keine Aussage über die Effekte auf die pulmonale Hämodynamik und ihren Anteil am Schutzeffekt getroffen werden (72). Des Weiteren fand die Gabe von NO_2^- vor dem Lungenschaden statt (Prophylaxe). Im klinischen Alltag haben die Patienten jedoch definitionsgemäß bereits einen manifesten Lungenschaden, wenn ein ARDS diagnostiziert und eine Therapie begonnen wird. Bei der weiterhin hohen Letalität des ARDS ist die Entwicklung neuer pharmakologischer Therapieansätze dringend notwendig. Eine Pharmakotherapie, welche eine intravenöse statt einer inhalativen Applikation erlaubt, wäre wegen der höheren Applikationszuverlässigkeit erstrebenswert. Hieraus ergibt sich die Frage, ob der lungenprotektive Nutzen von iv. NO_2^- bei präventiv behandelten Ratten, auch dann besteht, wenn iv. NO_2^- erst bei bestehendem Lungenschaden eingesetzt wird und somit als potentielles Therapeutikum im ARDS in Frage kommt. Hierbei soll vor allem auch der Einfluss des als Vasodilatator bekannten NO_2^- auf die hämodynamischen Regulationsmechanismen der Lungenstrombahn betrachtet werden. Das hierfür notwendige komplexe invasive Monitoring, welches die gemessenen Werte selbst möglichst wenig beeinflusst, kann in einem Kleintierversuch nicht realisiert werden. Darüber hinaus sind regelmäßige Blutentnahmen zur Analyse der Blutgase notwendig, die aufgrund des benötigten Blutvolumens nur im Großtiermodell möglich sind. Aufgrund der relativ guten Übertragbarkeit der Physiologie des kardiorespiratorischen Systems auf den Menschen, wählten wir ein Schweinmodell. Zur reproduzierbaren Induktion eines schweren Lungenversagens ist ein Surfactant-Depletionsmodell geeignet (73). Durch das Auswaschen

des Surfactant mit isotoner Natriumchlorid-Lösung (NaCl) aus den Alveolen ist es möglich, eine schwere Störung des Gasaustauschs und der Hämodynamik im Schwein zu induzieren (74).

Wir untersuchten daher den therapeutischen Einsatz von intravenösem Natriumnitrit in einem Surfactant-Depletionsmodell des schweren akuten Lungenversagens im Schwein.

2. Methoden

2.1 Versuchstiere und Haltung

In dem hier beschriebenen Modell wurden die Versuche mit weiblichen Hauschweinen der Deutschen Landrasse durchgeführt. Die Tiere wurden mit einem Gewicht von $39,9 \pm 3,9$ kg über den Einkauf der Forschungseinrichtung für experimentelle Medizin der Charité (FEM) bezogen (Lieferant: Wolfgang Günther, Am Krankenhaus 13a, 15366 Neuenhagen). Im Rahmen der Erstuntersuchung wurde ihr Gesundheitszustand durch die verantwortliche Tierschutzbeauftragte der FEM, Frau PD Dr. med. vet. Juliane Unger, überprüft. Anschließend wurden die Versuchstiere für mindestens 7 Tage unter Quarantäne gehalten. Alle Tiere wurden über die gesamte Dauer in der FEM tierschutzgerecht gehalten und durch im Umgang mit Schweinen erfahrenen Tierpflegern und Tierpflegerinnen betreut. Es erfolgte eine regelmäßige Protokollierung des Gesundheitszustandes, der Nahrungsaufnahme und der Gewichtsentwicklung. Die Versuche wurden durch die zuständige Tierversuchskommission des Landesamtes für Gesundheit und Soziales Berlin genehmigt (Genehmigungs-Nummer: G 0116/10).

2.2 Ernährung

Um für die in den Versuchen geplanten Analysen der Plasmaspiegel von NO_3^- und NO_2^- gleiche Ausgangsbedingungen zu schaffen, wurde die Ernährung der Versuchstiere standardisiert. Als Futtermittel wurden täglich 30 g/kg Körpergewicht (KG) HEMO U130 Trockenfutter (Fa. Hemo Mohr GmbH, Schweden, Deutschland) pro Tier mit 60 ml/kg KG Wasser aufgeschwemmt und verfüttert. Die Fütterung fand zweimal täglich statt. Die letzte Futteraufnahme erfolgte jeweils am Abend vor dem Versuchstag. Um eine zusätzliche Nahrungsaufnahme in der Nacht auszuschließen erfolgte anschließend eine strohfreie Haltung. Der Zugang zu Wasser stand zu jeder Zeit *ad libitum* zur Verfügung.

2.3 Versuchsprotokoll

Die Versuche folgten einem standardisierten Ablauf (s. Abbildung 2) und wurden in einer randomisierten Reihenfolge durchgeführt. Es wurden 3 Gruppen gebildet (Gesamtzahl $n = 19$): Kontrollen ($n = 7$), NaNO_2 Niedrigdosis iv. (NaNO_2 ND; 0.3 mg/kg KG Bolus über 20 Minuten,

gefolgt von 0.1725 mg/kg/h KG kontinuierlich; n = 6) und NaNO₂ Hochdosis iv. (NaNO₂ HD; 3.0 mg/kg KG Bolus über 20 Minuten, gefolgt von 1.725 mg/kg/h kontinuierlich; n = 6). Um vergleichbare hämodynamische Ausgangsbedingungen zu erzielen, erfolgte nach der Instrumentierung eine einstündige Stabilisierungsphase unter kontrollierter Beatmung. Anschließend wurden die *Baseline*-Messungen im gesunden Tier durchgeführt, wonach die Induktion des Lungenschadens folgte. Hierfür wurden repetitive Lungenspülungen (Lavage) mittels NaCl durchgeführt. Dadurch wird zunehmend Surfactant aus der Lunge ausgewaschen und es kommt aufgrund der erhöhten Oberflächenspannung in den Alveolen zur Bildung von Atelektasen (73). Als Zielgröße für den Lungenschadens diente der P_aO₂ / F_iO₂-Quotient. Der Schaden galt als etabliert, wenn der P_aO₂ / F_iO₂-Quotienten für mindestens 60 min < 100 mmHg war. Die Länge dieser Prozedur schwankte je nach Anzahl der notwendigen Lavagen zwischen 2 und 4 Stunden. In der ersten Stunde nach erfolgreicher Induktion des Lungenversagens wurden die Messungen der ARDS-*Baseline* durchgeführt und in den Interventionsgruppen anschließend mit der NaNO₂ Infusion begonnen. Zur Herstellung der NaNO₂ Infusion wurde jeweils unmittelbar vor der Verabreichung eine Infusionsspritze für eine Bolusgabe und eine für eine anschließende kontinuierliche Gabe bereit. Für die Boluslösung der NaNO₂ HD Gruppe wurden 150 mg NaNO₂ (Sodium nitrite, Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA) in 50 ml steriler NaCl Lösung gelöst (entspricht 3 mg/ml). Für die NaNO₂ ND Gruppen wurden 15 mg NaNO₂ ebenfalls in 50 ml Menge NaCl gelöst (entspricht 0,3 mg/ml). Die Laufrate pro Stunde für die Bolusgabe entsprach dem jeweiligen Körpergewicht des Versuchstieres in Millilitern. Für die kontinuierliche Infusionslösung wurden 1000 mg (NaNO₂ HD) bzw. 100 mg (NaNO₂ ND) in 50 ml NaCl gelöst (entspricht 20 mg/ml bzw. 2 mg/ml für NaNO₂ HD bzw. NaNO₂ ND). Die Laufrate pro Stunde ergab sich entsprechend aus dem Körpergewicht, der jeweiligen Zieldosis und NaNO₂ Konzentration in der Infusionsspritze.

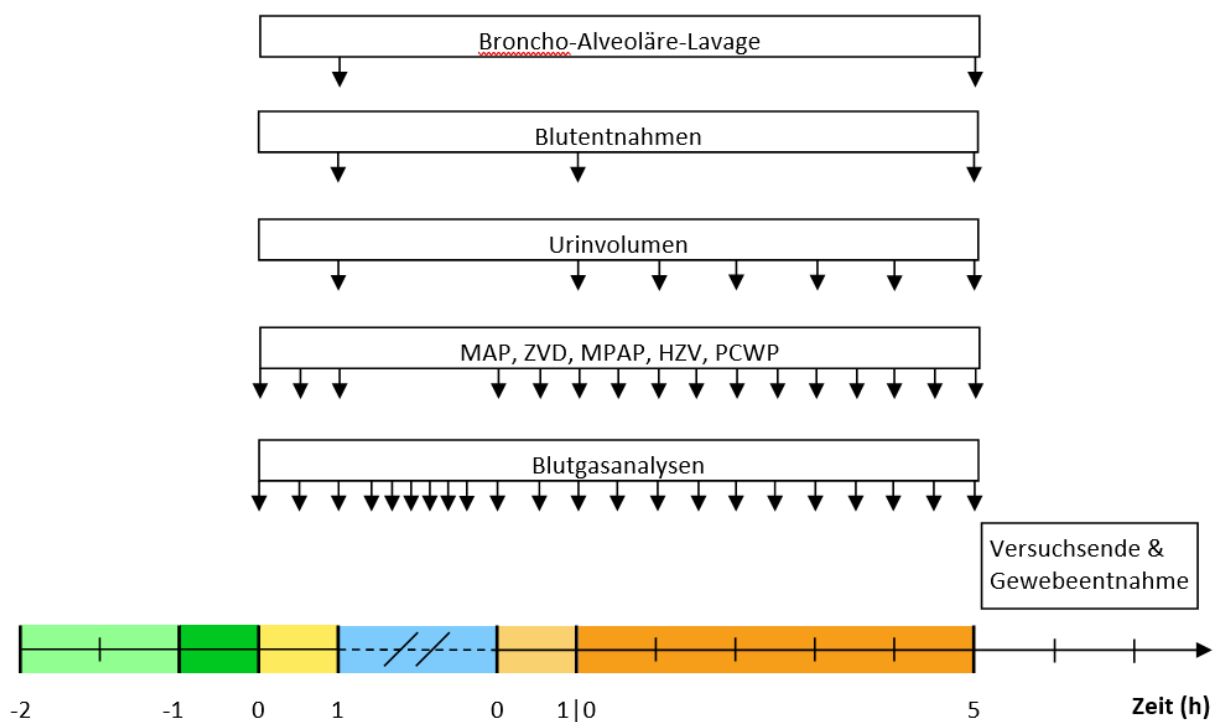


Abbildung 2. Standardisierter Versuchsablauf

- = Anästhesie und Instrumentierung
- = Ruhepause
- = Baseline
- = Lavage
- = ARDS-Baseline
- = Infusion von Natriumnitrit
- MAP = Mittlerer arterieller Blutdruck
- ZVD = Zentral-venöser Blutdruck
- MPAP = Mittlerer pulmonal-arterieller Blutdruck
- HZV = Herzzeitvolumen
- PCWP = Pulmonal-Kapillärer Verschlussdruck

2.4 Versuchsdurchführung

2.4.1 Anästhesie und Instrumentierung

Alle Versuche wurden durchgehend in Allgemeinanästhesie durchgeführt. 20 Minuten vor der Narkoseeinleitung erfolgte die Prämedikation des Tieres in dem ihm vertrauten Stall durch die intramuskuläre Applikation von Ketamin (26 mg/kg KG; Urostamin[®], Serumwerk, Bernberg, Deutschland), Xylazin (3 mg/kg KG; Rompun 2 %[®], Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland), Azaperon (120 mg; Stresnil[®], JANSSEN Animal Health, Neuss, Deutschland) und Atropin (0,5 mg; Atropin[®]; B. Braun, Melsungen, Deutschland). Anschließend wurde das Tier mit Hilfe einer Rolltrage und abgedeckten Augen in den Operationsaal gebracht und in Bauchlage auf einem Operationstisch mit Wärmematte gelagert. Dort erfolgte die Etablierung einer Venenverweilkanüle (Braunüle[®] 20G, B.Braun, Melsungen, Deutschland) in die linke oder rechte Ohrenvene und die Überwachung des Tieres mittels Pulsoximeter. Nach erfolgter Präoxygenierung mit reinem Sauerstoff (ca. 10 l/min Frischgasfluss) durch eine für Schweineschnauzen passende Atemmaske wurde die Narkose mit Fentanyl (2 µg/kg KG; Fentanyl-Janssen, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) und Propofol (2-3 mg/kg KG; Propofol-Lipuro 10mg/ml, B.Braun, Melsungen, Deutschland) intravenös eingeleitet. Anschließend erfolgte mittels eines für Großtiere konzipierten Laryngoskops die Intubation mit einem gecufften Endotrachealtubus (7,5 -8,0 ID) (Mallinckrodt[™], Covidien[™], Dublin, Irland). Im Anschluss an die Atemwegssicherung wurden die Tiere in Rückenlage gebracht und die weitere Instrumentierung durchgeführt. Die Narkosetiefe wurde dabei nach aus der Humanmedizin bekannten Kriterien überwacht und gegebenenfalls durch eine entsprechende Nachdosierung angepasst. Dafür war nach Fertigstellung der Instrumentalisierung in der Regel eine kontinuierliche Infusion von Propofol mit 3 mg/kg/h und Fentanyl mit 12-18 µg/kg/h notwendig. Mit Narkoseeinleitung erhielt jedes Tier eine Infusion von 500 ml balancierter Elektrolytlösung (Sterofundin[®], B.Braun, Melsungen, Deutschland), welche anschließend mit 4 ml/kg KG kontinuierlich fortgesetzt wurde. Unter diesem Regime wurde die Schlagvolumenvariabilität unter 12 % gehalten. Im Falle einer Schlagvolumenvariabilität > 12 %, wurde erneut ein Bolus von 200 ml Elektrolösung verabreicht.

Zur kontinuierlichen Messung des systemischen Blutdruckes, sowie für arterielle Blutabnahmen und Blutgasanalysen (BGA) wurde ein arterieller Katheter (20 G; Leadercath[®], Vygon GmbH & Co.KG, Aachen, Deutschland) in der rechten Femoralarterie platziert. In der

gegenseitigen Arterie wurde ein weiterer Katheter (PULSIOCATH®, Pulsion Medical Systems, Feldkirchen, Deutschland) zur kontinuierlichen Pulskonturanalyse mittels PiCCO-Systems (PiCCO₂®, Pulsion Medical Systems, Feldkirchen, Deutschland) eingebracht. In die rechte Jugularvene wurden für die sichere Applikation von Medikamenten und die Bestimmung des zentral-venösen Blutdruckes (ZVD) ein 5-lumiger zentralvenöser Katheter (Multicath 5, Vygon GmbH & Co.KG, Aachen, Deutschland) sowie eine Schleuse (Arrow-Flex® 6 French, Prod. Nr.: SI-09600, Arrow international, Reading, USA) platziert. Unter visueller Kontrolle der Druckkurve erfolgte über die Schleuse das Einschwemmen eines Swan-Ganz-Katheters (Swan-Ganz®, 5 French, Edwards Lifescience LLC, Irvine, USA). Dieser wurde zur Messung des PAP, Bestimmung des Herzzeitvolumens (HZV) und der Gewinnung gemischt-venösen Blutes für BGAs genutzt. Alle Gefäße wurden zur Punktion kleinflächig freipräpariert und die Katheter mittels Seldinger-Technik platziert.

Nach erfolgreicher Etablierung aller Katheter wurden die Tiere tracheotomiert und ein gekürzter Trachealtubus (9,0 ID, Mallinckrodt™, Covidien™, Dublin, Irland) eingelegt.

Abschließend erfolgte die transurethrale Platzierung eines Dauerkatheters in die Harnblase.

Um kontrollierte und vergleichbare Bedingungen zu schaffen, wurde zum Ausschluss eines muskulären Einflusses auf die Compliance des respiratorischen Systems und mögliche Ventilator-Asynchronien durch Spontanatmungsversuche, eine Muskelrelaxation durchgeführt. Dafür wurde nach vollständiger Instrumentierung Pancuroniumbromid 0,1 mg/kg als Bolus appliziert und anschließender eine kontinuierliche Infusion (0,3-0,36 mg/kg/h) gestartet.

2.4.2 Beatmung und Messung von exhalierem Stickstoffmonoxid

Alle Versuchstiere wurden während der Narkose in einem druckkontrollierten Modus mit Volumengarantie beatmet (Engström Carestation, GE Healthcare, Chalfont St Giles, Großbritannien). Die zur Beatmung verwendete Druckluft wurde durch Filter (CLD 780 TR, ECO PHYSICS GmbH, München, Deutschland) von NO befreit. Dabei wurde bis zur Induktion des Lungenschadens ein Tidalvolumen von 9 ml/kg KG bei einem PEEP von 7 cmH₂O und einer F_IO₂ von 1,0 gewählt. Nach Induktion des Lungenschadens wurde das Tidalvolumen im Sinne einer lungenprotektiven Beatmung auf 6 ml/kg KG reduziert und das Inspirations-/Expirations-Verhältnis (I:E) von 1:2 auf 1:1 eingestellt. Die Atemfrequenz (AF) wurde so gewählt, dass der

arterielle Kohlenstoffdioxid-Partialdruck ($P_a\text{CO}_2$) zwischen 40 und 50 mmHg betrug. Die obere Grenze für die AF wurde auf 35/min beschränkt.

2.4.3 Induktion des Lungenschadens

Um einen Lungenschaden zu induzieren, wählten wir ein modifiziertes Lavagemodell nach Lachmann *et al.* (73). Dabei werden die Lungen der Tiere über die Trachealkanüle mit körperwarmer isotoner NaCl (NaCl, B.Braun, Melsungen, Deutschland) Lösung (50 ml/kg KG) passiv gefüllt. Bei Abfall des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP) unter 50 mmHg wird die Lösung wieder aus den Lungen entlassen und das Beatmungsgerät rekonnektiert. Nach der Kreislaufstabilisierung des Tieres wurde die Prozedur möglichst schnell wiederholt. Auf die zweite Lavage folgte eine arterielle BGA, um mit Hilfe des $P_a\text{O}_2 / F_i\text{O}_2$ -Quotienten die Schwere des Lungenschadens zu quantifizieren. Die Lavage wurde anschließend unter regelmäßigen BGA Kontrollen fortgesetzt, bis der $P_a\text{O}_2 / F_i\text{O}_2$ -Quotient für mindestens 60 Minuten kleiner als 100 mmHg war.

2.4.4 Messung hämodynamischer und respiratorischer Parameter

2.4.4.1 Hämodynamische Parameter und Urinvolumen

Alle Drucksysteme wurden unmittelbar vor Beginn der Messungen über Einmaldrucksysteme (LogiCal®, Smiths Medical International Ltd. Rossendale, Großbritannien) an die jeweiligen Druckwandler angeschlossen (MX960, Smiths Medical International Ltd. Rossendale, Großbritannien) und mit Hilfe eines analogen Manometers geeicht. Dabei wurde die Höhe der Druckwandler individuell auf Herzhöhe ausgerichtet. Die kontinuierlich gemessenen Parameter wurden mit Hilfe eines *Personal Computers* (PC) und der Software LabChart 7 (Version 7.3.7, ADInstruments, Dunedin, Neuseeland) aufgezeichnet und auf einem Monitor dargestellt. Dazu gehörten der ZVD, der systolische arterielle Blutdruck, der diastolische arterielle Blutdruck sowie der MAP. Des Weiteren wurden der systolische und diastolische PAP sowie der resultierende mittlere PAP (MPAP) aufgezeichnet.

Für die Bestimmung des PCWP wurde derjenige Druck verwendet, welcher ca. 15-20 Sekunden nach dem Füllen des Ballons an der Spitze des Swan-Ganz-Katheters mit 1 ml Luft gemessen wurde.

Die halbstündlichen Bestimmungen des HZV erfolgten mittels Thermodilution (Vigilance[®], Typ VGS1, Baxter, Edwards Lifesciences LLC, Irvine, USA). Dafür wurden durch je 5 Injektionen von 10 ml eisgekühlter steriler NaCl Lösung in den proximalen Port des Swan-Ganz-Katheters 5 HZV Werte ermittelt. Davon wurden jeweils der höchste und niedrigste Wert ausgeschlossen und aus den verbleibenden 3 Messungen der Mittelwert errechnet.

Der systemische vaskuläre Widerstand (SVR, Formel 1) und der PVR (Formel 2) wurden mittels Standardformeln berechnet.

$$SVR = \frac{(MAP - ZVD) \times 80}{HZV} \quad \text{Formel 1}$$

$$PVR = \frac{(MPAP - PCWP) \times 80}{HZV} \quad \text{Formel 2}$$

SVR	=	Systemischer vaskulärer Widerstand	[dyn x sec x cm ⁻⁵]
MAP	=	Mittlerer arterieller Blutdruck	[mmHg]
ZVD	=	Zentral-venöser Blutdruck	[mmHg]
HZV	=	Herzzeitvolumen	[l/min]
PVR	=	Pulmonal-vaskulärer Widerstand	[dyn x sec x cm ⁻⁵]
MPAP	=	Mittlerer pulmonal-arterieller Druck	[mmHg]
PCWP	=	Pulmonal-kapillärer Verschlussdruck	[mmHg]
80	=	Faktor zur Einheitenkorrektur	

Die kontinuierliche Pulsconturanalyse durch das PiCCO System wurde stündlich durch Injektion von 3 x 5 ml NaCl Lösung kalibriert. Außerdem ließ sich mit dem System das globale enddiastolische Blutvolumen (GEDV) als Parameter der kardialen Vorlast sowie das Extravaskuläre Lungenwasser (EVLW) zur Quantifizierung eines Lungenödems ermitteln (75).

Das über den Dauerkatheter pro Stunde ausgeschiedene Urinvolumen wurde gemessen und dokumentiert.

2.4.4.2 Respiratorische Parameter

Durch das Beatmungsgerät wurden die inspiratorischen und expiratorischen Tidalvolumina, die AF, das Atemminutenvolumen (AMV), die Höhe des PEEP sowie das expiratorische Kohlendioxid dargestellt und aufgezeichnet. Die Atemwegsdrücke wurden über eine Druckbox mit dem PC verbunden und ebenfalls durch die LabChart Software aufgezeichnet. In der vom Expirationsschenkel des Beatmungsschlauchsystemes abgeleiteten Atemluft wurde mittels ozonbasierter Chemilumineszenz (Sievers® Nitric Oxide Analyser 280i, GE Analytical Instruments, Manchester, Großbritannien) das exhalierete NO (NO_{ex}) gemessen.

2.4.5 Quantitative Laboranalyse

2.4.5.1 Blutgasanalysen

Zur Ermittlung des pH-Wertes, der Elektrolyte sowie der Partialdrücke von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid im arteriellen und gemischt-venösen Blut, wurden zu jedem Messzeitpunkt Blutproben aus dem arteriellen Katheter und dem distalen Lumen des Swan-Ganz-Katheters entnommen und sofort mittels Blutgasmessgerät (ABL 800®, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) analysiert. Dieses berechnete zusätzlich die aktuelle Bikarbonatkonzentration (aHCO_3^-) und den aktuellen Basenüberschuss (*Base Excess*, ABE). Die Hämoglobinkonzentration (Hb), die unfraktionierte Sauerstoffsättigung (sO_2) sowie Met- und Carboxyhämoglobin (COHb) wurden durch ein auf Schweineblut geeichtes Hämoxymeter (COSM3®, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) bestimmt. Die fraktionierte Sauerstoffsättigung (FO_2Hb) wurde nach der Formel 3 berechnet. Mit Hilfe der BGAs konnten der Sauerstoffgehalt (Formel 4) und näherungsweise die Shuntfraction (Formel 5) berechnet werden. Für Berechnung des pulmonal-kapillären Sauerstoffgehaltes (C_cO_2) wurde dabei eine sO_2 von 100 % angenommen.

$$FO_2Hb = sO_2 - MetHb - COHb$$

Formel 3

$$cO_2 = 1,34 \times Hb \times FO_2 + 0,0031 \times PO_2$$

Formel 4

$$\frac{Q_s}{Q_t} = \frac{C_cO_2 - C_aO_2}{C_cO_2 - C_vO_2}$$

Formel 5

FO ₂ Hb	=	Fraktionierte Sauerstoffsättigung	[%]
sO ₂	=	Unfraktionierte Sauerstoffsättigung	[%]
MetHb	=	Methämoglobin	[%]
COHb	=	Carboxyhämoglobin	[%]
cO ₂	=	Sauerstoffgehalt	[ml/dl]
1,34	=	Hüfner-Zahl	[ml/g]
Hb	=	Hämoglobin	[g/dl]
0,0031	=	Sauerstofflöslichkeitskoeffizient	[ml/dl x mmHg]
PO ₂	=	Sauerstoffpartialdruck	[mmHg]
Q _s /Q _t	=	Shuntfraktion	[%]
C _c O ₂	=	Pulmonal-kapillärer Sauerstoffgehalt	[ml/dl]
C _a O ₂	=	Arterieller Sauerstoffgehalt	[ml/dl]
C _v O ₂	=	Gemischtvenöser Sauerstoffgehalt	[ml/dl]

2.4.5.2 Plasmakonzentrationen von Nitrit, Nitrat und Zytokinen

Zur Bestimmung der Plasmakonzentrationen von NO_2^- und NO_3^- wurden die in mit EDTA beschichteten Blutröhrchen entnommenen Blutproben mittels Kühlzentrifuge direkt nach Abnahme bei 6400 Umdrehung pro Minute zentrifugiert, das Plasma abpipettiert und bei -20°C eingefroren. Am Ende des Versuchstages wurden die Proben bei -80°C eingelagert. Aus den Proben wurden später über die Griess Reaktion mittels Testkit (KGE001, R&D Systems, Minneapolis, USA) die Plasmakonzentrationen für NO_2^- und NO_3^- bestimmt.

In den durch Bronchoskopie gewonnenen bronchoalveolären Lavageproben (BAL), wurden die Zytokine Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), Interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin-6 (IL-6) und Interleukin-8 (IL-8) mittels ELISA-Kits (Quantikine Porcine ELISA Kit, R&D Systems Inc., Minneapolis, USA) gemessen. Hierfür wurde nach der *Baseline* mit einem Bronchoskop (Pentax FB-15P, HOYA Corporation, PENTAX Lifecare Division, Tokio, Japan) über die Trachealkanüle in den linken Unterlappen eingegangen. Mit der Spitze des Bronchoskops wurde ein Luftweg okkludiert, 30 ml sterile NaCl-Lösung über den Arbeitskanal des Bronchoskops in die Lunge eingebracht und anschließend direkt in ein steriles Auffanggefäß abgesaugt.

2.4.5.3 Quantifizierung des Lungenödems

Am Versuchsende wurden die Versuchstiere in tiefer Narkose mit 1000 mg Propofol und anschließender Gabe von 40 mval Kaliumchlorid iv. euthanasiert. Anschließend erfolgte die sofortige Öffnung des Thorax und die Entnahme von Lungengewebsproben aus dem Ober-, Mittel- und Unterlappen der rechten Lunge. Aus jedem Lappen wurde jeweils eine Probe aus dem apikalen, medialen und basalen Anteil entnommen. Anschließend wurde zur Quantifizierung des Lungenödems die *Wet-to-Dry-Ratio* nach Petersen *et al.* (76) mittels Mikrowellentrocknung bestimmt. Hierfür wurde von allen Gewebsproben unmittelbar nach der Entnahme das jeweilige Nassgewicht bestimmt und die Proben anschließend durch eine standardisierte Prozedur in der Mikrowelle getrocknet. Dabei wurden die Proben auf niedrigster Stufe mit in mehreren Intervallen zunehmender Dauer getrocknet, bis keine Gewichtsreduktion mehr erzielt werden konnte.

2.5 Statistische Analyse

Die hämodynamischen und respiratorischen Parameter wurden kontinuierlich auf dem PC gespeichert. Zusätzlich wurden alle Messwerte zu jedem Messpunkt abgelesen und auf einem handschriftlichen Protokoll festgehalten. Diese abgelesenen Werte bilden die Grundlage der hier ausgewerteten Daten.

Die statistische Auswertung wurde elektronisch mit Hilfe des Programmes *Statistical Package for the Social Sciences* (IBM® SPSS® Statistics, Version 22.0.0.1, 2013, IBM®, Armonk, USA) durchgeführt. Zuerst wurden die Daten mit dem Shapiro-Wilk-Test auf ihre Normalverteilung hin getestet. Aufgrund nicht normalverteilter Daten wurden in der weiteren Analyse nicht-parametrische Tests verwendet. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden durch den Kruskal-Wallis-Test für ungepaarte Stichproben ermittelt. Bei signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen wurden paarweise Vergleiche mittels Dunn-Bonferroni-Prozedur durchgeführt (77). Die Datenanalyse über die Zeit innerhalb jeder Gruppe wurde ab dem Zeitpunkt der ARDS-Baseline bis zum Versuchsende mit Hilfe der Friedman Varianzanalyse für gepaarte Stichproben durchgeführt. Bei signifikanten Unterschieden zwischen den Zeitpunkten wurden auch hier paarweise Vergleiche mittels Dunn-Bonferroni-Prozedur durchgeführt. Der Vergleich der Baseline zu der ARDS-Baseline wurde mittels Wilcoxon-Vorzeichenrangtest durchgeführt. Für alle Tests wurde eine globale Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha < 0,05$ festgelegt. Es kam zur Ablehnung der Nullhypothese bei $p < \alpha$.

Sollten Tiere vor dem Versuchsende verstorben sein, wurden die jeweiligen Daten bis zum letzten vollständigen Messpunkt einbezogen. Mit den Blutentnahmen, den Plasmakonzentrationsbestimmungen der BAL und der Bestimmung des Lungenödems wurde ebenso verfahren wie bei überlebenden Tieren. Ein Tier, das vor dem Beginn der NaNO₂ Infusion verstorben ist, wurde von der Auswertung ausgeschlossen.

Alle im Text oder in Tabellen dargestellten Werte, werden als arithmetisches Mittel mit Standardabweichung (SD) angegeben. In den Abbildungen wird neben dem arithmetischen Mittel der Standardfehler des Mittelwertes (SEM) gezeigt.

3. Ergebnisse

3.1 Versuchstieranzahl, -gewicht und Sterblichkeit

Die Versuche wurden mit 7 Tieren in der Kontrollgruppe und je 6 Tieren in den Interventionsgruppen gestartet. In der Kontrollgruppe starb ein Versuchstier bereits kurz nach der ARDS-*Baseline* und wurde von der Auswertung ausgeschlossen. Ein weiteres Versuchstier aus der Kontrollgruppe verstarb 3,5 h nach dem Ende der ARDS-*Baseline*. In der NaNO₂ ND Gruppe verstarben zwei Versuchstiere vorzeitig: Ein Tier verstarb 2,5 h nach der ARDS-*Baseline* und ein weiteres vor dem Messpunkt 3 h nach der ARDS-*Baseline*. In der NaNO₂ HD ist kein Tier verstorben. Die Tabelle 3 zeigt die zum jeweiligen Zeitpunkt in die Auswertung eingegangenen Gruppengrößen. Das Körpergewicht lag in den Gruppen bei 40,2 ± 3,6 kg (Kontrollen), 39,8 ± 4,4 kg (NaNO₂ HD) und 39,7 ± 4,5 kg (NaNO₂ ND).

Tabelle 3. Anzahl der in die Auswertung eingegangenen Versuchstiere pro Gruppe

Gruppen	Baseline	ARDS Baseline	Dauer der NaNO ₂ Infusion				
			1h	2h	3h	4h	5h
Kontrollen	6	6	6	6	6	5	5
NaNO ₂ HD	6	6	6	6	6	6	6
NaNO ₂ ND	6	6	6	6	4	4	4

Natrium-Nitrit Hochdosis (NaNO₂ HD), Natrium-Nitrit Niedrigdosis (NaNO₂ ND)

3.2 Plasmakonzentrationen von Nitrit und Nitrat

Die NO₂⁻-Plasmakonzentrationen sind zum Zeitpunkt der Baseline in allen Gruppen ohne signifikante Unterschiede. In der Kontroll- und NaNO₂ HD Gruppen sinken sie zur ARDS-*Baseline* signifikant ab. In der NaNO₂ ND Gruppe gibt es zur ARDS-*Baseline* keinen statistisch signifikanten Abfall der Plasmakonzentration. Mit Beginn der NaNO₂ Infusion steigen die NO₂⁻-Konzentrationen der NaNO₂ HD Gruppe bis zum Versuchsende signifikant an. In der NaNO₂ ND Gruppe bleiben die Konzentrationen nach Beginn der NaNO₂ Infusion konstant. In den NO₂⁻

-Konzentrationen der Kontrollgruppe gibt es ab der ARDS-*Baseline* keine Änderung. Ab dem Messpunkt 1h NaNO₂ iv. sind die NO₂⁻-Konzentrationen der NaNO₂ HD Gruppe konstant höher als in der Kontrollgruppe (s. Abbildung 3).

Die NO₃⁻-Konzentrationen im Blutplasma befinden sich zur *Baseline* in allen Gruppen auf vergleichbarem Niveau. In der Kontroll- und NaNO₂ ND Gruppen gibt es zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Änderung der Konzentrationen. In der NaNO₂ HD Gruppe steigt die NO₃⁻-Konzentration nach der ARDS-*Baseline* bis zum Versuchsende an. Die Konzentrationen liegen ab dem Messpunkt 1h NaNO₂ iv. konstant über denen der Kontrollgruppe (s. Tabelle 4).

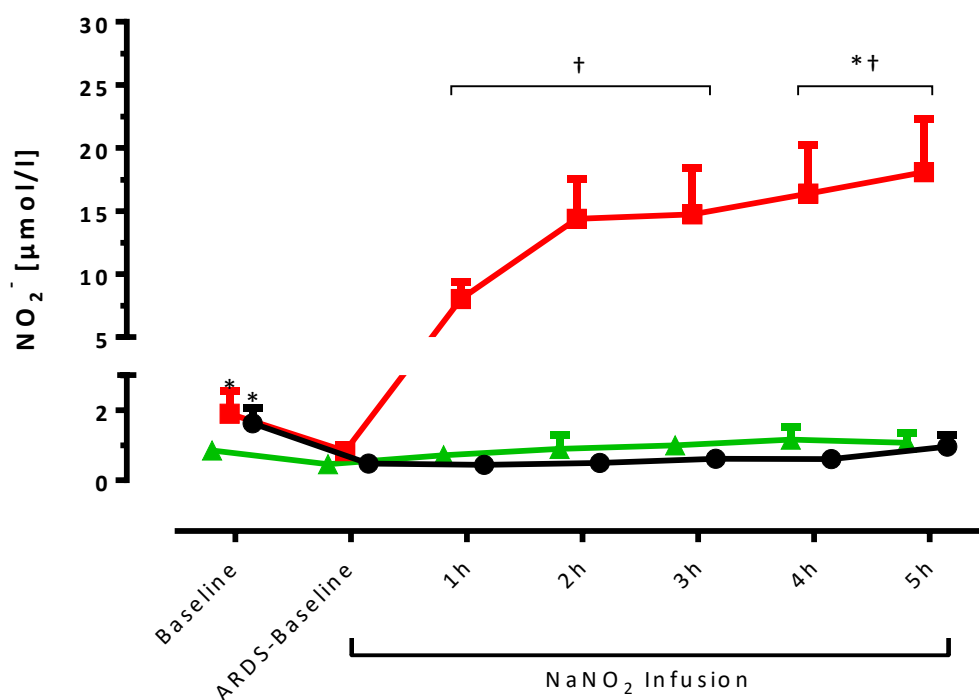


Abbildung 3. Nitrit-Plasmakonzentrationen (NO₂⁻)

● Kontrollen (n=6); ■ Hochdosis (25 µmol/kg; n=6) bzw. ▲ Niedrigdosis NaNO₂ iv. (2,5 µmol/kg; n=6);

Mittelwerte ± SEM, * p < 0,05 vs. ARDS-*Baseline*, † p < 0,05 vs. Kontrollen

Tabelle 4. Nitrat Plasmakonzentrationen

	Gruppen	Baseline	ARDS Baseline	Dauer der NaNO ₂ Infusion				
				1h	2h	3h	4h	5h
NO ₃ ⁻ [μmol/l]	Kontrollen	82 ± 28	80 ± 34	70 ± 27	68 ± 21	68 ± 23	69 ± 26	76 ± 27
	NaNO ₂ HD	136 ± 68	119 ± 50	173 ± 49 [†]	198 ± 60 [†]	240 ± 64 [†]	273 ± 68 ^{*†}	321 ± 69 ^{*†}
	NaNO ₂ ND	72 ± 47	69 ± 31	70 ± 32	69 ± 34	65 ± 18	63 ± 19	68 ± 20

Kontrollen (n=6), Natrium-Nitrit Hochdosis (NaNO₂ HD; n=6), Natrium-Nitrit Niedrigdosis (NaNO₂ ND; n=6); Nitrat (NO₃⁻); * p < 0,05 vs. ARDS-Baseline, † p < 0,05 vs. Kontrollen

3.3 Blutgase

Der P_aO₂ liegt zur *Baseline* in allen Gruppen bei über 500 mmHg. Die Lavage-Prozedur führt in allen Gruppen zu einem signifikanten Abfall des P_aO₂ auf Werte kleiner 70 mmHg. Zum Versuchsende steigt der P_aO₂ tendenziell in allen Gruppen an, was jedoch statistisch nicht signifikant ist. Über den gesamten Versuchsverlauf gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (s. Abbildung 4). Der **venöse Sauerstoffpartialdruck** (P_vO₂) ist zur *Baseline* in allen Gruppen gleich. Zur ARDS-Baseline sinkt der P_vO₂ in der NaNO₂ ND leicht ab. In den beiden anderen Gruppen gibt es keine signifikante Änderung. In allen Gruppen steigt der P_vO₂ zum Versuchsende leicht an. Dabei ist nur der Anstieg der NaNO₂ HD Gruppe statistisch signifikant. Zwischen den Gruppen gibt es über den gesamten Versuchsverlauf keine signifikanten Unterschiede (s. Tabelle 5).

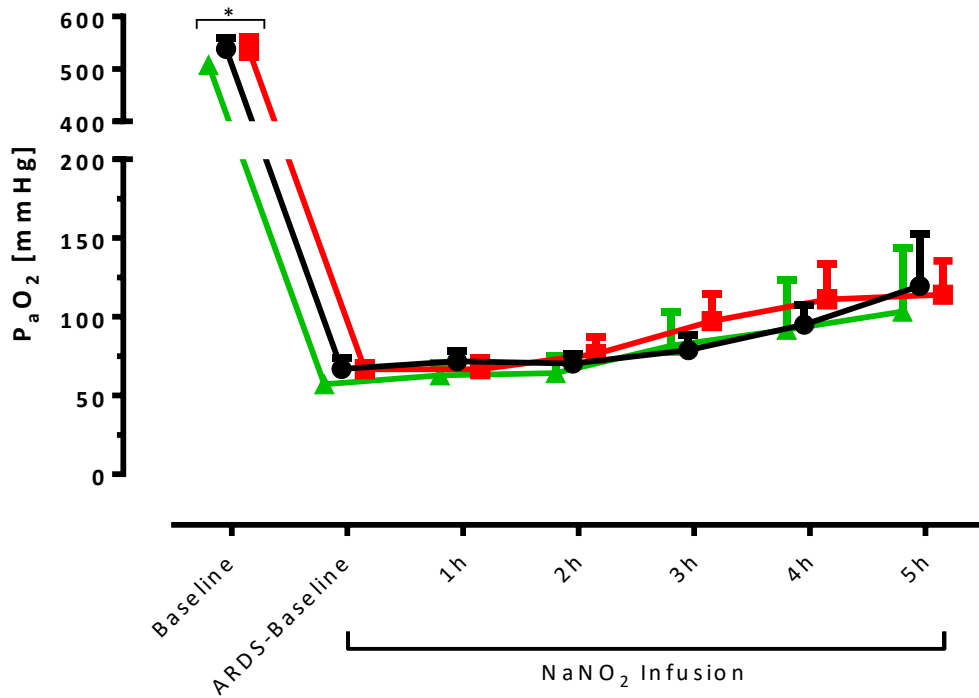


Abbildung 4. Arterieller Sauerstoffpartialdruck (P_aO₂)

● Kontrollen (n =6); ■ Hochdosis (25 µmol/kg; n=6) bzw. ▲ Niedrigdosis NaNO₂ iv. (2,5 µmol/kg; n=6); Mittelwerte ± SEM, * p < 0,05 vs. ARDS-Baseline, † p < 0,05 vs. Kontrollen

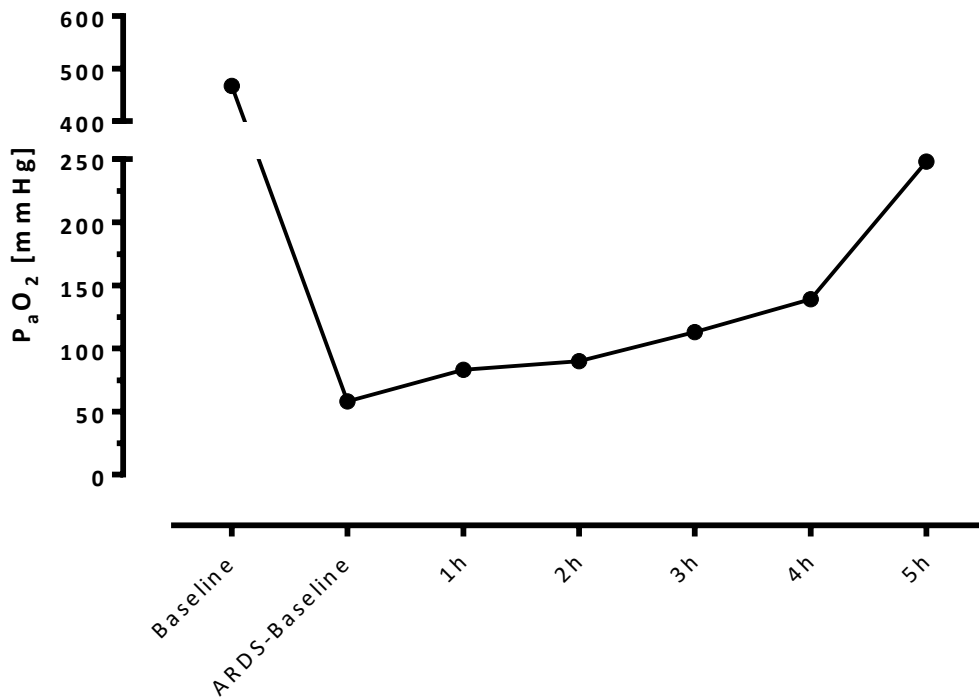


Abbildung 5. Einzelverlauf des Sauerstoffpartialdruckes (P_aO₂) von PI795_2_1_090413 (Kontrollgruppe)

Der **P_aCO₂** ist zur *Baseline* in allen Gruppen auf dem gleichen Niveau. Die Lavage-Prozedur führte in allen Gruppen zu einer signifikanten Erhöhung der Werte. Über den restlichen Versuch bleibt der P_aCO₂ in allen Gruppen weiterhin erhöht. Unterschiede zwischen den Gruppen gab es zu keinem Zeitpunkt (s. Tabelle 5).

Der **Hb-Wert** liegt zur *Baseline* bei allen Gruppen in einem für Schweine normalen Bereich. In der Kontrollgruppe steigt der Wert zur ARDS-*Baseline* an und bleibt dann im Verlauf ohne weitere signifikante Änderungen. In den Interventionsgruppen kommt es über den gesamten Verlauf zu keiner Änderung des Hb-Wertes. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen gibt es zu keinem Zeitpunkt (s. Tabelle 5).

Die **arterielle sO₂** (s_aO₂) liegt bei allen Gruppen zur *Baseline* bei 100 % und fällt über alle Gruppen nach der Lavage-Prozedur signifikant auf Werte zwischen 70 % und 80 % ab. Zum Versuchsende gibt es in keiner Gruppe signifikante Änderungen. Über den gesamten Versuch gibt es keinen Unterschied zwischen den Gruppen. Die **venöse sO₂** (s_vO₂) befindet sich in der *Baseline* in allen Gruppen im Normalbereich. Zur ARDS-*Baseline* fällt die s_vO₂ in allen Gruppen signifikant auf Werte zwischen 42 % und 50 % ab. Bis zum Versuchsende tendieren die s_vO₂ Werte in allen Gruppen nach oben, ohne dass der Anstieg dabei statistisch signifikant wird. Zwischen den Gruppen gibt es zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied (s. Tabelle 5).

Das **arterielle MetHb** (MetHb_a) bleibt bei allen Gruppen in der *Baseline* und der ARDS-*Baseline* unter 1 %. Mit Beginn der NaNO₂-Infusion steigt der MetHb_a-Anteil in der NaNO₂ HD Gruppe bis zum Versuchsende signifikant an, während er in den zwei verbleibenden Gruppen unverändert bleibt. Ab 1h NaNO₂ iv. liegt der MetHb_a-Anteil in der NaNO₂ HD Gruppe statistisch signifikant höher als in der Kontrollgruppe. (s. Abbildung 6). Das **venöse MetHb** (MetHb_v) ist über die *Baseline* und die ARDS-*Baseline* konstant bei ≤ 1%. Nach Beginn der NaNO₂ Infusion steigt der MetHb_v-Anteil in der NaNO₂ HD Gruppe zum Versuchsende an. Dabei ist der Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe ab 1h NaNO₂ iv. signifikant (s. Tabelle 5).

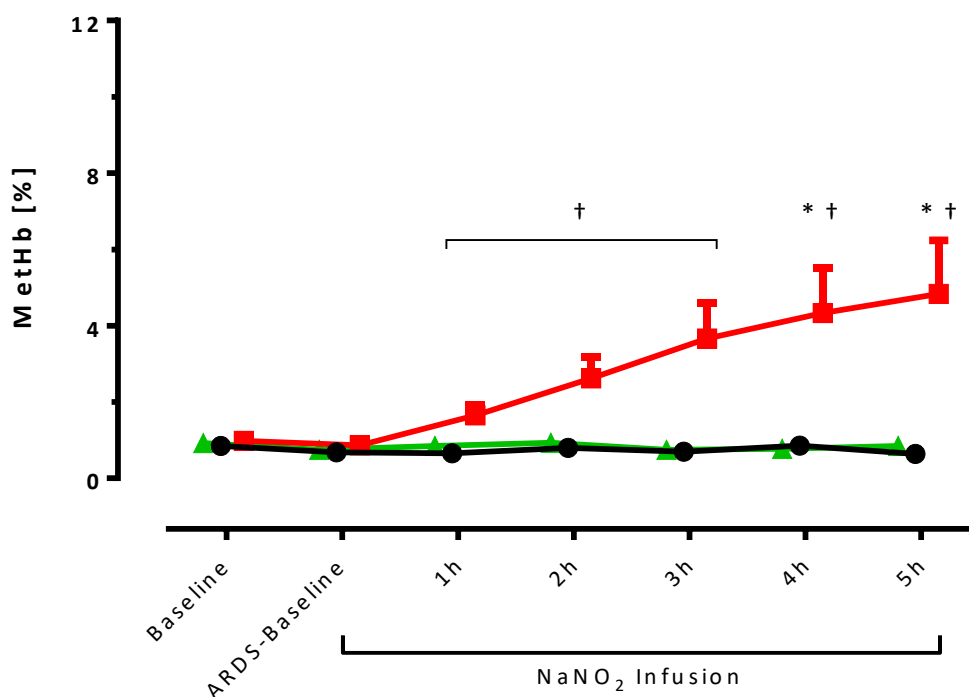


Abbildung 6. Arterielles Methämoglobin (MetHb)

● Kontrollen (n =6); ■ Hochdosis (25 µmol/kg; n=6) bzw. ▲ Niedrigdosis NaNO₂ iv. (2,5 µmol/kg; n=6);

Mittelwerte ± SEM, * p < 0,05 vs. ARDS-Baseline, † p < 0,05 vs. Kontrollen

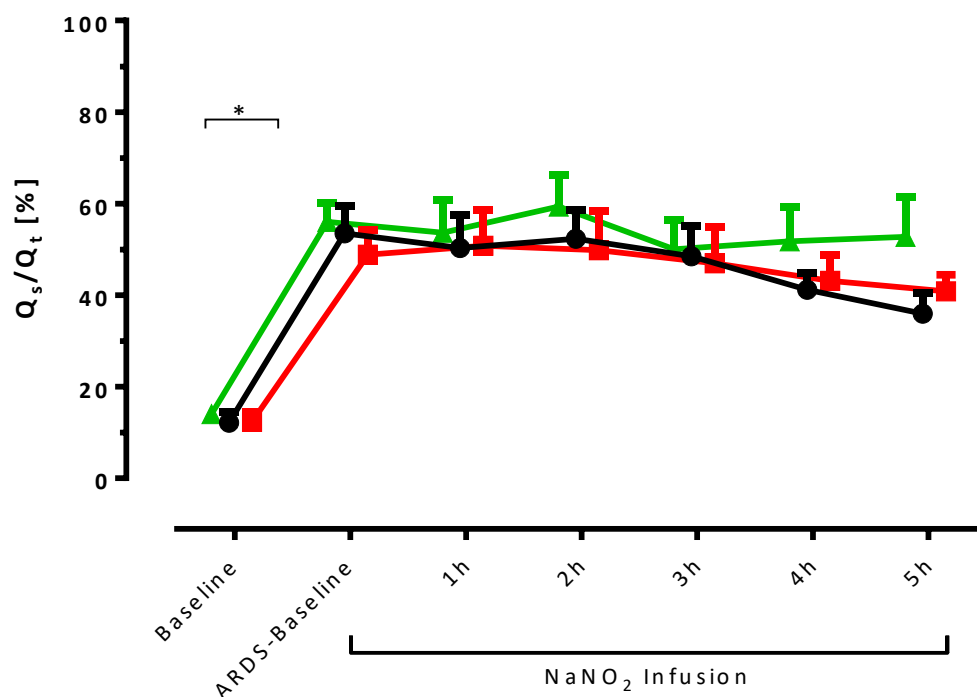
Das **arterielle COHb** (COHb_a) beträgt zur *Baseline* in allen Gruppen zwischen 2,2 % und 2,4 %. Der COHb-Anteil blieb über den gesamten Versuch konstant. Es gab keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Das **venöse COHb** (COHb_v) beträgt zur *Baseline* in allen Gruppen 1,9 % bis 2,4 %. In beiden NaNO₂ Gruppen fällt der COHb-Anteil nach der Lavage-Prozedur ab und bleibt dann konstant. Die Kontrollgruppe bleibt über den gesamten Versuch ohne signifikante Änderung. Zwischen den Gruppen gibt es zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied (s. Tabelle 5).

Die **Fraktionierte arterielle Sauerstoffsättigung** (F_aO₂Hb) beträgt zur *Baseline* in allen Gruppen 97 %. Nach der Lavage-Prozedur fällt sie in allen Gruppen auf Werte zwischen 71 % und 76 % ab. Im weiteren Verlauf gibt es keine signifikante Änderung oder Unterschiede in den Gruppen. Die **venöse FO₂Hb** (F_vO₂Hb) beträgt zur *Baseline* in allen Gruppen 70 % bis 71 %. Innerhalb der Gruppen kommt es nach der Lavage-Prozedur zu einem Abfall der FO₂Hb auf Werte zwischen 40 % und 48 %. Bis zum Versuchsende gibt es keine signifikanten Änderungen. Zwischen den Gruppen gibt es keinen Unterschied (s. Tabelle 5).

Der **arterielle Sauerstoffgehalt** (C_aO_2) beträgt zur *Baseline* ungefähr 15 ml/dl in allen Gruppen. Allen drei gemein ist der signifikante Abfall des C_aO_2 zur ARDS-Baseline. Über die weiteren Versuchsstunden kommt es zu keiner signifikanten Änderung. Über den gesamten Versuch gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Der **venöse Sauerstoffgehalt** (C_vO_2) beträgt zur *Baseline* ungefähr 10 ml/dl. Nach der Lavage-Prozedur fällt der C_vO_2 in beiden $NaNO_2$ Gruppen ab, während es in der Kontrollgruppe keine signifikante Änderung gibt. Zwischen den Gruppen gibt es keine Unterschiede (s. Tabelle 5).

Der **C_cO_2** beträgt in allen Gruppen zur *Baseline* 15 ml/dl bis 16 ml/dl. Während des Versuches bleibt der Sauerstoffgehalt in allen Gruppen ohne signifikante Änderungen und ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (s. Tabelle 5).

Die errechnete **Shuntfraktion** beträgt zur *Baseline* in allen Gruppen 13 % bis 14 %. Sie steigt in allen Gruppen nach der Lavage-Prozedur auf 49 % bis 56 % an. Über die restliche Versuchszeit bleibt die Shuntfraktion ohne signifikante Änderungen. Es gibt über den gesamten Versuch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (s. Abbildung 7).

Abbildung 7. Shuntfraction (Q_s/Q_t)

● Kontrollen (n =6); ■ Hochdosis (25 µmol/kg; n=6) bzw. ▲ Niedrigdosis NaNO₂ iv. (2,5 µmol/kg; n=6);

Mittelwerte ± SEM, * p < 0,05 vs. ARDS-Baseline, † p < 0,05 vs. Kontrollen

Tabelle 5. Blutgaswerte

	Gruppen	Baseline	ARDS Baseline	Dauer der NaNO ₂ Infusion				
				1h	2h	3h	4h	5h
P _v O ₂ [mmHg]	Kontrollen	48 ± 6	43 ± 10	47 ± 9	47 ± 9	49 ± 11	53 ± 6	52 ± 8
	NaNO ₂ HD	48 ± 8	40 ± 5	42 ± 11	46 ± 10	49 ± 7	49 ± 8	57 ± 7*
	NaNO ₂ ND	48 ± 3*	39 ± 10	42 ± 9	42 ± 11	47 ± 12	47 ± 13	48 ± 13
P _a CO ₂ [mmHg]	Kontrollen	46 ± 2*	87 ± 15	92 ± 20	95 ± 23	93 ± 24	80 ± 8	78 ± 9
	NaNO ₂ HD	46 ± 2*	83 ± 13	98 ± 14	102 ± 24	107 ± 29	93 ± 33	85 ± 28
	NaNO ₂ ND	47 ± 2*	83 ± 22	87 ± 21	94 ± 25	78 ± 15	83 ± 12	78 ± 11

	Gruppen	Baseline	ARDS Baseline	Dauer der NaNO ₂ Infusion				
				1h	2h	3h	4h	5h
Hb [g/dl]	Kontrollen	10,3 ± 1,4*	11,9 ± 2,1	12,6 ± 2,2	12,5 ± 2,5	12,2 ± 1,8	10,7 ± 1,3	10,7 ± 0,8
	NaNO ₂ HD	11,0 ± 2,1	10,9 ± 1,4	11,3 ± 1,6	12,3 ± 1,9	11,8 ± 2,0	11,7 ± 2,0	11,1 ± 1,2
	NaNO ₂ ND	9,9 ± 0,9	10,7 ± 1,2	12,0 ± 1,3	12,6 ± 1,3	12,1 ± 0,9	12,4 ± 1,0	11,9 ± 2,1
s_aO₂ [%]	Kontrollen	100 ± 0*	78 ± 22	81 ± 22	81 ± 21	84 ± 23	95 ± 07	97 ± 06
	NaNO ₂ HD	100 ± 0*	80 ± 14	78 ± 23	79 ± 24	83 ± 20	87 ± 16	93 ± 10
	NaNO ₂ ND	100 ± 0*	73 ± 14	74 ± 18	69 ± 23	82 ± 18	81 ± 20	81 ± 23
s_vO₂ [%]	Kontrollen	73 ± 8*	50 ± 18	54 ± 16	55 ± 17	59 ± 20	68 ± 7	69 ± 8
	NaNO ₂ HD	74 ± 11*	44 ± 11	47 ± 18	52 ± 22	55 ± 19	58 ± 20	65 ± 15
	NaNO ₂ ND	74 ± 4*	42 ± 14	40 ± 10	44 ± 20	54 ± 21	56 ± 23	58 ± 26
MetHb_v [%]	Kontrollen	0,9 ± 0,2	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,2	1,0 ± 0,2
	NaNO ₂ HD	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,2	1,5 ± 0,5†	2,5 ± 1,3†	3,5 ± 2,2†	4,1 ± 2,7*†	4,7 ± 3,3*
	NaNO ₂ ND	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,3
COHb_a [%]	Kontrollen	2,2 ± 0,4	2,2 ± 1,0	2,5 ± 0,3	2,6 ± 0,6	2,5 ± 0,6	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,6
	NaNO ₂ HD	2,4 ± 0,4	2,4 ± 0,3	2,4 ± 0,4	2,5 ± 0,5	2,4 ± 0,4	2,7 ± 0,4	2,8 ± 0,3
	NaNO ₂ ND	2,4 ± 0,3	2,1 ± 0,4	2,3 ± 0,4	2,2 ± 0,6	2,5 ± 0,5	2,7 ± 0,6	2,7 ± 0,6
COHb_v [%]	Kontrollen	1,93 ± 0,9	1,8 ± 0,4	1,8 ± 0,5	1,8 ± 0,4	2,2 ± 0,7	2,4 ± 0,5	2,3 ± 0,1
	NaNO ₂ HD	2,4 ± 0,4*	1,7 ± 0,2	1,8 ± 0,3	1,8 ± 0,3	2,0 ± 0,4	1,8 ± 0,5	2,1 ± 0,3
	NaNO ₂ ND	2,4 ± 0,3*	1,5 ± 0,3	1,5 ± 0,3	1,7 ± 0,5	2,0 ± 0,5	2,1 ± 0,5	1,9 ± 0,6
C_aO₂ [ml/dl]	Kontrollen	15,1 ± 1,9*	11,8 ± 2,9	12,9 ± 2,9	12,8 ± 2,8	13,0 ± 3,1	13,4 ± 1,7	13,8 ± 1,5
	NaNO ₂ HD	15,8 ± 2,7*	11,3 ± 2,2	11,2 ± 3,0	12,4 ± 4,0	12,5 ± 3,9	13,0 ± 3,5	13,0 ± 3,1
	NaNO ₂ ND	14,4 ± 1,2*	10,3 ± 2,5	11,4 ± 2,2	11,1 ± 3,1	12,9 ± 2,9	13,1 ± 3,4	12,6 ± 3,8
C_vO₂ [ml/dl]	Kontrollen	9,9 ± 2,1	7,4 ± 2,6	8,5 ± 2,1	8,6 ± 2,5	8,9 ± 2,8	9,5 ± 1,3	9,6 ± 1,5
	NaNO ₂ HD	10,7 ± 3,1*	6,2 ± 1,4	6,6 ± 2,5	8,0 ± 3,8	8,2 ± 3,8	8,5 ± 4,1	8,9 ± 3,6
	NaNO ₂ ND	9,6 ± 1,1*	5,9 ± 2,3	6,1 ± 1,1	6,9 ± 2,9	8,4 ± 3,1	9,0 ± 3,6	9,0 ± 4,0
F_aO₂Hb [%]	Kontrollen	97 ± 01*	75 ± 21	78 ± 22	78 ± 21	81 ± 23	91 ± 07	93 ± 07
	NaNO ₂ HD	97 ± 0*	76 ± 14	74 ± 23	74 ± 23	77 ± 18	81 ± 14	85 ± 09
	NaNO ₂ ND	97 ± 0*	71 ± 14	71 ± 18	66 ± 22	78 ± 18	77 ± 20	77 ± 22

	Gruppen	Baseline	ARDS Baseline	Dauer der NaNO ₂ Infusion				
				1h	2h	3h	4h	5h
F _v O ₂ Hb [%]	Kontrollen	70 ± 9*	48 ± 18	52 ± 16	53 ± 17	56 ± 20	65 ± 7	66 ± 08
	NaNO ₂ HD	71 ± 11*	42 ± 10	43 ± 17	48 ± 21	50 ± 18	52 ± 19	58 ± 14
	NaNO ₂ ND	71 ± 04*	40 ± 13	38 ± 10	41 ± 20	52 ± 20	54 ± 23	56 ± 25
C _c O ₂ [ml/dl]	Kontrollen	15,8 ± 1,8	17,8 ± 2,9	18,7 ± 2,8	18,5 ± 3,3	18,2 ± 2,4	16,2 ± 1,7	16,2 ± 1,0
	NaNO ₂ HD	16,5 ± 2,7	16,4 ± 1,9	16,9 ± 2,2	18,0 ± 2,5	17,3 ± 2,7	17,0 ± 2,8	16,1 ± 2,8
	NaNO ₂ ND	15,2 ± 1,1	16,3 ± 1,6	17,9 ± 1,8	18,7 ± 1,8	18,0 ± 1,1	18,4 ± 1,4	17,7 ± 1,5

Kontrollen (n=6), Natrium-Nitrit Hochdosis (NaNO₂ HD; n=6), Natrium-Nitrit Niedrigdosis (NaNO₂ ND; n=6); Venöser Sauerstoffpartialdruck (P_vO₂); Arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck (P_aCO₂); Hämoglobin (Hb); Unfraktionierte arterielle und venöse Sauerstoffsättigung (s_aO₂, s_vO₂); Venöses Methämoglobin (MethHb_v); Arteriell und venöses Carboxihämoglobin (COHb_a, COHb_v); Fraktionierte arterielle und venöse Sauerstoffsättigung (F_aO₂Hb, F_vO₂Hb); Arterieller und venöser Sauerstoffgehalt (C_aO₂, C_vO₂); Pulmonal-kapillärer Sauerstoffgehalt (C_cO₂); * p < 0,05 vs. ARDS-Baseline, † p < 0,05 vs. Kontrollen

3.4 Säure-Basen-Haushalt

Der **pH-Wert**, welcher der Konzentration der Wasserstoffprotonen im arteriellen Blut entspricht, befindet sich zur *Baseline* in allen Gruppen im Normbereich (7,41 bis 7,45). Nach der Lavage-Prozedur sinkt der pH in allen Gruppen signifikant in den azidotischen Bereich und bleibt in diesem. Zwischen den Gruppen gibt es zu keinem Zeitpunkt einen Unterschied (s. Tabelle 6).

Die **aHCO₃⁻** liegt in allen Gruppen über die gesamte Versuchszeit in einem für Schweine physiologischen Bereich zwischen 27,5 ± 5,0 mmol/l und 33,7 ± 4,4 mmol/l. Zwischen den Gruppen gibt es zu keinem Zeitpunkt einen Unterschied (s. Tabelle 6).

Der **aktuelle Basenüberschuss (ABE)** beträgt zur *Baseline* in allen Gruppen 4 mmol/l bis 7 mmol/l. Nach der Lavage-Prozedur sinkt der ABE in allen Gruppen signifikant in den negativen Bereich. Im folgenden Verlauf des Versuches steigt der ABE in allen Gruppen wieder in den positiven Bereich. Zwischen den Gruppen gibt es zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied. (s. Tabelle 6).

Tabelle 6. Säure-Basen-Haushalt

	Gruppen	Baseline	ARDS Baseline	Dauer der NaNO ₂ Infusion				
				1h	2h	3h	4h	5h
aH ⁺ *10 ⁻⁸ [nmol/l]	Kontrollen	3,8 ± 0,2*	7,2 ± 1,2	7,5 ± 1,8	7,4 ± 2,2	6,2 ± 2,3	5,8 ± 0,9	7,6 ± 0,7*
	NaNO ₂ HD	3,6 ± 0,2*	7,2 ± 1,0	8,4 ± 1,4	8,0 ± 1,3	8,0 ± 2,4	7,5 ± 2,2	6,7 ± 1,7
	NaNO ₂ ND	3,6 ± 0,1*†	6,4 ± 1,6	6,8 ± 1,4	7,6 ± 1,8	6,8 ± 1,8	6,4 ± 2,0	6,4 ± 1,6
pH _a	Kontrollen	7,41*	7,14	7,13	7,13	7,21	7,24	7,12*
	NaNO ₂ HD	7,44*	7,14	7,08	7,10	7,10	7,13	7,17
	NaNO ₂ ND	7,45*†	7,19	7,17	7,12	7,17	7,20	7,19
aHCO ₃ ⁻ [mmol/l]	Kontrollen	29,3 ± 2,1	28,8 ± 1,7	29,4 ± 2,0	29,9 ± 2,3	30,2 ± 2,6	30,9 ± 1,8	32,4 ± 2,8*
	NaNO ₂ HD	30,9 ± 2,0	27,5 ± 5,0	28,5 ± 6,2	31,0 ± 2,6	32,6 ± 4,2	33,0 ± 4,2	33,7 ± 4,4
	NaNO ₂ ND	31,7 ± 1,0	30,7 ± 1,0	30,2 ± 3,3	29,5 ± 4,3	28,1 ± 6,3	31,7 ± 6,6	29,7 ± 4,5
ABE [mmol/l]	Kontrollen	4,7 ± 2,2*	-1,5 ± 2,9	-1,6 ± 4,2	-1,3 ± 5,2	-0,6 ± 5,3	2,1 ± 2,9*	4,1 ± 2,9*
	NaNO ₂ HD	6,1 ± 1,9*	-1,6 ± 4,8	-2,5 ± 5,8	-1,6 ± 2,3	1,0 ± 6,0	2,1 ± 6,0	3,9 ± 5,6
	NaNO ₂ ND	7,2 ± 1,0*	1,8 ± 2,3	0,5 ± 3,8	-1,4 ± 4,9	-1,2 ± 7,5	2,5 ± 8,4	0,8 ± 5,8

Kontrollen (n=6), Natrium-Nitrit Hochdosis (NaNO₂ HD; n=6), Natrium-Nitrit Niedrigdosis (NaNO₂ ND; n=6); arterielle Wasserstoffprotonenkonzentration (aH⁺), arterieller pH-Wert (pH_a), aktuelle Bikarbonatkonzentration (aHCO₃⁻), aktueller Basenüberschuss (ABE); * p < 0,05 vs. ARDS-Baseline, † p < 0,05 vs. Kontrollen

3.5 Respiration

Das **AMV** liegt zur *Baseline* in allen Gruppen zwischen 7,0 l/min und 7,8 l/min. Nach der Lavage-Prozedur steigt das AMV in allen Gruppen nicht signifikant auf über 8 l/min an und bleibt konstant auf diesem Niveau. Zwischen den Gruppen gibt es keine Unterschiede (s. Tabelle 7).

Alle Gruppen werden in der *Baseline* mit einem normalen **positiven inspiratorischen Spitzendruck** (PIP) von 16,7-17,3 cmH₂O beatmet. Nach der Lavage-Prozedur steigt der Druck in allen Gruppen signifikant auf Werte im Bereich von 30 cmH₂O an. Zum Versuchsende nimmt der PIP in der NaNO₂ HD Gruppe signifikant ab, während es in den beiden anderen Gruppen keine signifikante Änderung gibt. Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (s. Tabelle 7).

Die **dynamische Compliance** (C_{dyn}) beträgt in allen Gruppen zur *Baseline* 38 ml/cmH₂O. Zur *ARDS-Baseline* fällt sie in allen Gruppen signifikant auf 10 cmH₂O bis 12 cmH₂O ab. Zum Versuchsende steigt die C_{dyn} in der NaNO₂ HD Gruppe an. In der Kontroll- und NaNO₂ ND Gruppe gab es keine signifikanten Änderungen. Zwischen den Gruppen gibt es dabei keine Unterschiede (s. Tabelle 7).

Das **NOex** ist mit 2 ppb über die gesamte Versuchszeit und in allen Versuchsgruppen ohne Änderungen oder Unterschiede (s. Tabelle 7).

Tabelle 7. Respiration

	Gruppen	Baseline	ARDS Baseline	Dauer der NaNO ₂ Infusion				
				1h	2h	3h	4h	5h
AMV [l/min]	Kontrollen	7,4 ± 0,9	8,5 ± 0,8	8,5 ± 0,8	8,5 ± 0,8	8,5 ± 0,8	8,3 ± 0,7	8,3 ± 0,8
	NaNO ₂ HD	7,8 ± 2,2	8,2 ± 1,0	8,3 ± 1,0	8,2 ± 1,0	8,2 ± 1,1	8,2 ± 1,1	8,3 ± 1,0
	NaNO ₂ ND	7,0 ± 0,9	8,4 ± 0,9	8,4 ± 0,9	8,4 ± 0,9	8,4 ± 0,8	8,4 ± 0,9	8,4 ± 0,9
PIP [cmH ₂ O]	Kontrollen	17,3 ± 1,0*	29,7 ± 5,0	30,0 ± 5,7	29,5 ± 4,2	28,5 ± 3,6	27,8 ± 3,7	27,2 ± 3,8
	NaNO ₂ HD	17,3 ± 1,0*	33,8 ± 4,5	34,3 ± 4,3	31,8 ± 5,2	30,3 ± 5,6	29,8 ± 5,6	29,2 ± 6,1*
	NaNO ₂ ND	16,7 ± 1,0*	34,0 ± 4,6	33,3 ± 4,7	32,8 ± 3,9	30,5 ± 3,7	29,8 ± 3,9	29,8 ± 5,1
C_{dyn} [ml/cmH ₂ O]	Kontrollen	38 ± 4*	12 ± 2	13 ± 3	12 ± 2	13 ± 1	13 ± 1	13 ± 1
	NaNO ₂ HD	36 ± 3*	10 ± 1	10 ± 1	11 ± 2	11 ± 2	12 ± 2	12 ± 2*
	NaNO ₂ ND	38 ± 3*	10 ± 1	10 ± 2	10 ± 1	12 ± 1	12 ± 1	12 ± 2
NOex [ppb]	Kontrollen	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
	NaNO ₂ HD	2 ± 0	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
	NaNO ₂ ND	2 ± 2	1 ± 1	2 ± 2	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1

Kontrollen (n=6), Natrium-Nitrit Hochdosis (NaNO₂ HD; n=6), Natrium-Nitrit Niedrigdosis (NaNO₂ ND; n=6); Atemminutenvolumen (AMV); Positiver inspiratorischer Spitzendruck (PIP); Dynamisch Lungencompliance (C_{dyn}); exhalierendes Stickstoffmonoxid (NOex); * p < 0,05 vs. *ARDS-Baseline*

3.6 Hämodynamik

Die **Herzfrequenz** (HF) befindet sich bei allen Gruppen zur *Baseline* im Normbereich. Zur *ARDS-Baseline* steigt sie in allen Gruppen signifikant auf Werte von 110 /min bis 130 /min an. Zum Versuchsende steigt die HF in allen Gruppen tendenziell weiter an. Statistisch signifikant ist

der Anstieg aber nur zum Zeitpunkt 4h NaNO₂ iv. in der NaNO₂ ND Gruppe. Zu keinem Zeitpunkt gibt es einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (s. Tabelle 8)

Das **HZV** beträgt in den Gruppen zur Baseline zwischen 3,5 l/min und 3,9 l/min. In allen drei Gruppen steigt das HZV nach der Lavage-Prozedur zur ARDS-Baseline hin auf 5 l/min bis 6 l/min an. Während in der Kontrollgruppe das HZV im weiteren Verlauf konstant bleibt, steigt es in den zwei Interventionsgruppen weiter an. Zwischen den Gruppen gibt es keinen signifikanten Unterschied (s. Tabelle 8).

Zur *Baseline* liegt der **ZVD** in den Gruppen zwischen 1,3 und 2,3 mmHg. Er bleibt zu allen Messpunkten auf einem vergleichbaren Niveau und ohne signifikante Unterschiede (s. Tabelle 8).

Der **MAP** beträgt in den Gruppen zur *Baseline* 90 mmHg bis 104 mmHg. Nach der Lavage-Prozedur fällt der MAP in jeder der drei Gruppen signifikant auf 70 mmHg bis 73 mmHg ab. Während des restlichen Versuchs bleibt der MAP ohne signifikante Änderungen. Zu keinem Messpunkt gibt es einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (s. Tabelle 8).

Der **SVR** beträgt zur *Baseline* 1900 dyn*s*cm⁻⁵ bis 2300 dyn*s*cm⁻⁵. Nach der Lavage-Prozedur fällt der SVR in den Gruppen signifikant auf Werte um 1000 dyn*s*cm⁻⁵. In der NaNO₂ HD Gruppe fällt der SVR zum Versuchsende weiter ab. In den beiden anderen Gruppen kommt es bis zum Versuchsende zu keiner signifikanten Änderung. Zwischen den Gruppen gibt es zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied (s. Tabelle 8).

Der **PCWP** ist zur *Baseline* in allen Gruppen auf vergleichbarem Niveau. Bis zum Versuchsende gibt es innerhalb der Gruppen keine signifikanten Änderungen. Zum Versuchsende gibt es keinen Unterschied zwischen den Gruppen (s. Tabelle 8).

Der **MPAP** beträgt in den Gruppen zur *Baseline* 14 mmHg bis 15 mmHg. Nach der Lavage-Prozedur steigt der MPAP in den Gruppen auf Werte über 30 mmHg an. Während es in der Kontrollgruppe und der NaNO₂ ND Gruppe im weiteren Verlauf keine signifikanten Änderungen gibt, fällt der MPAP in der NaNO₂ HD Gruppe zum Versuchsende ab. Dabei besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (s. Abbildung 8 und Tabelle 8).

Der **PVR** beträgt zur *Baseline* 185 dyn*s*cm⁻⁵ bis 205 dyn*s*cm⁻⁵. Nach der Lavage-Prozedur steigt der Widerstand in den Gruppen in einen Bereich von 400 dyn*s*cm⁻⁵ an. In den Interventionsgruppen fällt der PVR zum Versuchsende signifikant ab. In der Kontrollgruppe

gibt es zum Versuchsende keine signifikante Änderung. Zwischen den Gruppen gibt es über den gesamten Versuch keinen signifikanten Unterschied (s. Abbildung 9 und Tabelle 8).

Der **GEDV-Index** (GEDVI) beträgt zur *Baseline* in allen Gruppen 12 ml/kg bis 13 ml/kg. Es gibt keine Änderungen durch die Lavage-Prozedur. Bis zum Versuchsende befindet sich der GEDVI in allen Gruppen zwischen 11 ml/kg und 14 ml/kg. Zwischen den Gruppen gibt es zu keinem Messpunkt einen signifikanten Unterschied (s. Tabelle 8).

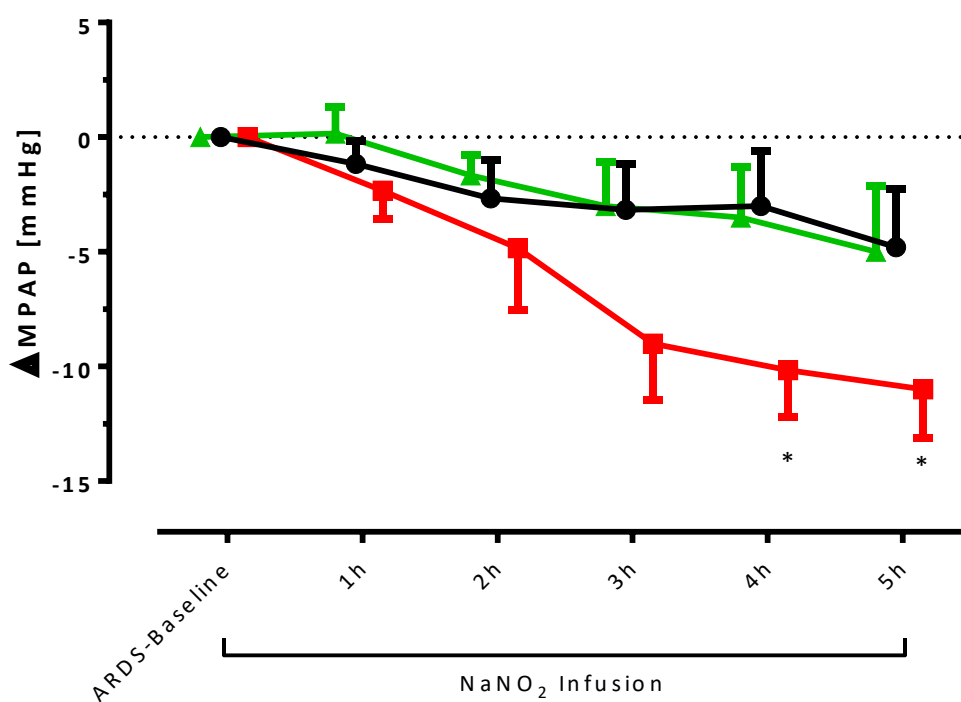


Abbildung 8. Pulmonal-arterielle Druckänderung (Δ MPAP)

● Kontrollen (n=6); ■ Hochdosis (25 μmol/kg; n=6) bzw. ▲ Niedrigdosis NaNO₂ iv. (2,5 μmol/kg; n=6);

Mittelwerte \pm SEM, * p < 0,05 vs. ARDS-Baseline, † p < 0,05 vs. Kontrollen

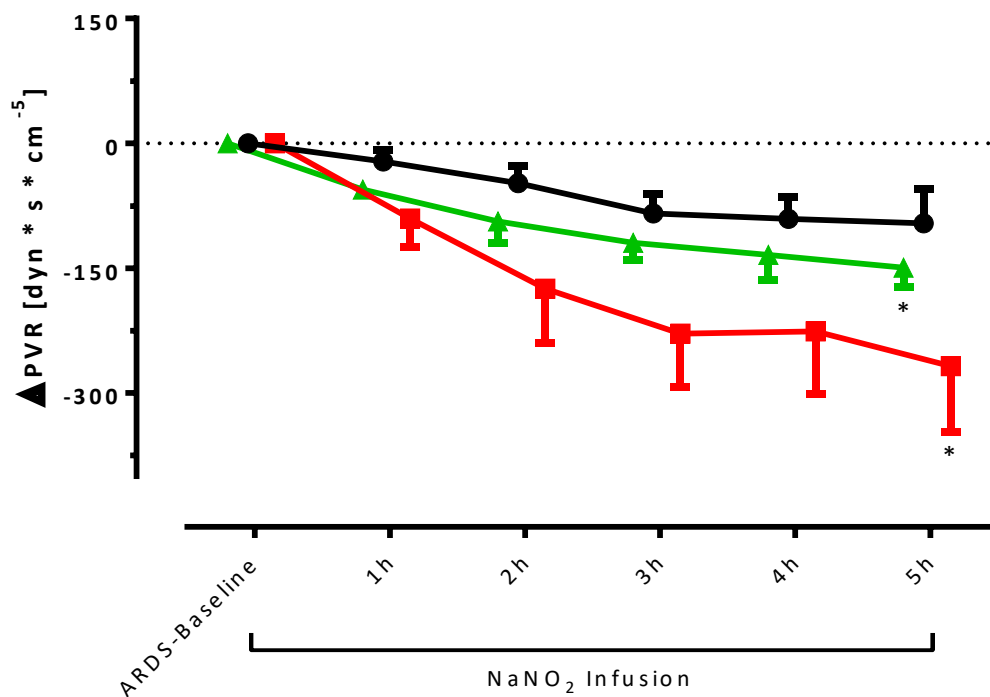


Abbildung 9. Pulmonal-vaskuläre Widerstandsänderung (ΔPVR)

● Kontrollen (n=6); ■ Hochdosis (25 μmol/kg; n=6) bzw. ▲ Niedrigdosis NaNO₂ iv. (2,5 μmol/kg; n=6);

Mittelwerte ± SEM, * p < 0,05 vs. ARDS-Baseline, † p < 0,05 vs. Kontrollen

Tabelle 8. Hämodynamik

	Gruppen	Baseline	ARDS Baseline	Dauer der NaNO ₂ Infusion				
				1h	2h	3h	4h	5h
HF [l/min]	Kontrollen	75 ± 12*	131 ± 18	148 ± 24	160 ± 29	161 ± 28	154 ± 19	151 ± 20
	NaNO ₂ HD	85 ± 27*	113 ± 27	138 ± 37	157 ± 43	163 ± 46	161 ± 42	160 ± 42
	NaNO ₂ ND	87 ± 23*	123 ± 26	138 ± 26	161 ± 37	162 ± 32	165 ± 31*	168 ± 26
HZV [l/min]	Kontrollen	3,5 ± 0,9*	6,2 ± 0,7	6,4 ± 0,6	6,5 ± 0,8	6,7 ± 0,6	6,6 ± 0,5	6,6 ± 0,9
	NaNO ₂ HD	3,9 ± 1,5*	5,2 ± 1,6	6,0 ± 2,0	6,5 ± 1,3	6,3 ± 1,0	6,2 ± 1,1	6,6 ± 0,8*
	NaNO ₂ ND	3,6 ± 0,4*	5,1 ± 0,5	6,0 ± 0,9	6,5 ± 1,2	7,1 ± 1,4	7,0 ± 1,5	7,0 ± 1,6*
ZVD [mmHg]	Kontrollen	2,3 ± 1,9	2,5 ± 2,6	2,3 ± 1,5	2,0 ± 2,1	2,8 ± 2,0	3,6 ± 2,2	2,6 ± 2,3
	NaNO ₂ HD	1,3 ± 1,9	1,5 ± 1,6	-0,7 ± 3,6	-1,0 ± 2,9	0,2 ± 2,8	-0,5 ± 2,9	0,7 ± 1,8
	NaNO ₂ ND	2,0 ± 1,7	2,0 ± 2,4	3,0 ± 1,3	2,7 ± 3,5	1,0 ± 2,2	1,3 ± 2,9	1,5 ± 3,0

	Gruppen	Baseline	ARDS Baseline	Dauer der NaNO ₂ Infusion				
				1h	2h	3h	4h	5h
MAP [mmHg]	Kontrollen	92 ± 6*	73 ± 12	74 ± 11	73 ± 11	70 ± 9	69 ± 9	67 ± 10
	NaNO ₂ HD	104 ± 9*	71 ± 13	74 ± 21	74 ± 16	64 ± 8	61 ± 16	63 ± 15
	NaNO ₂ ND	90 ± 13*	70 ± 13	72 ± 10	75 ± 10	72 ± 5	72 ± 10	68 ± 11
SVR [$\frac{\text{dyn} \cdot \text{s}}{\text{cm}^5}$]	Kontrollen	2157 ± 520*	912 ± 118	905 ± 185	895 ± 235	801 ± 150	796 ± 137	798 ± 196
	NaNO ₂ HD	2348 ± 876*	1156 ± 416	1048 ± 336	940 ± 192	829 ± 200	823 ± 289	774 ± 252*
	NaNO ₂ ND	1967 ± 417*	1092 ± 293	957 ± 246	922 ± 303	840 ± 283	854 ± 303	816 ± 320
PCWP mmHg]	Kontrollen	5,2 ± 2,1	5,7 ± 2,2	5,5 ± 0,8	5,5 ± 1,4	7,2 ± 2,6	8,4 ± 2,7	7,4 ± 3,5
	NaNO ₂ HD	6,0 ± 1,3	5,2 ± 0,8	4,8 ± 1,3	4,2 ± 1,6	4,8 ± 2,0	3,8 ± 1,8†	4,8 ± 1,6
	NaNO ₂ ND	6,3 ± 1,6	7,0 ± 1,1	6,8 ± 2,1	6,2 ± 2,1	3,8 ± 1,0	5,3 ± 1,7	5,3 ± 2,2
MPAP [mmHg]	Kontrollen	14 ± 3*	33 ± 6	32 ± 5	31 ± 5	30 ± 5	29 ± 6	27 ± 5
	NaNO ₂ HD	14 ± 2*	34 ± 2	31 ± 4	29 ± 6	25 ± 6	23 ± 4*	23 ± 4*
	NaNO ₂ ND	15 ± 1*	34 ± 3	34 ± 5	32 ± 3	31 ± 4	31 ± 5	29 ± 6
PVR [$\frac{\text{dyn} \cdot \text{s}}{\text{cm}^5}$]	Kontrollen	205 ± 107*	360 ± 97	338 ± 100	312 ± 77	275 ± 72	249 ± 57	243 ± 78
	NaNO ₂ HD	187 ± 71*	488 ± 214	398 ± 188	314 ± 93	260 ± 85	262 ± 85	221 ± 77*
	NaNO ₂ ND	185 ± 26*	429 ± 78	374 ± 98	335 ± 119	314 ± 63	299 ± 71	284 ± 82*
GEDVI [ml/kg]	Kontrollen	13 ± 2	13 ± 1	13 ± 1	13 ± 1	12 ± 1	12 ± 1	12 ± 1
	NaNO ₂ HD	13 ± 1	14 ± 2	14 ± 2	13 ± 2	12 ± 1	12 ± 1	12 ± 1*
	NaNO ₂ ND	12 ± 2	13 ± 2	13 ± 2	12 ± 2	11 ± 2	11 ± 1	11 ± 1

Kontrollen (n=6), Natrium-Nitrit Hochdosis (NaNO₂ HD; n=6), Natrium-Nitrit Niedrigdosis (NaNO₂ ND; n=6); Herzfrequenz (HF); Herzzeitvolumen (HZV); Zentralvenöser Druck (ZVD); Mittlerer arterielle Druck (MAP); Systemisch-vaskulärer Widerstand (SVR); Pulmonal-kapillärer Verschlussdruck (PCWP); Mittlerer Pulmonalarterieller Druck (MPAP); Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR); Globaler enddiastolischer Volumenindex (GEDVI); * p < 0,05 vs. ARDS-Baseline, † p < 0,05 vs. Kontrollen

3.7 Lungenödem

Der **EVLW-Index** (EVLWI) beträgt in den Gruppen zur *Baseline* 8 ml/kg bis 9 ml/kg. Nach der Lavage-Prozedur steigt das Lungenwasser in allen Gruppen auf Werte von 15 ml/kg bis 17 ml/kg. Zum Versuchsende fällt das EVLWI in den Kontrollen und in der NaNO₂ HD Gruppe ab,

während es in der NaNO₂ ND keine signifikante Änderung gibt. Zwischen den Gruppen gibt es zu keinem Messpunkt signifikante Unterschiede (s. Tabelle 9).

Die **Wet-to-Dry-Ratio** als Mittelwert aus allen entnommenen Lungengewebsproben liegt in der Kontrollgruppe bei 8 bis 9. Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (s. Abbildung 10).

Tabelle 9. Extravaskuläres Lungenwasser

	Gruppen	Baseline	ARDS Baseline	Dauer der NaNO ₂ Infusion				
				1h	2h	3h	4h	5h
EVLWI [ml/kg]	Kontrollen	8 ± 1*	15 ± 1	15 ± 2	15 ± 1	15 ± 2	14 ± 2	13 ± 2*
	NaNO ₂ HD	9 ± 1*	15 ± 1	15 ± 2	14 ± 3	13 ± 3	12 ± 2*	12 ± 2*
	NaNO ₂ ND	9 ± 2*	17 ± 3	16 ± 2	16 ± 3	14 ± 2	14 ± 3	14 ± 3

Kontrollen (n=6), Natrium-Nitrit Hochdosis (NaNO₂ HD; n=6), Natrium-Nitrit Niedrigdosis (NaNO₂ ND; n=6);
Extravaskulärer Lungenwasserindex (EVLWI); * p < 0,05 vs. ARDS-Baseline

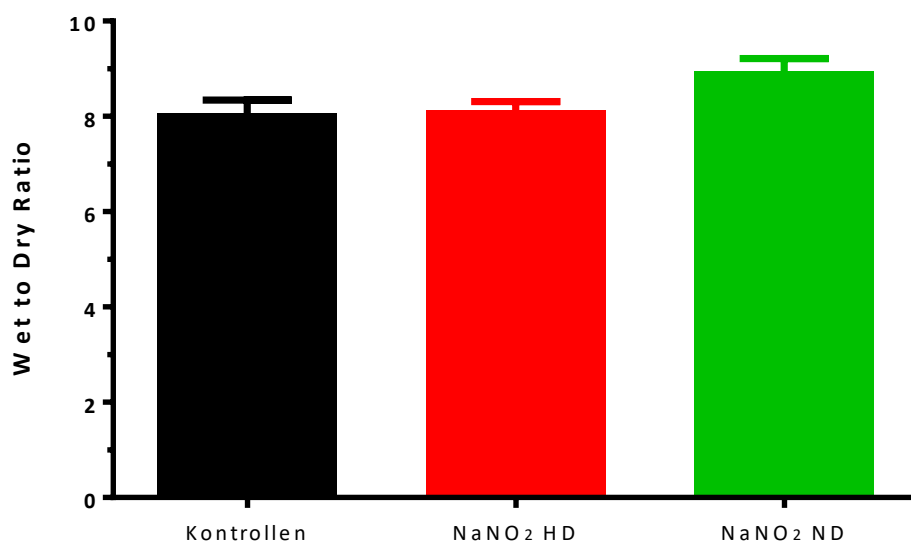


Abbildung 10. Wet-to-Dry-Ratio

Kontrollen (n =6); NaNO₂ HD (25 µmol/kg NaNO₂ iv.; n=6); NaNO₂ ND (2,5 µmol/kg NaNO₂ iv.; n=6);

Mittelwerte (gemittelt über alle Lungengewebsproben) ± SEM

3.8 Inflammatorische Zytokine in der Bronchoalveolären Lavage

Zur *Baseline* befinden sich die **TNF- α** Konzentrationen in den Gruppen zwischen 20 und 50 pg/ml. In allen Gruppen gibt es zum Versuchsende hin einen signifikanten Anstieg der Konzentrationen. Zwischen den Gruppen besteht zu keinem Zeitpunkt ein Unterschied (s. Tabelle 10).

Die Konzentrationen von **IL-1 β** betragen in den Gruppen zur *Baseline* 2 pg/ml bis 20 pg/ml. In allen Gruppen gibt es zum Versuchsende hin einen signifikanten Anstieg der Konzentrationen. Zwischen den Gruppen ist kein Unterschied statistisch signifikant nachweisbar (s. Tabelle 10).

Zur *Baseline* betragen die Konzentrationen von **IL-6** in den Gruppen 0 pg/ml bis 14 pg/ml. Zum Versuchsende steigt die Konzentration in jeder Gruppe signifikant an. Zwischen den Gruppen ist kein signifikanter Unterschied nachweisbar (s. Tabelle 10).

Die **IL-8** Konzentrationen befinden sich in den Gruppen zur *Baseline* zwischen 68 pg/ml und 132 pg/ml. Zum Versuchsende kommt es in der NaNO₂ ND Gruppe zu einem Anstieg der Konzentrationen. In der Kontroll- und NaNO₂ HD Gruppe ist kein statistisch signifikanter Anstieg nachweisbar. Zwischen den Gruppen gibt es keine Unterschiede (s. Tabelle 10).

Tabelle 10. Inflammatorische Zytokine

	Zeitpunkt	Kontrollen	NaNO ₂ HD	NaNO ₂ ND
TNF- α [pg/ml]	Baseline	51 \pm 47	35 \pm 25	21 \pm 5
	Versuchsende	368 \pm 314*	206 \pm 179*	110 \pm 66*
IL-1 β [pg/ml]	Baseline	7 \pm 9	21 \pm 32	2 \pm 2
	Versuchsende	1899 \pm 940*	653 \pm 670*	1036 \pm 612*
IL-6 [pg/ml]	Baseline	1 \pm 3	14 \pm 33	0 \pm 0
	Versuchsende	3409 \pm 2677*	2008 \pm 4358*	1949 \pm 2198*
IL-8 [pg/ml]	Baseline	132 \pm 127	113 \pm 66	68 \pm 62
	Versuchsende	6580 \pm 9193	2922 \pm 4846	1850 \pm 3435*

Kontrollen (n=5), Natrium-Nitrit Hochdosis (NaNO₂ HD; n=6), Natrium-Nitrit Niedrigdosis (NaNO₂ ND; n=6); Tumornekrosefaktor-Alpha (TNF- α); Interleukin-1 Beta (IL-1 β); Interleukin-6 (IL-6); Interleukin-8 (IL-8); * p < 0,05 vs. ARDS-*Baseline*

4. Diskussion

4.1 Zielsetzung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es zu prüfen, ob iv. appliziertes NaNO_2 das Ausmaß und die Schwere eines experimentell induzierten schweren Lungenversagens im Schweinmodell vermindern kann. Hierfür wurden neben einer Kontrollgruppe zwei Interventionsgruppen untersucht, welchen NaNO_2 in unterschiedlicher Dosierung iv. infundiert wurde. Zur Bestimmung des Lungenschadens wurde ein permanentes Monitoring der Beatmungssituation, regelmäßige Blutgasanalysen, bronchoalveoläre Lavageprozeduren zur Bestimmung von intrapulmonalen Entzündungsmediatoren, eine Quantifizierung des Lungenödems sowie ein erweitertes Monitoring der Hämodynamik durchgeführt. Unsere Ergebnisse zeigen dabei, dass iv. appliziertes NaNO_2 in einem durch Surfactant-Depletion induzierten ARDS beim Schwein zu einer Vasodilatation in der pulmonalen Strombahn führt, dabei aber keinen Einfluss auf die Shuntfraktion, Oxygenierung oder das Überleben hat.

4.2 Methodenkritik

4.2.1 Anwendung des Lavage-induzierte ARDS Modell beim Schwein

In unseren Untersuchungen zum Einfluss von iv. NaNO_2 im ARDS nutzten wir ein Lavage-Modell an anästhesierten Schweinen. Das Schweinmodell ermöglicht es, über bis zu 24h (74) invasive Messungen zur Registrierung des Einflusses von NaNO_2 auf die pulmonale Hämodynamik durchzuführen und ausreichend Blutvolumen für die sequenziellen Blutgasanalysen entnehmen zu können.

Das zum Induzieren des ARDS benutzte Lavage-Modell beruht auf dem Prinzip der Surfactant-Depletion (73). Durch das Auswaschen von Surfactant aus der Lunge kommt es zu einer Erhöhung der Oberflächenspannung in den Alveolen und zur Ausbildung von Atelektasen. Ergebnis ist ein Krankheitsbild mit eingeschränktem Gasaustausch, verminderter Lungencompliance und einem perivaskulärem Lungenödem (78). Zusätzlich kommt es zu einer Beeinträchtigung der pulmonalen Hämodynamik mit ansteigendem MPAP und PVR (79, 80). Muellenbach *et al.* konnten zeigen, dass ein Lavage-Modell im Schwein einen Lungenschaden induzieren kann, welcher auch nach 24h die Kriterien eines ARDS erfüllt. Dabei zeigten sie,

dass es in Folge der Lavage auch zu einem Anstieg der Entzündungsmediatoren TNF- α , IL-1 β und IL-6 kam (74). Somit spiegelt der mittels Lavage induzierte Lungenschaden, in den von uns betrachteten Zielparametern, ein dem ARDS ähnliches und stabiles Krankheitsbild wider.

Zum klinischen Bild eines ARDS in der Humanmedizin gibt es allerdings auch Unterschiede. Hier sei genannt, dass der Surfactantmangel bei Patienten mit ARDS in den meisten Fällen sekundär durch einen Epithelschaden entsteht und nicht primär durch Auswaschung, wie im Fall des Lavagemodell. Die Lavage selbst führt allerdings auch zu einer gewissen Schädigung des Epithels (78). Einer der Hauptkritikpunkte am Modell ist die verglichen mit anderen ARDS Modellen relativ leicht mögliche Rekrutierung von atelektatischen Lungenarealen, die zu dauerhaften Verbesserungen des Gasaustausches und der pulmonalen Hämodynamik führen können (81). Um ein Eröffnen der durch Lavage hervorgerufenen Atelektasen zu verhindern, wurde nach der Lavageprozedur auf Rekrutierungsmanöver verzichtet und für den restlichen Verlauf eine lungenprotektive Beatmung mit 6 ml/kg KG und einem PEEP von 7 cmH₂O beibehalten. Wie der beispielhafte Einzelverlauf des Versuches PI795_2_1_090413 aus der Kontrollgruppe (s. Abbildung 5) zeigt, kam es dennoch vereinzelt zu sprunghaften Verbesserungen der Oxygenierung, welche auf die Eröffnung von atelektatischen Bereichen schließen lassen und bei der Interpretation der Daten zu beachten sind.

4.2.2 Die Dosierung und Plasmakonzentrationen von Nitrit und Nitrat

Bei der Wahl der Dosierung von NaNO₂ orientierten wir uns an der vorangegangenen Arbeit von Pickerodt *et al.*, welche eine präventive Wirkung einer einmaligen iv. Gabe von 2,5 μ mol/kg (0,1725 mg/kg) und 25 μ mol/kg (1,725 mg/kg) NaNO₂ in einem Ventilator-induzierten Lungenschaden bei Ratten zeigte (72). Die Dosis von 25 μ mol/kg liegt knapp unter der von Casey *et al.* in Rattenversuchen bestimmten, halbmaximalen Effektdosis von 30 μ mol/kg iv. für die Reduktion des PAP (63). Die Dosis von 2,5 μ mol/kg bot in den Versuchen zum Ventilator-induzierten Lungenschaden an Ratten den größten protektiven Schutz (72). In der hier präsentierten Arbeit begannen wir mit der Behandlung allerdings nicht bereits vor der Induktion eines Ventilator-induzierten Lungenschadens, sondern erst nach Etablierung des Lavage-induzierten Schadens. Dieser Umstand kommt dem klinischen Alltag näher, bei dem in der Regel eine primäre oder sekundäre Schädigung der Lunge dem Behandlungsbeginn voran geht. Wir entschieden uns für eine kontinuierliche Infusion, um bei einer Halbwertszeit von

NO_2^- im Blut von ca. 15-30 min (71) eine kontinuierliche Wirkkonzentration zu erreichen. Die von uns im Plasma gemessenen systemischen NO_2^- -Konzentrationen von $8,0 \pm 3,4 \mu\text{mol/l}$ bis $18,1 \pm 10,3 \mu\text{mol/l}$ in der NaNO_2 HD Gruppe (s. Abbildung 3) erreichen damit Konzentrationen, die bereits durch Cosby et al. und Deem *et al.* als vasoaktiv beschrieben wurden (49, 56). Auch in den von uns mit $25 \mu\text{mol/kg}$ NaNO_2 behandelten Tieren zeigen sich vasodilatative Effekte (s. 4.6 Hämodynamik). Die Plasmakonzentrationen bleiben aber unter den von Hunter *et al.* durch die Inhalation von NaNO_2 erreichten Konzentrationen von bis zu $30 \mu\text{mol/l}$ (50). In der NaNO_2 ND Gruppe führte die Infusion vom NaNO_2 zu keinem signifikanten Anstieg der NO_2^- -Konzentrationen im Plasma und blieb mit den Konzentrationen der Kontrollgruppe im physiologischen Bereich um $1 \mu\text{mol/l}$ (s. Abbildung 3). Eine vasoaktive Wirkung des NaNO_2 blieb in der NaNO_2 ND Gruppe aus (s. 4.6 Hämodynamik).

Sowohl in der Kontrollgruppe, als auch in der NaNO_2 HD Gruppe zeigte sich ein Abfall der NO_2^- -Konzentrationen im Plasma von der Baseline zur ARDS-Baseline. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre eine durch Hypoxie und Azidose gesteigerte Reduktion des endogen vorhandenen NO_2^- zu NO . Aufgrund des durch die Surfactant-Depletion entstandenen ARDS tritt vermehrt deoxygeniertes Hb auf ($s_a\text{O}_2$ 73% bis 80 %, s. Tabelle 5), welches als NO_2^- -Reduktase agieren kann (51, 52). Darüber hinaus stehen aufgrund der akuten Hyperkapnie mit einhergehender respiratorischer Azidose (s. Tabelle 6) vermehrt Protonen zur NO_2^- -Reduktion bereit (49). Ob die Konzentrationsänderungen des NO_2^- klinisch relevant sind, lässt sich aufgrund der Lavage-bedingten dramatisch veränderten Physiologie nicht nachvollziehen.

Die Infusion von NaNO_2 führte in der NaNO_2 HD Gruppe zu einem signifikanten Anstieg der NO_3^- Plasmakonzentrationen um das 2,7 fache der Konzentration zur ARDS Baseline (s. Tabelle 4). Ursächlich hierfür ist am ehesten die Oxidation von NO_2^- zu NO_3^- durch Hämoglobin.

4.2.3 Bestimmung der Zytokine in der Bronchoalveolären Lavage

Die Proben zur Bestimmung der Zytokin-Konzentrationen wurden zu fest definierten Zeitpunkten mittels Bronchoskopie aus einer bronchoalveolären Lavage gewonnen. Hierbei wurde immer der linke Unterlappen als Zielstruktur gewählt. Im durch die Lavage-Prozedur induzierten ARDS sollte der Lungenschaden ubiquitär vorliegen und die Probenentnahme aus dem linken Unterlappen als repräsentativ für die gesamte Lunge gelten. Möglich ist aber, dass

aufgrund der Rückenlage des Tieres sich NaCl-Lösung der Schwerkraft folgend in den basalen Abschnitten des linken Unterlappens sammelt und es zu einer Verfälschung der BAL-Ergebnisse am Versuchsende kommt. Des Weiteren kann die zur diagnostischen BAL eingebrachten NaCl-Lösung nie vollständig rückgewonnen werden und kann so nicht ausgewertet werden. Da wir aber die Konzentrationen und nicht die Gesamtmenge an Zytokinen bestimmen, sollte der Fehler durch nicht zurückgewonnene Proben klein sein.

Die Bestimmung der Zytokin-Konzentrationen wurde mittels ELISA durchgeführt. Die Messungen übernahm eine im Umgang mit den ELISA-Kits geübte Fachkraft, um Fehler durch falsches Pipettieren oder einen falschen Prozessablauf möglichst zu minimieren. Die verwendeten Kits sind dabei explizit für die Zytokinbestimmungen von Schweinen vorgesehen. Um robuste Werte zu erhalten, wurden alle Messungen in Doppelbestimmungen durchgeführt.

4.3 Überleben

Sowohl in der Kontrollgruppe, als auch in der NaNO₂ ND Gruppe verstarben Tiere vor dem Ende des geplanten Beobachtungszeitraumes an einer ausgeprägten respiratorischen Globalinsuffizienz. In der Kontrollgruppe überlebten 5 von 6 Tieren (83,3 %), in der NaNO₂ ND Gruppe 4 von 6 Tieren (66,7 %) und in der NaNO₂ HD Gruppe überlebten 6 von 6 Tieren (100 %). Es kann dabei, im Gegensatz zu der Arbeit von Pickerodt *et al.* (72), jedoch nicht auf einen NaNO₂ vermittelten Überlebensvorteil in der NaNO₂ HD Gruppe geschlossen werden, da dieser nicht ausreichend durch eine verbesserte Hämodynamik oder Oxygenierung bzw. eine Ödemreduktion erklärt werden kann. Da eine statistisch signifikante Reduktion von Entzündungsmediatoren ebenfalls nicht gezeigt werden konnte, muss in Anbetracht der kleinen Versuchsgruppen und der Schwere des induzierten Lungenschadens, von einem Versterben der Tiere aufgrund der Grundvariabilität des Modelles ausgegangen werden.

4.4 Oxygenierung

In der Baseline wurden alle drei Gruppen mit einer F_iO₂ von 1,0 beatmet und befanden sich mit einem P_aO₂ von 508 ± 35 mmHg (NaNO₂ ND) bis 539 ± 50 mmHg (Kontrollen) auf einem vergleichbaren Ausgangsniveau. Die Lavage-Prozedur führte in allen Gruppen zu einem Abfall

des P_{aO_2} auf unter 70 mmHg und erfüllte damit klar unser Zielkriterium zur Induktion eines schweren Lungenschadens von einem P_{aO_2} kleiner als 100 mmHg. Der P_{aO_2} der $NaNO_2$ ND Gruppe war am Ende der ARDS Baseline mit 57 ± 13 mmHg um 10 mmHg niedriger als in den Kontrollen (67 ± 17 mmHg) bzw. der $NaNO_2$ HD Gruppe (67 ± 13 mmHg). Statistisch ist dieser potentielle Unterschied allerdings nicht signifikant nachweisbar. In der Arbeit von Pickerodt *et al.* wird ein Oxygenierungsvorteil für mit $2,5 \mu\text{mol/kg}$ $NaNO_2$ iv. präventiv behandelten Ratten mit Ventilator-induzierten Lungenschaden gezeigt (72). In unseren Versuchen bleibt ein solcher Oxygenierungsgewinn trotz Infusion von $NaNO_2$ in den Interventionsgruppen aus. Über die Versuchsdauer scheint der P_{aO_2} in allen Gruppen langsam anzusteigen, wobei der Anstieg statistisch nicht signifikant wird (s. Abbildung 4). Ursache des Anstiegs des P_{aO_2} ist am ehesten die Rekrutierung atelektatischer Lungenareale über die Zeit. Muellenbach *et al.* zeigen in Ihren Daten zum Lavage-induzierten ARDS Modell im Schwein ebenfalls einen ähnlichen, dort aber statistisch signifikanten kontinuierlichen Anstieg des P_{aO_2} über einen längeren Beobachtungszeitraum von 24h. Für den Anstieg machen sie eine Dehnung und vermehrte Ventilation von nicht erkrankten Lungenarealen verantwortlich (74). Wie der beispielhafte Einzelverlauf einer unserer Versuche in der Abbildung 5 aber zeigt, liegt die Ursache des Anstieges des mittleren P_{aO_2} im sprunghaften Ansteigen des Partialdruckes zu einzelnen Messpunkten. Dieser sprunghafte Verlauf spricht mehr für eine akute Eröffnung atelektatischer Bereich, als für eine kontinuierlich zunehmende Ventilation bereits ventilierter Areale.

Die Inhalation von NO führt bekanntermaßen über eine Vasodilatation in ventilierten Lungenarealen zu einem verbesserten Ventilations-Perfusions-Verhältnis und einer damit verbesserten Oxygenierung (70). Auch NO_2^- besitzt als NO Speicher vasodilatierende Eigenschaften in der pulmonalen Strombahn (52-54). Nach iv. Gabe wird $NaNO_2$ aber nicht wie bei der Inhalation von NO gezielt in ventilerte Lungenareale appliziert, sondern wird über das Blut ubiquitär in der Lungenstrombahn verteilt. So ist eine Vasodilatation nach iv. Gabe von $NaNO_2$ zwar wie bei iNO in ventilerten Bereichen denkbar, aber auch in den durch die HPV konstringierten Gefäßen der nicht ventilerten Bereiche zu erwarten. Grund dafür ist die vermehrte Generierung von NO aus NO_2^- mit sinkendem Sauerstoffangebot (51, 56). Dadurch wäre nach iv. $NaNO_2$ ein erhöhtes V/Q-Missverhältnis mit vergrößertem intrapulmonalen Shuntvolumen und einem fallenden P_{aO_2} ebenfalls möglich. In unseren Interventionsgruppen

konnten wir das aber nicht beobachten. Es kommt zu keiner NaNO_2 vermittelten Zunahme des Shunts und zu keinem Abfall des P_aO_2 (s. Abbildung 4).

Bei der inhalativen Gabe von NO kommt es durch die Oxidation des NO durch oxygeniertes Hämoglobin zur Bildung von MetHb (46). MetHb ist durch ein dreiwertiges Eisen in der Hämgruppe gekennzeichnet und verliert deshalb die Fähigkeit Sauerstoff zu binden. Damit sinkt bei gleichem P_aO_2 das C_aO_2 . Auch durch NO_2^- kann über die Reaktion mit deoxygeniertem Hämoglobin neben NO auch MetHb entstehen (46). Die damit einhergehende Reduktion der Sauerstoffbindungskapazität des Blutes stünde einer potentiellen Verbesserung der Sauerstoffaufnahme, z.B. durch Entzündungshemmung und Ödemreduktion in den mit NaNO_2 behandelten Gruppen, entgegen. In der NaNO_2 HD Gruppe finden wir mit Beginn der NaNO_2 Infusion einen signifikanten Anstieg des MetHb auf bis zu 4,8 % (s. Abbildung 6). Da es aber keinen signifikanten Unterschied der C_aO_2 zwischen den Gruppen gibt (s. Tabelle 5), ist der Anstieg des MetHb dabei klinisch irrelevant.

4.5 Säure-Basen-Haushalt und Respiration

Alle Versuchsgruppen haben zur *Baseline* einen normwertigen pH (82) und entwickelten durch die Lavage-Prozedur eine akute Hyperkapnie mit respiratorischer Azidose (s. Tabelle 6). Mit Beginn der Lavage-Prozedur wurde das Atemzugvolumen von 9 ml/kg KG auf 6 ml/kg KG reduziert und die AF auf maximal 35 /min erhöht. Damit soll einer für die Hyperkapnie potentiell verantwortlichen Verminderung des AMV entgegengewirkt werden (s. Tabelle 7). Eine weitere Steigerung des AMV war nicht möglich, da durch die lungenprotektive Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina ein weiterer, Ventilator-induzierter Lungenschaden verhindert werden sollte. Darüber hinaus wollten wir die Bildung eines intrinsischen PEEPs und eine damit verbundene Rekrutierung atelektatischer Lungenareale durch die Begrenzung der AF auf 35 /min vermeiden. Trotz der Anpassung des AMV nach der Lavage-Prozedur, lag in allen Gruppen bis zum Versuchsende weiterhin eine respiratorische Azidose vor. Deem *et al.* zeigten in einem Lungenperfusionsmodell, dass eine Hyperkapnie keinen Einfluss auf die HPV inhibierende Wirkung von NaNO_2 hat (58). Da sie dabei einen normwertigen pH für ihre Perfusionslösung anstrebten und ggf. durch die Zugabe von Pufferbasen titrierten, kann dabei keine Aussage über den Einfluss eines sauren pHs, wie er in unseren Versuchen vorliegt, getroffen werden. Dieser hat über die Protonierung von NO_2^- direkt Einfluss auf den Nitritstoffwechsel (46). Bei vorliegender Azidose ist eine sofortige systemische

Verstoffwechslung des NO_2^- im Blut denkbar, noch bevor es ins Lungengewebe diffundieren kann. Damit wäre die vorliegende Azidose in unseren Versuchen eine mögliche Erklärung für die fehlende Wirksamkeit von iv. NaNO_2 . In den Versuchen von Pickerodt *et al.*, wo ein protektiver Effekt von NO_2^- auf die Entstehung eines Ventilator-induzierten Lungenschaden bei Ratten gezeigt wurde, lag bei allen Tieren ein normwertiger pH vor (72).

Die Lavage der Lungen führte in allen Gruppen zu einer signifikanten Zunahme des PIP und einer Abnahme der Compliance des gesamten respiratorischen Systems. Eine Complianceverbesserung durch die Gabe von NaNO_2 wie sie Pickerodt *et al.* zeigten (72), konnten wir nicht finden. Grund dafür ist am wahrscheinlichsten die in den *Wet-to-Dry-Ratios* oder im EVLWI nicht gefundene Ödemreduktion durch NaNO_2 in unseren Versuchen (s. Tabelle 9 und Abbildung 10).

4.6 Hämodynamik

4.6.1 Pulmonale Hämodynamik

NO_2^- wirkt in der pulmonalen Strombahn vasodilatierend (52, 54, 58, 59, 63). Die vorliegenden Daten zeigen den Einfluss von iv. appliziertem NO_2^- innerhalb eines Lavage-Modells im Schwein. Die Lavage-Prozedur führt in allen Gruppen zu dem erwarteten Anstieg des pulmonal-arteriellen Druckes (s. Tabelle 8). In der NaNO_2 HD Gruppe zeigte sich zum Versuchsende eine signifikante Reduktion von MPAP (-11 ± 5 mmHg) und PVR (-268 ± 195 dyn*s*cm⁻⁵) gegenüber der ARDS Baseline (s. Abbildung 8 und Abbildung 9), welche es in der Kontrollgruppe nicht gab. Zusammen mit dem Anstieg des HZV ($+1,4 \pm 0,8$ l/min; s. Tabelle 8) spricht dies für eine NaNO_2 induzierte pulmonale Vasodilatation. Die bisher veröffentlichten Daten zeigen vor allem eine Vasodilatation in Modellen mit intakten Lungen und einer über Hypoxie induzierten Vasokonstriktion. Im Lavagemodell trägt die HPV aber nur zu einem Teil des pulmonal-arteriellen Druckanstieges bei. Hier spielen weitere Einflüsse wie entzündliche Vorgänge, Ödembildung sowie strukturelle Veränderungen eine zusätzliche Rolle (73, 74). Dies steht der Relevanz der gesehenen Vasodilatation entgegen und könnte erklären, warum eine statistische Signifikanz der Reduktion in MPAP und PVR gegenüber der Kontrollgruppe ausbleibt. Auch das in Kapitel 4.4 Oxygenierung diskutierte Ausbleiben einer intrapulmonalen Shunt-Zunahme spricht gegen eine physiologisch relevante Vasodilatation in der geschädigten Lunge. In der NaNO_2 ND Gruppe fanden wir keinen vasodilatierenden Effekt, was wohl durch

eine zu geringe Dosis zu erklären ist, da sich die gemessenen Plasmakonzentration von NO_2^- nicht von denen der Kontrolltiere unterscheiden.

4.6.2 Systemische Hämodynamik

In der Baselinemessung zeigen sich alle Versuchsgruppen normoton und mit speziestypischer Herzfrequenz. Die Lavageprozedur führte in allen Gruppen zu einer Tachykardie, bei unveränderter Vorlast (s. GEDVI) mit einhergehender Zunahme des HZV (s. Tabelle 8). Der MAP sinkt in allen Gruppen, was in der Zusammenschau für eine Lavage-induzierte systemische Vasodilatation spricht und sich in einem fallenden SVR widerspiegelt. Die anschließende Infusion von NaNO_2 führt in unseren Versuchen zu keiner weiteren Reduktion des MAP, wohl aber zu einer weiteren, statistisch signifikanten Zunahme des HZV zum Versuchsende in beiden Interventionsgruppen und einer weiteren Abnahme des SVR in der NaNO_2 HD Gruppe. Dies spricht für eine NO_2^- -induzierte systemische Vasodilatation wie Cosby *et al.* sie in Ihren Versuchen an jungen gesunden Menschen zeigten. Sie infundierten NaNO_2 in die Brachialarterie, was zu einer Vasodilatation im Stromgebiet der Arterie sowie zu einer Abnahme des systemischen systolischen Blutdruckes um 7 mmHg führte (51). Verglichen mit unseren Plasmakonzentrationen von NO_2^- in der NaNO_2 HD Gruppe, erreichten sie mit 16 $\mu\text{mol/l}$ NO_2^- ähnliche systemische Konzentrationen. Pickerodt *et al.* konnten in ihren Versuchen an Ratten keinen Einfluss von iv. NaNO_2 auf den MAP nachweisen (72). Da in den dortigen Versuchen kein erweitertes hämodynamisches Monitoring etabliert werden konnte, lässt sich eine mögliche Vasodilatation aufgrund der fehlenden Möglichkeit das HZV und die Gefäßwiderstände zu betrachten nicht näher untersuchen. Die in unseren Versuchen gezeigten Veränderungen an den systemischen Gefäßen der Interventionsgruppen, führten zu keiner Zeit zu einer signifikant unterschiedlichen Hämodynamik im Vergleich zu der Kontrollgruppe und sprechen damit gegen eine klinisch relevante Wirkung von iv. appliziertem NaNO_2 .

4.7 Lungenödem

In den Versuchen quantifiziert wird das Lungenödem über zwei Methoden. Zum einen wurde mittels des PiCCO-Systems das EVLWI bestimmt. Dabei wurden die Messdaten nicht wie für das EVLWI typisch auf die Körperoberfläche bezogen, sondern auf das Körpergewicht. Grund hierfür ist, dass keine verlässliche Formel für die Berechnung der Körperoberfläche

jueniler Schweine der Deutschen Landrasse gefunden werden konnte. Die Werte können daher nicht als Absolutwerte, sondern nur zum Vergleich und im Verlauf interpretiert werden. Hier zeigte sich in allen Gruppen, dass die Lavage zu einer deutlichen Zunahme des EVLWI und damit des Lungenödems führte (s. Tabelle 9. Extravaskuläres Lungenwasser). Bei der Lavage der Lunge mit NaCl war dies zu erwarten, da nie sämtliche Spüllösung aus den Lungen zurückläuft. In der Kontrollgruppe nahm das Lungenwasser nach 5h signifikant ab, wohingegen in der NaNO₂ HD Gruppe bereits eine Reduktion nach 4h erkennbar ist. Eine mögliche Erklärung hierfür sind der sinkende MPAP und PVR (s. 4.6.1 Pulmonale Hämodynamik). Die hierdurch verbesserte pulmonale Hämodynamik mit verringerten intra- und extravasalen Druckgradienten führt zu einer verbesserten Resorption des Ödems. Zwischen den Gruppen gibt es aber zu keiner Zeit einen signifikanten Unterschied. Auch die *Wet-To-Dry-Ratios* zeigen keinen Unterschied zwischen den Gruppen (s. Abbildung 10). Damit hat die möglicherweise verbesserte Ödemresorption nach iv. Applikation von NaNO₂ bis zum Ende unserer Versuche keine physiologische Bedeutung, was sich auch in den ausbleibenden Oxygenierungs- oder Compliancevorteilen widerspiegelt.

4.8 Inflammatorische Zytokine in der Bronchoalveolären Lavage

Wie Muellenbach *et al.* bereits zeigen konnten, geht ein Lavage-induziertes Lungenversagen mit einem Anstieg an inflammatorischen Zytokinen in der BAL einher (74). In unseren Versuchen konnten wir ebenfalls sehen, dass in allen Gruppen am Versuchsende ein signifikanter Anstieg an inflammatorischen Zytokinen in der BAL zu finden ist (s. Tabelle 10). Dies ist Ausdruck einer Schädigung der alveo-kapillären Schranke und der damit einhergehenden Migration von Immunzellen. Darüber hinaus wird das nach der Lavage-Prozedur neu gebildete Surfactant durch die Interaktion mit den inflammatorischen Zytokinen in seiner Funktion eingeschränkt und dadurch die Bildung von Atelektasen weiter begünstigt (17). Bei fehlenden signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen, scheint die Infusion von NaNO₂, wie auch schon bei dem Ventilator-induzierten Lungenschaden der Versuche von Pickerodt *et al.* (72), keinen Einfluss auf die Inflamationsprozesse zu haben. Ob die zytoprotektiven Eigenschaften von NO₂⁻, wie sie in den Ischämie/Reperusionsmodellen gezeigt wurden (64-67), auch im hier vorliegenden Lungenschaden, den durch die Inflammation bedingten Untergang an Pneumozyten Typ II schützen, bleibt offen.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass iv. NaNO₂ in den hier genutzten Dosierungen zu keiner signifikanten Besserung eines durch Surfactant-Depletion induzierten schweren akuten Lungenversagens führt. Trotz einer NaNO₂ vermittelten Vasodilatation in der pulmonalen Strombahn, zeigen die Interventionsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe keinen verbesserten Gasaustausch, keinen signifikant verminderten PAP oder PVR, keine Reduktion des Lungenödems sowie keine signifikant erniedrigten intrapulmonalen Entzündungsmediatoren.

5. Zusammenfassung

Das ARDS hat trotz der inzwischen gut etablierten lungenprotektiven Beatmungsstrategien eine unvermindert hohe Letalität (12, 13). Dabei gibt es bisher keine medikamentösen Therapien, welche die Prognose verbessern können. Einzig für die frühe Muskelrelaxierung gibt es Hinweise auf eine mögliche Reduzierung der Sterblichkeit des ARDS (28), wobei Moss *et al.* dies 2019 nicht bestätigen konnten (29). Der Nutzen einer Muskelrelaxierung bei Patienten mit ARDS bleibt somit fraglich. Für die Inhalation von NO, welches auch endogen als potenter Vasodilatator vorkommt, konnten durchaus beachtliche Verbesserungen in der Oxygenierung, aber letzten Endes nie eine Reduktion der Sterblichkeit gezeigt werden (34). NO₂⁻ ist nicht nur Abbauprodukt von NO, sondern kann selbst als vasoaktiver NO-Donator fungieren (46). Darüber hinaus scheint es zytoprotektive Eigenschaften zu besitzen (64-67). Pickerodt *et al.* konnten bereits einen lungenprotektiven Effekt von iv. appliziertem NaNO₂ auf die Entwicklung eines Ventilator-induzierten Lungenschadens bei Ratten zeigen, wenn NaNO₂ vor der Schadensinduktion appliziert wird (72). Mit dem hier präsentierten Forschungsvorhaben sollte untersucht werden, ob iv. appliziertes NaNO₂ diesen positiven Einfluss auch auf die Schwere eines bereits vorhandenen Lungenschadens hat. Hierbei wurden vor allem die Einflüsse auf die pulmonale Hämodynamik sowie den Gasaustausch betrachtet. Da das hierfür notwendige invasive Monitoring, sowie die rezidivierenden Blutentnahmen im Kleinterversuch nicht zu realisieren sind, wurde ein Schweinmodell gewählt. Zur Induktion des Lungenschadens wählten wir ein Surfactant-Depletionsmodell, welches einen stabilen und reproduzierbaren Lungenschaden erzeugen kann (74, 83). Es wurden zwei Interventionsgruppen mit unterschiedlich hoch dosiertem intravenösen NaNO₂ (NaNO₂ ND: 0.3 mg/kg KG Bolus über 20 Minuten, gefolgt von 0.1725 mg/kg/h KG kontinuierlich und NaNO₂ HD: 3.0 mg/kg KG Bolus über 20 Minuten, gefolgt von 1.725 mg/kg/h kontinuierlich) behandelt. Die NaNO₂-Infusion wurde dabei erst nach der Induktion des Lungenschadens begonnen. In den von uns verwendeten Dosierungen und bei dem vorliegenden Versuchsaufbau kam es dabei zu keiner signifikanten Verminderung des Lungenschadens. Auch wenn es eine NaNO₂ induzierte pulmonale Vasodilatation gibt, zeigen beide Interventionsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe keinen signifikant verbesserten Gasaustausch, keinen signifikant verminderten PAP oder PVR, keine Reduktion des Lungenödems sowie keine signifikant erniedrigten intrapulmonalen Entzündungsmediatoren. Limitierend ist der im Vergleich zum klinischen Verlauf eines ARDS kurze

Untersuchungszeitraum. Der Einfluss von NaNO_2 auf Umbauprozesse des Lungengewebes kann damit nicht beurteilt werden. Darüber hinaus sind die Ursachen für die Entstehung eines ARDS vielfältig und mit der Wahl des Lavagemodells wird nur eine Art von Lungenschaden modelliert. Es ist denkbar, dass ein beispielsweise durch Sepsis bedingtes ARDS, bei welchem endogene Inflammationsprozesse Hauptursache einer Barrierestörung an der alveo-kapillären Schranke sind, stärker von den potentiellen zytoprotektiven Eigenschaften von NaNO_2 beeinflusst werden könnte. Hier ergeben sich für die Zukunft interessante Ansatzpunkte, um zu untersuchen, welchen Einfluss NaNO_2 in einem entzündlichen ARDS Modell hat und ob hier die zytoprotektiven Eigenschaften stärker zum Tragen kommen. Zusammenfassend geben die in dieser Arbeit präsentierten Daten damit keinen Hinweis darauf, dass NaNO_2 nach iv. Applikation das Ausmaß oder die Schwere eines Lavage-induzierten Lungenversagens beim Schwein vermindern kann. Damit ist iv. NaNO_2 für den akuten Verlauf eines auf Atelektasen basierenden Lungenschadens wahrscheinlich von geringer Relevanz.

6. Literaturverzeichnis

1. Kronfeldt S, Pickerodt PA, Lothar P, Francis RC, Busch T, Boemke W, Swenson ER. Sodium Nitrite In Experimental Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): Effects On Blood Oxygenation And Vascular Resistances In Pigs. B58 EXPERIMENTAL MODELS OF PULMONARY HYPERTENSION II2014: A3334-A.
2. Kronfeldt S, Lothar P, Francis RCE, Busch T, Boemke W, Pickerodt PA, Swenson ER. Effects of low dose intravenous sodium nitrite on arterial oxygenation and hemodynamics in experimental acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Intensive Care Med Exp.* 2015; 3(Suppl 1): A574.
3. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet.* 1967; 2(7511): 319-23.
4. Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000; 342(18): 1334-49.
5. Murray JF, Matthay MA, Luce JM, Flick MR. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis.* 1988; 138(3): 720-3.
6. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, Legall JR, Morris A, Spragg R, Cochlin B, Lanken PN, Loeper KV, Marini J, Murray JF, Oppenheimer L, Pesenti A, Reid L, Rinaldo J, Villar J, Vanasbeck BS, Dhainaut JF, Mancebo J, Matthay M, Meyrick B, Payen D, Perret C, Fowler AA, Schaller MD, Hudson LD, Hyers T, Knaus W, Matthay R, Pinsky M, Bone RC, Bosken C, Johanson WG, Lewandowski K, Repine J, Rodriguezroisin R, Roussos C, Antonelli MA, Beloucif S, Bihari D, Burchardi H, Lemaire F, Montravers P, Petty TL, Robotham J, Zapol W. The American-European Consensus Conference on Ards - Definitions, Mechanisms, Relevant Outcomes, and Clinical-Trial Coordination. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994; 149(3): 818-24.
7. Force ADT, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA.* 2012; 307(23): 2526-33.

8. Linko R, Okkonen M, Pettila V, Perttila J, Parviainen I, Ruokonen E, Tenhunen J, Alakokko T, Varpula T, group FI-s. Acute respiratory failure in intensive care units. FINNALL: a prospective cohort study. *Intensive Care Med.* 2009; 35(8): 1352-61.
9. Villar J, Blanco J, Anon JM, Santos-Bouza A, Blanch L, Ambros A, Gandia F, Carriedo D, Mosteiro F, Basaldua S, Fernandez RL, Kacmarek RM, Network A. The ALIEN study: incidence and outcome of acute respiratory distress syndrome in the era of lung protective ventilation. *Intensive Care Med.* 2011; 37(12): 1932-41.
10. Sigurdsson MI, Sigvaldason K, Gunnarsson TS, Moller A, Sigurdsson GH. Acute respiratory distress syndrome: nationwide changes in incidence, treatment and mortality over 23 years. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2013; 57(1): 37-45.
11. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, Gattinoni L, van Haren F, Larsson A, McAuley DF, Ranieri M, Rubenfeld G, Thompson BT, Wrigge H, Slutsky AS, Pesenti A, Investigators LS, Group ET. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA.* 2016; 315(8): 788-800.
12. Villar J, Sulemanji D, Kacmarek RM. The acute respiratory distress syndrome: incidence and mortality, has it changed? *Curr Opin Crit Care.* 2014; 20(1): 3-9.
13. Rubenfeld GD, Herridge MS. Epidemiology and outcomes of acute lung injury. *Chest.* 2007; 131(2): 554-62.
14. Ware LB. Pathophysiology of acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Sem Resp Crit Care M.* 2006; 27(4): 337-49.
15. Bachofen M, Weibel ER. Structural alterations of lung parenchyma in the adult respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med.* 1982; 3(1): 35-56.
16. Bachofen M, Weibel ER. Alterations of the gas exchange apparatus in adult respiratory insufficiency associated with septicemia. *Am Rev Respir Dis.* 1977; 116(4): 589-615.
17. Lewis JF, Jobe AH. Surfactant and the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis.* 1993; 147(1): 218-33.

18. Matthay MA, Broaddus VC. Fluid and Hemodynamic Management in Acute Lung Injury. *Sem Resp Crit Care M.* 1994; 15(4): 271-88.
19. Zapol WM, Snider MT. Pulmonary hypertension in severe acute respiratory failure. *N Engl J Med.* 1977; 296(9): 476-80.
20. Price LC, McAuley DF, Marino PS, Finney SJ, Griffiths MJ, Wort SJ. Pathophysiology of pulmonary hypertension in acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2012; 302(9): L803-15.
21. Euler USV, Liljestrand G. Observations on the Pulmonary Arterial Blood Pressure in the Cat. *Acta Physiologica Scand.* 1946; 12(4): 301-20.
22. Brimiouille S, Julien V, Gust R, Kozlowski JK, Naeije R, Schuster DP. Importance of hypoxic vasoconstriction in maintaining oxygenation during acute lung injury. *Crit Care Med.* 2002; 30(4): 874-80.
23. Brunet F, Dhainaut JF, Devaux JY, Huyghebaert MF, Villemant D, Monsallier JF. Right ventricular performance in patients with acute respiratory failure. *Intensive Care Med.* 1988; 14 Suppl 2(2): 474-7.
24. Mekontso Dessap A, Boissier F, Charron C, Begot E, Repesse X, Legras A, Brun-Buisson C, Vignon P, Vieillard-Baron A. Acute cor pulmonale during protective ventilation for acute respiratory distress syndrome: prevalence, predictors, and clinical impact. *Intensive Care Med.* 2016; 42(5): 862-70.
25. Bull TM, Clark B, McFann K, Moss M, National Institutes of Health/National Heart L, Blood Institute AN. Pulmonary vascular dysfunction is associated with poor outcomes in patients with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010; 182(9): 1123-8.
26. Brower RG, Matthay MA, Morris A, Schoenfeld D, Thompson BT, Wheeler A, Wiedemann HP, Arroliga AC, Fisher CJ, Komara JJ, Perez-Trepichio P, Parsons PE, Wolkin R, Welsh C, Fulkerson WJ, MacIntyre N, Mallatrat L, Sebastian M, McConnell R, Wilcox C, Govert J, Thompson D, Clemmer T, Davis R, Orme J, Weaver L, Grissom C, Eskelson M, Young M, Gooder V, McBride K, Lawton C, d'Hulst J, Peerless JR, Smith C, Brownlee J, Pluss W, Kallet R, Luce JM, Gottlieb J, Elmer M, Girod A, Park P, Daniel B, Gropper M, Abraham E, Piedalue F,

Glodowski J, Lockrem J, McIntyre R, Reid K, Stevens C, Kalous D, Silverman HJ, Shanholtz C, Corral W, Toews GB, Arnoldi D, Bartlett RH, Dechert R, Watts C, Lanken PN, Anderson H, Finkel B, Hanson CW, Barton R, Mone M, Hudson LD, Lee C, Carter G, Maier RV, Steinberg KP, Bernard G, Stroud M, Swindell B, Stone L, Collins L, Mogan S, Ancukiewicz M, Hayden D, Molay F, Ringwood N, Wenzlow G, Kazeroonian AS, Gail DB, Bosken CH, Randall P, Waclawiw M, Spragg RG, Boyett J, Kelley J, Leeper K, Secundy MG, Slutsky A, Hyers TM, Emerson SS, Garcia JGN, Marini JJ, Pingleton SK, Shasby MD, Sibbald WJ, Netwo ARDS. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000; 342(18): 1301-8.

27. Guerin C, Reignier J, Richard JC, Beuret P, Gacouin A, Boulain T, Mercier E, Badet M, Mercat A, Baudin O, Clavel M, Chatellier D, Jaber S, Rosselli S, Mancebo J, Sirodot M, Hilbert G, Bengler C, Richecoeur J, Gainnier M, Bayle F, Bourdin G, Leray V, Girard R, Baboi L, Ayzac L, Group PS. Prone positioning in severe acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2013; 368(23): 2159-68.

28. Papazian L, Forel JM, Gacouin A, Penot-Ragon C, Perrin G, Loundou A, Jaber S, Arnal JM, Perez D, Seghboyan JM, Constantin JM, Courant P, Lefrant JY, Guerin C, Prat G, Morange S, Roch A, Investigators AS. Neuromuscular blockers in early acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2010; 363(12): 1107-16.

29. National Heart L, Blood Institute PCTN, Moss M, Huang DT, Brower RG, Ferguson ND, Ginde AA, Gong MN, Grissom CK, Gundel S, Hayden D, Hite RD, Hou PC, Hough CL, Iwashyna TJ, Khan A, Liu KD, Talmor D, Thompson BT, Ulysse CA, Yealy DM, Angus DC. Early Neuromuscular Blockade in the Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med.* 2019; 380(21): 1997-2008.

30. Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, Matthay MA, Morris A, Ancukiewicz M, Schoenfeld D, Thompson BT, National Heart L, Blood Institute ACTN. Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2004; 351(4): 327-36.

31. Talmor D, Sarge T, Malhotra A, O'Donnell CR, Ritz R, Lisbon A, Novack V, Loring SH. Mechanical ventilation guided by esophageal pressure in acute lung injury. *N Engl J Med.* 2008; 359(20): 2095-104.

32. National Heart L, Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome Clinical Trials N, Wiedemann HP, Wheeler AP, Bernard GR, Thompson BT, Hayden D, deBoisblanc B, Connors AF, Jr., Hite RD, Harabin AL. Comparison of two fluid-management strategies in acute lung injury. *N Engl J Med.* 2006; 354(24): 2564-75.
33. Beitler JR, Sarge T, Banner-Goodspeed VM, Gong MN, Cook D, Novack V, Loring SH, Talmor D, Group EP-S. Effect of Titrating Positive End-Expiratory Pressure (PEEP) With an Esophageal Pressure-Guided Strategy vs an Empirical High PEEP-Fio2 Strategy on Death and Days Free From Mechanical Ventilation Among Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2019; 321(9): 846-57.
34. Adhikari NK, Burns KE, Friedrich JO, Granton JT, Cook DJ, Meade MO. Effect of nitric oxide on oxygenation and mortality in acute lung injury: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2007; 334(7597): 779.
35. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991; 43(2): 109-42.
36. Moncada S, Higgs A. Mechanisms of Disease - the L-Arginine Nitric-Oxide Pathway. *N Engl J Med.* 1993; 329(27): 2002-12.
37. Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, Murad F. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *P Natl Acad Sci USA.* 1977; 74(8): 3203-7.
38. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980; 288(5789): 373-6.
39. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-Derived Relaxing Factor Produced and Released from Artery and Vein Is Nitric-Oxide. *P Natl Acad Sci USA.* 1987; 84(24): 9265-9.
40. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature.* 1987; 327(6122): 524-6.

41. Brecht DS, Hwang PM, Snyder SH. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature*. 1990; 347(6295): 768-70.
42. Nakane M, Schmidt HH, Pollock JS, Förstermann U, Murad F. Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle. *FEBS Lett*. 1993; 316(2): 175-80.
43. Förstermann U, Pollock JS, Schmidt HH, Heller M, Murad F. Calmodulin-dependent endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase activity is present in the particulate and cytosolic fractions of bovine aortic endothelial cells. *P Natl Acad Sci USA*. 1991; 88(5): 1788-92.
44. Förstermann U, Gath I, Schwarz P, Closs EI, Kleinert H. Isoforms of nitric oxide synthase: Properties, cellular distribution and expressional control. *Biochemical Pharmacology*. 1995; 50(9): 1321-32.
45. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J*. 1994; 298 (Pt 2): 249-58.
46. Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2008; 7(2): 156-67.
47. Calvert JW, Lefer DJ. Clinical translation of nitrite therapy for cardiovascular diseases. *Nitric Oxide*. 2010; 22(2): 91-7.
48. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol*. 1996; 271(5 Pt 1): C1424-37.
49. Lundberg JO, Weitzberg E, Lundberg JM, Alving K. Intra-gastric nitric oxide production in humans: measurements in expelled air. *Gut*. 1994; 35(11): 1543-6.
50. Kim-Shapiro DB, Gladwin MT. Mechanisms of nitrite bioactivation. *Nitric Oxide*. 2014; 38(0): 58-68.
51. Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, Patel RP, Reiter CD, Martyr S, Yang BK, Waclawiw MA, Zalos G, Xu X, Huang KT, Shields H, Kim-Shapiro DB, Schechter AN, Cannon RO, 3rd, Gladwin MT. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med*. 2003; 9(12): 1498-505.

52. Hunter CJ, Dejam A, Blood AB, Shields H, Kim-Shapiro DB, Machado RF, Tarekegn S, Mulla N, Hopper AO, Schechter AN, Power GG, Gladwin MT. Inhaled nebulized nitrite is a hypoxia-sensitive NO-dependent selective pulmonary vasodilator. *Nat Med.* 2004; 10(10): 1122-7.
53. Simon MA, Vanderpool RR, Nouraie M, Bachman TN, White PM, Sugahara M, Gorcsan J, 3rd, Parsley EL, Gladwin MT. Acute hemodynamic effects of inhaled sodium nitrite in pulmonary hypertension associated with heart failure with preserved ejection fraction. *JCI Insight.* 2016; 1(18): e89620.
54. Ingram TE, Pinder AG, Bailey DM, Fraser AG, James PE. Low-dose sodium nitrite vasodilates hypoxic human pulmonary vasculature by a means that is not dependent on a simultaneous elevation in plasma nitrite. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010; 298(2): H331-9.
55. Rosenbaek JB, Al Therwani S, Jensen JM, Mose FH, Wandall-Frostholm C, Pedersen EB, Bech JN. Effect of sodium nitrite on renal function and sodium and water excretion and brachial and central blood pressure in healthy subjects: a dose-response study. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2017; 313(2): F378-F87.
56. Gladwin MT, Schechter AN, Kim-Shapiro DB, Patel RP, Hogg N, Shiva S, Cannon RO, 3rd, Kelm M, Wink DA, Espey MG, Oldfield EH, Pluta RM, Freeman BA, Lancaster JR, Jr., Feelisch M, Lundberg JO. The emerging biology of the nitrite anion. *Nat Chem Biol.* 2005; 1(6): 308-14.
57. Mikulski R, Tu C, Swenson ER, Silverman DN. Reactions of nitrite in erythrocyte suspensions measured by membrane inlet mass spectrometry. *Free Radic Biol Med.* 2010; 48(2): 325-31.
58. Deem S, Min JH, Moulding JD, Eveland R, Swenson ER. Red blood cells prevent inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by nitrite in isolated, perfused rat lungs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007; 292(2): H963-70.
59. Blood AB, Schroeder HJ, Terry MH, Merrill-Henry J, Bragg SL, Vrancken K, Liu T, Herring JL, Sowers LC, Wilson SM, Power GG. Inhaled nitrite reverses hemolysis-induced pulmonary vasoconstriction in newborn lambs without blood participation. *Circulation.* 2011; 123(6): 605-12.

60. Li H, Samouilov A, Liu X, Zweier JL. Characterization of the effects of oxygen on xanthine oxidase-mediated nitric oxide formation. *J Biol Chem*. 2004; 279(17): 16939-46.
61. Terada LS, Guidot DM, Leff JA, Willingham IR, Hanley ME, Piermattei D, Repine JE. Hypoxia injures endothelial cells by increasing endogenous xanthine oxidase activity. *P Natl Acad Sci USA*. 1992; 89(8): 3362-6.
62. Li H, Cui H, Kundu TK, Alzawahra W, Zweier JL. Nitric oxide production from nitrite occurs primarily in tissues not in the blood: critical role of xanthine oxidase and aldehyde oxidase. *J Biol Chem*. 2008; 283(26): 17855-63.
63. Casey DB, Badejo AM, Jr., Dhaliwal JS, Murthy SN, Hyman AL, Nossaman BD, Kadowitz PJ. Pulmonary vasodilator responses to sodium nitrite are mediated by an allopurinol-sensitive mechanism in the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009; 296(2): H524-33.
64. Duranski MR, Greer JJ, Dejam A, Jaganmohan S, Hogg N, Langston W, Patel RP, Yet SF, Wang X, Kevil CG, Gladwin MT, Lefer DJ. Cytoprotective effects of nitrite during in vivo ischemia-reperfusion of the heart and liver. *J Clin Invest*. 2005; 115(5): 1232-40.
65. Jung KH, Chu K, Ko SY, Lee ST, Sinn DI, Park DK, Kim JM, Song EC, Kim M, Roh JK. Early intravenous infusion of sodium nitrite protects brain against in vivo ischemia-reperfusion injury. *Stroke*. 2006; 37(11): 2744-50.
66. Tripatara P, Patel NS, Webb A, Rathod K, Lecomte FM, Mazzon E, Cuzzocrea S, Yaqoob MM, Ahluwalia A, Thiemermann C. Nitrite-derived nitric oxide protects the rat kidney against ischemia/reperfusion injury in vivo: role for xanthine oxidoreductase. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18(2): 570-80.
67. Webb A, Bond R, McLean P, Uppal R, Benjamin N, Ahluwalia A. Reduction of nitrite to nitric oxide during ischemia protects against myocardial ischemia-reperfusion damage. *P Natl Acad Sci USA*. 2004; 101(37): 13683-8.
68. Dungal P, Perlinger M, Weidinger A, Redl H, Kozlov AV. The cytoprotective effect of nitrite is based on the formation of dinitrosyl iron complexes. *Free Radic Biol Med*. 2015; 89: 300-10.

69. Zuckerbraun BS, Shiva S, Ifedigbo E, Mathier MA, Mollen KP, Rao J, Bauer PM, Choi JJ, Curtis E, Choi AM, Gladwin MT. Nitrite potently inhibits hypoxic and inflammatory pulmonary arterial hypertension and smooth muscle proliferation via xanthine oxidoreductase-dependent nitric oxide generation. *Circulation*. 2010; 121(1): 98-109.
70. Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Slama K, Pison U, Zapol WM. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 1993; 328(6): 399-405.
71. Blood AB, Power GG. Nitrite: on the journey from toxin to therapy. *Clin Pharmacokinet*. 2015; 54(3): 221-3.
72. Pickerodt PA, Emery MJ, Zarndt R, Martin W, Francis RC, Boemke W, Swenson ER. Sodium nitrite mitigates ventilator-induced lung injury in rats. *Anesthesiology*. 2012; 117(3): 592-601.
73. Lachmann B, Robertson B, Vogel J. In vivo lung lavage as an experimental model of the respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1980; 24(3): 231-6.
74. Muellenbach RM, Kredel M, Zollhoefer B, Johannes A, Kuestermann J, Schuster F, Schwemmer U, Wurmb T, Wunder C, Roewer N, Brederlau J. Acute respiratory distress induced by repeated saline lavage provides stable experimental conditions for 24 hours in pigs. *Exp Lung Res*. 2009; 35(3): 222-33.
75. Reuter DA, Huang C, Edrich T, Shernan SK, Eltzschig HK. Cardiac output monitoring using indicator-dilution techniques: basics, limits, and perspectives. *Anesth Analg*. 2010; 110(3): 799-811.
76. Peterson BT, Brooks JA, Zack AG. Use of microwave oven for determination of postmortem water volume of lungs. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1982; 52(6): 1661-3.
77. Dunn OJ. Multiple Comparisons Using Rank Sums. *Technometrics*. 1964; 6(3): 241-&.
78. Ballard-Croft C, Wang D, Sumpter LR, Zhou X, Zwischenberger JB. Large-animal models of acute respiratory distress syndrome. *Ann Thorac Surg*. 2012; 93(4): 1331-9.

79. Busch T, Petersen B, Deja M, Donaubaueer B, Laudi S, Jaumann S, Bercker S, Boemke W, Kaisers U. Endothelin-1 influences the efficacy of inhaled nitric oxide in experimental acute lung injury. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2006; 231(6): 974-8.
80. Kaisers U, Busch T, Wolf S, Lohbrunner H, Wilkens K, Hoher B, Boemke W. Inhaled endothelin A antagonist improves arterial oxygenation in experimental acute lung injury. *Intensive Care Med*. 2000; 26(9): 1334-42.
81. Kloot TE, Blanch L, Melynn Youngblood A, Weinert C, Adams AB, Marini JJ, Shapiro RS, Nahum A. Recruitment maneuvers in three experimental models of acute lung injury. Effect on lung volume and gas exchange. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 161(5): 1485-94.
82. Hannon JP, Bossone CA, Wade CE. Normal Physiological Values for Conscious Pigs Used in Biomedical-Research. *Laboratory Animal Science*. 1990; 40(3): 293-8.
83. Russ M, Kronfeldt S, Boemke W, Busch T, Francis RC, Pickerodt PA. Lavage-induced Surfactant Depletion in Pigs As a Model of the Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *J Vis Exp*. 2016; (115).

7. Anhang

7.1. Abkürzungsverzeichnis

ABE	<i>Aktueller Basenüberschuss</i>
AECC	<i>American-European Consensus Conference on ARDS</i>
AF	<i>Atemfrequenz</i>
aH ⁺	<i>Arterielle Wasserstoffprotonenkonzentration</i>
aHCO ₃ ⁻	<i>Aktuelle Bikarbonatkonzentration</i>
ALI	<i>Acute Lung Injury</i>
AMV	<i>Atemminutenvolumen</i>
AO	<i>Aldehydoxidase</i>
ARDS	<i>Acute Respiratory Distress Syndrom</i>
BAL	<i>Bronchoalveolären Lavage</i>
BGA	<i>Blutgasanalyse</i>
C _a O ₂	<i>Arterieller Sauerstoffgehalt</i>
C _c O ₂	<i>Pulmonal-kapillärer Sauerstoffgehalt</i>
C _{dyn}	<i>Dynamische Compliance</i>
COHb	<i>Carboxyhämoglobin</i>
COHb _a	<i>Arteriell Carboxihämoglobin</i>
COHb _v	<i>Venöses Carboxihämoglobin</i>
C _v O ₂	<i>Venöser Sauerstoffgehalt</i>
EDRF	<i>Endothelium-derived relaxing factor</i>
EVLW	<i>Extravaskuläres Lungenwasser</i>
EVLWI	<i>Extravaskulärer Lungenwasser-Index</i>
F _a O ₂ Hb	<i>Fraktionierte arterielle Sauerstoffsättigung</i>
FEM	<i>Forschungseinrichtung für experimentelle Medizin</i>
F _i O ₂	<i>Inspiratorische Sauerstofffraktion</i>
FO ₂ Hb	<i>Fraktionierte Sauerstoffsättigung</i>
F _v O ₂ Hb	<i>Fraktionierte venöse Sauerstoffsättigung</i>
GEDV	<i>Globale enddiastolisches Blutvolumen</i>
GEDVI	<i>Globale enddiastolische Blutvolumen-Index</i>
Hb	<i>Hämoglobinkonzentration</i>

HPV	Hypoxisch pulmonale Vasokonstriktion
HZV	Herzzeitvolumen
I:E.....	Inspirations-/Expirations-Verhältnis
IL-1 β	Interleukin-1 β
IL-6.....	Interleukin-6
IL-8.....	Interleukin-8
iNaNO ₂	Inhaliertes Natriumnitrit
iNO.....	Inhalatives Stickstoffmonoxid
iv.....	Intravenös
KG	Körpergewicht
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MetHb.....	Methämoglobin
MetHb _a	Arteriell Methämoglobin
MetHb _v	Venöses Methämoglobin
MPAP	Mittlerer pulmonal-arterieller Blutdruck
NaCl	Natrium-Chlorid
NADPH.....	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat-H
NaNO ₂	Natriumnitrit
NaNO ₂ HD	NaNO ₂ Hochdosis iv.
NaNO ₂ ND	NaNO ₂ Niedrigdosis iv.
NO.....	Stickstoffmonoxid
NO ₂ ⁻	Nitrit
NO ₃ ⁻	Nitrat
NOex.....	Exhaliertes Stickstoffmonoxid
NOS.....	NO-Synthase
P _a CO ₂	Arterieller Kohlenstoffdioxid-Partialdruck
P _a O ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
PAP	Pulmonal-arterieller Druck
PCWP.....	Pulmonal-kapillärer Verschlussdruck
PEEP.....	Positiv endexpiratorischer Druck
pH _a	Arterieller pH-Wert
PIP.....	Positiver inspiratorischer Spitzendruck

P_vO_2	<i>Venöser Sauerstoffpartialdruck</i>
PVR	<i>Pulmonal-vaskulärer Widerstand</i>
s_aO_2	<i>Unfraktionierte Arterielle Sauerstoffsättigung</i>
SD	<i>Standardabweichung</i>
SEM	<i>Standardfehler des Mittelwertes</i>
sO_2	<i>Unfraktionierte Sauerstoffsättigung</i>
s_vO_2	<i>Unfraktionierte venöse Sauerstoffsättigung</i>
SVR	<i>Systemisch-vaskulärer Widerstand</i>
TNF- α	<i>Tumornekrosefaktor-α</i>
V/Q	<i>Ventilation/Perfusion</i>
VILI	<i>Ventilator-induzierter Lungenschaden</i>
XO	<i>Xanthinoxidase</i>
ZVD	<i>Zentral-venöser Blutdruck</i>

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Durch NOS katalysierte NO-Synthese nach Knowles und Moncada [43].....	14
Abbildung 2. Standardisierter Versuchsablauf.....	22
Abbildung 3. Nitrit-Plasmakonzentrationen (NO_2^-).....	32
Abbildung 4. Arterieller Sauerstoffpartialdruck (P_aO_2)	34
Abbildung 5. Einzelverlauf des Sauerstoffpartialdruckes (P_aO_2) von PI795_2_1_090413 (Kontrollgruppe).....	34
Abbildung 6. Arteriell Methämoglobin (MetHb)	36
Abbildung 7. Shuntfraktion (Q_s/Q_t)	38
Abbildung 8. Pulmonal-arterielle Druckänderung (ΔMPAP)	44
Abbildung 9. Pulmonal-vaskuläre Widerstandsänderung (ΔPVR).....	45
Abbildung 10. Wet-to-Dry-Ratio	47

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Berlin Definition des ARDS von 2012 nach Ranieri VM <i>et al.</i> (7).....	9
Tabelle 2. Gründe für indirekte und direkte Lungenschädigungen nach Ware LB and Matthay MA (4, 13).....	10
Tabelle 3. Anzahl der in die Auswertung eingegangen Versuchstiere pro Gruppe	31
Tabelle 4. Nitrat Plasmakonzentrationen	33
Tabelle 5. Blutgaswerte.....	38
Tabelle 6. Säure-Basen-Haushalt.....	41
Tabelle 7. Respiration.....	42
Tabelle 8. Hämodynamik.....	45
Tabelle 9. Extravaskuläres Lungenwasser	47
Tabelle 10. Inflammatorische Zytokine.....	48

7.4 Erklärung an Eides Statt

„Ich, Sebastian Kronfeldt, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Therapeutischer Einsatz von intravenösem Natriumnitrit in einem Surfactant-Depletionsmodell des schweren akuten Lungenversagens – Auswirkungen auf die pulmonale Shuntfraktion und den pulmonalarteriellen Gefäßwiderstand“ 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/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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

7.5 Publikationen

Artikel

Russ M, Kronfeldt S, Boemke W, Busch T, Francis RC, Pickerodt PA, Lavage-induced Surfactant Depletion in Pigs as a Model of the Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *J Vis Exp* 2016(115), e53610, doi:10.3791/53610

Pickerodt PA, Kronfeldt S, Russ M, Gonzalez-Lopez A, Lothar P, Steiner E, Vorbrodt K, Busch T, Boemke W, Francis RC and Swenson ER. Carbonic anhydrase is not a relevant nitrite reductase or nitrous anhydrase in the lung. *J Physiol*. 2018, doi:10.1113/JP275894

Poster / Abstracts

Kronfeldt S, Pickerodt PA, Lothar P, Francis RC, Busch T, Boemke W, Swenson ER. Sodium Nitrite In Experimental Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): Effects On Blood Oxygenation And Vascular Resistances In Pigs. B58 EXPERIMENTAL MODELS OF PULMONARY HYPERTENSION II. 2014: A3334-A.

Kronfeldt S, Lothar P, Francis RCE, Busch T, Boemke W, Pickerodt PA, Swenson ER. Effects of low dose intravenous sodium nitrite on arterial oxygenation and hemodynamics in experimental acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Intensive Care Medicine Experimental*. 2015;3(Suppl 1): A574.

Pickerodt PA, Kronfeldt S, Vorbrodt K, Lothar P, Francis RCE, Busch T, Boemke W and Swenson ER. Carbonic Anhydrase Inhibition Does Not Enhance Nitrite To Nitric Oxide Reduction During Alveolar Hypoxia In Pigs. 2015 Hypoxia Lake Louise

Pickerodt PA, Kronfeldt S, Russ M, Vorbrodt K, Lothar P, Busch T, Boemke W, Swenson ER, and Francis RCE. Carbonic Anhydrase Is Not a Relevant Nitrite Reductase in the Lung. B53. PHOUND IN TRANSLATION. 2016: A3891-A3891

Vorträge

Kronfeldt S, Pickerodt PA, Lothar P, Francis RCE, Busch T, Boemke W, Swenson ER, Einfluss von intravenösem Natriumnitrit auf das Ausmaß des experimentellen Lungenversagens im Schweinmodell, 44. Seminar über Versuchstiere und Tierversuche, 2015, Berlin

7.6 Anteilserklärung an erfolgten Publikationen

Sebastian Kronfeldt hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Russ M, Kronfeldt S, Boemke W, Busch T, Francis RC, Pickerodt PA, Lavage-induced Surfactant Depletion in Pigs as a Model of the Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *J Vis Exp* 2016(115), e53610, doi:10.3791/53610

Beitrag im Einzelnen:

Mitentwurf des Konzeptes, Vorbereitungen, Mitarbeit bei der Durchführung, Entwurf des Skriptes, Aufbereitung der Daten und grafische Darstellung

Pickerodt PA, Kronfeldt S, Russ M, Gonzalez-Lopez A, Lothar P, Steiner E, Vorbrodt K, Busch T, Boemke W, Francis RC and Swenson ER. Carbonic anhydrase is not a relevant nitrite reductase or nitrous anhydrase in the lung. *J Physiol*. 2018, doi:10.1113/JP275894

Beitrag im Einzelnen:

Versuchsvorbereitungen, Mitarbeit bei der Durchführung, Aufbereitung der Daten und grafische Darstellung

Berlin, 21. Januar 2020

Prof. Dr. med. Roland C.E. Francis

Sebastian Kronfeldt

7.7 Curriculum vitae

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

7.8 Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Philipp A. Pickerodt für die allzeit vertrauensvolle Zusammenarbeit bedanken. Nicht nur die Unterstützung bei den Versuchsplanungen und -durchführungen, sondern auch die stets offene Tür für Fragen und kritische Diskussionen der erhobenen Daten waren ungemein hilfreich. Darüber hinaus schaffte es Dr. Pickerodt durch immer neue Literatur und Fragestellungen mein wissenschaftliches Interesse zu fördern und war mir mit seiner motivierenden Art stets Ansporn, Probleme anzugehen und zu bearbeiten.

Herrn Prof. Roland C.E. Francis danke ich für kritischen Anmerkungen und Rückfragen während der Datenauswertung und der Erstellung dieser Arbeit. Sein Auge fürs Detail und die stets konstruktive Kritik waren eine große Hilfe im Entstehungsprozess.

Des Weiteren gilt ein besonderer Dank Birgit Brandt und Sabine Molling, welche nicht nur tatkräftig bei den Versuchen halfen, sondern auch beim Umgang mit Laborproben sowie den Zytokinbestimmungen immer mit Rat und Tat zur Seite standen.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Philipp Lothar für die gute Zusammenarbeit bei den Versuchsvorbereitungen sowie -durchführungen bedanken.

Meinen Eltern Per und Birgit Kronfeldt danke ich für ihr stets offenes Ohr und für ihre kontinuierliche Unterstützung in allen Belangen. Sie gaben mir die nötigen Werkzeuge an die Hand, um nicht nur mein Studium erfolgreich zu gestalten, sondern um darüber hinaus auch die sonstigen Herausforderungen des Lebens zu meistern.

Mein abschließender Dank gilt meiner Frau Johanna. Sie hat mir stets den Rücken freigehalten und motivierend zugesprochen. So hat sie die Entstehung dieser Arbeit erst möglich gemacht.