

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

---

DISSERTATION

**Einfluss unterschiedlicher  
Inhibitoren der Carboanhydrase auf die  
hypoxische pulmonale Vasokonstriktion**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von  
Philipp A. Pickerodt  
aus Freiburg im Breisgau

Gutachter:   1. Priv.-Doz. Dr. med. Claudia Höhne  
              2. Prof. Dr. H. Mairbäurl  
              3. Prof. Dr. med. J. Weimann

Datum der Promotion: 30. Januar 2009

---

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>5</b>
1.1	<b>Hypoxische pulmonale Vasokonstriktion (HPV)</b>	<b>6</b>
1.1.1	Erstbeschreibung	6
1.1.2	Pathophysiologie und Regulation	6
1.1.3	Effektoren der HPV	7
1.2	<b>Höhenkrankheit</b>	<b>9</b>
1.2.1	Definition	9
1.2.2	Pathophysiologie des Höhenlungenödems	10
1.2.3	Risikofaktoren und Therapie der Höhenkrankheit	11
1.3	<b>Carboanhydrase</b>	<b>13</b>
1.3.1	Enzym und Isoenzyme	13
1.3.2	Funktion	13
1.3.3	Inhibitoren der Carboanhydrase	14
1.3.4	Inhibitoren der Carboanhydrase und HPV	16
1.4	<b>Ziel der Untersuchungen</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>Material und Methodik</b>	<b>19</b>
2.1	<b>Versuchstiere</b>	<b>19</b>
2.2	<b>Versuchstierhaltung und Ernährung</b>	<b>19</b>
2.3	<b>Ersatz der Tracheotomie / Atemmaske</b>	<b>20</b>
2.4	<b>Gewöhnung der Tiere an die Versuchsbedingungen</b>	<b>21</b>
2.5	<b>Versuchsvorbereitungen</b>	<b>21</b>
2.6	<b>Versuchsdurchführung</b>	<b>22</b>
2.6.1	Versuchsprotokolle	22
2.6.2	Vorversuche	26
2.6.3	Instrumentierung der Hunde	27
2.6.4	Erfassung der hämodynamischen und respiratorischen Parameter	31
2.6.5	Erfassung der Ausscheidungsparameter	31
2.6.6	Quantitative Laboranalytik	34
2.7	<b>Statistische Auswertung</b>	<b>35</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>36</b>
3.1	<b>Blutgaswerte und Atemminutenvolumen</b>	<b>36</b>
3.2	<b>Hämodynamik</b>	<b>40</b>

---

<b>3.3</b>	<b>Renale Exkretion und Plasmaelektrolyte .....</b>	<b>46</b>
<b>3.4</b>	<b>Acetazolamidplasmaspiegel .....</b>	<b>50</b>
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>51</b>
<b>4.1</b>	<b>Ziel dieser Arbeit .....</b>	<b>51</b>
<b>4.2</b>	<b>Methodenkritik .....</b>	<b>51</b>
4.2.1	Wache Hunde .....	51
4.2.2	Standardisierte Diät .....	52
4.2.3	Atemmaske .....	53
4.2.4	Inhibition der Carboanhydrase mittels Acetazolamid, Ethoxzolamid und Benzolamid.....	54
<b>4.3</b>	<b>Hämodynamik.....</b>	<b>55</b>
4.3.1	Hypoxische pulmonale Vasokonstriktion.....	55
4.3.2	Systemische Zirkulation .....	61
<b>4.4</b>	<b>Ventilation, Blutgase und Säure-Basen Haushalt.....</b>	<b>62</b>
<b>4.5</b>	<b>Plasmaelektrolyte und Veränderungen der renalen Exkretion .....</b>	<b>64</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>66</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>68</b>
<b>7</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>77</b>
<b>7.1</b>	<b>Datenübersicht .....</b>	<b>77</b>
7.1.1	Versuchstiere .....	77
7.1.2	Einzeldaten .....	77
<b>7.2</b>	<b>Curriculum Vitae.....</b>	<b>86</b>
<b>7.3</b>	<b>Publikationen .....</b>	<b>87</b>
<b>7.4</b>	<b>Erklärung an Eides Statt .....</b>	<b>88</b>

## 1 Einleitung

Die physiologischen Adaptationsmechanismen des Organismus bei einem Aufenthalt in großer Höhe sind seit vielen Jahren Gegenstand intensiver Forschung. Ein wichtiger Regulationsmechanismus der Höhenphysiologie ist die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion (hypoxic pulmonary vasoconstriction = HPV). Die HPV bewirkt bei lokoregionärer Hypoxie, z.B. Atelektase, der Umverteilung des Blutflusses aus hypoxischen Arealen der Lunge in besser oxygenierte Bereiche und führt damit zu einer Optimierung des Ventilations-Perfusions-Verhältnisses. In Situationen globaler alveolärer Hypoxie, wie sie z.B. bei einem Aufenthalt in großer Höhe entstehen, kann die HPV jedoch zu einem starken Anstieg des pulmonal-arteriellen Drucks und pulmonal-vaskulären Widerstandes führen und Zerreissungen am Endothel bedingen. Hierdurch wird der Flüssigkeitsaustritt in den Alveolarraum begünstigt. Eine überschießende HPV gilt daher als zentrales Element in der Pathophysiologie des Höhenlungenödems. Höhenlungenödem und Höhenhirnödem stellen die beiden schwerwiegenden Komplikationen der sogenannten Höhenkrankheit dar und sind bis heute mit einer hohen Mortalität behaftet. Die Höhenkrankheit stellt einen Komplex von Symptomen dar, die in ihrer Gesamtheit als „acute mountain sickness“ (AMS) definiert sind. Zur Prävention der AMS nehmen Bergsteiger seit vielen Jahren den Carboanhydrase-Inhibitor Acetazolamid (ACZ) ein. In einem vorangegangenen Projekt unserer Arbeitsgruppe zur HPV konnte nachgewiesen werden, dass die hochdosierte (10mg/kgKG/h) kontinuierliche intravenöse Gabe von ACZ während akuter Hypoxie (fraction of inspired oxygen =  $F_iO_2$ ) ( $F_iO_2 = 0.1$ ) den Anstieg des pulmonal-arteriellen Drucks (pulmonal arterial pressure = PAP) und des pulmonal-vaskulären Widerstandes (pulmonary vascular resistance = PVR) verhindert (Höhne et al. 2004). Eine gesteigerte Ventilation, wie sie durch Carboanhydrasehemmer induziert wird, konnte dabei als Ursache für diesen Effekt ausgeschlossen werden.

Die im folgenden vorgestellte Studie untersucht zum einen die Frage, ob eine niedrig dosierte Gabe von Acetazolamid ebenfalls in der Lage ist, den Anstieg des PAP und des PVR während akuter Hypoxie zu verhindern. Zum anderen wird der Einfluss verschiedener Carboanhydrase – Inhibitoren auf die HPV an wachen Hunden untersucht. Dies soll beitragen zu klären, welche Isoenzyme der Carboanhydrase inhibiert werden müssen, um im intakten Organismus die HPV zu beeinflussen.

## **1.1 Hypoxische pulmonale Vasokonstriktion (HPV)**

### **1.1.1 Erstbeschreibung**

Bradford und Dean berichteten bereits 1894, dass Asphyxie zu pulmonal-arterieller Hypertension führt (Bradford und Dean 1894). Die erste moderne Beschreibung der Beziehung zwischen alveolärer Hypoxie und pulmonal-arteriellem Gefäßtonus stammt von v. Euler und Liljestrand (von Euler und Liljestrand 1946) aus dem Jahr 1946. Sie zeigten in Versuchen an anästhesierten Katzen, die ein hypoxisches Gasgemisch mit einer  $F_iO_2$  von 0,1 atmeten, einen Anstieg des pulmonal-arteriellen Tonus auf und beschrieben diese Beobachtung als „hypoxische pulmonale Vasokonstriktion“. In der Diskussion dieser Arbeit halten sie fest, dass dieser Mechanismus dazu dienen mag, den Fluss desaturierten Blutes durch unterventilierte Teile der Lunge zu reduzieren und dadurch den Blutfluss in den besser ventilerten Arealen der Lunge zu erhöhen. Durch diese Ventilations-Perfusionsänderung kommt es zu einer verbesserten systemischen Oxygenierung. Die Richtigkeit dieser Schlussfolgerung wurde seitdem in zahlreichen Studien *in vivo* und *in vitro* bestätigt und beschäftigt seitdem die physiologische Wissenschaft, denn trotz extensiver Forschung konnte der zugrunde liegende Mechanismus der HPV noch nicht abschließend identifiziert werden.

### **1.1.2 Pathophysiologie und Regulation**

Eine intakte HPV ist durch ihren Einfluss auf die fetale Zirkulation eine für das pränatale Leben essentielle Voraussetzung. In späteren Lebensabschnitten spielt die HPV in der Pathophysiologie vieler kardiopulmonaler Erkrankungen eine wichtige Rolle. Während die HPV bei Pneumonie und Atelektase eine fokale und auf das erkrankte Lungenareal limitierte Antwort darstellt, führt sie bei globaler alveolärer Hypoxie, wie z.B. während des Aufenthaltes in großer Höhe oder bei Schlafapnoe, zu einer ubiquitären pulmonal-arteriellen Vasokonstriktion und einem Anstieg des pulmonal-arteriellen Widerstandes (Moudgil et al. 2005).

Die wesentliche Determinante der HPV stellt die alveoläre und nicht die gemischt-venöse Sauerstoffspannung dar. Wird der alveoläre Sauerstoffpartialdruck ( $P_AO_2$ ) über 60 mmHg gehalten, so findet selbst bei einer Reduktion des gemischt-venösen  $PO_2$  auf 10 mmHg kein Anstieg des pulmonal-arteriellen Drucks statt (Marschall et al. 1983). Die HPV findet

hauptsächlich an den direkt alveolärer Hypoxie ausgesetzten kleinen pulmonal-arteriellen Widerstandsgefäßen ( $< 200 \mu\text{m}$ ) statt (Kato et al. 1966) und nur in geringem Ausmaß ebenfalls an den pulmonal-venösen Gefäßen (Zhao Y et al. 1993; Dumas et al. 1999).

Da die HPV an transplantierten Lungen erhalten bleibt, handelt es sich um einen von der autonomen Innervation unabhängigen Mechanismus (Robin et al. 1987). Die HPV bleibt ebenfalls an von Endothel gereinigten Ringen pulmonal-arterieller Widerstandsgefäße von Ratten bestehen (Xuan et al 1990; Jin et al. 1992.). Auch isolierte pulmonal-arterielle glatte Muskelzellen (pulmonary artery smooth muscle cells (PASMC)) konstringieren unter Hypoxie-Exposition (Madden et al 1992). Dies steht im Gegensatz zu glatten Muskelzellen der proximalen pulmonalen Arterien, welche bei einem Abfalls des  $P_{\text{A}}\text{O}_2$  dilatieren (Archer et al. 1996). Diese regionale Heterogenität als Antwort auf Veränderungen des Sauerstoffpartialdrucks ist wahrscheinlich eine Konsequenz aus der unterschiedlichen embryonalen Herkunft der distalen Pulmonalarterien (Mesoderm der Lunge) und der proximalen pulmonal-arteriellen Gefäße (sechster Kiemenbogen) (Hall et al. 2000). Zusammengefasst zeigen diese Untersuchungen, dass die HPV eine intrinsische Eigenschaft der distalen pulmonal-arteriellen Widerstandsgefäße ist.

### 1.1.3 Effektoren der HPV

Auf der zellulären Ebene stellen drei differente Loci die Effektoren der HPV dar: Die Zellmembran, das sarkoplasmatische Retikulum und der kontraktile Apparat.

Das Ruhemembranpotential (ca.  $-60 \text{ mV}$ ) der PASMC wird durch die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase ( $\text{Na}^+$  Transport nach intrazellulär und  $\text{K}^+$  nach extrazellulär) und durch die Bewegung von Kaliumionen über die Zellmembran aufrecht erhalten. Kalium strömt hierbei passiv entlang eines nach auswärts gerichteten Konzentrationsgradienten (intrazelluläre Kaliumkonzentration:  $145 \text{ mM}$  vs. extrazelluläre Kaliumkonzentration:  $5 \text{ mM}$ ) nach extrazellulär. An der Zellmembran der PASMC führt ein Abfall der Sauerstoffspannung zu einer Inhibition dieses gerichteten Kaliumstromes, welche proportional zum Schweregrad der Hypoxie ist (Olchewski et al. 2002). In der vorliegenden Literatur sind verschiedene Sauerstoff-sensitive Kaliumkanäle beschrieben, die bei der Vermittlung der HPV auf zellulärer Ebene eine Rolle spielen. Während im Fetus der Kalzium -sensitive Kaliumkanal ( $\text{K}_{\text{Ca}}$ ) der prädominante Sauerstoff-sensitive Kanal ist (Cornfield et al. 1996), findet nach der Geburt eine Verlagerung hin zu spannungsgesteuerten Kaliumkanälen ( $\text{K}_v$ -Kanäle) statt.

Pozeg et al. und Osipenko et al. konnten in Versuchen an Ratten zeigen, dass die Subtypen  $K_V1.2$  und  $K_V1.5$  eine besondere Rolle bei der Vermittlung der HPV auf zellulärer Ebene einnehmen (Pozeg et al. 2003; Osipenko et al. 1998). Pulmonalarterien des Menschen besitzen diese spezifischen Subtypen spannungsgesteuerter Kaliumkanäle und akute Hypoxie führt zur Inhibition von  $K_V1.5$ - Kanälen (Archer et al. 2004).

Der Großteil des an der HPV beteiligten  $Ca^{2+}$  strömt, getriggert durch die Zelldepolarisation über spannungsgesteuerte (L-type) Kalziumkanäle, von extra- nach intrazellulär. Diese Kalziumkanäle sind während des Ruhemembranpotentials geschlossen. Durch Hypoxiebedingte Depolarisation der Zellmembran ändert sich ihre Konfiguration hin zu einem geöffneten Zustand (Post et al. 1992). Ein Teil des zur Kontraktion benötigten  $Ca^{2+}$  wird jedoch auch aus zell-internen Kalziumspeichern freigesetzt (Olchewski et al. 2002). So führt Hypoxie zur Freisetzung von  $Ca^{2+}$  aus dem sarkoplasmatischen Retikulum (SR) (Dipp et al. 2001) und zum erneuten  $Ca^{2+}$  Einstrom über die Zellmembran, um die entleerten Kalziumspeicher des SR wieder aufzufüllen. Dieser Influx von Kalzium verläuft über „Speicher gesteuerte Kalziumkanäle“ (store - operated calcium channels) und die Substanz SKF-96365, ein Inhibitor dieser Kanäle, hemmt die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion bei Ratten (Weigand et al. 2005).

Die Initiierung der Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur am kontraktilen Apparat beginnt mit der Phosphorylierung der leichten Kette des Myosins durch die Kalzium-Calmodulin abhängige Kinase. Die Dephosphorylierung der leichten Myosin Kette hingegen führt zur Beendigung der Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur und wird durch die Phosphatase der leichten Kette des Myosins gesteuert. Dieser Vorgang findet in der systemischen wie auch der pulmonalen glatten Gefäßmuskulatur in gleicher Weise statt. An PASMC führt alveoläre Hypoxie zu einer Zunahme der Phosphorylierung der leichten Kette des Myosins. Dies wird über ein sogenanntes kleines G-Protein, RhoA, vermittelt. RhoA stimuliert die RhoA-Kinase, welche die Phosphatase der leichten Kette des Myosins inhibiert (Wang et al. 2001). Die Aktivierung der Rho-Kinase führt dadurch zu einer Verstärkung der HPV (Ward et al. 2004). Robertson et al. konnten an isolierten pulmonalen Arterien und Lungen von Ratten zeigen, dass Rho-Kinase Inhibitoren die HPV reduzieren (Robertson et al. 2000).

Den hier aufgeführten Effektoren der HPV geht immer der Prozeß der Sauerstoffwahrnehmung ( $O_2$ -sensing) auf zellulärer Ebene voraus. Die Redox-Status-Hypothese beschreibt ein integratives Konzept der Mechanismen des  $O_2$ -sensings und der bekannten Effektoren HPV: An glatten Gefäßmuskelzellen kommt es bei Hypoxie zu



Änderungen des intrazellulären Redox-Status (z. B. durch Aktivitätsänderungen der sarkolemalen NADPH-Oxidase) und zur geänderten Produktion von Sauerstoffradikalen in den hypoxischen Zellen (Archer et al. 1993). In neueren Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass die mitochondriale Elektronentransportkette in den glatten Gefäßmuskelzellen der Lunge unter Normoxie die reaktiven Sauerstoffradikale (radical oxygen species = ROS) Superoxid und Hydrogenperoxid produziert. Bei akuter Hypoxie wird der Transport von Elektronen über die Atmungskette beeinflusst, was eine geänderte Produktion an ROS nach sich zieht. Dies führt über Änderungen des intrazellulären Redox-Status zur Inhibition von  $K_v$ -Kanälen und zur Vasokonstriktion (Lopez-Barneo et al. 2004) (Moudgil et al. 2005.). Ob es bei einem Abfall des  $PO_2$  zu einer gesteigerten (Arbeitsgruppen um J.P. Ward und G.B. Waypa) oder verminderten (Arbeitsgruppen um E.K. Weir und S.L. Archer) Produktion von ROS kommt, ist aktuell Gegenstand der Diskussion und nicht abschließend beantwortet (siehe Point:Counterpoint 2006).

## **1.2 Höhenkrankheit**

### **1.2.1 Definition**

Der Begriff der „Höhenkrankheit“ (High-Altitude Illness = HAI) wird verwendet um die zerebralen und pulmonalen Syndrome zu beschreiben, die sich bei nicht- oder unzureichend-akklimatisierten Bergsteigern kurz nach dem Aufstieg in große Höhe entwickeln können. Hierbei beziehen sich die Begriffe der akuten Bergkrankheit (acute mountain sickness = AMS) und des Höhenhirnödems (high altitude cerebral edema = HACE) auf die möglichen zerebralen Symptome der Höhenkrankheit, während der Begriff des Höhenlungenödems (high altitude pulmonary oedema = HAPE) die möglichen pulmonalen Komplikationen dieses Krankheitsbildes beschreibt (Hackett et al. 2001; Swenson et al. 2002).

Die akute Bergkrankheit wird in den 1992 durch die Lake Louise Consensus Conference festgelegten Kriterien nach einem Punktesystem definiert (Lake Louise AMS Score). Die definierenden Symptome sind Kopfschmerz, Übelkeit und / oder Erbrechen, Verwirrtheit und Schlafstörungen, sowie Ataxie, periphere Ödeme und ein veränderter mentaler Status des Patienten (Roach et al. 1993). Das Höhenhirnödem wird als Endstufe der AMS gesehen, welches zum Tod des Patienten durch Herniation des Gehirns führen kann.

Das Höhenlungenödem hingegen entwickelt sich unabhängig vom Vorhandensein der AMS. Klinische Zeichen beinhalten Dyspnoe, einen zunächst trockenen, später dann produktiven

---

Husten und im fortgeschrittenen Stadium blutig tingierten, schaumigen Auswurf. In der körperlichen Untersuchung finden sich Tachypnoe, Tachykardie und in der Auskultation feuchte Rasselgeräusche (Basnyat et al. 2003).

### **1.2.2 Pathophysiologie des Höhenlungenödems**

Das Höhenlungenödem ist ein nicht kardiogenes Lungenödem (Basnyat et al. 2003). Akute alveoläre Hypoxie während des Aufenthalts in großer Höhe bedingt durch die HPV einen Anstieg des pulmonal-arteriellen Drucks und Widerstandes. Patienten mit HAPE weisen hohe pulmonal-arterielle Drucke, aber normale links-atriale Drucke und pulmonal-kapilläre Verschlussdrucke (pulmonary capillar wedge pressure = PCWP) auf (Roy et al. 1969). Die daraus entstehende pulmonale Hypertension spielt in der Pathophysiologie des HAPE die entscheidende Rolle (Scherrer et al. 1996). Maggiorini et al. konnten zeigen, dass der hohe PAP in der frühen Entstehungsphase des HAPE bei Menschen mit einem Anstieg der pulmonal-kapillären Drucke von  $> 19$  mmHg verbunden ist. Dieser pulmonal-kapilläre Druckanstieg stellt die initiale Ursache für die Entwicklung des Höhenlungenödems dar (Maggiorini et al. 2001). Bei globaler alveolärer Hypoxie kommt es des weiteren zu einem inhomogenen Verteilungsmuster der HPV im pulmonal-vaskulären Gefäßbett (Dawson et al. 1983). Die daraus resultierende Umverteilung des pulmonalen Blutflusses führt in den Lungensegmenten, in denen die HPV geringer ausgeprägt ist, zur regionalen Überperfusion des distal-kapillären Gefäßbettes. Hultgren konnte in Versuchen an anästhesierten Hunden zeigen, dass diese Überperfusion zu einer Zunahme der Scherspannung und Schädigung der distal-pulmonalen Kapillaren führt. Als direkte Folge kommt es zum Übertritt von Plasmaproteinen und Erythrozyten in den Alveolarraum (Hultgren 1996). Dieser erhöhte alveoläre Protein – und Erythrozytengehalt konnte in der Analyse von Proben aus bronchoalveolären Lavagen bei Patienten mit HAPE bestätigt werden (Swenson et al. 2002). Eine dem hohen Protein – und Erythrozytengehalt zugrunde liegende alveoläre Inflammation konnte in dieser Studie ausgeschlossen werden.

Zur ausführlichen Erläuterung der Pathophysiologie von AMS und HACE siehe entsprechende Reviews (Hackett 1999; Roach et al. 2001).

### 1.2.3 Risikofaktoren und Therapie der Höhenkrankheit

Die wesentlichen Risikofaktoren für die Entwicklung von AMS, HACE und HAPE stellen die Geschwindigkeit des Aufstieges und die erreichte Höhe (besonders die Schlafhöhe) über dem Meeresboden dar. Weiterführend konnten Honigman et al. in einer epidemiologischen Studie zur Prävalenz der AMS zeigen, dass Wohnorte auf einer Meereshöhe von unter 900m einen zusätzlichen Risikofaktor darstellen (Honigman et al. 1993). Als Risikofaktoren gelten des weiteren Höhenkrankheit in der Anamnese, Verausgabung, Dehydrierung, sowie individuelle und genetische Voraussetzungen.

In der Behandlung aller drei Entitäten (AMS, HACE, HAPE) der Höhenkrankheit steht an erster Stelle der graduelle Abstieg auf eine geringere Höhe über dem Meeresboden, sowie die supplementäre Zufuhr von Sauerstoff. Ein Abstieg von nur 500-1000 Höhenmetern führt hierbei üblicherweise zum Sistieren der Symptomatik der AMS (Hackett et al. 2001). Bärtsch et al. konnten in einer randomisierten prospektiven Studie zeigen, dass in Fällen der AMS, die einen Abstieg unmöglich machen oder verzögern, ein simulierter Abstieg mit Hilfe von tragbaren hyperbaren Kammern mit Erfolg zum Einsatz kommen kann (Bärtsch et al. 1993).

Während außer den oben genannten Strategien zur Behandlung des Höhenhirnödems nur wenig Alternativen zur Verfügung stehen, lässt sich das Höhenlungenödem hingegen auch medikamentös behandeln. Die Einnahme von 10 mg des L-Typ-Kalziumkanalblockers Nifedipine, gefolgt von 20-30 mg alle 12 Stunden zur Behandlung des HAPE führt zur Abnahme des pulmonal-arteriellen Tonus und einer Zunahme der arteriellen Sauerstoffsättigung (Oelz et al. 1989). Selbiges konnten Scherrer et al. für die Inhalation von 40 ppm Stickstoffmonoxid (NO) in einer prospektiven Studie an Bergsteigern auf 4559 Höhenmetern zeigen. Zusätzlich führte NO in dieser Studie zu einer günstigen Umverteilung des pulmonalen Blutflusses weg von ödematösen hin zu nicht ödematösen Lungensegmenten (Scherrer et al. 1996). Obwohl systematische Untersuchungen bis heute fehlen, deuten präliminäre Daten darauf hin, dass ähnliche Ergebnisse in Kürze für die 5-Phosphodiesterase-Inhibitoren Sildenafil und Tadalafil vorliegen werden. Maggiorini und Mitarbeiter konnten zeigen, dass der 5-Phosphodiesterase-Inhibitor Tadalafil der Entstehung von HAPE vorbeugen kann (Maggiorini et al 2006; Maggiorini 2005, Vortrag).

Trotz intensiver Untersuchungen anderer Agentien ist der Carboanhydrase-Inhibitor Acetazolamid (ACZ) das Medikament der Wahl zur Prävention und Therapie der AMS (Basnyat et al. 2003) und dies stellt die am beste definierte Indikation zum Einsatz oraler Inhibitoren der Carboanhydrase dar (Swenson 1998; Swenson 2005). Die Erstbeschreibung

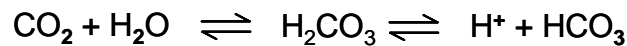
---

des Einflusses von ACZ auf die AMS beim Menschen stammt aus dem Jahr 1968 durch Forwand et al. (Forwand et al. 1968). Während seitdem die in der Literatur angegebenen Dosierungen von ACZ zur Prävention der AMS variieren, besteht die empfohlene Standarddosierung in 250 mg 2 x täglich beginnend am Tag vor dem Aufstieg in große Höhe (Hackett et al. 1976; Greene et al. 1981; Ellsworth et al. 1991; Ried et al. 1994). Die meisten Bergsteiger nehmen ACZ jedoch in einer Dosierung von nur 125 mg 2 x täglich ein. Einzig eine Metaanalyse der vorliegenden Studien zur Dosierung von ACZ zur Prophylaxe der AMS kommt zu dem Schluss, dass Dosierungen unter 750 mg täglich nicht wirksam der AMS vorbeugen (Dumont et al. 2000). Dies steht zum einen im Widerspruch zu den üblicherweise verwendeten Dosierungen. Zum anderen wurden in dieser Metaanalyse Studien mit unterschiedlichen Aufstiegsgeschwindigkeiten auf unterschiedliche Höhen über dem Meeresboden miteinander verglichen. Basnyat und Mitarbeiter konnten in zwei prospektiven, Plazebo kontrollierten Doppelblindstudien an Bergsteigern zeigen, dass 125 mg ACZ 2 x täglich wirksam zur Prophylaxe der AMS sind (Basnyat et al. 2003) und in ihrer Wirkung äquivalent einer Dosierung von 2 x 375 mg täglich (Basnyat et al. 2006). Trotzdem ist die minimale effektive Dosierung zur AMS Prophylaxe bis heute nicht genau definiert und der für die Effektivität von ACZ ursächliche Wirkmechanismus konnte bis heute nicht abschließend geklärt werden.

## 1.3 Carboanhydrase

### 1.3.1 Enzym und Isoenzyme

Das Enzym Carboanhydrase (CA) katalysiert die Umwandlung von Wasser (H<sub>2</sub>O) und Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>) zu Wasserstoff (H<sup>+</sup>) und Bikarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) bidirektional.



Die Erstbeschreibung der CA stammt aus dem Jahr 1933 durch Meldrum und Roughton (Meldrum und Roughton 1933). Die aktive Seite dieses Enzyms enthält ein durch drei Histidinreste stabilisiertes Zinkatom. Es handelt sich bei dem Enzym um ein kleines Protein mit einem Molekulargewicht von 29 kD. Mit einem  $k_{\text{cat}}$ -Wert von  $10^6 \text{ s}^{-1}$  gehört die CA zu den am schnellsten arbeitenden Enzymen (Maren 1967). Zur Zeit gibt es 15 bekannte Isoformen der CA (Swenson 1998). Die intrazelluläre erythrozytäre CA (Isoenzym Typ II) stellt den größten Enzympool des Menschen dar (Maren 1967). Des Weiteren finden sich Carboanhydrasen ubiquitär in verschiedenen Geweben verteilt, u.a. in muskulären, kardialen und glatten Gefäßmuskelzellen, am Gefäßendothel, der Niere und in der Lunge (s. Review Swenson 1998 und Swenson et al. 2000). Zusätzlich konnte das Enzym intrazellulär im Zytoplasma, sarkoplasmatischem Retikulum und in Mitochondrien fast aller Säugetiere und beim Menschen nachgewiesen werden (s. Review in Dodgson et al. 1991). Da die pulmonalen Isoenzyme für die hier vorgestellte Studie von besonderer Bedeutung sind, sei darauf hingewiesen, dass die pulmonale CA einer heterogenen Verteilung unterliegt. Das Isoenzym Typ II kommt in den humanen Typ II Pneumozyten des alveolaren Epithels vor (Effros et al. 1981), während das Typ IV Isoenzym an pulmonalkapillär endothelialen Zellen nachgewiesen werden konnte. Dort ist es extrazellulär auf der nach luminal gerichteten Seite des Endothels lokalisiert (Heming et al. 1994).

### 1.3.2 Funktion

Das Endprodukt des oxidativen Stoffwechsels stellt das in den Körperzellen gebildete Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>) dar. Nach Diffusion in das Kapillarblut bleibt ein sehr geringer Teil (ca. 5-8%) des CO<sub>2</sub> im Blut physikalisch gelöst. Der Hauptanteil des Kohlendioxid (ca. 85%) wird zu Kohlensäure hydratisiert, welche sofort in Bikarbonat und Protonen dissoziiert.

Die Reaktionskonstanten für diesen Prozess betragen im humanen Plasma  $3.5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  für die Hydratationsreaktion und  $20 \times \text{s}^{-1}$  für die Dehydratationsreaktion (Edsall et al. 1968).

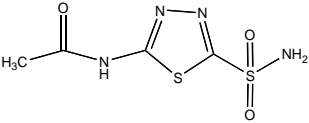
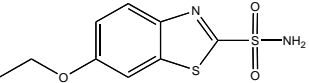
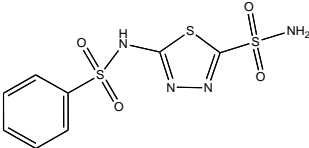
Diese Reaktionsgeschwindigkeit der unkatalysierten Reaktion reicht nicht aus um die Dehydratation von Bikarbonat und die Elimination von molekularem  $\text{CO}_2$  in der Lunge über die Atmung zu ermöglichen. Die intrazelluläre CA der Erythrozyten (Isoenzym Typ II) beschleunigt die Reaktion um das 13 000fache der unkatalysierten Reaktion bei Hunden und Menschen (Maren 1967), ohne den Zwischenschritt der Kohlensäurebildung. Das bei der Reaktion in den Erythrozyten gebildete Bikarbonat verlässt diese im Austausch gegen Chlorid ( $\text{Cl}^-$ )-Ionen (sogenannter „Hamburger Shift“), während die anfallenden Protonen im Erythrozyten an Hämoglobin gebunden werden. Dadurch stellt dieser Reaktionsprozeß als Puffersystem einen integrativen Bestandteil der Säure-Basen Homöostase im Blut und im Gesamtorganismus dar. Zusätzlich ermöglicht die schnelle Katalyse der CA- vermittelten Reaktion einerseits eine gesteigerte totale Transportkapazität des Blutes für  $\text{CO}_2$  in der systemischen Zirkulation. Andererseits ermöglicht sie durch die umgekehrte Dehydratationsreaktion die komplette Elimination des  $\text{CO}_2$  in den pulmonalen Kapillaren (Swenson et al. 2000).

Auch in der Niere übernimmt die CA wichtige Anteile an der Bikarbonatexkretion- und resorption sowie der Sekretion von Protonen. Sie ist somit auch an der renal vermittelten Steuerung der Säure-Basen-Homöostase des Organismus maßgeblich beteiligt. Im proximalen Nierentubulus wird  $\text{H}^+$  durch einen apikalen  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter in das Tubuluslumen abgegeben und unter Vermittlung der CA als  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$  wieder in die Zelle aufgenommen. Dort wird, nach ebenfalls CA abhängiger Katalyse (Umwandlung von Wasser und Kohlendioxid zu  $\text{H}^+$  und Bikarbonat), das resorbierte Bikarbonat auf der basolateralen Seite durch einen  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Antiporter und einen  $\text{HCO}_3^- \text{CO}_3^{2-} \text{Na}^+$ -Symporter wieder in das venöse Kapillarlumen transportiert. Der Nettoeffekt dieses Vorganges ist eine Bikarbonatresorption, eine  $\text{H}^+$ -Sekretion (in reziprokem Verhältnis zur Bikarbonatresorption) und durch die Beteiligung des Symporters eine  $\text{Na}^+$ -Rückresorption (Fromm und Hierholzer 1997).

### 1.3.3 Inhibitoren der Carboanhydrase

Die molekulare Struktur und die biochemischen - pharmakologischen Charakteristika der in dieser Studie verwendeten Carboanhydrase Inhibitoren Acetazolamid (ACZ), Ethoxzolamid (ETZ) und Benzolamid (BZ) sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Molekulare Struktur und biochemischen-pharmakologischen Eigenschaften der verwendeten Carboanhydrase Inhibitoren. Molekulargewicht (MW); Inhibitionskonstante vs. Isoenzym Typ II der Carboanhydrase (Ki); Ionisationskonstante (pKa); Ether-Löslichkeitskoeffizient; Wasserlöslichkeit

	MW	Ki	pKa nM	Ether- Löslichkeitskoeffizient	Wasserlöslichkeit mg/l
<b>Acetazolamid</b>	222	8	7,4	0,14	50
					
<b>Ethoxzolamid</b>	258	1	8,1	140	4
					
<b>Benzolamid</b>	230	2	3,2	0,001	45
					

Es handelt sich bei den verwendeten Inhibitoren um Sulfonamid-Derivate. Die Inhibition der CA wird bei allen hier verwendeten Substanzen durch die  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ -Gruppe vermittelt. Das Schwefelatom der  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ -Gruppe ist hierbei je nach Substanz entweder an eines der Kohlenstoffatome einer Benzol- oder einer heterozyklischen Ringstruktur gebunden (Maren 1956). Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, unterscheiden sich die CA-Inhibitoren hinsichtlich ihrer Wirkpotenz erheblich (Ethoxzolamid > Benzolamid > Acetazolamid). Zusätzlich unterscheiden sie sich in ihrer Wirksamkeit auf die bekannten Isoenzyme der CA. Aufgrund seiner pharmakologischen Eigenschaften hemmt ACZ die Carboanhydrasen ubiquitär sowohl intrazellulär als auch extrazellulär. Benzolamid wird in der vorgestellten Untersuchung aufgrund seiner geringen Permeabilität über die Zellmembran verwendet, um selektiv die membranständige Carboanhydrase (Isoenzym Typ IV) am Gefäßendothel der Lunge zu hemmen (Swenson et al. 1993). Der sehr potente und lipophile CA-Inhibitor Ethoxzolamid hingegen permeiert schnell

über die Doppellipidmembran von Zellen und bewirkt so eine starke, vor allem intrazelluläre CA-Inhibition.

An der Niere wirken alle CA-Inhibitoren nach glomerulärer Filtration und tubulärer Sekretion im proximalem Tubulus inhibierend auf die CA (Mohr und Lüllmann 1999). So liegt z.B. bei Hunden die renale Clearance von ACZ nur knapp unter der von Kreatinin (Maren et al. 1954). Aus der CA-Inhibition resultiert im proximalen Tubulus eine verminderte Bikarbonatresorption, eine verminderte H<sup>+</sup>-Sekretion und damit einhergehend die Bildung eines alkalischen und bikarbonatreichen Harns. Bei langer und/oder hoch dosierter Anwendung entwickelt sich durch die Protonenretention und gesteigerte Bikarbonatexkretion eine metabolische Azidose. Die zusätzlich gehemmte Natriumresorption des proximalen Tubulus induziert im distalen Tubulus eine vermehrte Na<sup>+</sup>-Resorption über Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-Antiporter, wodurch es zu Kaliumverlusten bis hin zur Hypokaliämie kommt (Karow und Lang-Roth 2004). Außer den Effekten auf die renale Resorption und Exkretion der genannten Elektrolyte kommt es durch die Einnahme von CA-Inhibitoren zu einer Reduktion des renalen Blutflusses und der glomerulären Filtrationsrate (GFR). Der dafür zugrunde liegende Wirkmechanismus konnte bisher nicht abschließend geklärt werden (Leyssac et al. 1991).

Die Nebenwirkungen der CA-Inhibitoren bestehen hauptsächlich in der oben beschriebenen metabolischen Azidose, Kaliumverlusten und einer verminderten Ausscheidung vom Ammonium. Hinzu kommen zentralnervöse Effekte (Kopfschmerz, Parästhesien, Schwächegefühl, Verwirrtheit), die den Einsatz der CA-Inhibitoren im klinischen Alltag häufig limitieren und sich negativ auf die Patientcompliance auswirken.

Die Prävention und Behandlung der AMS stellt heute die am beste definierte Indikation zum Einsatz oraler Inhibitoren der Carboanhydrase dar. Aufgrund der wichtigen Rolle der CA bei der intraokulären Flüssigkeitsformation, wirken topisch und systemisch applizierte CA-Inhibitoren hemmend auf den intraokulären Druck und sind indiziert zur Behandlung des akuten Glaukoms (Khaw et al. 2004). Des Weiteren kommen CA-Inhibitoren klinisch in der Behandlung der sogenannten hypo-hyperkaliämischen periodischen Paralyse zum Einsatz (Venance et al. 2006).

#### **1.3.4 Inhibitoren der Carboanhydrase und HPV**

In einer Studie, die den Einfluss von Hyperkapnie auf das pulmonale Gefäßbett während akuter Hypoxie an Hunden, Katzen und Frettchen untersucht, beschrieben Emery und Mitarbeiter 1977 erstmals einen vasodilatatorischen Effekt von ACZ auf die pulmonalen



Gefäße während akuter Hypoxie (Emery et al. 1977). Angeregt durch diese Arbeit konnten Deem et al. in einer weiterführenden Studie an isolierten Lungen von Hasen zeigen, dass ACZ die HPV während akuter alveolärer Hypoxie und kombinierter Hypoxie und Hyperkapnie um 50% reduziert. Bei einer Konzentration von 33  $\mu\text{M}$  ACZ im Perfusat der Lungen kam es während akuter alveolärer Hypoxie außerdem zu einer Reduktion der Geschwindigkeit des pulmonal arteriellen Druckanstieges um 30-50%. Hierbei war die verminderte Ausprägung der HPV nicht mit einem Anstieg von exhalierendem NO als Marker einer gesteigerten pulmonalen NO Produktion assoziiert (Deem et al. 2000). In dieser Studie erlaubte es der methodische Ansatz den Effekt von ACZ auf die HPV ohne „Störvariablen“, wie zum Beispiel die durch CA-Inhibition im intakten Tier induzierte metabolische Azidose, zu untersuchen. In einer ersten Studie unserer Arbeitsgruppe konnte an wachen Beagle Hunden mit invasivem Monitoring der systemischen und pulmonalen Hämodynamik, der Ventilation und renaler Funktionsparameter gezeigt werden, dass 167  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  ACZ i.v. während vierstündiger isobarer Hypoxie die Ausbildung der HPV vollständig unterdrückt (Höhne et al. 2004). Hierbei konnte zum einen die durch ACZ induzierte Hyperventilation und zum anderen eine Korrelation mit Veränderungen der Endothelin I-, Angiotensin II- und Plasma-Kalium-Spiegel als Ursache ausgeschlossen werden. Durch die hochdosierte Acetazolamidgabe wurde in dieser Studie durch die Hemmung der renalen Isoenzyme der Carboanhydrase eine starke metabolische Azidose induziert. Gleichzeitig kam es durch die Hemmung der Carboanhydrase in den Erythrozyten und im Lungengewebe zu einer respiratorischen Azidose. Das könnte bedeuten, dass die durch diese kombinierte respiratorische- und metabolische Azidose hervorgerufene systemische pH-Wertänderung die Ausprägung der HPV beeinflusst haben.

## **1.4 Ziel der Untersuchungen**

Der für die Inhibition der HPV durch ACZ ursächliche Wirkmechanismus ist bisher unbekannt. Ziel der Untersuchung ist es zu klären, ob eine niedrig dosierte Gabe von Acetazolamid in der Lage ist, den Anstieg des PAP und des PVR während akuter Hypoxie zu verhindern. Zum anderen wird der Einfluss verschiedener Carboanhydrase – Inhibitoren auf die HPV an wachen Hunden untersucht. Dies soll dazu beitragen zu klären, welche Isoenzyme der Carboanhydrase inhibiert werden müssen, um im intakten Organismus die HPV zu beeinflussen.

Zum Ausschluss der oben beschriebenen systemischen Effekten von ACZ ist es von großem Interesse, Acetazolamid in einer weitaus niedrigeren Dosierung als in unseren vorhergehenden Untersuchungen intravenös während akuter Hypoxie zu verabreichen, um so die primär extrazellulären, systemischen, Azidose-bedingten Effekte zu vermindern. Des Weiteren stellt sich die Frage, ob eine orale Aufnahme von Acetazolamid, wie es in der Praxis zur Prävention der Bergkrankheit verwendet wird, einen vergleichbaren Effekt auf den pulmonal-arteriellen Druck und Widerstand während akuter Hypoxie hat, wie die intravenöse Gabe.

Wie Eingangs beschrieben, kann Acetazolamid die Carboanhydrase sowohl intra- als auch extrazellulär hemmen. Durch die niedrig-dosierte Gabe von Acetazolamid kann die intrazelluläre Wirkung jedoch nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Die alleinige Gabe von ACZ ermöglicht keine Differenzierung, ob die Wirkung von ACZ in der Prävention der HPV ein Effekt der intra- oder extrazellulären Hemmung der CA ist. Benzolamid, ein Carboanhydrasehemmer mit einer niedrigen Permeabilität über die Zellmembran, kann selektiv die membranständige Carboanhydrase (IV) am Gefäßendothel der Lunge hemmen. Der hoch lipophile Carboanhydrasehemmer Ethoxzolamid hingegen permeiert hervorragend über Zellmembranen und inhibiert selektiv die intrazellulären Isoenzyme der Carboanhydrase. Es ergeben sich daraus zwei weitere Fragestellungen, die in der hier vorgestellten Arbeit untersucht werden: Ist die Wirkung von ACZ auf die HPV abhängig von dessen extrazellulärer Wirkung oder beruht sie auf einer intrazellulären Wirkung? Es soll daher untersucht werden, ob die kontinuierliche intravenöse Gabe von Benzolamid oder Ethoxzolamid eine Wirkung auf den Anstieg des pulmonal-arteriellen Drucks und Widerstands bei akuter Hypoxie hat.

## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Versuchstiere**

Die Versuche erfolgten an 6 weiblichen Beagle-Hunden, die von der Fa. Harlan-Winkelmann GmbH (D- 33178 Borcheln; Deutschland) im Alter von einem Jahr bezogen wurden. Noch vor der Lieferung wurden die Tiere vom Züchter gegen Viren, Bakterien, Ekto- und Endoparasiten nach den geltenden FELASA-Empfehlungen (2002) geimpft und entwurmt. Der Gesundheitszustand aller Tiere war bei Lieferung einwandfrei. Dies wurde durch eine jeweils 2 Tage nach Lieferung erfolgte Erstuntersuchung durch die Tierschutzbeauftragte der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Fr. Dr. vet. med. C. Fehrenberg (Campus Virchow-Klinikum) bestätigt. Die Tiere wogen im Durchschnitt  $14 \pm 0,5$  kg (SD). Durch die zuständige Tierversuchskommission beim Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit wurden die hier im folgenden vorgestellten Versuche genehmigt (TVA G 0084/04).

### **2.2 Versuchstierhaltung und Ernährung**

Die Hunde wurden während der gesamten Projektdauer im Biomedizinischen Forschungszentrum der Charité am Campus Virchow-Klinikum tierschutzgerecht gehalten. Dies wurde garantiert sowohl durch die Betreuung durch erfahrene und speziell im Umgang mit Hunden vertraute Tierpfleger, sowie die vorhandenen räumlichen und technischen Bedingungen. Folgende Parameter wurden durch die Tierpfleger/innen täglich für jeden einzelnen Hund protokolliert:

- Allgemeiner Gesundheitszustand
- Nahrungsaufnahme
- Körpertemperatur und -gewicht
- Defäkation
- soziales Verhalten
- besondere Vorkommnisse (z.B. Zyklusblutungen, Scheingraviditäten)

Die Hunde wurden vormittags in einem ca. 50 m<sup>2</sup> großen Indoor-Auslauf gehalten. Diesen verließen sie von 10-12 Uhr zum gemeinsamen Auslauf in einem ca. 100 m<sup>2</sup> Gehege auf dem Dach der tierexperimentellen Einrichtungen. Von ca. 13-14 Uhr wurden die Hunde dann in einem nahe gelegenen Park ausgeführt. Dies ist von Bedeutung, da Hunde darauf eingestellt

sind, in einer Gruppe zu leben und genügend Auslauf und Bewegung zu erhalten (Unshelm 1993; Feddersen-Petersen 1994). Am Nachmittag und in der Nacht stand jeweils 2 Hunden ein ca. 5 m<sup>2</sup> großer und 2 m hoher Zwinger mit Hundehütte (Bodenhaltung) zur Verfügung. Diese, wie auch die Ausläufe, wurden mehrmals täglich gereinigt. Aufgrund dieser geschaffenen Rahmenbedingungen zeigten die Hunde keine Verhaltensauffälligkeiten.

Die Tiere erhielten jeden Morgen um 8<sup>30</sup> Uhr ein für jeden Hund einzeln nach Gewicht zubereitetes Mischfutter aus Premium<sup>®</sup>- oder Junior<sup>®</sup>- Dosenfutter (Fa. Allco, Morsum, Deutschland) und Trockenfutter (Extra<sup>®</sup>, Fa. Allco, Morsum, Deutschland). Für die Nahrungsaufnahme stand den Tieren 30 min Zeit zur Verfügung. Die Nahrung wurde täglich nur um diese Zeit angeboten, während Wasser den Tieren über den ganzen Tag ad libitum zur Verfügung stand.

Fünf Tage vor jedem Versuch erhielten die Tiere eine standardisierte Diät. Dies geschah mit dem Ziel, eine ausgeglichene Ein- und Ausfuhrbilanz von Kochsalz und Wasser sicherzustellen. Außerdem wurde dadurch eine bei allen Hunden vergleichbare Ausgangsstimulation des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems gewährleistet.

Die Diät bestand im einzelnen aus:

- Reis: 58 g/kg KG/d (gekocht)
- Fleisch: 12 g/kg KG/d (zerkleinertes Rinderherz)
- H<sub>2</sub>O: 91 ml/kg KG/d (Wassergehalt insgesamt)
- Natrium: 2,5 mmol/kg KG/d
- Kalium: 3,5 mmol/kg KG/d

Damit betrug die Gesamtenergieaufnahme während der Diät auf 277 kJ/kg KG/d. Darüber hinaus hatten die Tiere während der gesamten Dauer der Diät keinen weiteren Zugang zu Nahrung oder Wasser. Das Körpergewicht blieb unter dieser Diät konstant.

### **2.3 Ersatz der Tracheotomie / Atemmaske**

Für dieses Projekt wurde eine spezielle Atemmaske entworfen und gebaut, um die in den vorangegangenen Projekten der Arbeitsgruppe angewandte Tracheotomie der Tiere zu vermeiden. Als Grundlage diente hierfür eine in der Veterinärmedizin zur Narkoseeinleitung gebräuchliche Maske (Fa. Eickermeyer; Tuttlingen; Deutschland). Diese wurde unseren Ansprüchen gemäß modifiziert, so dass das Totraumvolumen minimiert wurde. Zusätzlich wurde jeweils ein Aufsatzstutzen zum Anschluss an den Respirator und die CO<sub>2</sub>-Meßsonde

angebracht. Außerdem wurde für jeden Hund ein Dichtungsring aus Gummi individuell angepasst. Dadurch konnte die Maske gegenüber der Umwelt dicht abschließend von den Tieren über die gesamte Versuchsdauer getragen werden.

## **2.4 Gewöhnung der Tiere an die Versuchsbedingungen**

Die Hunde wurden trainiert, um sich an die Versuchsbedingungen zu gewöhnen. Wir begannen mit der eigentlichen Trainingsphase ca. 2-4 Wochen nachdem die Hunde in unserer Einrichtung eingetroffen waren. Nach dieser Eingewöhnungsphase lernten die Hunde zunächst den Vorbereitungsraum und das Versuchslabor kennen. Dort wurde auf dem mittels einer Wärmedecke auf 35 Grad C° vorgewärmten und leicht gepolsterten Labortisch mit Liegeübungen begonnen. Hierbei erlernten die Hunde das Liegen auf der rechten Körperseite. Die Dauer der Liegeübungen wurde dabei langsam gesteigert. Gleichzeitig erlernten die Hunde das Tragen und Tolerieren der Maske und des Dichtungsringes. Ebenfalls wurden sie an die Spontanatmung am Respirator (Servo 900 C<sup>®</sup>, Siemens Company, Lund, Schweden) gewöhnt. Wenn die Hunde dies problemlos über mehrere Stunden beherrschten, wurden erste Instrumentierungen vorgenommen, z.B. die Gefäßpunktionen unter Lokalanästhesie und das Einbringen eines Harnblasenkatheters sowie Spülung und Entleerung der Harnblase. Erst wenn die Hunde dies ruhig tolerierten, wurden sie in das experimentelle Protokoll aufgenommen.

Alle Hunde wurden nach Abschluss des Versuchsprojektes durch die Tierärztin und Tierschutzbeauftragte Fr. Dr. vet. med. C. Fehrenberg erneut untersucht und für gesund erklärt. Anschließend wurden alle Tiere mit Hilfe der Veterinärmediziner und Tierpfleger an mit der Hundehaltung vertraute Privatpersonen vermittelt und aus der tierexperimentellen Einrichtung entlassen.

## **2.5 Versuchsvorbereitungen**

Mindestens sieben Tage vor jedem Versuch wurde den Hunden 80 ml venöses Blut (Punktion der V. cephalica) entnommen. Das Blut wurde direkt in einem mit CDPA-1-Stabilisator (Inhaltsstoffe: 26,3 g/l Natriumcitrat-Dihydrat; 3,27 g/l Zitronensäure; 2,51 g/l Natriumdihydrogenphosphat; 31,9 g/l Glucose ad 1000 ml Aqua ad iniectabilia) gefülltem Frischblutbeutel (Compoflex<sup>®</sup> CDPA-1, Fresenius HemoCare GmbH, Redmond, NE, USA) gesammelt und bei 4-6°C aufbewahrt. Dies geschah, um den infolge des Blutverlustes durch

die Probeentnahmen (26 ml/Abnahme) induzierten hormonellen Regulationsvorgängen vorzubeugen und ein konstantes Blutvolumen im Versuch zu gewährleisten.

Die Tiere wurden einen Tag vor dem Versuch durch das Tierpflegepersonal gewaschen und an den für die Punktionen relevanten Körperpartien am Hals und im Leistenbereich rasiert.

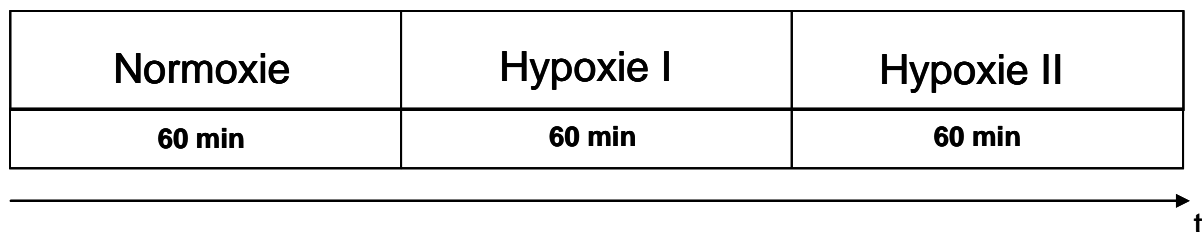
Am Versuchstag blieben die Tiere bis zum Versuchsende nüchtern. Nach Beendigung des Versuches erhielten die Tiere nach 1 Stunde ihr normales Futter. Am darauf folgenden Tag begann für den Hund eine mindestens 14 Tage währende Versuchspause.

## 2.6 Versuchsdurchführung

Während der Versuche waren die Hunde nüchtern, wach und nicht sediert. Am Morgen des Versuchstages wurden die Hunde gewogen und die rektale Temperatur gemessen. Daraufhin wurde im Vorbereitungsraum ein Blasenkatheter (Norta<sup>®</sup> 16 Charrière Foley catheter, Beiersdorf AG, Hamburg, Deutschland) gelegt und eine Venenverweilkanüle (Braunüle<sup>®</sup> 20G, B.Braun, Melsungen, Deutschland) in einer Vorderpfotenvene platziert. Daraufhin wurden die Hunde in den Laborraum getragen, wo nach Vervollständigung der Instrumentierung (siehe Abschnitt 2.6.3) das jeweilig geplante Versuchsprotokoll beginnen konnte.

### 2.6.1 Versuchsprotokolle

In randomisierter Reihenfolge durchliefen 6 weibliche Beagle-Hunde jedes der im folgenden beschriebenen fünf Versuchsprotokolle. Der einheitliche Ablauf aller Versuchsprotokolle ist in Abb. 1 dargestellt.



**Abbildung 1: Experimentelles Protokoll:  
Einheitlicher Versuchsablauf aller Protokolle**

Die Tiere atmeten während der ersten Versuchsstunde Raumluft ( $F_{iO_2} = 0.21$ ). Diese Stunde wurde „Normoxiephase“ benannt. In der zweiten und dritten Versuchsstunde wurde den Hunden ein hypoxisches Gasgemisch durch Zumischung von Stickstoff ( $N_2$ ) zugeführt. Diese Stunden wurden „Hypoxie I“ und „Hypoxie II“ benannt. Zielparameter war dabei ein arterieller Sauerstoffpartialdruck ( $p_aO_2$ ) von 36-39 mmHg. Dem entsprach in der Kontrollgruppe eine  $F_{iO_2}$  von 0.1. Die Hunde atmeten während der gesamten Versuchsdauer spontan, wobei der dazu verwandte Respirator vor allem der exakten Mischung der Atemgase diente. Um die systembedingten Atemwegwiderstände auszugleichen, wurde der Respirator im CPAP (continuous positiv airway pressure)-Modus betrieben. Die Höhe des applizierten CPAP wurde auf 1 cmH<sub>2</sub>O adjustiert. Zu Beginn eines jeden Versuches wurde eine arterielle Blutgasanalyse und eine arterielle Blutprobe zur Bestimmung der Ausgangswerte entnommen. Die Entnahmezeitpunkte, an denen den Hunden Blutproben (arteriell und gemischt-venös) entnommen wurden, lagen am Ende jeder Versuchsstunde. Die Probenentnahme diente der Bestimmung der folgenden Parameter:

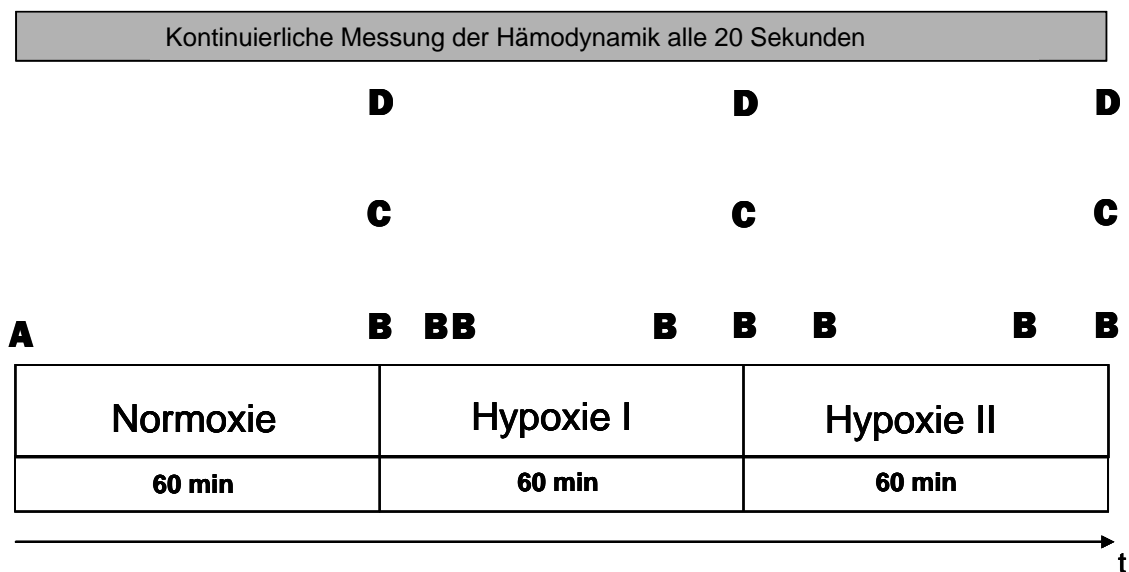
- Plasmareninaktivität (PRA)
- Aldosteron Plasmakonzentration (PAC)
- Angiotensin II Plasmakonzentration (AII)
- Endothelin I Plasmakonzentration (ET-1)
- Plasmakonzentration von antidiuretischem Hormon (ADH)
- Adrenalin Plasmakonzentration (Adr)
- Noradrenalin Plasmakonzentration (NA)
- Hämoglobingehalt (Hb)

Alle Hormonproben wurden sofort bei  $-20\text{ C}$  eingefroren. Die Ergebnisse dieser Messungen werden an anderer Stelle abgehandelt und sind daher in dieser Arbeit nicht dargestellt.

Des Weiteren diente die Probenentnahme der Analyse der Blutgase (BGA), des Säure-Basen-Haushaltes (SBH), der Kreatinin ( $P_{Krea}$ )-, Natrium ( $P_{Na}$ )- und Kaliumkonzentration ( $P_K$ ). Zusätzlich wurden an jedem Entnahmezeitpunkt ca. 2 ml gemischt-venöses Blut aus dem distalen Lumen des Swan-Ganz-Katheters für eine BGA entnommen. Hinzu kamen weitere „kleine“ Blutentnahmen zur Etablierung und Kontrolle der angestrebten  $P_aO_2$ -Werte während der Hypoxiephasen. Diese fanden jeweils in der 10., 15. und 45. Minute der ersten und der 15. und 45 Minute der zweiten Hypoxiephase statt. Die bei den großen Probeentnahmen

entstandenen Blutverluste wurden sofort mittels der vorher aservierten Eigenblutkonserve ersetzt.

Direkt vor Versuchsbeginn wurde die Harnblase mittels Luftspülung geleert und der Urin verworfen. An jedem Kontrollpunkt wurde die Harnblase manuell komprimiert und mit 500 ml vorgewärmten Aqua destillata (Ecotainer<sup>®</sup> Aqua, B. Braun, Melsungen, Deutschland) fraktioniert über den Harnblasenkatheter gespült und entleert. Dies geschah zur Bestimmung der Harnstundenmenge ( $U\dot{V}_{60}$ ), Urin- Natriumausscheidung ( $U\dot{V}_{Na}$ ), Urin- Kaliumausscheidung ( $U\dot{V}_K$ ), Urin- Kreatininausscheidung ( $U\dot{V}_{Krea}$ ) und der Urin Osmolalität ( $U_{Osmo}$ ). Dabei war es durch zusätzliche Luftspülung (2 x 50 ml) möglich, etwaige Urinsammelfehler zu minimieren. Die Hunde tolerierten das Komprimieren und Spülen der Blase gut, da sie dies in der vorhergehenden Trainingsphase kennengelernt und sich daran gewöhnt hatten. Abbildung 2 verdeutlicht den Versuchsablauf und die Entnahmezeitpunkte.



**Abbildung 2: Experimentelles Protokoll: Einheitlicher Versuchablauf mit Darstellung der Entnahme- und Messzeitpunkte**

Tabelle 2: Codierung der Probeentnahmen in Abbildung 2

Probenentnahme (ml)	
<b>A</b> (10)	BGA, Blasenentleerung, PKrea und ET-1
<b>B</b> (4)	BGA arteriell
<b>C</b> (20)	PRA, PAC, AII, ET-1, ADH, A, N, Hb, PKrea, PNa, PK
<b>D</b>	Blasenentleerung, $U\dot{V}_{60}$ , $U\dot{V}_{Na}$ , $U\dot{V}_K$ , $U\dot{V}_{Krea}$ , $U_{osmo}$



## a) Kontrollversuch

Die durchgeführten Kontrollversuche entsprachen dem oben beschriebenen Ablauf.

## b) Interventionsversuch: Acetazolamid i.v.

Der Versuchsverlauf entsprach dem der Kontrollgruppe, zusätzlich wurde 15 min vor Beginn der Normoxiephase ein i.v. Bolus Acetazolamid ( $2 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1}$ ) als Aufsättigungsdosis verabreicht. Daran schloss sich die kontinuierliche Acetazolamid i.v. Infusion ( $2 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) vom Zeitpunkt 0 der Normoxiephase bis Versuchende als Erhaltungsdosis an. Die Inhibition der Carboanhydrase führt bei der gewählten Dosierung über eine Stimulation peripherer Chemorezeptoren im Glomus caroticum zu einem gegenüber den Kontrollversuchen gesteigerten Atemantrieb der Hunde. Daher war es zur Sicherung vergleichbarer arterieller Sauerstoffpartialdrucke nötig, die  $F_{\text{I}}\text{O}_2$  auf Werte um 0.09-0.08 zu adjustieren.

## c) Interventionsversuch: Acetazolamid oral

Der Versuchsverlauf entsprach dem der Kontrollgruppe, wobei die Tiere in diesem Protokoll jeweils am Abend vor dem Versuch (20 Uhr) und am Morgen des Versuchstages (8 Uhr)  $5 \text{ mgKG}$  Acetazolamid oral erhielten. Die Dosis wurde anhand des Diätgewichtes errechnet und das Medikament in Kapselformat verabreicht. Die Kapseln wurden von der hauseigenen Apotheke bezogen und enthielten als Füllstoff Mannit und Siliciumdioxid. In diesem Protokoll war es aufgrund der durch Acetazolamid induzierten Steigerung des Atemantriebes ebenfalls nötig, die  $F_{\text{I}}\text{O}_2$  während der Hypoxiephasen des Versuchs auf Werte um 0.09-0.08 zu reduzieren.

## d) Interventionsversuch: Benzolamid i.v.

Auch in diesem Protokoll entspricht der Versuchsverlauf dem der Kontrolle. Zusätzlich erhielten die Hunde den Carboanhydrasehemmer Benzolamid intravenös. Wiederum erhielten die Tiere 15 min vor Versuchsbeginn einen i.v. Bolus als Aufsättigungsdosis mit einer Dosierung von  $2 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1}$ . Daran anschließend erfolgte von Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0 der Normoxiephase) bis Versuchende eine kontinuierliche intravenöse Infusion von  $2 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  Benzolamid als Erhaltungsdosis mit dem Ziel einen stabilen Benzolamid-Plasmaspiegels zu gewährleisten. Da die Hunde auch

hier über den beschriebenen Wirkmechanismus einen im Vergleich zur Kontrolle höheren Atemtrieb hatten, wurde die  $F_iO_2$  in den Hypoxiephasen wiederum auf Werte um 0.09-0.08 reduziert.

e) Interventionsversuch: Ethoxzolamid i.v.

Der Versuchsverlauf entspricht dem der Kontrollversuche. Die Hunde erhielten in diesem Protokoll den Carboanhydrasehemmer Ethoxzolamid intravenös. 15 min. vor Versuchsbeginn erhielten die Tiere als Aufsättigungsdosis einen i.v. Bolus Ethoxzolamid mit einer Dosierung von  $1 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1}$ . Daraufhin erhielten die Hunde vom Zeitpunkt 0 der Normoxiephase bis Versuchsende eine kontinuierliche i.v. Infusion von  $1 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1}$  Ethoxzolamid als Erhaltungsdosis (Gewährleistung eines stabilen Plasmaspiegels). Aufgrund des gesteigerten Atemtriebes durch die Inhibition der Carboanhydrase wurde auch in diesem Protokoll die  $F_iO_2$  auf Werte um 0.09-0.08 gemindert.

## 2.6.2 Vorversuche

Aus vorhergegangenen Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe zur HPV im selben Tiermodell war bekannt, dass innerhalb eines Zeitraumes von drei Stunden Änderungen der protokollierten Parameter gut darstellbar waren. Die in den Interventionsversuchen applizierten Dosierungen wurden in Anlehnung an die in der Literatur beschriebenen Dosis-Wirkungsbeziehungen der verabreichten Substanzen gewählt.

### • Acetazolamid i.v.-Dosierung:

Die in einer vorhergehenden Studie (Höhne et al. 2004) unserer Arbeitsgruppe gewählte Acetazolamid Dosierung ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1}$ ) hat (durch die Hemmung der renalen Carboanhydrase) zu einer starken metabolischen Azidose und zu einer respiratorischen Azidose (durch die Hemmung des Isoenzymes II der CA in den Erythrozyten und im Lungengewebe (Isoenzyme Typ IV)) geführt. Um die möglichen Einflüsse dieser Veränderungen des Säure-Basen Haushaltes auf die Ausprägung der HPV zu minimieren und um zu testen, ob klinisch angewandte Dosierungen von Acetazolamid in der Lage sind die HPV zu hemmen, wählten wir in der vorliegenden Studie die geringe Dosierung von  $2 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1}$  i.v. Damit blieben wir unter der in der Literatur als sehr niedrig beschriebenen

Dosierung von  $3 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1}$  und ebenfalls unter der Dosierung, die als nicht mehr hemmend auf die CA der Erythrozyten beschrieben ist (Swenson 2000).

### 2.6.3 Instrumentierung der Hunde

Um die gewählten hämodynamischen Parameter erfassen zu können waren folgende Instrumentierungen notwendig:

- **Arterieller Katheter**

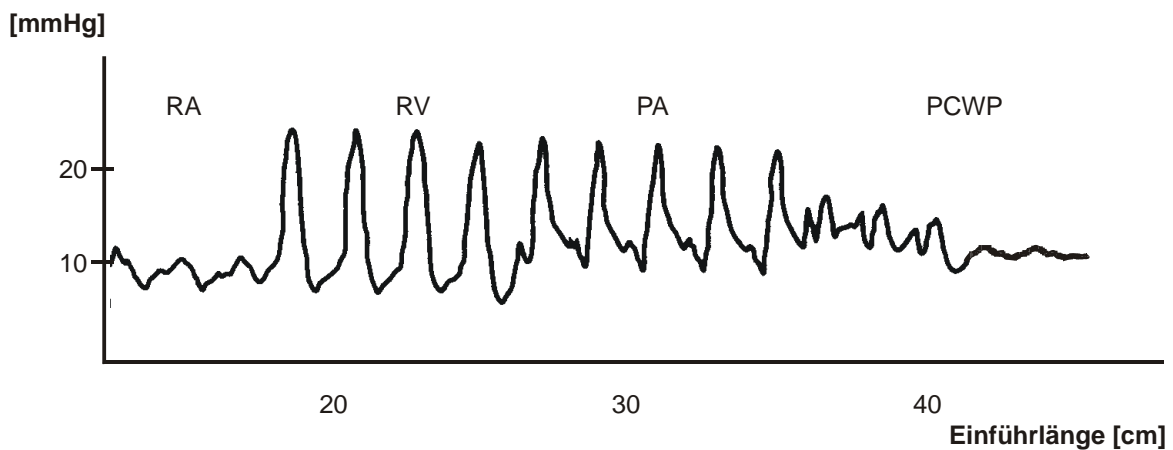
Der für die arteriellen Druckmessungen und Blutentnahmen benötigte Aortenkatheter wurde über die A. femoralis platziert. Dafür wurde die zuvor rasierte Leistenbeuge desinfiziert und steril abgedeckt. Daraufhin wurde unter Lokalanästhesie (5 ml Lidocain 2 %, B. Braun, Melsungen, Deutschland) mittels Seldinger-Technik (Seldinger 1953) ein 20 cm langer einlumiger 3 French Katheter mit einem Außendurchmesser von 1.1 mm (BD Careflow<sup>TM</sup>, ReF NR.: 681642, Singapore) so retrograd im Gefäß vorgeschoben, dass die Katheterspitze in der Aorta abdominalis positioniert war. Die arterielle Blutdruckmessung erfolgte mittels präkalibriertem Einmaldruckwandler, wobei die Höhe des Druckaufnehmers über Tischniveau vor jedem Versuch, wie unten beschrieben, überprüft und justiert wurde. (Viggo Spectramed, DF-XX, Spectramed GmbH, Düsseldorf, Deutschland). Der arterielle Blutdruck und die aus der Druckkurve abgeleitete Herzfrequenz wurden kontinuierlich aufgezeichnet.

- **Swan – Ganz - Katheter**

Unter Lokalanästhesie (5 ml Lidocain 2 %, B. Braun, Melsungen, Deutschland) wurde mittels Seldinger-Technik eine Schleuse mit Sideport (Arrow-Flex<sup>®</sup> 6 French, Prod. Nr.: SI-09600, Arrow international, Reading, USA) in die V. jugularis externa dextra platziert. Über diese wurde der pulmonal-arterielle Thermodilutionskatheter (Swan-Ganz<sup>®</sup>, 5F, Edwards Lifesciences LLC, Irvine, CA, USA) platziert. Der Katheter wurde durch einen Einmaldruckwandler (Viggo Spectramed, DF-XX, Spectramed GmbH, Düsseldorf, Deutschland) an einen Monitor (Danica, Dialogue 2000 Elektronik, DK) angeschlossen. Unter visueller Kontrolle der Druckkurve auf dem Monitor wurde der Katheter in eine A. pulmonalis eingeschwenkt. Dazu wurde der Ballon an der Spitze des Katheters ab einer Einführlänge von 17 cm mit 0.7 ml Luft gefüllt. Der Katheter wurde dann vorgeschoben, bis nach Durchlaufen der für das rechte Atrium, den rechten Ventrikel und die A. pulmonalis charakteristischen Druckkurven, die für eine pulmonal-arterielle Verschlussposition des Katheters typische Druckkurve auf dem Monitor sichtbar wurde. Abbildung 3 verdeutlicht die Druckverläufe beim Einschwenken eines pulmonal-arteriellen Katheters. War nach dem

Ablassen der Luft aus dem Ballon wieder die Kurve der Druckverläufe der A. pulmonalis sichtbar, so kam die Katheterspitze mit hoher Wahrscheinlichkeit in dem Hauptast einer Pulmonalarterie in der Nähe des Lungenhilus zu liegen. Den Mittelwert der pulmonal-arteriellen Druckkurve nahmen wir als MPAP (mean pulmonary artery pressure) in das Versuchsprotokoll auf.

Der bei gefülltem und in pulmonal-arterieller Okklusionsposition liegenden Ballon nach 20 s angezeigte diastolische Druck in der Pulmonalarterie wurde als der PCWP (pulmonal capillare wedge pressure) Wert festgehalten und im Rahmen der späteren Berechnung des pulmonalen Gefäßwiderstandes (pulmonal vascular resistance = PVR) herangezogen.



**Abb. 3: Druckverlauf beim Einschwennen eines Swan-Ganz-Katheters (modifiziert nach Swan, Ganz et al. N engl. J. Med. 1970)**

Abszisse = Einföhlrlänge des Katheters von der Punktionsstelle [cm]; Ordinate = Druck [mmHg]

RA = rechtes Atrium; RV = rechter Ventrikel; PA = Pulmonalarterie; PCWP = pulmonary capillary wedge pressure

Nach der Methode von Jansen (Jansen und Schreuder 1990) wurde unmittelbar nach dem Ablesen der hämodynamischen Parameter das Herzzeitvolumen (HZV) errechnet. Dabei berechnet sich das HZV unter Berücksichtigung der atmungsabhängigen Schwankungen als Mittelwert aus drei von fünf direkt aufeinanderfolgend gemessenen Werten. Der höchste und der niedrigste Wert dieser Messungen wurden verworfen. Für jede einzelne HZV Messung injizierten wir 5 ml 4°C kalte, sterile Glucoselösung über den proximalen Injektionszugang des Swan-Ganz Katheters in den rechten Vorhof. Nach der Standardformel (Hoeft 1995) wurde durch ein Messgerät (Vigilance<sup>®</sup>, Typ VGS1, Baxter, Edwards Lifesciences LLC,

Irvine, CA, USA) das Herzzeitvolumen berechnet. Auf diesem Gerät erfolgte auch die Darstellung der Thermodilutionskurve.

$$\text{HZV} = \frac{k_{\text{spez}} \cdot V_{\text{Inj}} \cdot (T_{\text{Blut}} - T_{\text{Inj}})}{\int_0^T \Delta T_{\text{B}}(t) dt} \quad (\text{Gl. 1})$$

HZV = Herzzeitvolumen [ml/min]

$k_{\text{spez}}$  = Korrekturfaktor =  $\frac{C_p(5\% \text{ Glucose})}{C_p(\text{Blut})} = 1,08$  (für Glucose 5%)

$C_p$  = Spezifische Wärme

$V_{\text{Inj}}$  = Injektatvolumen [ml]

$T_{\text{Blut}}$  = Anfangstemperatur des Blutes [°C]

$T_{\text{Inj}}$  = Anfangstemperatur des Injektates [°C]

$\int_0^T \Delta T_{\text{B}}(t) dt$  = Integral der Temperaturänderung [°C·s]

Den Mittelwert der aufgezeichneten venösen Druckkurve nahmen wir als zentralen Venendruck in das Protokoll auf. Das proximale Lumen des Swan-Ganz-Katheters befand sich dabei im rechten Atrium oder in der V. cava superior. Der mit diesem Lumen über den proximalen Injektionseingang verbundene Druckaufnehmer war in konstanter Höhe (10,5 cm) über dem Versuchstisch justiert, wobei diese Höhe dem Vorhofniveau des liegenden Hundes entspricht. Die Höhe des Druckaufnehmers über Tischniveau wurde vor jedem Versuch überprüft.

Mit Hilfe dieser direkt ermittelten Parameter wurden zusätzlich folgende Parameter berechnet.

- Systemischer Gefäßwiderstand (SVR)

Der SVR ergibt sich gemäß Gleichung 2 in der Einheit  $\text{dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}$ .

$$\text{SVR} = \frac{\text{MAP} - \text{ZVD}}{\text{HZV}} \cdot 80 \quad (\text{Gl. 2})$$

MAP = arterieller Mitteldruck [mmHg]

ZVD = zentraler Venendruck [mmHg]

HZV = Herzzeitvolumen [l/min]  
 80 = Korrekturfaktor zur Einheitenkonvertierung

- Pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR)

Der PVR berechnet sich nach Gl. 3 in der Einheit  $\text{dyn}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-5}$ .

$$\text{PVR} = \frac{\text{MPAP} - \text{PCWP}}{\text{HZV}} \cdot 80 \quad (\text{Gl. 3})$$

MPAP = mittlerer Pulmonalarteriendruck [mmHg]  
 PCWP = pulmonary capillary wedge pressure [mmHg]  
 HZV = Herzzeitvolumen [l/min]  
 80 = Korrekturfaktor zur Einheitenkonvertierung

- Schlagvolumen (SV) und Schlagvolumenindex (SVI)

SV und SVI lassen sich mit Hilfe von HZV, Herzzeitvolumenindex (HZVI) und HF berechnen (Gl. 4-6).

$$\text{SV} = \frac{\text{HZV}}{\text{HF}} \quad (\text{Gl. 4})$$

$$\text{SVI} = \frac{\text{HZVI}}{\text{HF}} \quad (\text{Gl. 5})$$

HZV = Herzzeitvolumen [l/min]  
 HZVI = Herzzeitvolumenindex [ $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ]  
 HF = Herzfrequenz [1/min]

$$\text{HZVI} = \frac{\text{HZV}}{\text{Körperoberfläche}} \quad (\text{Gl. 6})$$

$$\text{Körperoberfläche (Beagle)} = 0,0112 \cdot \sqrt{\text{KG}^3} \quad (\text{Gl. 7})$$

(Andersen & Schalm 1970)

### 2.6.4 Erfassung der hämodynamischen und respiratorischen Parameter

Die kontinuierlich registrierten hämodynamischen Parameter bestanden aus dem systolischen arteriellen Blutdruck (SAP), dem arteriellen Mitteldruck (MAP) und dem diastolischen arteriellen Blutdruck (DAP), der aus dem arteriellen Drucksignal abgeleiteten Herzfrequenz (HF), dem systolischen pulmonal-arteriellen Blutdruck (SPAP), dem mittleren Pulmonalarteriendruck (MPAP), dem diastolischen pulmonal-arteriellen Blutdruck (DPAP) und dem zentralen Venendruck (ZVD). Die Darstellung dieser Parameter erfolgte kontinuierlich auf einem Monitor (Danica, Dialogue 2000 Elektronik, DK) während der gesamten Dauer aller durchlaufenen Protokolle. Parallel dazu wurden diese Parameter als Mittelwerte alle 20 s auf einem Computer (Vectra 486 / 33 VL, Hewlett Packard, USA) gespeichert. An jedem Messzeitpunkt wurden die genannten Parameter am Monitor abgelesen und gesondert notiert. Unmittelbar danach wurden das HZV und der pulmonal-arterielle Okklusionsdruck wie oben beschrieben gemessen und aufgezeichnet.

Die aufgezeichneten respiratorischen Parameter bestanden aus Atemfrequenz, inspiratorischen und expiratorischen Tidalvolumen, Atemminutenvolumen, appliziertem PEEP, sowie dem endexpiratorischen CO<sub>2</sub>-Wert. Diese wurden ebenfalls auf dem Monitor (siehe oben) dargestellt, zusätzlich als Mittelwerte alle 20 s auf dem beschriebenen Computer gespeichert und an den festgelegten Messzeitpunkten gesondert notiert.

Aus den gespeicherten Daten wurden später 1, 5, 10, 20, 30, 60 min Mittelwerte berechnet, die der Verlaufskontrolle und der Überprüfung der an den Messzeitpunkten abgelesenen hämodynamischen und respiratorischen Werten dienen. Des Weiteren lagen die an den Messzeitpunkten aufgezeichneten Werte den Berechnungen der abgeleiteten Parameter (siehe oben) zugrunde.

### 2.6.5 Erfassung der Ausscheidungsparameter

#### a) Blasenkatheter

Die zur Erfassung des Harnzeitvolumens notwendige Blasenkatheterisierung erfolgte über einen Blasenkatheter (Norta<sup>®</sup> 16 Charrière Foley catheter, Beiersdorf AG, 20245 Hamburg, Deutschland).

#### b) Kreatinininfusion

Zur Quantifizierung des Glomerulumfiltrats diente die exogene Kreatininclearance. Nachdem das Kreatinin (FA. E. Merck, Darmstadt, Deutschland) in 50 ml einer 5 % Glucoselösung aufgelöst wurde, erhielten die Hunde ca. 45 min vor Versuchsbeginn in 30 min kontinuierlich über eine Infusionspumpe (Perfusor<sup>®</sup>, Secura FT, B. Braun, Melsungen, Deutschland) eine Kreatininsättigungsdosis von 1.4 g Kreatinin. (46.7 mg/min). Durch die anschließend kontinuierlich bis Versuchsende infundierte Erhaltungsdosis von 3,7 mg/min Kreatinin ergab sich ein auf 9 mg/dl angehobenes Niveau der Plasmakreatininkonzentration. Diese wurde während der Gesamtdauer des Versuches konstant gehalten. Die nun im folgenden stündlich gemessene Plasma- und Urinkreatininkonzentration diente der Berechnung der Kreatininclearance für den entsprechenden Zeitraum mittels der allgemeinen Clearanceformel gemäß Gleichung 9. Für jede der 60-minütigen Versuchsphasen wurde das Urinvolumen gemessen und als  $UV_{60}$  in das Protokoll aufgenommen. Außerdem wurden nach den beschriebenen Gleichungen die glomeruläre Filtrationsrate, die Urinausscheidungsrate, die Natrium- und Kaliumexkretion, die fraktionelle Natriumexkretion sowie die Exkretion und Clearance der Osmolyte bestimmt.

- Urinausscheidungsrate ( $U\dot{V}$ )

Die auf Körpergewicht und Zeit bezogene Urinausscheidungsrate besitzt die Einheit  $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

$$U\dot{V} = \frac{UV(T)}{KG \cdot T} \quad (\text{Gl. 8})$$

$UV(T)$  = Urinvolumen einer Sammelperiode mit der Dauer T [ml]

$KG$  = Körpergewicht [kg]

$T$  = Dauer einer Sammelperiode [min]

- Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)

Die Berechnung der GFR erfolgte unter Berücksichtigung der allgemeinen Clearanceformel mit der auf das Körpergewicht und die Zeit bezogenen

Urinausscheidungsrate. Die GFR trägt dann gemäß Gl. 9 die Einheit  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ .



$$\text{GFR} = C_{\text{KREA}} = \frac{U_{\text{KREA}} \cdot \text{UV}(\text{T})}{P_{\text{KREA}} \cdot \text{KG} \cdot \text{T}} = \frac{U_{\text{KREA}} \cdot \dot{U}\dot{V}}{P_{\text{KREA}}} \quad (\text{Gl. 9})$$

$C_{\text{KREA}}$  = Kreatininclearance [ml/min]

$U_{\text{KREA}}$  = Urinkreatininkonzentration [mg/dl]

$P_{\text{KREA}}$  = Plasmakreatininkonzentration [mg/dl]

$\dot{U}\dot{V}$ ,  $\text{UV}(\text{T})$ ,  $\text{T}$ ,  $\text{KG}$  siehe Gl. 8

- Natriumexkretionsrate ( $U_{\text{Na}} \dot{V}$ )

Die Berechnung der Natriumexkretionsrate [ $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ] erfolgte mit der folgenden Formel.

$$U_{\text{Na}} \dot{V} = \frac{U_{\text{Na}} \cdot \text{UV}(\text{T})}{\text{KG} \cdot \text{T}} = U_{\text{Na}} \cdot \dot{V} \quad (\text{Gl. 10})$$

- Kaliumexkretionsrate ( $U_{\text{K}} \dot{V}$ )

Ebenso berechnete sich die Kaliumexkretionsrate [ $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ].

$$U_{\text{K}} \dot{V} = \frac{U_{\text{K}} \cdot \text{UV}(\text{T})}{\text{KG} \cdot \text{T}} = U_{\text{K}} \cdot \dot{V} \quad (\text{Gl. 11})$$

- Fraktionelle Natriumexkretion ( $\text{FE}_{\text{Na}}\%$ )

Die fraktionelle Natriumexkretion gibt an, welcher Anteil der filtrierte Natriummenge ausgeschieden wird. Sie wird nach Gl. 12 berechnet.

$$FE_{Na} \% = \frac{U_{Na} \cdot \dot{V} \cdot 100}{P_{Na} \cdot GFR} \quad (\text{Gl. 12})$$

$P_{Na}$  = Plasma-Natriumkonzentration [mmol/l]

$U_{Na} \cdot \dot{V}$  nach Gl. 10

GFR nach Gl. 9.

## 2.6.6 Quantitative Laboranalytik

### Elektrolyte, Kreatinin, Osmolarität, Blutgasanalysen

Aus den Urin- und aus den durch Zentrifugation der heparinisierten arteriellen Blutproben gewonnenen Plasmaproben, wurden Natrium ( $U_{Na}$ ,  $P_{Na}$ ), Kalium ( $U_K$ ,  $P_K$ ), Kreatininwerte ( $U_{Krea}$ ,  $P_{Krea}$ ), sowie die Osmolarität ( $U_{Osmo}$ ,  $P_{Osmo}$ ) bestimmt. In separaten Blutproben aus dem Aortenkatheter (arteriell) und dem distalen Schenkel des Pulmonalarteriellenkatheters (gemischt-venös) wurden die Blutgase (BGA), Säure-Basen-Parameter und der Hb-Wert gesondert bestimmt.

### Natrium, Kalium

Mittels Flammenphotometer (ELEX 6361, Eppendorf GmbH, Hamburg, Deutschland) wurden die Natrium- und Kaliumkonzentration in Urin und Plasma bestimmt.

### Kreatinin

Die Jaffé-Reaktion wurde zur Bestimmung der Kreatininkonzentration genutzt. Bei diesem Testverfahren bildet Kreatinin mit Pikrat in stark alkalischer Lösung ein gelbrotes Addukt. Dabei ist die Bildungsgeschwindigkeit dieses Farbstoffs linear proportional zur Kreatininkonzentration in der Probe. Die Messung der Bildungsgeschwindigkeit des Farbstoffs erfolgt durch Messung der Extinktionszunahme bei 512 nm (photometrisch-kinetisches Testverfahren) (Creatinin Analyzer 2, Beckmann Instruments, Brea, CA, USA).

### Osmolarität

Nach dem Prinzip der Gefrierpunktniedrigung (Kryoskopie) wurde die Osmolarität der gewonnenen Proben mit einem Mikroosmometer bestimmt (Osmometer 2, Fa. Roebling, Berlin, Deutschland).

### Blutgasanalysen

Der arterielle und gemischt-venöse O<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>-Partialdruck sowie der pH-Wert wurden durch einen Blutgasanalysator (ABL 505, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) bestimmt, welcher auch das aktuelle- und Standardbikarbonat und den aktuellen- und Standard Base Exzess berechnete. Die O<sub>2</sub>-Sättigung und der Hämoglobinwert wurden spektrometrisch mit einem Hämoximeter (OSM 3, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) bestimmt, welches zuvor auf Hundeblut geeicht wurde.

## **2.7 Statistische Auswertung**

Die Kreislaufparameter wurden während des Experimentes auf einem PC (Vectra 486 / 33 VL, Hewlett Packard, USA) erfasst und gespeichert und mit dem Statistikprogrammen Number Cruncher Statistical Systems (NCSS 2004, Version 19. Mai 2006, Dr Jerry L Hintze, Kaysville, Utha, USA) ausgewertet. Es wurden zunächst mittels Varianzanalysen (GLM-ANOVA) die Mittelwerte der verschiedenen Versuchsperioden längs, d.h. über die Zeit, innerhalb eines jeden Protokolls und quer, d.h. zwischen zeitgleichen Versuchsperioden der fünf Versuchsprotokolle, untersucht. Als Folgetest bei signifikanten Unterschieden zwischen der Kontrollgruppe und der jeweiligen Interventionsgruppe wurde für den jeweiligen Parameter eine Folgeanalyse in Form des gepaarten Student t-Tests mit einer  $\alpha$ -Adjustierung in einer Variante der nach Schaffer modifizierten Holm-Bonferoni Prozedur durchgeführt (Schaffer 1986). Hierfür wurde für die globale Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,05$  festgelegt und für die Signifikanz  $p$  galt  $p < \alpha$ . In diesem Fall wurde die Nullhypothese verworfen.

Im Text und in den verwendeten Abbildungen wird, sofern nicht anders mitgeteilt, jeweils das arithmetische Mittel und der Standardfehler ( $\pm$  SEM) des Mittelwertes angegeben.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Blutgaswerte und Atemminutenvolumen

Der **arterielle Sauerstoffpartialdruck ( $P_aO_2$ )** sinkt in der Kontrollgruppe von  $94 \pm 2$  mmHg in der Normoxiephase auf  $35 \pm 1$  und  $36 \pm 1$  mm Hg in der Hypoxiephase I und II. Der  $P_aO_2$  ist in allen Gruppen in denen CA-Inhibitoren appliziert wurden, mit Ausnahme der BZ i.v. – Gruppe, während der Normoxiephase höher als in der Kontrollgruppe. In den Hypoxiephasen I und II existierten keine Unterschiede zwischen den Protokollen (Tabelle 3).

Der **arterielle Kohlendioxidpartialdruck ( $P_aCO_2$ )** in der Kontrollgruppe beträgt  $38 \pm 1$  mm Hg (Normoxie) und fällt auf  $31 \pm 1$  und  $29 \pm 1$  mm Hg während der Hypoxiephasen I und II. Mit Ausnahme der BZ i.v. – Gruppe ist das Niveau der gemessenen arteriellen Kohlendioxidpartialdrucke in allen Gruppen in denen CA-Inhibitoren appliziert wurden während der Normoxiephase niedriger als in der Kontrollgruppe (Tabelle 3). Mit Ausnahme der ETZ i.v. – Gruppe ist der  $P_aCO_2$  in den Hypoxiephasen I und II in allen Gruppen vergleichbar. In der ETZ i.v. – Gruppe ist der  $P_aCO_2$  in den Hypoxiephasen I und II niedriger im Vergleich zur Kontrollgruppe (Tabelle 3).

Tabelle 3: Blutgaswerte und Atemminutenvolumen, n=6: arterieller Sauerstoffpartialdruck ( $P_aO_2$ ); arterieller Kohlendioxidpartialdruck ( $P_aCO_2$ ) und Atemminutenvolumen (VE) während Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II;  $x \pm SEM$ , \*  $p < 0.05$  vs. Normoxie, †  $p < 0.05$  vs. Kontrolle

	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
	<b>Kontrolle</b>	$94 \pm 2$	$35 \pm 1^*$	$36 \pm 1^*$
$P_aO_2$	<b>ACZ i.v.</b>	$106 \pm 3^\dagger$	$37 \pm 1^*$	$39 \pm 1^*$
[mmHg]	<b>ACZ p.o.</b>	$108 \pm 2^\dagger$	$37 \pm 1^*$	$38 \pm 1^*$
	<b>BZ i.v.</b>	$96 \pm 1$	$37 \pm 1^*$	$38 \pm 1^*$
	<b>ETZ i.v.</b>	$105 \pm 1^\dagger$	$36 \pm 1^*$	$38 \pm 1^*$

Protokoll		Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
	<b>Kontrolle</b>	38 ± 1	31 ± 1*	29 ± 1*
<b>PaCO<sub>2</sub></b>	<b>ACZ i.v.</b>	34 ± 1 <sup>†</sup>	30 ± 1*	28 ± 1*
	<b>ACZ p.o.</b>	32 ± 1 <sup>†</sup>	29 ± 1*	27 ± 1*
	<b>BZ i.v.</b>	37 ± 1	30 ± 1*	29 ± 1*
	<b>ETZ i.v.</b>	33 ± 1 <sup>†</sup>	26 ± 1* <sup>†</sup>	24 ± 1* <sup>†</sup>
	<b>Kontrolle</b>	3.8 ± 0.4	5.7 ± 0.7	5.3 ± 0.7
<b>V<sub>E</sub></b>	<b>ACZ i.v.</b>	4.0 ± 0.3	5.8 ± 0.6	7.0 ± 0.6*
	<b>ACZ p.o.</b>	4.5 ± 0.3	5.9 ± 0.2*	6.1 ± 0.2*
	<b>BZ i.v.</b>	3.0 ± 0.2	4.4 ± 0.5	5.1 ± 0.6*
	<b>ETZ i.v.</b>	4.0 ± 0.2	6.4 ± 0.7	6.9 ± 0.9*

Der **pH Wert** der Kontrollgruppe ist in der ersten Versuchsstunde (Normoxie)  $7,39 \pm 0,01$  und steigt in den beiden Hypoxiestunden auf Werte von  $7,45 \pm 0,01$  und  $7,46 \pm 0,01$  an. In der ACZ i.v. – Gruppe veränderte sich der pH-Wert unter Hypoxie nicht. In allen weiteren Interventionsgruppen ist der pH niedriger als in der Kontrollgruppe. Nach der Hypoxiephase II gibt es keine Unterschiede im Niveau der arteriellen pH-Werte, jedoch steigt der pH-Wert, im Unterschied zu den anderen Gruppen, in der ACZ- und der ETZ i.v.- Gruppe nach der Hypoxiephase II im Vergleich zu Normoxiephase nicht an (siehe Tabelle 4).

Die **arterielle Sauerstoffsättigung ( $Hb_aO_2$ )** beträgt in der Kontrollgruppe  $95 \pm 1 \%$  in der Normoxiephase und unterscheidet sich damit nicht von den Werten der Normoxiephase aller Interventionsgruppen. In der Hypoxiestunde I und II sinkt die  $Hb_aO_2$  der Kontrollgruppe auf  $67 \pm 2 \%$  (I) und  $67 \pm 2 \%$  (II). Dieser Abfall der  $Hb_aO_2$  entspricht den Werten in allen Interventionsgruppen.

Die **aktuelle Bikarbonatkonzentration (ABC)** zeigt in der Kontrollgruppe in allen Versuchsstunden vergleichbare Werte von  $22,4 \pm 0,4$  mmol/l (Normoxie) und  $20,3 \pm 1,2$  mmol/l sowie  $20,0 \pm 1,1$  mmol/l während der Hypoxiephasen I und II. In der ACZ i.v. – Gruppe nimmt das ABC von  $20,9 \pm 0,6$  mmol/l während Normoxie auf  $19,0 \pm 0,4$  mmol/l (Hypoxie I) und  $17,5 \pm 0,5$  mmol/l (Hypoxie II) ab. In der ACZ oral – Gruppe liegt der Ausgangswert nach einer Stunde Normoxie unter dem der Kontrollgruppe ändert sich in den Hypoxiephasen I und II nicht. In der BZ i.v. – Gruppe ist das Standardbikarbonat nach der ersten Versuchsstunde ebenfalls niedriger als in der Kontrollgruppe und fällt in den beiden Hypoxiephasen. Während Normoxie ist das ABC in der ETZ i.v. – Gruppe niedriger als in der Kontrollgruppe und ändert sich im Verlauf nicht (Tabelle 4).

Die **aktuelle Basenabweichung (ABE)** liegt in der Kontrollgruppe während des gesamten Versuches im für Hunde physiologischen Referenzbereich. Dies gilt ebenfalls für die Werte in der ACZ i.v. Gruppe in der Normoxie- und der Hypoxiephase I (Tabelle 4), während es in der Hypoxiephase II auf einen Wert von  $-5,6 \pm 0,5$  mmol/l fällt. In der ACZ p.o.-, der BZ- und der ETZ Gruppe ist das ABE mit Werten zwischen  $-4,4 \pm 0,4$  und  $-7,2 \pm 0,6$  mmol/l niedriger als in der Kontrollgruppe und bleibt im Versuchsverlauf auf konstantem Niveau unterhalb der gemessenen Werte in der Kontrollgruppe.

Das **Atemminutenvolumen (VE)** beträgt in der Normoxiephase der Kontrollgruppe  $3,8 \pm 0,4$  l/min und den Hypoxiephasen I und II  $5,7 \pm 0,7$  und  $5,3 \pm 0,7$  l/min respektive. In allen Interventionsgruppen entspricht das AMV in der Normoxiephase dem Niveau der Kontrollgruppe und steigt nach der Hypoxiephase II an (siehe Tabelle 3).

Tabelle 4: Blutgaswerte und Atemminutenvolumen, n=6: arterieller pH-Wert (pH<sub>a</sub>); aktuelles Bikarbonat (ABC) und aktueller Basenüberschuß (ABE) während Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II;  $\bar{x} \pm \text{SEM}$ , \* p < 0.05 vs. Normoxie, † p < 0.05 vs. Kontrolle

	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
pH <sub>a</sub>	Kontrolle	7.39 ± 0.01	7.45 ± 0.01*	7.46 ± 0.01*
	ACZ i.v.	7.40 ± 0.01	7.42 ± 0.01	7.41 ± 0.01
	ACZ p.o.	7.34 ± 0.01 <sup>†</sup>	7.40 ± 0.01*	7.40 ± 0.01*
	BZ i.v.	7.35 ± 0.01 <sup>†</sup>	7.41 ± 0.01*	7.42 ± 0.01*
	ETZ i.v.	7.37 ± 0.01 <sup>†</sup>	7.41 ± 0.01	7.42 ± 0.01
	ABC	Kontrolle	22.4 ± 0.4	20.3 ± 1.2
[mmol/l]	ACZ i.v.	20.9 ± 0.6	19.0 ± 0.4*	17.5 ± 0.5*
	ACZ p.o.	17.1 ± 0.7 <sup>†</sup>	17.6 ± 0.6	16.9 ± 0.5
	BZ i.v.	20.1 ± 0.3 <sup>†</sup>	18.4 ± 0.3*	17.7 ± 0.4*
	ETZ i.v.	19.6 ± 0.6 <sup>†</sup>	18.1 ± 1.3	17.6 ± 1.3
	ABE	Kontrolle	-1.7 ± 0.4	-1.6 ± 0.6
[mmol/l]	ACZ i.v.	-3.1 ± 0.5	-4.0 ± 0.3	-5.6 ± 0.5*
	ACZ p.o.	-7.2 ± 0.6 <sup>†</sup>	-5.8 ± 0.4 <sup>†</sup>	-6.5 ± 0.4 <sup>†</sup>
	BZ i.v.	-4.4 ± 0.4 <sup>†</sup>	-4.4 ± 0.4	-4.9 ± 0.4
	ETZ i.v.	-5.3 ± 0.5 <sup>†</sup>	-6.2 ± 1.2 <sup>†</sup>	-6.7 ± 1.1 <sup>†</sup>

## 3.2 Hämodynamik

Die **Herzfrequenz (Hf)** bleibt in der Kontrollgruppe während der Versuchstunden konstant. Dies gilt auch für die Interventionsgruppen ACZ i.v., ACZ oral, BZ i.v. (siehe Tabelle 5). Nur in der ETZ i.v.-Gruppe steigt die HF von  $77 \pm 4$  S/min (Normoxie) auf  $104 \pm 6$  S/min (Hypoxie I) und  $106 \pm 4$  S/min (Hypoxie II) ( $p < 0.05$ ) unter Hypoxie an.

Der **mittlere arterielle Druck (MAP)** beträgt in der Normoxiephase der Kontrollgruppe  $99 \pm 3$  mm Hg und den Versuchstunden II und III  $113 \pm 6$  und  $112 \pm 7$  mmHg. In den Interventionsgruppen hat der MAP vergleichbare Werte bei Normoxie sowie in den Hypoxiephasen I und II (Tabelle 5). Somit kommt es in keiner Versuchsgruppe zu einer Änderung des MAP.

Der **zentralvenöse Druck (ZVD)** bleibt in der Kontrollgruppe in allen Versuchsphasen konstant. In allen Interventionsgruppen entspricht der ZVD dem Niveau der in der Kontrollgruppe gemessenen Werte zu allen Meßzeitpunkten. (siehe Tabelle 5).

Das **Herzzeitvolumen (CO)** beträgt in der Kontroll- sowie in den Interventionsgruppen unter Normoxie  $2.4 \pm 0.2$  -  $2.8 \pm 0.2$  l/min und unterscheidet sich nicht zwischen den Gruppen. In den Hypoxiephasen I und II verändert sich das CO nicht. Es bestehen keine Unterschiede des CO zwischen den Gruppen. (siehe Tabelle 5).

Der **systemische Gefäßwiderstand (SVR)** unterscheidet sich in der Normoxiephase in den vier Interventionsgruppen nicht von der Kontrollgruppe und bleibt in allen Gruppen in den Hypoxiephasen I und II unverändert (siehe Tabelle 5).

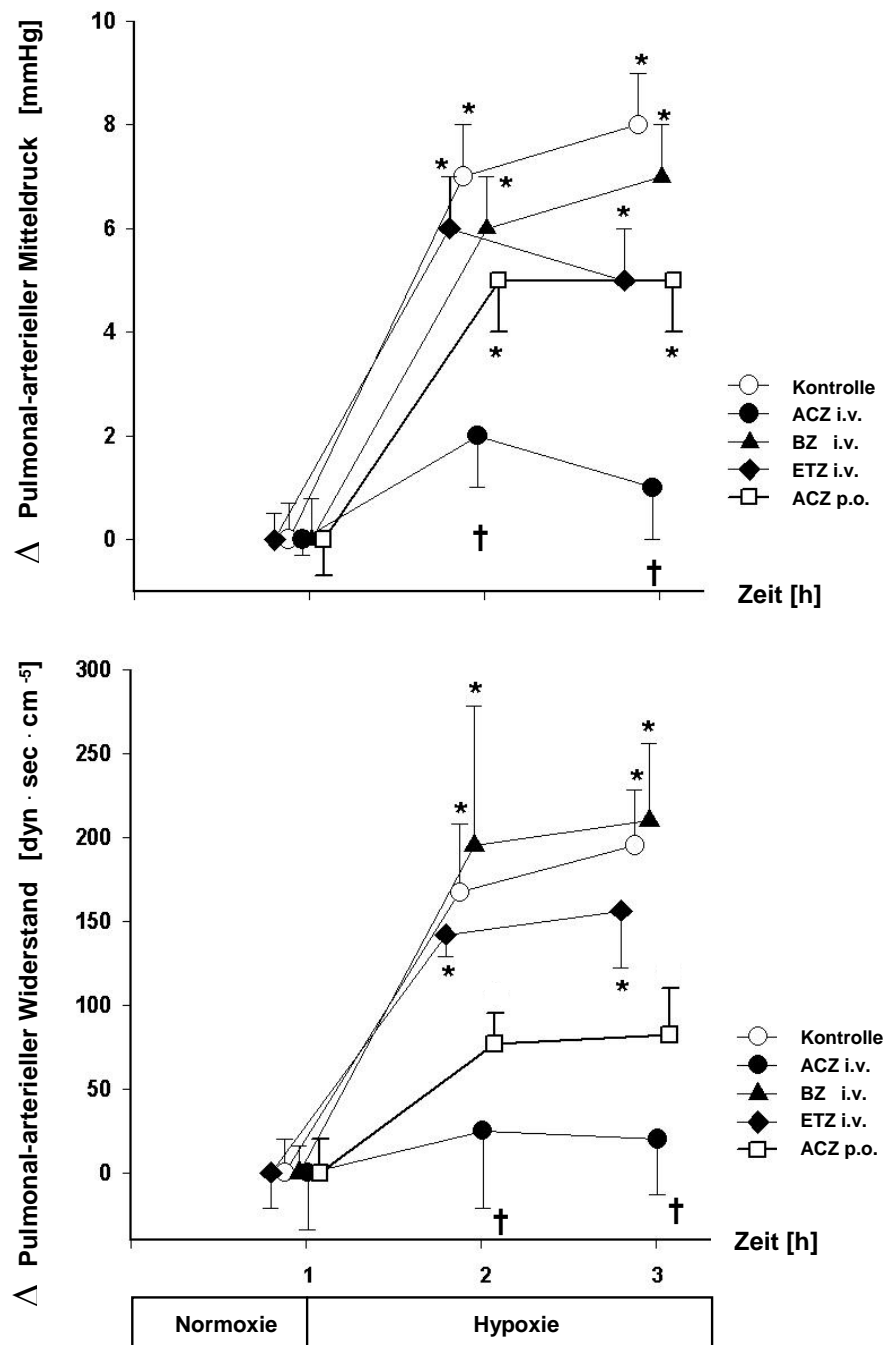
Der **mittlere pulmonal-arterielle Druck (MPAP)** steigt in der Kontrollgruppe von  $13 \pm 1$  mmHg (Normoxie) auf  $20 \pm 1$  mm Hg in der Hypoxiephase I und und bleibt bei  $21 \pm 1$  mmHg in der Hypoxiephase II ( $p < 0.05$ ). In der ACZ i.v.-Gruppe beträgt der PAPmean bei Normoxie  $14 \pm 0$  mmHg und bleibt in den Versuchstunden II und III unter hypoxischen Bedingungen mit Werten von  $15 \pm 1$  mm Hg (Hypoxie I) und  $14 \pm 1$  mm Hg (Hypoxie II) auf gleichem Niveau. Der MPAP der ACZ oral – Gruppe beträgt nach der Normoxiephase  $12 \pm 1$  mm Hg und  $17 \pm 1$  mm Hg bzw.  $17 \pm 2$  mm Hg in der Hypoxiephase I und II. In der BZ i.v. –



Gruppe ist der PAPmean nach Normoxie  $12 \pm 1$  mm Hg und steigt in den Hypoxiestunden I und II auf  $18 \pm 1$  mm Hg und  $19 \pm 1$  mm Hg an. In der der ETZ i.v. – Gruppe ist der PAPmean nach der Normoxiephase  $11 \pm 1$  mm Hg und steigt in den Hypoxiephasen I und II auf  $17 \pm 1$  mm Hg und  $16 \pm 1$  mm Hg an ( $p < 0.05$ ) (siehe Tabelle 5 und Abbildung 4).

Der **pulmonal-kapilläre Verschußdruck (PCWP)** bleibt in der Kontrollgruppe an allen Messzeitpunkten unverändert auf gleichem Niveau. Dies gilt ebenso für alle der vier Interventionsgruppen (Tabelle 5) und die hier gemessenen Werte für den PCWP unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt von denen der Kontrollgruppe.

Der **pulmonal-vaskuläre Widerstand (PVR)** steigt in der Kontrollgruppe von  $303 \pm 20$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> (Normoxie) auf  $470 \pm 39$  und  $498 \pm 33$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> (Hypoxie I und II) . In der ACZ i.v.- und der ACZ oral – Gruppe ist in den Hypoxiestunden I und II kein Anstieg des PVR im Vergleich zur Normoxie zu verzeichnen. Mit Werten von  $254 \pm 6$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> (Normoxie) und  $449 \pm 27$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> (Hypoxie I) und  $464 \pm 44$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> (Hypoxie II) ist in der BZ i.v.-Gruppe ein Anstieg des PVR in beiden Hypoxiestunden zu verzeichnen. Ebenso steigt der PVR in der ETZ i.v.-Gruppe in beiden Hypoxiestunden an. Er beträgt nach der ersten Versuchstunde  $221 \pm 21$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> und steigt in der Hypoxiephase I auf  $354 \pm 19$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> und in der Hypoxiephase II auf  $368 \pm 48$  dyn·s·cm<sup>-5</sup> an. In der Normoxiephase ist der PVR in dieser Gruppe niedriger als in der Kontrollgruppe zum selben Messzeitpunkt (siehe Tabelle 5 und Abbildung 5).



**Abbildung 4 und 5:  $\Delta$  Pulmonal-arterieller Mitteldruck [mmHg] und  $\Delta$  Pulmonal-arterieller Widerstand [dyn·s·cm<sup>-5</sup>]**

Abszisse = Zeit [h]; Ordinate oberer Graph =  $\Delta$  Pulmonal-arterieller Mitteldruck [mmHg] /  
 Ordinate unterer Graph =  $\Delta$  Pulmonal-arterieller Widerstand [dyn·s·cm<sup>-5</sup>]

Mittelwerte  $\pm$  SEM, \* p < 0,05 vs. Normoxie, † p < 0,05 vs. Kontrolle

Tabelle 5: Hämodynamik, n=6: Herzfrequenz (Hf), mittlerer arterieller Druck (MAP), Herzzeitvolumen (CO), systemischer Gefäßwiderstand (SVR), zentralvenöser Druck (ZVD), mittlerer pulmonal-arterieller Druck (MPAP), pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR), pulmonal-kapillärer Verschlussdruck (PCWP) während Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II;  $x \pm \text{SEM}$ , \*  $p < 0.05$  vs. Normoxie, †  $p < 0.05$  vs. Kontrolle

	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
	<b>Kontrolle</b>	82 ± 5	101 ± 8	102 ± 9
<b>Hf</b>	<b>ACZ i.v.</b>	70 ± 5	92 ± 9	98 ± 8
<b>[1/min]</b>	<b>ACZ p.o.</b>	78 ± 5	101 ± 9	103 ± 7
	<b>BZ i.v.</b>	73 ± 6	94 ± 10	90 ± 8
	<b>ETZ i.v.</b>	77 ± 4	104 ± 6*	106 ± 4*
	<b>Kontrolle</b>	99 ± 3	113 ± 6	112 ± 7
<b>MAP</b>	<b>ACZ i.v.</b>	97 ± 4	109 ± 7	111 ± 6
<b>[mmHg]</b>	<b>ACZ p.o.</b>	99 ± 1	110 ± 5	108 ± 7
	<b>BZ i.v.</b>	102 ± 5	109 ± 6	109 ± 9
	<b>ETZ i.v.</b>	96 ± 2	104 ± 7	101 ± 1

	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
CO [l/min]	Kontrolle	2.6 ± 0.1	3.0 ± 0.3	2.8 ± 0.2
	ACZ i.v.	2.4 ± 0.2	2.6 ± 0.2	2.4 ± 0.1
	ACZ p.o.	2.5 ± 0.2	2.8 ± 0.2	2.7 ± 0.3
	BZ i.v.	2.7 ± 0.2	2.6 ± 0.2	2.7 ± 0.2
	ETZ i.v.	2.8 ± 0.2	2.9 ± 0.2	2.9 ± 0.3
SVR [dyn·s·cm <sup>-5</sup> ]	Kontrolle	3039 ± 205	3106 ± 311	3200 ± 401
	ACZ i.v.	3347 ± 260	3348 ± 260	3675 ± 241
	ACZ p.o.	3301 ± 320	3238 ± 326	3270 ± 380
	BZ i.v.	3101 ± 376	3272 ± 113	3227 ± 83
	ETZ i.v.	2784 ± 200	2745 ± 154	3270 ± 380

	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
	<b>Kontrolle</b>	2.3 ± 0.4	1.8 ± 0.5	1.5 ± 0.6
ZVD	<b>ACZ i.v.</b>	1.8 ± 0.3	2.6 ± 0.6	1.8 ± 0.5
[cm H <sub>2</sub> O]	<b>ACZ p.o.</b>	2.0 ± 0.3	1.5 ± 0.2	1.3 ± 0.2
	<b>BZ i.v.</b>	1.8 ± 0.3	1.5 ± 0.2	1.2 ± 0.2
	<b>ETZ i.v.</b>	2.3 ± 0.2	2.5 ± 0.2	2.5 ± 0.2
	<b>Kontrolle</b>	13 ± 1	20 ± 1*	21 ± 1*
MPAP	<b>ACZ i.v.</b>	14 ± 0	15 ± 1 <sup>†</sup>	14 ± 1 <sup>†</sup>
[mmHg]	<b>ACZ p.o.</b>	12 ± 1	17 ± 1	17 ± 2*
	<b>BZ i.v.</b>	12 ± 1	18 ± 1*	19 ± 1*
	<b>ETZ i.v.</b>	11 ± 1	17 ± 1*	16 ± 1*
	<b>Kontrolle</b>	303 ± 20	470 ± 39*	498 ± 33*
PVR	<b>ACZ i.v.</b>	347 ± 34	373 ± 39	367 ± 34
[dyn·s·cm <sup>-5</sup> ]	<b>ACZ p.o.</b>	272 ± 20	349 ± 30	355 ± 42
	<b>BZ i.v.</b>	254 ± 6	449 ± 27*	464 ± 44*
	<b>ETZ i.v.</b>	221 ± 21 <sup>†</sup>	354 ± 19*	368 ± 48*

	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
	Kontrolle	3.3 ± 0.7	2.8 ± 0.2	3.5 ± 0.6
PCWP	ACZ i.v.	3.5 ± 0.6	3.5 ± 0.3	3.3 ± 0.2
[mmHg]	ACZ p.o.	3.5 ± 0.3	3.3 ± 0.3	3.6 ± 0.4
	BZ i.v.	3.2 ± 0.2	3.2 ± 0.4	3.8 ± 0.3
	ETZ i.v.	3.8 ± 0.2	4.0 ± 0.5	3.5 ± 0.3

### 3.3 Renale Exkretion und Plasmaelektrolyte

Die **Urinausscheidung** ( $U\dot{V}$ ) (Tabelle 6) ändert sich in der Kontrollgruppe nach zwei Stunden Hypoxie nicht. In allen Interventionsgruppen ist das Harnvolumen in der Normoxiephase größer als in der Kontrollgruppe. In der ACZ i.v. – Gruppe ist das Harnvolumen in den Hypoxiephasen I ( $161 \pm 22 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) und II ( $71 \pm 10 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) größer als in der Kontrollgruppe. In allen anderen Interventionsgruppen unterscheidet sich das Harnvolumen während Hypoxie nicht von der Kontrollgruppe, weist aber besonders nach der Hypoxiephase I, einen Trend zu höheren Werten auf.

Die **Natriumexkretion** ( $U_{\text{Na}}\dot{V}$ ) bleibt in der Kontrollgruppe über alle Versuchsphasen konstant. In den Interventionsgruppen, ausgenommen der ACZ oral – Gruppe, ist die  $U_{\text{Na}}\dot{V}$  nach der Hypoxiephase II größer als in der Kontrollgruppe (Tabelle 6).

Auch die **fraktionelle Natriumexkretion** ( $\text{FE}_{\text{Na}}\%$ ) bleibt in der Kontrollgruppe über alle Versuchsphasen konstant. In den Interventionsgruppen, wiederum mit Ausnahme der ACZ oral – Gruppe, ist die  $\text{FE}_{\text{Na}}$  nach der Hypoxiephase I und II größer als in der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 6).

Die **glomeruläre Filtrationsrate (GFR)** ist nach der Normoxiephase mit Ausnahme der ACZ i.v – Gruppe in den Interventionsgruppen kleiner als in der Kontrollgruppe. Diese Differenz in der Größe der GFR zwischen den Gruppen bleibt während der Hypoxieexposition bestehen, während das Niveau der gemessenen Werten innerhalb der Gruppen konstant ist (siehe Tabelle 6).

Die **Kaliumexkretion ( $U_K \dot{V}$ )** ist mit  $0.4 \pm 0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Normoxie),  $0.4 \pm 0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Hypoxie I) und  $0.3 \pm 0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Hypoxie II) in der Kontrollgruppe über die gesamte Versuchsdauer konstant. In allen Interventionsgruppen ist die  $U_K \dot{V}$  in der Normoxiephase größer als in der Kontrolle. Dieser Unterschied bleibt, mit Ausnahme der ACZ oral-Gruppe, über die gesamte Versuchsdauer erhalten (siehe Tabelle 6).

Die **Plasmanatriumkonzentration ( $P_{Na}$ )** ändert sich sowohl in der Kontrollgruppe als auch in den vier Interventionsgruppen während der gesamten Versuchsdauer nicht und liegt in allen Gruppen auf vergleichbarem Niveau (siehe Tabelle 6).

Die **Plasmakaliumkonzentration ( $P_k$ )** beträgt in der Kontrollgruppe nach der Normoxiephase  $3.5 \pm 0.1 \text{ mmol/l}$  und nach der Hypoxiephase I  $3.2 \pm 0.1 \text{ mmol/l}$ . Sie beträgt nach der zweiten Hypoxiestunden ebenfalls  $3.2 \pm 0.1 \text{ mmol/l}$  und liegt statistisch nur nach dieser Versuchsphase unterhalb der in der Normoxiephase gemessenen Werte. In allen Interventionsgruppen ist die Plasmakaliumkonzentration in der Normoxiephase geringer als in der Kontrollgruppe zu gleichem Messzeitpunkt. (siehe Tabelle 6). Während sie in der ACZ i.v.- und der B.Z. i.v.-Gruppe in den Hypoxiephasen I und II auf im Vergleich zur Kontrollgruppe konstant niedrigeren Niveau bleibt, fällt sie in der ETZ i.v. Gruppe nach der Hypoxiephase I und II weiter ab. In der ACZ p.o. ist der gemessene Wert der  $P_k$  nur nach der Hypoxiephase I mit  $2.9 \pm 0.1 \text{ mmol/l}$  niedriger als in der Kontrollgruppe. Bei gleichem Absolutwert ist dieser Unterschied nach der Hypoxiephase II nicht mehr signifikant.

Tabelle 6: Renale Exkretion und Plasmaelektrolyte. n=6: Urinausscheidung ( $U\dot{V}$ ); Natriumexkretion ( $U_{Na}\dot{V}$ ); Kaliumexkretion ( $U_K\dot{V}$ ); glomeruläre Filtrationsrate (GFR); Plasmanatriumkonzentration ( $P_{Na}$ ); Plasmakaliumkonzentration ( $P_K$ ) und fraktionale Natriumexkretion ( $FE_{Na}\%$ ) während Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II;  $x \pm SEM$ , \*  $p < 0.05$  vs. Normoxie, †  $p < 0.05$  vs. Kontrolle

	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
$U\dot{V}$	Kontrolle	27 ± 6	56 ± 16	24 ± 6
	ACZ i.v.	99 ± 13 <sup>†</sup>	161 ± 22 <sup>†</sup>	71 ± 10 <sup>†</sup>
	ACZ p.o.	57 ± 11 <sup>†</sup>	83 ± 24	48 ± 11
	BZ i.v.	66 ± 7 <sup>†</sup>	104 ± 23	65 ± 15
	ETZ i.v.	52 ± 9 <sup>†</sup>	72 ± 22	45 ± 6
$U_{Na}\dot{V}$	Kontrolle	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
	ACZ i.v.	3.9 ± 0.6 <sup>†</sup>	4.1 ± 0.6 <sup>†</sup>	4.1 ± 0.7 <sup>†</sup>
	ACZ p.o.	1.8 ± 0.5	1.6 ± 0.3	1.3 ± 0.1
	BZ i.v.	4.0 ± 0.8 <sup>†</sup>	3.6 ± 0.6 <sup>†</sup>	3.3 ± 0.5 <sup>†</sup>
	ETZ i.v.	2.8 ± 0.5	3.6 ± 0.4 <sup>†</sup>	4.1 ± 0.5 <sup>†</sup>



	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
	<b>Kontrolle</b>	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1
$U_K \dot{V}$	<b>ACZ i.v.</b>	3.5 ± 0.5 <sup>†</sup>	3.3 ± 0.5 <sup>†</sup>	3.2 ± 0.5 <sup>†</sup>
$\mu\text{mol/min/kg}$	<b>ACZ p.o.</b>	1.6 ± 0.2 <sup>†</sup>	1.6 ± 0.3	1.6 ± 0.4
	<b>BZ i.v.</b>	4.0 ± 0.6 <sup>†</sup>	3.2 ± 0.6 <sup>†</sup>	3.4 ± 0.7 <sup>†</sup>
	<b>ETZ i.v.</b>	2.9 ± 0.1 <sup>†</sup>	3.3 ± 0.4 <sup>†</sup>	3.5 ± 0.4 <sup>†</sup>
	<b>Kontrolle</b>	3.9 ± 0.2	4.0 ± 0.1	3.7 ± 0.1
<b>GFR</b>	<b>ACZ i.v.</b>	3.4 ± 0.1	3.3 ± 0.1	3.4 ± 0.2
$\text{ml/min/kg}$	<b>ACZ p.o.</b>	3.1 ± 0.2 <sup>†</sup>	3.4 ± 0.3 <sup>†</sup>	3.3 ± 0.2 <sup>†</sup>
	<b>BZ i.v.</b>	2.9 ± 0.2 <sup>†</sup>	3.0 ± 0.2 <sup>†</sup>	3.2 ± 0.2 <sup>†</sup>
	<b>ETZ i.v.</b>	3.2 ± 0.2 <sup>†</sup>	3.1 ± 0.2 <sup>†</sup>	3.2 ± 0.2 <sup>†</sup>
	<b>Kontrolle</b>	142 ± 2	139 ± 1	140 ± 1
$P_{\text{Na}}$	<b>ACZ i.v.</b>	137 ± 2	140 ± 2	139 ± 1
$\text{mmol/l}$	<b>ACZ p.o.</b>	137 ± 2	137 ± 2	138 ± 2
	<b>BZ i.v.</b>	143 ± 2	142 ± 1	141 ± 1
	<b>ETZ i.v.</b>	139 ± 2	138 ± 2	140 ± 1

	Protokoll	Normoxie	Hypoxie I	Hypoxie II
	<b>Kontrolle</b>	3,5 ± 0,1	3,2 ± 0,1	3,2 ± 0,1*
<b>P<sub>K</sub></b>	<b>ACZ i.v.</b>	3,0 ± 0,1 <sup>†</sup>	2,8 ± 0,1 <sup>†</sup>	2,8 ± 0,1 <sup>†</sup>
<b>mmol/l</b>	<b>ACZ p.o.</b>	2,9 ± 0,1 <sup>†</sup>	2,9 ± 0,1 <sup>†</sup>	2,9 ± 0,1
	<b>BZ i.v.</b>	3,0 ± 0,1 <sup>†</sup>	2,9 ± 0,1 <sup>†</sup>	2,8 ± 0,1 <sup>†</sup>
	<b>ETZ i.v.</b>	3,1 ± 0,1 <sup>†</sup>	2,8 ± 0,1* <sup>†</sup>	2,7 ± 0,1* <sup>†</sup>
	<b>Kontrolle</b>	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01
<b>FE<sub>Na</sub></b>	<b>ACZ i.v.</b>	0,84 ± 0,13 <sup>†</sup>	0,9 ± 0,12 <sup>†</sup>	0,88 ± 0,14 <sup>†</sup>
<b>%</b>	<b>ACZ p.o.</b>	0,41 ± 0,09	0,35 ± 0,06	0,28 ± 0,24
	<b>BZ i.v.</b>	1,08 ± 0,1 <sup>†</sup>	0,92 ± 0,22 <sup>†</sup>	0,73 ± 0,07 <sup>†</sup>
	<b>ETZ i.v.</b>	0,62 ± 0,1	0,82 ± 0,01 <sup>†</sup>	0,88 ± 0,01 <sup>†</sup>

### 3.4 Acetazolamidplasmaspiegel

Bei zwei Hunden wurde der Verlauf der Acetazolamid-Plasmakonzentration exemplarisch gemessen (je einem aus der ACZ i.v. und aus der ACZ oral – Gruppe). Nach der Normoxiephase beträgt die Acetazolamid-Plasmakonzentration bei Hund Tapsi aus der ACZ oral – Gruppe  $4.65 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$  und bleibt nach der Hypoxiephasen II konstant ( $4.35 \pm 0.75 \mu\text{g/ml}$ ). Bei Hund Urmel aus der ACZ i.v.-Gruppe wurde eine Acetazolamid-Plasmakonzentration von  $5.3 \pm 0.6 \mu\text{g/ml}$  nach der Normoxiephase gemessen. Nach der Hypoxiephase II beträgt die Acetazolamid-Plasmakonzentration dieses Hundes  $7.4 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$ .

## **4 Diskussion**

### **4.1 Ziel dieser Arbeit**

In der vorliegenden Arbeit wurde die Hypothese geprüft, ob eine niedrig dosierte intravenöse Gabe von Acetazolamid in der Lage, ist den Anstieg des PAP und des PVR während akuter Hypoxie bei wachen, spontan atmenden Hunden zu verhindern. Des Weiteren wurde untersucht, ob eine orale Einnahme von Acetazolamid, wie sie in der Praxis von Bergsteigern zur Prävention der Bergkrankheit verwendet wird, einen vergleichbaren Effekt wie die intravenöse Gabe auf den pulmonal-arteriellen Druck und Widerstand während akuter Hypoxie hat. Um weiterhin zu differenzieren, ob die Wirkung von Acetazolamid in der Prävention der HPV ein Effekt der intra- oder extrazellulären Hemmung der Carboanhydrase ist, wurden in zwei weiteren Versuchsprotokollen die CA-Inhibitoren Benzolamid und Ethoxzolamid intravenös appliziert.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, dass die niedrigdosierte intravenöse Gabe von Acetazolamid ebenfalls effektiv die HPV inhibiert. Die orale Einnahme von ACZ führt zu einer Reduktion des pulmonal-arteriellen Drucks und Widerstandes während akuter alveolärer Hypoxie. Die selektive extrazelluläre CA Inhibition (Benzolamid) sowie die starke intrazellulärer CA Inhibition durch Ethoxzolamid haben keinen Einfluss auf die Ausprägung der HPV. Dies deutet darauf hin, dass die Prävention der HPV durch Acetazolamid unabhängig von der Inhibition des Enzyms Carboanhydrase ist.

### **4.2 Methodenkritik**

#### **4.2.1 Wache Hunde**

Die hier vorgelegte Untersuchung wurde an wachen Hunden durchgeführt, da nur am wachen, spontan atmenden und nicht sedierten Tier die vegetativen und hormonellen Regelkreisläufe unbeeinflusst von potentiellen Störfaktoren wie Allgemeinanästhesie, positiver Druckbeatmung und chirurgischen Stimuli bleiben. Es ist bekannt, dass Allgemeinanästhesie ein großes Spektrum an Effekten auf das Herz-, Kreislaufsystem, die Nierenfunktion und hormonelle Regulationsmechanismen aufweist.

Auch der Hauptfokus der hier vorgestellten Studie, die hypoxische pulmonale Vasokonstriktion, wird durch Allgemeinanästhesie und positive Druckbeatmung beeinflusst (aktuelle Übersicht bei Nagendran J et al. 2006). So führt Propofol, ein zur Narkoseeinleitung

und Aufrechterhaltung verwendetes Medikament, bei Hunden zu einer Potenzierung der HPV während Narkose (Nakayama et al. 1999), während es in Dosierungen zwischen 6-12 mg/kg/h keinen Einfluss auf die HPV bei Menschen ausübt (Van Keer et al. 1989). Isofluran, ein Inhalationsanästhetikum, inhibiert die HPV bei Hunden (Benumof et al. 1975) und Hasen (Groh et al. 1994). Während positive Druckbeatmung die HPV bei Hunden verstärken kann (Hall et al. 1985), inhibiert PEEP die HPV bei Hunden während maschineller Beatmung (Lejeune et al. 1991). Die Interpretation der für die vorliegende Studie wichtigen hämodynamischen, respiratorischen und renalen Daten würde durch die Einflüsse von Narkose und mechanischer Beatmung erheblich erschwert. Zusätzlich könnten auch die Auswirkungen einer Inhibition der Carboanhydrase durch diese Interventionen fehleingeschätzt werden, da den Tieren, z.B durch kontrollierte Beatmung, die Möglichkeit der Ventilationsadaptation fehlen würde. Dies gilt auch für die ventilatorische Antwort auf den hypoxischen Stimulus.

Andererseits erfordert die Verwendung wacher Tiere ein hohes Maß an Training der Tiere und Gewöhnung an die Versuchssituation und die beteiligten Mitarbeiter/innen. Die Instrumentierung der Tiere und der Versuch stellen auch unter optimalen Bedingungen einen nicht unerheblichen Stressfaktor dar und könnte interindividuelle Schwankungen der gemessenen Parameter erklären. Für stressarme Versuchsbedingungen in dieser Studie spricht die Tatsache, dass die gemessenen Kontrollwerte bekannter Indikatoren für Sympathikusstress (z.B. Herzfrequenz, Katecholaminplasmaspiegel) mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen aus unserem Labor vergleichbar sind (Höhne et al. 2004; Francis et al. 2004).

#### **4.2.2 Standardisierte Diät**

Der Großteil der vorliegenden Studien zur hypoxischen pulmonalen Vasokonstriktion beschreibt die alimentäre Zufuhr von z.B. Natrium und Wasser nicht. Dies trotz der Tatsache, dass die Regulation des Salz-Wasser Haushaltes und der daran beteiligten Hormone vom aktuellen Natrium- und Wasserbestand abhängig ist. Diesbezüglich ist eine standardisierte Diät Grundvoraussetzung zur Erhebung vergleichbarer und reproduzierbarer Daten. So ist bekannt, dass sich die Plasma-Reninaktivität (PRA) durch eine natriumarme Diät bei Hunden im Vergleich zu einer Vorerfütterung mit „normalem“ Natriumgehalt um den Faktor zwei bis drei erhöht (Kaczmarczyk et al. 1986) und alveoläre Hypoxie zu einer Adenosin vermittelten Abnahme der PRA-Spiegel bei wachen Hunden führt (Krebs et al. 1999; Höhne et al. 2001).

Die für diese Untersuchung gewählte mittlere Natrium- und Wasserzufuhr (siehe Absatz 2.2) gewährleistet vor Versuchsbeginn eine gleichartige Stimulation des Renin-Angiotensin Systems (RAS) und antidiuretischen Hormons (ADH).

### 4.2.3 Atemmaske

Im Gegensatz zu frühen Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe atmeten die Tiere während der gesamten Versuchsdauer über eine dichtsitzende Atemmaske am Respirator. Diese wurde im Rahmen der Promotion als eigenständige Konzeption entworfen und in Zusammenarbeit mit einem Feinmechaniker (Hr. Dannenberg) aus dem Technischen Servicezentrum des CVK der Charité realisiert. Dies diente dem in der Arbeitsgruppe angestrebten „refinement“, also der ständigen Verbesserung der tierexperimentellen Methodik. Hierbei zeigte sich im Alltag, dass die Implementierung der Atemmaske ein mehr an Training der Tiere erforderlich machte um diese an die Versuchsbedingungen zu gewöhnen. Positiv war die Vermeidung des chirurgischen Stresses durch die Tracheotomie und die damit verbundenen Komplikationen (z.B. Infektionen).

Prinzipiell besteht bei Verwendung einer solchen Maske die Möglichkeit, dass diese nicht dicht gegenüber der Umwelt abschließt und es so zu einer Vermischung der applizierten Atemgasgemische mit denen der Umwelt kommt. Die in dieser Studie zum Erreichen einer vordefinierten arteriellen Sauerstoffspannung notwendige Reduktion der inspiratorischen Sauerstofffraktion ist vergleichbar mit vorangehenden Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe bei tracheotomierten Hunden. Dies deutet darauf hin, dass die potentiellen Undichtigkeiten durch die Atemmaske zu vernachlässigen sind. Zusätzlich besteht die Möglichkeit der CO<sub>2</sub>-Rückatmung. Dieser Möglichkeit wurde zum einen durch Verkürzung des Totraumvolumens der Maske (Anpassung der Maske an die individuelle Länge der Hundeschnauze), als auch durch Messung der ex- und inspiratorischen CO<sub>2</sub> Konzentration Rechnung getragen. Des Weiteren entsprachen die gemessenen arteriellen und gemischt-venösen CO<sub>2</sub> Partialdrucke (bei vergleichbaren Körpergewichten, gleicher Ernährung und vergleichbaren respiratorischen Parametern) während der Normoxiephasen, den in der Literatur als physiologisch beschriebenen Werten von Hunden (Cornelius et al. 1981) (Kaczmarczyk et al. 1993).

#### 4.2.4 Inhibition der Carboanhydrase mittels Acetazolamid, Ethoxzolamid und Benzolamid

Die in den Interventionsversuchen applizierten Dosierungen wurden in Anlehnung an die in der Literatur beschriebenen Dosis-Wirkungsbeziehungen der verabreichten Substanzen gewählt. Da die vormals applizierte i.v. Acetazolamiddosierung von  $10 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  zu einer kombinierten metabolischen und respiratorischen Azidose geführt hatte, wurde die hier applizierte i.v. Dosierung (siehe Abschnitt 2.6.2) mit  $2 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  gewählt. Diese Dosierung führt zu keiner Inhibition des Isoenzym Typ II der Carboanhydrase der Erythrozyten, und erlaubt die vollständige  $\text{CO}_2$  Bildung aus  $\text{HCO}_3^-$  (Travis et al. 1964). Andererseits reicht diese Dosis aus, die renalen Isoenzyme und die membranständige Carboanhydrase (IV) am Gefäßendothel der Lunge zu inhibieren (Swenson 2000). Selbiges gilt für die gewählte Dosierung des Carboanhydrasehemmers Benzolamid.

Repräsentative Messungen der Acetazolamidplasm Spiegel wurden (wie in 3.5 erläutert) bei zwei individuellen Hunden durchgeführt und ergaben für die orale Gabe während der Hypoxiephasen niedrigere ACZ Plasmaspiegel im Vergleich zur intravenösen Applikation. Die Auswirkungen dieser Tatsache werden detailliert in Abschnitt 4.3.1. diskutiert. Das gewählte Dosierungsschema der oralen ACZ Applikation entsprach den von Bergsteigern zur Prävention der AMS gewählten Zeitintervallen und Dosierungen. Für Studien, die den Einfluss oral eingenommenen Acetazolamids auf die Ausprägung der HPV untersuchen, ist dieses Dosierungsschema daher kritisch zu überdenken.

Bei der Substanz Ethoxzolamid handelt es sich um einen im Vergleich zu ACZ 5-10 mal stärkerer CA-Inhibitor ( $K_i$  Wert  $0.7 \times 10^9$ ) (Travis et al. 1964). Diese Substanz kann bei gleicher Dosierung aufgrund ihrer hohen Lipophilie zu stärkeren Säure-Basen Veränderungen im zentralen Nervensystem und damit im Vergleich zu den anderen applizierten Carboanhydrasehemmern zu einer stärkeren Hyperventilation führen (Maren et al. 1977). Eine Dosisreduktion auf  $1 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  war daher bei diesem Carboanhydraseinhibitor unabdingbar, um zu vergleichbaren Ergebnissen hinsichtlich der Carboanhydraseinhibition und der daraus resultierenden Veränderungen der gemessenen Parameter zu gelangen (Maren 1977).

## **4.3 Hämodynamik**

### **4.3.1 Hypoxische pulmonale Vasokonstriktion**

In dieser Arbeit stehen die Einflüsse unterschiedlicher Carboanhydraseinhibitoren auf die Ausprägung der hypoxischen pulmonale Vasokonstriktion bei wachen Hunden im Zentrum der Diskussion.

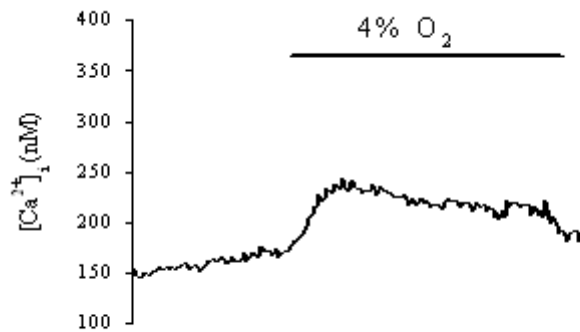
In der Kontrollgruppe steigen der MPAP und der PVR während akuter Hypoxie an (siehe Abbildung 4 und 5 und Tabelle 5). Dies ist in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe (Höhne et al. 2004; Höhne et al. 2001) und vielen Studien an Menschen und Tieren (Aaronson et al. 2006; Moudgil et al. 2005; Hillier et al. 1997). Den primären Stimulus für die Ausbildung der HPV stellt der Sauerstoffpartialdruck im alveolären Gasgemisch dar (Dumas et al. 1999). Der daraus resultierende Abfall des Sauerstoffpartialdrucks in den pulmonal-arteriellen Gefäßmuskeln bedingt die Inhibition spannungsgesteuerter Kaliumkanäle bei Tieren (Pozeg et al. 2003) und Menschen (Archer et al. 2004). Daraus folgt über unterschiedliche Mechanismen ein Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration (Post et al. 1992; Dipp et al. 2001) und die Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur und pulmonale Vasokonstriktion. Diesen physiologischen Grundlagen entspricht der Anstieg des MPAP und des PVR nach Hypoxieinduktion in der Kontrollgruppe dieser Untersuchung.

In einer vorangehenden Studie unserer Arbeitsgruppe inhibierte die intravenöse Gabe von  $10 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  i.v. ACZ die HPV bei wachen Hunden vollständig. Bei dieser Dosierung wird das Enzym Carboanhydrase ubiquitär inhibiert, was über einen erhöhten  $\text{pCO}_2$  zu einer Zunahme der alveolären Ventilation führt. Im Rahmen dieser Untersuchung konnte durch Anpassung der  $\text{F}_i\text{O}_2$  jedoch eine durch Acetazolamid induzierte Hyperventilation und damit höhere alveoläre Sauerstoffpartialdrucke als Ursache für die Prävention der HPV ausgeschlossen werden (Höhne et al. 2004). Die in der vorliegenden Untersuchung um 80% reduzierte Acetazolamiddosierung ( $2 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  i.v.) führte unter vergleichbaren Versuchsbedingungen ebenfalls zu einer Inhibition der HPV. Dem entspricht die Tatsache, dass in der ACZ i.v.-Gruppe während der Hypoxiephasen I und II der MPAP und der PVR nicht ansteigen. Hierbei ist festzuhalten, dass in dieser Gruppe während der Hypoxiephasen das Herzzeitvolumen nicht ansteigt, was rein rechnerisch auch bei Änderungen des MPAP einen niedrigeren PVR ermöglichen würde (siehe Formel 3).

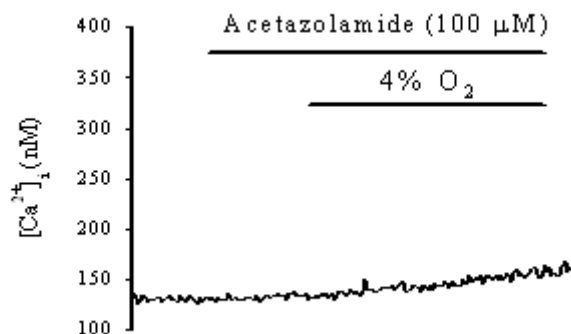
In Übereinstimmung mit den hier erhobenen Daten konnten Teppema et al. zeigen, daß ACZ auch beim Menschen zu einer 57% Reduktion des maximalen Druckgradienten über der Trikuspidaklappe (als Index des pulmonal-vaskulären Widerstandes) während akuter isobarer isokapnischer Hypoxie führt (Teppema et al. 2007). Die in ihrer Studie verwendeten Acetazolamid-Dosierung (3x 250mg ACZ p.o./diem über 3 Tage) lag damit um 250 mg/diem über der von Bergsteigern häufig verwendeten Dosierung vor dem Aufstieg. Die in unserer Untersuchung applizierte ACZ p.o.-Dosis entsprach den aktuellen Empfehlungen zur Prävention der AMS (5mg/kgKG 8 und 1 h vor dem Aufstieg in große Höhe / hier: vor Versuchsbeginn). In der ACZ p.o.-Gruppe stieg der MPAP nach der Hypoxiephase II an, während er nach der Hypoxiephase I noch knapp unterhalb des Signifikanzniveaus für einen Anstieg lag. Der PVR stieg in dieser Gruppe während der Hypoxiephasen I und II nicht an. Der geringere Einfluss auf die Ausprägung der HPV und den MPAP ist wahrscheinlich dem im Vergleich zur i.v.-Applikation niedrigeren ACZ-Plasmaspiegeln zuzuschreiben ( $4.35 \pm 0.75$  vs.  $7.4 \pm 0.2$  µg/ml). Zusätzlich wiesen die Tiere dieser Gruppe eine im Vergleich zu allen anderen CA-inhibierten Gruppen stärkere metabolische Azidose durch die verlängerte renale Einwirkzeit des ACZ und den daraus resultierenden renalen Bikarbonatverlust auf (siehe Abschnitt 4.4 der Diskussion). Eine metabolische Azidose wirkt bei Hunden und bei Menschen verstärkend auf die HPV (Lejeune et al. 1990) und es ist möglich dass diese Tatsache hier zur Verminderung des Effektes von ACZ auf die HPV beigetragen hat.

Bestätigt werden die Ergebnisse unserer aktuellen Studie ebenfalls durch Untersuchungen an Ratten aus dem Labor von Larissa Shimoda (persönliche Kommunikation und Shimoda et al. 2007). In einem etablierten Modell an isolierten, glatten pulmonalen Gefäßmuskelzellen konnte diese Arbeitsgruppe zeigen, dass es unter hypoxischen Bedingungen zu einem Anstieg des intrazellulären Kalziums in diesen Zellen kommt und dass dieser Anstieg durch die Zugabe des Carboanhydrasehemmers Acetazolamid dosisabhängig aufgehoben werden kann.





**Abbildung 6:** Effekt von Hypoxie auf die intrazelluläre Kalziumkonzentration an glatten Gefäßmuskelzellen der Lunge (L. Shimoda, Baltimore)



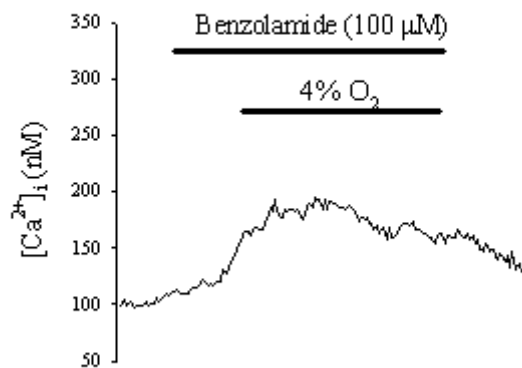
**Abbildung 7:** Effekt von Hypoxie und Zugabe von Acetazolamid auf die intrazelluläre Kalziumkonzentration an glatten Gefäßmuskelzellen der Lunge (L. Shimoda, Baltimore)

In ihrer Studie konnten Shimoda und Mitarbeiter einen Einfluss von ACZ auf das Ruhemembranpotential, intrazelluläre pH-Wert Veränderungen, langsam öffnende Kalziumkanäle (L-type  $Ca^{2+}$  channels) oder eine Aktivierung der Rho-Kinase als zugrunde liegenden Wirkmechanismus für die Prävention der HPV ausschließen. Denkbar wären auch Einflüsse von ACZ bzw. der Inhibition der CA auf die Freisetzung vasoaktiver Substanzen aus dem pulmonal-vaskulären Endothel. Einwirkungen auf die  $Ca^{2+}$  Freisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum, ebenso wie eine Beeinflussung sauerstoffsensitiver Kanäle in der Zellmembran oder Einflüsse auf die Produktion freier Sauerstoffradikale während Hypoxie sind bis heute nicht abschließend untersucht worden. Aktuelle Untersuchungen

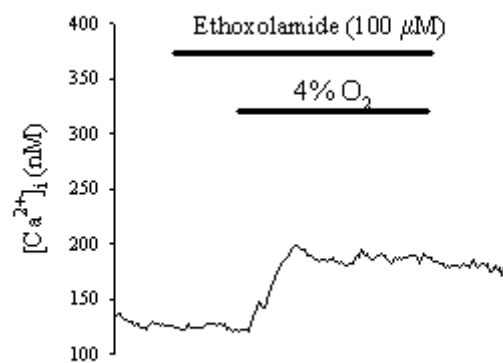
unserer Arbeitsgruppe nehmen sich letzterer Fragestellung in einem Folgeprojekt an. Hierbei muß klargestellt werden, daß sich in dem integrativ physiologischen Ansatz unserer Untersuchungen im Wachtiermodell zelluläre Wirkmechanismen nicht abschließend beantworten lassen.

Wie beschrieben, hemmt Acetazolamid die Isoenzyme der Carboanhydrase sowohl intra- als auch extrazellulär. Die alleinige, niedrig-dosierte Gabe von ACZ ist daher nicht in der Lage ausreichend zu differenzieren, ob die Wirkung von ACZ in der Prävention der HPV möglicherweise ein Effekt der intra- oder extrazellulären Hemmung der CA ist. Daher wurde in dieser Untersuchung Benzolamid verwendet, ein Carboanhydrasehemmer mit einer niedrigen Permeabilität über die Zellmembran, um selektiv die extrazelluläre, membranständige Carboanhydrase (Isoenzym Typ IV) am Gefäßendothel zu hemmen. In dieser Interventionsgruppe stieg der MPAP und PVR der Tiere während der Hypoxiephasen I und II an (siehe Abbildung 4 und 5 sowie Tabelle 5). Dies schließt eine extrazelluläre Inhibition der Isoenzyme der CA als ursächlichen Wirkmechanismus aus, läßt aber die Möglichkeit einer intrazellulären Carboanhydraseinhibition als Wirkprinzip von ACZ in der Prävention der HPV offen. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde der hoch lipophile Carboanhydrasehemmer Ethoxzolamid in einer weiteren Interventionsgruppe appliziert. Dieser Wirkstoff permeiert wie beschrieben hervorragend über Zellmembranen und hemmt die intrazellulären Isoenzyme der Carboanhydrase. Ebenso wie Benzolamid inhibiert auch Ethoxzolamid in dieser Untersuchung die HPV nicht. Dies spricht gegen eine intrazelluläre CA Inhibition als ursächliches Wirkprinzip.

Auch hier werden die in dieser Untersuchung erhobenen Daten hinsichtlich der Wirkung von BZ und ETZ auf den pulmonal-arteriellen Tonus während Hypoxie durch die Untersuchungen an isolierten PASMC aus dem Labor von Dr Shimoda bestätigt. Hier waren weder BZ noch ETZ in der Lage dem durch Hypoxie induzierten Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration vorzubeugen (siehe Abbildung 8 und 9).



**Abbildung 8:** Effekt von Hypoxie und Zugabe von Benzolamid auf die intrazelluläre Kalziumkonzentration an glatten Gefäßmuskelzellen der Lunge (L. Shimoda, Baltimore)



**Abbildung 9:** Effekt von Hypoxie und Zugabe von Ethoxzolamid auf die intrazelluläre Kalziumkonzentration an glatten Gefäßmuskelzellen der Lunge (L. Shimoda, Baltimore)

Im Unterschied zu ACZ und BZ reduzierte Ethoxzolamid in unserer Untersuchung jedoch den PVR während der Normoxiephase. Zu Teilen ist dieser errechnete niedrigere PVR in der Normoxiephase auch durch einen Trend zu höheren Werten für das gemessene HZV und den PCWP zu diesen Meßzeitpunkten zu erklären, da diese Werte zwei von insgesamt drei in die Berechnung des PVR integrierten Parametern repräsentieren. Dieses rein rechnerische Phänomen erklärt die Tatsache eines niedrigeren normoxischen PVR in dieser Gruppe aber nicht hinreichend. Zusätzlich lagen jedoch in dieser Gruppe auch die gemessenen Werte für den SVR unter denen der anderen Interventionsgruppen während Normoxie (siehe Tabelle 5).

Dies legt die Vermutung nahe, dass sich die Ethoxzolamid inhibierten Tiere im Meßzeitraum in einer - im Vergleich zur Kontroll- und den Interventionsgruppen - hyperdynamen Kreislaufsituation befanden. Dieser Zustand könnte zum Beispiel durch eine stärkere neuronale CA-Inhibition und daraus resultierender stärkerer zentralnervöser respiratorischer Azidose durch Ethoxzolamid induziert sein (Ether-Löslichkoeffizient von ETZ = 140 und hoher Penetranz über die Blut-Hirn-Schranke / Maren 1977). Eine Verminderung der zentralnervösen pH-Wertes kann zu einer verstärkten Aktivierung des Sympathikusaktivität und konsekutiv hyperdynamer Kreislaufsituation führen. Unabhängig von einer möglichen zentralnervösen Wirkung gibt es in der Literatur auch Hinweise auf eine direkte Wirkung von ETZ auf die systemische Gefäßmuskulatur. Pickkers et al. konnten in Untersuchungen an Widerstandsgefäßen der Mesenterialarterien von Meerschweinchen zeigen, daß ETZ den Tonus dieser Gefäße 10 x stärker als Benzolamid und 100 x stärker als Acetazolamid herabsetzt (Pickkers et al. 1999). Hinsichtlich der Ergebnisse für die pulmonale Hämodynamik unterscheiden sich unsere Daten jedoch in einem anderen Aspekt erheblich von den durch Pickkers und Mitarbeiter erhobenen Daten. In ihrer Studie war die Fähigkeit der verwendeten CA Inhibitoren ACZ, BZ und ETZ die präkonstringierten mesenterialen Widerstandsgefäße zu relaxieren proportional zu Ihrer Wirkstärke auf die Carboanhydrase (ETZ > BZ > ACZ). Dies spricht für eine Rolle der Carboanhydrase bei der Regulation des Tonus systemischer Widerstandsgefäße. Im Gegensatz hierzu unterliegt der Einfluss der verwendeten CA Inhibitoren auf die HPV keinem durch die Wirkstärke der Substanzen auf die CA erklärbaren Verteilungsmuster.

Aus den hier erhobenen Daten und der zum Thema vorliegenden Literatur kann geschlussfolgert werden, dass der Einfluss von Acetazolamid auf den pulmonal-vaskulären Druck und Widerstand während akuter alveolärer Hypoxie unabhängig von der Funktion der Carboanhydraseinhibition dieser Substanz ist. Weiterhin erscheint es möglich, dass die Wirkung des Acetazolamids auf die HPV auf der molekularen Struktur des Pharmakons beruht. Zur Überprüfung dieser Hypothese applizieren wir derzeit in ersten Versuchen ein inaktiviertes Strukturanalogon des Acetazolamid (L-Methyl-Acetazolamid = LMA). Dafür wird das Acetazolamidmolekül pharmakologisch verändert (in den  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ -Anteil des Pharmakons wird eine Methylgruppe eingefügt), so dass dieses Medikament seine Wirkung als Carboanhydrasehemmer verliert, die Reststruktur der Ausgangssubstanz jedoch bestehen bleibt.

### 4.3.2 Systemische Zirkulation

Die gemessenen hämodynamischen Parameter Herzfrequenz, mittlerer arterieller Blutdruck, Herzzeitvolumen und systemischer vaskulärer Widerstand waren in allen Versuchsprotokollen während der Normoxiephasen vergleichbar (siehe Tabelle 5 und Abbildung 4). Die Änderungen dieser Parameter in den Hypoxiephasen in der Kontrollgruppe und in den Interventionsgruppen sind vergleichbar mit den Werten aus Voruntersuchungen unserer Arbeitsgruppe (Höhne et al. 2004; Höhne et al. 2001), obgleich sie in der aktuellen Untersuchung zwar einen Trend zu höheren Werten aufweisen, aber nicht das statistisch festgelegte Signifikanzniveau erreichen. Dies kann Ausdruck der in dieser Untersuchung im Vergleich zu den Voruntersuchungen reduzierten Anzahl der Versuchstiere in den Versuchsgruppen (hier:  $n=6$ , vormals  $n=10$  bzw.  $8$  Tiere). Die absoluten Werte der genannten Parameter und ihre Änderungen im Vergleich zwischen Normoxie und Hypoxiephasen entsprechen aber den Ergebnissen der vorangehenden Untersuchungen im selben Tiermodell. Einzig in der Ethoxzolid i.v.- Gruppe kommt es in den Hypoxiephasen zu einem signifikanten Anstieg der HF und dies ist möglicherweise wiederum Ausdruck der in dieser Interventionsgruppe im Vergleich zu allen anderen Gruppen, gesteigerten zentralnervösen Aktivierung der Sympathikusaktivität und daraus resultierender hyperdynamer Kreislaufsituation. Aus der Literatur ist aber bekannt, daß akute Hypoxie zu einem Anstieg des HZV und der Herzfrequenz führt und durch eine gesteigerte sympathische Aktivität durch Stimulation peripherer Chemorezeptoren bedingt ist (s. Review Bärtzsch et al. 2007; Koller et al. 1988). Die gesteigerte Aktivität des sympathoadrenergen Systems führt bei längerem Aufenthalt in Gebieten mit herabgesetztem Sauerstoffpartialdruck ebenfalls zu einem Anstieg des systemischen arteriellen Blutdrucks. Während akuter Hypoxie wird dieser Mechanismus oft durch eine hypoxische Vasodilatation der systemischen Gefäße aufgehoben und dieser funktionelle Antagonismus führt zu einem während akuter Hypoxie unveränderten mittleren arteriellen Blutdruck (Bärtzsch et al. 2007). Dies erklärt in Teilen den unveränderten MAP und SVR in unserer Untersuchung während akuter Hypoxie. Andererseits ist aus Untersuchungen an Hunden bekannt, daß die Blutdruckänderung während Hypoxie auch durch den Grad der Hypoxämie beeinflusst werden. Liang und Gavras (1978) sowie Walker (1982) konnten zeigen, dass bei Hunden mit einem  $P_{aO_2}$  von 30-35 mmHg der Blutdruck als Reaktion auf die induzierte Hypoxämie ansteigt (Liang et al. 1978; Walker 1982).

Des Weiteren deuten die in allen Protokollen unveränderten Werte des HZV, SVR, des zentralvenösen Drucks (ZVD) und des pulmonal-kapillären Verschlußdrucks (PCWP) darauf

hin, dass es während der Untersuchungen durch die Inhibition der Carboanhydrase nicht zu einer signifikanten Volumendepletion der Tiere gekommen ist.

#### **4.4 Ventilation, Blutgase und Säure-Basen Haushalt**

Während Normoxie entsprachen die in der Kontrollgruppe gemessenen Werte für das Atemminutenvolumen und die in der Blutgasanalyse gemessenen Partialdrucke ( $P_aO_2$ ,  $P_aCO_2$ ) und Parameter des Säure-Basen Haushaltes ( $pH_a$ , aktuelles Bikarbonat und aktueller Baseexcess) den für Hunde etablierten Normwerten. Im Gegensatz zum Menschen haben wache Beagle Hunde einen physiologischen  $P_aCO_2$  von etwa 30 - 35 mmHg (Cornelius et al. 1981; Kaczmarczyk et al. 1993) und nach dem 1976 von S. Emuakpor etablierten Säure-Basen Nomogramm für Hundeblood einen normalen BE im Bereich von +5 bis -5 mmol/l (Emuakpor et al. 1976). Akute Hypoxie führt in der Kontrollgruppe zu einer Steigerung des Atemzugvolumens (AZV) und der Atemfrequenz (Af) und daraus folgend auch des AMV um 35% gegenüber Normoxie. Dieser durch die Hypoxie induzierten Hyperventilation entsprach in der Blutgasanalyse das Bild einer akuten respiratorischen Alkalose (siehe Tabelle 4).

Während der Normoxiephase waren in der ACZ (i.v. und p.o.) und der Ethoxzolamid-Gruppe die Werte des  $P_aO_2$  und das AMV höher und die des  $P_aCO_2$  niedriger als in der Kontrollgruppe. Dies entspricht der in der Literatur beschriebenen Zunahme der Ventilation durch Inhibition der Carboanhydrase beim Menschen (Swenson et al. 1978) und Hunden (Höhne et al. 2004). Diese Wirkung ist prinzipiell durch die aus der renalen CA Inhibition resultierenden metabolischen Azidose und der daraus folgenden Stimulation peripherer und zentraler Chemorezeptoren zu erklären (Swenson 1998). Zusätzlich besteht ein gesteigerter Kohlendioxidpartialdruck im Gewebe durch Hemmung der Umwandlung von  $CO_2$  zu Bikarbonat (siehe Abschnitt 1.2.4). Im Gehirn stimuliert dieser Mechanismus in den für den Atemantrieb und die Ventilationskontrolle verantwortlichen Strukturen die Steigerung der Ventilation (Swenson und Hughes, 1993; Swenson et al. 1993). Dies ist wahrscheinlich der zu Versuchsbeginn prädominante Mechanismus, über den es in den CA inhibierten Gruppen zu gegenüber der Kontrollgruppe erhöhten Werten des  $P_aO_2$  gekommen ist, da es zu diesem Messzeitpunkt aufgrund der kurzen Einwirkdauer nicht zur Ausbildung einer metabolische Azidose und den daraus folgenden Änderung der Ventilation gekommen ist (siehe Tabelle 3). Diese Hypothese wird durch die Tatsache gestützt, dass der extrazellulär wirkende CA Inhibitor BZ, der aufgrund seiner geringeren Membranpermeabilität und seiner hohen

Hydrophilie schlecht in zentralnervöse Strukturen permeiert, in der Normoxiephase als einziger CA Inhibitor nicht zu höheren  $P_{aO_2}$ -Werten und den korrespondierenden Ventilations-, Blut- Gas- und pH-Wertänderungen geführt hat. (Tabelle 3). Dem entspricht, dass nur in der BZ Gruppe zum Erreichen vergleichbarer Werte des  $P_{aO_2}$  keine Reduktion der  $F_iO_2$  unter 0.1 in den Hypoxiephasen I und II notwendig war.

Die Reduktion der ACZ-Dosis von  $10 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  i.v. auf  $2 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  i.v. resultiert im Vergleich zu den Voruntersuchungen in einer Reduktion der ACZ induzierten Veränderungen des Säure-Basen-Haushaltes. Die ist Ausdruck der bekannten dosisabhängigen Einwirkungen von ACZ auf den Säure-Basen-Haushalt beim Hund (Höhne et al. 2004) und beim Menschen (Maren 1967). Durch die hochdosierte Acetazolamidgabe wurde in der Voruntersuchung bei sonst gleichen Versuchsbedingungen durch die Hemmung der renalen CA eine starke metabolische Azidose induziert. Gleichzeitig kam es durch die Hemmung der CA in den Erythrozyten und im Lungengewebe zu einer respiratorischen Azidose und es wäre möglich, dass diese systemischen pH-Wertveränderungen die Ausprägung der HPV beeinflusst haben. In der aktuellen Untersuchung kommt es nicht zur Entwicklung dieser kombinierten metabolisch-respiratorischen Azidose (siehe Tabelle 3) bei ansonsten vergleichbaren Effekten auf die Ausprägung der HPV. In Übereinstimmung hiermit führte ACZ auch in Untersuchungen von Deem et al. an isolierten Lungen von Hasen, in der es der methodische Ansatz erlaubte, den Effekt von ACZ auf die HPV ohne Änderungen des pH-Wertes im Perfusat zu untersuchen, zu einer Reduktion der HPV während alveolärer Hypoxie. (Deem et al. 2000). Zusätzlich kam es in der aktuellen Untersuchung auch durch die anderen Carboanhydrasehemmer zu vergleichbaren oder sogar stärkeren Einwirkungen auf den arteriellen pH-Wert, jedoch ohne Einfluss auf die Ausprägung der HPV (siehe Tabellen 4 und 5 sowie Abbildung 4 und 5). Dies widerspricht einer ursächlichen Beteiligung der systemischen pH-Wertveränderungen an der Inhibition der HPV durch ACZ.

Abgesehen von den fehlenden Einflüssen der beiden anderen CA Inhibitoren Ethoxzolamid und Benzolamid auf die HPV, führten diese beiden Substanzen zu den für CA Inhibitoren typischen Effekten auf den Säure-Basen-Haushalt. Dies spiegelt sich in den niedrigeren Werten für die aktuellen Bikarbonatkonzentration und die aktuelle Basenabweichung während der Normoxie- und der Hypoxiephasen wider. Dies sind bekannte Effekte der Carboanhydraseinhibition infolge der Steigerung der renalen Bikarbonatausscheidung und zeigen die Wirksamkeit dieser beiden Substanzen als Carboanhydraseinhibitoren (Swenson 2000; Travis et al. 1964).

#### **4.5 Plasmaelektrolyte und Veränderungen der renalen Exkretion**

In unserer Untersuchung steigt im Beobachtungszeitraum weder das Harnvolumen noch die Natriumausscheidung oder die fraktionelle Natriumexkretion (als Maß für die tubuläre Natriumresorption) in der Kontrollgruppe während Hypoxie an. Aus zahlreichen Studien an Menschen und Tieren ist aber bekannt, dass Sauerstoffmangel zu einer Zunahme des Harnvolumens und der Natriumausscheidung führen kann (Sundstrom 2006; Leaf und Goldfarb 2007). Obwohl die zugrundeliegenden Mechanismen für diese sogenannte „Höhendiurese“ bzw. „Höhennatriurese“ derzeit noch unklar sind, scheint der mit der Reduktion des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens verbundene Anstieg des Hämatokrits und der Sauerstofftransportkapazität von Vorteil zu sein. Umgekehrt sind das Höhenlungen- und das Höhenhirnödem oft mit einer verstärkten Abnahme der Diurese beim Aufenthalt in großer Höhe assoziiert (Leaf und Goldfarb 2007). Die bis heute vorliegende Literatur liefert Hinweise auf eine Aktivierung peripherer Chemorezeptoren an der Karotisbifurkation als physiologische Grundlage der beschriebenen Höhendiurese (Honig A 1989). In Voruntersuchungen im selben Tiermodell unserer Arbeitsgruppe zum Einfluss von Adenosinrezeptorblockern auf die Plasminogenaktivität bei akuter Hypoxie konnte die in der Literatur beschriebene Zunahme der Natriumausscheidung ebenfalls nicht gezeigt werden, während es in der damaligen Untersuchung zu einem Anstieg des Harnzeitvolumens bei alveolärer Hypoxie im Sinne einer Höhendiurese kam. In der genannten Voruntersuchung zum Einfluß von ACZ auf die HPV wurde ebenfalls ein Anstieg des Harnzeitvolumens gemessen. In dieser Studie betrug die Dauer der Experimente jedoch fünf Stunden und ein Anstieg der Natriumausscheidung war erst in den Hypoxiestunden VI und V zu verzeichnen. Beide Effekte scheinen mit der Dauer der Hypoxie assoziiert zu sein und auch bei Menschen großen interindividuellen Schwankungen zu unterliegen. Es kann also zum einem möglich sein, dass der hier gewählte Beobachtungszeitraum nicht ausreicht um den Anstieg des Harnzeitvolumens und der Natriurese aufzuzeichnen. Zum anderen ist aus der Literatur bekannt, daß bei einer Reduktion der  $F_{iO_2}$  auf Werte um 0.1 das Harnzeitvolumen und die Natriumausscheidung auf in etwa normoxischen Werten verbleiben, während eine weitere Reduktion der  $F_{iO_2}$  sogar zum Rückgang der Wasser- und Natriumausscheidung führt (Swenson in Hornbein und Schoene 2001).

In allen Protokollen in denen Carboanhydraseinhibitoren appliziert wurden, war das Urinvolumen in der Normoxiephase größer als in der Kontrollgruppe und lag auch in den Hypoxiephasen I und II um das zwei- bis dreifache über den Werten der Kontrollgruppe.



Zusammen mit der in diesen Gruppen größeren Natrium- und Kaliumausscheidung im Urin ist dies eine typische Wirkung der CA-Inhibition. Durch die Inhibition der renalen Isoenzyme kommt es hierbei zur verstärkten Ausscheidung des Anions Bikarbonat, was aus Gründen der Elektroneutralität auch zur verstärkten Ausscheidung der Kationen Kalium und Natrium und zu einem alkalischen Urin führt (Karow und Lang-Roth 2004). Hierbei sind die etwas niedrigeren Ausscheidungsraten für diese Elektrolyte in der ACZ p.o. Gruppe zum einen durch die niedrigeren ACZ Plasmaspiegel im Vergleich zur ACZ i.v. Gruppe zu erklären. Andererseits ist es möglich, daß die niedrigeren Ausscheidungsraten 12 Stunden nach Einnahme der ersten ACZ Dosis in dieser Gruppe Ausdruck gegenregulatorischer Mechanismen darstellen, um die körpereigenen Natrium- und Kaliumbestände aufrecht zu erhalten. Da wir in dieser Untersuchung weder den Natrium- oder Kaliumbestand, noch die Bikarbonatkonzentration im Urin der Tiere gemessen haben, können wir über diese auch keine Aussagen treffen.

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) nahm in der ACZ p.o., ETZ- und BZ i.v. Gruppe in den Versuchstunden II und III ab. Dies ist ein unter CA-Inhibition häufiger zu beobachtendes Phänomen, dessen zugrunde liegende Mechanismen nicht abschließend geklärt sind (Leyssac et al. 1991).

## 5 Zusammenfassung

Der akute Anstieg des pulmonal-arteriellen Drucks und pulmonal-vaskulären Widerstandes kann beim Aufenthalt in großer Höhe zum lebensbedrohlichen Krankheitsbild des Höhenlungenödems (HAPE) führen. Der dem Anstieg des pulmonal-arteriellen Drucks und Widerstandes zugrunde liegende Euler-Liljestrand Mechanismus (HPV) spielt aber auch in der Pathophysiologie einer Vielzahl von anderen Krankheitsbildern die mit lokoregionärer alveolärer Hypoxie assoziiert sind, wie z.B. dem ARDS, eine wichtige Rolle. Hierbei führt die Umverteilung des Blutflusses aus hypoxischen Arealen der Lunge in besser ventilerte Bereiche (im Sinne einer Optimierung der Ventilations-Perfusions-Verhältnisse) zu einer Verbesserung der Oxygenierung.

In einem vorangegangenen Projekt unserer Arbeitsgruppe zur HPV konnte nachgewiesen werden, dass die hochdosierte ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) kontinuierliche intravenöse Gabe von ACZ während akuter Hypoxie ( $F_{\text{I}}\text{O}_2 = 0.1$ ) den Anstieg des PAP und des PVR verhindert (Höhne et al. 2004). Eine gesteigerte Ventilation, wie sie durch Carboanhydrasehemmer induziert wird, konnte dabei als Ursache für diesen Effekt ausgeschlossen werden.

Die Ergebnisse der hier vorgelegten Untersuchungen zeigen, dass auch die niedrigdosierte ( $2 \text{ mg} \cdot \text{kgKG}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) intravenöse Gabe von Acetazolamid effektiv die HPV inhibiert. Hierbei konnten die induzierten systemischen pH-Wertveränderungen als zugrundeliegender Wirkmechanismus ausgeschlossen werden. Um weiterhin zu differenzieren, ob die Wirkung von ACZ in der Prävention der HPV ein Effekt der intra- oder extrazellulären Hemmung des Enzymes Carboanhydrase ist, wurden in zwei weiteren Versuchsprotokollen die CA-Inhibitoren Benzolamid und Ethoxzolamid intravenös appliziert. Es konnte gezeigt werden, daß die intrazelluläre CA Inhibition (Ethoxzolamid) sowie die selektive extrazelluläre CA-Inhibition durch Benzolamid keinen Einfluss auf die Ausprägung der HPV bei wachen, nicht sedierten und spontan atmenden Hunden hat. Dies deutet darauf hin, dass die Prävention der HPV durch Acetazolamid unabhängig von der Inhibition des Enzyms Carboanhydrase ist. Angesichts aktueller Untersuchungen an PASMC, die diese Ergebnisse auf zellulärer Ebene bestätigen, spricht dies für einen noch nicht abschließend identifizierten molekularen Wirkmechanismus von Acetazolamid, wahrscheinlich auf der Ebene der pulmonal-arteriellen Myozyten. Aktuelle Folgeuntersuchungen unserer Arbeitsgruppe widmen sich dieser Fragestellung durch Einsatz eines modifizierten Acetazolamidmoleküls. In diesem Molekül ist eines der terminalen Wasserstoffatome der für die Inhibition der CA Inhibition

verantwortlichen  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ -Gruppe des Originalmoleküls durch eine Methylgruppe ersetzt. Hierdurch bleiben die grundlegenden architektonischen und chemischen Eigenschaften, wie z.B. die Molekülgröße, die heterozyklische Ringstruktur, der pKa Wert und die intramolekulare Ladungsverteilung des Originalmoleküls erhalten, jedoch bei gleichzeitigem Verlust der Fähigkeit die Carboanhydrase zu inhibieren.

Des Weiteren wurde in der vorgelegten Arbeit untersucht, ob eine orale Einnahme von Acetazolamid, wie sie in der Praxis von Bergsteigern zur Prävention der Bergkrankheit verwendet wird, einen vergleichbaren Effekt wie die intravenöse Gabe auf den pulmonal-arteriellen Druck und Widerstand während akuter Hypoxie hat. Die erhobenen Daten zeigen, daß auch die orale Einnahme von ACZ zu einer Reduktion des pulmonal-arteriellen Drucks und Widerstandes während akuter alveolärer Hypoxie führt. Allerdings ist dieser Effekt im Vergleich zur intravenösen Gabe nur abgeschwächt vorhanden. Dies ist vermutlich auf niedrigere Plasmaspiegel der Substanz nach oraler Gabe zurückzuführen und spricht für eine dosisabhängige Wirkung von Acetazolamid bei der Inhibition der hypoxischen pulmonalen Vasokonstriktion. Mit neuen Untersuchungen von Teppema und Mitarbeitern, die eine 57% Reduktion des maximalen Druckgradienten über der Trikuspidaklappe (als Index des pulmonal-vaskulären Widerstands) durch ACZ während akuter Hypoxie bei Menschen nachweisen konnten, ergeben sich hieraus erstmals solide Hinweise für künftige klinische Untersuchungen zur möglichen Prävention des Höhenlungenödems durch Acetazolamid (Teppema et al. 2007). Hierbei wäre die hier gezeigte dosisabhängige Wirkbeziehung auf den PAP und PVR streng zu beachten. Es ist möglich, daß die zur Inhibition der HPV beim Menschen notwendigen ACZ-Plasmaspiegel, durch die aus der CA-Inhibition resultierenden Nebenwirkungen, limitierend auf den Einsatz von Acetazolamid zur Prävention des HAPE wirken. Auch hinsichtlich dieser möglichen Limitationen des Originalmoleküls ist es für zukünftige Untersuchungen von hohem Interesse das modifizierte Acetazolamidmolekül zu applizieren. Bei möglicherweise gleichen Effekten auf den pulmonal-arteriellen Druck und Widerstand ergäben sich hieraus auch Indikationen für den Einsatz in der Therapie anderer Formen des pulmonal-arteriellen Hypertonus.

## 6 Literaturverzeichnis

- Aaronson, P. I., Robertson, T. P., Knock, G. A., Becker, S., Lewis, T. H., Snetkov, V., Ward, J. P. T.** (2006). Hypoxic pulmonary vasoconstriction: mechanisms and controversies. *J Physiol* 570: 53-58.
- Archer, S. L., Huang, J., Henry, T., Peterson, D., Weir, E. K.** (1993). A redox-based O<sub>2</sub> sensor in rat pulmonary vasculature. *Circ Res* 73: 1100-1112.
- Archer, S. L., Huang, J. M., Reeve, H. L., Hampl, V., Tolarova, S., Michelakis, E., Weir, E. K.** (1996). Differential distribution of electrophysiologically distinct myocytes in conduit and resistance arteries determine their response to nitric oxide and hypoxia. *Circ Res* 78:431-442.
- Archer, S. L., Wu, X. C., Thebaud, B., et al.** (2004). Preferential expression and function of voltage gated, O<sub>2</sub> sensitive K<sup>+</sup> channels in resistance pulmonary arteries explains regional heterogeneity in hypoxic pulmonary vasoconstriction: ionic diversity in smooth muscle cells. *Circ. Res.* 95: 308-318.
- Bärtsch, P., Gibbs, S. R.** (2007). Effect of altitude on the heart and the lungs. *Circulation* 116: 2191-2202.
- Bärtsch, P., Merki, B., Hofstetter, D., Maggiorini, M., Kayser, B., Oelz O.** (1993). Treatment of acute mountain sickness by simulated descent: a randomised controlled trial. *BMJ* 306: 1098-1101.
- Basnyat, B., Gertsch, J. H., Johnson, E. W. and others.** (2006). Acetazolamid 125 mg BD is not significantly different from 375 mg BD in the prevention of acute mountain sickness: the prophylactic acetazolamide dosage comparison for efficacy (PACE) trial. *High Alt Med Biol* 7 (1): 17-27.
- Basnyat, B., Gertsch, J. H., Johnson, E. W., Castro-Marin, F., Inoue, Y., Xeh, C.** (2003). Efficacy of low dose acetazolamide (125 mg BID) for the prophylaxis of acute mountain sickness: a prospective double blind, randomized, placebo controlled trial. *High Alt Med Biol* 4 (1): 45-52.
- Basnyat, B., Murdoch, D. R.** (2003). High-altitude illness. *The Lancet* 361: 1967-1974
- Benumof, J. L., Wahrenbrock, E. A.** (1975). Local effects of anaesthetics on regional hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Anesthesiology* 43:525-532.
- Bradford, J., Dean, H.** (1894). The pulmonary circulation. *J Physiol (Lond)* 16: 34-96.
- Braker, S. J., Gamel, D. M., Tremper, K. K.** (1987). Cardiovascular effects of anaesthesia and operation. *Crit Care Clin.* 3 (2): 251-261.

- Burchardi, H., Kaczmarczyk, G.** (1994). The effect of anaesthesia on renal function. *Eur J Anaesthesiol* 11 : 163-168.
- Cornelius, L. M., Rawlings, C. A.** (1981). Arterial blood gas and acid base values in dogs with various diseases and signs of disease. *J Am Vet Med Assoc* 178: 992ff.
- Cornfield, D. N., Reeve, H. L., Tolarova, S., Weir, E. K., Archer, S. L.** (1996). Oxygen causes fetal pulmonary vasodilatation through activation of a calcium-dependent potassium channel. *Proc Natl. Acad Sci USA* 93:8089-8094.
- Dawson, C. A., Bronikowski, T. A., Linehan, J. H., Hakim, T.S.** (1983). Influence of pulmonary vasoconstriction on lung water and perfusion heterogeneity. *J Appl Physiol* 54: 654-660.
- Deem, S., Hedges, R. G., Kerr, M. E., Swenson, E. R.** (2000). Acetazolamide reduces hypoxic pulmonary vasoconstriction in isolated perfused rabbit lungs. *Respir Physiol* 123: 109-119.
- Dipp, M., Nye, P. C., Evans, A. M.** (2001). Hypoxic release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of pulmonary artery smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 281: L318-L325.
- Dodgson, S. J., Tashian, R. E., Gros, G., Carter, N. D.** (1991). The Carbonic Anhydrases: Cellular Physiology and Molecular Genetics. *Plenum Press*
- Dumas, J. P., Bardou, M., Goirand, F., Dumas, M.** (1999). Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Gen Pharm* 33: 289-297.
- Dumont, L., Mardirosoff, C., Tramer, M. R.** (2000). Efficacy and harm of pharmacological prevention of acute mountain sickness: quantitative systematic review. *BMJ* 321: 267-72.
- Edsall, J. T.** (1968). Carbon dioxide, carbonic acid, and the bicarbonate ion: Physical properties and kinetics of interconversion. In: Forster RE, Edsall JT, Otis AB, Roughton FJW (Eds.): CO<sub>2</sub>: Chemical, Biochemical, and Physiological Aspects. NASA SP # 188: 15-28.
- Effros, R. M., Mason, G., Silverman, P.** (1981). Asymmetric distribution of carbonic anhydrase in the alveolar-capillary barrier. *J Appl Physiol* 51: 190-193.
- Ellsworth, A. J., Meyer, E. F., Larson, E. B.** (1991). Acetazolamide or Dexamethasone use versus placebo to prevent acute mountain sickness on Mount Rainer. *West J Med* 154: 289-293.
- Emery, C. J., Sloan, P. J., Mohammed F. H., Barer, G. R.** (1977). The action of hypercapnia during hypoxia on pulmonary vessels. *Bull Eur Physiopath Respir* 13 (6): 763-776.
- Emuakpor, D. S., Maas, A. H., Ruigrok T. J., Zimmermann, A. N.** (1976). Acid-base curve nomogram for dog blood. *Pflügers Arch* 363(2): 141-147, 1976

- Euler, U. S., Liljestrand, G.** (1946). Observations on the pulmonary arterial blood pressure of the cat. *Acta Physiol Scand* 12: 301-320.
- Feddersen-Petersen D.** (1994) Social behaviour of wolves and dogs. *Vet Q* 16(Suppl 1):515-525
- Forward, S. A., Landowne, M., Follansbee, J. N., Hansen, J. E.** (1968). Effect of acetazolamide on acute mountain sickness. *N Engl J Med* 279: 839-845.
- Francis, R. C. E., Höhne, C., Kaczmarzyk, G., Boemke, W.** (2004). Effect of angiotensin II and endothelin-1 receptor blockade on the haemodynamic and hormonal changes after acute blood loss and after retransfusion in conscious dogs. *Acta Physiol Scand* 180 (4), 319–328.
- Fromm, M., Hierholzer, K.** (1997). Epithelien. In: Schmidt RF und Thews G (Eds.). *Physiologie des Menschen*. Springer Verlag. 27.Auflage: 719-736.
- Greene, M. K., Keer, A. M., McIntosh, I. B., Prescott, R. J.** (1981) Acetazolamide in acute mountain sickness: a double blind cross-over study. *BMJ (Clin Res Ed)* 283: 811-813.
- Groh, J., Kuhnle, G. E., Sckell, A., Nevy, L., Goetz, A. E.** (1994). Isoflurane inhibits hypoxic pulmonary vasoconstriction. An in vivo fluorescence microscopic study in rabbits. *Anesthesiology* 81 (6): 1436-1444.
- Hackett, P. H.** (1999). High altitude cerebral oedema and acute mountain sickness: a pathophysiology update. *Adv Exp Med Biol* 474: 23-45.
- Hackett, P. H., Rennie, D.** (1976). The incidence, importance, and prophylaxis of acute mountain sickness. *Lancet* 308: 1149-1155.
- Hackett, P. H., Roach, R. C.** (2001). High-Altitude Illness. *N Eng J Med* 345: 107-114.
- Hall, S. M., Hislop, A. A., Pierce, C. M., Haworth, S. G.** (2000). Prenatal origins of human intrapulmonary arteries formation and smooth muscle cell maturation. *Am J Respir Cell Moll Biol* 23:194-203.
- Hall, S. M., Chapleau, M., Cairo, J., Levitzky, M. G.** (1985). Effect of high frequency positive pressure ventilation on halothane ablation of hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Crit Care Med* 13 641-645.
- Heming, T., Stabenau, E., Vanoye, C., Maghadasi, H., Bidani, A.** (1994). Roles of intra and extracellular carbonic anhydrase in alveolar-capillary CO<sub>2</sub> equilibration. *J Appl Physiol* 77: 697-705.
- Hillier, S. C., Graham, J. A., Hanger, C. H., Godbey, P. S., Glenny, R. W., Wagner, W. W.** (1997). Hypoxic vasoconstriction in pulmonary arterioles and venules. *J Appl Physiol* 82: 1084-1090.
- Hoefl, A.** (1995). Dilutionstechniken und Ficksches Prinzip. In W. F. List (Hrsg.) *Monitoring in Anästhesie und Intensivmedizin* 1: 250-292 ; Springer-Verlag. Heidelberg.

- Höhne, C., Krebs, M. O., Boemke, W., Arntz, E., Kaczmarczyk, G.** (2001). Evidence that the renin decrease during hypoxia is adenosine mediated in conscious dogs. *J Appl Physiol* 90 (5): 1842-1848.
- Höhne, C., Krebs, M. O., Seiferheld, M., Boemke, W., Kaczmarczyk, G., Swenson, E. R.** (2004). Acetazolamide prevents hypoxic pulmonary vasoconstriction in conscious dogs. *J Appl Physiol* 97: 515-521.
- Honig, A.** (1989). Peripheral arterial chemoreceptors and reflex control of sodium and water homeostasis. *Am J Physiol* 257: 1282-1302.
- Honigman, B., Theis, M. K., Koziol-McLain J., Roach R. C. Houston C., Moore L.G.** (1993). Acute mountain sickness in a general tourist population at moderate altitudes. *Ann Intern Med* 118: 587-592.
- Hultgren, H. N.** (1996). High altitude pulmonary edema: current concepts. *Ann Rev Med* 47: 267-284.
- Jansen, J. R., Wesseling K. H., Settels J. J., Schreuder, J. J.** (1990). Cardiac output monitoring by pulse contour during cardiac surgery. *Eur Heart J* 11 Suppl I: 26-32.
- Jin, N., Packer C. S., Rhoades, R.** (1992). Pulmonary arterial hypoxic contraction: signal transduction. *Am J Physiol* 263: L73-L78.
- Kaczmarczyk, G., Jörres, D., Rossaint, R., Krebs M., Unger V., Falke K. J.** (1993). Extracellular volume expansion inhibits antidiuretic hormone increase during positive endexpiratory pressure in conscious dogs. *Clin Sci (Lond)* 85: 643-649.
- Kaczmarczyk, G., Mohnhaupt, R., Reinhardt, H. W.** (1986). Renal sodium handling in intact and renal denervated dogs. *Pflügers Arch* 407: 382-387.
- Karow, T., Lang-Roth, R.** (2004). Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Eigenverlag. 12 Auflage: 400-401.
- Kato, M., Staub, N.** (1966). Response of small pulmonary arteries to unilobular alveolar hypoxia and hypercapnia. *Circ Res* 19: 426-440.
- Khaw, P. T., Shah, P., Elkington, A. R.** (2004). Glaucoma-2: Treatment. *BMJ* 328: 156-158.
- Koller, E. A., Drechsel, S., Hess, T., Macherel, P., Boutellier, U.** (1988). Effects of atropine and propranolol on the respiratory, circulatory and ECG responses to high altitude in men. *Eur J Appl Physiol* 57: 163-172.
- Krebs, M. O., Boemke, W., Simon, S., Wenz, M., Kaczmarczyk, G.** (1999). Acute hypoxic pulmonary vasoconstriction in conscious dogs decreases renin and is unaffected by losartan. *J Appl Physiol* 86 (6): 1914-1919.

- Leaf, D. E., Goldfarb, D. S.** (2007). Mechanisms of action of acetazolamide in the prophylaxis and treatment of acute mountain sickness. *J Appl Physiol* 102: 1313-1322.
- Lejeune, P., Brillouille, S., Leeman, M., Hallemans, R., Melot, C., Naeije, R.** (1990). Enhancement of hypoxic pulmonary vasoconstriction by metabolic acidosis in dogs. *Anesthesiology* 73: 256-264.
- Lejeune, P., Vachiery, J. L., De Smet, J. M., Leeman, M., Brimouille, S., Delcroix, M., Melot, C., Naeije, R.** (1991). PEEP inhibits hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs. *J Appl Physiol* 70 (4): 1867-1873.
- Leysac, P. P., Karlsen, F. M., Skott, O.** (1991). Dynamics of intrarenal pressures and glomerular filtration rate after acetazolamide. *Am J Physiol* 261: 169-178.
- Liang, C.S., Gavras, H.** (1978). Renin-angiotensin system inhibition in conscious dogs during acute hypoxia. Effects on systemic hemodynamics, regional blood flows, and tissue metabolism. *Clin Invest* 62: 961-970.
- Lopez-Barneo, J., del Toro, R., Levitsky, K. L., Chiara, M. D., Ortega-Saenz, P.** (2004). Regulation of oxygen sensing by ion channels. *J Appl Physiol* 96: 1187-95.
- Madden, J. A., Vadula, M. S., Kurup, V. P.** (1992). Effects of hypoxia and other vasoactive agents on pulmonary and cerebral artery smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 263: L384-L393.
- Maggiorini, M., Brunner-La Rocca H. P., Peth S., Fischler M., Böhm T., Bernheim A., Kiencke S., Bloch K. E., Dehnert C., Naeije R., Lehmann L., Bärtsch P., Mairbäurl H.** (2006). Both tadalafil and dexamethason may reduce the incidence of high altitude pulmonary edema. *Ann Int Med* 145: 497-506.
- Maggiorini, M.** (2005). Hypoxia 2005 Symposium, Lake Louise, Canada. Vortrag
- Maggiorini, M., Melot, C., Scherrer, U., Naeije, R. et al.** (2001). High-altitude pulmonary edema is initially caused by an increase in capillary pressure. *Circulation* 103: 2078-2083.
- Maren, T. H.** (1967). Carbonic anhydrase: Chemistry, Physiology, and Inhibition. *Physiol Rev* 47: 595-781.
- Maren, T. H.** (1956). Carbonic anhydrase inhibition. N5-substituted 2 – acetylamino- 1,3,4 – thiadiazole – 5 – sulfonamides: metabolic conversion and use as control substances. *J Pharmacol Exp Therapeutics* 117 (4): 385-401.
- Maren, T. H.** (1967). Carbonic anhydrase in the animal kingdom. *Fed Proc Fedn Am Socs Exp Biol* 26: 1097-1103.
- Maren, T. H.** (1977). Use of inhibitors in physiological studies of carbonic anhydrase. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 232: 291-297.



- Maren, T. H., Mayer, E., Wadsworth, B. C.** (1954). Carbonic anhydrase inhibition. I. The pharmacology of Diamox, 2-acetyl-amino-1,3,4-thiadiazole-5-sulfonamide. *Bull John Hopkins Hosp* 95: 199-243.
- Marschall, C., Marshall, B.** (1983). Site and sensitivity for stimulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol* 55: 711-716.
- Meldrum, N. U., Roughton, F. J. W.** (1933). Carbonic anhydrase. Its preparation and properties. *J Physiol (London)* 80: 113-142.
- Mohr, K., Lüllmann, H.** (1999). *Pharmakologie und Toxikologie*. Thieme Verlag. 14. Auflage: 201-202.
- Moudgil, R., Michelakis, E. D., Archer, S. L.** (2005). Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol* 98: 390-403.
- Nagendran, J., Stewart, K., Hoskinson, M., Archer, S. L.** (2006). An anaesthesiologist's guide to hypoxic pulmonary vasoconstriction: implications for managing single-lung anaesthesia and atelectasis. *Curr Opin Anaesth* 19: 34-43.
- Nakayama, M., Murray P. A.** (1999). Ketamine preserves and Propofol potentiates hypoxic pulmonary vasoconstriction compared with the conscious state in chronically instrumented dogs. *Anesthesiology* 91: 760-771.
- Oelz, O., Maggiorini, M., Ritter, M., Waber U., Jenni, R., Vock, P., Bärtsch, P.** (1989). Nifedipine for high altitude pulmonary oedema. *Lancet* 2 (8674): 1241-1244.
- Olchewski, A., Hong, Z., Nelson, D. P., Weir, E. K.** (2002). Graded response of K<sup>+</sup> current, membrane potential, and Ca<sup>2+</sup><sub>i</sub> to hypoxia in pulmonary artery smooth muscle cell. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 283:L1143-L1150.
- Osipenko, O. N., Alexander, D., MacLean, M. R., Gurney, A. M.** (1998). Influence of chronic hypoxia on contributions of non-inactivating and delayed rectifier K currents to the resting potential and tone of rat pulmonary artery smooth muscle cell. *Br J Pharmacol* 124:1335-1337.
- Pickkers, P., Garcha, R. S., Schachter, M., Smits, P., Hughes, A. D.** (1999). Inhibition of carbonic anhydrase accounts for the direct vascular effects of hydrochlorothiazide. *Hypertension* 33: 1043-1048.
- Point:Counterpoint** (2006). HPV is/is not mediated by increased production of reactive oxygen species. *J. Appl Physiol* 101:993-999.
- Post, J. M., Hume, J. R., Archer, S. L., Weir, E. K.** (1992). Direct role for potassium channel inhibition in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Am J Physiol* 262: C882-C890.
- Pozeg, Z. I., Michaelakis, E. D., McMurtry, M. S., et al.** (2003). In vivo gene transfer of the O<sub>2</sub>-sensitive potassium channel Kv1.5 reduces pulmonary hypertension and restores hypoxic pulmonary vasoconstriction in chronically hypoxic rats. *Circulation* 107:2037-2044.

- Ried, L. D., Carter, K. A., Ellsworth, A.** (1994). Acetazolamide or dexamethasone for prevention of acute mountain sickness: a meta-analysis. *J Wilderness Med* 5: 34-38.
- Roach, R. C., Hackett, P. H.** (2001). Frontiers of hypoxia research: acute mountain sickness. *J Exp Biol* 204: 3161-3170.
- Roach, R. C., Bärtsch, P., Hackett, P. H., Oelz, O.** (1993). The Lake Louise acute mountain sickness scoring system. In: Sutton, J., R. and Houston, C., S. Hypoxia and molecular Medicine. Quenn City Printers. Pp 272-274.
- Robertson, T. P., Dipp, M., Ward, J. P., Aaronson, P. I., Evans, A. M.** (2000). Inhibition of sustained hypoxic vasoconstriction by Y-27632 in isolated intrapulmonary arteries and perfused lung of the rat. *Br J Pharmacol* 131: 5-9.
- Robin, E. D., Theodore, J., Burke, C. M., Oesterle, S. N., Fowler, M. B., Jamieson, S., W., et al.** (1987). Hypoxic pulmonary vasoconstriction persists in the human transplanted lung. *Clin Sci (Lond)*. 72 (3): 283-287.
- Roy, S. B., Guleria, J. S., Khanna, P. K.** (1969). Haemodynamic studies in high altitude pulmonary oedema. *Br Heart J* 31: 52-58.
- Schaffer, J. P.** (1986). Modified sequentially rejective multiple test procedures. *J Am Statist Assoc* 81: 826-831.
- Scherrer, U., Vollenweider, L., Bärtsch, P., et al.** (1996). Inhaled Nitric Oxid for High-Altitude Pulmonary Edema. *N Engl J Med* 334: 625-629.
- Seldinger, S. I.** (1953) Catheter replacement of the needle in percutaneous artriography; a new technique. *Acta Radiol* 39(5):368-376.
- Shimoda, L. A., Luke, T., Sylvester, J. T., Shih, H. W., Jain, A., Swenson, E. R.** (2007). Inhibition of hypoxia induced calcium responses in pulmonary arterial smooth muscle by acetazolamide is independent of carbonic anhydrase inhibition. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 297: 1002-1012.
- Swan, H. J., Ganz, W., Forrester J., Marcus H., Diamond G., Chonette D.** (1970). Catheterization of the heart in man with use of a flow-directed balloon-tipped catheter. *N Engl J Med* 283(9): 447-51.
- Swenson, E. R.** (2005). Carbonic anhydrase inhibitors and hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Resp Physiol Neurobiol* 151(2-3): 209-216.
- Swenson, E. R.** (1998). Carbonic anhydrase inhibitors and ventilation: a complex interplay of stimulation and suppression. *Eur Respir J* 12: 1242-1247.
- Swenson, E. R.** (2000). Respiratory and renal roles of carbonic anhydrase in gas exchange and acid-base regulation. In: The Carbonic Anhydrases: New Horizon. Chegwiddden, W. R., Carter, N. D., Edwards, Y. H. (Hrsg.) Oxford: Birkhauser Press; p. 281-341.

- Swenson, E. R.** (2001) in Hornbein, T. F., Schoene, R. B. (Hrsg.): High Altitude. An Exploration of human adaptation. Lung Biology in Health and Disease Vol 161: 526,
- Swenson, E. R., Henry, R., P.** (2000). The distribution and physiological significance of carbonic anhydrase in vertebrate gas exchange organs. *Resp Physiol* 121: 1-12.
- Swenson, E. R., Hughes, J. M. B.** (1993). Effects of acute and chronic acetazolamide on resting ventilation and ventilatory responses in men. *J Appl Physiol* 74 (1): 230-237.
- Swenson, E. R., Maggiorini, M., Mongovin, S., Gibbs, J. S., Geve, I., Mairbauerl, H., Bärtsch, P.** (2002). Pathogenesis of high altitude pulmonary edema: inflammation is not an aetiological factor. *JAMA* 287: 2228-2235.
- Swenson, E. R., Maren, T. H.** (1978). A quantitative analysis of CO<sub>2</sub> transport at rest and maximal exercise. *Respir Physiol* 35: 129-159.
- Swenson, E. R., Robertson, H. T., Hlastala, M. P.** (1993). Effects of carbonic anhydrase inhibition on ventilation-perfusion matching in the dog. *J Clin Invest* 92: 702-709.
- Sundstrom, E. S.** (2006). Studies on adaptation of man to high altitudes. V. Effect of high altitude on salt metabolism. *Univ Calif Publ Physiol* 5: 121-132.
- Teppema, L. J., Balanos, G. M., Steinback, C. D., Brown, A. D., Foster, G. E., Duff, H. J., Leigh, R., Poulin, M. J.** (2007). Effects of acetazolamide on ventilatory, cerebrovascular, and pulmonary vascular responses to hypoxia. *Am J Respir Crit Care Med* 175 (3): 277-281.
- Travis, D. M., Wiley, C., Nechay, B. R., Maren, T. H.** (1964). Selective renal carbonic anhydrase inhibition without respiratory effect: pharmacology of 2- benzenesulfonamido-1,3,4- thiazazole- 5- sulfonamide. *J Pharmacol Exp Ther* 143: 383-394.
- Unshelm J** (1993) Raising dogs and cats in compliance with animal welfare using advice on behaviour therapy. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 100 (2):65-69
- Van Keer, L., Van Aken, H., Vandermeersch, E., Vermaut, G., Lerut, T.** (1989). Propofol does inhibit hypoxic pulmonary vasoconstriction in humans. *J Clin Anaesth* 1 (4): 284-288.
- Venance, S. L., Cannon, S. C., Fialho, D., Fontaine, B., Hanna, M. G., Ptacek, L., J., Tristani-Firouzi, M., Tawil, R., Griggs, R. C, and CINCH Investigators.** (2006). The primary periodic paralysis: diagnosis, pathogenesis and treatment. *Brain* 129: 8-17.
- Walker, B.** (1982). Diuretic response to acute hypoxia in the conscious dog. *Am J Physiol* 243: 440-446.
- Wang, Z., Jin, N., Ganguli, S., Swartz, D. R., Li, L., Rhoades, D. A.** (2001). Rho-kinase is involved in hypoxia-induced vasoconstriction. *Am J Respir Cell Mol Biol* 25: 628-635.

---

**Ward, J. P., Knock, G. A., Snetkov, V. A., Aaronson, P. I.** (2004) Protein kinases in vascular smooth muscle tone- role in the pulmonary vasculature and hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Pharmacol Ther* 104:207-231.

**Weigand, L., Foxson, J., Wang, J., Shimoda, L. A., Sylvester, J. T.** (2005). Inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by store operated  $\text{Ca}^{2+}$  and nonselective cation channel antagonists. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 289: L5-L13.

**Xuan, X. J., et al.** (1990). Contrasting effects of hypoxia on tension in rat pulmonary and mesenteric arteries. *Am J Physiol* 259: H281-H289.

**Zhao, Y., Packer, C. S., Rhoades, R. A.** (1993). Pulmonary veins contract in response to hypoxia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 265: L87-L92.

## 7 Anhang

### 7.1 Datenübersicht

#### 7.1.1 Versuchstiere

Die Namen und Kennzeichnung (Ohrnummern) der verwendeten 6 Versuchshunde lauteten:

Tabelle 7: Namen und Kennzeichnung der Versuchshunde

Hundename	Abkürzung Hundename	Ohrnummer
Raja	Raj	nicht vorhanden
Tapsi	Tap	1589
Urmel	Urm	1207
Vicky	Vic	1007
Shiva	Shi	1593
Yaris	Yar	1010

#### 7.1.2 Einzeldaten

Die folgenden Tabellen stellen die in insgesamt fünf Versuchprotokollen an sechs Tieren erhobenen individuellen Daten der einzelnen Tiere dar. Die Dokumentation beschränkt sich hier auf die in dieser Arbeit ausgewerteten Parameter.

Tabelle 8: Einzeldaten: Häodynamik; Häodynamik, n=6: Herzfrequenz (Hf), mittlerer arterieller Druck (MAP), Herzzeitvolumen (CO), systemischer Gefäßwiderstand (SVR), zentralvenöser Druck (ZVD), mittlerer pulmonal-arterieller Druck (MPAP), pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR), pulmonal-kapillärer Verschlussdruck (PCWP) während Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II

Hund		Hf	MAP	MPAP	PCWP	ZVD	CO	SVR	PVR
<b>Kontrolle</b>									
Tapsi	Normoxie	71	102	12	4	3	2	3895	315
	Hypoxie I	77	123	22	3	2	2,5	3872	608
	Hypoxie II	77	126	22	4	0	2,4	4200	600
Urmel	Normoxie	87	98	16	5	3	2,6	2831	338
	Hypoxie I	127	106	23	3	4	3,5	2285	462
	Hypoxie II	128	105	23	5	4	3,2	2326	445
Vicky	Normoxie	84	105	13	2	3	2,4	3353	362
	Hypoxie I	108	118	22	3	1	3,8	2485	404
	Hypoxie II	107	116	24	3	2	3,5	2606	480
Shiva	Normoxie	91	104	12	3	1	3,1	2630	230
	Hypoxie I	111	111	18	3	2	3,4	2565	353
	Hypoxie II	110	121	16	4	1	2,6	3740	374

Yaris	Normoxie	86	93	14	5	1	2,7	2578	267
	Hypoxie I	105	93	19	3	1	2,3	3374	557
	Hypoxie II	118	85	22	4	2	2,6	2066	547
Raja	Normoxie	72	102	13	2	3	2,7	2970	330
	Hypoxie I	71	121	14	3	5	2,7	3437	326
	Hypoxie II	79	118	13	3	1	2,3	4011	343
Hund		Hf	MAP	MPAP	PCWP	ZVD	CO	SVR	PVR
<b>ACZ i.v.</b>									
Tapsi	Normoxie	73	104	14	3	1	2	4052	433
	Hypoxie I	86	132	14	4	1	2,5	4192	320
	Hypoxie II	84	133	14	4	2	2,4	4367	333
Urmel	Normoxie	84	100	13	4	1	2,2	3655	332
	Hypoxie I	120	102	12	3	2	2,2	3403	322
	Hypoxie II	127	99	12	3	1	2,1	3871	348
Vicky	Normoxie	69	105	15	5	2	1,7	4754	462
	Hypoxie I	94	115	21	5	3	2,5	3584	512
	Hypoxie II	101	112	20	3	1	2,6	3372	516
Shiva	Normoxie	85	96	13	2	2	3,1	2094	281
	Hypoxie I	112	102	15	3	3	3,4	2235	282
	Hypoxie II	107	90	12	3	4	2,7	2667	267
Yaris	Normoxie	60	86	13	5	2	2,6	2554	246
	Hypoxie I	87	92	16	3	2	2,2	3236	473
	Hypoxie II	99	94	15	4	2	2,2	3761	394
Raja	Normoxie	72	102	13	2	3	2,7	2970	330
	Hypoxie I	71	121	14	3	5	2,7	3437	326
	Hypoxie II	79	118	13	3	1	2,3	4011	343
Hund		Hf	MAP	MPAP	PCWP	ZVD	CO	SVR	PVR
<b>ACZ p.o.</b>									
Tapsi	Normoxie	78	100	10	3	2	1,9	3986	285
	Hypoxie I	81	127	15	4	2	2,2	4615	406
	Hypoxie II	91	133	16	3	1	2,1	5110	503
Urmel	Normoxie	83	97	11	4	2	1,8	4302	317
	Hypoxie I	121	92	14	4	1	2,2	3309	364
	Hypoxie II	127	87	14	5	2	2,1	3188	338
Vicky	Normoxie	83	101	14	5	3	2,5	3178	292
	Hypoxie I	109	116	20	3	1	3,3	2816	416
	Hypoxie II	117	113	21	5	1	3,5	2560	366
	Normoxie	89	93	13	3	2	3,3	2184	240

Shiva	Hypoxie I	104	103	16	4	2	3,6	2224	264
	Hypoxie II	97	110	15	3	2	3,1	2817	313
Yaris	Normoxie	87	101	12	3	1	2,3	3429	309
	Hypoxie I	122	101	21	2	1	2,6	3038	349
	Hypoxie II	101	90	23	3	1	2,3	3141	355
Raja	Normoxie	79	102	10	3	2	2,9	2727	191
	Hypoxie I	89	119	13	3	2	2,7	3424	293
	Hypoxie II	85	112	13	3	1	3,2	2804	253

Hund		Hf	MAP	MPAP	PCWP	ZVD	CO	SVR	PVR
------	--	----	-----	------	------	-----	----	-----	-----

**BZ i.v.**

Tapsi	Normoxie	62	116	12	4	2	2,1	4413	310
	Hypoxie I	67	128	18	3	1	3,2	3175	375
	Hypoxie II	74	144	20	3	2	3,7	3098	371
Urmel	Normoxie	97	101	14	3	3	3,3	2400	269
	Hypoxie I	119	117	20	3	2	3,1	2968	439
	Hypoxie II	118	118	20	5	1	2,6	3600	462
Vicky	Normoxie	70	107	10	3	1	2,1	4125	263
	Hypoxie I	120	111	19	2	1	2,6	3220	516
	Hypoxie II	102	103	22	4	1	2,4	3313	608
Shiva	Normoxie	74	84	9	3	1	2,6	2525	187
	Hypoxie I	91	102	14	3	1	2,2	3618	406
	Hypoxie II	99	92	14	3	1	2,4	3067	367
Yaris	Normoxie	73	92	13	3	2	3,3	2376	242
	Hypoxie I	104	94	18	3	2	2,2	3055	545
	Hypoxie II	100	87	19	4	1	2,1	3174	581
Raja	Normoxie	85	100	12	3	2	2,8	2767	254
	Hypoxie I	88	116	18	5	2	2,5	3600	411
	Hypoxie II	88	119	19	4	1	3	3112	396

Hund		Hf	MAP	MPAP	PCWP	ZVD	CO	SVR	PVR
------	--	----	-----	------	------	-----	----	-----	-----

**ETZ i.v.**

Tapsi	Normoxie	74	96	10	4	2	2,8	2654	169
	Hypoxie I	90	127	16	3	2	3,4	2913	303
	Hypoxie II	89	126	17	4	3	3,9	2523	267
Urmel	Normoxie	81	88	11	4	2	1,9	3621	295
	Hypoxie I	101	92	16	5	2	2,3	3176	388
	Hypoxie II	110	93	15	3	2	2,1	3413	450
Vicky	Normoxie	72	101	13	4	2	3,3	2400	218
	Hypoxie I	117	106	19	5	2	3,2	2600	350

	Hypoxie II	115	97	19	3	3	3,1	2452	417
Shiva	Normoxie	85	96	10	4	3	2,5	3095	189
	Hypoxie I	116	94	15	5	3	2,2	3028	369
	Hypoxie II	112	82	11	3	2	2,5	2688	256
Yaris	Normoxie	91	92	12	3	2	3	2321	237
	Hypoxie I	118	90	19	4	3	2,9	2124	414
	Hypoxie II	100	85	20	5	2	2,2	2901	537
Raja	Normoxie	71	101	10	4	3	3	2613	160
	Hypoxie I	84	118	15	2	3	3,5	2629	297
	Hypoxie II	110	118	16	3	3	3,7	2464	279

Tabelle 9: Einzeldaten: Blutgasanalyse und Atemminutenvolumen ( $V_E$ );  $n=6$ : inspiratorische Sauerstofffraktion ( $F_iO_2$ ); arterieller pH-Wert ( $pH_a$ ); arterieller Sauerstoffpartialdruck ( $P_aO_2$ ) aktuelles Bikarbonat (ABC); aktueller Basenüberschuß (ABE) und arterielle Sauerstoffsättigung ( $Hb_aO_2$ ) während Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II

Hund		$F_iO_2$	$pH_a$	$P_aO_2$	$P_aCO_2$	ABC	ABE	$Hb_aO_2$	$V_E$
<b>Kontrolle</b>									
Tapsi	Normoxie	0,21	7,38	91,1	37	21,4	-2,7	90	5,2
	Hypoxie I	0,1	7,46	37,9	27,9	15,4	-2,6	76	7,3
	Hypoxie II	0,1	7,46	39,7	27,3	16,6	-3,2	72	7,3
Urmel	Normoxie	0,21	7,37	91,1	39,7	22,3	-2,2	99	3,6
	Hypoxie I	0,1	7,47	35,6	30,2	22	-0,2	59	7,3
	Hypoxie II	0,1	7,43	38,3	27,5	18	-4,4	64	7,7
Vicky	Normoxie	0,21	7,40	93,6	37,4	22,8	-1,1	94	3,6
	Hypoxie I	0,11	7,47	34	29,9	21,5	-0,8	67	5,2
	Hypoxie II	0,11	7,48	33,3	29,6	21,7	-0,4	65	4,8
Shiva	Normoxie	0,21	7,42	91,8	37,6	23,6	0,1	94	5,1
	Hypoxie I	0,1	7,46	34,5	30,4	21,5	-0,4	66	5,6
	Hypoxie II	0,09	7,50	33,3	26	20,9	-1	59	4,9
Yaris	Normoxie	0,21	7,37	89,4	39,5	22,4	-2,2	95	2,5
	Hypoxie I	0,1	7,39	34,9	34	20,3	-3,7	67	3,2
	Hypoxie II	0,11	7,40	36,1	32,2	20	-3,6	69	3
Raja	Normoxie	0,21	7,40	104,3	36,6	22	-1,9	95	3,5
	Hypoxie I	0,1	7,45	34,7	30,6	20,9	-1,7	68	4,2
	Hypoxie II	0,1	7,46	36,8	29,6	22,6	-1,6	70	4,5
Hund		$F_iO_2$	$pH_a$	$P_aO_2$	$P_aCO_2$	ABC	ABE	$Hb_aO_2$	$V_E$
<b>ACZ i.v.</b>									
Tapsi	Normoxie	0,21	7,41	111,9	31,7	19,5	-3,9	97	3,8
	Hypoxie I	0,09	7,46	37,1	26,4	18,4	-3,7	74	8,6
	Hypoxie II	0,09	7,46	36,6	25,9	18	-4	70	8,3



Urmel	Normoxie	0,21	7,41	103,1	35,1	21,7	-1,9	96	3,4
	Hypoxie I	0,09	7,41	36	29,9	18,4	-4,7	64	6,5
	Hypoxie II	0,09	7,38	42,2	28,4	17,5	-7,1	77	7,7
Vicky	Normoxie	0,21	7,40	95	37,2	22,7	-1,2	94	3,4
	Hypoxie I	0,09	7,41	36,4	29	18,5	-4,5	64	5,3
	Hypoxie II	0,09	7,40	36,4	26,2	16	-6,7	66	5,9
Shiva	Normoxie	0,21	7,38	113,6	32,7	20,9	-4,4	96	5,4
	Hypoxie I	0,09	7,43	37,6	28,3	19	-4,3	72	6,8
	Hypoxie II	0,09	7,40	35,4	27,4	17,5	-6,2	68	7,4
Yaris	Normoxie	0,21	7,37	101,3	36	20,4	-3,8	97	2,7
	Hypoxie I	0,09	7,37	38,2	35,5	20,2	-3,8	69	4,1
	Hypoxie II	0,09	7,39	40	31,2	18,5	-5	67	4,8
Raja	Normoxie	0,21	7,40	111,9	33,1	20,2	-3,2	90	4,2
	Hypoxie I	0,09	7,43	36,5	30	19,6	-3	67	5,7
	Hypoxie II	0,09	7,43	42,2	26,7	17,6	-4,6	74	6

Hund		F <sub>i</sub> O <sub>2</sub>	pH <sub>a</sub>	P <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	P <sub>a</sub> CO <sub>2</sub>	ABC	ABE	Hb <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	V <sub>E</sub>
------	--	-------------------------------	-----------------	-------------------------------	--------------------------------	-----	-----	--------------------------------	----------------

**ACZ p.o.**

Tapsi	Normoxie	0,21	7,34	114,7	30,8	16,3	-7,9	96	5,6
	Hypoxie I	0,09	7,39	38,3	26,9	15,8	-7,3	70	6,7
	Hypoxie II	0,09	7,42	37,6	25	15,7	-6,5	72	7,1
Urmel	Normoxie	0,21	7,34	107,4	36,3	18,9	-5,9	95	5
	Hypoxie I	0,09	7,39	37	31,2	18,3	-5,4	63	6,4
	Hypoxie II	0,09	7,42	38	28,3	17,8	-5,2	68	6,3
Vicky	Normoxie	0,21	7,33	102,8	29,7	15	-9,4	96	5,3
	Hypoxie I	0,1	7,40	38,2	28	16,9	-6,3	73	6,2
	Hypoxie II	0,1	7,39	40,5	26,4	16,9	-7,4	71	6,9
Shiva	Normoxie	0,21	7,35	107,9	32	17	-7,1	96	5,4
	Hypoxie I	0,1	7,40	36,9	31,4	19	-4,3	69	6,6
	Hypoxie II	0,1	7,39	37,4	27,8	16,5	-6,5	70	6
Yaris	Normoxie	0,21	7,36	103,9	33,1	18,2	-5,9	95	3,2
	Hypoxie I	0,1	7,40	36,3	29,6	18,1	-5,2	65	4,1
	Hypoxie II	0,1	7,41	36,5	28,2	17,6	-5,5	63	4,9
Raja	Normoxie	0,21	7,36	112,9	30,9	17,1	-7,1	96	4,9
	Hypoxie I	0,09	7,41	33,9	26,9	17,6	-6,1	67	6,1
	Hypoxie II	0,09	7,40	38,2	25,1	16,9	-7,7	72	5,2

Hund		F <sub>i</sub> O <sub>2</sub>	pH <sub>a</sub>	P <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	P <sub>a</sub> CO <sub>2</sub>	ABC	ABE	Hb <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	V <sub>E</sub>
------	--	-------------------------------	-----------------	-------------------------------	--------------------------------	-----	-----	--------------------------------	----------------

**BZ i.v.**

	Normoxie	0,21	7,32	99	37,9	19	-6	92	3,6
--	----------	------	------	----	------	----	----	----	-----

Tapsi	Hypoxie I	0,1	7,42	38,3	30,9	19,7	-3,1	75	5,2
	Hypoxie II	0,1	7,46	35,8	25,1	17,7	-3,9	74	6,1
Urmel	Normoxie	0,21	7,37	96,8	37,2	20,8	-3,6	95	3,6
	Hypoxie I	0,1	7,42	38	29,2	18,4	-4,4	68	7,9
	Hypoxie II	0,1	7,42	39	28	18	-4,6	67	6,6
Vicky	Normoxie	0,21	7,4	94,3	37,4	20,6	-3,8	95	3,3
	Hypoxie I	0,11	7,40	37	30,1	18,1	-4,9	65	4,9
	Hypoxie II	0,11	7,42	38,8	28,6	18,1	-4,6	71	4,8
Shiva	Normoxie	0,21	7,35	95,9	35,7	19,2	-5,3	95	2,8
	Hypoxie I	0,1	7,45	36,1	27,3	18,5	-3,7	69	4
	Hypoxie II	0,1	7,41	39,4	25,2	15,7	-6,8	76	4,5
Yaris	Normoxie	0,21	7,38	98,7	35,2	20,3	-3,7	95	2
	Hypoxie I	0,11	7,39	36,3	29,7	17,7	-5,6	65	2,9
	Hypoxie II	0,1	7,41	39,3	30,1	18,7	-4,4	71	2,3
Raja	Normoxie	0,21	7,34	91,8	39,1	20,7	-4,1	95	3,8
	Hypoxie I	0,1	7,40	34,1	29,6	18,1	-4,9	67	5,4
	Hypoxie II	0,1	7,42	36,4	28,3	17,8	-4,9	72	5

Hund		F <sub>i</sub> O <sub>2</sub>	pH <sub>a</sub>	P <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	P <sub>a</sub> CO <sub>2</sub>	ABC	ABE	Hb <sub>a</sub> O <sub>2</sub>	V <sub>E</sub>
------	--	-------------------------------	-----------------	-------------------------------	--------------------------------	-----	-----	--------------------------------	----------------

## ETZ i.v.

Tapsi	Normoxie	0,21	7,41	112	28,9	20,5	-4,8	95	4,3
	Hypoxie I	0,09	7,46	35,8	22,8	19,3	-5,7	68	8,7
	Hypoxie II	0,09	7,46	38,9	21,3	18,7	-6,6	64	10,4
Urmel	Normoxie	0,21	7,36	97,8	36,1	20,7	-4,5	96	4,7
	Hypoxie I	0,09	7,41	38,3	29,4	20,3	-4,4	61	8
	Hypoxie II	0,09	7,44	38,9	25,8	20	-4,8	66	6,9
Vicky	Normoxie	0,21	7,37	92,7	32,8	19,9	-5,6	95	3,2
	Hypoxie I	0,1	7,43	34,4	28,2	20,2	-4,3	64	5
	Hypoxie II	0,1	7,40	37,7	21,1	18,8	-6,3	67	5,3
Shiva	Normoxie	0,21	7,34	112	32,1	16,8	-7,5	97	4,8
	Hypoxie I	0,08	7,43	37,7	24,5	16	-6,1	67	6,9
	Hypoxie II	0,08	7,44	38,9	23,5	15,8	-6	71	7,6
Yaris	Normoxie	0,21	7,35	103	33,6	19,3	-4,4	96	3,3
	Hypoxie I	0,09	7,30	35,4	26,8	12,8	-11,9	64	3,5
	Hypoxie II	0,09	7,32	40,2	24,2	12,2	-12	66	3,6
Raja	Normoxie	0,21	7,39	112	31,6	20,4	-5	97	4,2
	Hypoxie I	0,09	7,44	34,6	26,5	20,1	-4,5	66	7
	Hypoxie II	0,09	7,44	33,5	26,3	20,2	-4,3	58	7

Tabelle 10: Einzeldaten: Renale Exkretion und Plasmaelektrolyte; Urinausscheidung ( $U \dot{V}$ ); Natriumexkretion ( $U_{Na} \dot{V}$ ); fraktionelle Natriumexkretion ( $FE_{Na}\%$ ), Kaliumexkretion ( $U_K \dot{V}$ ); glomeruläre Filtrationsrate (GFR); Plasmanatriumkonzentration ( $P_{Na}$ ); Plasmakaliumkonzentration ( $P_K$ ) während Normoxie, Hypoxie I und Hypoxie II

Hund		$U \dot{V}$	$U_{Na} \dot{V}$	$FE_{Na}\%$	$U_K \dot{V}$	GFR	$P_{Na}$	$P_K$
------	--	-------------	------------------	-------------	---------------	-----	----------	-------

**Kontrolle**

Tapsi	Normoxie	17	0,14	0,03	0,02	3,3	139	3,5
	Hypoxie I	43	0,13	0,03	0,22	3,6	136	3,5
	Hypoxie II	44	0,22	0,05	0,16	3,0	138	3,1
Urmel	Normoxie	18	0,99	0,19	0,34	3,7	145	3,4
	Hypoxie I	25	0,82	0,15	0,66	4,0	142	3,2
	Hypoxie II	34	0,97	0,18	0,48	3,9	137	3,0
Vicky	Normoxie	15	0,23	0,04	0,69	3,8	137	3,4
	Hypoxie I	37	0,06	0,01	0,34	4,5	140	3,3
	Hypoxie II	11	0,06	0,01	0,21	3,8	141	3,1
Shiva	Normoxie	36	0,22	0,03	0,73	4,5	143	3,7
	Hypoxie I	120	0,14	0,02	0,53	4,3	140	3,0
	Hypoxie II	17	0,17	0,03	0,25	4,0	141	2,9
Yaris	Normoxie	20	0,41	0,06	0,33	4,5	148	3,5
	Hypoxie I	26	0,14	0,03	0,17	3,9	139	2,9
	Hypoxie II	9	0,18	0,03	0,25	3,9	144	3,2
Raja	Normoxie	52	0,1	0,02	0,2	3,8	141	3,7
	Hypoxie I	85	0,24	0,04	0,31	4,0	139	3,5
	Hypoxie II	27	0,26	0,05	0,3	3,8	140	3,6

Hund		$U \dot{V}$	$U_{Na} \dot{V}$	$FE_{Na}\%$	$U_K \dot{V}$	GFR	$P_{Na}$	$P_K$
------	--	-------------	------------------	-------------	---------------	-----	----------	-------

**ACZ i.v.**

Tapsi	Normoxie	66	2,99	0,71	4,25	3,0	140	2,9
	Hypoxie I	197	3,85	0,93	4,89	2,9	144	2,9
	Hypoxie II	92	4,14	0,98	3,62	2,9	144	2,9
Urmel	Normoxie	131	5,7	1,23	3,12	3,6	131	2,8
	Hypoxie I	76	5,76	1,12	4,08	3,7	139	2,8
	Hypoxie II	49	5,46	1,02	5,4	3,9	138	2,6
Vicky	Normoxie	62	4,13	0,75	3,02	4,0	139	2,9
	Hypoxie I	185	4,07	0,79	2,1	3,6	142	2,8
	Hypoxie II	79	4,4	0,92	2,69	3,6	135	2,7
Shiva	Normoxie	104	1,48	0,34	1,88	3,3	131	3,0
	Hypoxie I	114	1,6	0,37	2,17	3,2	134	2,8

	Hypoxie II	38	1,43	0,28	1,43	3,7	138	2,6
Yaris	Normoxie	138	4,31	0,97	3,45	3,2	140	3,1
	Hypoxie I	205	4,81	1,08	2,59	3,1	145	3,1
	Hypoxie II	65	5,89	1,31	3,16	3,2	143	3,3
Raja	Normoxie	89	4,77	1,06	5,46	3,2	140	3,4
	Hypoxie I	188	4,49	1,08	4,03	3,0	138	2,9
	Hypoxie II	98	3,15	0,74	3,19	3,1	140	3,0

Hund		$U\dot{V}$	$U_{NA}\dot{V}$	$FE_{NA}\%$	$U_K\dot{V}$	GFR	$P_{NA}$	$P_K$
------	--	------------	-----------------	-------------	--------------	-----	----------	-------

**ACZ p.o.**

Tapsi	Normoxie	45	0,66	0,21	1,07	2,3	136	2,7
	Hypoxie I	45	1,08	0,29	0,79	2,6	142	2,8
	Hypoxie II	91	0,85	0,22	0,68	2,7	142	2,9
Urmel	Normoxie	45	0,95	0,22	1,83	3,0	145	3,1
	Hypoxie I	40	1,3	0,28	2,9	3,3	144	3,0
	Hypoxie II	31	0,95	0,2	3,49	3,3	141	3,0
Vicky	Normoxie	45	4,07	0,79	1,5	3,7	138	2,9
	Hypoxie I	53	2,26	0,47	0,88	3,6	134	2,8
	Hypoxie II	30	1,57	0,3	1,13	3,8	138	2,8
Shiva	Normoxie	56	1,5	0,31	1,91	3,7	131	2,9
	Hypoxie I	134	1,62	0,25	2,2	4,6	141	2,9
	Hypoxie II	46	1,45	0,31	1,45	3,5	137	2,8
Yaris	Normoxie	37	1,46	0,39	0,9	2,7	138	3,1
	Hypoxie I	44	0,96	0,24	1,02	2,8	138	3,0
	Hypoxie II	22	1,15	0,28	1,98	2,9	144	3,0
Raja	Normoxie	112	2,27	0,56	2,46	3,1	145	2,6
	Hypoxie I	179	2,6	0,59	1,52	3,4	132	2,6
	Hypoxie II	67	1,66	0,36	1,04	3,5	138	2,8

Hund		$U\dot{V}$	$U_{NA}\dot{V}$	$FE_{NA}\%$	$U_K\dot{V}$	GFR	$P_{NA}$	$P_K$
------	--	------------	-----------------	-------------	--------------	-----	----------	-------

**BZ i.v.**

Tapsi	Normoxie	65	4,49	1,3	3,84	2,6	131	2,7
	Hypoxie I	111	2,3	0,7	2,19	2,5	133	2,8
	Hypoxie II	116	1,83	0,56	2,07	2,5	130	2,7
Urmel	Normoxie	79	7,85	2,47	1,89	2,4	134	3,2
	Hypoxie I	59	6,19	1,94	1,89	2,4	134	3,0
	Hypoxie II	77	3,78	0,86	2,52	3,1	140	2,9
Vicky	Normoxie	47	1,96	0,43	5,94	3,4	135	2,8
	Hypoxie I	26	2,56	0,52	5,94	3,6	140	2,7
	Hypoxie II	30	4,18	0,77	6,68	3,9	142	2,6

Shiva	Normoxie	54	2,96	0,64	4,07	3,3	140	3,2
	Hypoxie I	179	2,5	0,53	3,02	3,5	136	2,8
	Hypoxie II	58	2,5	0,55	2,56	3,3	137	2,9
Yaris	Normoxie	61	3,3	0,8	3,23	3,0	137	3,0
	Hypoxie I	97	3,45	0,77	2,42	3,3	136	2,7
	Hypoxie II	65	4,85	0,95	2,79	3,6	140	2,8
Raja	Normoxie	91	3,2	0,83	4,76	2,7	144	3,4
	Hypoxie I	152	4,47	1,06	3,81	3,0	143	3,2
	Hypoxie II	43	2,64	0,67	3,58	2,8	138	3,0

Hund		$UV$	$U_{NA} \dot{V}$	$FE_{NA}\%$	$U_K \dot{V}$	GFR	$P_{NA}$	$P_K$
------	--	------	------------------	-------------	---------------	-----	----------	-------

**ETZ i.v.**

Tapsi	Normoxie	55	3,71	0,65	2,82	3,9	145	3,2
	Hypoxie I	181	4,26	0,89	1,99	3,4	140	2,9
	Hypoxie II	73	3,43	0,8	1,99	3,0	141	2,8
Urmel	Normoxie	81	4,25	1	2,83	3,2	135	3,1
	Hypoxie I	58	4,71	1,07	3,68	3,2	139	2,9
	Hypoxie II	37	2,95	0,76	3,46	2,8	139	2,9
Vicky	Normoxie	29	0,74	0,17	2,29	3,1	145	3,1
	Hypoxie I	35	2,32	0,44	3,11	3,7	143	2,7
	Hypoxie II	35	4,74	0,91	3,9	3,7	140	2,6
Shiva	Normoxie	28	1,91	0,41	3,38	3,3	141	3,2
	Hypoxie I	35	2,7	0,62	4,84	3,1	139	2,5
	Hypoxie II	35	4,84	0,96	4,95	3,7	138	2,3
Yaris	Normoxie	68	2,84	0,58	2,91	3,3	149	3,0
	Hypoxie I	57	4,3	0,99	3,7	3,0	146	2,6
	Hypoxie II	49	5,89	1,2	3,77	3,4	144	2,6
Raja	Normoxie	47	3,24	0,9	2,96	2,6	141	3,3
	Hypoxie I	66	3,33	0,93	2,36	2,5	142	3,0
	Hypoxie II	39	2,5	0,65	3,15	2,7	143	2,9

## **7.2 *Curriculum Vitae***

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

## 7.3 Publikationen

### Artikel

1. Höhne C\*, Pickerodt PA\*, Francis RCE, Boemke W, Swenson ER. (2007)  
Pulmonary vasodilation by acetazolamide during hypoxia is not related to carbonic anhydrase inhibition. *AJP – Lung Cellular and Molecular Physiology* 292: 178-184  
\*H.C. and P.A.P equally contributed to this work
2. Höhne C, Francis RC, Pickerodt P, Klein A, Kaisers U, Boemke W. (2008)  
ETA-receptor blockade impairs vasoconstriction after hemorrhage in xenon-anesthetized dogs treated with an AT1-receptor antagonist.  
*Can J Physiol Pharmacol.* 2008 Jun;86(6):373-379
3. Boemke W, Pickerodt PA, Kaisers U, Francis RC (2008)  
Die Blutgasanalyse – ein altes Thema neu betrachtet. DAAF Refresher Course DAC 2008, Nr. 34, April 2008: 127-1137

### Poster / Abstracts

1. Pickerodt PA, Boemke W, Francis RCE, Swenson ER, Höhne C. Inhibition of extracellular carbonic anhydrase does not prevent hypoxic pulmonary vasoconstriction. *High Altitude Medicine and Biology* 6: 2005
2. Höhne C, Pickerodt PA, Boemke W, Swenson ER. Acetazolamide Does Not Prevent Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction by Carbonic Anhydrase Inhibition. *Proceedings of the American Thoracic Society* Vol 3, Abstract Issue, A716, 2006
3. Pickerodt PA, Krueger F, Francis RCE, Boemke W, Swenson E, Höhne C. Effects of inhaled Acetazolamide on pulmonary vasoconstriction and acid – base changes during acute hypoxia. *High Altitude Medicine and Biology* : 2007

### Vorträge/Präsentationen

1. Pickerodt PA, Boemke W, Francis RCE, Kaczmarczyk G, Höhne C. Höhenphysiologie auf Meereshöhe - Untersuchungen zur hypoxischen pulmonalen Vasokonstriktion (HPV) an wachen Hunden. 43. Wissenschaftliche Tagung der Gesellschaft für Versuchstierkunde, Berlin, Lecture, 2005
2. Pickerodt PA, Boemke W, Francis RCE, Swenson ER, Höhne C. Inhibition of extracellular carbonic anhydrase does not prevent hypoxic pulmonary vasoconstriction. Hypoxia 2005 Meeting, Canada. Poster presentation, 2005
3. Pickerodt PA, Krueger F, Francis RCE, Boemke W, Swenson E, Höhne C. Effects of inhaled Acetazolamide on pulmonary vasoconstriction and acid – base changes during acute hypoxia. Hypoxia 2007 Meeting, Canada. Poster presentation, 2007

## **7.4 Erklärung an Eides Statt**

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, daß

- Die Dissertation von mir selbst und ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfaßt wurde,
- die Dissertation auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und
- die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind.

Berlin, den 21.08.2008

Philipp Pickerodt