

**Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Herz- und Thoraxchirurgie
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg**

(Direktor: Prof. Dr. med. Rolf-Edgar Silber)



**Experimentelle Untersuchungen zum
Einfluss des Prostazyklin-Analogons Iloprost
auf die Kontraktilität humaner Vorhofmuskulatur**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Gerold Rodenbäck
geboren am 05. August 1964 in Aschendorf

Betreuer: PD Dr. med. Armin Sablotzki

Gutachter:

1. PD Dr. med. Armin Sablotzki
2. Prof. Dr. med. J. Radke
3. Prof. Dr. M. Weyand (Erlangen)

Eröffnungsdatum der Promotion: 20.04.2004

Datum der Verteidigung: 04.10.2004

urn:nbn:de:gbv:3-000007306

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000007306>]

REFERAT UND BIBLIOGRAPHISCHE BESCHREIBUNG

Hintergrund: Iloprost hat in klinischen Studien einen positiv inotropen Effekt im Sinne eines gesteigerten linksventrikulären Herzindex und des maximal möglichen Druckanstiegs auf das Myokard gezeigt.

Zielsetzung: Wir formulierten die Arbeitshypothese, dass Iloprost einen direkten positiv inotropen Effekt ausübt.

Methoden: Stellvertretend für linksventrikuläres Myokard wurde von 22 Patienten rechtsatriales Myokard des Vorhofohres im Rahmen elektiv durchgeführter kardiochirurgischer Operationen (Bypass, Aortenklappenersatz und Kombination) entfernt. Aus den gewonnenen Präparaten wurden vier Vorhoftrabekel (je zwei Trabekel Kontroll- und Verumgruppe) isoliert und in einem Organbad kontinuierlich mit gepufferter Tyrodelösung gespült und elektrisch mit 1 Hz stimuliert. Die Kontraktionskräfte wurden mit einem Kraftaufnehmer ermittelt und durch einen Schreiber dokumentiert. Iloprost bzw. Iloprost-Trägerlösung wurde in einer aufsteigenden Konzentrationsreihe (1 pg/ml – 100 ng/ml) eingesetzt. Die maximal mögliche Kontraktionskraft wurde durch Stimulation mit 10^{-7} M Isoprenalin ermittelt.

Ergebnisse: Iloprost übt weder einen positiv noch negativ inotropen Effekt in den getesteten Konzentrationen aus. Die Trägerlösung wirkt negativ inotrop, d.h. die Kontraktionskraft des rechten Vorhoftrabekels nimmt mit abnehmender Verdünnung der Trägerlösung ab. Die ermittelten Kontraktionskräfte waren weder abhängig von der Masse der präparierten Trabekel, noch von einer medikamentösen Vorbehandlung mit Betablockern.

Schlussfolgerung: Die Arbeitshypothese konnte durch den gewählten Versuchsaufbau nicht bestätigt werden. Ob Iloprost direkt positiv inotrop auf das linksventrikuläre Myokard wirkt, muss in einem anderen experimentellen Aufbau überprüft werden, z.B. in einem Tiermodell.

Rodenbäck, Gerold: Experimentelle Untersuchungen zum Einfluss des Prostazyklin-Analogs Iloprost auf die Kontraktilität humaner Vorhofmuskulatur.
Halle, Univ., med. Fak., Diss., 54 Seiten, 2004

INHALTSVERZEICHNIS

Referat und bibliographische Beschreibung

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

1	Einleitung	1
1.1	Diagnostische und therapeutische Optionen bei pulmonaler Hypertonie	1
1.1.1	Regulation der pulmonalen Vasomotorik	3
1.1.2	Iloprost, ein synthetisches Prostaglandin-Derivat zur Senkung des pulmonalen Widerstandes	5
1.2	Hämodynamische Wirkungen von inhalativer Iloprostapplikation	8
2	Zielstellung	10
3	Material und Methoden	11
3.1	Patienten	11
3.2	Chemikalien und Materialien	11
3.2.1	Herstellung der Iloprost-Lösung für die Versuche	11
3.3	Präparation der Vorhoftrabekel	12
3.4	Versuchsaufbau	13
3.5	Statistische Auswertung	16
4	Ergebnisse	18
4.1	Demographische Daten	18
4.2	Qualität der präparierten Vorhoftrabekel	19
4.3	Kontraktilitätsmessungen am isolierten rechten Vorhoftrabekel	20
4.4	Beeinflussung der Kontraktilität durch Störgrößen	26
4.4.1	Trabekelmasse als Störgröße	26
4.4.2	Medikamente als Störgröße	27
5	Diskussion	31
5.1	Methodenkritik	31
5.1.1	Der rechte Vorhof als Modell	31
5.1.2	Technische Limitationen der Organbadversuche	32
5.2	Trabekelpräparate reagieren sehr inhomogen auf Iloprost bzw. auf die Trägerlösung	33
5.3	Iloprost hat keinen positiv inotropen Effekt auf rechtsatriales Myokard	35
5.4	Die Trägerlösung wirkt negativ inotrop auf rechtsatriales Myokard	37

5.5	Ausblick	38
6	Schlussfolgerungen	39
7	Zusammenfassung	40
8	Literaturverzeichnis	41
9	Anlagen	49
9.1	Hämodynamische Parameter	49
	Thesen	51
	Tabellarischer Lebenslauf	52
	Selbständigkeitserklärung	53
	Danksagung	54

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE

ACE	Angiotensin-converting enzyme
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	Zyklisches Guanosinmonophosphat
CI	Cardiac Index
CO	Cardiac Output
EDHF	Endothelium-derived hyperpolarisation factor
HZV	Herzzeitvolumen
IP	Iloprost
KÖF	Körperoberfläche
LCW	Left cardiac work
LCWI	Left cardiac work index
LVEDP	Left ventricular end diastolic pressure
MPAP	Mean pulmonary arterial pressure
n	Anzahl
NO	Stickstoffmonoxid
NO ₂	Stickstoffdioxid
p	Signifikanzniveau
PCWP	Pulmonary capillary wedge pressure
PDE	Phosphodiesterase
PGI ₂	Prostaglandin I ₂
PVR	Pulmonary vascular resistance
SD	Standardabweichung
SV	Schlagvolumen
SVI	Schlagvolumenindex
SVR	Systemic vascular resistance
TPG	Transpulmonaler Gradient
ZVD	Zentralvenöser Druck

1 EINLEITUNG

1.1 Diagnostische und therapeutische Optionen bei pulmonaler Hypertonie

Die pulmonale Hypertonie ist ein Krankheitsbild, das durch eine chronische Erhöhung des pulmonal-arteriellen Mitteldruckes (MPAP) gekennzeichnet ist. Definitionsgemäß wird ein MPAP > 25 mmHg (> 30 mmHg unter Belastung) als Kriterium herangezogen (Schäfers H und Seeger W 2001). Klinisch gekennzeichnet sind die meisten Patienten durch die Trias

- 1) Dyspnoe
- 2) annähernd normales Thorax-Röntgenbild
- 3) annähernd normale Lungenfunktion und Blutgasanalyse

Ätiologisch wird die pulmonale Hypertonie durch die WHO wie folgt eingeteilt:

Tabelle 1 – Einteilung der pulmonalen Hypertonie nach WHO

Pulmonal-arterielle Hypertonie	Primäre pulmonale Hypertonie Pulmonal-arterielle Hypertonie bei Risikofaktoren
Pulmonal-venöse Hypertonie	Linksseitig atriale/ventrikuläre Herzkrankheit Linksseitig valvuläre Herzkrankheit Extrinsische Kompression der zentralen Pulmonalvenen Pulmonale-veno-okklusive Lungenkrankheit
Pulmonale Hypertonie im Rahmen von Lungenerkrankungen und/oder Hypoxämie	Chronisch obstruktive Lungenkrankheit Diffuse-parenchymatöse Lungenkrankheiten Schlaf-assozierte Krankheiten Zentrale alveoläre Hypoventilation Chronische Höhenexposition Neonatale Lungenkrankheiten
Chronische thrombembolische pulmonale Hypertonie	
Pulmonale Hypertonie infolge von Lungengefäßkrankheiten	Entzündlich (Sarkoidose, Histiozytose X) Pulmonale kapilläre Hämangiomatose

Kardiochirurgisch relevant sind v.a. Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz aufgrund einer dilatativen Kardiomyopathie oder einer ischämischen Herzkrankheit. So weisen mehr als die Hälfte der zur Transplantation vorgesehenen Patienten eine pulmonale Hypertonie

mit Erhöhung der pulmonalvaskulären Widerstände von mehr als 2,2 Wood-Einheiten auf (Bourge RC, *et al.*, 1991; Kirklin JK, *et al.*, 1988).

Mehr als ein Viertel aller Todesfälle, innerhalb der ersten drei Monate nach orthotoper Herztransplantation, ereignen sich aufgrund eines Rechtsherzversagens des Spenderorgans, das sich an die bereits präoperativ bestehende pulmonale Hypertonie nicht adäquat adaptieren kann (Tenderich G, *et al.*, 1998). Daher stellen nach den Richtlinien der Bundesärztekammer eine fixierte, d.h. durch Medikamente kaum zu beeinflussende, pulmonale Hypertonie von mehr als $240 \text{ dyn} \times \text{s}/\text{cm}^5$ oder drei Wood-Einheiten und/oder ein transpulmonaler Gradient (TPG) von mehr als 15 mmHg eine Kontraindikation zur Herztransplantation dar (Baldovinos A, *et al.*, 2000). (1 Wood Einheit = $80 \text{ dyn} \times \text{s}/\text{cm}^5$)

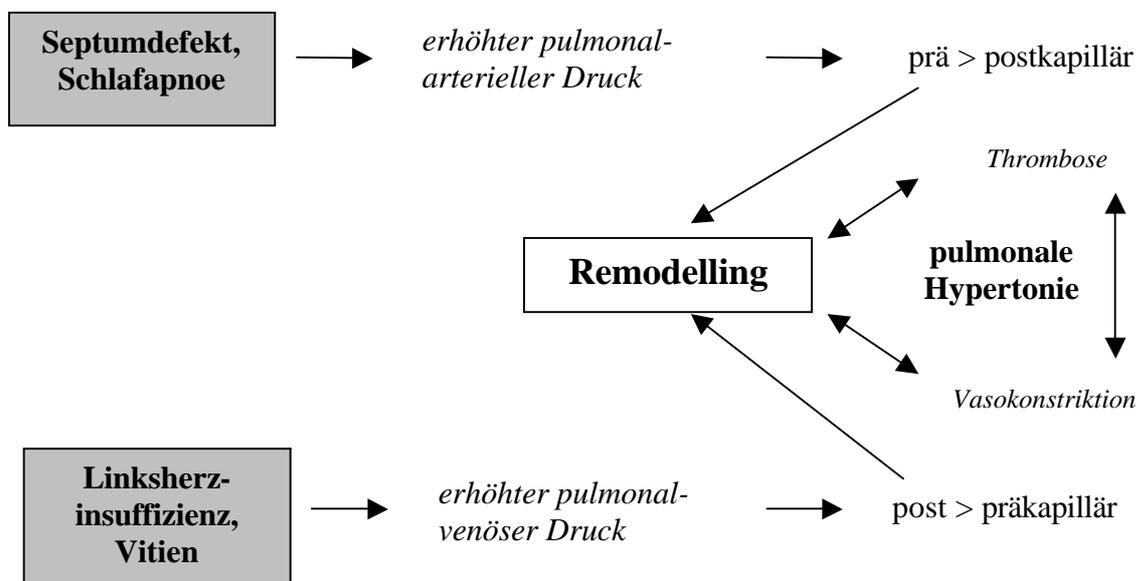


Abb. 1.1 — Schematische Darstellung verschiedener pathophysiologischer Veränderungen im Rahmen der pulmonalen Hypertonie. Zum pulmonalen Remodelling führen verschiedene Krankheitsbilder, die funktionelle und anatomische Veränderungen der Lungengefäße nach sich ziehen. Die pulmonale Hypertonie wird dabei von einer Vasokonstriktion und manchmal kleineren Gefäßthrombosen begleitet. (aus: Siegenthaler, Klinische Pathophysiologie, 8. Auflage, 2001.)

Es ist daher verständlich, nach diagnostischen und therapeutischen Optionen zu suchen, um die Prognose der Patienten günstig zu beeinflussen. Neben der dopplerechokardiographischen Untersuchung und röntgenologischen Bildgebung sowie Untersuchungen zur Lungenfunktion (Spiroergometrie, Blutgasanalyse) hat sich besonders die Rechtsherzkatheteruntersuchung zur Erfassung der hämodynamischen Parameter wie MPAP, TPG und pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR) in der Lungenstrombahn etabliert.

Zusätzlich lässt sich mit dieser Methode die Ansprechbarkeit auf pulmonale Vasodilatoren überprüfen. In der Regel kommen Nitrate, Kalziumantagonisten oder intravenös verabreichbare Prostanoiden zum Einsatz. Damit lässt sich einerseits das Risiko für ein frühpostoperatives Versagen der Spenderherzens annähernd quantifizieren, andererseits die medikamentöse Ansprechbarkeit in der postoperativen Phase abschätzen.

Als entscheidender Nachteil intravenöser pulmonaler Vasodilatoren muss die häufig beobachtbare systemische Hypotension angesehen werden, die den konsequenten Einsatz dieser Substanzen limitiert (Kieler-Jensen N, *et al.*, 1993).

1.1.1 Regulation der pulmonalen Vasomotorik

Die pulmonale Strombahn unterliegt, ähnlich der zerebralen Autoregulation, einem eigenständigen Regulationsmechanismus. Drei vasodilatierende Substanzen spielen eine entscheidende Rolle bei der Relaxation der Gefäßmuskulatur.

- Stickstoffmonoxid, NO: Dieses nur wenige Sekunden stabile Gas vermittelt die pulmonale Vasodilatation und wurde früher als „endothelium-derived relaxing factor“ bezeichnet (Palmer RM, *et al.*, 1987). Die NO-vermittelte Wirkung erfolgt über die Stimulation einer Guanylatzyklase, die zu einem Anstieg des intrazellulären zyklischen Guanosinmonophosphats (cGMP) führt (Furchgott RF und Zawadzki JV 1980). Erstmals wurde 1988 über eine erfolgreiche, selektive Drucksenkung im Pulmonalisstromgebiet bei Patienten mit primärer pulmonaler Hypertonie berichtet (Higenbottam T, *et al.*, 1988). Seither wird NO häufig zur Behandlung bei Patienten mit ARDS oder kongenitalen Herzvitien eingesetzt (Ramsay MA, *et al.*, 1999). Einen Nachteil der NO-Therapie stellt die Methämoglobinbildung dar. Außerdem reagieren nicht alle Patienten auf NO (Non-Responder). Weiterhin kann ein sog. Rebound-Phänomen bei abruptem Absetzen der NO-Therapie beobachtet werden (Atz AM, *et al.*, 1996).
- Prostaglandin I₂: Dieses Produkt des Arachidonsäurestoffwechsels entsteht durch Aktivierung der Cyclooxygenase, die als zentraler Angriffspunkt nichtsteroidaler Antiphlogistika gilt (Bergström S, *et al.*, 1963). Da nur freie Arachidonsäure als Substrat der Cyclooxygenase dienen kann, wird durch Phospholipase A₂ die Membranständigkeit aufgehoben. Die Synthese des funktionell wirksamen PGI₂ erfolgt anschließend in Gefäßendothelien durch die Einwirkung verschiedener Enzyme. Prostaglandin I₂ ist vasodilatierend

im koronaren, mesenchymalen, renalen und pulmonalen Stromgebiet und hemmt die Thrombozytenaggregation. Daneben führt es zu einer Hemmung der Magensäuresekretion und stimuliert die Darmmotilität. In Thrombozyten aktiviert PGI_2 die Adenylatzyklase, was zu einer Erhöhung des intrazellulären cAMP führt.

- Endothelium-derived hyperpolarisation factor, EDHF: Dieser Faktor wurde 1988 erstmals von Feletou und Vanhoutte im Rahmen von Untersuchungen zur Hyperpolarisation von Gefäßendothelien erwähnt und ist seither Gegenstand intensiver Forschung (Feletou M und Vanhoutte PM 1988). Neben den beiden bereits genannten vasodilatativen Mediatoren, existiert ein dritter, durch EDHF induzierbarer Signalweg. Als derzeitige wahrscheinlichste Erklärung führt eine durch verschiedene Ursachen hervorgerufene Hyperpolarisation des Gefäßendothels und der darunter liegenden glatten Gefäßmuskulatur zu einer Vasodilatation (Triggle C und Ding H 2002). Wahrscheinlich werden bestimmte Kalium-Kanäle in der glatten Muskulatur und in den Endothelzellen selbst aktiviert. Aktuell konnte die chemische Natur von EDHF noch nicht geklärt werden. Cytochrom-P450-erzeugte Arachidonsäurederivate und Wasserstoffperoxid wurden z.B. in den letzten Jahren als EDHF angesehen. Für pharmakologische Untersuchungen stehen die wirksamen Inhibitoren der Kalzium-abhängigen Kalium-Kanäle Apamin und Charybdotoxin zur Verfügung. Funktionell wird EDHF als sog. Back-up System bei Ausfall des NO und PGI_2 -Systems angesehen, d.h. es steht auch bei einer endothelialen Dysfunktion ein vasodilatierendes System zur Verfügung. Endothelium-derived hyperpolarisation factor kann im Gegensatz zu NO nicht durch oxidativen Stress inaktiviert werden. Kritisch anzumerken ist jedoch, dass die Rolle von EDHF bisher kaum untersucht wurde und daher über den Stellenwert im Rahmen der pulmonalen Vasomotorik nur spekuliert werden kann (Edwards G, *et al.*, 2001).

Der Anstieg der beiden second-Messenger cAMP und cGMP kann einerseits durch eine direkte Wechselwirkung auf die Myosinkinase andererseits durch Verminderung der freien Kalziumionen im Zytosol eine Vasodilatation bewirken. Sowohl cAMP als auch cGMP haben sehr kurze Halbwertszeiten und werden rasch durch Phosphodiesterasen abgebaut. Eine Hemmung der Phosphodiesterasen, z.B. durch Dipyridamol potenziert diesen Effekt.

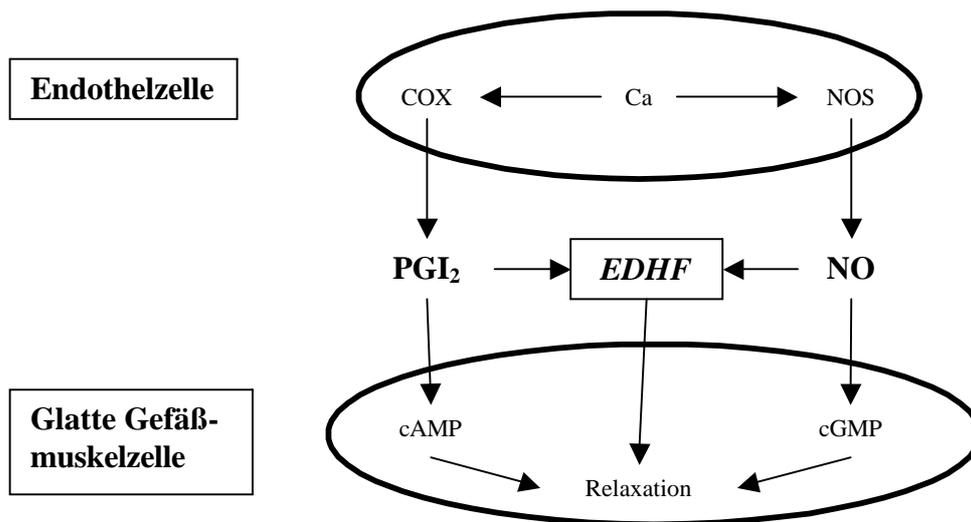


Abb. 1.2 — Schematische Darstellung der Wechselwirkung zwischen Endothel- und glatten Gefäßmuskelzellen. Neben PGI₂ und NO spielt der Endothelium-derived Hyperpolarisation Factor, EDHF eine wichtige Rolle. Besonders bei endothelialer Dysfunktion kann EDHF im Gegensatz zu den beiden erstgenannten Substanzen noch eine Vasodilatation ermöglichen. (aus: Siegenthaler, Klinische Pathophysiologie, 8. Auflage, 2001.)

Vasokonstringierend auf die Lungenstrombahn wirken vor allem Endothelin 1 (ET1), Thromboxan A₂, und Angiotensin II (Schäfers H und Seeger W 2001; Schror K 1992). Daneben haben einige Wachstumsfaktoren, Gerinnungsfaktoren und Entzündungsmediatoren vor allem im Rahmen des pulmonalen Remodellings bei chronischen Lungenerkrankungen eine wichtige Rolle eingenommen. Zu ihnen zählen zum Beispiel Thrombin, der Platelet-derived growth factor, der Tumornekrosefaktor und Interleukin-1. Die im Rahmen der pulmonalen Hypertonie stattfindenden Veränderungen des Lungenendothels und teilweise des Lungenparenchyms führen auch zur verringerten Ansprechbarkeit auf medikamentöse Vasdilatoren wie Iloprost.

1.1.2 Iloprost, ein synthetisches Prostaglandin-Derivat zur Senkung des pulmonalen Widerstandes

Iloprost ist ein synthetisches Carbazyklinderivat des natürlichen Prostaglandin I₂ (Epoprostenol). Nachstehende Abbildung zeigt die chemische Struktur:

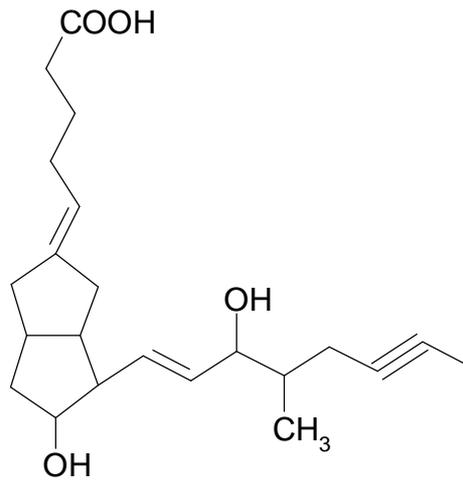


Abb. 1.1 — Chemische Struktur von Iloprost. Durch die Strukturänderungen ergeben sich deutliche pharmakokinetische Unterschiede. Während die Halbwertszeit von PGI_2 bei etwa 30 s liegt, beträgt sie bei Iloprost initial 4 min und nach Metabolisierung etwa 23 min. Während v.a. die Lungenendothelien zur Verstoffwechslung endogener Prostaglandine dienen, wird Iloprost kaum in der Lunge inaktiviert. Das erklärt u.a. auch die hohe Potenz dieses Medikaments. (modifiziert aus: Hentschler, Pharmakologie und Toxikologie, 6. Auflage, 1993)

Ursprünglich aus Samenflüssigkeit isoliert und als Prostatasekret angesehen (daher auch die Namensgebung) zeigte sich, vor allem durch die Arbeiten von Bergström, Samuelsson und Vane, dass PGI_2 der stärkste bekannte endogene Vasodilatator ist (Bergström S, *et al.*, 1963). Neben dieser Eigenschaft hemmt Iloprost in Konzentrationen von 10^{-9} bis 10^{-10} M durch einen Ca^{2+} -abhängigen Mechanismus u.a. die Thrombozytenaggregation (Bugiardini R, *et al.*, 1986; Bugiardini R, *et al.*, 1985; Chiariello M, *et al.*, 1988; Darius H, *et al.*, 1986; Darius H, *et al.*, 1987).

Arachidonsäure bildet die Ausgangssubstanz für die endogene Synthese von Prostazyklinen, Leukotrienen und Thromboxanen. Iloprost hemmt ebenfalls die durch Thrombozyten verursachte Leukozytenaktivierung- und adhäsion und kann somit zu einer Verringerung inflammatorischer Prozesse an Gefäßendothelien und im menschlichen Vollblut führen (Gryglewski RJ 1980; Clapp LH, *et al.*, 2002). Durch Serotonin und Histamin ausgelöste mikrovaskuläre Ödeme konnten, zumindest in vitro, ebenfalls vermindert werden (Muller B, *et al.*, 1987). Klinische Indikationen für Iloprost spiegeln neben dem Einsatz als pulmonaler Vasodilatator dieses angiologische Wirkungsspektrum wieder (Darius H, *et al.*, 1986; Melillo E, *et al.*, 1995; Merritt JE, *et al.*, 1991):

- arterielle Verschlusskrankheit
- Vaskulitiden
- Thrombangitis obliterans

Durch die Verfügbarkeit selektiver, in die pulmonale Strombahn applizierbarer Vasodilatoren, hat sich in den letzten Jahren das Konzept der selektiven pulmonalen Vasodilatation etabliert. Dabei wird das Ventilations-/Perfusionsverhältnis verbessert ohne dabei den systemischen Widerstand stark zu beeinflussen. Wie bereits beschrieben, führt Iloprost zu einer starken Aktivierung der cAMP-abhängigen Adenylatcyclase. Der Vasotonus wird v.a. durch das Zusammenspiel von cAMP, cGMP und Kalzium gesteuert. Hohe Kalziumspiegel führen zu einer Konstriktion glatter Gefäßmuskelzellen und damit zu einer Zunahme des Gefäßtonus. Erhöhte cAMP und cGMP-Spiegel scheinen die Wechselwirkung zwischen den Muskelproteinen Aktin und Myosin zu reduzieren und können damit direkt die Kontraktilität verringern (Metsa-Ketela T 1981). Außerdem wird durch die zyklischen Nukleosidphosphate zytosolisches Kalzium gebunden und steht damit für den Kontraktionsprozeß nicht mehr zur Verfügung. Auch dieser Mechanismus erklärt, warum Iloprost ein potenter Vasodilatator ist (Grant SM und Goa KL 1992).

Iloprost wird durch β - und ω -Oxidation metabolisiert und über verschiedene Zwischenprodukte als Glukuronsäure oder als Schwefelsäure-Konjugat ausgeschieden. Die Metabolite werden zu rund 70 % renal und 30 % biliär eliminiert. Unerwünschte Wirkungen von Iloprost treten bei intravenöser Verabreichung in Konzentrationen von bis zu 2 ng/kg KG /min nicht auf. Das Anwendungsverbot in der Schwangerschaft und Stillzeit resultiert aus der bei Ratten beobachteten Wachstumsretardierung der Akren.

Mittlerweile liegen für die inhalative Langzeitbehandlung von Patienten mehrere Studien vor und bis auf gelegentliche Flush-Phänomene, leichten Hustenreiz und Nausea bei Therapiebeginn zeigten sich keine unerwünschten Wirkungen. Selten wurde über Gelenkschmerzen und Empfindungsstörungen der Zunge berichtet. Aktuell besitzt Iloprost bei der Therapie des akuten respiratorischen Distress-Syndroms (ARDS) und bei bestimmten Formen der pulmonalen Hypertonie einen festen Stellenwert (Walmrath D, *et al.*, 1993; Balzer K, *et al.*, 1991; Fiessinger JN und Schafer M 1990). Die Zulassung von Iloprost als inhalierbares pulmonal-selektives Medikament zur Behandlung der pulmonalen Hypertonie wurde vor allem aufgrund der Ergebnisse der AIR-Studie erteilt (Olschewski H, *et al.*, 2002).

Ein Vorteil der inhalativen Iloprost-Applikation ist die mögliche intermittierende Gabe, welche weiterhin nicht an eine maschinelle oder zumindest nicht-invasive Beatmungsformen zwingend gebunden ist.

1.2 Hämodynamische Wirkungen von inhalativer Iloprostapplikation

Die in unserer Klinik durchgeführten Studien zur Evaluation von Iloprost bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie im Rahmen der Evaluation zur Herztransplantation zeigten, dass die inhalative Gabe von 50 µg Iloprost aerosol bei 29 männlichen Patienten mit ischämischer bzw. dilatativer Kardiomyopathie den pulmonalen Widerstandsindex (PVRI) und den mittleren pulmonalen Druck senken konnte (Sablitzki A, *et al.*, 2003; Sablitzki A, *et al.*, 2002a; Sablitzki A, *et al.*, 2002b). Der systemische arterielle Mitteldruck und der systemische Widerstand blieben dagegen unverändert. Es konnte zusätzlich eine Zunahme des Cardiac Index und eine Abnahme des pulmonalen kapillären Verschlussdrucks beobachtet werden.

Im direkten Vergleich mit Stickstoffmonoxid, einem ebenfalls potenten pulmonalen Vasodilatator, konnte Iloprost sowohl MPAP als auch PVR deutlich stärker senken als Stickstoffmonoxid. Der MPAP war um 9 % niedriger als unter der wirksamsten NO-Konzentration und der PCWP war knapp 13 % niedriger als unter optimaler NO-Konzentration.

Iloprost erzielte darüber hinaus eine signifikante Steigerung aller kalkulierten Indices der Linksherzarbeit: Linksherzarbeit (LCW), Linksherzarbeitsindex (LCWI), linksventrikuläre Auswurfleistung (LVS_W) und linksventrikulärer Auswurfsarbeitsindex (LVS_{WI}) (Sablitzki A, *et al.*, 2002a). Trotz einiger methodischer Einschränkungen lassen unsere Studien den Schluß zu, dass die linksventrikuläre Vorlast unter inhalativer Vasodilatation vermindert wird. Trotzdem kam es zu einer Zunahme des Schlagvolumens. Diese Tatsache lässt sich nicht hinreichend durch den Frank-Starling-Mechanismus erklären. Insuffiziente Ventrikel, wie die unserer untersuchten Patienten, zeigen einen insgesamt abgeflachten Kurvenverlauf. Physiologisch führen daher Veränderungen der Vorlast zu weitaus geringeren Änderungen der Auswurfleistung als beim Herzgesunden. In den Studien unserer Klinik ist es daher unwahrscheinlich, dass die Zunahme des Schlagvolumens durch Änderungen der Vorlast bedingt war.

Es lag daher die Vermutung nahe, dass Iloprost einen direkten positiv inotropen Effekt auf das Herz ausübt. Vorstellbar wäre, dass Iloprost zum Teil ausgewaschen wird und durch die systemische Zirkulation in den linken Ventrikel gerät. Diese Vermutung bildet die Grundlage für die Arbeitshypothese dieser Dissertation. Tierexperimentell im Schwein konnte übrigens diese Annahme durch eine Arbeitsgruppe für inhalatives Iloprost

nachgewiesen werden (Bruhn S, *et al.*, 2001). Studien am humanen Myokard wurden bisher jedoch noch nicht durchgeführt.

2 ZIELSTELLUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde humanes Vorhofmyokard während herzchirurgischer Operationen gewonnen und in den Versuchen eingesetzt.

Arbeitshypothese war die Vermutung, dass Iloprost einen direkt positiv inotropen Effekt auf humanes Vorhofmyokard ausübt.

Grundlage dieser Hypothese bildete die Beobachtung, dass inhalativ appliziertes Iloprost bei Patienten mit erhöhten pulmonal-arteriellen Mitteldrücken und Widerständen diese nicht nur reduzieren kann, sondern zusätzlich zu einer Senkung der linksventrikulären Vorlast führt. Trotzdem kam es zu einer Steigerung des linksventrikulären Schlagvolumens und zu einer Zunahme der linksventrikulären Arbeitsindices.

Zunächst sollte geprüft werden, ob die konzentrationsabhängige Stimulation von humanem Vorhofmyokard im Organbad zu einer Zunahme der Kontraktilität führt. Folgenden Teilaspekten wurde besondere Beachtung geschenkt:

- 1) Anhand der Ansprechrate auf eine Iloprost-Stimulation sollte herausgefunden werden, ob es besonders günstige kardiale Ausgangsbedingungen für eine Iloprost-Therapie gibt.
- 2) In welchen Konzentrationsbereichen lässt sich eine besonders effiziente Inotropie beobachten?
- 3) Gibt es, ähnlich wie bei der Inhalation mit NO, auch kardiale Non-Responder, die nicht auf Iloprost ansprechen?
- 4) Wie lange lässt sich eine positive Inotropie beobachten?
- 5) Ist der gewählte Versuchsaufbau im Organbad eine geeignete experimentelle Umgebung, um unsere Arbeitshypothese zu testen?
- 6) Spiegeln die erzielten Resultate am Vorhofmyokard die Situation am linken Ventrikel wieder oder können nur eingeschränkte Aussagen getroffen werden?

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Patienten

Insgesamt wurden von 22 Patienten humanes Vorhofmyokard des rechten Vorhofes während des kardio-chirurgischen Eingriffes entnommen und für die Untersuchungen verwendet. Dabei handelte es sich um Teile des rechten Vorhofes, welches für die venöse Kanülierung entfernt wurde.

Alle Patienten wurden vor der Operation ausführlich über die wissenschaftlichen Untersuchungen mit dem entnommenen Gewebe informiert. Von allen Patienten liegt eine schriftliche Einverständniserklärung (informed consent) vor. Die Entnahme von Teilen des Vorhofmyokards wurde durch ein positives Votum der Ethikkommission der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg bewilligt.

3.2 Chemikalien und Materialien

Tabelle 2.1 – Eingesetzte Chemikalien und Materialien

NaCl	Merck, Darmstadt
KCl	Merck, Darmstadt
MgCl ₂	Merck, Darmstadt
NaHCO ₃	Merck, Darmstadt
Iloprost (Iloprost™)	Schering AG, Berlin
Grobwaage PZ 2100	Sartorius, Göttingen
Feinwaage CBP 210S	Sartorius, Göttingen
Verstärker Servomed	Hellige
Stimulator 215/II	Hugo Sachs Elektrotechnik
Schreiber Servorec 460	Gossen Metrawatt
Wegaufnehmer/Transducer	Eigenproduktion
Doppelwandorganbäder	Eigenproduktion
Thermostat	Lambda

3.2.1 Herstellung der Iloprost-Lösung für die Versuche

Iloprost wurde von der Fa. Schering, Berlin, bezogen. Wirkstoff und Trägerlösung wurden in getrennten Ampullen geliefert. Eine Ampulle Iloprost enthielt 0,027 Iloprost-Trometamol, Ethanol 96 % (v/v), Natriumchlorid, Salzsäure 3,65 %, Wasser für Injektionszwecke. Vor Versuchsbeginn wurden der Wirkstoff in der Trägerlösung gemischt

und mit Tyrodelösung in der gewünschten Konzentration verdünnt. Leider ist die genaue Zusammensetzung der Trägerlösung öffentlich nicht zugänglich und so wurde die Trägerlösung — wie Iloprost — mit Tyrodelösung gemischt und diente als Kontrolle. Das bedeutete, dass die Konzentrationen an Trägerlösung für jede angegebene Badkonzentration sowohl in der Verum- als auch Kontrollgruppe identisch war.

Tab. 2.3 — Verdünnungsreihe für die Herstellung der Organbadexperimente

<i>Tube-Nr.</i>	<i>Iloprost 20 µg/ml [µl]</i>	<i>Tyrodepuffer [µl]</i>	<i>Menge/10 ml Bad [µl]</i>	<i>Badkonzentration</i>
1	100 Original	0	45	100 ng/ml
2	30 µl aus Tube 1 1:1	30	9	10 ng/ml
3	10 µl aus Tube 2 1:10	90	7	1 ng/ml
4	10 µl aus Tube 3 1:100	90	20 7	300 pg/ml 100 pg/ml
5	10 µl aus Tube 4 1:1000	90	20 9	30 pg/ml 10 pg/ml
6	10 µl aus Tube 5 1:10000	90	10	1 pg/ml

Begonnen wurde mit der kleinsten Konzentration, d.h. mit der Lösung aus Tube-Nr. 6.

3.3 Präparation der Vorhoftrabekel

Insgesamt wurden von 22 Patienten Teile des rechten Vorhofohres entfernt. Einschlusskriterien für die Benutzung der rechten Vorhöfe waren:

- Elektiv-Operation
- Sinusrhythmus
- Bypassoperation oder kombinierte Bypassoperation mit Aortenklappenersatz

Für die Messung der Kontraktion konnten Trabekel aller 22 präparierten Vorhöfe verwendet werden. Ausschlusskriterien zur Benutzung der Vorhöfe waren:

- Vorbestehende absolute Arrhythmie
- Voroperationen am Herzen
- Erkrankungen der Mitralklappe
- Notfalloperationen

Unmittelbar nach Entfernung von Anteilen der rechten Atria wurden diese in körperwarmer heparinierter Vollblutlösung überführt und in das Versuchslabor transportiert und in oxygeniertem Tyrode-Puffer (s.u.) inkubiert. Die Experimente zur Messung der Inotropie erfolgten im Durchschnitt 60 min nach operativer Entfernung des rechten Vorhofes.

Die eigentliche Präparation der Vorhoftrabekel erfolgte in oxygenierter Tyrode-Lösung (mmol/l: NaCl 119,8; KCl 5,4; CaCl₂ 1,8; MgSO₄ 1,05; NaH₂PO₄ 0,42; NaHCO₃ 23,5; Glukose 5,05; EDTA 0,05; Ascorbinsäure 0,28) bei Raumtemperatur, um eine inadäquate Oxygenierung zu verhindern.

Die rechten Vorhöfe wurden so präpariert, dass Trabekel von 4 – 5 mm Länge und ≤ 1 mm Durchmesser gewonnen werden konnte. Es sollte nach Möglichkeit keine mechanische Belastung (Zug, Scherkräfte) auf die Trabekel ausgeübt werden, um die Kontraktilität zu erhalten. Anhaftendes kardiales Gewebe wurde unter Schonung des die Trabekel bedeckenden Endokards entfernt. Die präparierten Trabekel konnten nur dann benutzt werden, wenn mindestens zwei funktionstüchtige Trabekel-Muskelstreifen gewonnen werden konnten.

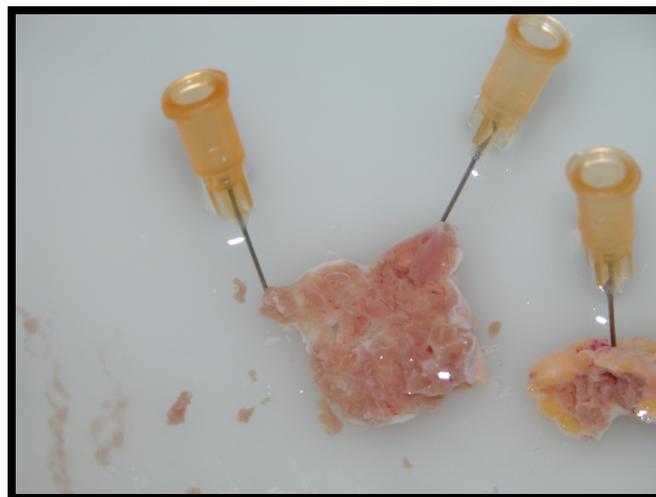


Abb. 2.1 — Ein gewonnenes Präparat eines rechten Vorhofes. Man beachte die im Vergleich zum linken Ventrikel recht dünn ausgeprägte Muskulatur. Zur besseren Präparierbarkeit wurden die Vorhöfe mit feinen Nadeln fixiert.

Funktionierende Trabekel wurden an den Enden an einem Haken mit dünnem Faden fixiert und in die Messapparatur eingehängt.

3.4 Versuchsaufbau

Stammlösung A:	2,99 M	NaCl
	0,13 M	KCl

	1,05 M	MgCl ₂
	2,25 M	CaCl ₂
Stammlösung B:	0,59 M	NaHCO ₃
Stammlösung C:	0,042 M	NaH ₂ PO ₄

Für die Herstellung der Tyrode-Lösung wurden 40 ml Stammlösung A mit 38 ml Stammlösung B und 41 ml Stammlösung C gemischt. Anschließend wurde durch Zugabe von EDTA eine Endkonzentration von 0,05 mmol/l und durch Zugabe von Ascobinsäure eine Endkonzentration von 0,28 mmol/l hergestellt. Die Endkonzentration von Glucose wurde auf 5,05 mmol/l adjustiert.

Die Erfassung der Kontraktilität der Vorhoftrabekel erfolgte in einer Apparatur, die eine dynamische Kraftmessung ermöglichte. In der nachfolgenden Abbildung ist zum besseren Verständnis ein vergrößerter Ausschnitt aus der Apparatur dargestellt.



Abb. 2.2 — Versuchsanordnung zur Erfassung der Kontraktionskraft humaner kardialer Vorhofmuskulatur. Zur schnelleren und effizienteren Versuchsdurchführung sind vier Messeinrichtungen parallel nebeneinander angeordnet. Alle gemessenen Signale in den jeweiligen Apparaturen können durch eigene Messverstärker unterschiedlich stark verstärkt werden.

Es befinden sich in einem Stativ zwei Aufhängungspunkte, in die das Präparat eingehängt wird. Ein Aufhängepunkt ist fest fixiert, während der andere mit einem Kraftaufnehmer gekoppelt ist. Dieser kann dynamisch die auftretenden Kraftänderungen messen und in elektrische Signale umwandeln. Eine konstante Temperatur wird durch ein Thermostat geregelt und die Tyrodelösung kann durch eine Gasfritte kontinuierlich mit CO₂ begast werden. Aufgrund starker individueller Unterschiede müssen die gemessenen Signale unterschiedlich verstärkt werden. Zur Dokumentation der Messwerte wurde ein Schnellschreiber verwendet, der die gemessenen Kraftverläufe im zeitlichen Verlauf dokumentiert. Die Messwerte wurden nach Abzug der Vorspannung dokumentiert.



Abb. 2.3 — Vergrößerte Darstellung der eigentlichen Messkammer. Sie besteht aus einem doppelwandigen Gefäß (Funktion als Wärmekammer) und kann durch eine Gasfritte im Boden kontinuierlich begast werden. Die Gefäße enthielten 10 ml Tyrode-Lösung. Die Temperatur wurde kontinuierlich mit einem Pumpsystem und einem Thermostat auf 37 °C konstant gehalten.

Inotrope Substanzen erhöhen die Kontraktionskraft eines Muskels, d.h. bei elektrischer Stimulation mit einem identischen Reiz führt eine inotrope Substanz zu einer Zunahme der gemessenen Kraft. Die in diesen Versuchen benutzten Trabekelpräparate wurden mit einem rechteckigen elektrischen Gleichspannungspuls von 1 Hz über 5 ms stimuliert. Die Höhe des Reizes lag dabei etwa 20 % über der Reizschwelle (Mittelwert 8 V, Range 3 – 12 V). Die gemessenen Kraftwerte wurden unter Abzug der Vorspannung von 4,9 mN aufgezeichnet.

Nach Einhängen der Präparate in die Messapparatur, wurden über 60 min eine Äquilibration im Tyrodebad vorgenommen. Während dieser Phase wurde die Tyrode-

Lösung alle 10 min gewechselt. Mit diesem Vorgehen können anhaftende Eiweißreste (oft an Schaumbildung erkennbar) und ggf. vorhandene Medikamentenreste ausgespült werden. Nach Ablauf der angegebenen Äquilibration und einer erfolgten Kontrollregistrierung wurde Iloprost in Trägerlösung für jeweils 10 min mit der kleinsten Konzentration beginnend in das Tyrodebad mit Vorhofmuskulatur gegeben. Folgende Konzentrationen [pg/ml] wurden eingesetzt:

0, 1, 10, 30, 100, 300, 1000, 10000, 100000.

Da insgesamt vier Messapparaturen zur Verfügung standen, konnten die Versuche mit je zwei Trabekelpräparaten in der Versuchs- und je zwei in der Kontrollgruppe durchgeführt werden. Die Kontrollgruppe wurde mit Iloprost-Trägerlösung allein stimuliert. Die »Konzentration« war die gleiche wie die Iloprost-Lösung nur ohne Wirkstoff.

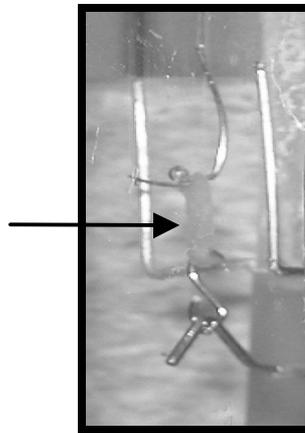


Abb. 2.4 — Darstellung des eingehängten Trabekels (siehe Pfeilspitze) im doppelwandigen Organbadgefäß. Das distale Ende wurde durch ein Gewicht fixiert. Proximal dient eine Nadel zur Fixierung des Trabekels an den Kraftaufnehmer.

Während der Iloprost-Behandlung wurden über den Schreiber die Messwerte aufgezeichnet. Die Stimulation aller vier Trabekelpräparate einer Versuchserie mit 10^{-7} M Isoprenalin als stark wirksame inotrope Substanz wurde zum Abschluss durchgeführt, um einen Gesamteindruck über die maximal mögliche Kontraktilität der verwendeten Präparate zu bekommen.

3.5 Statistische Auswertung

Die gemessenen Werte wurden in ein Excel-Tabelle übertragen (Microsoft Corp., Redmond, USA). Mittels der deskriptiven Statistik wurden statistische Kenngrößen wie Mittelwert, Standardabweichung, Median und Konfidenzintervalle berechnet. Statistische Gruppenunterschiede zwischen Kontroll- und Wirkstoffgruppe wurden nach Prüfung auf

Normalverteilung mit parametrischen Verfahren (t-Test für unverbundene Stichproben \pm Welch-Korrektur falls Standardabweichungen in den Stichproben signifikant unterschiedlich waren) berechnet. Teilweise kam bei nicht-normalverteilten Werten, der Mann-Whitney-White-Test zum Einsatz. Unterschiede innerhalb einer Gruppe, z.B. der Kontrollgruppe, wurden zunächst mit einer Varianzanalyse für mehrfache Messungen ausgewertet und ein post-Test (Tukey-Kramer für multiple Vergleiche) wurde nur dann eingesetzt, wenn $p < 0,05$ in der Varianzanalyse erreicht wurde.

Als statistische Software kam InStat (GraphPad Inc., SanDiego, USA) und SPSS 11.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) zum Einsatz. Die graphische Darstellung erfolgte mit Origin 6.0 (Microcal Inc., Northhampton, USA).

Alle p-Werte sind zweiseitig angegeben und wenn nicht anders aufgeführt handelt es sich immer um Angaben des Mittelwertes \pm Standardabweichung. Als Signifikanzniveau wurde stets $p < 0,05$ angenommen.

4 ERGEBNISSE

4.1 Demographische Daten

Die demographischen Daten der 22 Patienten, denen das rechte Vorhofohr entnommen wurde, sind in den folgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 4.1 – Demographische Daten

<i>Parameter</i>	<i>Wert</i>
Alter	58 ± 11 Jahre, Median: 60,5 Jahre
Größe	170 ± 10 cm, Median: 170 cm
Gewicht	84 ± 11 kg, Median: 85 kg
Geschlecht	
Männer	17
Frauen	5
NYHA-Stadium	
I	1
II	17
III	3
IV	1
CCS-Stadium	
I	2
II	13
III	7
Koronare Herzkrankheit	17
Aortenklappenerkrankung	2
Kombination	3

Um zu untersuchen, ob vorbestehende Veränderungen der kardialen Leistungsfähigkeit zu einem unterschiedlichen Ansprechverhalten auf eine Iloprostgabe reagieren, wurden die während der präoperativen Herzkatheteruntersuchung erhobenen Daten Herzindex, Auswurfraction und Schlagvolumen ebenfalls dokumentiert.

Tabelle 4.2 – Präoperativ erhobene kardiale Leistungsparameter

<i>Parameter</i>	<i>Wert</i>
Auswurfraction	57 ± 16 %, Median: 61 %
Herzindex	2,48 ± 0,72, Median: 2,49 (1,60 – 4,82) l/(min x m ²)
Schlagvolumen	4,92 ± 1,46, Median: 4,65 (3,10 – 9,70) l/min
Systemischer Widerstand	1180 ± 412 dyn x s/cm ⁵ , Median: 1216 (320 – 1146)
Pulmonaler Widerstand	131 ± 67 dyn x s/cm ⁵ , Median: 112 (68 – 297)
Schlagvolumenindex	38 ± 9 ml/m ² , Median: 38 (n = 9)
Enddiastolisches Volumen	162 ± 81 ml, Median: 134 (n = 13)
Zentralvenöser Druck	5,76 ± 3,05 mm Hg, Median: 5 (n = 17)
Herzfrequenz	72 ± 14 1/min, Median: 69 (n = 10)

4.2 Qualität der präparierten Vorhoftrabekel

Die Qualität der präparierten Trabekel spielt eine wichtige Rolle für den Versuch, denn kaum kontraktile Trabekel erlauben keine Aussage über den Einfluss einer inotropen Substanz. Zum Zweck der Beurteilung der gewonnenen Trabekel wurden diese vor Beginn des eigentlichen Versuches, während der Äquilibrationsphase, auf ihre Qualität hin geprüft. Wichtigstes Kriterium war eine ausreichend erhalten gebliebene Kontraktilität.

Tabelle 4.3 – Zuordnung der präparierten Trabekel zu funktionellen Klassen

<i>Klasse</i>	<i>Anzahl</i>	<i>%</i>
I (sehr gut kontraktile)	6	6,8
II (mäßig bis gut kontraktile)	72	81,8
III (schlecht kontraktile)	10	11,4
<i>Summe</i>	88	100

Annähernd 90 % der präparierten Trabekel zeigten eine funktionell erhaltene Kontraktilität und 11 % der Trabekel eine schlechte Kontraktilität. Keiner der präparierten Trabekel war

funktionslos. Insgesamt konnte somit eine für die Versuchsdurchführung brauchbare Trabekelpopulation gewonnen werden.

Aus Tabelle 4.3 lassen sich jedoch bezüglich des Funktionserhaltes während der Stimulation mit Iloprost bzw. Trägerlösung keine Aussagen machen.

4.3 Kontraktilitätsmessungen am isolierten rechten Vorhoftrabekel

Organbadversuche stellen eine Möglichkeit zur Messung möglicher inotroper Effekte von Substanzen auf isolierte Muskulatur dar. Im von uns gewählten Versuchsaufbau wurden die vier präparierten Trabekel eines Vorhofohres von je einem Patienten mit Iloprost bzw. Iloprost-Trägerlösung (je zwei Trabekel mit Trägerlösung bzw. Wirkstoff) inkubiert und die Kontraktilität in Form der gemessenen Kraft (abgeleitet aus der Muskelverkürzung während der Kontraktion) aufgezeichnet. Die maximal mögliche Kontraktionskraft wurde mit Isoprenalin, einer stark wirksamen inotropen Substanz, im Anschluß an die Stimulation mit Iloprost bzw. Trägerlösung bestimmt.

Die gemessenen Kräfte sind als Mittelwert \pm Standardabweichung nachfolgend aufgelistet:

Tabelle 4.3 — Kraftmessung [mN] während der Stimulation mit Iloprost

<i>Konzentration</i> [pg/ml]	<i>Kontrolle</i> (n = 44 Trabekel)	<i>Iloprost</i> (n = 44 Trabekel)	<i>p-Wert</i>
0	3,48 \pm 1,91	3,93 \pm 2,29	0,48
1E0 (1)	3,32 \pm 1,83	3,82 \pm 2,35	0,43
1E1 (10)	3,12 \pm 1,77	3,77 \pm 2,30	0,30
3E1 (30)	2,94 \pm 1,73	3,41 \pm 2,28	0,44
1E2 (100)	2,74 \pm 1,64	3,21 \pm 2,28	0,43
3E2 (300)	2,59 \pm 1,64	2,97 \pm 2,16	0,50
1E3 (1000)	2,44 \pm 1,59	2,85 \pm 2,12	0,50
1E4(10000)	2,29 \pm 1,58	2,79 \pm 2,33	0,41 ¹
1E5(100000)	2,12 \pm 1,50	2,87 \pm 2,51	0,23 ¹
Isoprenalin 10 ⁻⁷ M	7,55 \pm 2,66	7,61 \pm 2,72	0,95

Anmerkung: ¹t-Test zwischen den beiden Subgruppen wurde mit Welch-Korrektur ausgeführt, da die Standardabweichungen zwischen Kontroll- und Iloprostgruppe sich signifikant (p = 0,016 bzw. p = 0,032) unterschieden.

Obwohl sich für keine der getesteten Konzentrationen zwischen der Kontroll- und Iloprost-Gruppe eine statistische Signifikanz errechnen ließ, finden sich innerhalb der beiden Gruppen statistische Unterschiede ($p < 0,0001$, ANOVA mit post hoc-Test). Es fällt auf, dass mit zunehmenden Iloprost-Konzentrationen, aber auch in der Kontrollgruppe mit Iloprost-Trägerlösung, die gemessene Kontraktionskraft während der Versuchsdauer tendenziell eher abnimmt. In der Kontrollgruppe sind alle gemessenen Kontraktionskräfte bei Stimulation mit Konzentrationen $> 10^1$ pg/ml und in der mit Iloprost behandelten Gruppe $> 10^2$ pg/ml gegenüber dem Ausgangswert (0 pg/ml) statistisch signifikant erniedrigt (mindestens $p < 0,05$).

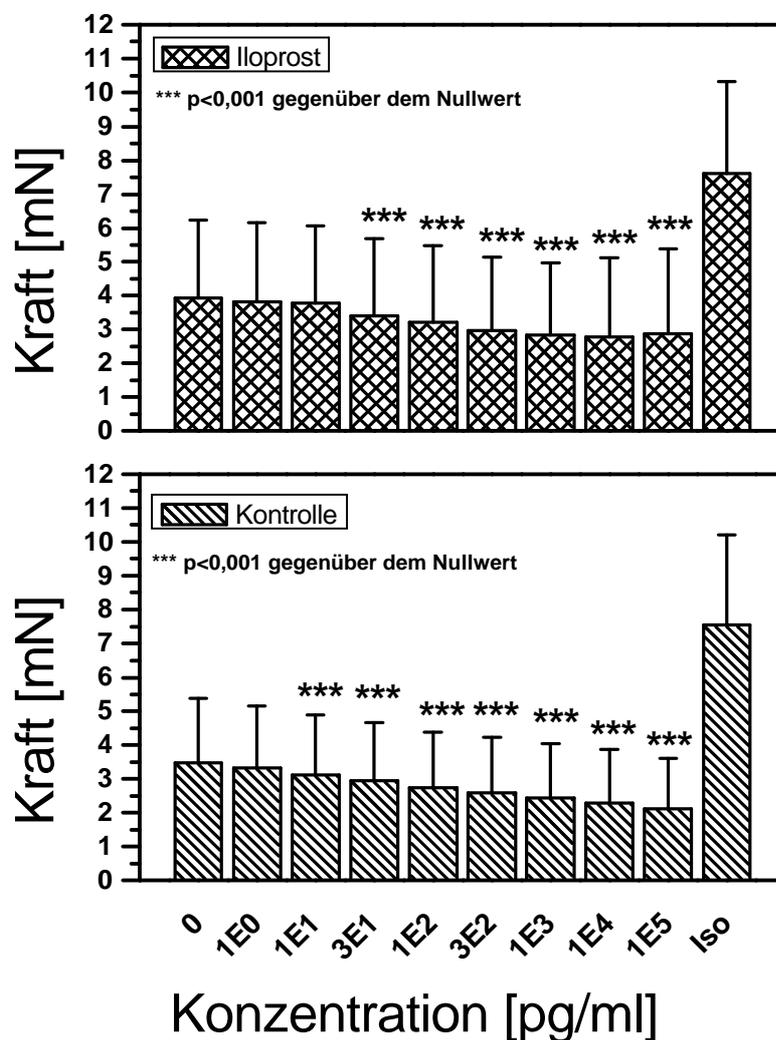


Abb. 4.1 — Graphische Darstellung der gemessenen Kräfte unter Iloprost-Stimulation im Vergleich zur Kontrollgruppe (Iloprost-Trägerlösung). Die maximale mögliche Kontraktionskraft für den jeweiligen Trabekel wurde im Anschluß an die Iloprost-Stimulation bzw. Iloprost-Trägerlösung mit 10^{-7} M Isoprenalin (Iso) induziert. Werte als Mittelwert \pm SD aufgeführt, statistische Vergleiche innerhalb der Gruppen mit Varianzanalyse für Mehrfachmessungen und anschließendem post hoc Test Tukey-Kramer. *** $p < 0,001$ gegenüber dem Nullwert.

Die maximal mögliche Kontraktionskraft der einzelnen Trabekel wurde mit 10^{-7} M Isoprenalin, einer stark positiv inotropen Substanz nach Abschluss der Messungen mit Iloprost und der Trägerlösung gemessen. Sie ist im Vergleich zu unstimulierten Trabekeln in Verum- und Kontrollgruppe (Nullwert) annähernd doppelt so hoch ($p < 0,05$).

In einer linearen Regressionsanalyse fanden sich für die Kurvenverläufe in Kontroll- und Verumgruppe folgende Geradengleichungen:

- Kontrollgruppe: $y = -0,17x + 3,46$
- Iloprostgruppe: $y = -0,16x + 3,92$

Praktisch verlaufen aufgrund der gleichen Steigung damit beide Geraden im untersuchten Konzentrationsbereich fast parallel, lediglich der Schnittpunkt mit der y-Achse ist unterschiedlich. Iloprost führt in dieser Versuchsreihe somit weder zu einer positiven noch negativen Wirkung.

Weiterhin sind sofort anhand der Standardabweichungen die relativ hohen Schwankungen innerhalb der gemessenen Werte ersichtlich. Um dies noch besser zu verdeutlichen, wurden die Messwerte der Iloprost- und Kontrollgruppe als Box- und Whisker-Plots dargestellt.

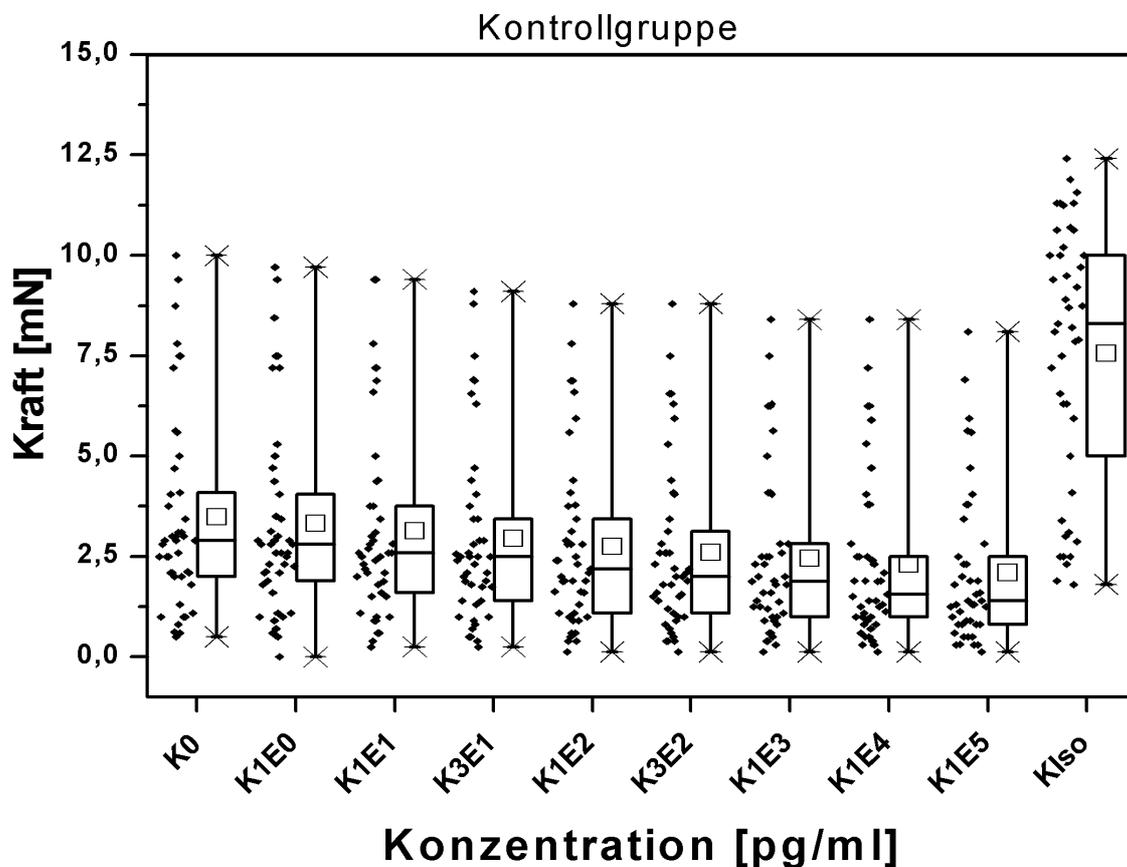


Abb. 4.2 — Darstellung aller Messwerte (jeweils $n = 44$ pro Stimulationszeitpunkt) der Kontrollgruppe in einem Box- und Whisker-Diagramm. Die einzelnen Messwerte sind links neben den Whiskers

aufgeführt. Oberer und unterer Rand der Boxen geben die 75. bzw. 25. Perzentile an, der Median ist durch einen Querstrich in der Box dargestellt. Anhand der Lage des Medians kann man abschätzen, ob es sich um eine symmetrische oder um eine schiefe Population handelt. Das kleine Symbol (\square) in der Box zeigt den Mittelwert auf. Die Whiskers (lange Striche an den Boxen) zeigen hier das 1-99 % Perzentil an. Man beachte auch die schiefen Verteilungen innerhalb der Boxen, z.B. bei K1E4, K1E5 und KIso.

Aus obigem Diagramm wird sofort eine Problematik des Versuchsaufbaues deutlich. Obwohl von einem Vorhofohr eines Patienten jeweils zwei Trabekel in die Kontroll- und zwei Trabekel in die Verumgruppe zugeteilt worden sind, streuen die Messwerte aller gemessenen Kräfte zu einem bestimmten Messzeitpunkt, z.B. bei 300 pg/ml, ganz erheblich. Auch die vier Trabekel eines einzigen Patienten können ganz unterschiedlich reagieren. In der Verumgruppe ergab sich ein sehr ähnliches Bild. Ein kleiner Unterschied findet sich lediglich im Ausmaß der Streuung.

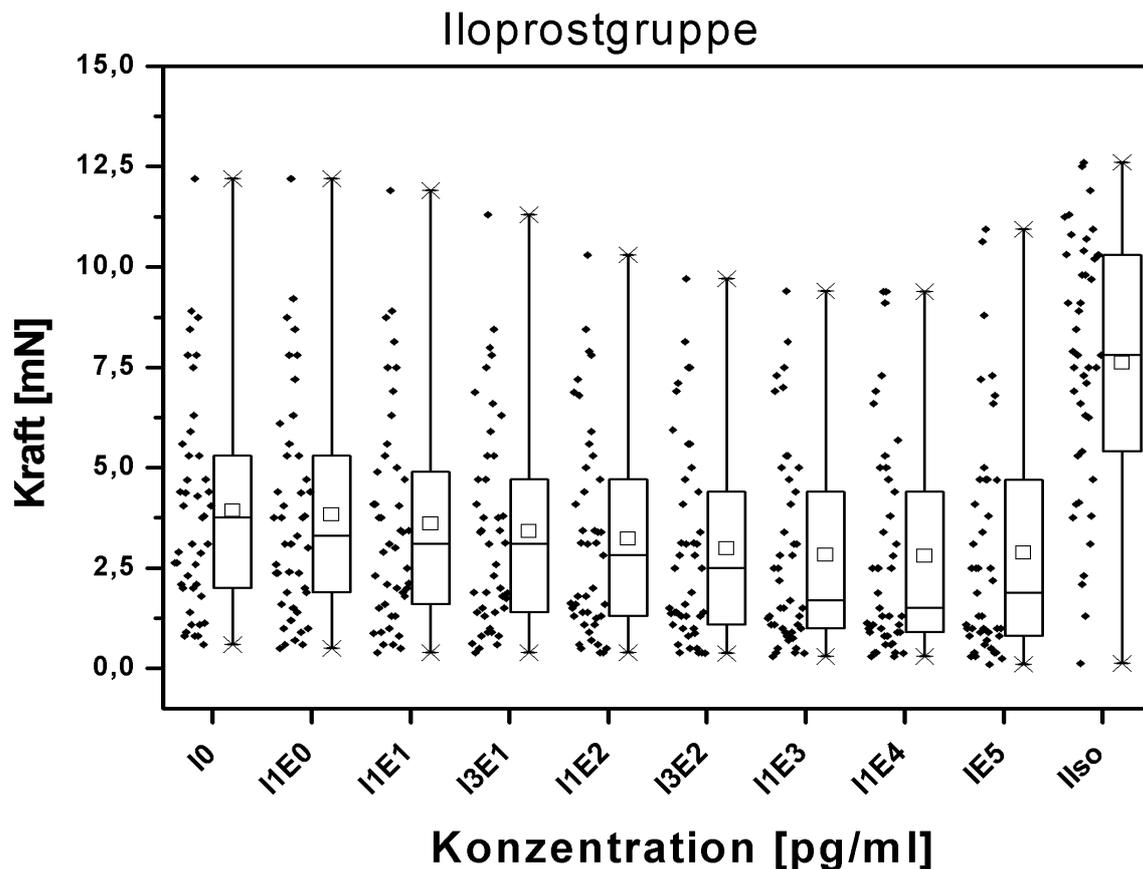


Abb. 4.3 — Box- und Whisker-Diagramm aller Messwerte in der Iloprost-Gruppe. (\square) Mittelwert, (-) Median, (*) Begrenzung hier der 99. und 1. Perzentile. Die Boxen werden von den Quartilen begrenzt.

Aufgrund der starken Streuung in Kontroll- und Verumgruppe wurde das Verhältnis der gemessenen Kräfte bei einer bestimmten Konzentration zur maximal möglichen Kraft eines jeden Trabekels nach Isoprenalin-Stimulation berechnet. Jedoch zeigt sich auch hier kein

Unterschied zwischen beiden Gruppen, d.h. Kontrolle und Iloprost unterscheiden sich statistisch nicht (Tabelle 4.3). Iloprost führt nicht zu einer Zunahme der Kontraktionskraft im betrachteten Konzentrationsbereich, sondern ähnlich der Stimulation mit Trägerlösung ohne Verum zu einer messbaren Abnahme der Kontraktilität.

Tabelle 4.3 — Vergleich der Verhältnisse gemessene Kraft/Maximalkraft zwischen Kontroll- und Verumgruppe

<i>Konzentration [pg/ml]</i>	<i>Kontrolle</i> <i>(n = 44 Trabekel)</i>	<i>Iloprost</i> <i>(n = 44 Trabekel)</i>	<i>p-Wert</i>
0	0,45 ± 0,19	0,53 ± 0,25	0,28
1E0 (1)	0,43 ± 0,18	0,51 ± 0,25	0,24
1E1 (10)	0,41 ± 0,17	0,51 ± 0,25	0,13
3E1 (30)	0,38 ± 0,17	0,45 ± 0,23	0,29
1E2 (100)	0,35 ± 0,15	0,42 ± 0,23	0,26 ¹
3E2 (300)	0,33 ± 0,15	0,38 ± 0,22	0,37
1E3 (1000)	0,31 ± 0,15	0,36 ± 0,21	0,41
1E4(10000)	0,29 ± 0,15	0,35 ± 0,23	0,31 ¹
1E5(100000)	0,27 ± 0,15	0,35 ± 0,23	0,16 ¹
Isoprenalin 10 ⁻⁷ M	1	1	

Anmerkung: ¹t-Test wurde mit Welch-Korrektur durchgeführt, da sich die Standardabweichungen signifikant unterschieden (p = 0,032).

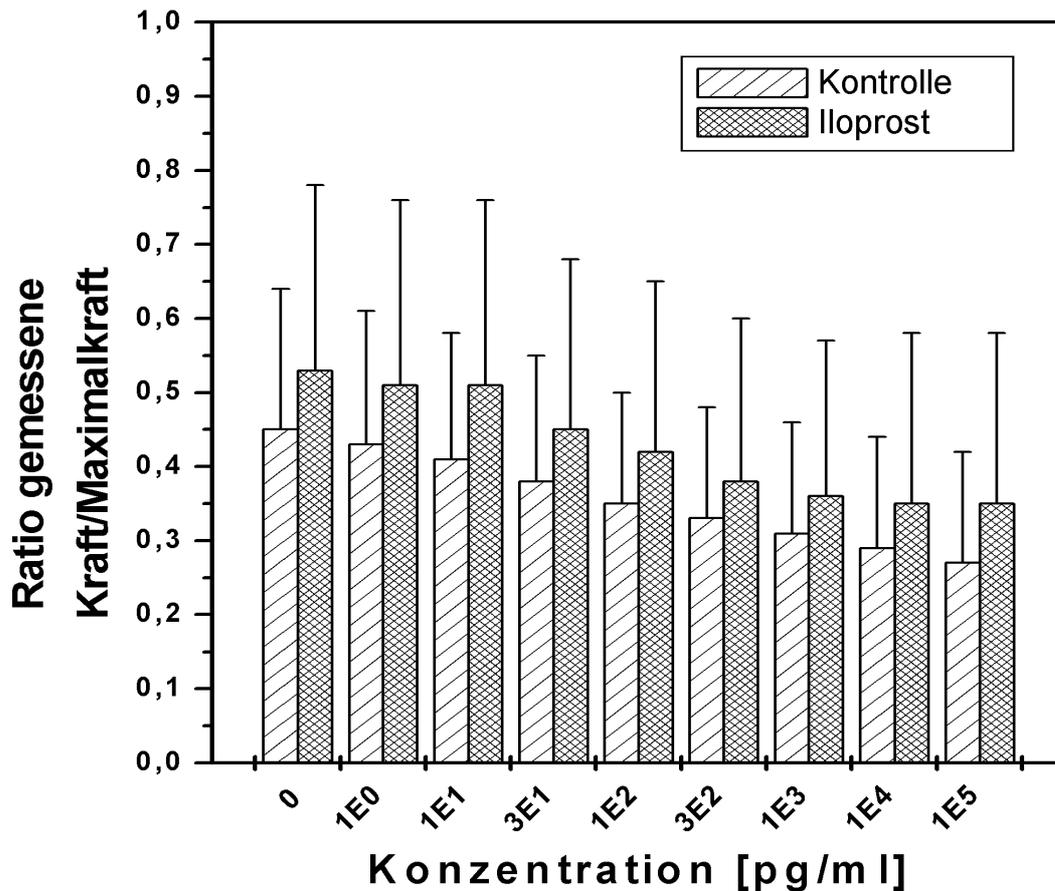


Abb. 4.4 — Darstellung der Verhältnisse zwischen den gemessenen Kraft- und den Maximalwerten in der Kontroll- und Verumgruppe. Mittelwert \pm SD.

Es wird bei genauerer Betrachtung auch klar, dass Iloprost in unserer Versuchsanordnung selbst keinen Einfluss auf die Kontraktilität hat. Vielmehr könnte die Trägerlösung zu den beobachteten Trends beitragen. Ob Iloprost als Stimulans verwendet wurde, spielte praktisch keine Rolle, denn es konnten keine signifikanten Veränderungen gegenüber den Kontrollen beobachtet werden. Eine starke Ermüdung konnte weitgehend ausgeschlossen werden, denn Isoprenalin als stark positiv inotrope Substanz konnte eine signifikante Zunahme der Kontraktilität, nach Beendigung der Inkubation mit Iloprost bzw. in den Kontrollen, hervorrufen ($p < 0,05$). Wie sich unstimulierte Trabekel in ihrem Kontraktionsverhalten während der mehr als 70 min Versuchsdauer verhielten, konnte aufgrund der limitierten Anzahl der Messplätze nicht untersucht werden. Möglicherweise hätten Ermüdungserscheinungen so erfasst werden können.

4.4 Beeinflussung der Kontraktilität durch Störgrößen

4.4.1 Trabekelmasse als Störgröße

Es gibt vielfältige Störgrößen, die die beschriebene Versuchsdurchführung beeinflussen können. Eine ausführliche Besprechung findet sich in der Diskussion. Einen möglichen Einfluss auf die Kontraktionskraft der einzelnen Trabekel könnte die Masse der Trabekel haben, denn es ist theoretisch möglich, dass schwerere Trabekel mit einer höheren Muskelmasse auch eine stärkere Kraftentwicklung während der Stimulation zeigen. Zu diesem Zweck wurde die Masse der einzelnen Trabekel bestimmt und zunächst mit einer linearen Korrelationsanalyse versucht herauszufinden, ob ein Zusammenhang zwischen Masse und gemessener Kraft besteht. Die nachfolgende Abbildung zeigt zwei Streudiagramme (*engl.* scatterplot) der Trabekelmassen aufgetragen gegen die gemessenen Kräfte nach Stimulation mit Isoprenalin bzw. Trägerlösung.

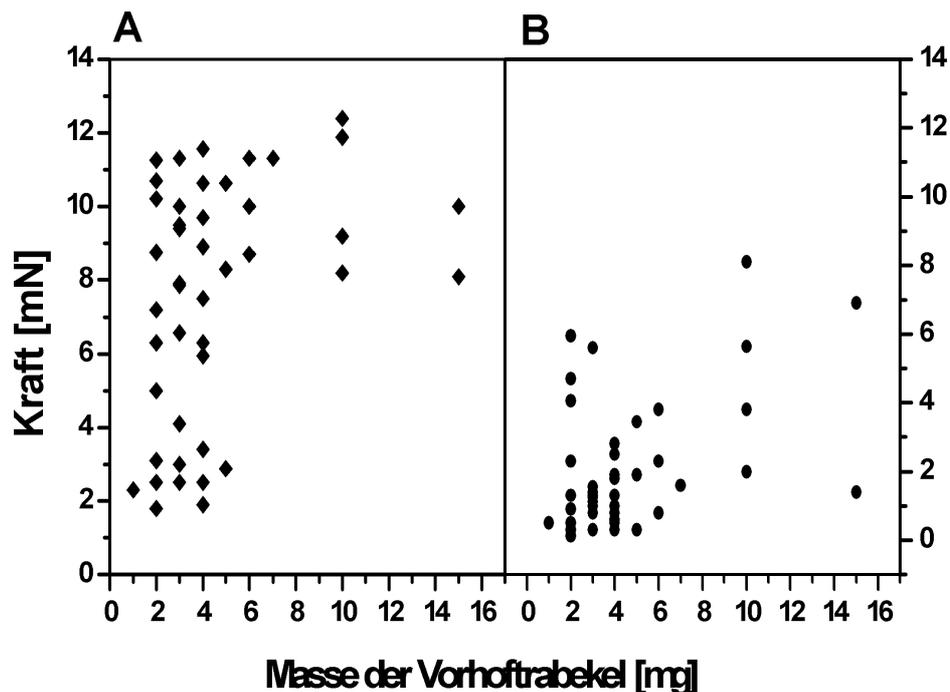


Abb. 4.5 — Streudiagramme Trabekelmasse gegen gemessene Kraft. A) Werte der Kontrollgruppe für Stimulation mit 10^{-7} M Isoprenalin. B) Werte der Kontrollgruppe für Stimulation mit 10^5 pg/ml Trägerlösung. Nur in diesen beiden Fällen konnte eine signifikante Korrelation zwischen Trabekelmasse und Kontraktionskraft gemessen werden.

Um von der Masse auf die entwickelte Kontraktionskraft zu schließen, wäre eine Regressionsanalyse notwendig, die eine sicher abhängige und eine unabhängige Variable voraussetzt. Da jedoch die Masse der Trabekel bei der Präparation nicht beeinflusst werden konnte (vielmehr wurde auf intakte Trabekel geachtet) bietet sich lediglich die Bestimmung

des Korrelationskoeffizienten nach Spearman an, um die Stärke der Beziehung zwischen Masse und gemessener Kraft zu bestimmen.

Berechnet wurden für Kontroll- und Placebogruppe alle Koeffizienten für alle Stimulationspunkte. Es zeigte sich, dass es in der Kontrollgruppe lediglich einen Zusammenhang zwischen Masse und Kraft bei Stimulation mit 10^{-7} M Isoprenalin (Kontrollgruppe: $r_s = 0,367$, $p = 0,014$) und zusätzlich bei einer Konzentration von 10^5 pg/ml Trägerlösung gibt ($r_s = 0,34$, $p = 0,021$). Für alle anderen Fälle fand sich kein signifikanter Korrelationskoeffizient. Praktisch hat damit die Masse der präparierten Trabekel keinen Einfluss auf die entwickelte Kontraktionskraft bei Stimulation mit Iloprost bzw. Trägerlösung.

Die Massen der präparierten Trabekel in Kontroll- und Verumgruppe unterschieden sich statistisch übrigens nicht (Tabelle 4.4.).

Tabelle 4.4 – Vergleich der Trabekelmassen [mg] in Kontroll- und Verumgruppe

<i>Parameter</i>	<i>Kontrollgruppe</i> <i>n = 44 Trabekel</i>	<i>Iloprostgruppe</i> <i>n = 44 Trabekel</i>	<i>p-Wert</i>
Mittelwert	4,5 ± 3,2	4,9 ± 4,2	0,85 ¹
Median	4	4	
Min – Max	1 – 15	1 – 20	

Anmerkung: ¹Mann-Whitney-White-Test, nichtparametrisch, da die Populationen nicht normalverteilt waren.

4.4.2 Medikamente als Störgröße

Die meisten herzchirurgischen Patienten unterziehen sich einer Operation nach mehrjähriger konservativer Behandlung bei niedergelassenen Fachärzten. Zudem haben viele Patienten, z.B. mit koronarer Herzkrankheit, weitere kardiovaskuläre Erkrankungen, z.B. Hypertonie und Hypercholesterinämie. Zur Behandlung der Hypertonie werden verschiedene Medikamente eingesetzt, u.a. Betablocker. Diese Substanzen sind mittlerweile Therapeutika erster Wahl bei Hypertonie. Betablocker wirken negativ inotrop, d.h. sie verringern die Kontraktionsfähigkeit des Herzmuskels durch Blockade der beta-adrenergen Rezeptoren.

Für unsere untersuchte Fragestellung könnte die meist mehrjährige Therapie mit Betablockern eine wichtige Störgröße sein. Es ist bekannt, dass Betablocker die Ansprechbarkeit des Herzens auf positiv inotrope Substanzen verringern können. In einer

Subgruppenanalyse wurden daher die Messergebnisse von Patienten mit und ohne präoperativer Betablockade verglichen.

Tabelle 4.5 – Kraftmessung [mN] mit und ohne Betablockade (Kontrollgruppe)

<i>Konzentration [pg/ml]</i>	<i>Betablockade</i>		<i>p-Wert</i>
	<i>Ja</i> (<i>n = 17 Patienten</i>)	<i>Nein</i> (<i>n = 5 Patienten</i> [†])	
0	3,71 ± 1,94	2,71 ± 1,75	0,31
1E0 (1)	3,56 ± 1,85	2,49 ± 1,66	0,25
1E1 (10)	3,35 ± 1,80	2,32 ± 1,56	0,25
3E1 (30)	3,17 ± 1,77	2,18 ± 1,47	0,27
1E2 (100)	2,93 ± 1,69	2,07 ± 1,43	0,31
3E2 (300)	2,79 ± 1,69	1,92 ± 1,42	0,31
1E3 (1000)	2,63 ± 1,65	1,81 ± 1,31	0,32
1E4(10000)	2,48 ± 1,64	1,67 ± 1,30	0,32
1E5(100000)	2,30 ± 1,56	1,51 ± 1,20	0,31
Isoprenalin 10 ⁻⁷ M	7,90 ± 2,76	6,35 ± 2,07	0,25

† Drei der fünf Patienten erhielten jedoch zusätzlich ACE-Inhibitoren.

Die Werte in Tabelle 4.5 zeigen keine statistisch verwertbaren Signifikanzen zwischen den beiden Gruppen. Vergleicht man die errechneten Werte mit denen in Tabelle 4.3 (Darstellung der Mittelwerte zwischen Kontroll- und Verumgruppe unabhängig von einer präoperativen Betablockade), so sind keine statistisch signifikanten Unterschiede zu finden. Praktisch bedeutet dieses Ergebnis, dass die gemessenen Kontraktionskräfte in der Kontrollgruppe unabhängig von einer präoperativen Betablockade sind.

Für die Iloprost-stimulierten Trabekel ergaben sich folgende Werte:

Tabelle 4.6 – Kraftmessung [mN] mit und ohne Betablockade (Iloprostgruppe)

<i>Konzentration [pg/ml]</i>	<i>Betablockade</i>		<i>p-Wert</i>
	<i>Ja</i> (<i>n = 17 Patienten</i>)	<i>Nein</i> (<i>n = 5 Patienten</i>)	
0	4,22 ± 2,48	2,75 ± 0,65	0,034
1E0 (1)	4,20 ± 2,55	2,53 ± 0,68	0,024
1E1 (10)	4,11 ± 2,51	2,59 ± 0,63	0,035
3E1 (30)	3,79 ± 2,45	2,12 ± 0,81	0,026
1E2 (100)	3,60 ± 2,44	1,81 ± 0,81	0,028
3E2 (300)	3,34 ± 2,31	1,72 ± 0,83	0,027
1E3 (1000)	3,17 ± 2,27	1,62 ± 0,84	0,032
1E4(10000)	3,15 ± 2,51	1,53 ± 0,87	0,037
1E5(100000)	3,30 ± 2,68	1,41 ± 0,96	0,026
Isoprenalin 10 ⁻⁷ M	8,46 ± 2,39	4,72 ± 1,55	0,02

Aus obiger Tabelle ist ersichtlich, dass sich die ermittelten Kräfte in beiden verglichenen Gruppen und bei allen eingesetzten Konzentrationen statistisch voneinander unterscheiden. Das bedeutet jedoch nicht, dass eine Vorbehandlung mit Betablockern einen Einfluss auf die Kontraktionskraft hat. Die in Tabelle 4.6 ermittelte Signifikanz besteht bereits zwischen unstimulierten Trabekeln (0-Wert), d.h. durch die zufällige Zuordnung der einzelnen Trabekel in die Iloprostgruppe ist der (pseudo-)statistische Unterschied erklärbar. Praktisch ausgedrückt kontrahieren die Trabekel der Iloprostgruppe zufällig so stark unterschiedlich, dass sich ein statistischer Unterschied errechnen lässt. Die unstimulierten Trabekel in der Kontrollgruppe zeigen jedoch keine Unterschiede, obwohl es sich um Trabekel der identischen Patienten handelt. Diese Messungen zeigen nochmals die weite Streuung der Messwerte selbst an Trabekeln von einem Patienten.

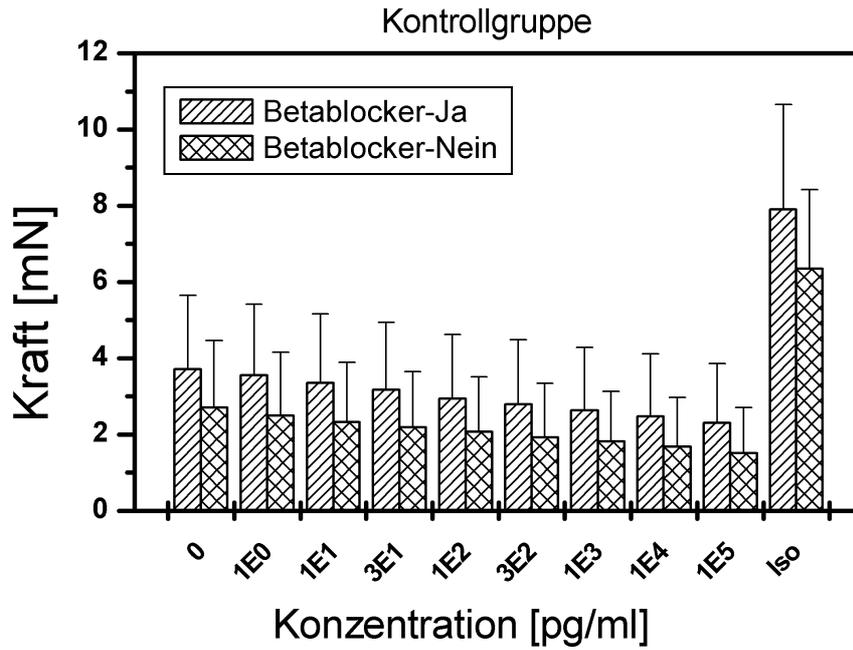


Abb. 4.6 — Graphische Darstellung der gemessenen Kräfte in Abhängigkeit einer präoperativen Betablockade. Gezeigt sind die Werte der Kontrollgruppe. Betablocker-Ja (n=17), Betablocker-Nein (n=5). Statistische Unterschiede waren nicht vorhanden.

In der nachfolgenden Abbildung sind die gemessenen Kräfte der Iloprostgruppe graphisch dargestellt.

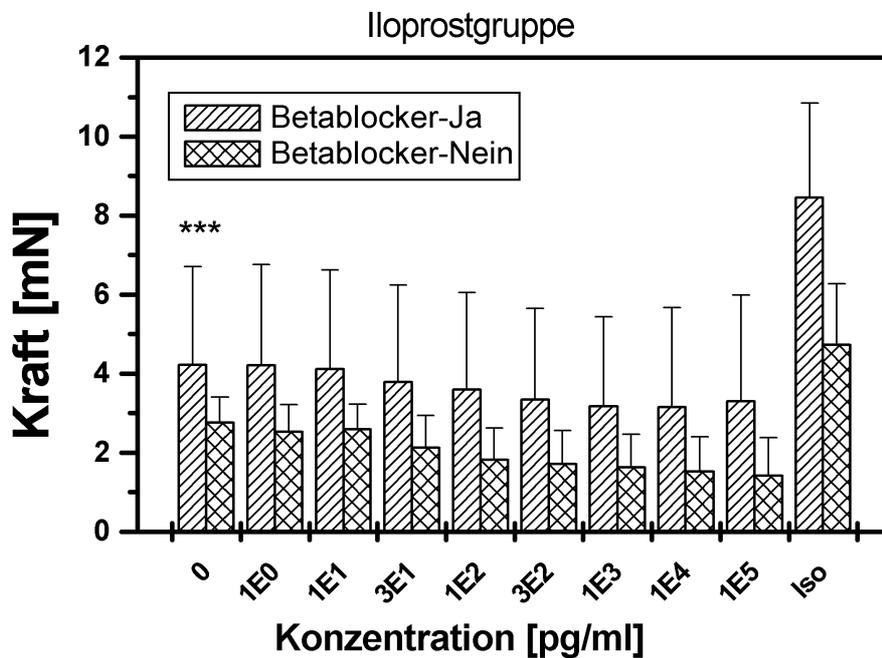


Abb. 4.7 — Graphische Darstellung der gemessenen Kräfte in Abhängigkeit einer präoperativen Betablockade. Gezeigt sind die Werte der Iloprostgruppe. Betablocker-Ja (n=17), Betablocker-Nein (n=5). *** Statistische Unterschiede ($p < 0,05$) waren für alle eingesetzten Konzentrationen zwischen beiden Gruppen vorhanden.

5 DISKUSSION

5.1 Methodenkritik

5.1.1 Der rechte Vorhof als Modell

Ziel unserer Studie war die Prüfung der Hypothese, ob Iloprost, ein synthetisches Prostaglandin I₂-Derivat, einen positiv inotropen Effekt auf humanes kardiales Vorhofmyokard ausübt. Grundlage dieser Hypothese war die Beobachtung bei Rechts-herzkatheteruntersuchungen in unserer Klinik, dass inhaliertes Iloprost, trotz einer Vorlastsenkung, auch einen erhöhten linksventrikulären Arbeitsindex hervorruft. Zur Prüfung dieser Wirkung wurden rechte humane atriale Vorhofohren während herzchirurgischer Operationen entnommen und nach Präparation geeigneter Trabekel im Organbad steigenden Konzentrationen Iloprost ausgesetzt.

Die Prüfung unserer Arbeitshypothese am humanen linksventrikulärem Myokard (dort, wo Iloprost ja primär inotrop wirken soll) ist bei routinemäßig durchgeführten herzchirurgischen Operationen nicht möglich, denn es kann kein Gewebe von diesem Ort entnommen werden. Teile des rechten Vorhofohres werden dagegen sehr häufig für die Insertion der rechten Vorhofkanüle beim Anschluß der extrakorporalen Zirkulation entfernt und können anschließend in experimentellen Studien benutzt werden. Inwieweit rechtes Vorhofmyokard auch die Situation im Hochdrucksystem der linken Herzkammer widerspiegelt ist immer noch Gegenstand intensiver Diskussionen. Einige Untersuchungen beschäftigten sich mit der Verteilung von Rezeptoren zwischen beiden Ventrikeln, andere verglichen Ventrikel und Atria miteinander. Besonders an Tiermodellen wurden diese Studien durchgeführt. So zeigten Rybin et al. im Rattenmodell, dass z.B. β_2 -Rezeptoren zwei ganz verschiedene Mechanismen zur Vermittlung der Inotropie in neoantalen und alternden Kardiomyozyten benutzen (Rybin V, *et al.*, 2003). In einem anderen Versuch konnte gezeigt werden, dass in humanen herzinsuffizienten Herzen die Fettsäureutilisation und damit ein wichtiger Stoffwechselweg des Energiehaushaltes aufgrund einer verringerten Expression des Peroxisome-Proliferator-Activated Receptor Alpha (PPR α) beeinträchtigt ist (Karbowska J, *et al.*, 2003). Übrigens konnte erst vor wenigen Jahren in Ratten der Nachweis erbracht werden, dass der Prostazyklin-Rezeptor im hypertrophierten Myokard überhaupt exprimiert wird (Nakagawa O, *et al.*, 1995).

Studien am linksventrikulären humanen Myokard sind aus technischen Gründen meist nur post mortem oder an entnommenen Herzen nach einer Herztransplantation durchgeführt worden. Ob die dabei gemessenen Veränderungen allerdings mit der normalen

physiologischen oder z.B. herzinsuffizienten Situation korrelieren, bleibt fraglich. Auch Tiermodellstudien können nur bedingt Rückschlüsse auf die humane Situation geben, denn meist sind die korrelierenden Krankheitsbilder, einzeln oder in Kombination, z.B. eine pulmonale Hypertonie und koronare Herzkrankheit, nicht in einem Tiermodell abbildbar.

Eine Studie zeigte kürzlich, dass in rechten humanen Vorhoftrabekeln auch die Menge der Kalzium-abhängigen ATPase SERCA2a mit zunehmendem Alter abnimmt (Cain BS, *et al.*, 1998). Damit wird klar, dass auch Veränderungen während des Alterns auftreten und bei hinsichtlich des Alters inhomogenen Populationen können solche Effekte eine Rolle spielen.

Zusammengefasst lassen unsere erhobenen Daten nur bedingt Rückschlüsse auf die linksventrikuläre Situation *in vivo* zu. Untersuchungen an einem Tiermodell, denen sowohl Ventrikel als auch Vorhöfe entnommen werden können, sind trotz aller Limitierungen eine zukünftige Möglichkeit, um die fraglich positiv inotrope Wirkung von Iloprost auf humane kardiale Myozyten zu prüfen. Eingesetzt werden könnten beispielsweise Mäuse- oder besser Rattenmodelle.

5.1.2 Technische Limitationen der Organbadversuche

Organbadversuche sind seit einigen Jahrzehnten Routineuntersuchungen, v.a. in pharmakologischen Instituten. Es konnte in vielen Publikationen die Brauchbarkeit und Verlässlichkeit der Methode unter Beweis gestellt werden. Besonders für die Testung verschiedener pharmakologischer Substanzen sind Organbadversuche unersetzlich. Trotz ihrer relativ unkomplizierten Durchführung sind sie recht anfällig gegenüber technischen Einflüssen, in deren Folge die Tauglichkeit der Trabekelpräparate deutlich beeinträchtigt werden könnte. Zu den Störgrößen zählen besonders

- schwankende Temperaturwerte im Äquilibrations- und Tyrodepuffer
- inkonstante pH-Werte der Lösungen
- inkonstante Stärke der elektrischen Reizungen
- instabile mechanische Aufhängung der Trabekel
- mechanische Erschütterungen in der Umgebung, z.B. Labortüren

Besonders der letztgenannte Punkt kann zu einer völligen Unbrauchbarkeit der Trabekel führen, denn durch stärkere Erschütterungen geraten die Trabekel aus ihren Verankerungen und verlieren ihre Kontraktilität. Ebenso sind Änderungen der pH-Werte der Lösungen und selbst kleinere Temperaturschwankungen häufig Ursache eines Funktionsverlustes.

Eine weitere Limitation der Organbadversuche stellt die Zuordnung der einzelnen Trabekel in die jeweilige Gruppe (Verum versus Kontrolle) dar. Es gibt keine objektiven Kriterien, die zur Beurteilung der Trabekeltauglichkeit herangezogen wurden. Wurden beispielsweise vier sehr gut kontraktile Trabekel gewonnen spielt die Zuordnung der Trabekel keine Rolle. Wurden drei gut und ein mäßig kontraktiles Trabekel gewonnen ist die Zuordnung schwieriger. Dass sich pseudostatistische signifikante Unterschiede leicht errechnen lassen und den Anschein echter Signifikanzen erwecken, zeigen unsere Werte beim Vergleich der mit Iloprost-stimulierten Trabekel in Abhängigkeit von einer präoperativen Betablockade. Per Zufall fand sich bereits in den unstimulierten Kontrollen der Iloprostgruppe ein rechnerisch signifikanter Unterschied, der sich dann einfach fortsetzte.

5.2 Trabekelpräparate reagieren sehr inhomogen auf Iloprost bzw. auf die Trägerlösung

Im Abschnitt »Ergebnisse« wurde gezeigt, dass die gemessenen Kräfte der präparierten Trabekel weit streuen. Selbst Trabekel eines einzelnen Probanden konnten im Verlauf der Versuche ganz unterschiedlich reagieren. Eine Erklärung für dieses Verhalten ist schwierig zu finden. Einerseits spielt sicherlich die Qualität der präparierten Trabekel eine wichtige Rolle. Wir konnten jedoch zu Beginn annähernd 90 % gut funktionierende Trabekel in die Versuche einschliessen und alle Trabekel waren für die Messungen verwendbar. Andererseits würde man in unserem klinisch recht homogenem Patientengut in Hinblick auf das Stadium der koronaren Herzkrankheit und Klappenerkrankungen keine Schwankungen um mehr als 300 % erwarten. Man könnte argumentieren, dass die präparierten Trabekel individuell unterschiedlich ermüden und daher im Zeitverlauf mit einer abgeschwächten Kraftentwicklung reagieren. Allerdings würde man dann auch eine abgeschwächte Reaktion auf Isoprenalin am Ende der Versuchsreihe erwarten. Dem ist nicht so, denn die gemessenen Kräfte unter Isoprenalin-Stimulation in unserer Versuchsreihe entsprechen den gemessenen Werten in anderen Studien, in denen beispielsweise 6,7 und 7,2 mN Maximalkraft mit unserer eigenen Messeinheit ermittelt wurden (Leineweber K, *et al.*, 2002). Aufgrund der Verfügbarkeit von nur vier Messeinrichtungen in unserem konnte leider kein fünftes Trabekel eines Patienten als unstimulierte Kontrolle während des gesamten Zeitraumes untersucht werden. Mit dieser Kontrolle hätte eine Ermüdung der Trabekel während der immerhin mehr als 70 minütigen Stimulation mit Iloprost bzw. Trägerlösung besser erfasst werden können. Ist eine Ermüdung der Trabekel damit ausgeschlossen? Keineswegs, denn

die gemessenen Werte unter Isoprenalin am Ende der Messung müssen nicht zwangsläufig als maximal mögliche Kontraktionskräfte angesehen werden. Möglicherweise wären die gemessenen Kräfte vor Iloprostgabe deutlich höher und der Vergleich mit der am Ende durchgeführten Isoprenalingabe hätte einen signifikanten Unterschied gezeigt und eine mögliche Ermüdung aufgedeckt. In unseren Experimenten zeigte die Isoprenalingabe vielmehr zu welcher Kontraktionskraft die Trabekel nach Iloproststimulation noch in der Lage sind und der Vergleich mit vorheriger Iloprostgabe ist möglich. Wäre Iloprost z.B. ein ähnlich starkes direkt inotropes Medikament für rechtsatriales Vorhofmyokard wie Isoprenalin, hätte man auch ähnliche Werte erwarten können.

Es muss also weitere Faktoren geben, die zu dem beobachteten unterschiedlichen Verhalten beitragen. Über deren Charakter kann nur spekuliert werden. Die Mehrheit unserer Patienten litt seit mehreren Jahren an einer koronaren Herzkrankheit, d.h. bestimmte Teile des Herzen haben sich an eine Minderperfusion adaptiert und ggf. durch Neovaskularisation Umgehungskreisläufe geschaffen. Unter diesen Bedingungen wurden im Tiermodell eine vermehrte PGI₂-Freisetzung beobachtet (Bugiardini R, *et al.*, 1985; Berti F, *et al.*, 1993). Man könnte daher auch vermuten, dass bei unserer untersuchten Stichprobe, mit einer hohen Inzidenz einer KHK, eine verringerte Ansprechrate auf Iloprost aufgrund einer verringerten Ansprechbarkeit (Desensitizing) der Rezeptoren vorliegen könnte.

Bei vielen Patienten hat sich vor dem herzchirurgischen Eingriff eine Herzinsuffizienz entwickelt. Es ist seit einigen Jahren bekannt, dass es im Zuge der Herzinsuffizienz zu molekularen Veränderungen im Sinne einer Down- und Upregulation vielfältiger Gene und Proteine im Myokard kommt. Neben myofibrillären, primär extrazellulären und Membranständigen Proteinen, kommt es auch zu Veränderungen von Rezeptoren, die für die Vermittlung der Inotropie, Chrono- und Dromotropie verantwortlich sind. Der β_1 -Rezeptor und die kardiale Ca²⁺-abhängige ATPase (SERCA 2a) werden beispielsweise herunterreguliert, während Kollagen Typ III und der atriale natriuretische Faktor (ANF) verstärkt expremiert wird. In welchem individuellen Ausmaß solche Veränderungen in unserem Patientengut vorhanden waren, ist nicht untersucht worden. Vorstellbar sind sie jedoch allemal und könnten zumindest teilweise die individuellen Unterschiede in der Ansprechbarkeit auf Iloprost erklären. Mittlerweile sind ebenfalls die ersten Polymorphismen des Prostazyklinrezeptors beschrieben worden (Stitham J, *et al.*, 2002). So zeigt die Variante V25M (Valin ist an Position 25 durch Methionin ersetzt) ein dem Wildtyp sehr ähnliches Verhalten, während R212H (Arginin durch Histidin ersetzt) nicht nur eine verringerte Bindungsaffinität bei niedrigerem pH-Wert besitzt, sondern auch eine pH-Wert-

abhängige abnormale Aktivierung. Wie in unserem untersuchten Studienkollektiv die Verteilung der Rezeptoren aussieht, ist nicht untersucht worden. Untersuchungen zur Down- oder Upregulation der PGI₂- und TXA₂-Rezeptoren im Rahmen der Entwicklung einer Herzinsuffizienz liegen (noch) nicht vor.

Wünschenswert wäre in diesem Zusammenhang die Untersuchung einer größeren Stichprobe, z.B. 50 bis 75 Patienten, gewesen. Leider stand aufgrund des Preises für diese Zahl an Probanden nicht genügend Iloprost zur Verfügung, so dass wir uns auf 22 Patienten beschränken mussten.

5.3 Iloprost hat keinen positiv inotropen Effekt auf rechtsatriales Myokard

Ziel unserer Studie war die Überprüfung der Hypothese, dass Iloprost einen inotropen Effekt auf humanes Myokard besitzt. Dazu wurde von 22 Patienten rechtsatriales Vorhofmyokard entnommen und mit Iloprost stimuliert.

Die Ergebnisse der Untersuchungen legen den Schluss nahe, dass Iloprost zumindest auf rechtsatriales Vorhofmyokard keinen inotropen Effekt ausübt.

Steht dieses Ergebnis im Gegensatz zu den bisherigen human- und tierexperimentell gewonnenen Ergebnissen? Nur teilweise. Die Mehrheit der durchgeführten, in der Zahl allerdings limitierten humanen Studien zeigt einen inotropen Effekt von Iloprost *in vivo*, z.B. (Sablitzki A, *et al.*, 2002a) und (Montalescot G, *et al.*, 1998). Analysiert man diese Studien im Detail, zeigt sich, dass sich die Aussagen immer nur auf das linksventrikuläre Myokard beziehen. So zeigen Sablitzki *et al.*, dass es nach Iloprost-Inhalation zu einer Verbesserung des Herzindex und des linksventrikulären Arbeitsindex kommt. Montalescot *et al.* haben eine Zunahme der maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit dp/dt_{max} nach Iloprost-Applikation mit einem Mikromanometerkatheter beobachtet.

Auch in den Tierstudien konnte mehrfach ein inotroper Effekt *in vivo* nachgewiesen werden. Eine aktuelle Studie wurde von Bruhn *et al.* 2001 publiziert. Die Autoren zeigten an anästhesierten Schweinen eine Zunahme der endsystolischen Druckvolumenbeziehung (ESPVR) und der maximalen linksventrikulären Druckanstiegsgeschwindigkeit unter inhaliertem PGI₂ und Iloprost (Bruhn S, *et al.*, 2001). In einigen Tierstudien wurde aufgrund der Fragestellung neben Ventrikel- auch Vorhofmyokard eingeschlossen. So fand eine italienische Arbeitsgruppe einen ino- und chronotropen Effekt von PGI₂ und einem stabilen Analogon von PGI₂ an Atria des Meerschweinchens im Organbad (Fassina G, *et al.*, 1983).

Weiterhin zeigten sie, dass die Wirkung von Prostazyklin und seines stabilen Analogons nicht via Alpha- und Betarezeptoren vermittelt wird. Vielmehr scheinen transmembranöse Kalziumströme nach Aktivierung des TXA₂-Rezeptors (Thromboxan A₂) für die Vermittlung der Inotropie verantwortlich zu sein. Demgegenüber stehen Ergebnisse einiger Arbeitsgruppen, die durch β - und Ca²⁺-Blocker (Propranolol, Verapamil) die positiv inotrope Wirkung von PGI₂ aufheben konnten (Pavlovic M, *et al.*, 1995; Pavlovic M, *et al.*, 1992).

Tierexperimentelle Studien über die inotrope Wirkung von Iloprost auf die Ventrikel und Atria der linken und rechten Strombahn liegen bis heute noch nicht vor. Eine interessante Untersuchung wurde von einer japanischen Arbeitsgruppe mit dem oral verfügbaren PGI₂-Analogon Beraprost vorgestellt (Ueno Y, *et al.*, 1996). Sie zeigten an Herzen männlicher Meerschweinchen, dass 10⁻⁶ – 10⁻⁵ M Beraprost zu einer Steigerung der linksatrialen, nicht aber der rechtsventrikulären Kontraktionskraft führt. Diese Steigerung konnte durch S-145, einem Inhibitor des TXA₂-Rezeptors, nicht aber durch Propranolol, einem Betablocker, gehemmt werden. Beim Rechtsatriales Myokard konnte keine Zunahme der Inotropie unter Beraprost, jedoch bei 10⁻⁷ – 10⁻⁵ M eine Zunahme der Kontraktionsfrequenz (Chronotropie) beobachtet werden. Diese war durch S-145 nicht hemmbar.

Diese Untersuchung lässt den Schluss zu, dass synthetische PGI₂-Analoge wie Beraprost wahrscheinlich keine direkte inotrope Wirkung auf das linksatriale (Meerschweinchen)-Myokard durch Aktivierung bestimmter Prostaglandinrezeptoren ausüben, sondern vielmehr eine Aktivierung von Thromboxan A₂-Rezeptoren im Vordergrund steht. Aktivierte TXA₂-Rezeptoren setzen aus den intrazellulären Speichern vermehrt Kalzium frei (Fassina G, *et al.*, 1983), was zu einer Kontraktionssteigerung führen kann.

Andererseits hatte die Iloprost-Stimulation in unserem Experiment keinen Einfluss auf das rechtsatriale myokardiale Kontraktionsverhalten und steht damit im Einklang mit einigen Studienergebnissen japanischer Arbeitsgruppen (Ogura T, *et al.*, 1990; Terashita ZI, *et al.*, 1978). Erklärt wurde dieses Verhalten durch das Fehlen des TXA₂-Rezeptors auf Myozyten des Meerschweinchens (Bowling N, *et al.*, 1994). Im Kaninchenmyokard wurden allerdings Zellpopulationen beschrieben, die Thromboxan synthetisieren können (Evers AS, *et al.*, 1987). Das wiederum legt den Schluss nahe, dass der Thromboxan-Rezeptor möglicherweise nicht direkt die Kontraktilität beeinflusst, sondern konzentrationsabhängige Effekte auftreten. Ob im adulten humanem rechtsatrialen Myokard der TXA₂-Rezeptor überhaupt vorhanden ist, konnte aus der aktuellen Studienlage nicht eruiert werden. Sakuma berichtete 1989 über U-46619, einem stabilen TXA₂-Analogon, dass möglicherweise durch

Modifikation der intrazellulären Kalzium-Speicher den inotropen Effekt vermittelt (Sakuma I, *et al.*, 1989). In diesem Zusammenhang sei auf eine Untersuchung aus dem Jahr 1975 hingewiesen, wo die intrazelluläre Kalziumfreisetzung eine wichtigere Rolle für den Kontraktionsprozeß in den Vorhöfen als in den Ventrikeln spielt (Fukuda Y 1975).

In der Zusammenschau der publizierten Daten lassen sich keine eindeutigen Aussagen bezüglich der inotropen Wirkung von Iloprost auf rechtsatriales Vorhofmyokard machen. Während klinische Untersuchungen am Menschen und im Tiermodell, unabhängig der Messverfahren, eine Zunahme der Inotropie anhand bestimmter Herzindices beschreiben, liegen nur wenige tierexperimentelle Studien vor, die sich mit den Effekten auf Vorhöfe und Ventrikel beschäftigen. Anhand dieser ist ein Inotropie für linksventrikuläres und linksatriales Myokard beschrieben, obgleich der Mechanismus noch immer unklar ist. Einiges spricht für die Beteiligung adrenerger Betarezeptoren und Kalziumkanäle, denn sowohl die PGI₂ als auch Iloprost-vermittelte Inotropie konnte durch Propranolol und Verapamil gehemmt werden. Andererseits zeigten auch einige tierexperimentelle Studien, dass Thromboxan-Rezeptoren die Inotropie vermitteln und spezifische TX-Antagonisten diese Wirkung hemmen können. In diesen Studien hatten Betablocker keinen inhibierenden Effekt.

Letztlich bleibt der Mechanismus der Iloprost bzw. PGI₂-vermittelten Inotropie ungeklärt und eine klare Aussage hinsichtlich der inotropen Wirkung auf rechtsatriales Myokard ist nicht möglich. Ob angesichts der unklaren Studienlage die Wahl des rechten Atriums als Versuchsobjekt zur Klärung der Sachlage beitragen kann ist fraglich.

5.4 Die Trägerlösung wirkt negativ inotrop auf rechtsatriales Myokard

Iloprost muss vor Applikation in einer Trägerlösung gelöst werden. Manche Publikationen führen als Trägerlösung eine Glyzin-gepufferte Lösung an. Leider ist die genaue Zusammensetzung dieser Lösung nicht veröffentlicht und es war daher Teil unseres Versuchsaufbaues, die Trägerlösung ohne Verum in einer Verdünnungsreihe als Kontrolle zu benutzen.

Die durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass die Trägerlösung in fast allen benutzten Verdünnungen die Kontraktionskraft gegenüber den unstimulierten Trabekeln signifikant herabsetzt, eine Stimulation mit Isoprenalin jedoch noch zu eine deutlichen Zunahme der Kontraktionskraft führt. Eine starke Ermüdung der Trabekel während der Experimente

konnte daher weitgehend ausgeschlossen werden. Damit liegt der Vermutung nahe, dass die Trägerlösung negativ inotrop auf humanes rechtsatriales Myokard wirkt. Dieses überraschende Ergebnis (eigentlich sollte eine Trägerlösung überhaupt keinen Einfluss auf die Kontraktilität ausüben) lässt sich ohne genaue Kenntnis der Zusammensetzung nicht erklären und weitere Versuche sind notwendig, um dieses Phänomen zu untersuchen. Damit bleibt letztlich jeder Erklärungsversuch rein spekulativ. Ob der beobachtete Effekt auch für das linksventrikuläre und linksatriale Myokard zutrifft, ist nicht untersucht worden.

Dieses Ergebnis ist allerdings nur eingeschränkt interpretierbar, denn wir haben aus technischen Gründen keine unstimulierte Kontrolle während der doch mehr als 70-minütigen Stimulation durchführen können und wir haben keine maximal mögliche Kontraktionskraft unter Isoprenalin vor Iloprost-Stimulation gemessen. Theoretisch wäre es ja möglich, dass die beobachtete Abnahme der Kontraktionskraft in beiden Gruppen auf eine leichte Ermüdung zurückzuführen ist. Isoprenalin als sehr stark inotropes Medikament kann aber trotzdem noch eine deutlich positiv inotrope Antwort hervorrufen.

5.5 Ausblick

Anhand des gewählten Versuchsaufbaus konnten wir unsere Arbeitshypothese nicht bestätigen und fanden überraschenderweise sogar einen negativ inotropen Effekt der Trägerlösung in unserer untersuchten Stichprobe. Welche inotropen Effekte Iloprost tatsächlich auf die verschiedenen Atria und Ventrikel beider Strombahnen ausübt, würde sich zunächst am besten in einem Tiermodell untersuchen lassen. Damit entfielen die technischen Limitierungen in der Probengewinnung und größere Stichprobenumfänge sind einfacher zu erzielen. Andererseits lassen sich die tierexperimentell gewonnenen Ergebnisse nicht so einfach auf die humane Situation übertragen, denn Begleiterkrankungen wie Hypertonie, Diabetes oder eine koronare Herzkrankheit sind im Tiermodell, allein oder in Kombination, nicht in ihrer Komplexität wie in unserem untersuchten Patientenkollektiv abbildbar.

6 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die vorliegende Arbeit sollte die Arbeitshypothese prüfen, ob Iloprost einen inotropen Effekt auf humanes Myokardgewebe ausübt. Dazu wurde humanes rechtsatriales Vorhofmyokard (rechtes Vorhofohr) während kardiochirurgischer Eingriffe entnommen und daraus vier Trabekel präpariert. Je zwei Trabekel wurden der Kontroll- und Iloprostgruppe zugeteilt und entweder mit Iloprost-Trägerlösung (Kontrolle) oder Iloprost in einer Konzentrationsreihe von 1 pg/ml bis 100 ng/ml stimuliert. Die maximal mögliche Kontraktionskraft wurde durch Stimulation mit 10^{-7} M Isoprenalin nach der letzten Iloprostgabe (100 ng/ml) ermittelt.

Die gewonnenen Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

1. Die gemessene Kontraktionskraft sowohl in Verum- als auch Kontrollgruppe ist innerhalb der untersuchten Stichprobe sehr inhomogen.
2. Iloprost bewirkte im Konzentrationsbereich von 1 pg/ml bis 100 ng/ml weder eine Steigerung noch eine Abnahme der Kontraktionskraft an rechtsatrialen Trabekelpräparationen.
3. Die Iloprost-Trägerlösung (Kontrollgruppe) führte im angegebenen Konzentrationsbereich zu einer signifikanten Abnahme der Kontraktionskraft gegenüber unstimulierten Trabekelpräparaten.
4. Die gemessenen Kontraktionskräfte in Verum- und Kontrollgruppe unterschieden sich zu keinem Stimulationszeitpunkt signifikant voneinander.
5. Die Arbeitshypothese konnte somit mit unserem gewählten Versuchsaufbau nicht bestätigt werden.
6. Es bestand kein Zusammenhang zwischen den Trabekelmassen und den gemessenen Kräften nach Stimulation mit Iloprost bzw. Trägerlösung.
7. Eine medikamentöse Vorbehandlung mit Betablockern liess ebenfalls keinen Zusammenhang mit den erfassten Kräften erkennen.

7 ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Untersuchung sollte die inotrope Wirkung von Iloprost, einem synthetischen Prostaglandin I₂-Analogon, auf rechtsatriales Myokard zeigen. Unsere Arbeitshypothese beruhte auf einer klinisch nachweisbaren Zunahme des linksventrikulären Arbeitsindex während der Rechtsherzkatheteruntersuchung von Patienten, die für eine Transplantation evaluiert wurden.

Als Untersuchungsmaterial dienten, stellvertretend für linksventrikuläres Myokard, rechtsatriale Vorhofohren von 22 Patienten, die im Rahmen von kardiochirurgischen Operationen (Bypass, Aortenklappenersatz und Kombination) gewonnen wurden. Nach Entnahme wurden jeweils vier Trabekel aus einem Vorhofohr präpariert und je zwei Trabekelpräparate der Kontroll- und Verumgruppe zugeordnet. Als Kontrollgruppe wurden diejenige Trabekelpopulation bezeichnet, die nur mit Iloprost-Trägerlösung (ohne Wirkstoff) stimuliert wurde. Die Verumgruppe enthielt alle Trabekel, die mit Iloprost (in Trägerlösung) in einer Konzentrationsreihe von 1 pg/ml bis 100 ng/ml stimuliert wurden.

Die Wirkung von Iloprost wurde im sog. Organbadversuch durchgeführt, d.h. die Präparate wurden in einer Messvorrichtung fixiert und mit gepufferter Tyrodelösung gespült und elektrisch mit 1 Hz gereizt. Ein an einen Verstärker gekoppelter Kraftaufnehmer diente zur Registrierung der gemessenen Kräfte und ein Schreiber wurde für Dokumentationszwecke eingesetzt.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Iloprost keinen inotropen Effekt auf rechtsatriales Myokardgewebe ausübt. Damit konnte die Arbeitshypothese, in unserem gewählten Modell, nicht bestätigt werden. Die Iloprost-Trägerlösung übt einen signifikanten negativ-inotropen Effekt auf rechtsatriales Myokard aus. Dieses Ergebnis ist sehr überraschend und kann leider aufgrund der unbekanntenen und nicht veröffentlichten Zusammensetzung der Trägerlösung nicht suffizient erklärt werden. Zusätzlich fanden sich keine Zusammenhänge zwischen den benutzten Trabekelmassen und den gemessenen Kräften und der medikamentösen Vorbehandlung mit Betablockern.

Ob letztlich Iloprost direkt positiv inotrop auf humanes linksventrikuläres Myokard wirkt kann anhand rechtsatrialem Myokard nicht überprüft werden. Da humanes linksventrikuläres bzw. -atriales Myokard technisch nicht während kardiochirurgischer Eingriffe gewonnen werden kann, bleibt letztlich nur die Untersuchung in einem Tiermodell, um die Wirkung zu erfassen. Allerdings sind die tierexperimentell gewonnenen Ergebnisse nicht ohne Einschränkungen auf die humane Situation übertragbar.

8 LITERATURVERZEICHNIS

1. Schäfers H und Seeger W: Pulmonale Hypertonie; Blackwell Wissenschaftsverlag GmbH, Berlin, 2001
2. Bourge RC, Kirklin JK, Naftel DC, White C, Mason DA und Epstein AE: Analysis and predictors of pulmonary vascular resistance after cardiac transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 101 (1991) 432-444; discussion 444-435
3. Kirklin JK, Naftel DC, Kirklin JW, Blackstone EH, White-Williams C und Bourge RC: Pulmonary vascular resistance and the risk of heart transplantation. *J Heart Transplant* 7 (1988) 331-336
4. Tenderich G, Koerner MM, Stuetzgen B, Hornik L, Mirow N, Morshuis M, Mannebach H, Minami K und Koerfer R: Does preexisting elevated pulmonary vascular resistance (transpulmonary gradient > 15 mm Hg or > 5 wood) predict early and long-term results after orthotopic heart transplantation? *Transplant Proc* 30 (1998) 1130-1131
5. Baldovinos A, Kalangos A, Sierra J, Licker MJ und Faidutti B: Is partially reversible pulmonary hypertension a contraindication for heart transplantation? *Transplant Proc* 32 (2000) 468-469
6. Kieler-Jensen N, Milocco I und Ricksten SE: Pulmonary vasodilation after heart transplantation. A comparison among prostacyclin, sodium nitroprusside, and nitroglycerin on right ventricular function and pulmonary selectivity. *J Heart Lung Transplant* 12 (1993) 179-184
7. Palmer RM, Ferrige AG und Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327 (1987) 524-526

8. Furchgott RF und Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288 (1980) 373-376
9. Higenbottam T, Pepke-Zaba J, Scott J, Woolman P, Coutts C und Wallwork J: Inhaled "endothelial-derived relaxinf factor" (ERDF) in primary pulmonary hypertension (PPH). *Am Rev Respir Dis* 137 (1988) A10
10. Ramsay MA, Spikes C, East CA, Lynch K, Hein HA, Ramsay KJ und Klintmalm GB: The perioperative management of portopulmonary hypertension with nitric oxide and epoprostenol. *Anesthesiology* 90 (1999) 299-301
11. Atz AM, Adatia I und Wessel DL: Rebound pulmonary hypertension after inhalation of nitric oxide. *Ann Thorac Surg* 62 (1996) 1759-1764
12. Bergström S, Ryhage R, Samuelsson B und Sjövall J: The structures of prostaglandin E₁, F_{1α}, and F_{1β}. *J Biol Chem* 238 (1963) 3555-3564
13. Feletou M und Vanhoutte PM: Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. *Br J Pharmacol* 93 (1988) 515-524
14. Triggle C und Ding H: Endothelium-Derived Hyperpolarisation Factor: Is There a Novel Chemical Mediator? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 29 (2002) 153-160
15. Edwards G, Feletou M, Gardener MJ, Glen CD, Richards GR, Vanhoutte PM und Weston AH: Further investigations into the endothelium-dependent hyperpolarizing effects of bradykinin and substance P in porcine coronary artery. *Br J Pharmacol* 133 (2001) 1145-1153
16. Schror K: Role of prostaglandins in the cardiovascular effects of bradykinin and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* 20 Suppl 9 (1992) S68-73

17. Bugiardini R, Galvani M, Ferrini D, Gridelli C, Mari L, Puddu P und Lenzi S: Effects of iloprost, a stable prostacyclin analog, on exercise capacity and platelet aggregation in stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 58 (1986) 453-459
18. Bugiardini R, Galvani M, Ferrini D, Gridelli C, Tollemeto D, Mari L, Puddu P und Lenzi S: Myocardial ischemia induced by prostacyclin and iloprost. *Clin Pharmacol Ther* 38 (1985) 101-108
19. Chiariello M, Golino P, Cappelli-Bigazzi M, Ambrosio G, Tritto I und Salvatore M: Reduction in infarct size by the prostacyclin analogue iloprost (ZK 36374) after experimental coronary artery occlusion-reperfusion. *Am Heart J* 115 (1988) 499-504
20. Darius H, Hossmann V und Schror K: Antiplatelet effects of intravenous iloprost in patients with peripheral arterial obliterative disease. A placebo-controlled dose-response study. *Klin Wochenschr* 64 (1986) 545-551
21. Darius H, Osborne JA, Reibel DK und Lefer AM: Protective actions of a stable prostacyclin analog in ischemia induced membrane damage in rat myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 19 (1987) 243-250
22. Gryglewski RJ: Prostaglandins, platelets, and atherosclerosis. *CRC Crit Rev Biochem* 7 (1980) 291-338
23. Clapp LH, Finney P, Turcato S, Tran S, Rubin LJ und Tinker A: Differential effects of stable prostacyclin analogs on smooth muscle proliferation and cyclic AMP generation in human pulmonary artery. *Am J Respir Cell Mol Biol* 26 (2002) 194-201
24. Muller B, Schmidtke M und Witt W: Action of the stable prostacyclin analogue iloprost on microvascular tone and -permeability in the hamster cheek pouch. *Prostaglandins Leukot Med* 29 (1987) 187-198

25. Melillo E, Iabichella L, Berchiolli R, Ferrari M, Catapano G, Dell'Omo G und Pedrinelli R: Transcutaneous oxygen and carbon dioxide during treatment of critical limb ischemia with iloprost, a prostacyclin derivative. *Int J Microcirc Clin Exp* 15 (1995) 60-64
26. Merritt JE, Brown AM, Bund S, Cooper DG, Egan JW, Hallam TJ, Heagerty AM, Hickey DM, Kaumann AJ, Keen M und et al.: Primate vascular responses to octimibate, a non-prostanoid agonist at the prostacyclin receptor. *Br J Pharmacol* 102 (1991) 260-266
27. Metsa-Ketela T: Cyclic AMP-dependent and -independent effects of prostaglandins on the contraction-relaxation cycle of spontaneously beating isolated rat atria. *Acta Physiol Scand* 112 (1981) 481-485
28. Grant SM und Goa KL: Iloprost. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in peripheral vascular disease, myocardial ischaemia and extracorporeal circulation procedures. *Drugs* 43 (1992) 889-924
29. Walmrath D, Olschewski A, Grimminger F und Seeger W: Aerosolised Prostacyclin in Adult Respiratory Distress Syndrome. *Lancet* 342 (1993) 961-962
30. Balzer K, Bechara G, Bisler H, Clevert HD, Diehm C, Heisig G, Held K, Mahfoud Y, Morl H, Rucker G und et al.: Reduction of ischaemic rest pain in advanced peripheral arterial occlusive disease. A double blind placebo controlled trial with iloprost. *Int Angiol* 10 (1991) 229-232
31. Fiessinger JN und Schafer M: Trial of iloprost versus aspirin treatment for critical limb ischaemia of thromboangiitis obliterans. The TAO Study. *Lancet* 335 (1990) 555-557

32. Olschewski H, Simonneau G, Galie N, Higenbottam T, Naeije R, Rubin LJ, Nikkho S, Speich R, Hoeper MM, Behr J, Winkler J, Sitbon O, Popov W, Ghofrani HA, Manes A, Kiely DG, Ewert R, Meyer A, Corris PA, Delcroix M, Gomez-Sanchez M, Siedentop H und Seeger W: Inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 347 (2002) 322-329
33. Sablotzki A, Czeslick E, Gruenig E, Friedrich I, Schubert S, Borgermann J und Hentschel T: First experiences with the stable prostacyclin analog iloprost in the evaluation of heart transplant candidates with increased pulmonary vascular resistance. *J Thorac Cardiovasc Surg* 125 (2003) 960-962
34. Sablotzki A, Czeslick E, Schubert S, Friedrich I, Muhling J, Dehne MG, Grond S und Hentschel T: Iloprost improves hemodynamics in patients with severe chronic cardiac failure and secondary pulmonary hypertension. *Can J Anaesth* 49 (2002a) 1076-1080
35. Sablotzki A, Hentschel T, Gruenig E, Schubert S, Friedrich I, Muhling J, Dehne MG und Czeslick E: Hemodynamic effects of inhaled aerosolized iloprost and inhaled nitric oxide in heart transplant candidates with elevated pulmonary vascular resistance. *Eur J Cardiothorac Surg* 22 (2002b) 746-752
36. Bruhn S, Kemming G, Kisch-Wedel H, Meisner F, Koehler C, Flondor M, Kübler W, Meßmer K und Zwissler B: Wirkung von inhaliertem NO und PGI₂ auf die linksventrikuläre Kontraktilität in vivo. *Anästhesiologie & Intensivmedizin* 42 (2001) 450
37. Rybin V, Pak E, Alcott S und Steinberg S: Developmental Changes in Beta2-Adrenergic receptor Signaling in Ventricular Myocytes: the Role of Gi Proteins and Caveolae Microdomains. *Mol Pharmacol* 63 (2003) 1338-1348

38. Karbowska J, Kochan Z und Smolenski RT: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor alpha Is Downregulated In The Failing Human Heart. *Cell Mol Biol Lett* 8 (2003) 49-53
39. Nakagawa O, Sasaki Y, Tanaka I, Usui T, Sando T, Muro S, Mori K, Itoh H, Yoshimasa T, Narumiya S und et al.: Gene expression of prostacyclin receptor in the hypertrophied heart of spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl* 22 (1995) S270-272
40. Cain BS, Meldrum DR, Joo KS, Wang JF, Meng X, Cleveland JC, Jr., Banerjee A und Harken AH: Human SERCA2a levels correlate inversely with age in senescent human myocardium. *J Am Coll Cardiol* 32 (1998) 458-467
41. Leineweber K, Wangemann T, Giessler C, Bruck H, Dhein S, Kostelka M, Mohr FW, Silber RE und Brodde OE: Age-dependent changes of cardiac neuronal noradrenaline reuptake transporter (uptake1) in the human heart. *J Am Coll Cardiol* 40 (2002) 1459
42. Berti F, Rossoni G, Della Bella D, Villa LM, Buschi A, Trento F, Berti M und Tondo C: Nitric oxide and prostacyclin influence coronary vasomotor tone in perfused rabbit heart and modulate endothelin-1 activity. *J Cardiovasc Pharmacol* 22 (1993) 321-326
43. Stitham J, Stojanovic A und Hwa J: Impaired receptor binding and activation associated with a human prostacyclin receptor polymorphism. *J Biol Chem* 277 (2002) 15439-15444
44. Montalescot G, Drobinski G, Meurin P, Maclouf J, Sotirov I, Philippe F, Choussat R, Morin E und Thomas D: Effects of prostacyclin on the pulmonary vascular tone and cardiac contractility of patients with pulmonary hypertension secondary to end-stage heart failure. *Am J Cardiol* 82 (1998) 749-755

45. Fassina G, Tessari F und Dorigo P: Positive inotropic effect of a stable analogue of PGI₂ and of PGI₂ on isolated guinea pig atria. Mechanism of action. *Pharmacol Res Commun* 15 (1983) 735-749
46. Pavlovic M, Petkovic D, Cvetkovic M, Macut DJ, Zdjelar K, Nestic M, Bosnic O, Radulovic R und Mihajlovic M: The influence of prostacyclin (PGI₂) on contractile properties of isolated right ventricle of rat heart. *Experientia* 51 (1995) 941-944
47. Pavlovic M, Petkovic D, Cvetkovic M, Zdjelar K, Starcevic V und Bosnic O: Study of the mechanism of prostacyclin (PgI₂) action on myocardial contractility. *Agents Actions Suppl* 37 (1992) 171-175
48. Ueno Y, Okazaki S, Isogaya M, Nishio S, Tanaka H, Kato Y und Shigenobu K: Positive inotropic and chronotropic effects of beraprost sodium, a stable analogue of prostacyclin, in isolated guinea pig myocardium. *Gen Pharmacol* 27 (1996) 101-103
49. Ogura T, Watanabe I, Kajita J, Saito T, Saito S, Ozawa Y und Hatano M: Effects of the thromboxane A₂ analogue, STA₂, on the transmembrane potentials of guinea pig ventricular muscles under normal and simulated ischaemic conditions. *Eicosanoids* 3 (1990) 111-114
50. Terashita ZI, Fukui H, Nishikawa K, Hirata M und Kikuchi S: Coronary vasospastic action of thromboxane A₂ in isolated, working guinea pig hearts. *Eur J Pharmacol* 53 (1978) 49-56
51. Bowling N, Dube GP, Kurtz WL, Brune KA, Saussy DL, Jr., Dorn GW, 2nd und Mais DE: Characterization of thromboxane A₂/prostaglandin H₂ binding sites in guinea pig cardiac membrane preparations. *J Mol Cell Cardiol* 26 (1994) 915-923
52. Evers AS, Dunkel CG, Saffitz JE und Needleman P: Exaggerated atrial arachidonate metabolism in rabbit left ventricular myocardial infarction. *J Clin Invest* 79 (1987) 155-162

53. Sakuma I, Gross SS und Levi R: Positive inotropic effect of the thromboxane analog U-46619 on guinea pig left atrium: mediation by specific receptors and association with increased phosphoinositide turnover. *Can J Physiol Pharmacol* 67 (1989) 943-949
54. Fukuda Y: Difference in calcium content of atrial and ventricular muscle. *Jpn J Physiol* 25 (1975) 467-479

9 ANLAGEN

9.1 Hämodynamische Parameter

Tabelle 9.1 — Mathematische Formeln zur Berechnung der hämodynamischen Parameter			
<i>Name</i>	<i>Abkürzung</i>	<i>Formel</i>	<i>Einheit</i>
Transpulmonaler Gradient	TPG	MPAP-PCWP	mmHg
Herzindex, Cardiac Index	CI	HZV/KOF	$l \times \text{min}^{-1} \times m^{-2}$
Schlagvolumen, stroke volume	SV	HZV/HF x 1000	ml
Systemischer Gefäßwiderstand, systemic vascular resistance	SVR	$79,96 \times (\text{MAP}-\text{ZVD})/\text{HZV}$	$\text{dyn} \times \text{s}/\text{cm}^5$
Systemischer Gefäßwiderstandsindex	SVRI	SVR/KOF	$\text{dyn} \times \text{s}/\text{cm}^5 \times m^2$
Pulmonaler Gefäßwiderstand,	PVR	$79,96 \times (\text{MAP}-\text{PAWP})/\text{HZV}$	$\text{dyn} \times \text{s}/\text{cm}^5$
Pulmonaler Gefäßwiderstandsindex	PVRI	PVR/KOF	$\text{dyn} \times \text{s}/\text{cm}^5 \times m^2$
Linksventrikuläre Arbeit, left cardiac work	LCW	$0,0136 \times (\text{MAP}-\text{PCWP}) \times \text{HZV}$	$\text{kg} \times m$
Linksventrikulärer Arbeitsindex	LCWI	LCW/KOF	$\text{kg} \times m/m^2$
Linksventrikuläre Auswurfarbeit, left ventricular stroke work	LVSW	$0,0136 \times (\text{MAP}-\text{PCWP}) \times \text{SV}$	$\text{g} \times m$
Linksventrikulärer Auswurfindex	LVSWI	LVSW/KOF	$\text{g} \times m/m^2$
Rechtsventrikuläre Arbeit, right cardiac work	RCW	$0,0136 \times (\text{MAP}-\text{ZVD}) \times \text{HZV}$	$\text{kg} \times m$
Rechtsventrikulärer Arbeitsindex	RCWI	RCW/KOF	$\text{kg} \times m/m^2$

Rechtsventrikuläre Auswurfarbeit, right ventricular stroke work	RVSW	$0,0136 \times (\text{MPAP-ZVD}) \times \text{SV}$	$\text{g} \times \text{m}$
Rechtsventrikulärer Auswurfleistungsindex	RVSWI	RVSW/KOF	$\text{g} \times \text{m}/\text{m}^2$

THESEN

1. Die gemessene Kontraktionskraft sowohl in Verum- als auch Kontrollgruppe ist innerhalb der untersuchten Stichprobe sehr inhomogen.
2. Die Iloprost-Trägerlösung (Kontrollgruppe) führte im Konzentrationsbereich von 10 pg/ μ l bis 100 ng/ml zu einer signifikanten Abnahme der Kontraktionskraft gegenüber unstimulierten Trabekelpräparaten.
3. Iloprost führt im Konzentrationsbereich von 30 pg/ml bis 100 ng/ml ebenfalls zu einer signifikanten Abnahme der Kontraktionskraft gegenüber unstimulierten Trabekelpräparaten.
4. Die gemessenen Kontraktionskräfte in Verum- und Kontrollgruppe unterschieden sich zu keinem Stimulationszeitpunkt signifikant voneinander.
5. Die Arbeitshypothese konnte somit mit unserem gewählten Versuchsaufbau nicht bestätigt werden.
6. Es bestand kein Zusammenhang zwischen den Trabekelmassen und den gemessenen Kräften nach Stimulation mit Iloprost bzw. Trägerlösung.
7. Eine medikamentöse Vorbehandlung mit Betablockern liess ebenfalls keinen Zusammenhang mit den erfassten Kräften erkennen.

TABELLARISCHER LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Gerold Rodenbäck
Geboren: 05. August 1964
Geburtsort: Aschendorf Kreis Emsland
Familienstand: ledig, keine Kinder

Ausbildung

Schulbildung: 1984 Allgemeine Hochschulreife
(Heinrich Nordhoff Gymnasium Wolfsburg)

Studium: WS 1984 Humanmedizin, Medizinische
Hochschule Hannover

1990-1991 Praktisches Jahr, Städtisches Klinikum
Braunschweig
Wahlfach : Urologie
1991 3. Staatsexamen
Gesamtnote : gut
1993 Fachanerkennung Notfallmedizin

Praxis

Medizinische Laufbahn :

06/91-10/92 Arzt im Praktikum, Städtisches Klinikum
Braunschweig, Herz -,Thorax und Gefäßchirurgie;
davon 6 Monate auf der Intensivstation (Chefarzt
Prof. Dr. Frank)
01/93-03/93 Wehrdienst, Stabsarzt
05/93-06/94 Arzt im Zivildienst, Städtisches Klinikum
Braunschweig, Allgemein Chirurgie, davon 6 Monate
auf der Abdominalchirurgischen Intensivstation (
Chefarzt Prof. Dr. Wagner)
07/94-09/96 Assistenzarzt, Universitätsklinikum Marburg,
Herzchirurgie, davon 9 Monate als
eigenverantwortlicher Stationsarzt der Intensivstation
(Chefarzt Prof. Dr. Moosdorf)
10/96-12/99 Assistenzarzt, Herzzentrum Leipzig Rhönklinikum AG
(Chefarzt Prof. Dr. Mohr)
1/2000-4/2001 Unternehmensberater
seit 01.05.2001 Assistenzarzt, Herz- und Thoraxchirurgie

Halle den 30.03.2004

Gerold Rodenbäck

SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als de angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwertige Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt. Es ist mir bekannt, dass ich den Dokortitel nicht führen kann, bevor mir die Promotionsurkunde bzw. eine vorläufige Bescheinigung gemäß § 16 der Promotionsordnung ausgehändigt wurde.

Halle, den 30.03.2004

Gerold Rodenbäck

DANKSAGUNG

Diese Arbeit wurde an der Klinik und Poliklinik für Herz- und Thoraxchirurgie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchgeführt. Dem Direktor dieser Klinik, Herrn Prof. Dr. med. Rolf Edgar Silber, gebührt mein Dank für die Überlassung des wissenschaftlichen Themas, die Möglichkeit der Freistellung vom klinischen Alltag sowie für die stimulierenden wissenschaftlichen Diskussionen.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Armin Sablotzki gebührt ebenfalls mein tiefster Dank für die hervorragende wissenschaftliche Betreuung während der Durchführung der Arbeit und seine exzellente fachliche Betreuung.

Ein Laborbetrieb ohne engagierte MTAs kann nicht reibungslos funktionieren. Frau Thekla Wangemann hat hervorragende Arbeit im Labor der HTC geleistet und mich in die Organbadversuche exzellent eingearbeitet. Ihre freundliche und lockere Art hat wesentlich zu einer entspannten und angenehmen Arbeitsatmosphäre beigetragen.

Mein besonderer Dank gilt auch meiner Kollegin und meinen Kollegen der Herz- und Thoraxchirurgie, die mich während meiner Forschungstätigkeit mit Vorhofohren versorgt haben.

Meinen Eltern danke ich für ihre Unterstützung und die Möglichkeit, Medizin zu studieren. Herrn Claudius Diez danke ich für seine Hilfe mit der Erklärung der Computersoftware.