

Aus der Klinik für Anästhesiologie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. B. H. Pannen

**Einfluss einer milden Hypothermie auf die Mikrozirkulation der  
Magenschleimhaut während systemischer Hypoxie**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von  
Susanne Weiß  
2014

---

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf  
Dekan

Referent: Prof. Dr. Picker

Korreferentin: Prof. Dr. May

---

Meiner Familie

---

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

**British Journal of Anaesthesia** (2014, September) 113 (3): 433-442  
first published online January 3, 2014

**Hypothermia improves oral and gastric mucosal oxygenation during hypoxic challenges.**  
C. Vollmer; S. Weiß; C. Beck; I. Bauer; O. Picker

Kongressbeiträge:

**59. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin (Deutscher Anästhesiecongress), 2012, Leipzig:**

PO-3.2.2 Auswirkungen einer Hypothermie auf die Oxygenierung der Magenschleimhaut unter Hypoxie (vorläufige Daten)

S. Weiß, C. Vollmer, M. Swertz, I. Schwartges, I. Bauer, O. Picker  
Universitätsklinikum Düsseldorf (Anästh Intensivmed 2012;53:S276)

**Euroanaesthesia, Annual Meeting of the European Society of Anaesthesiology Euroanaesthesia (ESA) 2012, Paris:**

4AP4-11 Effects of hypothermia on gastric mucosal oxygenation during hypoxia (vorläufige Daten)

O. Picker, I. Bauer, S. Weiß, C. Vollmer

University Hospital Duesseldorf, Department of Anaesthesiology, Duesseldorf, Germany (Eur J Anaesthesiol 2012, Volume 29, Supplement 50)

Nachtrag: Darstellung der Eigenleistung.

Innerhalb dieser Arbeitsgruppe wurden folgende Leistungen zu der im vorliegenden Manuskript beschriebenen Thematik und zu den oben aufgeführten Publikationen durch mich, Susanne Weiß, erbracht:

Versuchsaufbau und Instrumentierung der Tiere, Datenerhebung (vgl. Material und Methoden), Durchführung und Optimierung der Hypothermie und Hypoxie, Training und Betreuung der Versuchstiere vor und zwischen den Versuchen, Mitwirkung bei der Carotisschlingenoperation und der Wundnachbehandlung, Auswertung und Analyse der Daten, Interpretation der Daten, Erstellung des vorliegenden Dissertationsmanuskripts inklusive der Abbildungen und Erstellung der Poster für die Kongressbeiträge, Vorstellung der vorläufigen Ergebnisse auf der 59. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin 2012, Verfassen von Teilen des Manuskripts des o.g. Artikels im BJA sowie Korrekturen und Überarbeitung der Publikation.

## Zusammenfassung

### **Einfluss einer milden Hypothermie auf die Mikrozirkulation der Magenschleimhaut während systemischer Hypoxie**

**Fragestellungen und Ziele:** Die gastrointestinale Schleimhaut bildet eine effektive Barriere gegen die Translokation von im Darmlumen enthaltenen Bakterien und deren Toxinen in das Blut und in das lymphatische System. Eine Beeinträchtigung dieser Barrierefunktion begünstigt durch den Übertritt der Bakterien und Endotoxine den Beginn einer systemischen Inflammationsreaktion mit verschiedensten Komplikationen. Hypoxische Situationen treten in der Intensivmedizin aus unterschiedlichen Gründen auf und können über eine reduzierte Oxygenierung die Barrierefunktion der gastrointestinalen Schleimhaut herabsetzen.

Milde Hypothermie wird bereits erfolgreich in einigen klinischen Bereichen zur Verbesserung und Erhaltung verschiedener Gewebefunktionen während und nach hypoxischen Ereignissen angewandt. Sie zeigte auch bereits positive Wirkungen auf die mikrovaskuläre Oxygenierung der gastrointestinalen Schleimhaut während eines hämorrhagischen Schocks. Zu klären war nun, ob Hypothermie auch eine positive Wirkung auf die mikrovaskuläre Hämoglobinoxygenierung ( $\mu\text{HbO}_2$ ) unter physiologischen Bedingungen und unter zusätzlicher systemischer Hypoxie hat.

Da sowohl die Hypothermie als auch die Hypoxie über eine Kalziumdesensibilisierung des Myokards und durch eine Änderung des Gefäßtonus über vaskuläre  $\text{K}^+$ - $\text{ATP}$ -Kanäle das Herzzeitvolumen verringern, sollte weiterhin geklärt werden, ob der  $\text{K}^+$ - $\text{ATP}$ -Kanalantagonist Glibenclamid oder der  $\text{K}^+$ - $\text{ATP}$ -Kanalagonist und Kalziumsensitizer Levosimendan über eine  $\text{K}^+$ - $\text{ATP}$ -Kanal-Modulation oder über eine Kalziumsensibilisierung die  $\mu\text{HbO}_2$  beeinflussen.

**Methodik:** Die Effekte einer milden Hypothermie (34 °C) auf die  $\mu\text{HbO}_2$  wurden zunächst unter physiologischen Bedingungen und danach unter zusätzlicher Hypoxie ( $\text{FiO}_2 = 0,12$  für 15 Minuten) in wiederholten Versuchen an fünf gesunden, weiblichen Foxhounds in Allgemeinanästhesie mit Sevofluran untersucht. Zum Vergleich dienten Versuche unter Normothermie (37,5 °C). Weiterhin wurden in zusätzlichen Versuchen unter Hypothermie Glibenclamid ( $0,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  über 10 Minuten) bzw. Levosimendan ( $20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  über 15 Minuten, gefolgt von einer kontinuierlichen Infusion von  $0,25 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) vor Beginn der hypoxischen Phase appliziert. Dabei wurden in allen Versuchen die systemischen Kreislaufparameter, die gastrale und orale  $\mu\text{HbO}_2$  mittels Reflexionsspektrophotometrie und der mikrovaskuläre Blutfluss mittels Laserdopplerflussmessung kontinuierlich aufgezeichnet und regelmäßig Blutgasanalysen durchgeführt.

**Ergebnisse und Schlussfolgerungen:** Unter physiologischen Bedingungen steigerte eine milde Hypothermie die Oxygenierung der oralen Schleimhaut während die der Magenschleimhaut unverändert blieb. Unter Anwendung von milder Hypothermie sind die Auswirkungen einer zusätzlichen Hypoxie auf die orale und gastrale Mikrozirkulation abgeschwächt und die Hypothermie wirkt somit potentiell protektiv auf die Schleimhaut. Zur Verringerung der hypothermiebedingten kardiodepressiven Wirkungen eignete sich Levosimendan über eine kalziumsensibilisierende Wirkung. Da weder der  $\text{K}^+$ - $\text{ATP}$ -Kanalantagonist Glibenclamid, noch der  $\text{K}^+$ - $\text{ATP}$ -Kanalagonist und Kalziumsensitizer Levosimendan zu lokalen Veränderungen der gastrointestinalen  $\mu\text{HbO}_2$  geführt haben, scheinen weder vaskuläre  $\text{K}^+$ - $\text{ATP}$ -Kanäle noch eine lokale Kalziumdesensibilisierung im Splanchnikusgebiet an der Regulation der gastrointestinalen Mikrozirkulation unter Hypoxie und Hypothermie beteiligt zu sein.

## Abkürzungsverzeichnis

A	Ampère
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
aU	Arbitrary unit
BGA	Blutgasanalyse
°C	Grad Celsius
DO <sub>2</sub>	Systemisches Sauerstoffangebot (Gesamtsauerstoffangebot)
dP <sub>max</sub>	Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
FiO <sub>2</sub>	Inspiratorische Sauerstofffraktion
g	Gramm
GLIB	Glibenclamid
HF	Herzfrequenz
HPX	Hypoxie
HT	Hypothermie
Hz	Hertz
HZV	Herzzeitvolumen
K <sup>+</sup> <sub>-ATP</sub> -Kanal	Sulfonylharnstoffsensitiver ATP-abhängiger Kalium-Ionen-Kanal
KG	Körpergewicht
k-	Kilo-
LEVO	Levosimendan
l	Liter
MAD	Mittlerer arterieller (Blut-) druck
m	Meter
m-	Milli-
μ-	Mikro-
min	Minute
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mol	Mol (Stoffmenge)
MOV	Multiorganversagen
μHbO <sub>2</sub>	Mikrovaskuläre Hämoglobinoxygenierung
μflow	Mikrovaskulärer Blutfluss
Nr.	Nummer
pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
pH	pH-Wert (negativer, dekadischer Logarithmus der Hydroniumionen-Konzentration)
rpm	Rounds per minute (Zentrifugation, Umdrehungen pro Minute)
S <sub>art</sub> O <sub>2</sub>	Arterielle Sauerstoffsättigung
S.	Seite
SE	Standard error (Standardfehler)
sIgA	Soluble immunoglobulin A (lösliches IgA)
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
s.o.	Siehe oben
s.u.	Siehe unten
SVR	Systemic vascular resistance (Systemischer Gefäßwiderstand)
SV	Schlagvolumen
T	Temperatur in Grad Celsius
TD	Thermodilution
TOF	“Train of four” Stimulationsmuster
vgl.	Vergleiche
z.B.	Zum Beispiel
ZVD	Zentraler Venendruck

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
2	Material und Methoden .....	10
2.1	Versuchstiere .....	10
2.2	Vorbereitende Operation .....	11
2.3	Messungen .....	11
2.3.1	Datenregistrierung .....	11
2.3.2	Herzfrequenz .....	12
2.3.3	Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD) .....	12
2.3.4	Herzzeitvolumen (HZV) .....	12
2.3.5	Systemic vascular resistance (SVR) .....	14
2.3.6	Körpertemperatur .....	14
2.3.7	Atem- und Narkosegase .....	14
2.3.8	Neuromuskuläres Monitoring .....	15
2.3.9	Blutgas- und Elektrolytbestimmung .....	15
2.3.10	Mikrozirkulationsmessungen .....	16
2.3.11	Bispektral-Index <sup>TM</sup> -Monitoring (BIS <sup>TM</sup> ) .....	18
2.4	Interventionen .....	19
2.4.1	Hypothermie .....	19
2.4.2	Hypoxie .....	20
2.4.3	Applikation von Levosimendan und Glibenclamid .....	20
2.5	Versuchsprotokoll .....	21
2.5.1	Allgemeines .....	21
2.5.2	Normothermie & Hypoxie (NTHPX) .....	22
2.5.3	Hypothermie & Hypoxie (HTHPX) .....	23
2.5.4	Hypothermie & GLIB & Hypoxie (HTGliHPX) .....	23
2.5.5	Hypothermie & LEVO & Hypoxie (HTLevHPX) .....	23
2.6	Statistische Auswertung .....	24
3	Ergebnisse .....	25
3.1	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	25
3.2	Effekte der Hypothermie unter physiologischen Bedingungen .....	25
3.3	Hypoxie unter Normothermie .....	26
3.4	Hypoxie unter Hypothermie .....	26
3.5	Hypoxie unter Hypothermie und Levosimendan .....	27
3.6	Hypoxie unter Hypothermie und Glibenclamid .....	28
4	Diskussion .....	31
4.1	Zusammenfassung .....	31
4.2	Methodenkritik .....	31
4.3	Ergebnisdiskussion .....	35
4.4	Klinische Bedeutung .....	42
	Literaturverzeichnis .....	45
	Danksagung	
	Eidesstattliche Versicherung	

# 1 Einleitung

Die Schleimhaut des Magen-Darm-Trakts spielt eine zentrale Rolle für verschiedene lebenswichtige Körperfunktionen. Neben vielfältigen Absorptions- und Sekretionsfunktionen bildet sie eine effektive Barriere gegen die Translokation von physiologischerweise im Darmlumen enthaltenen Bakterien und deren Toxinen in die Blutbahn. Eine Beeinträchtigung der Funktion dieser Schleimhautbarriere begünstigt durch den Übertritt der Bakterien und Endotoxine in das Blut und in das lymphatische System den Beginn einer inflammatorischen Kaskade. Die Folge ist eine lokale Aktivierung immunologischer Prozesse, die wiederum zu einer gesteigerten Schleimhautpermeabilität und einer exzessiven Freisetzung von Entzündungsmediatoren führen. Diese Mechanismen verstärken sich gegenseitig und fördern das Entstehen eines *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS), welches sich zu einem Multiorganversagen (MOV) mit häufig letalem Ausgang ausweiten kann (1–4). In diesem Kontext wurde der Darm bereits als „Motor des Multiorganversagens“ bezeichnet (5).

Die Integrität wichtiger Komponenten der Darmbarriere hängt vor allem von einer adäquaten Oxygenierung der Mukosa ab. Sowohl eine konstante Regeneration der Darmepithelzellen, eine pathogenabweisende Muzin- und sIgA-Sekretion, als auch die Aufrechterhaltung der selektiv permeablen Zell-Zell-Kontakte und der Darmperistaltik sind energieverbrauchende Prozesse, die eine hohe Sauerstoffzufuhr erfordern (3). Folglich ist der Anteil des Magen-Darm-Trakts am Herzzeitvolumen (HZV) in Ruhe mit ca. 30 % beachtlich hoch (6).

Innerhalb des Magen-Darm-Trakts nimmt die Blutversorgung der Schleimhaut aufgrund ihrer oben genannten Funktionen einen sehr hohen Stellenwert ein. Auf sie entfallen dementsprechend 70 % des den Gastrointestinaltrakt durchfließenden Blutvolumens. Allein die apikalen Schleimhautabschnitte benötigen hiervon bereits unter physiologischen Bedingungen 50% (6).

Die gastrointestinale Durchblutungssituation weist über den hohen Sauerstoffbedarf hinaus einige Besonderheiten auf, die für eine besondere Anfälligkeit für hypoxische Zustände der

Schleimhaut prädisponieren: Zum Ersten ist die Durchblutung der Mukosa der submukosalen Versorgung nachgeschaltet, wodurch sich das maximal mögliche Sauerstoffangebot an die Mukosa verringert. Zum Zweiten bestehen arteriovenöse Shunts innerhalb der intestinalen Villi. Eine zentrale Arteriole zieht von der Villusbasis bis an die Spitze und verzweigt sich dort zu einem Kapillargeflecht, welches wiederum zurück zur Villusbasis zieht und in eine Venole mündet (7). Aufgrund der geringen Diffusionsstrecke zwischen der Arteriole und den sauerstoffärmeren Kapillaren bzw. der Venole kann Sauerstoff vor allem an der Villusbasis leicht direkt von der Arteriole in die Venole diffundieren. Letzteres verschlechtert die Sauerstoffversorgung der apikalen Schleimhautanteile insbesondere unter bereits hypoxischen Bedingungen und kann Ischämien begünstigen (6, 8, 9). Zum Dritten zeigt die zentrale Villusarteriole einen nahezu rechtwinkligen Abgang aus der versorgenden Arterie, was die Blutflussgeschwindigkeit und damit das mögliche Sauerstoffangebot pro Zeiteinheit nochmals limitiert (7).

Darüber hinaus besteht aufgrund fehlender lokaler Sauerstoffspeichermöglichkeiten eine direkte Abhängigkeit vom aktuellen systemischen Sauerstoffangebot. Ist dieses vermindert, kann der Organismus den Bedarf durch eine gesteigerte Sauerstoffextraktion nur zu einem geringen Grad kompensieren. Dies wird vor allem durch eine metabolisch vermittelte Vasodilatation der beteiligten Kapillaren und über eine Erhöhung der Kapillardichte durch die Öffnung präkapillärer Sphinkter erreicht (6, 10–12).

Die vorgestellten Besonderheiten der gastrointestinalen Mikrozirkulation und die limitierten Kompensationsmöglichkeiten zeigen eine gesteigerte Anfälligkeit der Mukosa für eine Sauerstoffminderversorgung.

Es gibt somit viele Ursachen für eine Beeinträchtigung der Darmbarriere durch eine gestörte Darmoxygenierung: Neben septischen Zuständen, lokalen Ischämien, einem hämorrhagischen Schock und Verbrennungen kann auch eine akute systemische Hypoxie (z.B. pulmonal, kardial oder zentral bedingt) die Mukosaoxygenierung beeinträchtigen (13, 14). Hierbei

verschlechtert die Hypoxie erstens durch eine reduzierte arterielle Sauerstoffsättigung direkt die mukosale Sauerstoffsättigung und zweitens stellt sie einen starken Reiz zur Aktivierung des sympathischen Nervensystems dar. Unter einer Sympathikusaktivierung kommt es durch eine Aktivierung von Alpha-Adrenorezeptoren der Mesenterialgefäße zu einer verminderten Durchblutung des Magen-Darm-Trakts zugunsten der kardialen und zerebralen Durchblutung (15). Dieser in lebensbedrohlichen Situationen und für die Autoregulation der Darmdurchblutung wichtige Mechanismus wirkt sich im Fall einer systemischen Hypoxie negativ auf den gastrointestinalen Blutfluss und folglich zusätzlich negativ auf das ohnehin reduzierte Sauerstoffangebot aus. Begünstigt durch die bereits oben beschriebene Prädisposition der Mukosa für eine unzureichende Oxygenierung kommt es unter einer systemischen Hypoxie frühzeitig zu oberflächlichen Ischämien der Epithelzellen, beginnend an den Villusspitzen. Dies kann innerhalb kurzer Zeit zu einer Funktionsbeeinträchtigung der Enterozyten führen, welche sich in einer eingeschränkten Barrierefunktion und einer verstärkten bakteriellen Translokation widerspiegelt (15). Zusätzlich kommt es zu einer Kaskade von weiteren Effekten: Im Rahmen der zu Beginn erwähnten proinflammatorischen Reaktion werden auf Schleimhautebene Zytokine (16, 17) freigesetzt, die die Synthese von Akute-Phase-Proteinen und die Einwanderung von neutrophilen Granulozyten stimulieren. Die geschädigte Schleimhaut wird durch Verdauungsenzyme angegriffen und eine verminderte sIgA-Sekretion begünstigt zudem die Anlagerung von luminal vorhandenen Bakterien an die Enterozyten, welche die Immunreaktion zusätzlich steigern. Gleichzeitig sind trotz beachtlicher Adaptationsfähigkeit leukozytäre Immunabwehrfunktionen gestört, da auch die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies zur Pathogenabwehr durch neutrophile Granulozyten direkt vom Sauerstoffangebot abhängig ist (18, 19). Die lokale Inflammation wird durch die Nekrose der Epithelzellen mit Freisetzung von Zellbestandteilen noch verstärkt und es kann zu Blutungen, Ulzerationen und einer weiteren Permeabilitätssteigerung der Schleimhaut kommen. Immer größere Mengen an Bakterien, Toxinen,

Verdauungsenzymen und Abbauprodukten gelangen so in das portalvenöse Blut (15, 20). Es gibt Hinweise, dass sich geringe Mengen an Endotoxinen auch im physiologischen Zustand im Pfortaderblut befinden, die durch Kupfferzellen in der Leber aufgenommen und eliminiert werden (21, 22). Dieser Mechanismus versagt jedoch bei großen Mengen von Fremdstoffen insbesondere unter Hypoxie, da auch die Aktivität der Kupfferzellen mit dem aktuellen Sauerstoffangebot positiv korreliert (23). Die resultierende Endotoxämie fördert über eine weiter zunehmende Zytokinproduktion (24) die Entstehung eines SIRS und begünstigt die Entwicklung eines *acute respiratory distress syndrome* (ARDS) und eines MOV (1–4). Des Weiteren steigert sie lokal wiederum die Permeabilität der Darmbarriere, was zu einer Aggravation der Situation mit abermals verstärkter bakterieller Translokation und Entzündungsreaktion führen kann (25). Dies erhöht die Gefahr eines septischen Verlaufs. Analog zum Modell des Ischämie/Reperfusionsschadens wurde an intestinalen Zell- und Gewebekulturen nach Hypoxie/Reoxygenierung eine nochmals erhöhte Zytokinfreisetzung und erhöhte Permeabilität der Zell-Zell-Kontakte beobachtet (26–28).

Obwohl heutzutage keine absolute Einigkeit darüber herrscht, ob das Ausmaß einer systemischen Endotoxämie direkt vom Ausmaß der Minderdurchblutung des Magen-Darm-Trakts abhängt (25), wird doch vor allem die Mikrozirkulation u.a. an der Mundschleimhaut und im weiteren Gastrointestinaltrakt experimentell als wichtiger Prognoseindikator beispielsweise postoperativ oder bei septischen Patienten erachtet (29–32). Somit wird der Erhalt einer adäquaten gastrointestinalen Mukosaperfusion und Oxygenierung, als wichtiger Beitrag zur Prävention und Therapie kritischer Erkrankungen eingeschätzt.

Zum bestmöglichen Erhalt der funktionalen Integrität der Darmbarriere kommt neben einer Vermeidung und möglichst schnellen kausalen Behandlung hypoxischer Zustände der supportiven Organprotektion im Splanchnikusgebiet eine besondere Bedeutung zu. Ziel sollte es sein, eine ausreichende Sauerstoffversorgung und Mikrozirkulation des Gastrointestinaltrakts auch während Situationen kritisch eingeschränkter

Sauerstoffversorgung zu erhalten. In diesem Zusammenhang konnte bereits früh für verschiedene andere Organsysteme unter Hypoxie und Ischämie eine zellprotektive Wirkung unter gezielter Anwendung von Hypothermie (HT) belegt werden (33–38). Einige Invertebraten und Vertebraten nutzen zur Protektion des Organismus instinktiv die Verhaltenshypothermie unter Hypoxie, d.h. ein gezieltes Aufsuchen kühler Orte und eine beabsichtigte Reduktion der Wärmeproduktion beim Absinken der Sauerstoffkonzentration der Atemluft unter 10 % (39, 40).

Unter Hypothermie wird bei homoiothermen Organismen eine Senkung der Körperkerntemperatur auf Werte unterhalb der individuellen Normbereiche verstanden. Trotz abweichender Einteilungsweisen werden bei der induzierten Hypothermie verschiedene Ausprägungsgrade unterschieden: milde HT: 35,9 bis 34,0 °C, moderate HT: 33,9 bis 32,0 °C und tiefe HT: < 32 °C (41). Organoprotektive Wirkungen der Hypothermie werden auf eine Reduktion des zellulären Sauerstoffverbrauchs (42) und auf einen verminderten Anfall toxischer Stoffwechselmetabolite, Sauerstoffradikale und Zytokine durch einen verminderten Zellstoffwechsel (39, 43–45) zurückgeführt. Über diese und weitere Mechanismen verlängert Hypothermie die Ischämietoleranz verschiedener Gewebe, reduziert den Ischämie/Reperfusionsschaden und erhält wichtige Gewebefunktionen aufrecht (41, 46–48).

Induzierte Hypothermie wird zur Neuroprotektion nach kardiopulmonaler Reanimation (33, 34, 49, 50), im Rahmen von Herzoperationen (51, 52), für bestimmte Fälle schwerer Schädel-Hirn-Traumata (53), für den ischämischen Hirninfarkt (54) und für die hypoxisch-ischämische Enzephalopathie des Neugeborenen (55) angewandt. Tierexperimentell und in ersten klinischen Studien konnte auch eine kardioprotektive Wirkung nach Myokardinfarkt nachgewiesen werden (38, 56, 57).

Der Einfluss von Hypothermie auf die gastrointestinale Durchblutung und Oxygenierung wird kontrovers betrachtet: Eine Studie an Ratten im hämorrhagischen Schock, der im Allgemeinen auch zu lokalen hypoxischen Zuständen der Darmschleimhaut führen kann,

ergab einen gesteigerten mesenterialen Blutfluss unter Hypothermie (58), während ein verringerter Blutfluss unter Hypothermie an isolierter Darmschleimhaut von neugeborenen Schweinen beobachtet wurde (59). Es gibt auch Hinweise für eine bessere Blutversorgung des Splanchnikusgebiets des Menschen durch milde Hypothermie während Phasen extrakorporaler Zirkulation (60). Neben dem Blutfluss ist vor allem auch die Oxygenierung der Schleimhaut von Bedeutung: Versuche der eigenen Arbeitsgruppe zur Mikrozirkulation haben bereits gezeigt, dass die Schleimhautoxygenierung des caninen Magen-Darm-Trakts während eines hämorrhagischen Schocks durch eine milde Hypothermie unabhängig von einer Steigerung des Gesamtsauerstoffangebots auch über einen verbesserten Erhalt der regionalen Perfusion gesteigert werden kann (61). Weitere Untersuchungen an einem intestinalen Ischämie/Reperusionsmodell zeigten bereits eine Reduktion des Ischämieschadens durch Kühlung (37, 43). An Hunden unter systemischer Hypoxie ( $FiO_2 = 0,12$  über 30 Minuten) konnte weiterhin gezeigt werden, dass der Quotient aus Sauerstoffangebot und Sauerstoffverbrauch (als Marker für das Überleben kritisch Kranker) unter milder bis moderater Hypothermie (ca. 32 - 34 °C) am höchsten und somit am günstigsten ist (62). Zunächst erscheint es also einleuchtend, dass eine milde Hypothermie auch bei systemisch hypoxischen Zuständen eine positive Wirkung auf die Sauerstoffversorgung der intestinalen Schleimhaut haben und somit potentiell protektiv auf deren funktionelle Integrität wirken könnte. Allerdings kann es sowohl unter Hypothermie als auch unter Hypoxie zu unerwünschten, kardiodepressiven Nebenwirkungen kommen (52, 63, 64): Die anfängliche sympathikusvermittelte Tachykardie (65–67) wird unterhalb einer Temperatur von ca. 35 °C durch eine Verlangsamung der spontanen diastolischen Depolarisation der Sinusknotenschrittmacherzellen und durch eine atrioventrikuläre Leitungsverzögerung aufgehoben, es kommt zu einer Bradykardisierung (68, 69). Hypothermie verringert zudem die Verfügbarkeit von Kalziumionen im Rahmen der myokardialen Kontraktion (52). *In vivo* sinkt durch diese Mechanismen das Herzzeitvolumen

(41, 63), was wiederum eine Verschlechterung der Gewebedurchblutung im gesamten Organismus bewirken kann. Die Hypoxie selbst kann sich zum Einen über eine Kalziumdesensibilisierung des Myokards (64) und zum Anderen über eine Aktivierung vaskulärer, sulfonylharnstoffsensitiver  $K^+_{-ATP}$ -Kanäle (70–72) mit nachfolgender Vasodilatation negativ auf das Herzzeitvolumen auswirken.

In dem Fall eines reduzierten Herzzeitvolumens unter Hypothermie und Hypoxie könnten additive Gaben des Kalziumsensitizers Levosimendan oder des  $K^+_{-ATP}$ -Kanalantagonisten Glibenclamid attraktive Optionen sein um das kardiovaskuläre System zu unterstützen. Dies könnte sich in der Folge positiv auf die gastrointestinale Mikrozirkulation auswirken.

Levosimendan wirkt durch eine Interaktion mit kardialem Troponin C kontraktilitätssteigernd und kann somit prinzipiell einer Hypothermie- und Hypoxie-induzierten Kalziumdesensibilisierung des Myokards entgegenwirken (14, 52, 73–75). Es ist in der Lage, die systemische Hämodynamik unter einer normothermen Hypoxie zu steigern ohne gleichzeitig den Sauerstoffverbrauch zu erhöhen (76). Unter physiologischen Bedingungen ruft die Substanz eine im Vergleich zur Steigerung des Gesamtsauerstofftransports überproportionale Steigerung der Oxygenierung im Splanchnikusgebiet hervor (77). Auch während einer Endotoxämie steigerte Levosimendan beim Schwein bereits das Sauerstoffangebot im Darm (78). Obwohl sich an einem vergleichbaren Hundemodell unter Normothermie und Hypoxie bisher trotz der Steigerung der kardialen Funktion keine eindeutige Steigerung der mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung im Gastrointestinaltrakt durch Levosimendan nachweisen ließ (14), wäre bei additiver kardiodepressiver Wirkung durch Hypothermie und Hypoxie durchaus eine unterstützende Wirkung von Levosimendan auf die gastrointestinale Mikrozirkulation denkbar.

Glibenclamid, ein Sulfonylharnstoff und  $K^+_{-ATP}$ -Kanalantagonist, führte in Studien an verschiedenen Abschnitten des Gefäßsystems zu einer Vasokonstriktion (71, 72, 79, 80). Vaskuläre  $K^+_{-ATP}$ -Kanäle dieser Art scheinen neben der Hypoxie bei verschiedenen

pathologischen Zuständen wie der Ischämie (81), dem hämorrhagischen Schock (82), sowie bei der Endotoxämie (70, 80) eine vasoregulatorische Rolle für die Gewebeoxygenierung zu spielen. In einem bestimmten Maß scheint deren Aktivierung also die Mikrozirkulation verschiedener Organsysteme positiv beeinflussen zu können, bei überschießender Aktivierung und Vasodilatation scheinen sie jedoch möglicherweise über eine lokale Hypotension die Mikrozirkulation beeinträchtigen zu können. Glibenclamid scheint diese Vasodilatation über eine Blockade der  $K^+$ -ATP-Kanäle verhindern zu können (70) und zeigte als nonadrenerger Vasopressor im hämorrhagischen Schock am Tiermodell bereits positive Effekt auf die kardiovaskuläre Funktion (83).

In dieser Arbeit wurden also neben den Effekten milder Hypothermie auf die Auswirkungen einer zusätzlichen Hypoxie die Auswirkungen von Levosimendan (kontraktilitätssteigernd via Kalziumsensitivierung, vasodilatierend via  $K^+$ -ATP-Kanal-Agonismus) und Glibenclamid als nonadrenergem Vasopressor (via  $K^+$ -ATP-Kanal-Antagonismus) untersucht. Die Effekte wurden während hypothermiebedingter, eingeschränkter Herzleistung zuerst unter reiner Hypothermie und dann bei fortbestehender Hypothermie unter zusätzlicher Hypoxie analysiert. Dabei wurden sowohl die Auswirkungen auf die gastrointestinale Mikrozirkulation der oralen und gastralen Schleimhaut als auch auf die systemischen Kreislaufparameter erfasst.

Zusammengefasst sollten also folgende Fragen geklärt werden:

1. Verändert eine milde Hypothermie die Mikrozirkulation der oralen und gastraln Schleimhaut bereits unter physiologischen Bedingungen?
2. Schützt eine milde Hypothermie die Mikrozirkulation der oralen und gastraln Schleimhaut unter zusätzlicher systemischer Hypoxie?
3. Können Levosimendan oder Glibenclamid das kardiovaskuläre System und die Mikrozirkulation im Gastrointestinaltrakt während therapeutischer Hypothermie und während zusätzlicher, systemischer Hypoxie unterstützen?

- 
4. Sind vasoaktive  $K^+$ -ATP-Kanäle an der Regulation der Mikrozirkulation im Splanchnikusgebiet unter Hypothermie und Hypoxie beteiligt?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere

Die Versuchsreihe wurde nach Genehmigung durch das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW (Ref. 87-51.04.2010.A073) an fünf gesunden Foxhounds (28–34 kg) durchgeführt. Die Hunde wurden in der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gehalten und mit Standardtrockenfutter (V3286-000 Hd Ereich, extrudiert, ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest) ernährt. Zur Minimierung von zirkadianen und umgebungsabhängigen Einflüssen auf die Messergebnisse und auf die Dauer der Kühlungszeit begannen alle Versuche zur gleichen Tageszeit in den gleichen Räumlichkeiten bei einer für Hunde thermoneutralen Raumtemperatur von 24 °C (84). Da sowohl das Gewicht der Versuchstiere als auch deren Menstruationszyklus den Stoffwechsel und die körpereigene Temperaturregulation beeinflussen können (85), wurden ausschließlich weibliche Hunde außerhalb des Oestrus verwendet, deren Gewicht durch standardisierte Fütterung und regelmäßigen Auslauf konstant gehalten wurde. Weil für Levosimendan (LEVO) aufgrund der Bildung wirksamer Metabolite mit langer Halbwertszeit eine bis zu zweiwöchige Wirkung auf Kreislaufvariablen beschrieben worden ist (86), wurde jeweils zwischen zwei Experimenten eine dreiwöchige Pause eingehalten, um das Risiko pharmakologischer Wechselwirkungen herabzusetzen. Auch eine adäquate Erholung der Tiere, insbesondere im Hinblick auf die Hypoxie, auf die verwendeten Narkotika und auf Störungen des Tag-Nacht-Rhythmus durch die lange Narkosedauer, wurde hierdurch sichergestellt. Eine komplette Magenentleerung der Tiere wurde durch eine jeweils 12-stündige Nahrungskarenz vor den Versuchen bei unbegrenztem Zugang zu Wasser gewährleistet. Um die Narkoseeinleitung möglichst stressfrei zu gestalten, wurden die Hunde bereits vor Beginn der Versuche kontinuierlich schrittweise an die Experimentatoren, an das Versuchslabor und an ihren Platz auf dem Versuchstisch gewöhnt.

Jedes Versuchstier durchlief bei der vorliegenden *cross-over* Studie in randomisierter Reihenfolge alle Versuchsgruppen um interindividuelle Schwankungen zu minimieren und um weitere, auch unbekannte, Störfaktoren soweit wie möglich zu eliminieren. Jeder Hund diente somit als seine eigene Kontrolle.

Alle Experimentatoren absolvierten im Vorfeld der Experimente einen tierversuchskundlichen Kurs für Groß- und Kleintiere, der durch leitende Mitarbeiter der Tierversuchsanlage der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf ausgerichtet wurde.

## 2.2 Vorbereitende Operation

Einige Wochen vor Beginn der Versuche wurden beide Arteriae carotides der Hunde in Allgemeinanästhesie (Anästhetika: Isofluran, Lachgas; Opiat: Fentanyl) unter sterilen Bedingungen freipräpariert und in oberflächliche Hautschlingen eingebettet (87). Dies erleichterte die arterielle Katheterisierung zur kontinuierlichen Blutdruckaufzeichnung sowie zur regelmäßigen Entnahme von arteriellen Blutproben während der späteren Versuche. Darüber hinaus förderte diese Vorbereitung eine komplikationsarme Heilung der Punktionsstellen nach den Versuchen.

## 2.3 Messungen

### 2.3.1 Datenregistrierung

Die während der Experimente kontinuierlich gemessenen Signale zur Herzfrequenz, arteriellem Blutdruck und zum Atemwegsdruck wurden mittels eines Universalverstärkers (11-G4145-01, Gould Inc., Cleveland, OH, USA) verstärkt und analog/digital gewandelt (Powerlab/800<sup>®</sup>, 400 Hz, ADInstruments, Pty Ltd., Castle Hill, Australia). Die Daten wurden auf einem PC (Betriebssystem: Windows<sup>®</sup> XP, Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) mit dem Programm Chart (Chart Version 4.2, ADInstruments, Pty Ltd., Castle Hill, Australia) visualisiert und aufgezeichnet. Die expiratorische Kohlendioxid- und Sauerstoffkonzentration sowie die Narkosegaskonzentration wurden ebenfalls mit der

Software Chart (Version 4.2) dokumentiert. Für die Versuchsauswertung wurde Chart (Version 5.5.6) im Analysemodus verwendet.

### 2.3.2 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz wurde kontinuierlich mittels Nadelelektroden über ein Standard-Oberflächen-Elektrokardiogramm (EKG) gemessen, wobei die Ermittlung der Frequenz jeweils R-Zacken-getriggert erfolgte (Chart Version 5.5.6).

### 2.3.3 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD)

Über die linke Arteria carotis communis wurde ein mit heparinierter Kochsalzlösung (2000 IE Heparin pro Liter NaCl 0,9%) gefüllter, druckfester Katheter bis in die Aorta ascendens vorgeschoben, wobei die arterielle Katheterlage durch die adäquate Darstellung des arteriellen Blutdruckkurvenverlaufs auf einem Monitor ermittelt wurde. Vor jedem Versuch wurde der angeschlossene Druckwandler (Modell P23 ID, Gould Statham<sup>®</sup>, Elk Grove, IL, USA) mit einem Quecksilbermanometer nach Gauer (HSE Druckeichgerät Typ 367, Hugo Sachs Elektronik, March) kalibriert. Der Druckwandler wurde auf Herzhöhe (orientiert am Processus spinosus des siebten Halswirbels) des liegenden Versuchstiers installiert.

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) wurde durch Integration der Originalsignale zum Blutdruckverlauf über die Zeit bestimmt (Chart v. 5.5.6).

### 2.3.4 Herzzeitvolumen (HZV)

Das Herzzeitvolumen (HZV) als Maß für die kardiale Pumpleistung wurde durch eine in mindestens halbstündlichen Abständen durchgeführte, transpulmonale Thermodilution ermittelt (PiCCO 4.2, PULSION Medical Systems AG, München). Überdies lieferte die Pulskonturanalyse Werte zum Schlagvolumen (SV), zur Schlagvolumenvariation, zum systemvaskulären Widerstand (SVR) und zur maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit als Maß der linksventrikulären Kontraktilität ( $dp_{\max}$ ). Die Datenerhebung auf dem PC erfolgte mithilfe des Programms PiCCO VoLEF Data Acquisition for Win32, Version 4.0 (PULSION Medical Systems AG, München).

Für die transpulmonale Thermodilution wurden 10 ml einer eisgekühlten, heparinisierten Kochsalzlösung (2000 IE Heparin pro Liter NaCl 0,9%) als Indikator im Bolus über eine Venenverweilkanüle (17G, Vasofix<sup>®</sup> Safety, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) am Vorderlauf des Hundes injiziert. Dies verursachte einen Abfall der Bluttemperatur, dessen zeitlicher Verlauf von der Blutflussgeschwindigkeit und der Menge des durchflossenen Blutvolumens abhängig ist. Nach anfänglicher Messung der Injektattemperatur am Injektionsort (PiCCO Monitoring Kit PV8215, Pulsion Medical Systems AG, München) wurde der Temperaturverlauf in der Aorta ascendens über eine Thermistorsonde im Thermodilutionskatheter erfasst (PULSIOCATH arterieller Thermodilutionskatheter PV2015L20, Pulsion Medical Systems AG, München). Das HZV lässt sich nach der Stewart-Hamilton-Methode folgendermaßen berechnen (88, 89):

$$HZV = \frac{(T_B - T_I) \cdot V_I \cdot K}{\int \Delta T_B \cdot dt}$$

Die applizierte Kältemenge ergibt sich aus der Differenz aus der Bluttemperatur vor der Injektion ( $T_B$ ) und der Injektattemperatur ( $T_I$ ), multipliziert mit dem Indikatorvolumen ( $V_I$ ). Die Injektatkonstante  $K$  setzt sich aus der Dichte und der spezifischen Wärmekapazität von Blut und Injektat zusammen. Das Integral  $\int \Delta T_B \cdot dt$  beschreibt die Fläche unter der Thermodilutionskurve.

Im Gegensatz zur herkömmlichen Erfassung der Thermodilutionskurve in der Arteria pulmonalis zeigt die transpulmonale Erfassungsmethode weniger stark ausgeprägte atemabhängige Veränderungen, da die längere Durchmischungszeit bereits eine Mittelung über den Atemzyklus bewirkt. Zusätzlich ist diese Methode mit weniger Invasivität und weniger Komplikationen in der Anwendung verbunden als die Erfassung in der Arteria pulmonalis (88, 90–92).

### 2.3.5 Systemic vascular resistance (SVR)

Die Berechnung des systemvaskulären Widerstands (SVR) kann näherungsweise durch den Quotienten aus dem arterio-venösen Druckgefälle (MAD-ZVD) und dem Herzzeitvolumen (HZV) nach folgender Formel erfolgen:

$$SVR = \frac{MAD - ZVD}{HZV}$$

In dieser Versuchsreihe wurde der ZVD nicht gemessen. Da frühere Messungen des ZVD in dieser Arbeitsgruppe ebenfalls unter Einsatz von Hypoxie, Levosimendan und Glibenclamid vernachlässigbar kleine, konstante Werte ergeben haben, wurde der SVR annähernd bestimmt:

$$SVR = \frac{MAD}{HZV}$$

### 2.3.6 Körpertemperatur

Die Versuchsräume wurden entsprechend der thermoneutralen Indifferenztemperatur für Hunde auf  $24 \pm 1$  °C temperiert (84). Die Messung der Bluttemperatur erfolgte über den zentral in der Aorta ascendens platzierten Thermosensor des Thermodilutionskatheters. Während der Versuche unter Normothermie wurde die Körpertemperatur des Versuchstiers wenn nötig durch Abdecken bei für Hunde physiologischen 37,5 °C gehalten. Um während der Experimente eventuell auftretende Veränderungen eines Temperaturgradienten zwischen dem Magen und der Mundschleimhaut untersuchen zu können, wurde die Körpertemperatur zusätzlich über eine Messsonde im Magen und an der Mundschleimhaut in direkter Nähe zum Messfühler des O2C-Geräts (vgl. Kap. 2.3.10) gemessen. Die Ergebnisse wurden auf dem angeschlossenen Monitor dargestellt (Dash<sup>®</sup> 4000 Patientenmonitor, GE Healthcare, Chalfont St. Giles, England).

### 2.3.7 Atem- und Narkosegase

Über einen konventionellen Atemgasmonitor (Capnomac Ultima<sup>™</sup>, Datex Division of Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnland) wurden kontinuierlich die in- und

expiratorischen Sauerstoff- und Kohlendioxidkonzentrationen sowie die Sevoflurankonzentration in der Ein- und Ausatemluft im Nebenstrom gemessen und auf dem PC aufgezeichnet (vgl. Kap. 2.3.1).

### 2.3.8 Neuromuskuläres Monitoring

Durch Muskelrelaxation wurde Muskelzittern unter Hypothermie verhindert um Wärmebildung zu verhindern und um eine artefaktfreie Messung zu gewährleisten.

Zur Überwachung der Muskelrelaxation während der Versuche wurde ein Relaxometer mit einem *train of four* (TOF) Stimulationsmuster eingesetzt (TOF Guard<sup>®</sup> INMT, Organon Teknika BV, Boxtel, Niederlande). Über Nadelelektroden wurde beim bereits narkotisierten Tier der Nervus ischiadicus viermal in einer Frequenz von 2 Hz mit einer Stromstärke von 15 mA stimuliert. Dies führte zu Kontraktionen der Hundepfote an der sich weit distal ein aufgeklebter Beschleunigungssensor befand. Die gemessene Beschleunigung korreliert linear mit der Kraft, die der Muskel aufbringen kann. Eine korrekte Platzierung der Stimulationselektroden lag vor, wenn sich vor der Relaxierung eine TOF-Ratio von 1,0 erzielen ließ. Die TOF-Ratio ist definiert als das Verhältnis der gemessenen Reizantworten auf die vierte und auf die erste Stimulation. Nach Einleitung der Relaxierung vor Versuchsbeginn stellte sich eine konstante TOF-Ratio von 0 ein.

Nach Versuchsende diente die TOF-Ratio als Anhaltspunkt für die Restwirkung des Muskelrelaxans - die Narkose wurde aufrechterhalten, bis sich eine TOF-Ratio von 1,0 einstellte und darüber hinaus eine ausreichende Spontanatmung zurückkehrte.

### 2.3.9 Blutgas- und Elektrolytbestimmung

Jeweils am Ende aller Interventions- und Kontrollphasen wurde eine arterielle Blutprobe mit geeigneten heparinisierten Spritzen abgenommen (PICO 50, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark). Aus dieser Probe wurden in einem Blutgasanalysegerät (Rapidlab<sup>®</sup> 865, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn) der arterielle Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck, der pH-Wert, die Bikarbonat- sowie die Hämoglobin- und,

Oxyhämoglobinkonzentration bestimmt. Die arterielle Sauerstoffsättigung ( $S_{art}O_2$ ) wurde mittels einer für Hunde modifizierten Form der Hill-Formel in Abhängigkeit vom arteriellen Sauerstoffpartialdruck ( $pO_2$ ), dem pH-Wert (pH) und der Temperatur (T) bestimmt (93):

$$S_{art}O_2 [\%] = 100 \cdot \frac{10^{(2,5198 \cdot \log pO_2 + 1,1804 \cdot (pH - 7) - 0,047234 \cdot T - 2,3621)}}{1 + 10^{(2,5198 \cdot \log pO_2 + 1,1804 \cdot (pH - 7) - 0,047234 \cdot T - 2,3621)}}$$

Der arterielle Sauerstoffgehalt ( $CaO_2$ ), bestehend aus dem an Hämoglobin gebundenen Anteil (Produkt aus der Hämoglobinkonzentration (Hb), der Hufner-Zahl und der arteriellen Sauerstoffsättigung ( $S_{art}O_2$ )) und dem physikalisch gelösten Sauerstoff (Produkt aus arteriellem Sauerstoffpartialdruck und dem Bunsen-Löslichkeitskoeffizienten für Sauerstoff im arteriellen Blut) lässt sich mithilfe der erhobenen Werte wie folgt berechnen (94) S. 608, (95) S. 42:

$$CaO_2 = Hb \cdot 1,34 \cdot S_{art}O_2 / 100 + pO_2 \cdot 0,0031$$

Für das systemische Sauerstoffangebot ( $DO_2$ ) gilt:

$$DO_2 = CaO_2 / 100 \cdot HZV$$

Darüberhinaus wurden die Elektrolytkonzentrationen von Natrium, Kalium, Kalzium und Chlorid sowie die Laktatkonzentration der Blutproben gemessen.

Der Hämatokrit wurde über eine vierminütige Zentrifugation bei 13000 rpm (Hettich Hämatokrit Zentrifuge Typ 2010, Hettich GmbH, Tuttlingen) in heparinisierten Hämatokrit-Kapillaren (Brand GmbH, Wertheim) bestimmt. Die Blutglukosekonzentration wurde über ein Blutzuckermessgerät (Accu Check Comfort, Roche, Mannheim) mit Glukoseteststreifen (Accu Check Sensor ComfortPro Glukoseteststreifen, Roche, Mannheim) ermittelt.

### 2.3.10 Mikrozirkulationsmessungen

Für die Messungen zur Mikrozirkulation der Magen- und Mundschleimhaut wurde ein Gewebephotospektrometrie-System (*Oxygen to see*, O2C) genutzt, welches die regionale Sauerstoffsättigung durch Weißlichtspektrometrie ermittelt. Integriert ist zudem eine Laser-Doppler-Spektrometrie-Einheit, mit der sich der mikrozirkulatorische Blutfluss bestimmen

lässt (O2C Typ LW2222 Version 2, LEA Medizintechnik GmbH, Gießen) (96). Alle Messungen fanden kontinuierlich statt.

Zur Durchführung wurde eine Mikrosonde (LM-10, LEA Medizintechnik GmbH, Gießen) über einen Magenschlauch von oral in den Hundemagen geschoben und eine Flachsonde (LF-2, LEA Medizintechnik GmbH, Gießen) an der Wangenschleimhaut des Hundes platziert. Dies geschah atraumatisch, sodass die Messungen unter physiologischen Bedingungen stattfanden (14, 77, 97). Die Sonden wurden locker an das Gewebe angelegt um keine Ischämien zu verursachen. Die kontinuierliche Darstellung und Überwachung der Signalspektren auf dem angeschlossenen O2C-Monitor während des Versuchs ermöglichte die Beurteilung der Signalqualität und damit die Sicherstellung der korrekten Lage der Sonde. Für die Weißlichtspektrometrie wird Weißlicht (500-800 nm) aus einer Halogenlampe (20 W) über einen Glasfaserlichtleiter in die Mukosa geleitet und dort an den ubiquitär vorhandenen Mitochondrien gestreut, sodass ein Teil des eingestrahnten Lichts an die Oberfläche reflektiert wird. Anteile des Wellenlängenspektrums dieses Lichts werden hierbei durch die Hämoglobinmoleküle der im Gewebe zirkulierenden Erythrozyten absorbiert. Die Veränderungen im Absorptionsspektrum des Hämoglobins entsprechen Veränderungen des Oxygenierungsgrads. Abhängig vom Oxygenierungsgrad des Hämoglobins werden deshalb unterschiedliche Wellenlängen des Weißlichts transmittiert und können somit an der Mukosaoberfläche detektiert werden. Im O2C-Gerät erfolgt eine Bestimmung der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins durch einen Abgleich des detektierten Wellenlängenspektrums mit gespeicherten Referenzspektren verschiedener Wellenlängen und eine Ausgabe des mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierungswerts in Prozent ( $\mu\text{HbO}_2$ ) (96). Im Rahmen der Laser-Doppler-Spektroskopie wird ein Laserstrahl (Wellenlänge 820 nm, Leistung <30 mW) eines Halbleiterdiodenlasers im Dauerstrichbetrieb über die zweite emittierende Glasfasersonde auf die Gewebeoberfläche geleitet. Ein Teil des Lichts dringt in die Mukosa ein und unterliegt einer Streuung, wie bereits oben beschrieben. Dadurch treffen

Lichtwellen einer bestimmten Frequenz auf sich bewegende Blutzellen, v.a. Erythrozyten, die unter dem Einfluss des Dopplereffekts eine Frequenzverschiebung der Lichtwellen hervorrufen. Das Ausmaß dieser Verschiebung ist in geringem Ausmaß von der Flussrichtung der Blutzellen im Kapillarnetz abhängig, mehr jedoch von der Menge und der Geschwindigkeit der fließenden Blutzellen (98). An der Oberfläche der Mukosa werden die teilweise frequenzveränderten Lichtwellen detektiert und die Frequenzverschiebung im O2C-Gerät analysiert. Somit kann sogar in einem komplexen Kapillarnetz nichtinvasiv eine relative Abschätzung der Perfusion ( $\mu$ flow) im beobachteten Gewebeareal stattfinden. Üblich ist eine dimensionslose Angabe der Werte zur mikrovaskulären Perfusionsänderung in *arbitrary units* (aU). Die Visualisierung der kontinuierlichen Messungen zur Mikrozirkulation an der Magen- und Mundschleimhaut wurde in Echtzeit durch den im O2C-Gerät integrierten PC ermöglicht. Als Grundlage für die statistische Auswertung dienten die Mittelwerte der Messwerte der letzten fünf Minuten (150 Spektren von jeweils 2 Sekunden Dauer) jeder Intervention bzw. jedes Versuchsabschnitts. Da die Signalqualität zum mikrovaskulären Blutfluss im Bereich des Magens teilweise unzureichend war, werden in dieser Arbeit nur die Daten zum Blutfluss in der oralen Mikrozirkulation dargestellt.

### 2.3.11 Bispektral-Index<sup>TM</sup>-Monitoring (BIS<sup>TM</sup>)

Das Bispektral-Index<sup>TM</sup>-Monitoring (BIS<sup>TM</sup>-Monitoring System Modell A-2000<sup>TM</sup>, Aspect<sup>®</sup> Medical Systems Inc., Natick, MA, USA) diente in den Experimenten vor allem der Evaluation der Narkosetiefe und des Narkoseverlaufs während der Interventionen sowie während der Aufwachphase. Der bispektrale Index ist eine dimensionslose Zahl, die nach einem geschützten Algorithmus aus verschiedenen kontinuierlich erhobenen EEG-Parametern wie z.B. der spektralen *power* und *burst suppression* Mustern berechnet wird. Sie repräsentiert grob die globale elektrische Hirnaktivität wobei ein Zahlenwert von 100 einem wachen Organismus und ein Wert von 0 einer isoelektrischen Linie im EEG entspricht. Werte zwischen 40 und 60 repräsentieren eine mittlere bis tiefe Hypnose (99–101).

## 2.4 Interventionen

### 2.4.1 Hypothermie

Nach dem Erhalt stabiler Versuchsbedingungen (*Baseline*-Phase vgl. Kap. 2.5.1) wurde in den Versuchen unter Hypothermie die mindestens 90-minütige Abkühlphase der Körpertemperatur des Versuchstiers auf 34,0 °C eingeleitet, wobei die aortale Bluttemperatur maßgebend war (vgl. Kap. 2.3.6).

Hierzu wurde die obenliegende linke Thoraxseite des Hundes mit zwei eisgefüllten Kunststoffsäcken (je ca. 50 x 30 cm, Dicke der Füllung aus zerkleinertem Eis ca. 5 cm) in Handtüchern bedeckt und die Pfoten wurden mit eisgekühlten Gelkompressen (Größe 12 x 29 cm, Gello Geltechnik GmbH, Ahaus) ummantelt. Um lokale Erfrierungen zu vermeiden, wurden im Thoraxbereich ein OP-Abdecktuch und an den Pfoten Baumwollkompressen (ES-Kompressen, 10 x 10 cm, Paul Hartmann Ag, Heidenheim) untergelegt.

Um einen überschießenden Temperaturabfall unter 34,0 °C zu vermeiden und um Temperaturumverteilungsprozesse innerhalb des Hundekörpers zu stimulieren, wurden die Kühlelemente im Thoraxbereich bereits bei Erreichen einer aortalen Temperatur von 34,5 °C entfernt und ein Heißluftwärmesystem (Bair Hugger® Patient Warming System, Modell 500, Augustine Medical Inc., Eden Prairie, MN, USA) mit einer passenden Wärmedecke (Modell Eppendorf, Ahrens Temperaturmanagement, WIBU, Ahrensburg) installiert und bereits in diesem Stadium auf 38,0 °C reguliert. Dieses Vorgehen förderte das Erreichen einer exakten Bluttemperatur von 34,0 °C und verringerte überschießende Kühlungseffekte. Beim Erreichen von 34,0 °C Bluttemperatur wurde das Wärmesystem abgeschaltet und die Kühlkompressen um die Pfoten entfernt. Die Hypothermie konnte so stabil ohne weitere Kühlung für die im Versuchsprotokoll vermerkte Zeitdauer von 1,75 Stunden aufrechterhalten werden. Bei einem überschießenden Temperaturabfall unter 34,0 °C wurde kurzzeitig das Wärmesystem auf 43,0 °C eingestellt.

Die Abkühlphase wurde variabel um bis zu 15 Minuten verlängert, falls nach 90 Minuten Kühlung 34,0 °C noch nicht erreicht waren.

Während der folgenden, mindestens zweistündigen Aufwärmphase wurde das Wärmesystem auf 43 °C reguliert, wobei vor Beendigung der Narkose eine langsame Erwärmung des Versuchstiers auf mindestens 36,0 °C Körperkerntemperatur angestrebt wurde.

#### *2.4.2 Hypoxie*

Die hypoxischen Episoden wurden durch eine rasche Umstellung der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration von 30 % auf 12 % (entsprechend einer Reduktion der inspiratorischen Sauerstofffraktion ( $F_{iO_2}$ ) von 0,3 auf 0,12) induziert. Dies wurde durch eine manuell eingestellte Mischung von Druckluft (Druckluft verdichtet, Linde Gas, Pullach) und Stickstoff (Stickstoff verdichtet, Linde Gas, Pullach) bei einem hohen Frischgasflow über das Narkosegerät (vgl. Kap. 2.5.1) erreicht und anhand der gemessenen Atemgaskonzentration ( $F_{iO_2}$ ) bei Bedarf nachreguliert. Die Hypoxie wurde für 15 Minuten aufrechterhalten.

#### *2.4.3 Applikation von Levosimendan und Glibenclamid*

Der Kalziumsensitizer und  $K^+$ -ATP-Kanal-Agonist Levosimendan (LEVO) sowie der  $K^+$ -ATP-Kanal-Antagonist Glibenclamid (GLIB) wurden über eine elektrische, druckgesteuerte Infusionspumpe (PILOT<sup>®</sup> Anästhesie, MC Medizintechnik GmbH, Alzenau-Hörstein) verabreicht. Nach Verdünnung mit 0,5 ml · kg<sup>-1</sup> physiologischer Kochsalzlösung (Isoton. NaCl-Lösung, Delta Select GmbH, Dreieich) wurden 20 µg LEVO (Simdax, Orion Corp., Espoo, Finnland) pro kg Körpergewicht (KG) über 15 Minuten appliziert. Darauf folgte eine kontinuierliche Infusion der Erhaltungsdosis von 0,25 µg LEVO · kg<sup>-1</sup> · min<sup>-1</sup> über einen Zeitraum von 60 Minuten (14, 77, 102, 103).

0,2 mg · kg<sup>-1</sup> der Substanz GLIB (Glybenclamide, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) wurden kontinuierlich über 10 Minuten infundiert (14, 14, 77, 102, 103).

## 2.5 Versuchsprotokoll

### 2.5.1 Allgemeines

Um zirkadiane und temperaturbezogene Einflüsse auf die Stoffwechselvariablen des Versuchstiers zu minimieren, begann jeder Versuchstag um acht Uhr morgens bei  $24 (\pm 1) ^\circ\text{C}$  Raumtemperatur in einem leicht abgedunkelten Raum. Der Hund wurde ohne Stress in Rechtsseitenlage auf dem Versuchstisch platziert (vgl. Kap. 2.1). Nach der Anlage einer Venenverweilkanüle (18 G, Vasofix<sup>®</sup> Safety, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) in einen Hinterlauf wurde die Allgemeinanästhesie durch eine Injektion von  $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  KG Propofol (Propofol 1 % MCT-Fresenius, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg v.d.H.) eingeleitet und der Hund unter laryngoskopischer Kontrolle orotracheal intubiert (McIntosh-Spatel Gr. 5: Medicon eG, Tuttlingen, Tubus: Lo Contour<sup>™</sup> Murphy 9.0, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland). Die automatische, volumenkontrollierte Beatmung (Tidalvolumen  $12,5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$  KG,  $\text{FiO}_2 = 0,3$ ) erfolgte sodann unter Verwendung eines halbgeschlossenen Narkosesystems (Aestiva<sup>®</sup>/5, Verdampfer Tec<sup>™</sup> 7, Datex Ohmeda, heute GE Healthcare, Chalfont St. Giles, England), wobei die Narkose mit Sevofluran (Sevorane<sup>®</sup>, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden) in einer endtidalen Konzentration von 3 Vol. %, entsprechend 1,5 MAC bei Hunden (104), aufrechterhalten wurde. Da Veränderungen im Kohlendioxidpartialdruck ebenfalls einen Einfluss auf die Mikrozirkulation in der Magenschleimhaut des Hundes haben können (105), wurde der expiratorische Kohlendioxidpartialdruck durch Variation der Atemfrequenz konstant auf 35 mmHg gehalten. Die Augen des Hundes wurden für die Dauer des Versuchs durch eine Augensalbe (Bepanthen<sup>®</sup> Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) vor dem Austrocknen geschützt. Eine zweite Venenverweilkanüle (17G, Vasofix<sup>®</sup> Safety, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) für die Thermodilutionsmessungen wurde am rechten Vorderlauf gelegt. Bei Versuchen mit LEVO wurde noch eine Dritte am linken Vorderlauf zur kontinuierlichen Infusion benötigt.

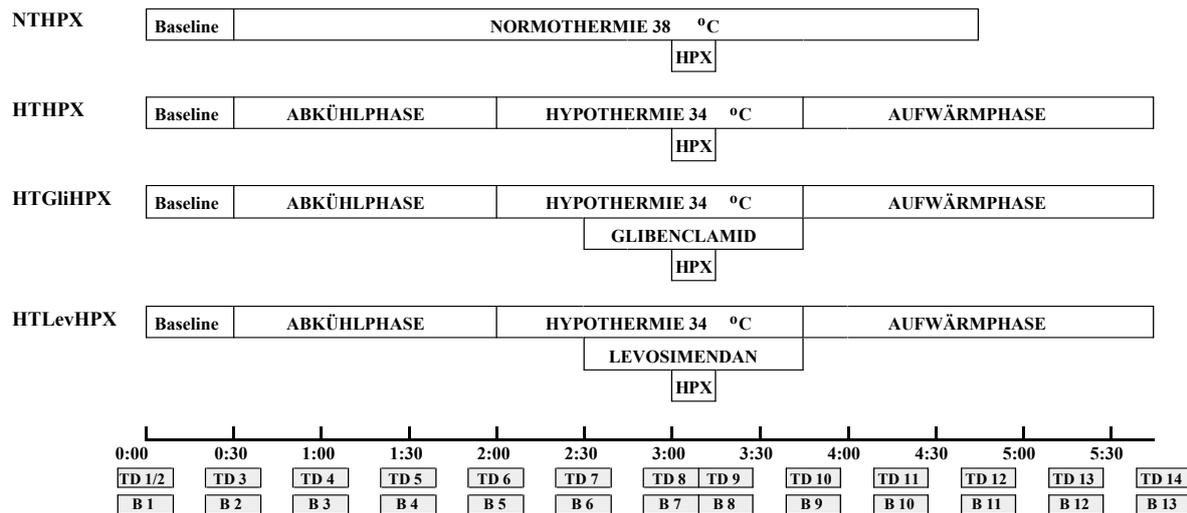
In standardisierter Reihenfolge erfolgte nun die Instrumentierung: Anlage der EKG-Elektroden (vgl. Kap. 2.3.2), Punktion einer Arteria Carotis communis (i.d.R. links) in Seldinger-Technik um den Thermodilutionskatheter in der Aorta ascendens zu platzieren (vgl. Kap. 2.3.4), Verbindung des Thermodilutionskatheters über einen druckfesten Verlängerungskatheter (PE Verlängerungskatheter, Laboratoires Pharmaceutiques VYGON, Ecouen, Frankreich) mit dem Druckwandler zur Blutdruckmessung (vgl. Kap. 2.3.3) und mit dem PiCCO-System (vgl. Kap. 2.3.4), Installation des Relaxometers (vgl. Kap. 2.3.8) und der BIS<sup>TM</sup>-Elektroden (vgl. Kap. 2.3.11), Platzierung der Sonden für die Messung der Körpertemperatur (vgl. Kap.2.3.6) sowie für die Mikrozirkulationsmessungen an der Mund- und Magenschleimhaut (vgl. Kap.2.3.10).

Alle Aufzeichnungen wurden gestartet und anschließend erfolgte die Muskelrelaxation durch die Injektion von initial  $0,6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ KG}$  Rocuroniumbromid (Rocuroniumbromid-ratiopharm, Ratiopharm GmbH, Ulm), gefolgt von einer Erhaltungsdosis von  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ KG}$  pro Stunde über eine elektrische, druckgesteuerte Infusionspumpe in die Venenverweilkanüle am Hinterlauf.

Nach der Relaxation wurde eine Stabilisierung der Kreislaufparameter abgewartet und diese wurden für 30 Minuten aufgezeichnet („*Baseline*“). Nach Beendigung dieser Phase erfolgte die Randomisierung in eine der vier Versuchsgruppen. Thermodilutionsmessungen (TD) und Blutgasanalysen (BGA) wurden regelmäßig durchgeführt (vgl. Abbildung 1).

### 2.5.2 Normothermie & Hypoxie (NTHPX)

Der Kontrollversuch unter Normothermie diente der Erfassung des Effekts einer reinen Hypoxie. Zum selben Zeitpunkt wie in den übrigen Versuchsgruppen erfolgte nach drei Stunden die hypoxische Phase von 15 Minuten (vgl. Kap. 2.4.2). Fünf Minuten vor dem Ende der Hypoxie wurden erneut eine TD (Nr. 9) und eine BGA (Nr. 8) durchgeführt (vgl. Abbildung 1). Nach Beendigung der Hypoxie wurden die mikrozirkulatorischen und hämodynamischen Messungen bis zum Versuchsende fortgesetzt.



**Abbildung 1:** Versuchsprotokoll aller vier Versuchsgruppen (jeweils n = 5 Tiere): Hypoxie unter Normothermie (NTHPX), Hypoxie unter Hypothermie (HTHPX), Hypoxie unter Hypothermie mit Gabe von Glibenclamid (HTGliHPX), Hypoxie unter Hypothermie und Gabe von Levosimendan (HTLevHPX). Dargestellt ist die Zeitdauer der sicheren Substanzwirkung am  $K^+_{-ATP}$ -Kanal. TD = Thermodilutionsmessung, B = Blutgasanalyse

### 2.5.3 Hypothermie & Hypoxie (HTHPX)

Nach dem Abschluss der *Baseline*-Phase begann die 90-minütige Abkühlphase bis auf 34,0 °C Bluttemperatur (vgl. Kap. 2.4.1). Sobald die Temperatur erreicht war, wurde sie für eine Stunde aufrechterhalten, bevor die hypoxische Episode entsprechend der obengenannten Beschreibung durchgeführt wurde. Nach dem Ende der Hypoxie wurden die Messungen noch eine halbe Stunde unter Hypothermie fortgesetzt. Es schloss sich in allen Versuchen unter Hypothermie eine Aufwärmphase (vgl. Kap. 2.4.1) an.

### 2.5.4 Hypothermie & GLIB & Hypoxie (HTGliHPX)

Die Einleitung der Hypothermie und Hypoxie erfolgten in gleicher Weise und zu denselben Zeitpunkten wie oben beschrieben. GLIB wurde nach einer halben Stunde stabiler Hypothermie wie in Kap. 2.4.3 beschrieben verabreicht. Therapeutische Glukose- und Kaliumchloridgaben erfolgten frühestens eine halbe Stunde nach dem Ende der hypoxischen Phase.

### 2.5.5 Hypothermie & LEVO & Hypoxie (HTLevHPX)

Auch in diesem Versuchstyp wurden Hypothermie und Hypoxie in gleicher Weise und zu gleichen Zeitpunkten wie oben beschrieben durchgeführt. Die kontinuierliche Gabe von

LEVO begann nach einer halben Stunde unter stabilen hypothermen Bedingungen und wurde für 1,25 Stunden aufrechterhalten (vgl. Kap. 2.4.3).

## 2.6 Statistische Auswertung

Alle Daten wurden während der letzten fünf Minuten jeder Intervention unter stabilen Versuchsbedingungen erhoben. Die Ergebnisse wurden als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler (SE) angegeben und die Normalverteilung der Daten wurde anhand einer *Q-Q-Plot* Darstellung beurteilt (IBM SPSS Statistics, International Business Machine Corp., USA). Um Differenzen zwischen den Gruppen und innerhalb der Gruppen auszuschließen, wurde eine Varianzanalyse für wiederholte Messungen (ANOVA – *Analysis of variance for repeated measurements*) durchgeführt, gefolgt von einem *Fisher's protected least square difference* (PLSD) *post-hoc* Test (Software: StatView, V4.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Bei einem  $p$ -Wert  $< 0,05$  wurde eine statistische Signifikanz angenommen.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die zentralen Ergebnisse der vorliegenden Studie lassen sich vorab wie folgt zusammenfassen:

Die Senkung der Körperkerntemperatur auf 34 °C schwächt die Auswirkungen einer zusätzlichen Hypoxie auf die orale und gastrale Mikrozirkulation ab. Eine milde Hypothermie wirkt somit potentiell protektiv auf die Schleimhautoxygenierung. Die untersuchten Substanzen Levosimendan und Glibenclamid bewirkten unter Hypothermie in dieser Studie keine lokale Veränderung der gastrointestinalen Schleimhautoxygenierung. Allerdings führte Levosimendan unter der kardiodepressiven Wirkung einer Hypothermie zum bestmöglichen Erhalt eines hohen Herzzeitvolumens.

### 3.2 Effekte der Hypothermie unter physiologischen Bedingungen

Vor Beginn der Abkühlungsphase unterschieden sich die mikro- und makrozirkulatorischen Parameter der vier verschiedenen Versuchsgruppen nicht signifikant voneinander. Unter Hypothermie stieg die  $\mu\text{HbO}_2$  oral in allen drei Versuchsgruppen leicht an (von  $78 \pm 2 \%$  auf  $81 \pm 1 \%$ ) während die  $\mu\text{HbO}_2$  des Magens unverändert blieb. Im Gegensatz zum Effekt der Hypothermie auf die orale  $\mu\text{HbO}_2$  änderte sich die orale Schleimhautperfusion ( $\mu\text{flow}$ ) weder unter Normothermie (von  $136 \pm 29$  auf  $138 \pm 25$  aU), noch unter Hypothermie (von  $149 \pm 33$  auf  $153 \pm 35$  aU) (vgl. Tabelle 1).

Durch die Hypothermie kam es zu einer Reduktion des Herzzeitvolumens (HZV von  $84 \pm 9$  auf  $74 \pm 5$   $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) sowie zu einem Abfall der Herzfrequenz (HF von  $108 \pm 6$  auf  $84 \pm 4$   $\text{min}^{-1}$ ) und der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit als Maß für die ventrikuläre Kontraktilität ( $dP_{\text{max}}$  von  $428 \pm 45$  auf  $372 \pm 41$   $\text{mmHg} \cdot \text{s}^{-1}$ ). Ein leichter Anstieg des Schlagvolumens (SV von  $22 \pm 2$  auf  $26 \pm 2$  ml) kompensierte diese Effekte auf das

Herzzeitvolumen nicht vollständig. Der systemische Gefäßwiderstand stieg unter Hypothermie gering an (SVR von  $27 \pm 3$  auf  $29 \pm 1$  mmHg  $\cdot$  l<sup>-1</sup>  $\cdot$  min). Vergleichbare Veränderungen waren in allen drei Gruppen mit Hypothermie (HTHPX, HTLevHPX, HTGliHPX) im Zeitraum vor der Substanzapplikation zu registrieren (vgl. Tabellen 1 und 2).

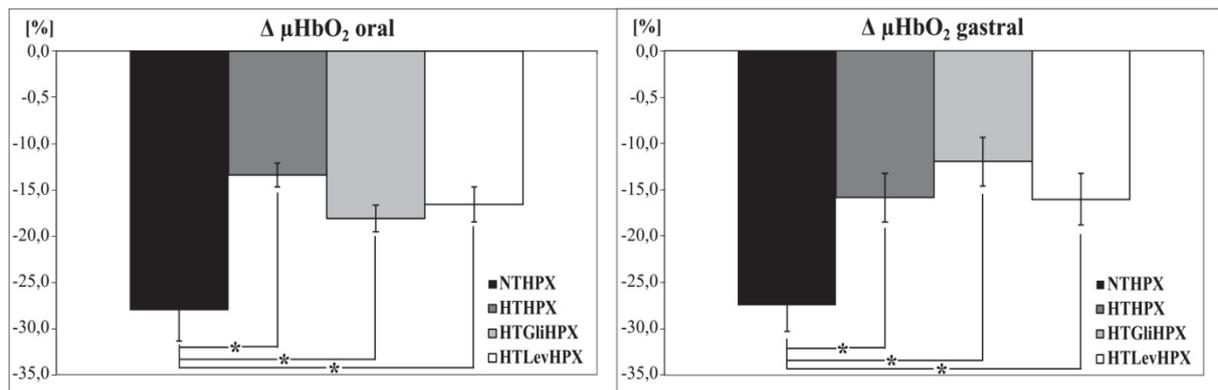
### 3.3 Hypoxie unter Normothermie

Die Reduktion der FiO<sub>2</sub> von 0,3 auf 0,12 für 15 Minuten unter Normothermie bewirkte eine signifikante Reduktion der gastralen  $\mu$ HbO<sub>2</sub> um  $-27 \pm 3$  Prozentpunkte auf  $51 \pm 5$  % und der oralen  $\mu$ HbO<sub>2</sub> um  $-28 \pm 3$  Prozentpunkte auf  $52 \pm 6$  % (vgl. Abbildung 2). Die angegebenen „Prozentpunkte“ entsprechen einer absoluten Änderung in Prozent. Die orale Mukosaperfusion ( $\mu$ flow) wurde durch die Hypoxie nicht beeinflusst (vgl. Tabelle 1). Unter Normothermie führte die Hypoxie zu einem Abfall des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks (pO<sub>2</sub>) von  $163 \pm 4$  auf  $44 \pm 2$  mmHg, was einen arteriellen Sauerstoffsättigungsabfall (S<sub>art</sub>O<sub>2</sub>) auf  $74 \pm 2$  % zur Folge hatte. Die DO<sub>2</sub> sank folglich von  $15 \pm 2$  auf  $11 \pm 1$  ml  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>  $\cdot$  min<sup>-1</sup>. Parallel dazu stieg die HF von  $112 \pm 8$  auf  $120 \pm 6$  min<sup>-1</sup>, während das HZV allerdings konstant blieb ( $89 \pm 8$  gegenüber  $88 \pm 8$  ml  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>  $\cdot$  min<sup>-1</sup>) (vgl. Tabellen 1 und 2).

### 3.4 Hypoxie unter Hypothermie

Der Abfall der  $\mu$ HbO<sub>2</sub> während der hypoxischen Phase war unter Hypothermie deutlich abgeschwächt (gastrale  $\mu$ HbO<sub>2</sub> um  $-16 \pm 3$  Prozentpunkte auf  $57 \pm 2$  %; orale  $\mu$ HbO<sub>2</sub> um  $-13 \pm 1$  Prozentpunkte auf  $68 \pm 2$  %) (vgl. Abbildung 2). Die Hypothermie veränderte allerdings auch unter Hypoxie die orale Mukosaperfusion nicht (vgl. Tabelle 1). Trotz der schwächeren Reduktion der  $\mu$ HbO<sub>2</sub> fiel unter Hypothermie der arterielle Sauerstoffpartialdruck unter Hypoxie in etwa gleich stark ab wie unter Normothermie (pO<sub>2</sub>) von  $163 \pm 3$  auf  $44 \pm 3$  mmHg, entsprechend einer arteriellen Sauerstoffsättigung (S<sub>art</sub>O<sub>2</sub>) von  $81 \pm 2$  % unter Hypothermie. Dies führte allerdings zu keiner Änderung der DO<sub>2</sub> im Vergleich zur

Normothermie, weil gleichzeitig das HZV von  $84 \pm 9$  auf  $73 \pm 4 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  fiel (vgl. Tabellen 1 und 2). Der trotz vergleichbarer Reduktion des  $\text{pO}_2$  unterschiedlich starke Abfall der  $\text{S}_{\text{artO}_2}$  während der Hypoxie unter Normothermie gegenüber der Hypoxie unter Hypothermie ergibt sich aus der Temperaturabhängigkeit in der Berechnung der Sauerstoffsättigung (vgl. modifizierte Hill-Formel in Kap. 2.3.9).



**Abbildung 2:** Reduktion der mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung ( $\mu\text{HbO}_2$ ) oral und gastral während der Hypoxie in allen Versuchsgruppen: Hypoxie unter Normothermie (NTHPX), Hypoxie unter Hypothermie (HTHPX), Hypoxie unter Hypothermie mit Applikation von Glibenclamid (HTGliHPX), Hypoxie unter Hypothermie mit Applikation von Levosimendan (HTLevHPX). Es zeigt sich eine signifikant geringere Reduktion der  $\mu\text{HbO}_2$  in allen Gruppen unter Hypothermie im Gegensatz zur Normothermie.

### 3.5 Hypoxie unter Hypothermie und Levosimendan

LEVO beeinflusste weder die die gastrale oder orale  $\mu\text{HbO}_2$  noch die  $\mu\text{flow}$  (vgl. Tabelle 1).

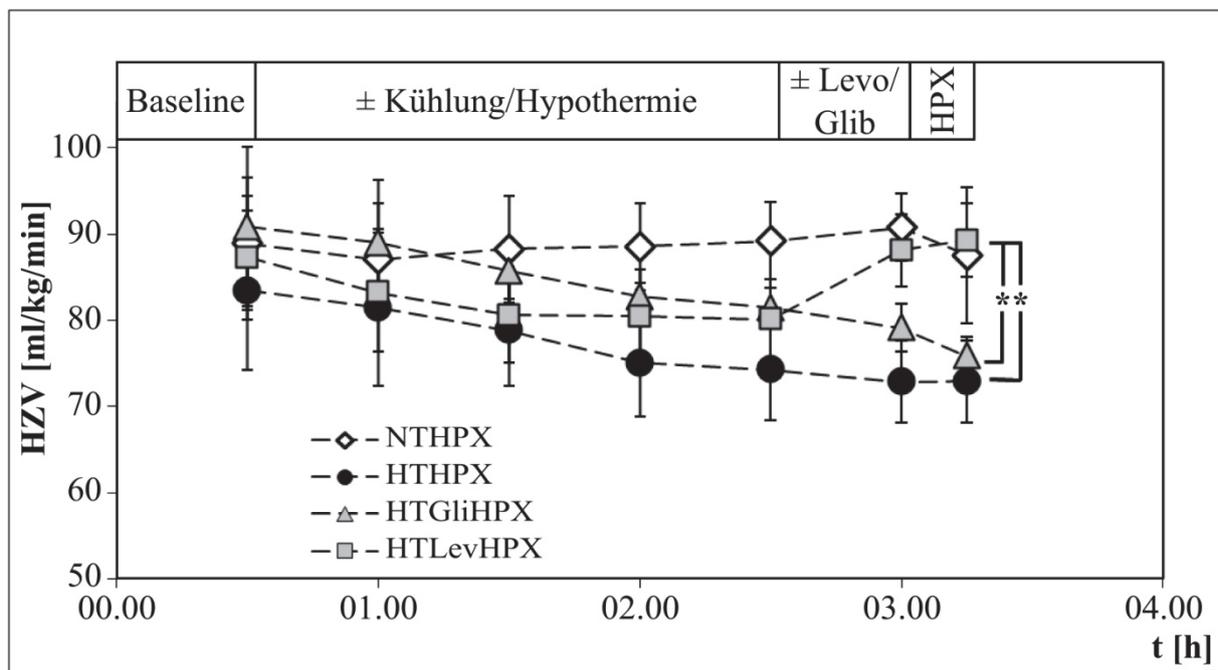
So fiel wie auch unter alleiniger Hypoxie/Hypothermie die gastrale  $\mu\text{HbO}_2$  um  $-16 \pm 3$  Prozentpunkte auf  $62 \pm 5 \%$  und die orale  $\mu\text{HbO}_2$  um  $-17 \pm 2$  Prozentpunkte auf  $69 \pm 3 \%$  (vgl. Abbildung 2).

Erwartungsgemäß steigerte LEVO das SV, die HF, die  $\text{dP}_{\text{max}}$  und folglich auch das reduzierte HZV, welches von  $80 \pm 4 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  wieder auf nahezu Ausgangsbedingungen ( $89 \pm 3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) angehoben wurde (vgl. Tabelle 1).

Durch die Applikation von LEVO konnte also die hypothermie- und hypoxiebedingte Verringerung des HZV kompensiert werden (vgl. Abbildung 3 und Tabelle 1), während die Oxygenierung und Perfusion der Schleimhaut unverändert blieben (vgl. Abbildung 2 und Tabelle 1).

### 3.6 Hypoxie unter Hypothermie und Glibenclamid

Auch eine vorübergehende Blockade der  $K^+$ -ATP-Kanäle durch GLIB hatte weder Einfluss auf die gastrale und orale Mikrozirkulation ( $\mu\text{HbO}_2$ ,  $\mu\text{flow}$ ), noch auf die systemische Hämodynamik. Insbesondere zeigten sich keine Änderungen des systemvaskulären Gefäßwiderstands (SVR) (vgl. Tabelle 1).



**Abbildung 3:** Veränderungen des Herzzeitvolumens (HZV) während des Versuchsverlaufs. Durch Levosimendan kann die hypothermiebedingte Verringerung des HZV kompensiert werden. Versuchsgruppen: Hypoxie unter Normothermie (NTHPX), Hypoxie unter Hypothermie (HTHPX), Hypoxie unter Hypothermie mit Applikation von Glibenclamid (HTGliHPX), Hypoxie unter Hypothermie mit Applikation von Levosimendan (HTLevHPX).

**Tabelle 1: Hämodynamische und mikrozykulatorische Parameter.**

Variable	Gruppe	Baseline (0:30)	± Hypoth. (2:30)	± LEVO/GLIB (3:00)	Hypoxie (3:15)
$\mu\text{HbO}_2$ gastral [%]	NTHPX	77 ± 2	78 ± 3	79 ± 3	51 ± 5 *
	HThPX	73 ± 3	76 ± 1	72 ± 2	57 ± 2 *
	HTGliHPX	74 ± 3	73 ± 2	67 ± 4 *	55 ± 2 *
	HTLevHPX	74 ± 3	77 ± 2	78 ± 4 §	62 ± 5 *
$\mu\text{HbO}_2$ oral [%]	NTHPX	79 ± 2	79 ± 2	80 ± 2	52 ± 6 *
	HThPX	78 ± 2	81 ± 1 *	81 ± 1	68 ± 2 *#
	HTGliHPX	77 ± 2	81 ± 3 *	82 ± 2 *	64 ± 2 *
	HTLevHPX	77 ± 1	84 ± 2 *	86 ± 2 *	69 ± 3 *
$\mu\text{flow}$ oral [aU]	NTHPX	136 ± 29	138 ± 25	137 ± 25	128 ± 31
	HThPX	149 ± 33	153 ± 35	151 ± 35	148 ± 37
	HTGliHPX	166 ± 42	172 ± 45	167 ± 45	153 ± 46
	HTLevHPX	127 ± 26	127 ± 24	146 ± 28	131 ± 23
$\text{DO}_2$ [ $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ]	NTHPX	15 ± 2	15 ± 1	15 ± 1	11 ± 1 *
	HThPX	13 ± 2	13 ± 1 #	12 ± 1 #	10 ± 1 *
	HTGliHPX	14 ± 2	13 ± 1	13 ± 1	9 ± 1 *
	HTLevHPX	14 ± 1	14 ± 1	15 ± 1 &§	12 ± 1 *&§
HZV [ $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ]	NTHPX	89 ± 8	89 ± 5	91 ± 4	88 ± 8
	HThPX	84 ± 9	74 ± 5 *#	73 ± 5 *#	73 ± 4 *#
	HTGliHPX	91 ± 7	82 ± 3 *	79 ± 2 *	76 ± 2 *
	HTLevHPX	87 ± 7	80 ± 4	88 ± 4 &§	89 ± 3 &§
SVR [ $\text{mmHg}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{min}$ ]	NTHPX	25 ± 2	27 ± 2 *	26 ± 1	27 ± 2 *
	HThPX	27 ± 3	29 ± 1 *	30 ± 2 *#	29 ± 2
	HTGliHPX	24 ± 2 &	27 ± 1 *	27 ± 1 *&	26 ± 1 &
	HTLevHPX	26 ± 3	28 ± 2	24 ± 2 &§	24 ± 2 *&
SV [ml]	NTHPX	23 ± 2	23 ± 2	23 ± 2	21 ± 2 *
	HThPX	22 ± 2	26 ± 2 *#	26 ± 2 *#	24 ± 2 *#
	HTGliHPX	25 ± 2	27 ± 2 *	28 ± 2 *&	25 ± 2
	HTLevHPX	24 ± 3	27 ± 3 *	29 ± 3 *&	28 ± 2 *&§
MAD [mmHg]	NTHPX	63 ± 2	69 ± 2	69 ± 3	69 ± 6
	HThPX	62 ± 2	62 ± 3 #	62 ± 2 #	60 ± 1
	HTGliHPX	62 ± 2	64 ± 2	63 ± 3	58 ± 2 *
	HTLevHPX	64 ± 2	64 ± 1	62 ± 1	62 ± 2
HF [ $\text{min}^{-1}$ ]	NTHPX	112 ± 8	115 ± 6	114 ± 7	120 ± 6 *
	HThPX	108 ± 6	84 ± 4 *#	82 ± 3 *#	88 ± 3 *#
	HTGliHPX	108 ± 6	87 ± 3 *	83 ± 3 *	90 ± 2 *
	HTLevHPX	109 ± 5	89 ± 7 *	90 ± 5 *	95 ± 5 *&
$\text{dP}_{\text{max}}$ [ $\text{mmHg}\cdot\text{s}^{-1}$ ]	NTHPX	490 ± 53	434 ± 42 *	438 ± 44 *	410 ± 34 *
	HThPX	428 ± 45	372 ± 41 *#	370 ± 32 *#	356 ± 31 *#
	HTGliHPX	484 ± 41	380 ± 32 *	386 ± 33 *	372 ± 29 *
	HTLevHPX	476 ± 48	392 ± 33 *	474 ± 34 &§	490 ± 38 &§

**Tabelle 2: Respiratorische und metabolische Parameter.**

Variable	Gruppe	Baseline (0:30)	± Hypoth. (2:30)	± LEVO/GLIB (3:00)	Hypoxie (3:15)
pO <sub>2</sub> arteriell [mmHg]	NTHPX	163 ± 4	162 ± 2	162 ± 2	44 ± 2 *
	HThPX	163 ± 3	164 ± 3	164 ± 3	44 ± 3 *
	HTGliHPX	160 ± 3	160 ± 3	160 ± 3	41 ± 2 *
	HTLevHPX	157 ± 4	156 ± 5	153 ± 6 &	44 ± 2 *
pCO <sub>2</sub> arteriell [mmHg]	NTHPX	40 ± 1	40 ± 1	39 ± 1	38 ± 1 *
	HThPX	39 ± 1	40 ± 1	41 ± 1 *	39 ± 1
	HTGliHPX	40 ± 1	40 ± 1	41 ± 1	38 ± 1 *
	HTLevHPX	40 ± 1	40 ± 1	41 ± 1	38 ± 1 *
S <sub>art</sub> O <sub>2</sub> [%]	NTHPX	99 ± 1	99 ± 1	99 ± 1	74 ± 2 *
	HThPX	99 ± 1	99 ± 1 #	99 ± 1 #	81 ± 2 *#
	HTGliHPX	99 ± 1	99 ± 1	99 ± 1	78 ± 2 *
	HTLevHPX	99 ± 1	99 ± 1	99 ± 1 &	81 ± 2 *
pH	NTHPX	7.40 ± 0.01	7.40 ± 0.01	7.40 ± 0.01	7.42 ± 0.01 *
	HThPX	7.40 ± 0.01	7.39 ± 0.01	7.39 ± 0.01	7.41 ± 0.01 *
	HTGliHPX	7.40 ± 0.01	7.39 ± 0.01	7.37 ± 0.01 *	7.39 ± 0.01 &
	HTLevHPX	7.39 ± 0.01	7.39 ± 0.01	7.37 ± 0.01 *	7.39 ± 0.01
Laktat [mmol·l <sup>-1</sup> ]	NTHPX	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.2 *	1.2 ± 0.2 *	1.3 ± 0.2 *
	HThPX	1.0 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1
	HTGliHPX	1.2 ± 0.3	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.3	1.0 ± 0.3
	HTLevHPX	0.7 ± 0.1 §	0.6 ± 0.1 *	0.5 ± 0.1 *	0.6 ± 0.1 *
K <sup>+</sup> [mmol·l <sup>-1</sup> ]	NTHPX	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1	4.1 ± 0.1	4.1 ± 0.1
	HThPX	4.0 ± 0.1	3.7 ± 0.1 *#	3.7 ± 0.1 *#	3.8 ± 0.1 *#
	HTGliHPX	4.0 ± 0.1	3.7 ± 0.1 *	3.2 ± 0.1 *&	3.3 ± 0.1 *&
	HTLevHPX	3.9 ± 0.1	3.6 ± 0.1 *	3.6 ± 0.1 *§	3.6 ± 0.1 *§
Hb [g·100ml <sup>-1</sup> ]	NTHPX	12 ± 1	12 ± 1	12 ± 1	12 ± 1
	HThPX	12 ± 1	12 ± 1 *	12 ± 1 *	12 ± 1 *
	HTGliHPX	11 ± 1	12 ± 1 *	12 ± 1 *	12 ± 1 *
	HTLevHPX	12 ± 1 §	13 ± 1 *	12 ± 1	12 ± 1

**Legende zu den Tabellen:** Dargestellt sind jeweils Mittelwerte ± SEM.

\* = signifikante Abweichung zur *Baseline* desselben Versuches

# = signifikante Abweichung zum Versuch unter Normothermie (NTHPX) zum gleichen Zeitpunkt

& = signifikante Abweichung zum Versuch unter reiner Hypothermie (HThPX) zum gleichen Zeitpunkt

§ = signifikante Abweichung zum Versuch unter Hypothermie und GLIB (HTGliHPX) zum gleichen Zeitpunkt

## 4 Diskussion

### 4.1 Zusammenfassung

Die zentralen Ergebnisse dieser Studie ergeben, dass die Auswirkungen einer zusätzlichen Hypoxie auf die orale und gastrale Mikrozirkulation durch milde Hypothermie abgeschwächt werden. LEVO und GLIB bewirken unter Hypothermie keine lokale Veränderung der gastrointestinalen Schleimhautoxygenierung, wobei Levosimendan allerdings zum bestmöglichen Erhalt eines hohen Herzzeitvolumens unter Hypothermie führt.

### 4.2 Methodenkritik

Durch gleiche Ausgangsbedingungen der Experimente konnten viele Störfaktoren ausgeschaltet werden (vgl. Kap. 2.1). Dies spiegelte sich in sehr stabilen *Baseline*-Parametern wider, die kaum signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Versuchsgruppen ergaben. Es kann also von einer guten Vergleichbarkeit der Gruppen bei standardisierten Ausgangsbedingungen ausgegangen werden und die Veränderungen der Variablen im Versuchsverlauf können als interventionsvermittelt betrachtet werden.

Für die Wahl des Hundes als Versuchstier gab es folgende Gründe: Zum Einen war die Installation der Messtechnik bei einem Großtier deutlich vereinfacht, wobei für Hunde zusätzlich komplikationsarme, etablierte Techniken zur Vereinfachung der hämodynamischen Messungen (87) existieren. Die regelmäßigen Blutentnahmen, u. a. zur Bestimmung der Blutgasspannungen, werden über eine solch lange Versuchsdauer nur von größeren Tieren ohne negative Folgen und ohne Auswirkungen auf Kreislaufvariablen während des Versuchs toleriert. Die Hämodynamik des Großtiers kommt der des Menschen zudem deutlich näher als die des Kleintiers. Auch wenn die Verdauungssituation beim Hund nicht vollständig mit der des Menschen vergleichbar ist, weist die gastrointestinale Durchblutung, die Histologie und die Physiologie bei beiden Spezies Ähnlichkeiten auf (9, 106, 107). Eine Übertragung der

Messergebnisse zur Mikrozirkulation auf den Menschen ist somit zumindest in begrenztem Maße möglich.

In allen durchgeführten Experimenten mit Hypothermie war es möglich, durch Oberflächenkühlung innerhalb der eingeplanten Kühlungszeit eine milde Hypothermie von 34 °C zu induzieren, die sich stabil ohne weitere aktive Kühlung für die Versuchsdauer aufrechterhalten ließ. Aufgrund des bereits etablierten Einsatzes der Oberflächenkühlung auf 34 °C in den meisten klinischen und experimentellen Situationen z.B. zur Neuroprotektion nach der Reanimation (33, 49), bei hypoxisch-ischämischer Enzephalopathie (55) und aufgrund der noch gering ausgeprägten Nebenwirkungen wurde hier analog eine Oberflächenkühlung mit einer Zieltemperatur von 34 °C gewählt. Mit zunehmender Ausprägung der Hypothermie steigt ansonsten auch das Risiko kontraproduktiver Nebenwirkungen wie z.B. Blutgerinnungsstörungen, Immunsuppression, Arrhythmien, Flüssigkeits- und Elektrolytverschiebungen (41, 108, 109). Das Kühlungsverfahren war bereits in der vorangegangenen Versuchsreihe (61) weitgehend etabliert worden. Lokale Kälteschäden traten bei der in Abschnitt 2.4.1 näher beschriebenen Kühlungsmethode nicht auf. Neben den äußerlich angewandten, nicht invasiven Kühlungsverfahren existieren interne Kühlungsverfahren (z.B. die Lavage der Harnblase oder des Magens mit Eiswasser, die Infusion kalter Lösungen, Blutkühlungsverfahren, Kühlkatheter) (41), die einen deutlich invasiveren Aufwand erfordern und neben der teilweise risikoreichen Instrumentierung die Messungen zur Mikrozirkulation in unserem Fall erheblich beeinflussen könnten.

Obwohl es keine einheitliche Definition bezüglich des Messpunktes der Körperkerntemperatur gibt, wird zur Abschätzung in den meisten Studien die Bluttemperatur in den herznahen großen Gefäßen (Arteriae pulmonales, Aorta ascendens) als Goldstandard herangezogen (62, 110). Analog hierzu wurde auch in dieser Studie die Bluttemperatur der Aorta ascendens zur Bestimmung der Körperkerntemperatur verwendet, zumal an dieser

Stelle der Thermosensor für die Thermodilutionsmessungen platziert war und verwendet werden konnte.

Es können verschiedene Methoden zur Untersuchung der regionalen Sauerstoffversorgung von Schleimhäuten angewandt werden (111). Fast alle sind mit einem hohen Maß an Invasivität wie beispielsweise mit einer Laparotomie, mit der Mobilisierung und Isolierung von Organteilen oder mit anderen Gewebeverletzungen assoziiert (112–114). Allein die Manipulation kann jedoch bereits zu Veränderungen der Gewebezirkulation führen, sodass Messungen zur Oxygenierung und zum Blutfluss nicht mehr die physiologische Situation abbilden. In dieser Arbeit wurde eine reflexionsspektrophotometrische, atraumatische Messmethode (O2C) verwendet, die bereits durch viele Studien am Gastrointestinaltrakt validiert worden ist (14, 77, 112, 113, 115, 116). Die Messungen konnten somit unter annähernd physiologischen Bedingungen stattfinden.

Da dem Messprinzip optische Veränderungen zugrundeliegen, könnten unter Umständen auch im Magen verbleibende Nahrungsreste zu Artefakten führen. Eine vollständige Magenentleerung konnte weitgehend durch die Nüchternphase vor den Versuchen erreicht werden. In wenigen Versuchen kam es jedoch trotz dieser Maßnahme zu Verunreinigungen in der Umgebung der Messsonden durch Futterreste. Zwei Versuche wurden aufgrund verfälschter optischer Messergebnisse des O2C wiederholt.

Durch die größere Eindringtiefe der Reflexionsspektrophotometrie beispielsweise im Vergleich zu konventionellen Sauerstoffelektroden war es möglich, die Oxygenierung eines großen Anteils der Schleimhautdicke zu untersuchen, ohne jedoch versehentlich die größeren Gefäße ( $> 100 \mu\text{m}$  Durchmesser) einzubeziehen oder unselektiv die Durchblutung außerhalb der Schleimhaut mit zu erfassen (117). Aufgrund einer vollständigen Absorption des sichtbaren Lichts in den Wänden der größeren Blutgefäße ( $> 100 \mu\text{m}$  Durchmesser) ist sichergestellt, dass durch diese Methode lediglich die mikrovaskuläre Sauerstoffsättigung erfasst wird. Aussagen über die aktuelle Sauerstoffsättigung der Mikrozirkulation sind wegen

der hohen Anfälligkeit der oberflächlichen Schleimhautanteile für hypoxische Zustände besonders wertvoll. Die reflexionsspektrophotometrische Messung verminderter Oxygenierung korreliert dabei eng mit morphologischer und funktioneller Schleimhautschädigung (116), es ist aber auch bereits eine Detektion von Sauerstoffunterversorgung möglich, bevor morphologische Ischämiezeichen sichtbar werden (118). Für die aktuelle Fragestellung bei einer vergleichsweise kurzen Hypoxiedauer bot das gewählte Messverfahren den weiteren Vorteil, dass die regionale Hämoglobinoxygenierung direkt und durch eine hohe Signalfrequenz nahezu in Echtzeit gemessen werden konnte.

Ein berechtigter Kritikpunkt, der auch auf das verwendete *Setup* zutrifft, sind sicherlich die nur punktuellen Messungen an einer Stelle der Magenmukosa und an der oralen Schleimhaut des Versuchstiers. Dies schließt die Erfassung von räumlicher Heterogenität in verschiedenen gastrointestinalen Abschnitten aus (115). Dass die Messungen an der Magenmukosa dennoch repräsentativ für große Teile der gastrointestinalen Schleimhaut sind, konnte bereits gezeigt werden (119) und entspricht den Beobachtungen der eigenen Arbeitsgruppe.

Die bei dieser Versuchsreihe erhobenen Messwerte unter physiologischen Bedingungen und unter Hypothermie stimmten in der Größenordnung mit den Werten zur  $\mu\text{HbO}_2$  vorangegangener Versuchsreihen unter Einsatz des O2C-Messgerätes überein (61). Neben der  $\mu\text{HbO}_2$  bietet das O2C die Möglichkeit, laserdopplerspektrometrisch den Blutfluss der Magenschleimhaut als weitere Determinante der Mikrozirkulation zu beurteilen (120). Zusammen mit den Daten zur  $\mu\text{HbO}_2$  lassen sich also sowohl eine Änderung des Blutflusses als auch die mikrovaskuläre Hämoglobinoxygenierung im selben Gebiet zur selben Zeit bestimmen. Die Dopplerflussmessung im Magen erwies sich als ausgesprochen störanfällig und sollte in weiteren Versuchsreihen optimiert werden, da Veränderungen des mikrovaskulären Blutflusses neben der mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung einen wichtigen Einfluss auf die Sauerstoffversorgung der Schleimhaut haben können.

### 4.3 Ergebnisdiskussion

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse können die eingangs gestellten Fragen wie folgt beantwortet werden:

1. Unter physiologischen Bedingungen steigert eine milde Hypothermie die Oxygenierung der Mundschleimhaut während die Oxygenierung der Magenschleimhaut unverändert bleibt.
2. Milde Hypothermie schützt die Oxygenierung der Magen- und Mundschleimhaut vor den Auswirkungen einer zusätzlichen systemischen Hypoxie, hat aber keine Auswirkungen auf den regionalen Blutfluss.
3. Kalziumdesensibilisierung ist an der Reduktion des Herzzeitvolumens unter Hypothermie und Hypoxie beteiligt, welches durch den Kalziumsensitizer Levosimendan wieder hergestellt werden kann. Allerdings bewirkt Levosimendan trotz dieser Wirkung keinen zusätzlichen Effekt zur Hypothermie auf die regionale Schleimhautoxygenierung.
4. Weder eine Kalziumdesensibilisierung noch vasoaktive  $K^+$ -ATP-Kanäle sind an der Regulation der Mikrozirkulation im Splanchnikusgebiet unter Hypothermie und Hypoxie beteiligt.

Obwohl die Anwendung milder Hypothermie bereits ein etabliertes Verfahren in verschiedenen intensivmedizinischen Situationen insbesondere zur zerebralen und kardialen Zellprotektion nach hypoxischen Ereignissen ist, existiert nur eine limitierte Datenlage über die Auswirkungen einer solchen Hypothermie auf den Gastrointestinaltrakt. Die vorliegenden Daten dieser Studie und die der Vorgängerstudie (61) weisen darauf hin, dass eine isolierte, milde Hypothermie unter sonst physiologischen Bedingungen die Schleimhaut des Gastrointestinaltrakts zwar vermutlich nicht schützen kann, jedoch auch nicht zusätzlich schädigt. Betrachtet man die Ergebnisse zur Oxygenierung der oralen Schleimhaut ist sogar

ein protektiver Effekt denkbar. In Anbetracht der neuro- und kardioprotektiven Wirkungen der Hypothermie sind diese Ergebnisse von klinischer Relevanz und stützen die Anwendung von Hypothermie in ausgewählten klinischen Situationen, ohne dass die gastrointestinale Mikrozirkulation beeinträchtigt wird.

Wenn während einer bestehenden Hypothermie zusätzlich eintretende Beeinträchtigungen der Gewebeoxygenierung z.B. durch eine Hypoxie auftreten, scheinen diese durch die Hypothermie gemildert werden zu können. In der vorliegenden Studie ließ sich nun analog zur Vorgängerstudie zum hämorrhagischen Schock unter Hypothermie (61) zeigen, dass die Auswirkungen einer hypoxischen Situation auf die Mikrozirkulation des Gastrointestinaltraktes unter Hypothermie signifikant schwächer ausgeprägt sind als unter Normothermie. Die Hypoxie führte in allen Versuchsgruppen zu einer ausgeprägten oralen und gastralen Reduktion der  $\mu\text{HbO}_2$ , wobei diese bei 34 °C deutlich schwächer ausfiel. Dieser Effekt war unabhängig von der  $\text{DO}_2$ , welche sich unter Hypothermie und Normothermie während der hypoxischen Phase nicht voneinander unterschied. Der geringere Abfall der arteriellen Sauerstoffsättigung unter Hypothermie beruht vermutlich auf der Temperaturabhängigkeit der Sauerstoffbindungskurve des Hämoglobins, so dass z. B. ein  $\text{pO}_2$  von 44 mmHg während der Hypoxie unter Hypothermie zu einer  $\text{S}_{\text{artO}_2}$  von 81 %, unter Normothermie jedoch lediglich zu einer  $\text{S}_{\text{artO}_2}$  von 74 % führt. Unter Hypothermie kommt es zu einer Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve und somit zu einer gesteigerten Affinität der Hämoglobinmoleküle zum Sauerstoff bei vergleichbarem arteriellem  $\text{pO}_2$  (93, 121). Diese spiegelt sich in einer gesteigerten systemischen Sauerstoffsättigung wider. Dies hatte jedoch in diesem Fall aufgrund der entgegengesetzt wirkenden, hypothermiebedingten Reduktion des HZV keine Auswirkungen auf das Gesamtsauerstoffangebot. Die Linksverschiebung ist vor allem in Situationen wie dieser relevant, in denen Hypoxie und Hypothermie zusammenspielen. Unter Normoxie lag während der Experimente arteriell bereits eine  $99 \pm 1$  –prozentige Sättigung des Hämoglobins vor, die durch eine hypothermie-

induzierte Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve nicht mehr relevant steigerbar war. Aufgrund der stärkeren Steigung der Kurve im Bereich der niedrigen Sauerstoffpartialdrücke während der hypoxischen Versuchsphase wirkte sich die hypothermiebedingte Linksverschiebung wesentlich stärker auf die systemische Sauerstoffsättigung aus als unter Normoxie. Die Linksverschiebung vermittelt neben einer gesteigerten Sauerstoffsättigung aufgrund der Affinitätszunahme in den Alveolen der Lunge jedoch auch tendenziell eine erschwerte Abgabe des Sauerstoffs in das umliegende Gewebe. Es wäre also theoretisch denkbar, dass das Hämoglobinmolekül zuungunsten der Sauerstoffabgabe an die Schleimhautzellen länger mit Sauerstoff beladen bliebe und die Mukosa dadurch minderversorgt wäre. Dadurch entspräche dann die postkapillär gemessene  $\mu\text{HbO}_2$  nicht dem intrazellulären Oxygenierungsstatus. In dieser Studie schien dies jedoch nicht der Fall zu sein, da sich keine Hinweise für einen verstärkten anaeroben Stoffwechsel unter Hypothermie boten. Beispielsweise änderten sich die Plasmalaktatwerte als Resultat einer vermehrten anaeroben Glykolyse während der Experimente nicht, was eher gegen eine Minderversorgung der Zellen mit Sauerstoff spricht und auch mit Beobachtungen aus anderen Studien übereinstimmt (122, 123). Histologisch zeigten sich in einer Studie an Ratten zudem verringerte Schleimhautschäden bei Darmischämie/Reperfusion unter regionaler Hypothermie (43). In Zukunft wäre in diesem Zusammenhang die Frage nach dem direkten intrazellulären Oxygenierungsstatus während einer hypothermiebedingten Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve interessant. Im Gegensatz zu anderen Studien, in denen der venöse Sauerstoffgehalt unter Hypothermie für ungeeignet zur Beurteilung der Zelloxygenierung gehalten wird (121), erfolgte die Messung der Schleimhautoxygenierung in unserem Fall bereits zumindest in direkter Umgebung der Mukosazellen in deren Mikrozirkulation.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, ist die Funktion der Schleimhaut jedoch nicht nur vom aktuellen Sauerstoffangebot abhängig, sondern vielmehr vom Gleichgewicht zwischen Sauerstoffangebot und Verbrauch. Es konnte bereits gezeigt werden, dass dieses Verhältnis

unter hypoxischen Bedingungen während milder Hypothermie am günstigsten ist (62). Eine Reduktion des Zellmetabolismus und folglich auch des Sauerstoffbedarfs im Rahmen der Hypothermie wäre wahrscheinlich. Der geringere Abfall der  $\mu\text{HbO}_2$  während der Hypoxie unter Hypothermie ist also möglicherweise zusätzlich durch eine hypothermiebedingt verringerte Stoffwechselaktivität der Schleimhautzellen zu erklären. Der dadurch gesenkte Sauerstoffbedarf spielt auch eine Rolle für die hypothermievermittelte Reduktion des Ischämie/Reperfusionsschadens nach lokaler intestinaler Ischämie (43).

Insgesamt ergibt sich also unter Hypothermie eine relativ verbesserte Schleimhautoxygenierung während hypoxischer Zustände. Dies könnte positive Auswirkungen auf die Barrierefunktion der intestinalen Schleimhaut haben und diese somit länger aufrechterhalten.

Interessant ist, dass durch Hypothermie die Mikrozirkulation im Gastrointestinaltrakt während einer hypoxischen Episode lediglich über eine Änderung der mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung positiv beeinflusst wird, nicht jedoch über eine Steigerung des regionalen Blutflusses. Dieser blieb zumindest an der oralen Schleimhaut konstant, für die Magenschleimhaut können leider zu diesem Zeitpunkt aufgrund instabiler Messungen, die nicht ausgewertet werden konnten, keine Aussagen getroffen werden. Diese Beobachtungen verdeutlichen nochmals, dass zur aussagekräftigen Beurteilung der gastrointestinalen Mikrozirkulation möglichst sowohl der regionale Blutfluss als auch die mikrovaskuläre Hämoglobinoxygenierung als separate Parameter betrachtet werden sollten. Im Kontrast zu dieser Studie stehen die Ergebnisse der Vorgängerstudie unter den Bedingungen eines hämorrhagischen Schocks, in welcher Hypothermie die Abnahme des oralen mikrovaskulären Blutflusses während des Schocks abgeschwächt und gleichzeitig die orale und gastrale  $\mu\text{HbO}_2$  verbessert hat (135). In der aktuellen Versuchsreihe ließen sich weder vasodilatatorische/vasokonstriktorische Effekte, noch orale Flussveränderungen beobachten. Neben den positiven Effekten der Hypothermie auf die Oxygenierung der Magenschleimhaut

sind allerdings auch signifikante Auswirkungen auf die systemischen Kreislaufvariablen aufgetreten, die die systemische Perfusion kompromittierten. In Übereinstimmung mit in der Literatur verfügbaren Daten trat vermutlich aufgrund der atrioventrikulären Leitungsverzögerung und aufgrund verlangsamter diastolischer Depolarisation des Sinusknotens bei Kühlung auf 34 °C eine Bradykardie auf (63, 68). Im Gegensatz zu anderen Studien an isolierten Organen (124, 125) konnte an diesem Ganztiermodell ein Kontraktilitätsabfall unter Hypothermie beobachtet werden. Vermutlich ist dies unter anderem durch eine ausgeprägte hypothermievermittelte, myokardiale Kalzium-Desensibilisierung bedingt (52, 63). Dieser Schluss liegt nahe, da LEVO den moderaten Abfall des HZV unter Hypothermie vollständig ausgleichen konnte (s.u.). Die gegensätzlichen Ergebnisse zu Studien, die eine Kontraktilitätssteigerung unter Hypothermie postulieren, wären möglicherweise durch Unterschiede im Versuchsaufbau, beispielsweise durch Messungen an isolierten Organteilen, unterschiedliche Messparameter oder durch Messungen an anderen Spezies zu erklären (124, 125). Auch eine hochinvasive Messtechnik mit starker Sympathikusaktivierung könnte ursächlich für abweichende Ergebnisse sein (126). In Messungen unter Hypothermie an Ganztiermodellen an Hunden, Schweinen und Schafen wurde eine Abnahme der Kontraktilität beobachtet (63, 127, 128), weiterhin wurde eine isolierte, diastolische Dysfunktion durch Relaxationsstörungen bei 35 °C Körpertemperatur an Hunden beschrieben (129). Trotz eines geringfügigen Anstiegs des SV in unseren Experimenten kam es durch die Bradykardisierung zu einem Abfall des HZV und des MAD und somit zu einer systemischen Kreislaufkompromittierung. Diese Daten stimmen mit Ausnahme des Schlagvolumenanstiegs mit den Ergebnissen anderer Autoren am Hundemodell überein (65, 127, 129). Obwohl auch für die Hypoxie eine kreislaufbeeinträchtigende Wirkung beschrieben worden ist, konnte diese in dieser Studie nicht beobachtet werden (64). Möglicherweise war die hypoxische Phase hierfür zu kurz oder die Ausprägung der Hypoxie zu schwach.

Weder der Abfall des HZV unter Hypothermie, noch die Wiederherstellung desselben durch LEVO scheinen die gastrointestinale Mikrozirkulation zu beeinflussen, obwohl LEVO in einer anderen Studie unter Normothermie in der Lage war, die Mikrozirkulation zu verbessern (77). Sogar eine signifikante Steigerung des systemischen Sauerstoffangebotes unter LEVO-Applikation führte nicht zu einer weiteren Verbesserung der mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung im Vergleich zu reiner Hypothermie. Zusammenfassend lässt sich also feststellen, dass Hypothermie die gastrointestinale Oxygenierung vor den Folgen einer Hypoxie schützen kann und zwar vollkommen unabhängig von den systemischen Kreislaufeffekten. Aufgrund der fehlenden Effekte von LEVO auf die gastrointestinale Mikrozirkulation unter Hypothermie und Hypoxie ist zu vermuten, dass eine lokale gastrointestinale Kalziumdesensibilisierung eher nicht an der Regulation der gastrointestinalen Mikrozirkulation unter Hypothermie und Hypoxie beteiligt ist.

Obwohl sich in dieser Studie keine weitere Steigerung der  $\mu\text{HbO}_2$  durch die zusätzliche Gabe des Inodilatators LEVO während einer Hypoxie erreichen ließ, wurden doch signifikante Effekte von LEVO auf die systemischen Kreislaufvariablen während der Hypoxie deutlich. Die Substanz vermochte also die hypothermieinduzierte Kreislaufkompromittierung über einen Anstieg des SV, der  $dP_{\text{max}}$  und folglich des HZV zu kompensieren. Hierbei spielt die kalziumsensibilisierende Wirkung von LEVO am Herzmuskel eine Rolle (74). Ein fehlender Anstieg des MAD war vermutlich durch die vasodilatatorischen Wirkungen von LEVO bedingt, die auch an einem Abfall des SVR sichtbar waren. Der Anstieg des HZV unter LEVO nach einer hypothermiebedingten Reduktion ähnelt dem Effekt der Substanz unter Normothermie und Hypoxie (14). Obwohl es viele Arbeiten gibt, die sich mit der Wirkung von LEVO bei Herzinsuffizienz befassen, gibt es bisher noch sehr wenige Angaben zur Wirkung von LEVO unter Hypothermie am Großtiermodell. In einer Studie wurden die inotropen Wirkungen an isolierten Meerschweinchenherzmuskeln unter Hypothermie untersucht und temperaturunabhängige inotrope Wirkungen beobachtet (130). Eine andere

Arbeit thematisiert die kardialen Effekte von LEVO unter tiefer Hypothermie bei Ratten (131). In Übereinstimmung mit diesen Daten konnte nun gezeigt werden, dass LEVO eine klinische Option zur Verbesserung des HZV während milder Hypothermie sein könnte.

Im Gegensatz zur Kalziumsensibilisierung durch LEVO hatte die Blockade von vaskulären  $K^+$ -ATP-Kanälen durch GLIB keinen Einfluss auf die kardiovaskuläre Funktion. Weiterhin gab es keine Veränderungen des systemvaskulären Widerstands durch GLIB. Einige Autoren vermuten eine Hemmung der kardialen  $K^+$ -ATP-Kanäle durch Kälte (132, 133). Eventuell könnte dies der Grund für eine fehlende Vasopressorwirkung von GLIB unter Hypothermie sein. Möglicherweise ist der lokal vasoaktive Effekt an diesem Tiermodell aber auch weniger stark ausgeprägt als beispielsweise an der Ratte oder beim Schwein (78, 134). Da die Applikation des  $K^+$ -ATP-Kanal-Antagonisten GLIB und des  $K^+$ -ATP-Kanal-Agonisten LEVO in dieser Studie zu keinerlei Änderungen der gastrointestinalen mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung und des regionalen Blutflusses geführt hat, liegt die Vermutung nahe, dass  $K^+$ -ATP-Kanäle nicht an der Vasoregulation im Gastrointestinaltrakt unter Hypoxie und Hypothermie beteiligt sind.

Insgesamt kam es durch die durchgeführte milde Hypothermie bis auf die erwartete Reduktion des HZV nur in geringem Maße zu unerwünschten Nebenwirkungen. Bei einzelnen Versuchstieren traten unter Hypothermie intermittierend ventrikuläre Extrasystolen auf, die jedoch nicht hämodynamisch relevant waren und nach der Wiedererwärmung verschwanden. Außerdem wurde bei einigen Tieren eine vermehrte Diurese unter Kühlung und in der Aufwärmphase beobachtet. Der Hämoglobingehalt und der Hämatokrit blieben dabei nahezu konstant, sodass von einem weiterhin ausgeglichenen intravasalen Flüssigkeitshaushalt ausgegangen werden konnte. Auch die Elektrolyte blieben unter dem Einfluss der Hypothermie im Normbereich. Dies spricht gegen eine ausgeprägte Form der Kältdiurese, die sich schädigend auf den Organismus und auf dessen Mikrozirkulation auswirken würde.

#### 4.4 Klinische Bedeutung

Eine ausreichende Oxygenierung der gastrointestinalen Schleimhaut ist für die Funktion und Integrität der Darmbarriere von großer Bedeutung und spielt vermutlich eine wichtige Rolle im Entstehungsprozess von SIRS und Sepsis (9). Hypoxische Episoden treten unter klinischen Bedingungen verhältnismäßig häufig auf und können beispielsweise zentral (Störungen der Atem- und Kreislaufregulation), kardial (kardiales Pumpversagen, Lungenödem) oder pulmonal (Lungenödem, Lungenembolie, ARDS etc.) bedingt sein (13, 14). Diese kritischen Situationen systemisch inadäquater Sauerstoffversorgung können sich schädigend auf die Barrierefunktion der gastrointestinalen Mukosa auswirken. Es ist bekannt, dass zusätzlich auftretende, hypoxische Ereignisse unter einer bestehenden Hypothermie zu geringeren Organschäden führen als unter Normothermie. Basierend auf den Ergebnissen der vorliegenden Studie führt milde Hypothermie zu einer relativ verbesserten gastrointestinalen Schleimhautoxygenierung bei zusätzlicher Hypoxie. Neben diversen anderen Organen scheint demnach auch der Gastrointestinaltrakt unter Hypothermie besser vor den negativen Auswirkungen durch Hypoxie geschützt zu sein als unter Normothermie. Trotz wichtiger Parallelen zwischen dem Hundemodell und dem menschlichen Organismus (vgl. Kap. 4.2), bleibt es allerdings letztendlich unklar ob die tierexperimentellen Daten dieser Arbeit vollständig auf den Menschen übertragbar sind. Fraglich bleibt auch, ob eine verbesserte Schleimhautoxygenierung unter Hypothermie und Hypoxie tatsächlich mit verminderter bakterieller Translokation gleichzusetzen ist und ob sich somit tatsächlich die Mortalität durch die Folgen hypoxischer Zustände durch eine milde Hypothermie verringern ließe.

Unter normoxischen Bedingungen hat eine Hypothermiebehandlung keinen Einfluss auf die gastrale und orale Schleimhautoxygenierung. Somit müssen keine negativen Auswirkungen auf die Schleimhautoxygenierung des Gastrointestinaltraktes bei der Anwendung von Hypothermie z.B. zur Neuroprotektion befürchtet werden. Allerdings wäre es möglich, dass

sich Schäden erst bei deutlich längerer Dauer einer Hypothermie ausbilden. Dies sollte in weiteren Untersuchungen näher betrachtet werden.

Die Anwendung der Hypothermie ist aber dennoch durch Nebenwirkungen und Kontraindikationen beschränkt, beispielsweise sollte sie aufgrund ihrer immunkompromittierenden Eigenschaften nicht während schwerer Infektionen angewandt werden. Ungeklärt ist auch, ob sich die immunkompromittierende Nebenwirkung der Hypothermie nicht wiederum schädigend auf die Darmbarriere und die Pathogenabwehr im Darm auswirken könnte. Demgegenüber steht die verbesserte Oxygenierung der Schleimhaut, die die bakterielle Translokation vermindern könnte. Beide Aspekte sind klinisch beispielsweise in der Hypothermiebehandlung der hypoxisch-ischämischen Enzephalopathie in der Neonatologie oder in der Behandlung polytraumatisierter Patienten relevant. Es sollte also im klinischen Bereich eine sorgfältige Abwägung der Vor- und Nachteile einer Hypothermiebehandlung im Einzelfall erfolgen. Weitere unerwünschte und auch in dieser Studie aufgetretene Nebenwirkungen der Hypothermie sind die Reduktion des Herzzeitvolumens und die proarrhythmischen Effekte. Die Substanz LEVO entfaltete in dieser Versuchsreihe zwar keinen direkten zusätzlichen Effekt zur Hypothermie auf die mikrovaskuläre Hämoglobinoxygenierung während einer Hypoxie, die kardialen Wirkungen von LEVO konnten allerdings die hypothermieinduzierte Kreislaufdepression antagonisieren. Die Anwendung von LEVO in Kombination mit Hypothermie könnte also klinisch z.B. nach einer Reanimation zur Unterstützung der Kreislauffunktion sinnvoll sein. Nachdem die Wirkung von LEVO in Kombination mit der Hypothermie nun auch am Großtiermodell erfolgreich untersucht worden ist, wäre eine systematische Fortführung der Untersuchungen zur Wirkung der Substanz unter Hypothermie im Rahmen von klinischen Studien sinnvoll.

Es lässt sich zusammenfassen, dass unter Anwendung von milder Hypothermie die Auswirkungen einer zusätzlichen Hypoxie auf die orale und gastrale Mikrozirkulation beim Hund abschwächt sind und die Hypothermie somit potentiell protektiv auf die Schleimhaut

wirkt. Zur Verringerung der hypothermiebedingten kardiodepressiven Wirkungen eignete sich in dieser Studie die Substanz LEVO über ihre kalziumsensibilisierende Wirkung. Da weder der  $K^+$ -ATP-Kanalantagonist GLIB, noch der  $K^+$ -ATP-Kanalagonist und Kalziumsensitizer LEVO zu lokalen Veränderungen der gastrointestinalen Mukosaoxygenierung und Mukosazirkulation geführt haben, scheinen weder vaskuläre  $K^+$ -ATP-Kanäle noch eine lokale Kalziumdesensibilisierung im Splanchnikusgebiet an der Regulation der gastrointestinalen Mikrozirkulation unter Hypoxie und Hypothermie beteiligt zu sein.

## Literaturverzeichnis

1. Deitch EA. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. *Arch Surg* 1989; 124(6):699–701.
2. Deitch EA. The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure. *Arch Surg* 1990; 125(3):403–4.
3. Swank GM, Deitch EA. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes. *World J Surg* 1996; 20(4):411–7.
4. Chieveley-Williams S, Hamilton-Davies C. The role of the gut in major surgical postoperative morbidity. *Int Anesthesiol Clin* 1999; 37(2):81–110.
5. Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC, Fry D, Maier RV. Multiple-organ-failure syndrome. *Arch Surg* 1986; 121(2):196–208.
6. Ceppa EP, Fuh KC, Bulkley GB. Mesenteric hemodynamic response to circulatory shock. *Curr Opin Crit Care* 2003; 9(2):127–32.
7. Jacobson LF, Noer RJ. The vascular pattern of the intestinal villi in various laboratory animals and man. *Anat. Rec* 1952; 114(1):85–101.
8. Lundgren O. The circulation of the small bowel mucosa. *Gut* 1974; 15(12):1005–13.
9. Haglund U, Hultén L, Ahren C, Lundgren O. Mucosal lesions in the human small intestine in shock. *Gut* 1975; 16(12):979–84.
10. Shepherd AP. Intestinal O<sub>2</sub> consumption and 86Rb extraction during arterial hypoxia. *Am. J. Physiol.* 1978; 234(3):E248-51.
11. Granger HJ, Norris CP. Intrinsic regulation of intestinal oxygenation in the anesthetized dog. *Am. J. Physiol.* 1980; 238(6):H836-43.
12. Granger DN, Kvietys PR, Perry MA. Role of exchange vessels in the regulation of intestinal oxygenation. *Am. J. Physiol.* 1982; 242(6):G570-4.
13. Payne JG, Bowen JC. Hypoxia of canine gastric mucosa caused by *Escherichia coli* sepsis and prevented with methylprednisolone therapy. *Gastroenterology* 1981; 80(1):84–93.
14. Schwarte LA, Schwartges I, Thomas K, Schober P, Picker O. The effects of levosimendan and glibenclamide on circulatory and metabolic variables in a canine model of acute hypoxia. *Intensive Care Med* 2011; 37(4):701–10.
15. Fiddian-Green RG. Splanchnic ischaemia and multiple organ failure in the critically ill. *Ann R Coll Surg Engl* 1988; 70(3):128–34.
16. Colgan SP, Dzus AL, Parkos CA. Epithelial exposure to hypoxia modulates neutrophil transepithelial migration. *J. Exp. Med.* 1996; 184(3):1003–15.
17. Molmenti EP, Ziambaras T, Perlmutter DH. Evidence for an acute phase response in human intestinal epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 1993; 268(19):14116–24.
18. McGovern NN, Cowburn AS, Porter L, Walmsley SR, Summers C, Thompson AAR et al. Hypoxia selectively inhibits respiratory burst activity and killing of *Staphylococcus aureus* in human neutrophils. *J. Immunol* 2011; 186(1):453–63.
19. Allen DB, Maguire JJ, Mahdavian M, Wicke C, Marcocci L, Scheuenstuhl H et al. Wound hypoxia and acidosis limit neutrophil bacterial killing mechanisms. *Arch Surg* 1997; 132(9):991–6.

20. Bynum TE, Jacobson ED. Nonocclusive intestinal ischemia. *Arch Intern Med* 1979; 139(3):281–2.
21. Mathison JC, Ulevitch RJ. The clearance, tissue distribution, and cellular localization of intravenously injected lipopolysaccharide in rabbits. *J. Immunol* 1979; 123(5):2133–43.
22. Nolan JP. Endotoxin, reticuloendothelial function, and liver injury. *Hepatology*; 1(5):458–65.
23. Lindert KA, Caldwell-Kenkel JC, Nukina S, Lemasters JJ, Thurman RG. Activation of Kupffer cells on reperfusion following hypoxia: particle phagocytosis in a low-flow, reflow model. *Am. J. Physiol* 1992; 262(2 Pt 1):G345-50.
24. Meyer TA, Wang J, Tiao GM, Ogle CK, Fischer JE, Hasselgren PO. Sepsis and endotoxemia stimulate intestinal interleukin-6 production. *Surgery* 1995; 118(2):336–42.
25. Van Leeuwen PA, Boermeester MA, Houdijk AP, Ferwerda CC, Cuesta MA, Meyer S et al. Clinical significance of translocation. *Gut* 1994; 35(1 Suppl):S28-34.
26. Ding J, Magnotti LJ, Huang Q, Xu DZ, Condon MR, Deitch EA. Hypoxia combined with *Escherichia coli* produces irreversible gut mucosal injury characterized by increased intestinal cytokine production and DNA degradation. *Shock* 2001; 16(3):189–95.
27. Baylor AE, Diebel LN, Liberati DM, Dulchavsky SA, Brown WJ, Diglio CA. The synergistic effects of hypoxia/reoxygenation or tissue acidosis and bacteria on intestinal epithelial cell apoptosis. *J Trauma* 2003; 55(2):241-7; discussion 247-8.
28. Xu DZ, Lu Q, Kubicka R, Deitch EA. The effect of hypoxia/reoxygenation on the cellular function of intestinal epithelial cells. *J Trauma* 1999; 46(2):280–5.
29. Trzeciak S, McCoy JV, Phillip Dellinger R, Arnold RC, Rizzuto M, Abate NL et al. Early increases in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation are associated with reduced multi-organ failure at 24 h in patients with sepsis. *Intensive Care Med* 2008; 34(12):2210–7.
30. Vellinga NAR, Ince C, Boerma EC. Microvascular dysfunction in the surgical patient. *Curr Opin Crit Care* 2010; 16(4):377–83.
31. Piagnerelli M, Ince C, Dubin A. Microcirculation. *Crit Care Res Pract* 2012; 2012:867176.
32. Sakr Y, Dubois M, Backer D de, Creteur J, Vincent J. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32(9):1825–31.
33. Bernard SA, Gray TW, Buist MD, Jones BM, Silvester W, Gutteridge G et al. Treatment of comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest with induced hypothermia. *N. Engl. J. Med* 2002; 346(8):557–63.
34. Benson DW, Williams GR, Spencer FC, Yates AJ. The use of hypothermia after cardiac arrest. *Anesth. Analg.* 1959; 38:423–8.
35. Rosomoff HL. Protective effects of hypothermia against pathological processes of the nervous system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1959; 80:475–86.
36. Carlsson C, Hägerdal M, Siesjö BK. Protective effect of hypothermia in cerebral oxygen deficiency caused by arterial hypoxia. *Anesthesiology* 1976; 44(1):27–35.
37. Hall NJ, Eaton S, Peters MJ, Hiorns MP, Alexander N, Azzopardi DV et al. Mild controlled hypothermia in preterm neonates with advanced necrotizing enterocolitis. *Pediatrics* 2010; 125(2):e300-8.

38. Dae MW, Gao DW, Sessler DI, Chair K, Stillson CA. Effect of endovascular cooling on myocardial temperature, infarct size, and cardiac output in human-sized pigs. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002; 282(5):H1584-91.
39. Wood SC. Interactions between hypoxia and hypothermia. *Annu Rev Physiol* 1991; 53:71–85.
40. Wood SC, Gonzales R. Hypothermia in hypoxic animals: mechanisms, mediators, and functional significance. *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol* 1996; 113(1):37–43.
41. Polderman KH, Herold I. Therapeutic hypothermia and controlled normothermia in the intensive care unit: practical considerations, side effects, and cooling methods. *Crit. Care Med* 2009; 37(3):1101–20.
42. Parissis H, Hamid U, Soo A, Al-Alao B. Brief review on systematic hypothermia for the protection of central nervous system during aortic arch surgery: a double-sword tool? *J Cardiothorac Surg* 2011; 6:153.
43. Stefanutti G, Pierro A, Parkinson EJ, Smith VV, Eaton S. Moderate hypothermia as a rescue therapy against intestinal ischemia and reperfusion injury in the rat. *Crit. Care Med.* 2008; 36(5):1564–72.
44. Alva N, Carbonell T, Palomeque J. Hypothermic protection in an acute hypoxia model in rats: Acid–base and oxidant/antioxidant profiles. *Resuscitation* 2010; 81(5):609–16.
45. Chopp M, Knight R, Tidwell CD, Helpers JA, Brown E, Welch KM. The metabolic effects of mild hypothermia on global cerebral ischemia and recirculation in the cat: comparison to normothermia and hyperthermia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1989; 9(2):141–8.
46. Hua Y, Hisano K, Morimoto Y. Effect of mild and moderate hypothermia on hypoxic injury in nearly pure neuronal culture. *J Anesth* 2010; 24(5):726–32.
47. Xu L, Yenari MA, Steinberg GK, Giffard RG. Mild hypothermia reduces apoptosis of mouse neurons in vitro early in the cascade. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002; 22(1):21–8.
48. Li H, Wang D. Mild hypothermia improves ischemic brain function via attenuating neuronal apoptosis. *Brain Res* 2011; 1368:59–64.
49. The hypothermia after cardiac arrest study group. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *N. Engl. J. Med* 2002; 346(8):549–56.
50. Fink EL, Callaway CW, Tisherman SA, Kochanek PM. Winning the cold war: inroads into implementation of mild hypothermia after cardiac arrest in adults from the European Resuscitation Council Hypothermia After Cardiac Arrest Registry Study Group. *Crit. Care Med* 2007; 35(4):1199–202.
51. Leone BJ, Watke CM, Osgood CF, Richardson KM, Brittin KB, White WD et al. Effect of mild hypothermia during cardiopulmonary bypass on erythrocytic hemoglobin oxygen delivery. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 1998; 12(4):393–6.
52. Stowe DF, Fujita S, An J, Paulsen RA, Varadarajan SG, Smart SC. Modulation of myocardial function and [Ca<sup>2+</sup>] sensitivity by moderate hypothermia in guinea pig isolated hearts. *Am. J. Physiol.* 1999; 277(6 Pt 2):H2321-32.
53. McIntyre LA, Fergusson DA, Hébert PC, Moher D, Hutchison JS. Prolonged therapeutic hypothermia after traumatic brain injury in adults: a systematic review. *JAMA* 2003; 289(22):2992–9.

54. Schwab S, Georgiadis D, Berrouschot J, Schellinger PD, Graffagnino C, Mayer SA. Feasibility and safety of moderate hypothermia after massive hemispheric infarction. *Stroke* 2001; 32(9):2033–5.
55. Cotten CM, Shankaran S. Hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Expert Rev Obstet Gynecol* 2010; 5(2):227–39.
56. Tissier R, Ghaleh B, Cohen MV, Downey JM, Berdeaux A. Myocardial protection with mild hypothermia. *Cardiovasc. Res.* 2012; 94(2):217–25.
57. Götberg M, Olivecrona GK, Koul S, Carlsson M, Engblom H, Ugander M et al. A pilot study of rapid cooling by cold saline and endovascular cooling before reperfusion in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Interv* 2010; 3(5):400–7.
58. Deniz T, Agalar C, Agalar F, Comu FM, Caglayan O, Alpay Y et al. The effect of hypothermia on splanchnic flows and lung in a two-hit hemorrhagic shock model. *J. Surg. Res* 2010; 158(1):121–6.
59. Dudgeon DL, Randall PA, Hill RB, McAfee JG. Mild hypothermia: its effect on cardiac output and regional perfusion in the neonatal piglet. *J. Pediatr. Surg* 1980; 15(6):805–10.
60. Okano N, Hiraoka H, Owada R, Fujita N, Kadoi Y, Saito S et al. Hepatosplanchnic oxygenation is better preserved during mild hypothermic than during normothermic cardiopulmonary bypass. *Can J Anaesth* 2001; 48(10):1011–4.
61. Vollmer C, Bauer I, Swertz M, Picker O. Hypothermia improves gastric mucosal oxygenation during haemorrhagic shock. *European journal of anaesthesiology* 2012; 29:63.
62. Ohta S. Effect of mild hypothermia on the coefficient of oxygen delivery in hypoxic dogs. *J Appl Physiol* (1985). 1995;78(6):2095-9
63. He X, Su F, Taccone FS, Maciel LK, Vincent J. Cardiovascular and microvascular responses to mild hypothermia in an ovine model. *Resuscitation.* 2012;83(6):760-6
64. Allen DG, Orchard CH. Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia. *Circ Res* 1987; 60(2):153–68.
65. Prec O, Rosenman R, Braun K, Rodbard S, Katz LN. the cardiovascular effects of acutely induced hypothermia. *J Clin Invest* 1949; 28(2):293–300.
66. Lopez M, Sessler DI, Walter K, Emerick T, Ozaki M. Rate and gender dependence of the sweating, vasoconstriction, and shivering thresholds in humans. *Anesthesiology* 1994; 80(4):780–8.
67. McCullough L, Arora S. Diagnosis and treatment of hypothermia. *Am Fam Physician* 2004; 70(12):2325–32.
68. Eyster JAE, Meek WJ. The origin and conduction of the heart beat. *Physiological Reviews* 1921; 1(1):1–43.
69. Brück A, Girbes ARJ, Polderman KH. Kontrollierte milde und moderate Hypothermie. *Anaesthesist* 2005; 54(3):225–44.
70. Lange M, Morelli A, Westphal M. Inhibition of potassium channels in critical illness. *Curr Opin Anaesthesiol* 2008; 21(2):105–10.
71. Landry DW, Oliver JA. The pathogenesis of vasodilatory shock. *N. Engl. J. Med* 2001; 345(8):588–95.
72. Pataricza J, Hohn J, Petri A, Balogh A, Papp JG. Comparison of the vasorelaxing effect of cromakalim and the new inodilator, levosimendan, in human isolated portal vein. *J Pharm Pharmacol* 2000; 52(2):213–7.

73. Lee JA, Allen DG. Mechanisms of acute ischemic contractile failure of the heart. Role of intracellular calcium. *J. Clin. Invest.* 1991; 88(2):361–7.
74. Haikala H, Kaivola J, Nissinen E, Wall P, Levijoki J, Lindén IB. Cardiac troponin C as a target protein for a novel calcium sensitizing drug, levosimendan. *J. Mol. Cell. Cardiol* 1995; 27(9):1859–66.
75. Levijoki J, Pollesello P, Kaivola J, Tilgmann C, Sorsa T, Annala A et al. Further evidence for the cardiac troponin C mediated calcium sensitization by levosimendan: structure-response and binding analysis with analogs of levosimendan. *J. Mol. Cell. Cardiol* 2000; 32(3):479–91.
76. Schwarte L, Schwartges I, Scheeren T, Fournell A, Picker O. Levosimendan pretreatment improves systemic hemodynamics and metabolism during acute hypoxia in dogs. *Eur J Anaesthesiol* 2007;24(6):146–7.
77. Schwarte L, Picker O, Bornstein SR, Fournell A, Scheeren TWL. Levosimendan is superior to milrinone and dobutamine in selectively increasing microvascular gastric mucosal oxygenation in dogs. *Critical Care Medicine* 2005; 33(1):135–42.
78. Oldner A, Konrad D, Weitzberg E, Rudehill A, Rossi P, Wanecek M. Effects of levosimendan, a novel inotropic calcium-sensitizing drug, in experimental septic shock. *Crit Care Med* 2001; 29(11):2185–93.
79. Hohn J, Pataricza J, Petri A, Toth GK, Balogh A, Varro A et al. Levosimendan interacts with potassium channel blockers in human saphenous veins. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2004; 94(6):271–3.
80. Gardiner SM, Kemp PA, March JE, Bennett T. Regional haemodynamic responses to infusion of lipopolysaccharide in conscious rats: effects of pre- or post-treatment with glibenclamide. *Br. J. Pharmacol.* 1999; 128(8):1772–8.
81. Vallet B, Curtis SE, Guery B, Mangalaboyi J, Menager P, Cain SM et al. ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel blockade impairs O<sub>2</sub> extraction during progressive ischemia in pig hindlimb. *J Appl Physiol* 1995; 79(6):2035–42.
82. Evgenov OV, Pacher P, Williams W, Evgenov NV, Mabley JG, Cicila J et al. Parenteral administration of glipizide sodium salt, an inhibitor of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels, prolongs short-term survival after severe controlled hemorrhage in rats. *Crit. Care Med.* 2003; 31(10):2429–36.
83. Maybauer DM, Salsbury JR, Westphal M, Maybauer MO, Salzman AL, Szabó C et al. The ATP-sensitive potassium-channel inhibitor glibenclamide improves outcome in an ovine model of hemorrhagic shock. *Shock* 2004; 22(4):387–91.
84. Hammel H, Wyndham C, Hardy J. Heat production and heat loss in the dog at 8-36 °C environmental temperature. *Am J Physiol* 1958; (194):99–108.
85. Coyne MD, Kesick CM, Doherty TJ, Kolka MA, Stephenson LA. Circadian rhythm changes in core temperature over the menstrual cycle: method for noninvasive monitoring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279(4):R1316-20.
86. Lilleberg J, Laine M, Palkama T, Kivikko M, Pohjanjousi P, Kupari M. Duration of the haemodynamic action of a 24-h infusion of levosimendan in patients with congestive heart failure. *Eur J Heart Fail* 2007; 9(1):75–82.
87. Van Leersum. Eine Methode zur Erleichterung der Blutdruckmessung bei Tieren. *Pflugers Arch* 1911; (142):377–95.

88. Spiegel T von, Hoefft A. Transpulmonale Indikatorverfahren in der Intensivmedizin. *Der Anästhesist* 1998; (47):220–8.
89. Gebrauchsanweisung PiCCO - Version 4.1.x. – Hrsg. Pulsion Medical Systems AG-München 2000
90. Segal E. Transpulmonary thermodilution cardiac output measurement using the axillary artery in critically ill patients. *J Clin Anesthesia* 2002; (14):210–3.
91. Sakka S, Reinhart K, Meier-Hellmann A. Comparison of pulmonary artery and arterial thermodilution cardiac output in critically ill patients. *Intensive Care Med* 1999; (25):843–6.
92. Zoellner C, Briegel J, Kilger E, Haller M. Retrospektive Analyse von transpulmonal und pulmonalarteriell gemessenen Herzzeitvolumen bei ARDS-Patienten. *Anaesthesist* 47; 98(11):912–7.
93. Rossing RG, Cain SM. A nomogram relating pO<sub>2</sub>, pH, temperature, and hemoglobin saturation in the dog. *J Appl Physiol* 1966; 21(1):195–201.
94. Schmidt R, Thews G, Lang F. *Physiologie des Menschen*. 28th ed. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 2000.
95. Pinsky M, Brochard L, Mancho J. *Applied Physiology in Intensive Care Medicine*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 2007.
96. Krug A. Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes: Methode des sogenannten O<sub>2</sub>C (oxygen to see). *Phlebologie* 2006; 35(6):300–12.
97. Schwarte LA, Picker O, Schindler AW, Fournell A, Scheeren TWL. Fenoldopam - but not dopamine - selectively increases gastric mucosal oxygenation in dogs. *Critical Care Medicine* 2003; 31(7):1999–2005.
98. Hoff D, Gregersen H, Hatlebakk JG. Mucosal blood flow measurements using laser Doppler perfusion monitoring. *WJG* 2009; 15(2):198–203.
99. Greene SA, Benson GJ, Trnquilli WJ, Grimm KA. Relationship of canine bispectral index to multiples of sevoflurane minimal alveolar concentration, using patch or subdermal electrodes. *Comparative Medicine* 2002; (5):424–8.
100. Thuong M. Quels sont les outils d'évaluation de la sédation et de l'analgésie ? *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 2008; 27(7-8):581–95.
101. Sandlin D. A closer look at bispectral index monitoring. *Journal of PeriAnesthesia Nursing* 2001; 16(6):420–2.
102. Yao Z, Gross G. Glibenclamide antagonizes adenosine A<sub>1</sub> receptor-mediated cardioprotection in stunned canine myocardium. *Circulation* 1993; (88):235–44.
103. Kersten J, Montgomery M, Pagel P, Warltier D. Levosimendan, a new positive inotropic drug, decreases myocardial infarct size via activation of K(ATP) channels. *Anesth. Analg* 2000; (90):5–11.
104. Kazama T, Kazuyuki I. Comparison of MAC and the rate of rise of alveolar concentration of sevoflurane with halothane and isoflurane in the dog. *Anesthesiology* 1988; (68):435–7.
105. Schwartzes I, Schwarte LA, Fournell A, Scheeren TWL, Picker O. Hypercapnia induces a concentration-dependent increase in gastric mucosal oxygenation in dogs. *Intensive Care Med* 2008; 34(10):1898–906.
106. Dressman JB. Comparison of Canine and Human Gastrointestinal Physiology. *Pharmaceutical Research* 1986; 3(3):123–31.

107. Deitch E. A.. Bacterial translocation: studies of mice and men. *Am. J. Gastroenterol.* 1998; 93(2):277–8.
108. Polderman KH, Peerdeman SM, Girbes AR. Hypophosphatemia and hypomagnesemia induced by cooling in patients with severe head injury. *J. Neurosurg* 2001; 94(5):697–705.
109. Boutilier RG. Mechanisms of cell survival in hypoxia and hypothermia. *J. Exp. Biol.* 2001; 204(Pt 18):3171–81.
110. Shin J, Kim J, Song K, Kwak Y. Core temperature measurement in therapeutic hypothermia according to different phases: Comparison of bladder, rectal, and tympanic versus pulmonary artery methods. *Resuscitation.* 2013;84(6):810-7.
111. Siegemund M, van Bommel J, Ince C. Assessment of regional tissue oxygenation. *Intensive Care Med* 1999; 25(10):1044–60.
112. Hasibeder W, Germann R, Sparr H, Haisjackl M, Friesenecker B, Luz G et al. Vasomotion induces regular major oscillations in jejunal mucosal tissue oxygenation. *Am. J. Physiol* 1994; 266(6 Pt 1):G978-86.
113. Sielenkämper AW, Eicker K, van Aken H. Thoracic epidural anesthesia increases mucosal perfusion in ileum of rats. *Anesthesiology* 2000; 93(3):844–51.
114. Lübbers DW, Baumgärtl H. Heterogeneities and profiles of oxygen pressure in brain and kidney as examples of the pO<sub>2</sub> distribution in the living tissue. *Kidney Int* 1997; 51(2):372–80.
115. Leung FW, Slodownik E, Jensen DM, van Deventer GM, Guth PH. Gastroduodenal mucosal hemodynamics by endoscopic reflectance spectrophotometry. *Gastrointest. Endosc* 1987; 33(4):284–8.
116. Sato N, Kawano S, Kamada T, Takeda M. Hemodynamics of the gastric mucosa and gastric ulceration in rats and in patients with gastric ulcer. *Dig. Dis. Sci* 1986; 31(2 Suppl):35S-41S.
117. Gandjbakhche AH, Bonner RF, Arai AE, Balaban RS. Visible-light photon migration through myocardium in vivo. *Am. J. Physiol* 1999; 277(2 Pt 2):H698-704.
118. Schwarte LA, Scheeren TWL, Lorenz C, Bruyne F de, Fournell A. Moderate increase in intraabdominal pressure attenuates gastric mucosal oxygen saturation in patients undergoing laparoscopy. *Anesthesiology* 2004; 100(5):1081–7.
119. Temmesfeld-Wollbrück B, Szalay A, Mayer K, Olschewski H, Seeger W, Grimminger F. Abnormalities of gastric mucosal oxygenation in septic shock: partial responsiveness to dopexamine. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 1998; 157(5 Pt 1):1586–92.
120. Iwao T, Toyonaga A, Ikegami M, Oho K, Sumino M, Sakaki M et al. Gastric mucosal blood flow after smoking in healthy human beings assessed by laser Doppler flowmetry. *Gastrointest Endosc* 1993; 39(3):400–3.
121. Coetzee A, Swanepoel C. The oxyhemoglobin dissociation curve before, during and after cardiac surgery. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.* 1990; 203:149–53.
122. Zhao Q, Zhang X, Wang L. Mild hypothermia therapy reduces blood glucose and lactate and improves neurologic outcomes in patients with severe traumatic brain injury. *J Crit Care* 2011; 26(3):311–5.
123. Vejchapipat P, Poomsawat S, Poovorawan Y, Proctor E, Pierro A. The effects of moderate hypothermia on energy metabolism and serum inflammatory markers during laparotomy. *Pediatr. Surg. Int.* 2006; 22(1):66–71.

124. Kusuoka H, Ikoma Y, Futaki S, Suga H, Kitabatake A, Kamada T et al. Positive inotropism in hypothermia partially depends on an increase in maximal Ca(2+)-activated force. *Am. J. Physiol* 1991; 261(4 Pt 2):H1005-10.
125. Ristagno G, Tantillo S, Sun S, Weil MH, Tang W. Hypothermia improves ventricular myocyte contractility under conditions of normal perfusion and after an interval of ischemia. *Resuscitation* 2010; 81(7):898–903.
126. Goldberg LI. Effects of hypothermia on contractility of the intact dog heart. *Am. J. Physiol* 1958; 194(1):92–8.
127. Tveita T, Mortensen E, Hevrøy O, Refsum H, Ytrehus K. Experimental hypothermia: effects of core cooling and rewarming on hemodynamics, coronary blood flow, and myocardial metabolism in dogs. *Anesth. Analg.* 1994; 79(2):212–8.
128. Greene PS, Cameron DE, Mohlala ML, Dinatale JM, Gardner TJ. Systolic and diastolic left ventricular dysfunction due to mild hypothermia. *Circulation* 1989; 80(5 Pt 2):III44-8.
129. Fischer UM, Cox CS, JR, Laine GA, Mehlhorn U, Allen SJ. Mild hypothermia impairs left ventricular diastolic but not systolic function. *J Invest Surg* 2005; 18(6):291–6.
130. Rieg AD, Schroth SC, Grottke O, Hein M, Ackermann D, Rossaint R et al. Influence of temperature on the positive inotropic effect of levosimendan, dobutamine and milrinone. *Eur J Anaesthesiol* 2009; 26(11):946–53.
131. Rungatscher A, Linardi D, Tessari M, Menon T, Luciani GB, Mazzucco A et al. Levosimendan is superior to epinephrine in improving myocardial function after cardiopulmonary bypass with deep hypothermic circulatory arrest in rats. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012; 143(1):209–14.
132. Lathrop DA, Contney SJ, Bosnjak ZJ, Stowe DF. Reversal of hypothermia-induced action potential lengthening by the KATP channel agonist bimakalim in isolated guinea pig ventricular muscle. *Gen. Pharmacol.* 1998; 31(1):125–31.
133. Jin S, Niu L, Deng C, Yao Z, Zhou Y. Effect of temperature on the activation of myocardial KATP channel in guinea pig ventricular myocytes: a pilot study by whole cell patch clamp recording. *Chin. Med. J.* 2006; 119(20):1721–6.
134. Yokoshiki H, Katsube Y, Sunagawa M, Sperelakis N. Levosimendan, a novel Ca<sup>2+</sup> sensitizer, activates the glibenclamide-sensitive K<sup>+</sup> channel in rat arterial myocytes. *Eur. J. Pharmacol* 1997; 333(2-3):249–59.
135. Vollmer C, Schwartges I, Swertz M, Beck C, Bauer I, Picker O. Hypothermia improves oral and gastric mucosal microvascular oxygenation during hemorrhagic shock in dogs. *Oxid Med Cell Longev* 2013 (in press)

---

## Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Olaf Picker, MBA für die Überlassung des interessanten Themas und die zu jeder Zeit konstruktive, freundliche Unterstützung bei der Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit.

Ein ganz besonderer Dank geht an Birgitt Berke, die mir bei der praktischen Durchführung der Experimente und der Datenauswertung stets mit Rat und Tat zur Seite stand. Es war eine sehr schöne, nicht nur fachlich lehrreiche und spannende Zeit mit dir im Labor!

Herrn Dr. med. Christian Vollmer möchte ich danken für die stete Korrekturbereitschaft der Manuskripte, für die kritischen Anmerkungen und für die fachlich-methodische Unterstützung bei der Kongressvorbereitung, der Publikation und der Vorträge!

Herzlichen Dank auch an Gregor Mura, der mich nicht nur bei allen „Formatierungsproblemchen“ geduldig beraten hat, sondern mir auch manchmal mit sanftem Nachdruck den Weg zurück zum Schreibtisch gezeigt hat, wenn die Motivation ausnahmsweise einmal eher gering war! Danke für deinen unermüdlichen Beistand!

Der größte Dank geht an meine Eltern. Danke, dass ihr mich in meinen Wünschen und Vorhaben so lange es möglich war mit großem Interesse, Verständnis und Vertrauen bestärkt habt. Ihr habt mir unglaublich viele Freiheiten gelassen und mir vermittelt, dass man mit viel Begeisterung, hartnäckigem Willen und mit einem bisschen Mut viele Träume selbst verwirklichen kann!

Abschließend möchte ich mich bei meinen drei „großen“ Brüdern und deren Familien sowie bei meinen besten Freundinnen/Freunden dafür bedanken, dass man sich zu jedem Zeitpunkt auf euch verlassen kann und dafür, dass ihr meinen Weg hierher so toll unterstützt habt, jeder von euch auf ihre/seine eigene Weise!

---

## Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

Düsseldorf, den 04. November 2013 (Datum der Einreichung)

Susanne Weiß