

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. Pannen

Der protektive Effekt der Hypothermie auf die orale mikrovaskuläre Hä-
moglobinoxygenierung im hämorrhagischen Schock wird durch die Na⁺-
K⁺-ATPase vermittelt

- Eine Studie an anästhesierten Hunden -

Dissertation

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

vorgelegt von

Ester Judith Herrmann

2018

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

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. N. Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. O. Picker

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Dr. h. c. T. Klenzner

Zusammenfassung

Therapeutische Hypothermie wird bereits klinisch bei kardiopulmonaler Bypassoperation und nach kardialen Arrest eingesetzt. In vorangegangenen Studien wurde gezeigt, dass eine milde Hypothermie die mikrovaskuläre Oxygenierung der gastralen Mukosa im hämorrhagischen Schock, unabhängig vom systemischen Sauerstoffverbrauch, durch Erhöhung der mikrovaskulären Perfusion verbessert. Dieser Effekt konnte sowohl durch Blockade des Sympathikus als auch durch Blockade des Vasopressinrezeptors aufgehoben werden. Jedoch ist der genaue Mechanismus, über den dieser Effekt vermittelt wird, bislang unklar. Denkbar wäre eine Aktivierung der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ über Vasopressin oder des $\text{K}_v\text{-Kanals}$ über den Sympathikus. Beide sind im Splanchnikusgebiet exprimiert und vermitteln eine Vasodilatation. Ziel dieser Studie war es daher zu untersuchen, ob die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ oder der $\text{K}_v\text{-Kanal}$ an den Effekten beteiligt sind. Zur Klärung dieser Frage wurden fünf Hunde mit Genehmigung durch das zuständige Landesamt wiederholt anästhesiert und durchliefen in randomisierter Reihenfolge jedes der sechs Versuchsprotokolle ($n = 30$). Dabei erhielten die Tiere entweder unter Normothermie oder Hypothermie G-Strophanthin zur Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ oder 4-Aminopyridine zur Blockade des $\text{K}_v\text{-Kanals}$ oder als Kontrolle das reine Lösungsmittel (NaCl). Daraufhin wurde den Versuchstieren 20 % ihres Blutvolumens entzogen und nach einer Stunde retransfundiert. Die mikrovaskuläre Hämoglobinoxygenierung (μHbO_2) wurde dabei kontinuierlich mittels Reflexionsspektrometrie an der oralen und gastralen Mukosa gemessen. Systemische hämodynamische Parameter wurden kontinuierlich gemessen und das Herzzeitvolumen sowie Blutgasanalysen intermittierend bestimmt. Der arterielle Sauerstoffgehalt sowie die systemische Sauerstofftransportkapazität wurden daraus berechnet.

Unter Normothermie verschlechterte sich die orale μHbO_2 im hämorrhagischen Schock um $-32 \pm 5 \Delta \%$. Dieser Abfall war unter Hypothermie auf $-17 \pm 4 \Delta \%$ abgemildert. Im hämorrhagischen Schock konnte eine Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ den positiven Effekt der Hypothermie auf die orale Hämoglobinoxygenierung aufheben. Die Blockade des $\text{K}_v\text{-Kanals}$ hatte dagegen keinen Einfluss auf den Effekt der Hypothermie. Ähnliche Effekte auf die gastrale μHbO_2 unter Hypothermie wie auf die orale μHbO_2 wurden auch durch die Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ und des $\text{K}_v\text{-Kanals}$ gezeigt. Jedoch erreichten diese keine statistische Signifikanz. Die Effekte auf die μHbO_2 waren unabhängig von systemischen Kreislaufparametern, die sich gleichartig in allen Gruppen änderten. Daraus resultieren folgende Ergebnisse:

1. Milde Hypothermie verbessert die Hämoglobinoxygenierung der oralen Mukosa im hämorrhagischen Schock.
2. Dieser Effekt wird durch Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ aufgehoben.
3. Der Effekt ist unabhängig von systemischen Kreislaufveränderungen und wird damit lokal vermittelt.

Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Effekte der Hypothermie durch die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ vermittelt werden. Diese Ergebnisse und die der vorangegangenen Studien deuten daraufhin, dass Hypothermie das sympathische Nervensystem aktivieren könnte und darüber zu einer erhöhten Freisetzung von Vasopressin führt. Vasopressin stimuliert die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ und verbessert möglicherweise so die lokale Hämoglobinoxygenierung. Durch Blockade jedes einzelnen Schritts in der Kette konnte der positive Effekt der Hypothermie wieder aufgehoben werden. Dies ist ein möglicher Weg, über den der positive Effekt der Hypothermie auf die orale μHbO_2 im hämorrhagischen Schock bei Hunden vermittelt werden könnte.

Summary

Hypothermia is an established therapy to improve tissue function during cardiopulmonary bypass and after resuscitation. Previous studies have shown that mild hypothermia protects regional mucosal oxygenation during hemorrhagic shock via improvement of microvascular flow and that these effects are independent of oxygen consumption. This effect of hypothermia was abolished either during blockade of the sympathetic nervous system and during blockade of the vasopressin receptor. However, the exact mechanisms are unclear. Since the sympathetic nervous system stimulates K_v channels and vasopressin stimulates the N^+,K^+ -ATPase we hypothesized that this increase in regional mucosal oxygenation is mediated either via K_v channels or the N^+,K^+ -ATPase. Both channels are expressed in the splanchnic region and their stimulation leads to vasodilation. The aim of our study was to identify if the effects of hypothermia on regional mucosal oxygenation during hemorrhagic shock are mediated via N^+,K^+ -ATPase and K_v channel. In order to clarify this question, five dogs were anesthetized repetitively and underwent each of the six protocols ($n = 30$) in a randomized order in accordance with NIH guidelines for animal care. Experiments were performed with approval of the local animal care and use committee. The animals received either under normothermia or hypothermia G-Strophanthin to blockade of the N^+,K^+ -ATPase or 4-Aminopyridine to blockade of the K_v channel or as control the pure solvent (NaCl). Thereafter, 20 % of the dog's blood volume was withdrawn and retransfused after one hour. Systemic hemodynamic variables and oral and gastric mucosal microvascular oxygenation (μHbO_2 , reflectance spectrophotometry) were recorded continuously. Cardiac output and blood gas analysis were determined intermittently. Arterial oxygen content and systemic oxygen delivery were calculated.

During normothermia, hemorrhagic shock decreased oral μHbO_2 by $-32 \pm 5 \Delta \%$. This decrease was attenuated under hypothermia to $-17 \pm 4 \Delta \%$. During hemorrhagic shock, the positive effect of hypothermia on the oral mucosal oxygenation was abolished in the presence of N^+,K^+ -ATPase blockade. The blockade of the K_v channel had no influence on the effect of hypothermia. Comparable effects of the N^+,K^+ -ATPase blockade and K_v blockade on the effect of hypothermia in the gastric region might be indicated by similar changes of the gastric μHbO_2 , however, the differences failed to reach significance.

The observed differences in mucosal oxygenation are independent of systemic hemodynamic variables which changed equally in all groups. The results lead to the following conclusions:

1. Mild hypothermia protects oral mucosal oxygenation during hemorrhage.
2. The protection of oral mucosal oxygenation is mediated via the N^+,K^+ -ATPase.
3. This effect is independent of effects on systemic hemodynamic variables and thus mediated regionally.

In summary, these results indicate that the effects of hypothermia are mediated via N^+,K^+ -ATPase. Our previous results indicate that hypothermia activates the sympathetic nervous system leading to enhanced Vasopressin release. Taken together, the results of both studies suggest that vasopressin activates the N^+,K^+ -ATPase which mediates vasodilation and thus improves oral oxygenation. We have shown that inhibition of each step in this chain can abolish the effect of hypothermia. Thus, we have demonstrated the possible pathway that mediates the effects of hypothermia on oral μHbO_2 during hemorrhagic shock in dogs.

Abkürzungen

A.	<i>arteria</i>	G-	Guaninnukleotid-bindendes
Aa.	<i>arteriae</i>	Protein	Protein
Abb.	Abbildung	HCO₃⁻	Bikarbonat [mmol * l ⁻¹]
ANOVA	<i>analysis of variance for repeated measurements</i>	HT	Experiment mit 0,9 % NaCl-Lösung unter Hypothermie und Hämorrhagie
ATP	Adenosintri-phosphatase	HTKv	Experiment mit 4-Aminopyridine unter Hypothermie und Hämorrhagie
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat	HTNKA	Experiment mit G-Strophanthin unter Hypothermie und Hämorrhagie
C_aO₂	arterieller Sauerstoffgehalt [ml * 100 ml ⁻¹]	HZV	Herzzeitvolumen [ml * kg ⁻¹ * min ⁻¹]
CO₂	Kohlenstoffdioxid [mmol * l ⁻¹]	I.D.	Innendurchmesser [mm]
DO₂	systemische Sauerstofftransportkapazität oder Sauerstoffangebot [ml * kg ⁻¹ * min ⁻¹]	I.E.	Injektionseinheit
EKG	Elektrokardiogramm	K	Konstante
F	French [1 F = 1/3 mm Außendurchmesser]	KG	Körpergewicht [kg]
F_iO₂	inspiratorische Sauerstofffraktion	K_v-Kanal	spannungsgesteuerter Kaliumkanal
FX_{YD}	Regulationseinheit der Na ⁺ -K ⁺ -ATPase - <i>pronounced fixed-id</i>	MAC	mittlere alveoläre Konzentration
MAD	mittlerer arterieller Blutdruck [mmHg]	n	Anzahl
MOV	Multiorganversagen	Na⁺-K⁺-ATPase	Adenosintri-phosphatase

NaCl	Natriumchlorid (Kochsalz) [mmol * l ⁻¹]	S_aO₂	arterielle Sauerstoffsättigung [%]
NO	Stickstoffmonoxid [mmol * l ⁻¹]	SD	<i>standard deviation</i> - Standard- abweichung
NT	Experiment mit 0,9 % NaCl- Lösung unter Normothermie und Hämorrhagie	SEM	<i>standard error of the mean</i> - Standardfehler
NTKv	Experiment mit 4- Aminopyridine unter Normothermie und Hä- morrhagie	SIRS	systemisches inflammatori- sches <i>Response</i> -Syndrom
NTNKA	Experiment mit G- Strophanthin unter Normothermie und Hä- morrhagie	SV	Schlagvolumen [ml]
O₂	Sauerstoff [mmol * l ⁻¹]	SVR	<i>systemic vascular resistance</i> - systemischer Gefäßwiderstand [mmHg * l ⁻¹ * min]
P_aCO₂	arterieller Kohlendioxidparti- aldruck [mmHg]	T	Temperatur [°C]
P_aO₂	arterieller Sauerstoffpartial- druck [mmHg]	TOF	<i>Train-of-Four</i>
PC	<i>Personal computer</i>	V	Volumen [ml]
PiCCO	<i>Pulse Contour Cardiac Output</i>	Vol. %	Volumenprozent
		ZVD	Zentraler Venendruck [mmHg]
		μHbO₂	mikrovaskuläre Hämoglobin- sättigung [%]

Inhaltsverzeichnis

ZUSAMMENFASSUNG	I
SUMMARY	II
ABKÜRZUNGEN	III
INHALTSVERZEICHNIS	V
1 EINLEITUNG	1
2 MATERIAL UND METHODEN	5
2.1 Versuchstiere	5
2.2 Operationen	5
2.3 Messungen	6
2.3.1 Registrierung der Daten	6
2.3.2 Herzfrequenz (HF).....	6
2.3.3 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD).....	6
2.3.4 Herzzeitvolumen (HZV)	6
2.3.5 <i>Systemic vascular resistance</i> (SVR)	7
2.3.6 Relaxometrie.....	8
2.3.7 Blutgase	8
2.3.8 Atem- und Narkosegaskonzentration	9
2.3.9 Regionale Oxygenierung der oralen und gastralen Mukosa	9
2.4 Blockade der Na⁺-K⁺-ATPase	10
2.5 Blockade des K_v-Kanals	10
2.6 Kontrollgruppe	10
2.7 Intervention mit Hämorrhagie	10
2.8 Intervention mit Hypothermie	11

2.9	Versuchsprotokoll	11
2.9.1	Allgemein	11
2.9.2	Experiment mit G-Strophanthin („HTNKA“, n = 5), 4-Aminopyridine („HTKv“, n = 5) und 0,9 % NaCl-Lösung („HT“, n = 5) unter Hypothermie + Hämorrhagie	13
2.9.3	Experiment mit G-Strophanthin („NTNKA“, n = 5), 4-Aminopyridine („NTKv“, n = 5) und 0,9 % NaCl-Lösung („NT“, n = 5) unter Normothermie + Hämorrhagie	14
2.9.4	Statistische Auswertung	14
3	ERGEBNISSE	15
4	DISKUSSION	22
5	SCHLUSSFOLGERUNG	27
6	LITERATUR-UND QUELLENVERZEICHNIS	28

1 Einleitung

Therapeutische Hypothermie wird bereits klinisch zur Gewebeprotektion bei zerebrovaskulären und kardiovaskulären Interventionen wie neonataler, hypoxisch-ischämischer Enzephalopathie [1], kardiopulmonaler Bypassoperation und nach kardialem Arrest [2, 3] angewandt. Zudem ist in Tiermodellen der positive Effekt der Hypothermie auch bei hepatischer [4], renaler [5] und intestinaler [6] Ischämie nachweisbar. So verlängert Hypothermie die Überlebenszeit während langandauernder intestinaler Ischämie-Reperfusion [7] und im hämorrhagischen Schock [8, 9].

In diesem Zusammenhang konnte die eigene Arbeitsgruppe bereits zeigen, dass eine milde, systemische Hypothermie die mikrovaskuläre Oxygenierung der oralen und gastralen Mukosa im hämorrhagischen Schock unabhängig vom systemischen Sauerstoffverbrauch durch Erhöhung der mikrovaskulären Perfusion verbessert [10]. In einer anschließenden Studie konnte dieser positive Effekt der Hypothermie sowohl durch Blockade des sympathischen Nervensystems als auch durch Blockade des Vasopressinrezeptors aufgehoben werden [11]. Da Hypothermie das sympathische Nervensystem aktiviert [12] und an einer Vasopressinfreisetzung beteiligt ist [13], könnten dies Mediatoren sein, über die der Effekt der Hypothermie vermittelt wird. Jedoch ist der genaue Mechanismus bislang unklar. Deswegen soll bei dieser Studie untersucht werden, über welchen Mechanismus der Effekt der Hypothermie im hämorrhagischen Schock vermittelt wird. Denkbar wäre eine Aktivierung der Natrium-Kalium-Adenosintriphosphatase ($\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase) über Vasopressin oder des spannungsgesteuerten Kaliumkanals (K_v -Kanals) durch den Sympathikus. Die Aktivierung der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase erfolgt G_s -Protein-gekoppelt über den zyklischen Adenosinmonophosphat-(cAMP)-Signalweg. Dieser führt zu Translokation und Einbau der Pumpe aus einem intrazellulären *Pool* in die Plasmamembran [14]. Obwohl der cAMP-Signalweg normalerweise über V2-Rezeptoren vermittelt wird, kann dieser ebenfalls über V1-Rezeptoren aktiviert werden [15].

Die $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase ist ein ubiquitär vorhandenes Transmembranprotein [16] bestehend aus einer α - und einer β -Untereinheit sowie einer gewebespezifischen akzessorischen FXYP-Untereinheit (FXYP = *pronounced fixed-id*) [17]. Die akzessorische FXYP 1-Untereinheit

Phospholemman ist unter anderem an der Regulation der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ -aktivität beteiligt [18-20]. Unter Hydrolyse von ATP werden drei Natriumionen nach extrazellulär und zwei Kaliumionen nach intrazellulär transportiert [21]. So trägt sie zur Regulierung des Gefäßtonus bei. Stimulierung der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ führt über Hyperpolarisation zu Relaxation der Gefäßmuskelzellen und damit zur Vasodilatation [22]. Diese Wirkung wird zum einen über glatte Gefäßmuskelzellen und zum anderen über Endothelzellen vermittelt. In glatten Gefäßmuskelzellen induziert die Hyperpolarisation eine verminderte Öffnungswahrscheinlichkeit spannungsabhängiger Kalziumkanäle, eine verminderte intrazelluläre Kalziumkonzentration und damit eine Vasodilatation. In Endothelzellen bewirkt die Hyperpolarisation einen Einstrom von Kalziumionen durch spannungsunabhängige Kanäle. Dies führt über Stimulation der endothelialen Synthese und Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) ebenfalls zur Vasodilatation [23]

Einige Studien berichten, dass Hypothermie die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ -aktivität vermindert [24, 25]. Allerdings ist diese Wirkung bei milder Hypothermie nur leicht ausgeprägt [25] und die stimulierende Wirkung von Vasopressin überwiegt.

Ein weiterer möglicher Mechanismus ist eine sympathikusvermittelte Erhöhung der K_v -Kanalaktivität unter Hypothermie. Das sympathische Nervensystem stimuliert über G-Proteingekoppelte, β -adrenerge Rezeptoren K_v -Kanäle. Daraus resultiert eine erhöhte Adenylatcyclaseaktivität mit vermehrter Bildung von cAMP und damit einer erhöhten Aktivität der Proteinkinase A. Diese bedingt eine vermehrte Phosphorylierung und damit eine höhere Öffnungswahrscheinlichkeit von K_v -Kanälen [26-28]. Nach extrazellulär strömende Kaliumionen führen zu Hyperpolarisation. Dies bedingt eine verminderte Aktivität spannungsabhängiger L-Typ Kalziumkanäle und eine verminderte intrazelluläre Kalziumkonzentration und induziert darüber eine Vasodilatation [29, 30]. Der Effekt der Tonusregulation glatter Gefäßmuskelzellen durch K_v -Kanäle konnte bereits am zerebralen [31, 32], koronaren [33, 34], pulmonalen [35-38], renalen [39], portalvenösen [35], mesenterialen [40] und am ilealen [41] Gefäßbett nachgewiesen werden.

Da K_v -Kanäle auch im Splanchnikusgebiet vorkommen [40, 41], könnte eine sympathikusvermittelte Steigerung der K_v -Kanalaktivität im hämorrhagischen Schock unter Hypothermie zur

Verbesserung der oralen und gastralen mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung vermutet werden.

In diesem Zusammenhang ist die gastrointestinale Mukosa von besonderer Bedeutung, da sie unter physiologischen Bedingungen als selektive Barriere gegen eine Translokation von Darmbakterien und deren Toxine fungiert. Hierfür muss speziell die Mukosa ausreichend perfundiert und oxygeniert sein [42, 43], was eine suffiziente Mikrozirkulation voraussetzt. Die Mikrozirkulation ist somit entscheidend, um die Integrität des Mukosaepithels zu gewährleisten und so eine Translokation zu verhindern [44].

Ein erhöhter Sauerstoffbedarf oder ein vermindertes Sauerstoffangebot können zu einer Minderversorgung der Mukosa führen [45]. Im hämorrhagischen Schock wird das Blutvolumen aus den Mesenterialgefäßen zur Versorgung lebenswichtiger Organe wie Herz und Gehirn umverteilt, sodass für den Darm ein vermindertes Sauerstoffangebot besteht. Dies kann zu einer Darmischämie führen [45, 46], wobei der Darm empfindlicher als andere Organe gegenüber Ischämie ist [47]. Folge dieser Ischämie kann durch Minderdurchblutung der Mukosa die Dissemination von Bakterien und deren Toxine aus dem Splanchnikusgebiet in extraintestinale Gewebe sein [48, 49]. Über ein systemisch inflammatorisches *Response*-Syndrom (SIRS) kann sich ein Multiorganversagen (MOV) entwickeln [45, 50]. Eine Hypoperfusion des Gastrointestinaltrakts kann somit für die Entstehung eines MOV ausreichen [51]. Mitauslösend sind die Produktion von Akut-Phase-Proteinen [52, 53] und inflammatorischen Zytokinen [54] in der Mukosa des Gastrointestinaltrakts sowie die Freisetzung von Wasserstoffperoxiden und Superoxiden [45, 48]. Durch die freigesetzten Sauerstoffradikale wird die Kontraktionsfähigkeit des Herzens beeinträchtigt [55-57] und die intestinale Perfusion weiter vermindert. So wird ein *circulus vitiosus* mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität etabliert [58]. Der Darm wird daher auch als „Motor des MOV“ [59] bezeichnet.

Demnach ist eine ausreichende gastrointestinale Oxygenierung der Mukosa im hämorrhagischen Schock anzustreben. Systemische Blutgaswerte [60, 61] und Kreislaufparameter [62] sind zur Diagnostik allein nicht ausreichend [63], da die regionale Mikrozirkulation bereits beeinträchtigt sein kann, wenn diese Parameter noch normwertig sind. Insbesondere ist eine verminderte

Oxygenierung der oralen Mukosa ein Prädiktor für Endorganschäden [64, 65] und könnte somit mit einer erhöhten Mortalität assoziiert sein.

Zusammenfassend verbessert eine milde Hypothermie die gastrointestinale Mukosaoxygenierung im hämorrhagischen Schock. Hieran sind das sympathische Nervensystem und Vasopressin beteiligt. Hierdurch könnte es zu einer Aktivierung der vasoaktiven $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ durch Vasopressin oder des $\text{K}_v\text{-Kanals}$ durch den Sympathikus kommen.

Daher soll in dieser Arbeit die Frage beantwortet werden, ob der positive Effekt der Hypothermie auf die gastrointestinale Hämoglobinoxygenierung im hämorrhagischen Schock über die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ oder den $\text{K}_v\text{-Kanal}$ vermittelt wird.

2 Material und Methoden

Nach Genehmigung durch das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW am 16.11.2011 wurden die Versuche (n = 30) durchgeführt. Die Referenznummer lautet: 84-02.04.2011.A288. Ein Fachkundenachweis gemäß § 9 des geltenden Tierschutzgesetzes liegt vor.

2.1 Versuchstiere

Die fünf Versuchstiere waren weibliche Hunde (Foxhounds, 28 - 36 kg KG). Sie lebten in der Tierversuchsanlage der Universität und wurden mit Standardnahrung (Hd Ereich extrudiert V3286, ssniff® Spezialdiäten GmbH, Soest) verpflegt. Vor den Versuchen hielten sie eine 24-stündige Nahrungskarenz mit Wasser *ad libitum* ein, um eine vollständige Magenentleerung sicherzustellen und um so eine Veränderung der Perfusion und Oxygenierung durch vermehrte gastrointestinale Peristaltik zu verhindern. Die Tiere nahmen nur im gesunden und normalgewichtigen Zustand an den Versuchen teil. Zusätzlich wurden Hündinnen von den Versuchen ausgeschlossen, die sich im *Oestrus* befanden. Jeder Hund nahm an allen Versuchsgruppen in randomisierter Reihenfolge teil und diente hiermit als seine eigene Kontrolle. Dadurch wurden interindividuelle Unterschiede reduziert. Zwischen den Versuchen an demselben Tier wurde ein Mindestabstand von drei Wochen eingehalten.

2.2 Operationen

Die Hunde wurden vor den eigentlichen Interventionen in Allgemeinanästhesie (Isofluran, Piritramid) unter aseptischen Bedingungen operiert. Nach Freipräparation der *Aa. carotides* wurden diese nach außen in Hautschlingen verlagert [66]. Dies vereinfachte die Punktion der *Aa. carotides* zur Abnahme arterieller Blutproben und zur kontinuierlichen Blutdruckmessung während der Versuche und ermöglichte einen problemloseren Wundverschluss nach den Versuchen.

2.3 Messungen

2.3.1 Registrierung der Daten

Während der Experimente wurden die erfassten Daten (Blutdruckkurve, EKG, inspiratorische Sauerstoffkonzentration und expiratorische CO₂-und Sevoflurankonzentration) kontinuierlich auf einem Acht-Kanal-Polygraphen (RS 3800, Gould Inc., Cleveland, OH) aufgezeichnet und nach analog/digitaler Konvertierung der Signale (Powerlab[®], ADInstruments, Castle Hill, Australien; 400 Hz Abtastrate) auf einem herkömmlichen PC mittels der Software Chart 4.2 (ADInstruments) gespeichert.

2.3.2 Herzfrequenz (HF)

Ein Drei-Kanal-EKG wurde mit Hilfe von Oberflächenelektroden abgeleitet. Die Herzfrequenz wurde R-Zacken-getriggert ermittelt (Chart 5.5.6).

2.3.3 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAD)

In der *Aorta ascendens* wurde der arterielle Blutdruck fortlaufend über einen in die *A. carotis* eingeführten flüssigkeitsgefüllten Katheter gemessen (MAD, Gould-Statham Druckwandler P231D, Elk Grove, IL). Verifiziert wurde die Katheterlage durch die korrekte Darstellung der arteriellen Druckkurve. Der Druckwandler wurde auf Herzhöhe des liegenden Hundes angebracht, wobei der *Processus spinosus* des siebten Halswirbels als Orientierungspunkt fungierte. Vor jedem Experiment wurde der Druckwandler geeicht (Eichwaage nach Gauer).

Mit heparinisierter Kochsalzlösung (1000 I.E. Heparin-Natrium in 500 ml NaCl 0,9 %) wurde der Katheter gespült.

Aus den Originalsignalen wurden Integrale gebildet und so der MAD berechnet (Chart 5.5.6).

2.3.4 Herzzeitvolumen (HZV)

Das HZV wurde durch transpulmonale Thermodilution (PiCCO 4.2 non US, PULSION Medical Systems, München, Deutschland) bestimmt.

Zur transpulmonalen Thermodilution wurden 10 ml auf Eis gekühlte isotonische Kochsalzlösung benutzt. Mit gleichbleibender Geschwindigkeit wurde diese am Vorderlauf des Hundes

über eine 16 G-Venenverweilkanüle appliziert. Die Temperaturmessung erfolgte am Injektionsort. Nach Passage der Lungenstrombahn wurde die Temperaturänderung in der *Aorta ascendens* ermittelt.

Mit Hilfe der Stewart-Hamilton-Gleichung wurde das HZV berechnet:

$$\text{HZV} = [(T_B - T_{\text{NaCl}}) * V_{\text{NaCl}} * K] / [\int \Delta T_B * dt]$$

T_B :	Bluttemperatur vor Applikation
T_{NaCl} :	Temperatur der applizierten NaCl-Lösung
V_{NaCl} :	Volumen der applizierten Lösung (hier 10 ml)
$\int \Delta T_B * dt$:	Fläche unter der Thermodilutionskurve
K:	Korrekturkonstante, welche die spezifischen Wärmen und Gewichte von applizierter Lösung und Blut erfasst

Im Gegensatz zur HZV-Messung in der *A. pulmonalis* ist die Messung des Herzzeitvolumens über das Thermodilutionsverfahren praktisch unabhängig von der Atemphase. Grund dafür ist die große Zeitdauer der Thermodilutionskurve (in der Regel 120 Sekunden), die daher einen Mittelwert über den gesamten Atemzyklus bildet [67-71].

Um die Reproduzierbarkeit zu gewährleisten, erfolgten zu Beginn zwei Messungen, danach alle 30 Minuten.

2.3.5 Systemic vascular resistance (SVR)

Der systemisch vaskuläre Widerstand (SVR) wird als arteriovenöse Druckdifferenz (MAD - ZVD) pro Flussmenge berechnet, daraus ergibt sich: (MAD - ZVD) / HZV. Der zentrale Venendruck (ZVD) wurde nicht direkt gemessen, war jedoch in eigenen vorangegangenen Experimenten vernachlässigbar klein und konstant, sodass er keine Berücksichtigung fand. Der SVR wurde somit annähernd bestimmt als: $\text{SVR} \approx \text{MAD} / \text{HZV}$.

2.3.6 Relaxometrie

Die *Train-of-Four*-Stimulation (TOF-GUARD[®], Organon Teknika B. V., Niederlande) wurde zur Relaxometrie eingesetzt. Am Hinterlauf wurde über Nervenstimulation mit 15 mA die Muskelantwort der Pfote gemessen. Nach Narkoseeinleitung vor Gabe des Muskelrelaxanz wurden die Elektroden so platziert, dass eine TOF-Ratio von 1,0 erreicht wurde. Während des gesamten Versuches wurde eine ausreichende Relaxierung verifiziert durch eine Ratio von 0. Die Narkose wurde erst dann beendet, wenn ein Relaxantienüberhang aufgrund eines zweifelsfreien Ergebnisses beim neuromuskulären *Monitoring* (TOF-Ratio von 1,0) und der Rückkehr einer suffizienten Spontanatmung ausgeschlossen war.

2.3.7 Blutgase

Während des gesamten Experiments wurden alle 30 Minuten arterielle Blutproben mit heparinisierten Spritzen (PICO50, Radiometer, Kopenhagen) entnommen. Daraus wurden Blutgase (P_aO_2 , P_aCO_2), die Konzentrationen von Hämoglobin, Laktat, Elektrolyten sowie der Säure-Basen-Haushalt (pH, HCO_3^-) bestimmt (Rapidlab 860, Bayer Vital GmbH, Fernwald).

Nach Zentrifugation (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Deutschland; 4 min. bei 13.000 Umdrehungen/min nach DIN 58933-1) in Mikro-Hämatokrit-Kapillaren (Länge 75 mm, Durchmesser 1,15 mm, Brand GmbH & Co. KG, Wertheim, Deutschland) wurde der Hämatokrit ermittelt. Die arterielle Sauerstoffsättigung wurde mittels pO_2 temperatur- und pH-adaptiert für Hunde berechnet [72]. Der arterielle Sauerstoffgehalt ($C_aO_2 = (Hb * 1,34 * S_aO_2 / 100) + (P_aO_2 * 0,0031)$) sowie die systemische Sauerstofftransportkapazität ($DO_2 = HZV * C_aO_2$) wurden aus diesen Parametern bestimmt.

Während der Experimente wurde keine zusätzliche Flüssigkeit injiziert, um Volumeneffekte zu vermeiden, die die mikrovaskuläre Perfusion und Oxygenierung beeinflussen könnten. Jedoch wurde nach jeder Blutgasanalyse die dreifache Menge an isotonischer Kochsalzlösung infundiert, um das Blutvolumen aufrechtzuerhalten.

2.3.8 Atem- und Narkosegaskonzentration

Es wurde kontinuierlich eine inspiratorische Sauerstofffraktion von $F_iO_2 = 0,30$, eine expiratorische Kohlenstoffdioxidkonzentration von 35 mmHg sowie eine expiratorische Sevoflurankonzentration von 3,0 Vol. % aufrechterhalten. Dies wurde fortlaufend gemessen (Capnomac Ultima, Datex Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnland) und gespeichert (Chart 4.2).

2.3.9 Regionale Oxygenierung der oralen und gastralen Mukosa

An der gastralen und oralen Mukosa wurde die mikrozirkulatorische Oxygenierung (μHbO_2) mittels Reflexionsspektrometrie (O2C, LEA, Medizintechnik, Gießen) analysiert. Hierzu wurde die postkapilläre Sauerstoffsättigung (μHbO_2) der Mikrozirkulation gemessen [73].

Über eine Magensonde wurde die flexible Messsonde atraumatisch bis in den Magen vorgeschoben. Eine weitere Messsonde wurde auf der Maulschleimhaut der linken Lefze platziert.

Weißlicht (500-800 nm) wird in das Gewebe gestrahlt, an Mitochondrien diffus gestreut und mittels Detektoren an der Gewebeoberfläche wieder gemessen. Durch die Streuung wird die Intensität des Lichtes abgeschwächt. Das Farbspektrum bleibt aber unverändert. Erst wenn das Weißlicht vom Hämoglobin der Erythrozyten absorbiert wird, ändert es in Abhängigkeit von der Sauerstoffsättigung die Farbe. Glasfasersonden detektieren das zurückgestreute Licht. Das O2C-Gerät wertet dieses über ein Miniaturspektrometer aus, wobei die Spektren während des Versuchs kontinuierlich dargestellt und so die korrekte Lage der Sonden verifiziert werden. Dies ermöglicht die kontinuierliche Beurteilung der Signalqualität. Anhand der detektierten Farbe kann auf die relative Sauerstoffsättigung geschlossen werden. Die Farbe gibt Aufschluss über die relative Hämoglobinmenge im Gewebe.

Zudem wird sichtbares Licht in großen Gefäßen ($> 100 \mu m$) völlig absorbiert. Folglich wird nur die mikrovaskuläre Oxygenierung untersucht. Die Reflexionsspektrometrie kann sogar eine klinisch asymptotische Verminderung der Mukosa-oxygenierung [74] nachweisen und korreliert stark mit der Schwere und dem Ausmaß der gastraln Mukosaschädigung [75]. Das atraumatische Einführen und insbesondere der atraumatische Zugang zur gastraln Mukosa erlauben die Untersuchung der Mikrozirkulation ohne operatives Trauma. Dies ist vor allem wünschens-

wert, da das Trauma und operativer Stress zu einer Veränderung der Mikrozirkulation [76] führen können.

2.4 Blockade der Na⁺-K⁺-ATPase

Zur Blockade der Na⁺-K⁺-ATPase wurde G-Strophanthin (Reinheit ≥ 95 %, Ouabain octahydrate, O3125, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) in 50 ml *Aqua ad injectabilia* gelöst (5 mg/ml). Die Lösung wurde in 0,9 % NaCl-Lösung weiter verdünnt (40 μ g/ml). Dem Hund wurden 20 μ g G-Strophanthin pro Kilogramm Körpergewicht infundiert (entsprechend 0,5 ml/kg KG).

2.5 Blockade des K_v-Kanals

Zur Hemmung des K_v-Kanals wurde 4-Aminopyridine (Reinheit ≥ 99 %, 4-Aminopyridine, A78403, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) in *Aqua ad injectabilia* gelöst (0,5 g/ml) und in 0,9 % NaCl-Lösung verdünnt (2 mg/ml). Dem Hund wurde 1 mg 4-Aminopyridine pro Kilogramm Körpergewicht appliziert (entsprechend 0,5 ml/kg KG).

2.6 Kontrollgruppe

Zur Kontrolle wurde dem Hund das reine Lösungsmittel, 0,9 % NaCl-Lösung, entsprechend 0,5 ml/kg KG infundiert.

2.7 Intervention mit Hämorrhagie

Um einen hämorrhagischen Schock zu induzieren, wurden dem Hund 16 ml/kg KG (entsprechend 20 % seines geschätzten Blutvolumens) parallel über zwei Zugänge (arterieller Katheter in der *A. carotis* und Venenverweilkanüle am Vorderlauf) mit heparinisierten Spritzen entnommen (20 I.E. Heparin/ml Blut, Heparin-Natrium, Rotexmedica GmbH Arzneimittelwerk, Trittau, Deutschland). Während des Experiments wurde das Blut bei 37 °C aufbewahrt.

Das Gewicht der Hunde wurde innerhalb der Versuchsreihe konstant gehalten und damit war die entnommene Blutmenge beim selben Tier absolut und relativ gleich. Nach einer Stunde wurde das entnommene Blut retransfundiert.

2.8 Intervention mit Hypothermie

Um eine milde, systemische Hypothermie von 34 °C (Bluttemperatur) zu erreichen, wurden Eisbeutel auf den Thorax des Hundes platziert und um die Pfoten in Tücher gewickelte Kühlkompressen (Gello GmbH, Ahaus, Deutschland) gelegt. Bei 34,5 °C wurden die in Tücher gewickelten Plastiktüten vom Thorax entfernt, die Kühlkompressen an den Pfoten jedoch belassen. Stattdessen wurde eine auf den Thorax platzierte Decke an ein Umluftwärmesystem angeschlossen und mit einer Temperatur von 38 °C beheizt (Bair Hugger[®], Modell 500E, Seriennummer 500D20046D, Augustine Medical Inc., Minneapolis, Minnesota, USA). Bei Erreichen von 34 °C wurden das Umluftwärmesystem sowie die Kühlkompressen von den Pfoten entfernt. Während der Hypothermiephase wurde die Bluttemperatur bei 34 °C konstant gehalten.

2.9 Versuchsprotokoll

2.9.1 Allgemein

Die Experimente begannen stets um 8 Uhr morgens bei einer für Hunde thermoneutralen Raumtemperatur von 24 °C [77]. Die Hunde wurden einige Wochen vor Beginn der Experimente trainiert und an die Räumlichkeiten sowie an die beteiligten Experimentatoren gewöhnt, damit sie sich ungezwungen und ohne Stress auf dem gepolsterten Versuchstisch auf die rechte Seite niederlegten. Eine Venenverweilkanüle wurde den Hunden vor Narkoseeinleitung in den Hinterlauf (Vasofix[®] Safety, 18 G, B. Braun, Melsungen) und eine weitere im narkotisierten Zustand in den Vorderlauf (16 G) gelegt. Die Narkose wurde mit 6 - 8 mg/kg KG Propofol (Propofol 1% MCT Fresenius, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg) eingeleitet. Unter Laryngoskopie wurde die Trachea danach intubiert (Mallinckrodt[™] Hi-Contour Oral/Nasal Tracheal Tube Cuffed Murphy Eye 9.0 mm I.D., Covidien, Tullamore, Ireland). Ein *Cuff*-Druck von 25 cmH₂O wurde nicht überschritten, um das Auftreten von Drucknekrosen zu vermeiden. Die Tiere wurden mit einem Atemhubvolumen von 12,5 ml/kg KG, entsprechend dem normalen Tidalvolumen bei Hunden [78], beatmet (Aestiva[™]/5, Datex-Ohmeda, Inc., Madison, USA). Die Narkose wurde mit dem Inhalationsnarkotikum Sevofluran (Sevorane, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Deutschland) mit einer endtidalen Konzentration von 3,0 Vol. % entsprechend

1,5 MAC bei Hunden [79] aufrechterhalten. Da Schwankungen des Kohlendioxidpartialdrucks die Oxygenierung der Magenschleimhaut bei Hunden beeinflussen [80], wurde der endtidale Kohlendioxidpartialdruck durch Kontrolle der Atemfrequenz kontinuierlich bei 35 mmHg gehalten.

Um Schäden an der Kornea durch Austrocknung zu vermeiden, wurden die Augen mit Augensalbe (Dexpanthenol, Bepanthen[®] Augen-und Nasensalbe, Bayer Vital, Leverkusen) versehen.

Ein Katheter (PiCCO Catheter 5F Thermodilutions-Katheter 20 cm, PULSION Medical Systems, München) wurde nach Punktion einer *Arteria carotis* in den Aortenbogen eingeführt. Über einen druckfesten Katheter (Polyethylen Verlängerungskatheter, Laboratoires Pharmaceutiques VYGON, Frankreich) wurde dieser mit dem Druckwandler (vgl. Kapitel 2.3.3) und über ein passendes Kit (PiCCO Monitoring Kit, PULSION Medical Systems, München) mit dem Thermodilutions-Katheter konnektiert (vgl. Kapitel 2.3.4).

Die neuromuskuläre Blockade wurde mit einer Initialdosis von 0,6 mg/kg KG Rocuroniumbromid (Rocuronium Inresa, Inresa Arzneimittel GmbH, Freiburg, Deutschland) und einer Erhaltungsdosis von 1 mg/kg KG/h über die Venenverweilkanüle am Hinterlauf durchgeführt.

Sobald stabile Messsignale vorhanden waren, wurden diese für 30 Minuten aufrechterhalten („Baseline“, Abbildung 1). Die Zuordnung in die jeweiligen Versuchsgruppen (Abbildung 1) erfolgte randomisiert. Dabei waren die Untersucher bezüglich der applizierten Substanz (G-Strophanthin, 4-Aminopyridine, reines Lösungsmittel) verblindet.

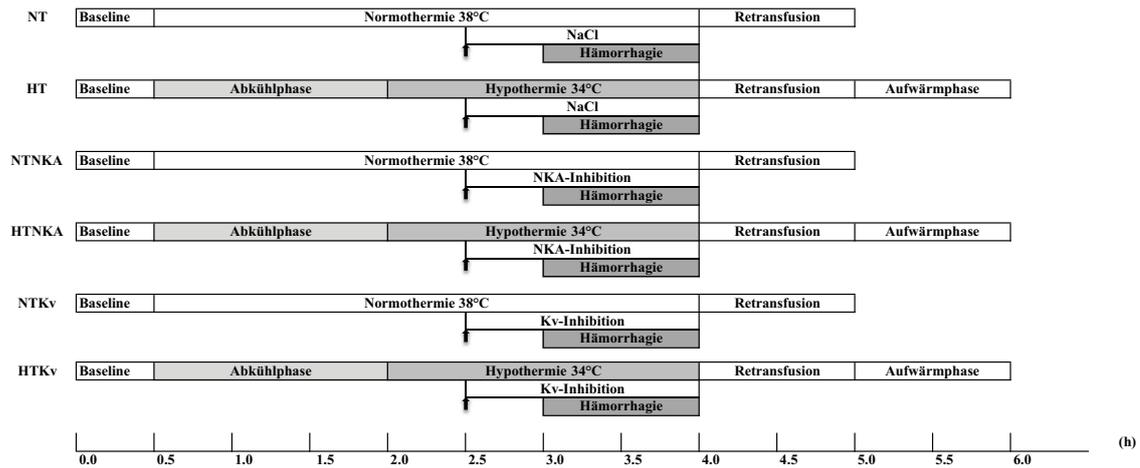


Abb. 1: **Versuchsprotokoll:** Hämorrhagischer Schock unter Normothermie (NT) und Hypothermie (HT), während Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ unter Normothermie (NTNKA) und Hypothermie (HTNKA) und unter Blockade des $\text{K}_v\text{-Kanals}$ unter Normothermie (NTKv) und Hypothermie (HTKv), gefolgt von Retransfusion und Aufwärmphase

2.9.2 Experiment mit G-Strophanthin („HTNKA“, n = 5), 4-Aminopyridine („HTKv“, n = 5) und 0,9 % NaCl-Lösung („HT“, n = 5) unter Hypothermie + Hämorrhagie

In diesen Gruppen wurde untersucht, welchen Einfluss Hypothermie im hämorrhagischen Schock auf die Mikrozirkulation während Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, des $\text{K}_v\text{-Kanals}$ oder in der Kontrollgruppe hat.

Nach Erreichen von stabilen Kreislaufbedingungen und konstanten Signalen der Messsonden in der linken Lefze und im Magen („Baseline“) wurde der Hund langsam bis auf 34 °C gekühlt (vgl. Kapitel 2.7). Nach Erreichen der Zieltemperatur wurde diese zunächst für 30 min aufrechterhalten, bevor (unter fortgesetzter Hypothermie) die entsprechende Substanz (0,5 ml/kg KG) appliziert wurde. Eine halbe Stunde danach wurde ein hämorrhagischer Schock hergestellt. Das Blut wurde eine Stunde später retransfundiert. Zeitgleich begann die Aufwärmphase mit Hilfe des Umluftwärmesystems (vgl. Kapitel 2.7) mit einer Temperatur von 43 °C. Das im zurückgeführten Blut enthaltene Heparin wurde eine halbe Stunde nach Retransfusion mit 0,5 I.E. Protaminhydrochlorid (Protamin ME, MEDA Pharma GmbH & Co. KG, Bad Homburg, Deutschland) pro I.E. Heparin antagonisiert.

2.9.3 Experiment mit G-Strophanthin („NTNKA“, n = 5), 4-Aminopyridine („NTKv“, n = 5) und 0,9 % NaCl-Lösung („NT“, n = 5) unter Normothermie + Hämorrhagie

Dieser Kontrollversuch bestimmte die Auswirkungen einer Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ (G-Strophanthin-Infusion), des K_v -Kanals (4-Aminopyridine-Infusion) oder des reinen Lösungsmittels auf die orale und gastrale Mukosaoxygenierung im hämorrhagischen Schock unter Normothermie.

Nach der *Baseline* wurden die normothermen Bedingungen zwei Stunden lang - entsprechend der Dauer der Abkühlphase bei den Versuchen unter Hypothermie - aufrechterhalten. Dieser Zeitraum wurde eingehalten, um etwaige Einflüsse durch eine verlängerte Narkosedauer auszuschließen. Zum gleichen Zeitpunkt wie in den hypothermen Gruppen wurden 0,5 ml/kg KG der entsprechenden Substanz infundiert. Eine halbe Stunde später wurde ein hämorrhagischer Schock induziert (vgl. Kapitel 2.6). Eine Stunde danach wurde das Blut retransfundiert. Das darin enthaltene Heparin wurde eine halbe Stunde nach Retransfusion wie oben beschrieben antagonisiert.

2.9.4 Statistische Auswertung

Es wurde eine Varianzanalyse für wiederholte Messungen (*ANOVA – analysis of variance for repeated measurements*) sowie daran anschließend ein *Fisher's Protected Least Square Difference (PLSD) post-hoc*-Test (GraphPad Prism Version 6.03 für Windows, GraphPad Software, La Jolla, Kalifornien, USA) für Vergleiche innerhalb und zwischen den Gruppen durchgeführt. Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm Standardfehler (SEM) für $n = 5$ dargestellt.

Ein p-Wert unter 0,05 wurde als statistische Signifikanz gewertet.

3 Ergebnisse

Unter Normothermie (NT) fiel die gastrale μHbO_2 im hämorrhagischen Schock um $-28 \pm 7 \Delta \%$ (Abb. 2), die orale μHbO_2 um $-32 \pm 5 \Delta \%$ (Abb. 3) und die DO_2 um $-5 \pm 23 \Delta \text{ ml/kg/min}$ (Abb. 4). Dieser Abfall war unter Hypothermie (HT) geringer ausgeprägt: Die gastrale μHbO_2 fiel um $-15 \pm 7 \Delta \%$ ($p = 0.12$ vs. NT) und die orale μHbO_2 um $-17 \pm 4 \Delta \%$ ($p = 0.0029$ vs. NT). Im Gegensatz dazu wurde die DO_2 ähnlich wie unter Normothermie um $-4 \pm 1 \Delta \text{ ml/kg/min}$ abgeschwächt.

Dieser positive Effekt der Hypothermie auf die orale μHbO_2 wurde durch die Injektion von G-Strophanthin aufgehoben (Abb. 3). Im hämorrhagischen Schock unter Hypothermie fiel nach G-Strophanthin-Infusion die orale Hämoglobinoxygenierung um $-29 \pm 2 \Delta \%$ und damit signifikant tiefer als unter Hypothermie (HT) alleine, wobei sich die DO_2 ähnlich um $-4 \pm 1 \Delta \text{ ml/kg/min}$ verminderte. Unter Normothermie hatte die Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ (NT/NKA) keinen zusätzlichen Einfluss auf die orale μHbO_2 ($-38 \pm 3 \Delta \%$) oder die DO_2 ($-4 \pm 1 \Delta \text{ ml/kg/min}$) (Abb. 4).

Im Gegensatz dazu führte eine zusätzliche Blockade des K_v -Kanals unter Hypothermie (HT/ K_v) im hämorrhagischen Schock zu einem Abfall der oralen μHbO_2 um $-25 \pm 4 \Delta \%$ vergleichbar zur Hypothermie (HT) allein. Ebenso verhielt sich die DO_2 mit einem Abfall um $-4 \pm 1 \Delta \text{ ml/kg/min}$.

Ähnliche Effekte auf die gastrale μHbO_2 unter Hypothermie wie auf die orale μHbO_2 wurden auch durch die Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ und des K_v -Kanals angedeutet (Abb. 3). Jedoch erreichten diese keine statistische Signifikanz.

Der systemische Sauerstofftransport war in allen Hypothermiegruppen unabhängig von einer Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ oder des K_v -Kanals gleichartig reduziert. Dieser Abfall der DO_2

beruht auf einer Reduktion des Herzzeitvolumens von 90 ± 7 ml/kg/min auf 50 ± 3 ml/kg/min unter hypothermen Bedingungen im hämorrhagischen Schock, von 80 ± 6 ml/kg/min auf 51 ± 2 ml/kg/min bei zusätzlicher Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ und von 85 ± 7 ml/kg/min auf 51 ± 3 ml/kg/min während zusätzlicher Blockade des $\text{K}_v\text{-Kanals}$. Dies basiert auf einer vergleichbaren Reduktion des Schlagvolumens von 24 ± 3 ml auf 16 ± 2 ml (HT), von 22 ± 2 ml auf 16 ± 1 ml (HTNKA) und 23 ± 3 ml auf 16 ± 1 ml (HTKv), genauso wie auf einer vergleichbaren Reduktion der Herzfrequenz von 115 ± 4 /min auf 95 ± 6 /min (HT), von 115 ± 4 /min auf 94 ± 4 /min (HTNKA) und von 116 ± 6 /min auf 99 ± 6 /min (HTKv).

Weitere hämodynamische und respiratorische Parameter sind in Tabelle 1 und 2 dargestellt.

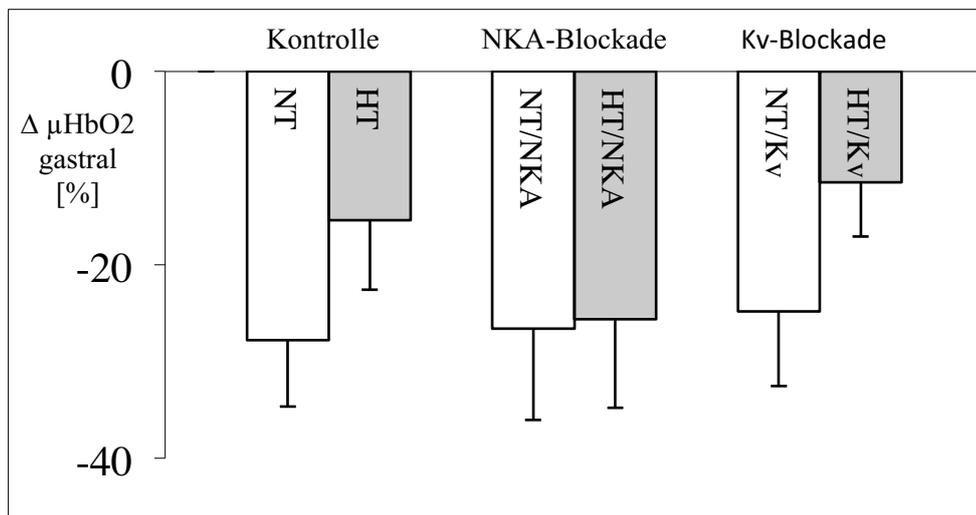


Abb. 2: **Effekte auf die gastrale μHbO_2 im hämorrhagischen Schock** – Effekte eines hämorrhagischen Schocks auf die gastrale Hämoglobinoxygenierung ($\Delta \mu\text{HbO}_2$ gastral) unter Normothermie (NT) und unter Hypothermie (HT), unter zusätzlicher Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ unter Normothermie (NT/NKA) und Hypothermie (HT/NKA) sowie unter zusätzlicher Blockade des $\text{K}_v\text{-Kanals}$ unter Normothermie (NT/Kv) und Hypothermie (HT/Kv). Differenz der Zeitpunkte während des hämorrhagischen Schocks (3:30 h) versus vor dem Schock (2:30 h) für $n = 5$ Hunde dargestellt als Mittelwert \pm SEM (* = $p < 0,05$).

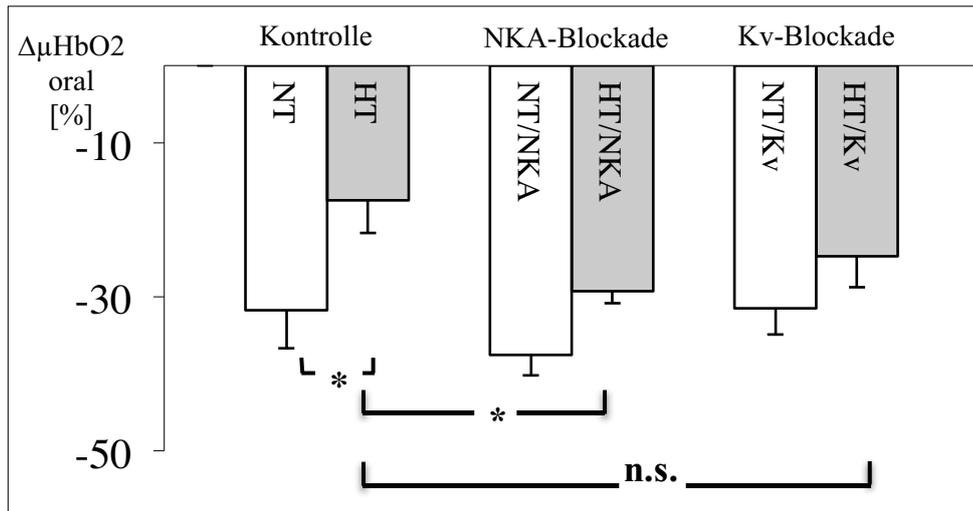


Abb. 3: **Effekte auf die orale μHbO_2 im hämorrhagischen Schock** - Effekte eines hämorrhagischen Schocks auf die orale Hämoglobinoxygenierung ($\Delta \mu\text{HbO}_2$ oral) unter Normothermie (NT) und unter Hypothermie (HT), unter zusätzlicher Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase unter Normothermie (NT/NKA) und Hypothermie (HT/NKA) sowie unter zusätzlicher Blockade des K_v -Kanals unter Normothermie (NT/Kv) und Hypothermie (HT/Kv). Differenz der Zeitpunkte während des hämorrhagischen Schocks (3:30 h) versus vor dem Schock (2:30 h) für $n = 5$ Hunde dargestellt als Mittelwerte \pm SEM (* = $p < 0,05$), (n.s. = $p > 0,05$).

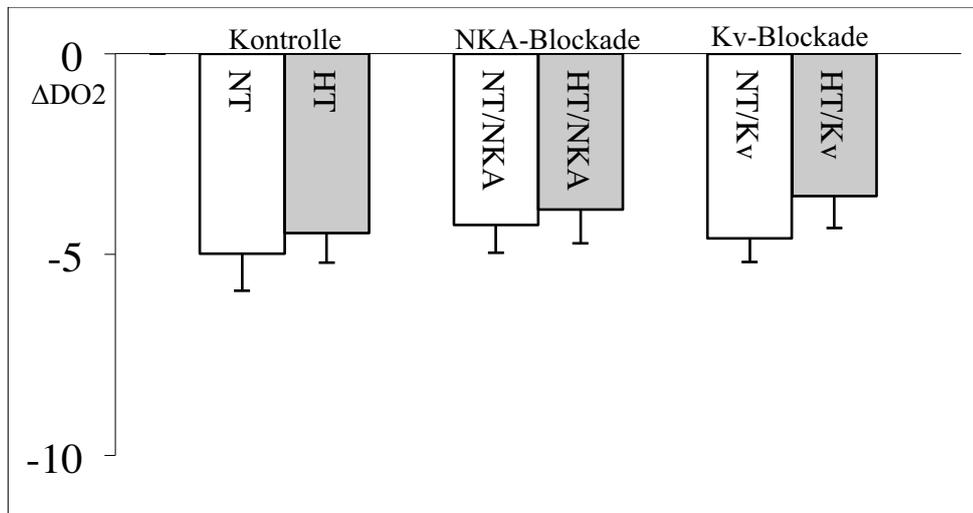


Abb. 4: **Effekte auf die DO_2 im hämorrhagischen Schock** - Effekte eines hämorrhagischen Schock auf die systemische Sauerstofftransportkapazität (ΔDO_2) unter Normothermie (NT) und unter Hypothermie (HT), unter zusätzlicher Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase unter Normothermie (NT/NKA) und Hypothermie (HT/NKA) sowie unter zusätzlicher Blockade des K_v -Kanals unter Normothermie (NT/Kv) und Hypothermie (HT/Kv). Differenz der Zeitpunkte während des hämorrhagischen Schocks (3:30 h) versus vor dem Schock (2:30 h) für $n = 5$ Hunde dargestellt als Mittelwerte \pm SEM (* = $p < 0,05$).

Tabelle 1: **Hämodynamische und mikrozirkulatorische Variablen**

Variable	Gruppe	Baseline (00:30)			Hypothermie (02:30)			Substanzgabe (03:00)			Hämorrhagie (03:30)			
μHbO ₂ gastral [%]	NT	84	±	2	86	±	3	88	±	2	58	±	8	*
	HT	83	±	2	83	±	2	84	±	3	67	±	6	*
	NTKv	80	±	3	84	±	3	81	±	4	59	±	7	*
	HTKv	80	±	4	83	±	3	85	±	2	71	±	7	#
	NTNKA	82	±	3	81	±	4	82	±	3	54	±	8	*
	HTNKA	83	±	2	88	±	2	83	±	2	63	±	10	*
μHbO ₂ oral [%]	NT	80	±	2	80	±	1	80	±	1	48	±	4	*
	HT	84	±	2	87	±	1	87	±	1	70	±	4	**
	NTKv	83	±	1	82	±	2	83	±	2	51	±	4	*
	HTKv	80	±	2	87	±	2	82	±	2	62	±	4	**§
	NTNKA	82	±	2	83	±	1	80	±	1	46	±	3	*
	HTNKA	81	±	2	83	±	2	78	±	3	54	±	3	**§
DO ₂ [ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹]	NT	13	±	1	12	±	1	13	±	1	7	±	0	*
	HT	14	±	1	12	±	1	12	±	1	8	±	0	*
	NTKv	13	±	1	13	±	1	15	±	1	9	±	1	*
	HTKv	13	±	1	12	±	1	14	±	1	8	±	1	*§
	NTNKA	14	±	2	14	±	1	15	±	1	9	±	1	**
	HTNKA	13	±	1	12	±	1	13	±	1	8	±	0	*
SVR [mmHg·l ⁻¹ ·min]	NT	26	±	2	28	±	2	27	±	2	36	±	2	*
	HT	23	±	2	27	±	2	27	±	2	31	±	2	**
	NTKv	27	±	3	28	±	2	30	±	2	40	±	3	*
	HTKv	25	±	2	28	±	2	29	±	2	37	±	3	*§
	NTNKA	24	±	2	25	±	2	28	±	2	34	±	2	*
	HTNKA	26	±	2	28	±	2	31	±	1	36	±	2	*§
HZV [ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹]	NT	81	±	6	82	±	4	84	±	5	50	±	3	*
	HT	90	±	7	77	±	3	77	±	3	50	±	3	*
	NTKv	84	±	5	86	±	5	97	±	5	55	±	3	*
	HTKv	85	±	7	73	±	5	83	±	5	51	±	3	*
	NTNKA	88	±	7	88	±	6	95	±	5	60	±	3	**

	HTNKA	80	±	6	#§	74	±	3	**	79	±	4	#	51	±	2	*
SV [ml]	NT	22	±	2		22	±	2		22	±	2		13	±	1	*
	HT	24	±	3	#	27	±	3	**	28	±	3	**	16	±	2	**
	NTKv	22	±	3		23	±	2		26	±	2	*	15	±	2	*
	HTKv	23	±	3		27	±	3	**	28	±	3	**	16	±	1	*
	NTNKA	24	±	3		25	±	2		29	±	3	*	17	±	1	*
	HTNKA	22	±	2	#§	27	±	2	**	31	±	2	**§	16	±	0	*
MAD [mmHg]	NT	63	±	2		68	±	3	*	69	±	3	*	54	±	1	*
	HT	61	±	2		62	±	1	#	60	±	1	#	46	±	3	**
	NTKv	66	±	3		71	±	3		89	±	3	*	65	±	2	
	HTKv	63	±	1		61	±	2	#	74	±	4	**§	57	±	2	**§
	NTNKA	63	±	2		67	±	2	*	80	±	1	*	61	±	1	
	HTNKA	63	±	1		64	±	1		76	±	3	*§	55	±	3	**§
HR [min ⁻¹]	NT	116	±	4		117	±	6		117	±	5		116	±	8	
	HT	115	±	4		86	±	5	**	83	±	4	**	95	±	6	**
	NTKv	119	±	7		116	±	6		117	±	7		117	±	7	
	HTKv	116	±	6		83	±	2	**	92	±	3	**§	99	±	6	**
	NTNKA	113	±	2		110	±	3		104	±	6	*	112	±	5	
	HTNKA	115	±	4		86	±	3	**	78	±	3	**	94	±	4	**

Tabelle 1: **Hämodynamische und mikrozirkulatorische Variablen der Versuchsgruppen:** gastrale und orale mukosale Hämoglobinoxygenierung (μHbO_2 , %), systemische Sauerstofftransportkapazität (DO_2 , $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), systemisch vaskulärer Widerstand (SVR, $\text{mmHg} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}$), Herzzeitvolumen (HZV, $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), Schlagvolumen (SV, ml), mittlerer arterieller Blutdruck (MAD, mmHg) und Herzfrequenz (HR, min^{-1}). Die Ergebnisse werden als absolute Werte dargestellt, Mittelwerte \pm SEM ANOVA + FPLSD, $n = 5$, * = $p < 0,05$ versus *baseline* innerhalb einer Versuchsgruppe, # = $p < 0,05$ versus respektiver Kontrollgruppe unter Normothermie (versus NT für HT, versus NTNKA für HTNKA und versus NTKv für HTKv), § = $p < 0,05$ versus HT für HTNKA und HTKv.

Tabelle 2: **Metabolische und respiratorische Variablen**

Variable	Gruppe	Baseline			Hypothermie			Substanzgabe			Hämorrhagie				
		(00:30)			(02:30)			(03:00)			(03:30)				
S_aO_2 [%]	NT	98	±	0	99	±	0	*	99	±	0	98	±	0	*
	HT	99	±	0	99	±	0	**	99	±	0	98	±	0	**
	NTKv	98	±	0	99	±	0		99	±	0	98	±	0	*

	HTKv	98 ± 0		99 ± 0	*#	99 ± 0	*#	98 ± 0	#
	NTNKA	98 ± 0		98 ± 0		98 ± 0		98 ± 0	*
	HTNKA	99 ± 0		99 ± 0	*#	99 ± 0	*#	98 ± 0	*#
P _a CO ₂ [mmHg]	NT	39 ± 1		40 ± 1		41 ± 1	*	45 ± 1	*
	HT	39 ± 1		40 ± 1		40 ± 0		45 ± 1	*
	NTKv	40 ± 1		40 ± 0		39 ± 1		42 ± 1	*
	HTKv	39 ± 1		41 ± 1	*	40 ± 1	#	44 ± 1	*#
	NTNKA	40 ± 1		40 ± 1		39 ± 1		43 ± 1	*
	HTNKA	39 ± 1		40 ± 0		40 ± 1		44 ± 1	*
P _a O ₂ [mmHg]	NT	150 ± 3		158 ± 2	*	156 ± 3	*	147 ± 3	
	HT	156 ± 4	#	153 ± 7		152 ± 6		135 ± 6	*#
	NTKv	151 ± 4		157 ± 3	*	160 ± 2	*#	149 ± 2	
	HTKv	150 ± 4	§	146 ± 4	#§	149 ± 4		134 ± 3	*#§
	NTNKA	150 ± 3		153 ± 2		155 ± 6	*	141 ± 4	*
	HTNKA	157 ± 4	#	157 ± 5		156 ± 4		132 ± 6	*#
pH	NT	7,40 ± 0,01		7,39 ± 0,01		7,40 ± 0,01		7,33 ± 0,01	*
	HT	7,39 ± 0,01		7,37 ± 0,01	*#	7,37 ± 0,01	*#	7,31 ± 0,01	*#
	NTKv	7,39 ± 0,01		7,39 ± 0,01		7,39 ± 0,01		7,35 ± 0,01	*
	HTKv	7,38 ± 0,01	§	7,37 ± 0,01	*#	7,37 ± 0,00	*#	7,32 ± 0,01	*#
	NTNKA	7,39 ± 0,01		7,39 ± 0,01		7,38 ± 0,01	*	7,33 ± 0,01	*
	HTNKA	7,38 ± 0,01		7,37 ± 0,01	*#	7,36 ± 0,01	*#	7,30 ± 0,01	*#
HCO ₃ ⁻ [mmol·l ⁻¹]	NT	23 ± 0		24 ± 0		24 ± 1		23 ± 0	
	HT	23 ± 0		24 ± 0		24 ± 0		23 ± 0	
	NTKv	23 ± 1		23 ± 0		23 ± 0		22 ± 0	
	HTKv	23 ± 0		24 ± 0	*	23 ± 0		23 ± 0	
	NTNKA	23 ± 0		23 ± 0		22 ± 1	*	22 ± 0	*
	HTNKA	23 ± 1		23 ± 0		23 ± 0	#	22 ± 0	
Hb [g*100ml ⁻¹]	NT	11 ± 1		11 ± 1		11 ± 0	*	11 ± 0	*
	HT	11 ± 0	#	11 ± 0	*	11 ± 1	*#	11 ± 0	
	NTKv	11 ± 1		11 ± 1		12 ± 1	*	12 ± 1	
	HTKv	12 ± 0	#§	12 ± 1	*#	12 ± 1	*#§	12 ± 1	*#§
	NTNKA	11 ± 1		11 ± 1		11 ± 1		11 ± 1	
	HTNKA	12 ± 1	§	12 ± 1	*#	12 ± 1	*#§	12 ± 1	*#§

Laktat [mmol * l ⁻¹]	NT	1,1 ± 0,2		1,5 ± 0,3	*	1,5 ± 0,3	*	1,7 ± 0,3	*
	HT	1,0 ± 0,1		0,7 ± 0,1	*#	0,6 ± 0,1	*#	0,7 ± 0,1	*#
	NTKv	1,0 ± 0,2		1,3 ± 0,1	*	1,4 ± 0,2	*	1,3 ± 0,2	*
	HTKv	0,8 ± 0,1		0,7 ± 0,0	#	0,7 ± 0,0	#	0,7 ± 0,0	#
	NTNKA	0,8 ± 0,1		1,1 ± 0,2	*	1,1 ± 0,1	*	1,2 ± 0,1	*
	HTNKA	0,7 ± 0,1		0,8 ± 0,2		0,6 ± 0,2		0,8 ± 0,2	

Tabelle 2: **Metabolische und respiratorische Variablen der Versuchsgruppen:** arterielle Sauerstoffsättigung (S_aO_2 , %), arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck (P_aCO_2 , mmHg), arterieller Sauerstoffpartialdruck (P_aO_2 , mmHg), pH, Bikarbonat (HCO_3^- , mmol * l⁻¹), Hämoglobin (Hb, g * 100 ml⁻¹) und Laktat (mmol * l⁻¹). Die Ergebnisse werden als absolute Werte dargestellt, Mittelwerte ± SEM ANOVA + FPLSD, n = 5, * = p < 0,05 versus *baseline* innerhalb einer Versuchsgruppe, # = p < 0,05 versus respektiver Kontrollgruppe unter Normothermie (versus NT für HT, versus NTNKA für HTNKA und versus NTKv für HTKv), § = p < 0,05 versus HT für HTNKA und HTKv.

4 Diskussion

Die Ergebnisse dieser Versuche ergeben folgende Hauptaussagen:

1. Milde, systemische Hypothermie verbessert die Hämoglobinoxygenierung der oralen Mukosa im hämorrhagischen Schock.
2. Dieser Effekt wird durch Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ aufgehoben.
3. Dieser Effekt ist unabhängig von systemischen Kreislaufveränderungen und wird damit lokal vermittelt.

Hypothermie verbessert die Hämoglobinoxygenierung der gastralen Mukosa im hämorrhagischen Schock. Dieser Effekt kann durch Blockade des sympathischen Nervensystems sowie durch Vasopressin-Blockade aufgehoben werden. Jedoch bleiben die genauen Mechanismen unklar. Der K_v -Kanal sowie die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ werden durch das sympathische Nervensystem stimuliert und die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ zusätzlich durch Vasopressin, sodass dieser Effekt vermutlich entweder durch den K_v -Kanal [27] oder die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ [14] vermittelt werden könnte.

Wie bereits in Voruntersuchungen gezeigt werden konnte, war unter Hypothermie der Abfall der Hämoglobinoxygenierung der gastralen Mukosa im hämorrhagischen Schock geringer ausgeprägt als unter normothermen Bedingungen. Dieser geringere Abfall erlangte in dieser Studie jedoch keine statistische Signifikanz. Dies könnte auf die stärkere Verminderung der mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung unter Hypothermie als unter Normothermie bei einem einzelnen Hund zurückgeführt werden. Dagegen war der Unterschied an der oralen Mukosa im hämorrhagischen Schock unter Hypothermie in dieser Studie erneut signifikant.

Dieser Effekt konnte durch Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ wiederaufgehoben werden. Die Blockade des K_v -Kanals hatte nicht diesen Effekt. Daher scheinen die positiven Effekte der Hypothermie auf die orale μHbO_2 über die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ vermittelt zu werden.

Diese Ergebnisse und die der vorangegangenen Versuche [10, 81] deuten folgenden Signalweg an: Hypothermie aktiviert das sympathische Nervensystem [12] und führt darüber zu einer erhöhten Freisetzung von Vasopressin [13]. Vasopressin stimuliert die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ [14] und verbessert so die lokale Hämoglobinoxygenierung. Auch wenn diese Kette hierdurch nicht kausal belegt werden kann, konnte durch Blockade jedes einzelnen Schritts in der Kette der positive Effekt der Hypothermie wieder aufgehoben werden. Somit haben wir den Weg dargestellt, wie der positive Effekt der Hypothermie auf die orale μHbO_2 im hämorrhagischen Schock bei Hunden vermittelt werden könnte.

Die Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ ist nicht auf den Gastrointestinaltrakt begrenzt, sondern kann auch systemische Effekte aufweisen, z.B. auf die Kontraktilität des Herzens. Daraus resultierende Veränderungen, z.B. des systemischen Sauerstofftransports, können die lokale Oxygenierung beeinflussen. Jedoch war der systemische Sauerstofftransport in allen Hypothermiegruppen gleichermaßen vermindert. Zudem zeigte sich kein Unterschied zwischen anderen systemischen Kreislaufparametern wie Herzzeitvolumen, Schlagvolumen und Herzfrequenz während zusätzlicher Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$. Dies lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass die Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ Effekte insbesondere bei Herzinsuffizienz ausübt und nicht bei gesunden Herzen wie in dieser Studie. Dies deutet darauf hin, dass die Effekte lokal und unabhängig von systemischen Effekten vermittelt werden.

Diese Studie erweitert die Ergebnisse der vorangegangenen Studie, der zufolge die Effekte der Hypothermie durch das sympathische Nervensystem und Vasopressin vermittelt werden [10, 81]. Auf den ersten Blick ist es überraschend, dass das sympathische Nervensystem und Vasopressin die mikrovaskuläre Oxygenierung der Mukosa verbessern, da sie als Vasokonstriktoren

im Gastrointestinaltrakt gelten. Zudem führt Hypothermie ebenfalls zu einer Vasokonstriktion. Trotzdem wurde kürzlich gezeigt, dass Vasopressin auch gegenteilige Effekte wie eine Verbesserung der mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung im Rahmen einer Hyperkapnie bewirken kann [82], möglicherweise über eine Umverteilung des Blutes innerhalb des Gastrointestinaltraktes zugunsten der Mukosa. Unter Hyperkapnie wurde ebenso ein Zusammenhang zwischen dem sympathischen Nervensystem und Vasopressin beobachtet. Eine Verbesserung der mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung durch Hyperkapnie konnte sowohl durch Blockade des sympathischen Nervensystems [83] als auch durch Blockade des Vasopressin-Rezeptors wieder aufgehoben werden [82]. Aus den Ergebnissen lassen sich somit folgende Schlussfolgerungen ableiten: Erstens scheinen das Sauerstoffangebot und die Mikrozirkulation der Mukosa sich von anderen Gewebsschichten des Magendarmtrakts zu unterscheiden und müssen daher separat beurteilt werden. Zweitens steht zu vermuten, dass das sympathische Nervensystem und Vasopressin bei der Verbesserung der mikrovaskulären Hämoglobinoxygenierung unter verschiedenen pathologischen Bedingungen beteiligt sein könnten. Obwohl der Effekt des sympathischen Nervensystems und von Vasopressin auf die Mukosa erst kürzlich beobachtet wurde, war der Mechanismus noch unklar. Somit haben wir einen Weg aufgezeigt, der die beobachteten Effekte auf die Oxygenierung sowie die Verbindung zwischen dem sympathischen Nervensystem und Vasopressin erklären kann. In zukünftigen Studien muss nun untersucht werden, ob auch der Effekt einer Hyperkapnie durch Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase aufgehoben werden kann. Darüber hinaus soll untersucht werden, ob eine selektive Aktivierung der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase im hämorrhagischen Schock die selben Effekte hervorruft wie eine Hypothermie.

Der Test, ob der protektive Effekt der Hypothermie im hämorrhagischen Schock über die $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase oder den K_v -Kanal vermittelt wird, erfolgte mittels spezifischer Hemmung durch G-Strophanthin (Ouabain) [84] beziehungsweise 4-Aminopyridine [85]. Die Dosierung von G-Strophanthin wurde bereits zuvor bei gesunden Hunden benutzt und übte einen suffizienten Effekt auf die $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase aus. Nichtsdestotrotz können wir keine vollständige Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase verifizieren. Darüber hinaus können andere Mechanismen während der

Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ die Oxygenierung beeinflussen. Dies konnte nicht in der Versuchsgruppe beobachtet werden, die G-Strophanthin unter Normothermie erhielten. Aufgrund einer Halbwertszeit von einundzwanzig Stunden beim gesunden Erwachsenen [86] für G-Strophanthin und ein bis zwei Stunden beim gesunden Hund und länger beim gesunden Erwachsenen für 4-Aminopyridine [87], konnte angenommen werden, dass der Effekt der Substanzen während des gesamten Beobachtungszeitraums vorhanden war. Daher ist von einer selektiven und ausreichenden Blockade der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ und der K_v -Kanals auszugehen. Auch wenn der Unterschied zwischen Gruppe HT und HTKv nicht signifikant ist, gibt es nur eine geringe Differenz zwischen der Gruppe HTKv und HTNKA. Dies könnte bedeuten, dass der K_v -Kanal zumindest partiell an den Effekten beteiligt ist. Dies lässt sich anhand der Daten nicht abschließend klären.

Die Versuchsgruppen waren untereinander vergleichbar, da vor Beginn der Interventionen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kreislaufparametern der einzelnen Gruppen vorlagen. Zwischen zwei Interventionen an demselben Tier wurde ein Mindestabstand von drei Wochen eingehalten, um etwaige Auswirkungen des hämorrhagischen Schocks und der Blutretrotransfusion auszuschließen und eine suffiziente Elimination der applizierten Substanzen zu gewährleisten. Die Anzahl der Versuchstiere von $n = 5$ ($n = 30$ Versuche) scheint gering zu sein. Jedoch nahm jeder Hund an allen Versuchsgruppen in randomisierter Reihenfolge teil und diente hiermit als seine eigene Kontrolle. Basierend auf der Annahme, dass eine Reaktion auf einen gegebenen Reiz auf das selbe Versuchstier in wiederholten Versuchen gleich ist, werden interindividuelle Unterschiede reduziert und erlauben eine geringere Anzahl an Versuchstieren.

Die Ergebnisse dieser Studie sind für die klinische Praxis von besonderer Bedeutung, da der Einsatz der therapeutischen Hypothermie auch Nebenwirkungen wie Gerinnungs- und Wundheilungsstörungen [88] aufweisen kann und daher der Einsatz besonders im hämorrhagischen Schock eingeschränkt ist. Da nun der Mechanismus bekannt ist, wie der protektive Effekt der Hypothermie vermittelt wird, könnte dieser gezielt eingesetzt werden. Jedoch sind weitere Studien hierfür notwendig, weil die Ergebnisse bislang nur an gesunden Hunden beobachtet wur-

den und insbesondere Patienten mit koronarer Herzerkrankung und metabolischen Erkrankungen wie Diabetes mellitus, bei denen eine endotheliale Dysfunktion mit einer reduzierten Na^+ - K^+ -ATPase-aktivität [89] vorliegt, abweichende Effekte aufweisen könnten.

Zusammengefasst implizieren diese Ergebnisse, dass die positiven Effekte der Hypothermie über die Na^+ - K^+ -ATPase vermittelt werden. Unsere früheren Ergebnisse deuten daraufhin, dass Hypothermie das sympathische Nervensystem aktiviert und darüber zu einer vermehrten Freisetzung von Vasopressin führt. Zusammengenommen mit dieser Studie scheint also Vasopressin die Na^+ - K^+ -ATPase zu stimulieren, welche eine Vasodilatation induziert und damit die orale Hämoglobinoxygenierung verbessert.

5 Schlussfolgerung

Eine milde Hypothermie verbessert die orale Oxygenierung im hämorrhagischen Schock. Dieser Effekt wird durch Blockade der $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ aufgehoben. Der Effekt der Hypothermie wird somit über die $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ vermittelt.

6 Literatur-und Quellenverzeichnis

1. Shankaran, S., et al., *Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy*. N Engl J Med, 2005. **353**(15): p. 1574-84.
2. Arrich, J., et al., *Hypothermia for neuroprotection in adults after cardiopulmonary resuscitation*. Cochrane Database Syst Rev, 2012. **9**: p. CD004128.
3. Deakin, C.D., et al., *European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2010 Section 4. Adult advanced life support*. Resuscitation, 2010. **81**(10): p. 1305-52.
4. Choi, S., et al., *Mild hypothermia provides significant protection against ischemia/reperfusion injury in livers of obese and lean rats*. Ann Surg, 2005. **241**(3): p. 470-6.
5. Zager, R.A., et al., *Degree and time sequence of hypothermic protection against experimental ischemic acute renal failure*. Circ Res, 1989. **65**(5): p. 1263-9.
6. Stefanutti, G., et al., *Moderate hypothermia as a rescue therapy against intestinal ischemia and reperfusion injury in the rat*. Crit Care Med, 2008. **36**(5): p. 1564-72.
7. Kalia, N., et al., *Effects of hypothermia and rewarming on the mucosal villus microcirculation and survival after rat intestinal ischemia-reperfusion injury*. Ann Surg, 2002. **236**(1): p. 67-74.
8. Wu, X., et al., *Systemic hypothermia, but not regional gut hypothermia, improves survival from prolonged hemorrhagic shock in rats*. J Trauma, 2002. **53**(4): p. 654-62.
9. Wu, X., et al., *Mild hypothermia improves survival after prolonged, traumatic hemorrhagic shock in pigs*. J Trauma, 2005. **59**(2): p. 291-9; discussion 299-301.
10. Vollmer, C., Bauer, I., Swetz, M., Picker, O., *Hypothermia improves gastric mucosal oxygenation during hemorrhagic shock*. European Journal of Anaesthesiology, 2012. **29**(50).
11. Vollmer, C., et al., *Influence of thoracic epidural anesthesia on gastric oxygenation during hypothermia and hemorrhage*. Auton Neurosci, 2016. **195**: p. 1-7.
12. Frank, S.M., et al., *Increased myocardial perfusion and sympathoadrenal activation during mild core hypothermia in awake humans*. Clin Sci (Lond), 2003. **104**(5): p. 503-8.
13. Lipinska, S., S. Forsy, and J. Lipinska, *The post-haemorrhagic vasopressin release into the blood*. J Physiol Pharmacol, 2004. **55**(1 Pt 1): p. 73-83.
14. Feraille, E., et al., *Mechanism of control of Na,K-ATPase in principal cells of the mammalian collecting duct*. Ann N Y Acad Sci, 2003. **986**: p. 570-8.
15. Wrobel, L.J., A. Dupre, and M. Raggenbass, *Excitatory action of vasopressin in the brain of the rat: role of cAMP signaling*. Neuroscience, 2011. **172**: p. 177-86.
16. Skou, J.C., *The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves*. Biochimica et Biophysica acta, 1957. **23**: p. 394-401.
17. Geering, K., et al., *FXYP proteins: new tissue- and isoform-specific regulators of Na,K-ATPase*. Ann N Y Acad Sci, 2003. **986**: p. 388-94.
18. Despa, S., et al., *Phospholemman-phosphorylation mediates the beta-adrenergic effects on Na/K pump function in cardiac myocytes*. Circ Res, 2005. **97**(3): p. 252-9.
19. Floyd, R.V., et al., *Differential cellular expression of FXYP1 (phospholemman) and FXYP2 (gamma subunit of Na, K-ATPase) in normal human tissues: a study using high density human tissue microarrays*. Ann Anat, 2010. **192**(1): p. 7-16.
20. Palmer, C.J., B.T. Scott, and L.R. Jones, *Purification and complete sequence determination of the major plasma membrane substrate for cAMP-dependent protein kinase and protein kinase C in myocardium*. J Biol Chem, 1991. **266**(17): p. 11126-30.
21. Post, R.I., Merrit, C.R., Kinsolving, C.R., Albright, C.D., *Membrane adenosine triphosphatase as a participant in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte*. J. Biol. Chem., 1960. **235**: p. 1796-1802.
22. Fleming, W.W., *The electrogenic Na,K-pump in smooth muscle: physiologic and pharmacologic significance*. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1980. **20**: p. 129-149.
23. Tack, C.J., et al., *Activation of the sodium-potassium pump contributes to insulin-induced vasodilation in humans*. Hypertension, 1996. **28**(3): p. 426-32.
24. Honig, A., et al., *Demonstration of temperature dependence of Na(+)-K+ pump activity of human blood cells*. Am J Physiol, 1994. **266**(6 Pt 3): p. S10-5.
25. Homareda, H., *Properties of silkworm Na+/K+-ATPase*. J Biochem, 2010. **148**(5): p. 623-30.
26. Dilly, K.W., et al., *Overexpression of beta2-adrenergic receptors cAMP-dependent protein kinase phosphorylates and modulates slow delayed rectifier potassium channels expressed in murine heart: evidence for receptor/channel co-localization*. J Biol Chem, 2004. **279**(39): p. 40778-87.

27. Terrenoire, C., et al., *Autonomic control of cardiac action potentials: role of potassium channel kinetics in response to sympathetic stimulation*. *Circ Res*, 2005. **96**(5): p. e25-34.
28. Aiello, E.A., M.P. Walsh, and W.C. Cole, *Phosphorylation by protein kinase A enhances delayed rectifier K⁺ current in rabbit vascular smooth muscle cells*. *Am J Physiol*, 1995. **268**(2 Pt 2): p. H926-34.
29. Ko, E.A., *Physiological roles of K-channels in vascular smooth muscle cells*. *J. Smooth Muscle Res.*, 2008. **44**(2): p. 65-81.
30. Nelson, M.T., Quayle, J.M., *Physiological roles and properties of K-channel in arterial smooth muscle*. *Am J Physiol Cell Physiol*, 1995. **268**: p. C799-C822.
31. Horiuchi, T., Dietrich, H.H., Tsugane, S., Dacey, R.G.Jr., *Role of potassium channels in regulation of brain arteriolar tone: comparison of cerebrum versus brain stem*. *Journal of the American Heart Association Stroke*, 2001. **32**: p. 218-224.
32. Knot, H.J., Nelson, M.T., *Regulation of membrane potential and diameter by voltage-dependent K-channels in rabbit myogenic cerebral arteries*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1995. **269**: p. H348-H355.
33. Ishikawa, T., Hume, J.R., Keef, K.D., *Modulation of K⁺ and Ca²⁺ channels by histamine H1-receptor stimulation on rabbit coronary artery cells*. *Journal of Physiology*, 1993. **468**: p. 379-400.
34. Volk, K.A., Matsuda, J.J., Shibata, E.F., *A voltage-dependent potassium current in rabbit coronary artery smooth muscle cells*. *Journal of Physiology*, 1991. **439**: p. 751-768.
35. Hara, Y., Kitamura, K., Kuriyama, H., *Actions of 4-Aminopyridine on vascular smooth muscle tissue of the guinea-pig*. *Br. J. Pharmac.*, 1980. **68**: p. 99-106.
36. Smirnov, S.V., Beck, R., Tammaro, P., Ishii, T., Aaronson, P.I., *Electrophysiologically distinct smooth muscle cell subtypes in rat conduit and resistance pulmonary arteries*. *The Journal of Physiology*, 2002. **538**(3).
37. Yuan, X.J., *Voltage-gated K⁺ currents regulate resting membrane potential and [Ca²⁺]_i in pulmonary arterial myocytes*. *Circ Res*, 1995. **77**(2): p. 370-8.
38. Barman, S.A., *Potassium channels modulate hypoxic pulmonary vasoconstriction*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 1998. **275**.
39. Gelband, C.H. and J.R. Hume, *[Ca²⁺]_i inhibition of K⁺ channels in canine renal artery. Novel mechanism for agonist-induced membrane depolarization*. *Circ Res*, 1995. **77**(1): p. 121-30.
40. Smirnov, S.V., Aaronson, P.I., *Ca²⁺-activated and voltage-gated K⁺ currents in smooth muscle cells isolated from human mesenteric arteries*. *Journal of Physiology*, 1992. **457**: p. 431-454.
41. Smirnov, S.V., Zholos, A.V., Shuba, M.F., *A potential-dependent fast outward current in single smooth muscle cells isolated from the newborn rat ileum*. *Journal of Physiology*, 1991. **454**: p. 573-589.
42. Russell, D.H., et al., *Hemorrhagic shock increases gut macromolecular permeability in the rat*. *Shock*, 1995. **4**(1): p. 50-5.
43. Fink, M.P., *Intestinal epithelial hyperpermeability: update on the pathogenesis of gut mucosal barrier dysfunction in critical illness*. *Curr Opin Crit Care*, 2003. **9**(2): p. 143-51.
44. Kong, S.E., et al., *Ischaemia-reperfusion injury to the intestine*. *Aust N Z J Surg*, 1998. **68**(8): p. 554-61.
45. Ceppa, E.P., K.C. Fuh, and G.B. Bulkley, *Mesenteric hemodynamic response to circulatory shock*. *Curr Opin Crit Care*, 2003. **9**(2): p. 127-32.
46. Swank, G.M. and E.A. Deitch, *Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes*. *World J Surg*, 1996. **20**(4): p. 411-7.
47. Yamamoto, S., et al., *The role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in ischemia-reperfusion injury of the rat small intestine*. *J Surg Res*, 2001. **99**(1): p. 134-41.
48. Mallick, I.H., et al., *Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury*. *Dig Dis Sci*, 2004. **49**(9): p. 1359-77.
49. Van Leeuwen, P.A., et al., *Clinical significance of translocation*. *Gut*, 1994. **35**(1 Suppl): p. S28-34.
50. Moore, E.E., et al., *The postischemic gut serves as a priming bed for circulating neutrophils that provoke multiple organ failure*. *J Trauma*, 1994. **37**(6): p. 881-7.
51. Moore, F.A., *The role of the gastrointestinal tract in postinjury multiple organ failure*. *Am J Surg*, 1999. **178**(6): p. 449-53.
52. Molmenti, E.P., T. Ziambaras, and D.H. Perlmutter, *Evidence for an acute phase response in human intestinal epithelial cells*. *J Biol Chem*, 1993. **268**(19): p. 14116-24.
53. Wang, Q., et al., *Endotoxemia in mice stimulates production of complement C3 and serum amyloid A in mucosa of small intestine*. *Am J Physiol*, 1998. **275**(5 Pt 2): p. R1584-92.

54. Mester, M., et al., *Intestinal production of interleukin-1 alpha during endotoxemia in the mouse*. J Surg Res, 1993. **54**(6): p. 584-91.
55. Horton, J.W. and D.J. White, *Lipid peroxidation contributes to cardiac deficits after ischemia and reperfusion of the small bowel*. Am J Physiol, 1993. **264**(5 Pt 2): p. H1686-92.
56. Kapoor, R., J. Kalra, and K. Prasad, *Cardiac depression and cellular injury in hemorrhagic shock and reinfusion: role of free radicals*. Mol Cell Biochem, 1997. **176**(1-2): p. 291-301.
57. Suzuki, T., et al., *Sepsis-induced cardiac dysfunction and beta-adrenergic blockade therapy for sepsis*. J Intensive Care, 2017. **5**: p. 22.
58. Deitch, E.A., *Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy*. Ann Surg, 1992. **216**(2): p. 117-34.
59. Marshall, J.C., *The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses*. Can J Physiol Pharmacol, 1998. **76**(5): p. 479-84.
60. Sinaasappel, M., van Iterson, M., Ince, C., *Microvascular oxygen pressure in the pig intestine during haemorrhagic shock and resuscitation*. Journal of Physiology, 1999. **514**(1): p. 245-253.
61. Kerger, H., et al., *Systemic and subcutaneous microvascular Po₂ dissociation during 4-h hemorrhagic shock in conscious hamsters*. Am J Physiol, 1996. **270**(3 Pt 2): p. H827-36.
62. Price, H.L., et al., *Hemodynamic and metabolic effects of hemorrhage in man, with particular reference to the splanchnic circulation*. Circ Res, 1966. **18**(5): p. 469-74.
63. Vollmer, C., *Einfluss der intravenösen Kohlenmonoxidapplikation auf die mikrovaskuläre Hämoglobinoxxygenierung der Magenschleimhaut unter physiologischen und unter hämorrhagischen Kreislaufbedingungen - eine Studie an anästhesierten Hunden*, 2011, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
64. Atasever, B., et al., *Cardiac displacement during off-pump coronary artery bypass grafting surgery: effect on sublingual microcirculation and cerebral oxygenation*. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2011. **13**(6): p. 573-7.
65. Ward, K.R., et al., *Resonance Raman spectroscopy: a new technology for tissue oxygenation monitoring*. Crit Care Med, 2006. **34**(3): p. 792-9.
66. van Leersum, E.C., *Eine Methode zur Erleichterung der Blutdruckmessung bei Tieren*. p. 377-395.
67. von Spiegel, T., et al., *[Cardiac output determination with transpulmonary thermodilution. An alternative to pulmonary catheterization?]*. Anaesthesist, 1996. **45**(11): p. 1045-50.
68. McLuckie, A., et al., *A comparison of pulmonary and femoral artery thermodilution cardiac indices in paediatric intensive care patients*. Acta Paediatr, 1996. **85**(3): p. 336-8.
69. Zollner, C., et al., *[Retrospective analysis of transpulmonary and pulmonary arterial measurement of cardiac output in ARDS patients]*. Anaesthesist, 1998. **47**(11): p. 912-7.
70. Sakka, S.G., K. Reinhart, and A. Meier-Hellmann, *Comparison of pulmonary artery and arterial thermodilution cardiac output in critically ill patients*. Intensive Care Med, 1999. **25**(8): p. 843-6.
71. Segal, E., et al., *Transpulmonary thermodilution cardiac output measurement using the axillary artery in critically ill patients*. J Clin Anesth, 2002. **14**(3): p. 210-3.
72. Rossing, R.G. and S.M. Cain, *A nomogram relating pO₂, pH, temperature, and hemoglobin saturation in the dog*. J Appl Physiol, 1966. **21**(1): p. 195-201.
73. Krug, A., *Microcirculation and oxygen supply of tissue: method of so-called O₂C [Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes - Methode des sogenannten O₂C (oxygen to see)]*. Phlebologie, 2007. **36**: p. 300-312.
74. Fournell, A., et al., *Assessment of microvascular oxygen saturation in gastric mucosa in volunteers breathing continuous positive airway pressure*. Crit Care Med, 2003. **31**(6): p. 1705-10.
75. Sato, N., et al., *Hemodynamics of the gastric mucosa and gastric ulceration in rats and in patients with gastric ulcer*. Dig Dis Sci, 1986. **31**(2 Suppl): p. 35S-41S.
76. Mythen, M.G., et al., *Postoperative multiple organ dysfunction syndrome associated with gut mucosal hypoperfusion, increased neutrophil degranulation and C1-esterase inhibitor depletion*. Br J Anaesth, 1993. **71**(6): p. 858-63.
77. Hammel, H.T., C.H. Wyndham, and J.D. Hardy, *Heat production and heat loss in the dog at 8-36 degrees C environmental temperature*. Am J Physiol, 1958. **194**(1): p. 99-108.
78. Dyson, D.H., *Positive pressure ventilation during anesthesia in dogs: Assessment of surface area derived tidal volume*. Can Vet J, 2012. **53**(1): p. 63-6.
79. Kazama, T. and K. Ikeda, *Comparison of MAC and the rate of rise of alveolar concentration of sevoflurane with halothane and isoflurane in the dog*. Anesthesiology, 1988. **68**(3): p. 435-7.

80. Schwartges, I., et al., *Hypercapnia induces a concentration-dependent increase in gastric mucosal oxygenation in dogs*. Intensive Care Med, 2008. **34**(10): p. 1898-906.
81. Vollmer, C., et al., *The sympathetic nervous system mediates protective effects of hypothermia on gastric mucosal oxygenation during haemorrhagic shock: 4AP8-11*. European Journal of Anaesthesiology (EJA), 2013. **30**: p. 80-80.
82. Vollmer, C., et al., *Vasopressin V(1A) receptors mediate the increase in gastric mucosal oxygenation during hypercapnia*. J Endocrinol, 2013. **217**(1): p. 59-67.
83. Schwartges, I., Schwarte, L., Beck, C., et al., *Sympathetic nervous system mediates hypercapnic effects on gastric mucosal oxygenation in anesthetised dogs*. European Journal of Anaesthesiology, 2010. **27**(47): p. 77.
84. Schatzmann, H.J., *[Cardiac glycosides as inhibitors of active potassium and sodium transport by erythrocyte membrane]*. Helv Physiol Pharmacol Acta, 1953. **11**(4): p. 346-54.
85. Cox, R.H., *Molecular determinants of voltage-gated potassium currents in vascular smooth muscle*. Cell Biochemistry and Biophysics, 2005. **42**.
86. Remington, J.P. and A. Osol, *Remington's Pharmaceutical sciences*. 16 ed. 1980: Mack Publishing Co.
87. European Medicines Agency (EMA), C.f.M.P.f.H.U.C., *European Public Assessment Report (EPAR): Fampridone (Fampridine)*, 2011. p. 13.
88. Klein, H., H., *Therapeutische Hypothermie nach Reanimation - Was haben wir erreicht?* Der Kardiologe, 2014(8): p. 472-476.
89. Vague, P., Coste, T.C., Jannot, M.F., Raccach, D., Tsimaratos, M., *C-peptide, Na⁺,K⁺-ATPase, and diabetes*. Experimental Diab. Res., 2004. **5**: p. 37-50.

Danksagung

Ich bedanke mich bei Herrn Professor Dr. med. Olaf Picker, bei Dr. med. Christian Vollmer und bei Birgitt Berke für die Beratung und Unterstützung während der Planung, Durchführung und Auswertung der Studie.