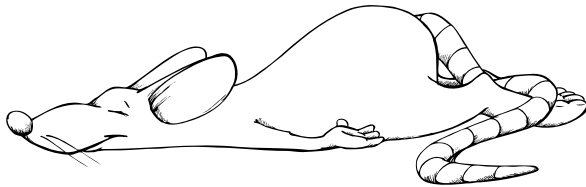


## **Maike Anika Albrecht**

---

Telemetrische Untersuchungen bei der Ratte  
zur Inhalationsanästhesie mit Isofluran, zur  
Injektionsanästhesie mit Ketamin-Xylazin und  
zur vollständig antagonisierbaren Anästhesie  
mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl



Inauguraldissertation zur Erlangung des Grades eines  
**Dr. med. vet.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

**Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei den Autoren dieses Werkes.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2015

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1<sup>st</sup> Edition 2015

© 2015 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin  
Klinik für Kleintiere – Chirurgie  
Justus-Liebig-Universität Gießen  
Betreuerin: Prof. Dr. Sabine Tacke

**und**

Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG  
Betreuerin: PD Dr. Julia Henke

**Telemetrische Untersuchungen bei der Ratte zur  
Inhalationsanästhesie mit Isofluran, zur Injektionsanästhesie  
mit Ketamin-Xylazin und zur vollständig antagonisierbaren  
Anästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Maika Anika Albrecht**

Tierärztin aus Biberach an der Riß

Gießen 2015

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Dekan:** Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer

**1. Gutachter:** Prof. Dr. Sabine Tacke

**2. Gutachter:** PD Dr. Julia Henke

**Prüfer:** Prof. Dr. Martin Diener

Tag der Disputation: 9. Juni 2015



Meinem Vater in Dankbarkeit gewidmet

Hans Gorcica (1950 – 2010)



# Inhaltsverzeichnis

## Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG UND ZIELE .....	1
2. LITERATURSTUDIE.....	3
2.1 Anästhesie bei der Ratte .....	3
2.1.1 Problematik der Rattenanästhesie.....	3
2.1.2 Anästhesiemöglichkeiten bei der Ratte .....	4
2.1.2.1 Injektionsanästhesie.....	4
2.1.2.2 Inhalationsanästhesie .....	5
2.1.3 Anästhesierelevante physiologische Parameter bei der Ratte .....	5
2.2. Injektionsanästhetika und Antagonisten.....	7
2.2.1 N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor-Agonisten.....	7
2.2.1.1. Ketamin .....	7
2.2.2 $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten und -Antagonisten.....	9
2.2.2.1 Xylazin .....	9
2.2.2.2 Medetomidin .....	12
2.2.2.3 Atipamezol .....	14
2.2.3 Benzodiazepine und Benzodiazepin-Antagonisten .....	16
2.2.3.1 Midazolam.....	16
2.2.3.2 Flumazenil .....	19
2.2.4 Opioide und Opioidantagonisten.....	22
2.2.4.1 Fentanyl.....	22
2.2.4.2 Naloxon .....	26
2.3 Inhalationsanästhetikum.....	29
2.3.1 Isofluran.....	29
2.4 Telemetrische Datenerfassung .....	33
2.4.1 Definition Telemetrie .....	33
2.4.2 Telemetriesysteme für kleine Versuchstiere.....	34
2.4.3 Erfasste Parameter .....	38
2.4.3.1 Blutdruck .....	38
2.4.3.2 Herzfrequenz .....	39
2.4.3.3 Körpertemperatur .....	40
2.4.4 Datenverarbeitung von telemetrischen Messungen.....	40
2.4.5 Telemetrische Datenerfassung zu Anästhesieuntersuchungen .....	42
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	47
3.1 Effects of isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl on physiological variables continuously measured by telemetry in Wistar rats.....	47

## Inhaltsverzeichnis

3.2 Influence of repeated anaesthesia on physiological parameters in male Wistar rats: a telemetric study about isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl.....	62
4. ERWEITERTE DISKUSSION .....	78
4.1 Telemetriesysteme zur Erfassung physiologischer Parameter .....	78
4.2 Erweiterte Diskussion zu „Effects of isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl on physiological variables continuously measured by telemetry in rats“ .....	80
4.3 Erweiterte Diskussion zu „Influence of repeated anaesthesia on physiological parameters in male Wistar rats: a telemetric study about isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl“.....	83
4.4 Unvorhergesehene Beobachtungen zur Ketamin-Xylazin-Anästhesie.....	86
4.5 Schlussfolgerung .....	87
5. ZUSAMMENFASSUNG.....	88
6. SUMMARY .....	90
7. LITERATURVERZEICHNIS.....	92
8. TABELLENVERZEICHNIS .....	124
9. ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	125
10. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	126
11. DANKSAGUNG.....	127

### 1. EINLEITUNG UND ZIELE

Neben zunehmender Beliebtheit als Haustier in der Heimtierhaltung gehört die Ratte, ebenso wie die Maus, zu einer der am häufigsten verwendeten Versuchstierspezies. Das Einsatzgebiet der unterschiedlichen Rattenstämme im tierexperimentellen Bereich ist sehr vielfältig. Verwendung finden die verschiedenen Rattenmodelle zum Beispiel in Studien zu Herz-Kreislauf-Erkrankungen, zu Stoffwechselkrankheiten, zu neurologischen Störungen bzw. degenerativen Erkrankungen, zu Verhaltensstörungen, zu Organ-Transplantationen und zu Autoimmunkrankheiten. Des Weiteren werden ein großer Teil der Krebsforschung und der toxikologischen Studien am Rattenmodell durchgeführt (Hedrich 2000, Grieder und Strandberg 2003).

Die Rattenanästhesie findet daher nicht nur in der kurativen Praxis zu diagnostischen und therapeutischen Zwecken Verwendung, sondern auch in der Versuchstierkunde. Nicht selten werden die verschiedenen tierexperimentellen Versuche an der anästhesierten Ratte durchgeführt. Von wesentlicher Bedeutung sind dabei die Kenntnisse über die Einflüsse der verschiedenen Anästhetika auf die Physiologie der Tiere, da zur Versuchsdurchführung eine Anästhesie gewählt werden sollte, die den geringsten Einfluss auf das Tier und die Studienergebnisse hat (Waynforth und Flecknell 1992).

Neben Isofluran und Sevofluran als Mittel der Wahl zur Inhalationsanästhesie, kommen in der Veterinärmedizin häufig Injektionsanästhetika zum Einsatz. Die Kombination von Ketamin mit  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten (Xylazin, Medetomidin) oder Fentanyl kombiniert mit Fluanison (Hypnorm<sup>®</sup>) aber auch die vollständig antagonistisierbare Anästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl zählen zu den gängigen Injektionsanästhesien bei der Ratte (Waynforth und Flecknell 1992, Mason 1997, Flecknell 2009a, Henke und Erhardt 2012b).

Der Einfluss einiger dieser Anästhesieregime auf verschiedene physiologische Parameter der Ratte wurde bereits in vorherigen Studien untersucht, allerdings wurden dabei die Daten nie mithilfe von voll-implantierbaren Telemetriesystemen erfasst. Ein großer Vorteil dieser Telemetriesysteme ist die für das Tier stressfreie Erhebung von Werten, die nicht durch die Messmethode beeinflusst werden und die Möglichkeit der kontinuierliche Datenerfassung von Herz-Kreislauf-Parametern und der Körperkerntemperatur nicht nur während, sondern auch im Zeitraum vor und nach der Anästhesie. Selbst geringe Einflüsse der Anästhetika auf diese Parameter können aufgrund der individuell erhobenen Ruhewerte sehr leicht identifiziert werden und durch die kontinuierliche Messung werden auch kurzzeitige Veränderungen sicher erfasst. Nach dem heutigen Stand der Wissenschaft ist die telemetrische Messung die Methode der Wahl zur Erfassung von Herz-Kreislauf-Parametern und der Körperkerntemperatur, da sie für das Tier die stressärmste und somit einflussärmste Messmethode darstellt (Kramer und Kinter 2003, Braga und Burmeister 2011).

## **Einleitung und Ziele**

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die kontinuierliche Untersuchung von Herz-Kreislauf-Parametern und der Körperkerntemperatur bei der Ratte während einer Inhalationsanästhesie mit Isofluran, einer intramuskulär applizierten Kombinationsanästhesie mit Ketamin und Xylazin und einer Injektionsanästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl (i.m.), die vollständig antagonisiert wird mit Atipamezol, Flumazenil und Naloxon (s.c.). In einer weiteren Versuchsreihe sollte an diesen drei Anästhesiemethoden untersucht werden, ob sich bei wiederholter Durchführung der jeweiligen Anästhesiemethode (sechs Anästhesien in einem Zeitraum von drei Wochen) der Einfluss der Anästhetika auf die gemessenen Parameter mit zunehmender Anzahl durchgeführter Anästhesien verändert. Zusätzlich wurde der Einfluss der wiederholten Anästhesien auf das Körpergewicht und auf die Dauer der verschiedenen Anästhesiestadien untersucht.

Im Hinblick auf tierexperimentelle Studien oder tiermedizinisch indizierte Eingriffe in der kurativen Praxis, die eine oder mehrere Anästhesien erfordern, könnten die Ergebnisse dieser Arbeit bei der Suche nach der am besten geeigneten Anästhesiemethode bei der Ratte als Leitfaden dienlich sein.

## 2. LITERATURSTUDIE

### 2.1 Anästhesie bei der Ratte

Vom äußeren Erscheinungsbild her stellen die Nager eine sehr homogen wirkende Gruppe dar, jedoch unterscheiden sie sich erheblich in ihren Ansprüchen an eine Anästhesie (Henke und Erhardt 2012b). Bekannt ist, dass die Reaktion auf eine Anästhesiemethode abhängig von Alter und Geschlecht des Tieres ist (Waynforth und Flecknell 1992, Sharp und La Regina 1998b, Shibutani 2000). Zunehmend wird festgestellt, dass sogar verschiedene Rattenstämme unterschiedlich auf ein und dasselbe Anästhetikum reagieren (Waynforth und Flecknell 1992, Sharp und La Regina 1998b, Avsaroglu et al. 2007, Flecknell 2009a). Gründe, warum bei einer Ratte eine Anästhesie durchgeführt werden muss, gibt es nicht nur in der kurativen Praxis, sondern vor allem auch im tierexperimentellen Bereich, da die Ratte zu einer der am häufigsten verwendeten Versuchstierspezies gehört (Hedrich 2000). Eine Anästhesie wird zur Bewusstseinsausschaltung, Immobilisierung und Muskelrelaxation bei Versuchsdurchführungen, zu diagnostischen Zwecken und zur Stressminderung eingesetzt. Zu einem großen Teil dient sie außerdem dazu, die Schmerzen zu reduzieren (Waynforth und Flecknell 1992, Shibutani 2000).

#### 2.1.1 Problematik der Rattenanästhesie

Ratten haben im Verhältnis zu ihrem Körpergewicht eine relativ große Körperoberfläche, über die sie schnell Wärme verlieren können (Waynforth und Flecknell 1992, Flecknell 2009b, Erhardt und Henke 2012). Am meisten Körperwärme wird über den Schwanz, die Ohren und die Pfoten abgegeben. Der Rattenschwanz selbst spielt in der Thermoregulation der Ratte eine wesentliche Rolle (Sharp und La Regina 1998a). Der Verlust von Körperwärme und eine sich daraufhin entwickelnde Hypothermie, unter anderem bedingt durch Kreislaufdepression und eine nicht adäquat funktionierende Thermoregulation während der Anästhesie, stellen ein großes Problem in der Rattenanästhesie dar (Flecknell 2009b, Henke und Erhardt 2012b). Die Hypothermie zählt zu den häufigsten Todesursachen während einer Anästhesie und vor allem während der Aufwachphase (Waynforth und Flecknell 1992). Zudem haben Ratten eine relativ hohe Stoffwechselrate und die Tiere verfügen oft nur über wenige Fettreserven, so dass während einer Anästhesie die Gefahr einer Stoffwechselentgleisung droht (Erhardt und Baumgartner 2012, Henke und Erhardt 2012b). Eine Injektionsanästhesie erfolgt bei der Ratte oft per intramuskulärer oder intraperitonealer Injektion (Waynforth und Flecknell 1992). Da bei Heim- bzw. kleinen Labortieren in der Regel keine leicht zugänglichen Venen zur Verfügung stehen, ist ein venöser Zugang auch bei der Ratte nur schwer und mit entsprechenden Zwangsmaßnahmen möglich, die sich wiederum negativ auf die Einleitungsphase der Anästhesie auswirken können (Erhardt et al. 2012a). Daher erfordert das Injektionsanästhetikum für eine intramuskuläre, subkutane

## Literaturstudie

oder intraperitoneale Injektion eine große Sicherheitsspanne, da nicht, wie bei einer intravenösen Applikation, nach Wirkung appliziert werden kann, sondern nur als Bolus, der zuvor nach Körpergewicht berechnet wurde (Waynforth und Flecknell 1992, Flecknell 2009a).

### **2.1.2 Anästhesiemöglichkeiten bei der Ratte**

Bei der Ratte stehen verschiedene Anästhesiemöglichkeiten zur Auswahl. Sowohl eine Injektionsanästhesie, als auch eine Inhalationsanästhesie oder auch eine Kombination aus beiden ist bei der Ratte praktikabel. Nichtsdestotrotz ist die Wahl der Anästhesiemethode abhängig von den örtlichen Gegebenheiten und dem Anlass der Anästhesie (chirurgischer Eingriff, bildgebende Diagnostik, Probengewinnung, etc.) (Waynforth und Flecknell 1992, Henke und Erhardt 2012b).

#### **2.1.2.1 Injektionsanästhesie**

Injektionsanästhetika werden üblicherweise intraperitoneal und intramuskulär appliziert. Eine intravenöse oder subkutane Injektion von Anästhetika ist jedoch auch möglich (Waynforth und Flecknell 1992, Henke und Erhardt 2012b). Die intraperitoneale Injektion ist die gängigste Methode zur Applikation von Injektionsanästhetika (Waynforth und Flecknell 1992). Der Vorteil ist, dass größere Volumina auf einmal verabreicht werden können (Waynforth und Flecknell 1992). Bei dieser Methode besteht jedoch die Möglichkeit einer Fehlapplikation in das subkutane Fettgewebe, die Milz, die Leber oder auch in Hohlorgane, wie den Gastrointestinaltrakt und die Harnblase (Waynforth und Flecknell 1992, Coria-Avila et al. 2007, Henke und Erhardt 2012b). Meijer und Kollegen (2006) behaupten in ihrer Arbeit, dass die intraperitoneale Injektion bei Mäusen im Vergleich zu einer intramuskulären Injektion zu einer stärkeren Stressantwort führt. Die intramuskuläre Applikation hat den Vorteil einer zuverlässigen Absorption, jedoch sind nur kleine Injektionsvolumina zulässig und reizende Substanzen können zu Schäden im Muskelgewebe führen (Smiler et al. 1990, Waynforth und Flecknell 1992, Henke und Erhardt 2012b). Intravenös kann bei der Ratte in den Venenwinkel oder auch in die Schwanzvenen appliziert werden. Die Applikation in den Venenwinkel kann nur unter tiefer Sedation bzw. während einer Anästhesie erfolgen und erfordert genaue Kenntnisse und Erfahrung. Besonders während eines Anästhesiezwischenfalls dient der Venenwinkel als Notfallapplikationsstelle (Waynforth und Flecknell 1992, Henke und Erhardt 2012b). Bei einigen Injektionsanästhetika sind die zu verabreichenden Injektionsvolumina so gering, dass sie mit Kochsalzlösung oder mit Wasser für Injektionszwecke verdünnt werden müssen (Flecknell 2009a). Andererseits ist es auch möglich, dass das Injektionsvolumen (z.B. einer Kombinationsanästhesie) das empfohlene Applikationsvolumen überschreitet und die Injektion auf zwei oder mehr Applikationen verteilt werden sollte, insbesondere dann, wenn die Anästhetika intramuskulär verabreicht werden (Henke und Erhardt 2012b).



## Literaturstudie

Als Injektionsanästhesie für die Ratte werden sowohl Ketamin-Kombinationen mit  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten, wie Xylazin und Medetomidin empfohlen, als auch die vollständig antagonistisierbare Anästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl, deren Wirkung sich durch die subkutane Applikation der Antagonisten Atipamezol, Flumazenil und Naloxon vollständig aufheben lässt (Green et al. 1981, Flecknell 2009a, Henke und Erhardt 2012b). Im englischsprachigen Raum wird häufig die dort kommerziell erhältliche Kombination aus dem Opioid Fentanyl und dem Butyrophenon Fluanison eingesetzt (Hypnorm<sup>®</sup>). Sie stellt eine sogenannte Neuroleptanalgesie dar (Erhardt und Baumgartner 2012). In Kombination mit einem Benzodiazepin lässt sich eine gute, chirurgisch belastbare Anästhesie produzieren (Waynforth und Flecknell 1992, Shibutani 2000, Flecknell 2009a).

### *2.1.2.2 Inhalationsanästhesie*

Die Inhalationsanästhesie ist, unter Verwendung einer transparenten Ganzkörperkammer, für eine Ratte die vermutlich stressärmste Methode, um eine Anästhesie einzuleiten (Flecknell 2009a). Die Einleitung mit einer Kopf- oder Nasenkammer stellt für die Tiere eine nicht zu tolerierende Stresssituation dar und sollte nur zur Erhaltung der Anästhesie eingesetzt werden (Henke und Erhardt 2012b). Nach dem derzeitigen Stand der Technik werden üblicherweise Anästhesiegeräte mit Präzisionsverdampfern verwendet, anstelle von in Inhalationsanästhetika getränkten Wattetupfern. Einerseits lässt sich die Anästhesie mit getränkten Wattetupfern sehr schlecht steuern und andererseits entspricht deren Verwendung nicht mehr den heutigen Sicherheitsstandards (Waynforth und Flecknell 1992, Flecknell 2009). Unter Verwendung eines Anästhesiegerätes mit Präzisionsverdampfer ist die Inhalationsanästhesie hingegen sehr gut steuerbar (Gaertner et al. 2008, Erhardt et al. 2012c). Da Inhalationsanästhesien bei Ratten meistens mit offenen und halboffenen Systemen gefahren werden, sollte ein Inhalationsanästhetikum verwendet werden, welches sowohl eine zufriedenstellende Anästhesie beim Tier erzeugt, als auch ein geringes Gesundheitsrisiko für den Menschen darstellt (Mason 1997). Als Mittel der Wahl sind hier Isofluran und Sevofluran für die Inhalationsanästhesie bei der Ratte zu nennen (Mason 1997, Gaertner et al. 2008, Henke und Erhardt 2012b). Vor allem bei Isofluran ist die geringe Metabolisierungsrate ein wesentlicher Vorteil (Gaertner et al. 2008, Erhardt et al. 2012c). Da Leber- und Nierenfunktionen deswegen nur gering beeinflusst werden, eignet sich die Inhalationsanästhesie sehr gut für Tiere mit eingeschränkter Leber- und Nierenfunktion oder auch für tierexperimentelle Studien, in denen die Funktionstüchtigkeit dieser beiden Organsysteme ausschlaggebend für die Studienergebnisse ist (Shibutani 2000).

### **2.1.3 Anästhesierelevante physiologische Parameter bei der Ratte**

Die in der Literatur zu findenden Referenzwerte für bestimmte physiologische Parameter bei der Ratte variieren zum Teil sehr deutlich. Ursächlich hierfür ist meistens die Verwendung verschiedener

## Literaturstudie

Messmethoden, die die gemessenen Parameter unterschiedlich stark beeinflussen. In der folgenden Tabelle sind die in der Literatur angegebenen anästhesierelevanten Parameter vergleichend dargestellt:

*Tab. 1: Referenzwerte für physiologische Parameter bei der Ratte*

<b>Parameter</b>	<b>Einheit</b>	<b>Wachwert</b>	<b>Literaturquelle</b>
Körperkerntemperatur	°C	37,5	(Baker et al. 1979)
		38,1	(Waynforth und Flecknell 1992)
		37,7	(Bauck und Bihun 1997)
		35,9-37,5	(Sharp und La Regina 1998a)
		37,7-37,9	(Perantoni 2000)
Herzfrequenz	min <sup>-1</sup>	330-480	(Baker et al. 1979)
		328	(Waynforth und Flecknell 1992)
		313-493	(Bauck und Bihun 1997)
		250-450	(Sharp und La Regina 1998a)
		296-388	(d'Uscio et al. 2000)
Systolischer Blutdruck	mmHg	88-184	(Baker et al. 1979)
		116-180	(Waynforth und Flecknell 1992)
		88-184 (116)	(Sharp und La Regina 1998a)
		116-145	(d'Uscio et al. 2000)
		Diastolischer Blutdruck	mmHg
90	(Waynforth und Flecknell 1992)		
58-145 (90)	(Sharp und La Regina 1998a)		
76-97	(d'Uscio et al. 2000)		
Mittlerer arterieller Blutdruck	mmHg		
		110-116	(Mantel 1999)
		107-116	(Perantoni 2000)
Blutdruckamplitude	mmHg	16-22	(d'Uscio et al. 2000)
Atemfrequenz	min <sup>-1</sup>	66-114	(Baker et al. 1979)
		97	(Waynforth und Flecknell 1992)
		71-146	(Bauck und Bihun 1997)
		70-115	(Sharp und La Regina 1998a)
		30-130	(Schulz und Muhle 2000)

## Literaturstudie

pO <sub>2</sub>	mmHg	93,2	(Sharp und La Regina 1998a)
		78,6-82,4	(Perantoni 2000)
pCO <sub>2</sub>	mmHg	40	(Baker et al. 1979)
		39,9	(Sharp und La Regina 1998a)
		29,7-33,9	(Perantoni 2000)

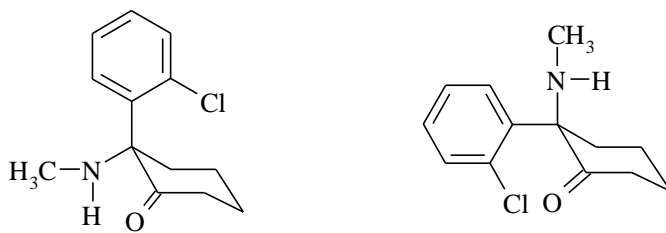
## 2.2. Injektionsanästhetika und Antagonisten

### 2.2.1 N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor-Agonisten

#### 2.2.1.1. Ketamin

Das Ketamin ist ein sogenanntes dissoziatives Anästhetikum (Larsen 2006b, Meyer und Fish 2008, Erhardt et al. 2012c). Anders als andere Anästhetika vermittelt Ketamin neben der Dämpfung des Bewusstseins und der Schmerzwahrnehmung auch erregende Komponenten, die zum Beispiel zu Katalapsie und Krämpfen führen können (Kohrs und Durieux 1998, Ebert et al. 2002). Die Aufwachphase kann langanhaltend und mit halluzinierendem Verhalten oder Stimmungsänderungen verbunden sein (Wright 1982, Flecknell 2009).

#### Chemische Struktur



S,(+)-Ketamin-Hydrochlorid      R,(-)-Ketamin-Hydrochlorid

Abb. 1: Strukturformel von S- und R-Ketamin nach Schulte am Esch und Kollegen (2000b)

Ketamin ist ein Kongener zu Phencyclidin und gehört zur Gruppe der Cyclohexanone (Larsen 2006b, Meyer und Fish 2008, Erhardt et al. 2012c). In den meisten Präparaten liegt das Ketamin als Racemat vor und enthält die beiden Enantiomere (S)- und (R)-Ketamin (Kohrs und Durieux 1998). In der Zwischenzeit steht das stärker wirksame (S)-Ketamin auch als Reinsubstanz zur Verfügung, jedoch nur als in der Humanmedizin zugelassenes Präparat (Larsen 2006b, Erhardt et al. 2012c). Die meisten

## Literaturstudie

handelsüblichen Präparate haben einen sehr sauren pH-Wert (3,5-5,5), sodass es zu Gewebereizungen und Schmerzäußerungen besonders während der intramuskulären Applikation kommen kann (Smiler et al. 1990, Meyer und Fish 2008, Erhardt et al. 2012c).

### Wirkungsmechanismus

Die zentrale Angriffsstelle des Ketamins ist die Phencyclidin-Bindungsstelle des N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptors (kurz NMDA-Rezeptor), ein Subtyp des Glutamat-Rezeptors. Hier bewirkt das Ketamin eine nichtkompetitive Hemmung des exzitatorischen Neurotransmitters Glutamat (Kohrs und Durieux 1998, Larsen 2006b, Meyer und Fish 2008). Dadurch wird der Transport von Natrium-, Kalium- und Calcium-Ionen verhindert (Ebert et al. 2002, Meyer und Fish 2008). Des Weiteren weist Ketamin Interaktionen mit verschiedenen Opioid-Rezeptoren auf und hemmt den zentralen Katecholamin-Transport (Hirota und Lambert 1996, Kohrs und Durieux 1998, Schulte am Esch et al. 2000b, Larsen 2006b).

### Pharmakokinetik

Ketamin hat eine geringe Plasmaproteinbindung (Ebert et al. 2002, Larsen 2006b). Aufgrund der hohen Lipidlöslichkeit dringt die Substanz schnell in das Gehirn ein und neigt dazu im Fettgewebe zu kumulieren (Ebert et al. 2002, Larsen 2006b). Nach etwa zehn Minuten nach intravenöser Injektion befinden sich 70 % der Substanz im stark durchbluteten Gewebe, während sich im Gehirn nur noch geringe Konzentrationen befinden (Larsen 2006b). Der Abbau erfolgt hauptsächlich über die Leber und es entstehen die Metaboliten Norketamin und Dehydronorketamin. Diese Metaboliten werden über die Nieren ausgeschieden (Ebert et al. 2002, Larsen 2006b). Die Plasmahalbwertszeit wird mit zwei bis vier Stunden angegeben, allerdings ist sie bei Tieren speziesbedingt und individuell sehr unterschiedlich und hängt stark von der Metabolisierungs- und Ausscheidungsgeschwindigkeit ab (Kohrs und Durieux 1998, Schulte am Esch et al. 2000b, Larsen 2006b, Erhardt et al. 2012c). Die klinische Wirkdauer wird bei Nagern mit etwa 30 Minuten angegeben (Mason 1997).

## Literaturstudie

### Pharmakologische Wirkung

Durch die Erregung limbischer Zentren kommt es zu kataleptischen Zuständen und einem erhöhten Muskeltonus (Green et al. 1981, Flecknell 2009, Erhardt et al. 2012c). Die Bewusstlosigkeit und Analgesie sind auf die Dämpfung thalamokortikaler Bahnen zurückzuführen (Ebert et al. 2002). Des Weiteren kommt es zu einem sedativen bis hypnotischen Zustand mit retrograder Amnesie (Kohrs und Durieux 1998, Erhardt et al. 2012c). Schutzreflexe, wie der Laryngeal-, Pharyngeal-, Lid- und Kornealreflex bleiben meist erhalten und es kommt zu einer verstärkten Salivation und Bronchialsekretion (Green et al. 1981, Kohrs und Durieux 1998, Meyer und Fish 2008, Flecknell 2009, Erhardt et al. 2012c). Die Pulsfrequenz und der Blutdruck steigen nach Ketamin-Applikation deutlich an, wohingegen sich die Atemfrequenz reduziert und häufig ein apnoisches Atemmuster erzeugt wird (Green et al. 1981, Kohrs und Durieux 1998, Erhardt et al. 2012c).

### Anwendung im tiermedizinischen und tierexperimentellen Bereich

Die alleinige Verwendung von Ketamin scheint zwar bei der Ratte noch am ehesten zu einer Anästhesie mit ausreichender Tiefe zu führen, als bei anderen Nagern, aber aufgrund der kataleptischen Wirkung und der dadurch bedingten Muskelrigidität wird sie nicht empfohlen (Green et al. 1981, Erhardt et al. 2012c). Besonders die Kombinationen mit  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten und Benzodiazepinen haben sich bewährt, um diese Muskelrigidität aufzuheben (Waynforth und Flecknell 1992, Ebert et al. 2002, Erhardt et al. 2012c). Obwohl Ketamin in geringen Dosen auch als Analgetikum vor allem perioperativ eingesetzt werden kann, wird es bei der Ratte zur Schmerztherapie in der Regel nicht herangezogen (Henke et al. 2012).

## **2.2.2 $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten und -Antagonisten**

### **2.2.2.1 Xylazin**

Xylazin ist ein Sedativum und ist nach wie vor der am meisten in der Veterinärmedizin zum Einsatz kommende  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonist (Erhardt et al. 2012c).

## Literaturstudie

### Chemische Struktur

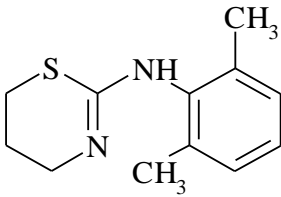


Abb. 2: Strukturformel von Xylazin nach Ebert und Kollegen ( 2002)

Xylazin ist ein Thiazinderivat und findet als Hydrochlorid klinische Anwendung (Ebert et al. 2002).

### Wirkungsmechanismus

Der Angriffspunkt von Xylazin sind periphere und zentrale  $\alpha_2$ -Adrenorezeptoren (Paddleford and Harvey 1999, Ebert et al. 2002). Obwohl Xylazin als  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonist bezeichnet wird, hat es nebenbei noch eine relativ hohe  $\alpha_1$ -Adrenorezeptor-Aktivität mit einem Rezeptorbindungsverhältnis  $\alpha_2$  zu  $\alpha_1$  von nur 160:1 (Ebert et al. 2002, Meyer und Fish 2008, Erhardt et al. 2012c). Die  $\alpha_2$ -Rezeptoren sind prä- und im ZNS auch postsynaptisch lokalisiert (Paddleford und Harvey 1999, Erhardt et al. 2012c). Deren Aktivierung bedingen je nach Lokalisation sowohl eine Hemmung, als auch eine Stimulation der Freisetzung von Neurotransmittern. Die Beeinflussung peripherer und nicht nur zentraler  $\alpha_2$ -Adrenorezeptoren trägt zum gesamten Wirkungsspektrum, einschließlich Nebenwirkungen, bei (Ebert et al. 2002).

### Pharmakokinetik

Xylazin verteilt sich im Körper sehr schnell und hat eine sehr speziesspezifische Bioverfügbarkeit, die zwischen 40 und 90 % variiert (Garcia-Villar et al. 1981). Innerhalb von fünf Minuten werden nach einer intramuskulären Injektion schon pharmakologische Effekte beobachtet, nach zehn Minuten tritt die volle Wirkung ein (Ebert et al. 2002, Flecknell 2009, Erhardt et al. 2012c). Nach einer intravenösen Injektion wird allgemein nach drei Minuten eine starke Sedation erreicht (Erhardt et al. 2012c). Xylazin wird in der Leber metabolisiert und die entstandenen Metaboliten werden über die Nieren ausgeschieden (Rector et al. 1996, Ebert et al. 2002, Erhardt et al. 2012c).

## Literaturstudie

### Pharmakologische Wirkung

Die zentrale  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Stimulation führt zu einer tierartlich unterschiedlich lang anhaltenden Sedation (bis zu zehn Stunden) und einer eher kurz andauernden Analgesie, die tierartspezifisch deutlich in ihrer Dauer variieren kann und chirurgisch-anästhetisch nur schlecht ausgenutzt werden kann (Rector et al. 1996, Paddleford und Harvey 1999, Erhardt et al. 2012c). Im Rückenmark kommt es durch eine gehemmte Reizübertragung zur Muskelrelaxation (Paddleford und Harvey 1999, Erhardt et al. 2012c). Xylazin hat einen ausgeprägten bradykarden Effekt und es kommt nach einem initialen Blutdruckanstieg zu einem langanhaltenden Blutdruckabfall (Paddleford und Harvey 1999, Ebert et al. 2002, Meyer und Fish 2008, Erhardt et al. 2012c). Des Weiteren führt eine Xylazin-Applikation zu einer Hypothermie und einer Atemdepression (Ebert et al. 2002). Der atemdepressive Effekt erlangt klinisch meist jedoch erst durch die Kombination mit anderen Anästhetika und der dadurch potenzierten Wirkungen an Bedeutung (Paddleford und Harvey 1999, Erhardt et al. 2012c). Xylazin führt wie andere  $\alpha_2$ -Agonisten zu einer Hyperglykämie mit folgender Polyurie, bedingt durch zeitweilige Reduktion der Insulinproduktion (Paddleford und Harvey 1999, Ebert et al. 2002, Saha et al. 2005, Erhardt et al. 2012c). Zusätzlich wird durch die Hemmung des antidiuretischen Hormons die Polyurie verstärkt (Erhardt et al. 2012c). Besonders während der Einleitungsphase kann es nach Xylazin-Applikation bei einigen Spezies (beim Hund und besonders bei der Katze) zu Erbrechen kommen (Paddleford und Harvey 1999, Flecknell 2009, Erhardt et al. 2012c). Die gesamten  $\alpha_2$ -vermittelten pharmakologischen Wirkungen von Xylazin lassen sich durch die Gabe von Atipamezol vollständig aufheben (Thompson et al. 1991, Dewangen et al. 2009, Erhardt et al. 2012c).

### Anwendung im tiermedizinischen und tierexperimentellen Bereich

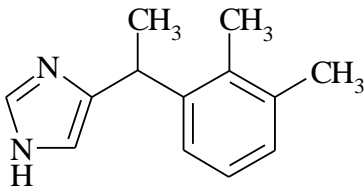
Xylazin war der erste  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonist, der in der Veterinärmedizin als analgetisch wirksames Sedativum eingesetzt wurde (Paddleford und Harvey 1999). Es wird vor allem zur sedativen Prämedikation verwendet. Zur Erzeugung einer chirurgisch belastbaren Anästhesie wird es meistens mit Ketamin, Benzodiazepinen oder Opioid-Präparationen kombiniert (z.B. L-Polamivet<sup>®</sup>) (Paddleford und Harvey 1999, Flecknell 2009, Erhardt et al. 2012c). Aufgrund der unerwünschten Wirkungen wird der Einsatz von Xylazin bei diabetischen, Herz-Kreislauf-kranken, leber- und nierenkranken Tieren nicht empfohlen (Paddleford und Harvey 1999, Erhardt et al. 2012c). Die Anwendung von Xylazin während einer Trächtigkeit ist ebenso kontraindiziert, da es nach Applikation zu unerwünschten Uteruskontraktionen kommen kann und folglich die Gefahr eines Aborts besteht (Ebert et al. 2002, Erhardt et al. 2012c).

## Literaturstudie

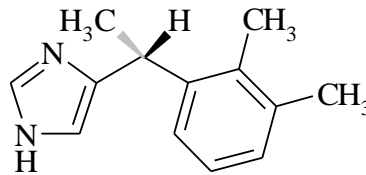
### 2.2.2.2 Medetomidin

Medetomidin wird, ebenso wie Xylazin, als analgetisch wirksames Sedativum eingesetzt und zeichnet sich, im Vergleich zu Xylazin, durch seine wesentlich potentere Wirkung aus (Virtanen et al. 1988, Vainio 1989, Meyer und Fish 2008).

#### Chemische Struktur



Medetomidin



Dexmedetomidin

Abb. 3: Strukturformel von Medetomidin und Dexmedetomidin nach Riviere und Papich (2009)

Medetomidin ist ein Imidazolderivat, liegt als Racemat vor und besteht aus den beiden Enantiomeren Dexmedetomidin und Levomedetomidin (Meyer und Fish 2008). Das Dexmedetomidin ist die wirksame Komponente und ist mittlerweile als Einzelpräparat im Handel erhältlich (Flecknell 2009).

#### Wirkungsmechanismus

Medetomidin gehört, ebenso wie Xylazin, zu der Gruppe der  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten und vermittelt seine pharmakologische Wirkung über die  $\alpha_2$ -Adrenorezeptoren. Medetomidin ist jedoch deutlich selektiver gegenüber  $\alpha_2$ - als  $\alpha_1$ -Adrenorezeptoren und wirkt ungefähr 20-fach potenter als Xylazin (Virtanen et al. 1988, Ebert et al. 2002). Das Rezeptor-Bindungsverhältnis von  $\alpha_2$  zu  $\alpha_1$  wird mit 1620:1 beschrieben; verglichen mit Xylazin ist Medetomidin demnach 10-mal mehr  $\alpha_2$ -spezifisch (Virtanen et al. 1988, Erhardt et al. 2012c).

#### Pharmakokinetik

Medetomidin verteilt sich sehr schnell im Plasma und erreicht bei der Ratte bereits zehn Minuten nach einer subkutanen Applikation die maximale Plasmakonzentration (Salonen 1989, Meyer und Fish 2008). Im Gehirn wird die maximale Konzentration (fünffach höher als die maximale



## Literaturstudie

Plasmakonzentration) nach 15 bis 20 Minuten erreicht (Meyer und Fish 2008). Nach einer intravenösen Injektion kommt es bereits nach einer Minute zum Eintritt der Sedation. Dieser Wirkungseintritt ist nach einer intramuskulären Applikation erst nach etwa fünf Minuten zu sehen (Sinclair 2003). Die Dauer der durch das Medetomidin hervorgerufenen Sedation wird mit ungefähr drei Stunden angegeben. Der analgetische Effekt hält jedoch nur 30-45 Minuten an (Erhardt et al. 2012c). Medetomidin wird in der Leber von Monoxygenasen metabolisiert und an Glukuronsäure konjugiert (Salonen und Eloranta 1990, Meyer und Fish 2008, Erhardt et al. 2012c). Die Metaboliten werden hauptsächlich über die Nieren ausgeschieden, jedoch wurde bei der Ratte auch eine signifikante Ausscheidung über die Faeces nachgewiesen (Salonen 1989, Erhardt et al. 2012c).

### Pharmakologische Wirkung

Die sedative und analgetische Wirkung von Medetomidin ist dosisabhängig und variiert erheblich zwischen den verschiedenen Spezies (Stenberg 1989, Vainio 1989, Erhardt et al. 2012c). Durch eine periphere Vasokonstriktion ist ein initialer Blutdruckanstieg und eine ausgeprägte Bradykardie zu beobachten, gefolgt von einem langanhaltenden Blutdruckabfall (Savola 1989, Vainio 1989, Bryant et al. 1996, Erhardt et al. 2012c). Des Weiteren kann die Applikation von Medetomidin zu Herzrhythmusstörungen führen (Erhardt et al. 2012c). Bei einer Sedation mit Medetomidin kann eine Hypothermie beobachtet werden (Vainio 1989). Wie bei Xylazin, kann es auch bei Medetomidin während der Einschlafphase zu Erbrechen (vor allem bei der Katze) kommen (Vainio 1989, Flecknell 2009). Durch die selektivere  $\alpha_2$ -Wirkung sind besonders die über den  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor vermittelten Effekte wesentlich stärker ausgeprägt als bei Xylazin (Virtanen et al. 1988). Das heißt, nicht nur die erwünschten Wirkungen, wie die Sedation, die Muskelrelaxation und die Analgesie, sondern auch die unerwünschten Wirkungen, wie die kardiovaskulären Effekte, die Atemdepression und die Beeinflussung des Endokrins sind um einiges ausgeprägter und werden in Kombination mit anderen sedativen Anästhetika um ein Vielfaches potenziert (Sinclair 2003, Erhardt et al. 2012c). Einige Autoren berichten jedoch auch, dass durch die selektivere  $\alpha_2$ -Wirkung das Ausmaß der unerwünschten Wirkungen geringer ist (Virtanen 1989, Waynforth und Flecknell 1992). Alle pharmakologischen Wirkungen von Medetomidin sind dosisabhängig und die  $\alpha_2$ -Wirkungen werden durch eine Applikation von Atipamezol kompetitiv antagonisiert (Savola 1989, Vähä-Vahe 1990, Nishimura et al. 1992, Verstegen und Petcho 1993, Jang et al. 2009, Erhardt et al. 2012c).

### Anwendung im tiermedizinischen und tierexperimentellen Bereich

Medetomidin wird allgemein als sedativ-analgetische Prämedikation verwendet, zu bevorzugen ist jedoch die Kombination mit Ketamin, Propofol, Barbituraten oder auch Opioiden (Waynforth und Flecknell 1992, Paddleford und Harvey 1999, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Erhardt et al. 2012c).

## Literaturstudie

Bei Ratten wurde ein synergistisch bzw. additiver antinozizeptiver Effekt beobachtet, als Medetomidin mit verschiedenen Opioiden kombiniert wurde (Ossipov et al. 1990). Man kann aus der Kombination Medetomidin, Midazolam und Fentanyl eine vollständig antagonisierbare Anästhesie bilden, die sich ausgesprochen gut für Heim- und Jungtiere eignet (Henke und Erhardt 2012b). Aufgrund des relativ breiten Spektrums an unerwünschten Wirkungen wird empfohlen, Medetomidin nur bei jungen bis mittelalten, gesunden Tieren anzuwenden, bzw. allgemein nicht für eine Anästhesie bei einem Risikopatienten (herz- oder nierenkrank, diabetisch, trächtig, etc.) zu verwenden (Sinclair 2003, Erhardt et al. 2012c).

### 2.2.2.3 Atipamezol

Atipamezol ist ein  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Antagonist und ist derzeit der einzige kommerziell erhältliche Antagonist, der die  $\alpha_2$ -vermittelten pharmakologischen Wirkungen der  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten vollständig aufheben kann (Erhardt et al. 2012c).

#### Chemische Struktur

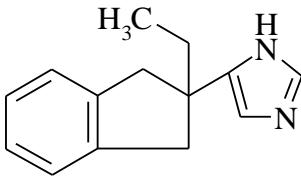


Abb. 4: Strukturformel von Atipamezol nach Riviere und Papich (2009)

Atipamezol ist ein Imidazol-Derivat und ist im Aufbau dem Medetomidin sehr ähnlich (Virtanen et al. 1989, Meyer und Fish 2008, Erhardt et al. 2012c).

#### Wirkungsmechanismus

Atipamezol hat seinen Wirkungsort an zentralen und peripheren  $\alpha_2$ -Adrenorezeptoren. Es wirkt dort als hochpotenter, selektiver und sehr spezifischer Antagonist (Virtanen et al. 1989, Meyer und Fish 2008, Erhardt et al. 2012c). Die hohe Affinität zu  $\alpha_2$ -Adrenorezeptoren zeigt sich am Rezeptor-Bindungsverhältnis von  $\alpha_2$  zu  $\alpha_1$ . Dieses Verhältnis ist zwischen 100 und 300 Mal größer als das Verhältnis des  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Yohimbin (Virtanen et al. 1989, Meyer und Fish

## Literaturstudie

2008). Für die unterschiedlichen Subtypen der  $\alpha_2$ -Adrenorezeptoren ist Atipamezol nicht weiter selektiv (Meyer und Fish 2008).

### Pharmakokinetik

Atipamezol kann auf unterschiedliche Art und Weise appliziert werden (subkutan, intramuskulär, intraperitoneal, intravenös), jedoch sind die kommerziell erhältlichen Präparate nur für die intramuskuläre Injektion zugelassen (Flecknell 2009, Erhardt et al. 2012c). Einige Autoren empfehlen jedoch die subkutane und intramuskuläre Injektion, da es nach einer zu schnellen intravenösen Applikation zu einer Tachykardie und Hypotension kommen kann (Paddleford und Harvey 1999, Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Die Absorption von Atipamezol ist nach subkutaner Applikation sehr schnell und ein Wirkungseintritt ist nach etwa fünf bis zehn Minuten zu beobachten (Flecknell 2009). Ebenso wie die  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten wird Atipamezol in der Leber metabolisiert und über die Nieren ausgeschieden (Fargetton und Vähä-Vahe 1989, Ranheim et al. 1997). Durch die Konkurrenzsituation um die Lebermetabolisierungsenzyme kann sich die Plasmahalbwertszeit von  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten nach einer Atipamezol-Applikation verlängern (Ranheim et al. 1997, Ranheim et al. 1998). Beim Hund wurde jedoch festgestellt, dass die Clearance von Medetomidin nach Applikation von Atipamezol zunimmt. Vermutet wird, dass eine bessere Durchblutung der Leber nach Antagonisierung die Biotransformation dieser Substanzen beschleunigt (Salonen et al. 1995).

### Pharmakologische Wirkung

Nach einer Atipamezol-Applikation kommt es zu einem gesteigerten Umsatz von Noradrenalin und Serotonin im Gehirn (Ranheim et al. 2000, Erhardt et al. 2012c). Dadurch ist es möglich, dass eine Hypermotorik und Unruheerscheinungen auftreten können (Nishimura et al. 1992, Paddleford und Harvey 1999, Erhardt et al. 2012c). Die sedative Wirkung von  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten wird vollständig aufgehoben (Nishimura et al. 1992, Verstegen und Petcho 1993, Dewangen et al. 2009). Allerdings wurde etwa 80 Minuten nach der Antagonisierung mit Atipamezol beobachtet, dass es zu einer Resedation kommen kann. Als Grund wird eine schnellere Elimination von Atipamezol im Vergleich zu  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten vermutet (Vähä-Vahe 1990, Ranheim et al. 1997, Ranheim et al. 1998). Atipamezol führt zu einer Erhöhung der Herzfrequenz und kann bei rascher Anflutung nach einer intravenösen Administration zu einer Tachykardie führen (Nishimura et al. 1992, Paddleford und Harvey 1999). Eine durch  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten verursachte Bradykardie wird durch den Antagonisten zuverlässig aufgehoben (Vähä-Vahe 1990, Thompson et al. 1991, Dewangen et al. 2009, Erhardt et al. 2012c). Es wurde gezeigt, dass die alleinige Verabreichung von Atipamezol zu einer Stimulation der Atemtätigkeit führt (Nguyen et al. 1992, Erhardt et al. 2012c). Die atemdepressive Wirkung von  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten lässt nach einer Atipamezol-Applikation

## Literaturstudie

nach und auch das intermittierende Atemmuster normalisiert sich wieder (Vainio 1990, Dewangen et al. 2009, Erhardt et al. 2012c). Des Weiteren erreichen hypotherme und hyperglykämische Tiere nach einer Antagonisierung mit Atipamezol etwa nach 40 Minuten wieder physiologische Werte (Nishimura et al. 1992, Verstegen und Petcho 1993, Ranheim et al. 2000, Erhardt et al. 2012c). In einer Studie mit Medetomidin und Ketamin anästhesierten Ratten wurde gezeigt, dass Atipamezol auch die antinozizeptiven Effekte von Butorphanol in der postoperativen Phase abschwächen kann. Die Autoren erklären dies durch eine Hemmung der supraspinalen serotonergen Neurone, die essentieller Bestandteil der  $\kappa$ -vermittelten Analgesie sind (Jang und Lee 2009).

### Anwendung im tiermedizinischen und tierexperimentellen Bereich

Aufgrund seiner hochaffinen Wechselwirkung an den  $\alpha_2$ -Adrenorezeptoren ist Atipamezol heutzutage das Mittel der Wahl zur Aufhebung von  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten vermittelten Effekten. Es ist das einzig erhältliche Pharmakon, das die  $\alpha_2$ -Wirkungen vollständig antagonisieren kann (Paddleford und Harvey 1999, Erhardt et al. 2012c). Durch die hohe  $\alpha_2$ -Spezifität hat Atipamezol den Vorteil gegenüber anderen Antagonisten, wie Yohimbin und Tolazolin, dass es weniger unerwünschte Wirkungen zeigt (Vähä-Vahe 1990, Paddleford und Harvey 1999, Dewangen et al. 2009, Flecknell 2009).

## **2.2.3 Benzodiazepine und Benzodiazepin-Antagonisten**

### **2.2.3.1 Midazolam**

Midazolam gehört zu den Benzodiazepinen, welche, ebenso wie die  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten, auch keine Anästhetika im eigentlichen Sinne sind. Sie wirken dosisabhängig und auch speziesabhängig sedierend, antikonvulsiv, anxiolytisch und relaxierend und werden daher zu den Tranquilizern, Sedativa bzw. auch Ataraktika gezählt (Larsen 2006b, Erhardt et al. 2012c).

## Literaturstudie

### Chemische Struktur

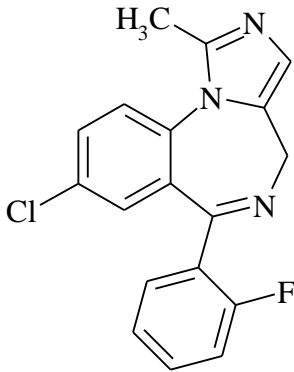


Abb. 5: Strukturformel von Midazolam nach Larsen (2006b)

Die Grundstruktur aller Benzodiazepine ist eine siebengliedrige heterocyclische Ringstruktur (Diazepin-Ring), die mit einem Benzol-Ring verbunden ist (Ebert et al. 2002, Meyer und Fish 2008). Alle klinisch relevanten Benzodiazepine sind mit einem Aryl-Rest verbunden und Midazolam zusätzlich noch mit einem Imidazol-Ring (Pieri 1983, Meyer und Fish 2008). Midazolam ist daher ein Imidazobenzodiazepin und kommt meist als Midazolam-Maleat und Midazolam-Hydrochlorid zum klinischen Einsatz (Pieri et al. 1981, Pieri 1983, Meyer und Fish 2008). Die biologische Aktivität dieser beiden Derivate unterscheidet sich nicht (Pieri 1983). Midazolam ist wasserlöslich bei einem pH < 4 und lässt sich gut mit Ringer-Lactat und sauren Salzen anderer Medikamente, einschließlich Opioiden und Anticholinergika, mischen (Meyer und Fish 2008). Bei einem höheren pH-Wert schließt sich die Ringstruktur und Midazolam wird lipidlöslich (Meyer und Fish 2008).

### Wirkungsmechanismus

Hauptwirkungsort des Midazolams ist eine Benzodiazepin-Bindungsstelle an einer Untereinheit des GABA-Rezeptors (Schulte am Esch et al. 2000b, Ebert et al. 2002, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Larsen 2006b). Es gibt zwei Haupttypen von GABA-Rezeptoren. Sie werden als GABA<sub>A</sub>- und GABA<sub>B</sub>-Rezeptor bezeichnet. Der Benzodiazepin-Rezeptor befindet sich auf der  $\gamma$ -Untereinheit des GABA<sub>A</sub>-Rezeptors (Larsen 2006b). Durch die Bindung des Midazolams an die Benzodiazepin-Bindungsstelle wird ein Chloridkanal geöffnet, es kommt zur Hyperpolarisation der Neuronenzelle, und die hemmende Wirkung von GABA auf neuronale Übertragungen wird verstärkt (Schulte am Esch et al. 2000b, Ebert et al. 2002, Larsen 2006b). Dadurch verändert sich die Freisetzung von Noradrenalin, Serotonin und Dopamin (Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Die Wirkstärke wird durch die Affinität des jeweiligen Benzodiazepins zu dem Benzodiazepin-Rezeptor und durch die

## Literaturstudie

Höhe der Dosis bestimmt (Ebert et al. 2002, Larsen 2006b). Beim Menschen kommt es je nach Rezeptor-Besetzung zur Anxiolyse (20 % Rezeptorbesetzung), Sedation (30-50 % Rezeptor-Besetzung) oder sogar zur Hypnose (> 60 % Rezeptorbesetzung) (Schulte am Esch et al. 2000b, Larsen 2006b). Bei Tieren ist die sedative Wirkung hingegen nur mäßig (Erhardt et al. 2012c).

### Pharmakokinetik

Midazolam kann intravenös, intramuskulär, intraperitoneal und subkutan verabreicht werden (Erhardt et al. 2012c). Es ist in den kommerziell erhältlichen Lösungen aufgrund der offenen Ringstruktur bei einem pH < 4 sehr gut wasserlöslich und wird nach Injektion in ein pH-neutrales Gewebe durch den Wechsel zu einer geschlossenen Ringstruktur lipidlöslich; daher hat Midazolam nach intramuskulärer Injektion eine kurze Absorptionsszeit und durchdringt schnell das Gewebe des zentralen Nervensystems (Larsen 2006b, Schwartz et al. 2013). Beim Hund wurde nach intramuskulärer Applikation die höchste Plasmakonzentration nach fast acht Minuten gemessen (Schwartz et al. 2013). Aufgrund seiner kurzen Plasmahalbwertszeit von 27,4 Minuten nach intramuskulärer Applikation, gehört Midazolam zu den kurzwirksamen Benzodiazepinen (Pieri et al. 1981, Larsen 2006b, Schwartz et al. 2013). Wie alle Benzodiazepine ist auch Midazolam bis zu 96 % an Plasmaproteine gebunden, insbesondere an das Albumin (Ebert et al. 2002, Meyer und Fish 2008, Erhardt et al. 2012c). In der Leber wird Midazolam vom Enzym Cytochrom P450 (CYP3A4) zu wirksamen und unwirksamen Metaboliten verstoffwechselt. Das aktive Stoffwechselprodukt ist das 1-Hydroxymidazolam, welches nach Glukuronidierung zu 1-Hydroxymidazolamglucuronid über die Nieren ausgeschieden wird (Schulte am Esch et al. 2000b, Meyer und Fish 2008).

### Pharmakologische Wirkung

Benzodiazepine haben eine dämpfende Wirkung auf den Thalamus, Hypothalamus und auf Kerne des limbischen Systems, welches man mit Angst- und Spannungszuständen in Verbindung setzt (Ebert et al. 2002, Erhardt et al. 2012c). Sie wirken in der Regel psychisch dämpfend und anxiolytisch, jedoch kommt es durch alleinige Gabe vom Benzodiazepinen nicht zu einer vollständigen Sedation (Pieri et al. 1981, Erhardt et al. 2012c). Durch die Wirkung auf die Formatio reticularis in der Medulla oblongata und auf das Rückenmark kommt der antikonvulsive und muskelrelaxierende Effekt zustande (Ebert et al. 2002, Erhardt et al. 2012c). Die antiepileptische Wirkung kann zur Unterbrechung des Status epilepticus ausgenutzt werden (Erhardt et al. 2012c). Die depressive Wirkung auf die Atmung und den Kreislauf ist nur gering und wird nur dann klinisch relevant, wenn es in Kombination mit anderen Anästhetika zu Potenzierungseffekten kommt (Pieri et al. 1981, Flecknell 2009, Erhardt et al. 2012c). In der Regel vermitteln die Benzodiazepine keine Analgesie, jedoch wurde für Midazolam beim Schaf und nach intrathekalen Injektion bei der Ratte ein antinocizeptiver Effekt beschrieben (Edwards et al.

## Literaturstudie

1990, Ebert et al. 2002, Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Von klinisch-therapeutischer Bedeutung ist auch der kurzzeitig appetitanregende Effekt, der bereits während der Verteilungsphase abklingt (Ilkiw et al. 1996, Ebert et al. 2002).

### Anwendung im tiermedizinischen und tierexperimentellen Bereich

In der Veterinärmedizin findet Midazolam Verwendung zur Anästhesieeinleitung und wird häufig mit anderen Medikamenten kombiniert, um eine vollständige Anästhesie zu erzeugen (Ebert et al. 2002, Meyer und Fish 2008). Aufgrund der wasserlöslichen Formulierung von Midazolam ist die Kombination mit anderen wasserlöslichen Pharmaka in einer Mischspritze sehr gut möglich, was den Vorteil einer einmaligen Injektion hat und dadurch das Stresspotential für die Tiere reduziert wird (Meyer und Fish 2008, Flecknell 2009, Erhardt et al. 2012c). Als Komponente der vollständig antagonisierbaren Anästhesie findet Midazolam in der Heimtier- und Jungtieranästhesie mittlerweile große Verwendung (Henke und Erhardt 2012b). Der Applikationsweg von Midazolam über eine Infusion ist aufgrund der kurzen Wirkdauer und der guten Wasserlöslichkeit möglich. Im Rahmen einer totalen intravenösen Anästhesie (TIVA) kann Midazolam daher sehr gut als Komponente zusammen mit anderen Pharmaka eingesetzt werden (Schulte am Esch et al. 2000b). Das einzig veterinärmedizinisch zugelassene Benzodiazepin ist derzeit Brotizolam, welches als appetitanregendes Mittel bei Rindern eingesetzt wird. Alle anderen Benzodiazepine müssen für die Anwendung am Tier umgewidmet werden (Ebert et al. 2002, Erhardt et al. 2012c).

#### ***2.2.3.2 Flumazenil***

Flumazenil ist ein spezifischer Benzodiazepin-Antagonist und wird dazu eingesetzt, zentral-vermittelte Benzodiazepin-Effekte aufzuheben (Ebert et al. 2002, Meyer und Fish 2008).

## Literaturstudie

### Chemische Struktur

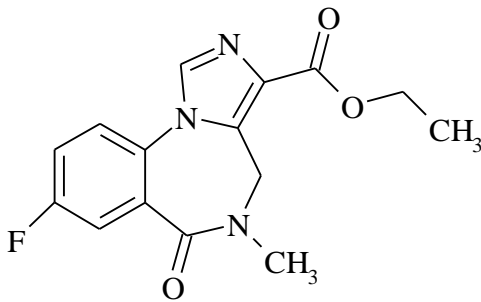


Abb. 6: Strukturformel von Flumazenil nach Riviere und Papich (2009)

Flumazenil ist ein Imididazobenzodiazepin-Derivat und dem Midazolam sehr ähnlich (Amrein et al. 1987, Meyer und Fish 2008, Mizuno 2013). Es ist wasserlöslich und kann zum Beispiel mit Ringer-Lactat-Lösung, 0,9 %iger Kochsalzlösung und 5 %iger Dextroselösung gemischt werden (Lukasik V 1999, Larsen 2006b).

### Wirkungsmechanismus

Flumazenil hat eine strukturelle Ähnlichkeit mit Benzodiazepinen und besitzt deshalb auch eine gewisse Affinität zur Benzodiazepin-Bindungsstelle am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor (Meyer und Fish 2008). Es verdrängt Benzodiazepine kompetitiv und nach dem Massenwirkungsgesetz auch konzentrationsabhängig von ihrer Bindungsstelle an der Untereinheit am GABA<sub>A</sub>-Rezeptor (Amrein et al. 1988, Votey et al. 1991, Larsen 2006b). Die intrinsische Wirkung von Flumazenil selbst an diesen Benzodiazepin-Rezeptoren ist jedoch vernachlässigbar gering, weshalb es zur Aufhebung von Benzodiazepin-vermittelten Wirkungen zum Einsatz kommt (Votey et al. 1991, Ebert et al. 2002, Larsen 2006b).

### Pharmakokinetik

Für Flumazenil wird meistens (in der Humanmedizin) die langsame intravenöse Applikation empfohlen, es kann jedoch auch intraperitoneal, intramuskulär oder subkutan verabreicht werden (Whitwam und Amrein 1995, Erhardt und Baumgartner 2012, Mizuno 2013). Oral verabreicht zeigte Flumazenil nur eine niedrige Bioverfügbarkeit (Whitwam und Amrein 1995). Nach einer intravenösen Applikation tritt schon nach etwa ein bis drei Minuten die antagonistische Wirkung ein (Amrein et al. 1987, Schulte am Esch et al. 2000b, Larsen 2006b, Erhardt et al. 2012c). Die Dauer der



## Literaturstudie

antagonisierenden Wirkung ist aufgrund der kurzen Plasmahalbwertszeit auf eine Stunde begrenzt, so dass es nach hohen Benzodiazepin-Gaben zu einem erneuten Wirkungseintritt kommen kann (Amrein et al. 1987, Brogden und Goa 1991, Schulte am Esch et al. 2000b, Larsen 2006b, Erhardt et al. 2012c). Verstoffwechselt wird Flumazenil relativ schnell in der Leber und die entstandenen Metaboliten werden in glukuronidierter Form über die Nieren ausgeschieden (Amrein und Hetzel 1990, Larsen 2006b). Derzeit ist noch nicht geklärt, ob die entstandenen Metaboliten pharmakologisch aktiv sind (Larsen 2006b).

### Pharmakologische Wirkung

Flumazenil beeinträchtigt die Funktion von GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren nicht und hat nur geringe Auswirkungen auf den Organismus (Votey et al. 1991, Meyer und Fish 2008, Erhardt et al. 2012c). Niedrige Dosen zeigen eher eine stimulierende, höhere Dosen eine dämpfende Wirkung (Ebert et al. 2002, Larsen 2006b). Krampfanfälle, kardiovaskuläre Effekte, Veränderungen des intrakraniellen Druckes, neurologische Störungen, Übelkeit und Erbrechen wurden bisher als unerwünschte Wirkungen beim Menschen nach Flumazenil-Applikation beobachtet (Amrein et al. 1987, Hoffman und Warren 1993, Mizuno 2013). Die pharmakologischen Effekte von Benzodiazepinen werden durch Flumazenil vollständig aufgehoben (Brogden und Goa 1991, Hoffman und Warren 1993, Ebert et al. 2002, Meyer und Fish 2008, Larsen 2006b, Mizuno 2013). Abhängig von der Wirkdauer des Benzodiazepins kann es jedoch aufgrund der kurzen Plasmahalbwertszeit von Flumazenil zu einer Resedation kommen (Brogden und Goa 1991, Schulte am Esch et al. 2000b). Um die antagonisierende Wirkung aufrecht zu erhalten, bedarf es entweder einer anfangs hohen subkutanen Dosis oder einer langsamen kontinuierlichen Applikation über eine Infusion, bis die Benzodiazepin-Wirkungen abgeklungen sind (Amrein et al. 1987, Erhardt et al. 2012c). Zum Vorteil macht man sich dabei die relativ große therapeutische Breite bzw. den hohen Sicherheitsindex von über 3000 (Amrein et al. 1988, Larsen 2006b). Dies entspricht einer Toleranz gegenüber einer 3000fachen Überdosierung von Flumazenil.

### Anwendung im tiermedizinischen und tierexperimentellen Bereich

Zum klinischen Einsatz kommt Flumazenil in der Veterinärmedizin als Antagonist von Ketamin-Benzodiazepin-Kombinationen oder als Antagonisten-Komponente der vollständig antagonisierbaren Anästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl (Erhardt et al. 2012c). Der weitere Einsatz von Flumazenil ist nur in Notfallsituationen nach Benzodiazepin-Überdosierung, während Anästhesiezwischenfällen oder bei Shunt-Patienten und Tieren mit MDR1-Defekt indiziert (Erhardt et al. 2012c). Die erhältlichen Präparate sind sehr teuer. Ein routinemäßiger Einsatz ist daher nicht

## Literaturstudie

gerechtfertigt, jedoch hat sich die Verwendung von Benzodiazepin-Antagonisten in der Heimtieranästhesie bewährt (Larsen 2006b, Erhardt et al. 2012c).

### 2.2.4 Opiode und Opioidantagonisten

#### 2.2.4.1 Fentanyl

Neben den endogenen Opioiden (Endorphine, Enkephaline und Dynorphine) und den natürlich vorkommenden Opioiden (Bestandteile des Opiums) gibt es auch die synthetisch hergestellten Opiode, zu denen auch das Fentanyl gehört (Larsen 2006c). Opiode gelten allgemein als zentral wirksame Analgetika und werden häufig für Anästhesiekombinationen und zur Behandlung starker Schmerzen nach operativen Eingriffen verwendet (Waynforth und Flecknell 1992, Erhardt et al. 2012c).

#### Chemische Struktur

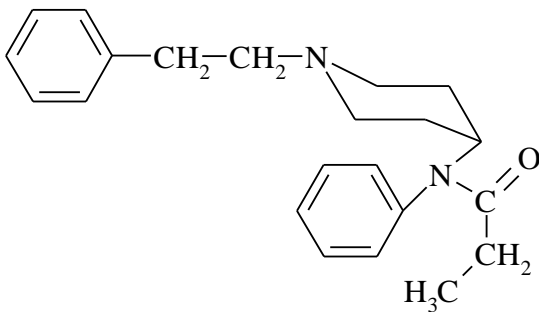


Abb. 7: Strukturformel von Fentanyl nach Schulte am Esch und Kollegen (2000b)

Fentanyl ist ein Phenylpiperidin-Derivat und chemisch verwandt mit dem Pethidin (Ebert et al. 2002, Larsen 2006c). Es hat stark lipophile Eigenschaften, ist jedoch handelsüblich als Fentanyl-Citrat in einer wässrigen Lösung erhältlich und lässt sich daher gut mit anderen hydrophilen Substanzen mischen (Schulte am Esch et al. 2000b, Ebert et al. 2002, Larsen 2006c, Erhardt et al. 2012c).

#### Wirkungsmechanismus

Fentanyl ist, ebenso wie Morphin, ein Opioid-Rezeptor-Agonist und vermittelt seine Wirkung über Opioid-Rezeptoren im zentralen Nervensystem (Erhardt et al. 2012c). Das Wirkungsspektrum von Opioiden wird bedingt durch die selektive Wirkung auf die verschiedenen Opioid-Rezeptortypen.

## Literaturstudie

Diese sind aber nicht nur im zentralen Nervensystem zu finden, sondern auch in der Peripherie (Larsen 2006c, Erhardt et al. 2012c). Es wird heutzutage zwischen  $\mu_1$ -,  $\mu_2$ -,  $\kappa$ -,  $\delta$ -Opioid-Rezeptoren unterschieden (Kosterlitz und Paterson 1980, Heavner und Cooper 2008, Erhardt et al. 2012c). In der folgenden Tabelle werden die von den verschiedenen Opioid-Rezeptoren vermittelten Wirkungen zusammengefasst:

Tab. 2: Übersicht der Opioid-Rezeptoren und deren agonistische Wirkung (Larsen 2006c, Heavner und Cooper 2008, Erhardt et al. 2012c)

Opioid-Rezeptor	Agonistische Wirkung
$\mu_1$	Analgesie (spinal und vor allem supraspinal) geringes Abhängigkeitspotential, Atemdepression, Euphorie, Bradykardie, Hypothermie, Harnretention, periphere Vasodilatation, Miosis
$\mu_2$	Analgesie (spinal) Atemdepression, Obstipation, hohes Abhängigkeitspotential
$\kappa$	Analgesie (spinal und supraspinal) Sedation, Miosis, Dysphorie, Hyperthermie, Diurese, geringes Abhängigkeitspotential
$\delta$	Analgesie (spinal und supraspinal, aber spinale Ebene stabiler) Atemdepression, Abhängigkeitspotential

Fentanyl ist sehr selektiv für  $\mu$ -Opioid-Rezeptoren und hat zu diesen auch eine sehr hohe Affinität (Maguire et al. 1992, Larsen 2006c, Erhardt et al. 2012c). Im Vergleich zu Morphin hat Fentanyl zum  $\mu_1$ -Rezeptor eine viel höhere Affinität. Die Affinität von Fentanyl und Morphin zum  $\mu_2$ -Rezeptor ist dagegen ungefähr gleich (Chen et al. 1993). Aufgrund dieser hohen Affinität zum  $\mu_1$ -Rezeptor ist Fentanyl etwa 50-100fach potenter als Morphin (Romagnoli 1973, Mather 1983, Ebert et al. 2002, Larsen 2006c, Heavner und Cooper 2008, Erhardt et al. 2012c).

### Pharmakokinetik

Fentanyl wird meistens intravenös appliziert, es sind jedoch auch alle anderen parenteralen Applikationsarten möglich, wie zum Beispiel die transdermale, subkutane, intramuskuläre, epidurale, transthemale oder auch intranasale Applikation (Scholz et al. 1996, Erhardt et al. 2012c). Aufgrund seines lipophilen Charakters durchdringt Fentanyl nach parenteraler Gabe schnell die Blut-Hirn-Schranke, so dass bereits innerhalb von zwei bis fünf Minuten die volle Wirkung festgestellt werden

## Literaturstudie

kann (Schulte am Esch et al. 2000b, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Larsen 2006c). Die relativ kurze Wirkdauer von 20-30 Minuten nach intravenöser Applikation macht Fentanyl zu einem sehr gut steuerbaren Analgetikum (Romagnoli 1973, Schulte am Esch et al. 2000b, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Flecknell 2009c, Erhardt et al. 2012c). Diese kurze Wirkdauer begründet sich in der schnellen Umverteilung vom zentralen Nervensystem ins Fett- und Muskelgewebe (Hess et al. 1972, McClain und Hug 1980, Hug und Murphy 1981, Mather 1983, Heavner und Cooper 2008). Besonders nach wiederholter Applikation kann es durch Kumulation, erneute Umverteilung und Wiederaufnahme ins zentrale Nervensystem zu länger anhaltenden Wirkungen kommen (Hug und Murphy 1981, Mather 1983, Larsen 2006c). Die transdermale Applikation führt im Gegensatz zur intravenösen Applikation zu sehr variablen Konzentrationen. Messbare Plasmakonzentrationen treten erst nach zwei Stunden auf und eine maximale Plasmakonzentration wird erst nach acht bis 18 Stunden erreicht (Lehmann und Zech 1992, Carroll et al. 1999). In einer Studie zur Anwendung von Fentanyl-Patches beim Hund wurden maximale Plasmakonzentrationen erst nach  $66,7 \pm 18,1$  Stunden erreicht (Engert 2010). In der Leber wird Fentanyl sehr schnell verstoffwechselt. Als Hauptkatalysator der Metabolisierung wurde für den Menschen das Cytochrom P450 3A4, bzw. für die Ratte das Cytochrom P450 3A1/2 nachgewiesen (Feierman 1996, Feierman und Lasker 1996). Der Hauptmetabolit Norfentanyl entsteht dabei durch oxidative N-Dealkylierung (van Wijngaarden und Soudijn 1968). Die entstandenen Metaboliten werden in etwa zu gleichen Teilen über die Nieren und den Darm ausgeschieden (van Wijngaarden und Soudijn 1968, McClain und Hug 1980, Erhardt et al. 2012c). Nur etwa sechs bis acht Prozent werden als unverändertes Fentanyl ausgeschieden (Hess et al. 1972, McClain und Hug 1980, Larsen 2006c). Der First Pass Effekt in der Leber ist sehr hoch bei Fentanyl, daher kommt es nach oraler Applikation zu keinem klinisch relevanten Wirkungseintritt (Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Larsen 2006c).

### Pharmakologische Wirkung

Die pharmakologischen Wirkungen von Fentanyl stehen stark in Relation zur Plasmakonzentration (Larsen 2006c). Mit einem Sicherheitsindex von 1,20 (berechnet für die Ratte) hat Fentanyl eine relativ kleine therapeutische Breite, was eine behutsame Applikation erforderlich macht (Yassen et al. 2008). Mit zunehmender Fentanyl-Konzentration steigt die analgetische, jedoch auch die sehr stark ausgeprägte atemdepressive Wirkung (Waynforth und Flecknell 1992, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Larsen 2006c). Ein Ceiling-Effekt, bezogen auf die atemdepressive Wirkung, wurde zwar für Buprenorphin, jedoch nicht für Fentanyl nachgewiesen, deswegen muss bei zunehmender Fentanyl-Konzentration auch mit einer Apnoe gerechnet werden (Dahan et al. 2005, Larsen 2006c). Die Atemdepression kann durch die lange Umverteilungsphase und besonders nach wiederholter Fentanyl-Applikation sehr langanhaltend sein (McClain und Hug 1980, Mather 1983, Larsen 2006c). Es empfiehlt sich daher bei der Verwendung von starken Opioiden wie Fentanyl, das Intubationsmaterial

## Literaturstudie

für den Notfall bereitstehen zu haben und in jedem Fall Sauerstoff anzubieten (Larsen 2006c, Erhardt et al. 2012c). Die Dämpfung des zentralen Nervensystems kann je nach Anzahl und Verteilung der Opioid-Rezeptoren tierartlich unterschiedlich stark ausgeprägt sein (Erhardt et al. 2012c). Eine Bewusstlosigkeit wird nicht immer zuverlässig erreicht (Stanley 1992, Larsen 2006c). Speziesbedingt können auch exzitatorische Symptome auftreten, wie zum Beispiel tonisch-klonische Krämpfe bei der Katze oder Unruheerscheinungen beim Hamster und Gerbil (Heavner und Cooper 2008; Flecknell 2009c, Erhardt et al. 2012c, Henke und Erhardt 2012b). Das Brechzentrum wird in der Regel nicht stimuliert, allerdings kann Übelkeit und Erbrechen gelegentlich als unerwünschte Wirkung auftreten (Gardocki und Yelnosky 1964, van Lersberghe et al. 1994, Erhardt et al. 2012c). Fentanyl führt allgemein in hohen Dosen zu einer gewissen Muskelrigidität (Stanley 1992, Ebert et al. 2002, Larsen 2006c). Diese äußert sich auch in einem Anstieg der Muskeltoni mancher Sphinktermuskeln, wie den Sphinkter Oddi, den Analsphinkter und den Harnblasensphinkter (Larsen 2006c, Flecknell 2009c). Anfänglich kommt es häufig zur Stimulation der Magen-Darm-Motilität und man muss mit einer spontanen Defäkation rechnen (Erhardt et al. 2012c). Allerdings wird nach länger andauernder Applikation die Motilität eher reduziert, da die propulsive Aktivität durch rhythmische Kontraktionen der longitudinalen Darmmuskulatur gehemmt wird, wodurch es zu Obstipationen, Spasmen und in seltenen Fällen auch zum Ileus kommen kann (van Lersberghe et al. 1994, Larsen 2006c, Erhardt et al. 2012c). Beim Nager und Kaninchen scheint das Vorkommen dieser Magen-Darm-Symptomatik jedoch nicht klinisch signifikant zu sein (Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Der arterielle Blutdruck, das Herzzeitvolumen und die Herzkontraktilität werden durch Fentanyl nur geringgradig beeinflusst, jedoch kann es zu einer deutlichen Sinusbradykardie kommen (Gardocki und Yelnosky 1964, Stanley 1992, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Erhardt et al. 2012c). Das Eintreten einer ausreichend analgetischen Wirkung von Fentanyl fällt zeitlich meist zusammen mit der zu beobachteten Bradykardie, weshalb der Fentanyl-Bedarf sehr gut anhand der Herzfrequenzänderung gesteuert werden kann (Erhardt et al. 2012c). Der Bradykardie kann jedoch mit einer Atropin-Administration entgegengesteuert werden (Gardocki und Yelnosky 1964, Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Hypotensive Effekte können vor allem während schwerwiegenden operativen Eingriffen mit erheblichen Gewebetraumata Bedeutung erlangen (Waynforth und Flecknell 1992).

### Anwendung im tiermedizinischen und tierexperimentellen Bereich

Der Fentanyl-Gebrauch fällt unter das Betäubungsmittelgesetz und seit 2012 ist das tiermedizinische Fentanyl-Präparat Fentadon® im Handel erhältlich (Erhardt et al. 2012c, Emmerich 2013). Als potentes Analgetikum wird Fentanyl meistens während chirurgischer Eingriffe eingesetzt. Aufgrund der kurzen Wirkdauer und dadurch guten Steuerbarkeit eignet es sich daher hervorragend zur Verwendung als Dauertropfinfusion (Flecknell 2009c, Erhardt et al. 2012c). Transdermale Systeme werden in der Veterinärmedizin eher zur postoperativen Schmerzbehandlung eingesetzt. Hierzu zählen

## Literaturstudie

Lösungen, die mittels Applikatoren auf die Haut aufgetragen werden (Recuvyra<sup>®</sup>) und Pflaster, die man direkt auf die Haut kleben kann (z.B. Durogesic<sup>®</sup>). Für den Hund wurde in einer Studie jedoch gezeigt, dass sich bei der Anwendung von Fentanyl-Pflastern die Fentanyl-Anflutung und der Zeitpunkt der maximalen Serumkonzentration sehr stark individuell unterscheiden können (Engert 2010). Neben dem Einsatz als reines Analgetikum wird Fentanyl häufig zur Erzeugung einer Allgemeinanästhesie zu nicht oder nur gering analgetisch wirksamen Inhalationsanästhetika supplementiert oder zum Beispiel als Komponente einer totalen intravenösen Anästhesie herangezogen (Larsen 2006c, Heavner und Cooper 2008). Fentanyl wird gern mit Benzodiazepinen (Ataranalgesie), mit Hypnotika (Hypnoanalgesie) und mit Neuroleptika (Neuroleptanalgesie) kombiniert (Ebert et al. 2002, Flecknell 2009c, Erhardt et al. 2012c). Als Komponente der vollständig antagonisierbaren Anästhesie findet Fentanyl vor allem zur Anästhesie bei Heim- und Jungtieren Verwendung (Erhardt und Baumgartner 2012). Die Kombinationen haben den Vorteil, dass die analgetische Wirkung potenziert wird, die möglichen opioid-induzierten, exzitationsartigen Erscheinungen gemindert werden und verwendete Anästhetika eingespart werden können. Bei diesen Kombinationen muss jedoch berücksichtigt werden, dass sich auch die atemdepressiven Eigenschaften der Komponenten ebenfalls potenzieren (Ebert et al. 2002, Hedenqvist und Hellebrekers 2003).

### 2.2.4.2 Naloxon

Naloxon ist ein reiner Opioid-Antagonist und kommt am häufigsten als solcher sowohl human-, als auch veterinärmedizinisch zum Einsatz (Heavner und Cooper 2008).

#### Chemische Struktur

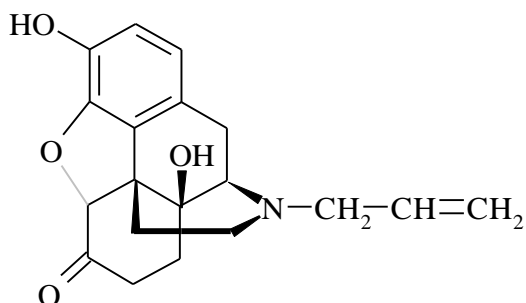


Abb. 8: Strukturformel von Naloxon nach Ebert und Kollegen (2002)

## Literaturstudie

Naloxon ist ein Morphin-Derivat, genauer gesagt das N-Allylderivat von Oxymorphon, von dem auch der Name Naloxon abgeleitet worden ist (**N-Allylderivat von Oxymorphon**) (Kosterlitz und Watt 1968, Ebert et al. 2002, Larsen 2006c). Ebenso wie die Opiate, hat auch Naloxon eine sehr hohe Lipidlöslichkeit (Berkowitz 1976, Montastruc 1982, Ebert et al. 2002). In Präparaten liegt Naloxon meistens als Naloxon-Hydrochlorid vor und ist demnach mit anderen wässrigen Komponenten, wie Infusionslösungen oder anderen Anästhetika-Antagonisten mischbar (Erhardt et al. 2012d).

### Wirkungsmechanismus

Angriffspunkte des Naloxons sind die Opioid-Rezeptoren, vornehmlich die  $\mu$ - und  $\kappa$ -Opioid-Rezeptoren (Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Cosola et al. 2006, Larsen 2006c). Die stärkste Affinität besteht jedoch zu den  $\mu$ -Opioid-Rezeptoren (Larsen 2006c). Es wirkt an diesen Rezeptoren als kompetitiver Antagonist (Kosterlitz und Watt 1968, Montastruc 1982, Larsen 2006c). Durch die Substitution der N-Methylgruppe mit einer Allylgruppe besitzt Naloxon keine intrinsische Aktivität mehr und hat keinerlei opioidartige Wirkungen auf den Organismus (Ebert et al. 2002). Die Blockade des Opioid-Rezeptors durch Naloxon ist jedoch reversibel und kann durch Zugabe eines Agonisten wieder aufgehoben werden (Larsen 2006c). Um den Partial-Agonisten Buprenorphin mit seiner starken Affinität zu den  $\mu$ -Opioid-Rezeptoren zu verdrängen, benötigt man wesentlich höhere Dosierungen, als bei anderen Opioid-Agonisten (Sarton et al. 2008).

### Pharmakokinetik

Naloxon kann intravenös, intramuskulär und subkutan verabreicht werden (Ebert et al. 2002, Larsen 2006c, Erhardt et al. 2012c). Es wird aber auch von anderen möglichen Applikationsrouten berichtet. Nach einer nasalen Applikation ist die Bioverfügbarkeit beim Hund sehr hoch, beim Mensch liegt sie allerdings nur bei 4% (Dowling et al. 2008, Liu et al. 2010). Auch mit einer transdermalen Applikation wird, trotz tierartlicher Unterschiede in der Hautpermeabilität, nach vier, bis hin zu 48 Stunden nach Applikation ein konstanter Konzentrationswert aufrechterhalten (Panchagnula et al. 2005). Aufgrund des hohen First-Pass-Effektes in der Leber ist die Bioverfügbarkeit nach oraler Applikation eher schlecht, und es lassen sich keine messbaren Werte im Blut nachweisen (Montastruc 1982, Kleiman-Wexler et al. 1989). Es wurde gezeigt, dass Naloxon auf lokaler Ebene Wirkungen über die Opioid-Rezeptoren im Gastrointestinaltrakt vermitteln kann (Kreek et al. 1983, Kleiman-Wexler et al. 1989, Cosola et al. 2006). Wegen der stark lipophilen Eigenschaften gelangt Naloxon sehr zügig ins zentrale Nervensystem und erreicht dort auch sehr schnell eine hohe Konzentration (Berkowitz 1976, Ngai et al. 1976, Montastruc 1982). Nach intravenöser Applikation kommt es bereits nach 30-120 Sekunden zu einem Wirkungseintritt, nach subkutaner Applikation erst nach drei Minuten (Montastruc 1982). Die Halbwertszeit der Verteilungsphase ist sehr kurz und beträgt etwa vier Minuten (Berkowitz 1976,

## Literaturstudie

Pace et al. 1979). Angaben zur Plasmahalbwertszeit differieren sehr stark (10-45; 20; 30-40; 64; 71; 60-90 Minuten) und sind zudem abhängig von der Applikationsart (Berkowitz 1976, Ngai et al. 1976, Pace et al. 1979, Ebert et al. 2002, Sarton et al. 2008, Erhardt et al. 2012c). Naloxon wird hauptsächlich in der Leber durch Glukuronidierung verstoffwechselt und über die Nieren mit dem Urin ausgeschieden (Montastruc 1982, Larsen 2006c). Es wird auch eine extrahepatische Elimination vermutet, da die Clearance mit 30 ml/kg/min sehr hoch ist (Larsen 2006c).

### Pharmakologische Wirkung

Naloxon ist ein potenter Opioid-Antagonist mit nur einer nicht signifikanten agonistischen Aktivität (Kosterlitz und Watt 1968). Von klinischen Effekten wird nach alleiniger Naloxon-Applikation jedoch nicht berichtet. Daher ist auch der Sicherheitsindex von über 2000 sehr hoch bemessen (Montastruc 1982, Foldager und Bonde-Petersen 1988, Ebert et al. 2002, Larsen 2006c, Flecknell 2009c). Sind trotzdem Effekte zu beobachten, sind diese meistens auf die Antagonisierung endogen wirkender Opioiden zurückzuführen (Ebert et al. 2002). Eine durch Endorphine vermittelte Analgesie oder ein induziertes Schockgeschehen, sowie weitere Endorphin-vermittelnde Effekte können zum Beispiel durch Naloxon aufgehoben werden (Levine et al. 1978, Sawynok et al. 1979, Montastruc 1982, McNicholas und Martin 1984). Ein leichter Anstieg der Herzfrequenz und des Blutdruckes kann in höheren Dosen beobachtet werden (Foldager und Bonde-Petersen 1988, Larsen 2006c). Nach einer Antagonisierung können Kreislaufwirkungen jedoch auch durch Reflexmechanismen und Stimulation sensibler Bahnen ausgelöst werden (Montastruc 1982). Naloxon hebt sämtliche pharmakologische Wirkungen nicht nur von endogenen, sondern auch von applizierten Opioiden auf. Hierzu zählen die opioid-induzierte Analgesie, Atemdepression, Euphorie, Myosis, Koma, Krämpfe und auch die Motilitätshemmung des Gastrointestinaltraktes (Montastruc 1982, Cosola et al. 2006). Es wurde gezeigt, dass eine Naloxon-Applikation nach idiopathischer chronischer Verstopfung eine positive Wirkung auf den Weitertransport und die Konsistenz der Faeces hat und präventive Eigenschaften bei der Entstehung von stressbedingten Magenzulzera zeigt (Kreek et al. 1983, Kleiman-Wexler et al. 1989, Cosola et al. 2006). Naloxon kann das Atemzentrum wieder auf CO<sub>2</sub> resensibilisieren, wenn sich nach einer Opioid-Applikation eine Hyperkapnie aufgrund der Atemdepression entwickelt hat (McNicholas und Martin 1984). Es wurde nachgewiesen, dass Naloxon auch eine agonistische Aktivität an Östrogen-Rezeptoren hat. Diese soll einen inhibitorischen Effekt auf das Wachstum von Brustkrebs haben (Farooqui et al. 2006). Aufgrund des schnellen Nachlassens der antagonistischen Wirkung, kann es bei länger wirksamen Opioiden zu einem sogenannten Rebound-Effekt kommen (Dyson et al. 1990, Erhardt et al. 2012c). Um dieses Problem zu umgehen und um eine langanhaltende Antagonisierung zu garantieren wird die Administration über eine Infusion oder die Kombination aus intravenöser und intramuskulärer bzw. subkutaner Applikation empfohlen (Dowling et al. 2008, Sarton et al. 2008).



## Literaturstudie

### Anwendung im tiermedizinischen und tierexperimentellen Bereich

Naloxon ist als tiermedizinisches Präparat nicht mehr im Handel erhältlich, daher müssen humanmedizinische Präparate umgewidmet werden (Erhardt et al. 2012c). Es ist das Mittel der Wahl im Falle einer Überdosierung mit Opioiden, zum Beispiel durch die ungewollte orale Aufnahme eines opioid-haltigen Pflasters (Ebert et al. 2002, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Erhardt et al. 2012c). Bei Opioid-Intoxikationen ist aufgrund der unbekanntes Opioid-Dosis eine individuelle Anpassung der Naloxon-Konzentration erforderlich und es muss nach Wirkung appliziert werden (Ebert et al. 2002). Naloxon wird auch während der postoperativen Phase verabreicht, um die Effekte des Opioid-Überhangs nach einer Anästhesie aufzuheben und um die Erholungsphase zu beschleunigen (Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Als Bestandteil der Antagonisierung der vollständig antagonistischen Anästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl wird Naloxon häufig in der Jungtier- und Heimtieranästhesie eingesetzt. Dabei werden die Antagonisten subkutan appliziert und es kommt zu einem langsamen und schonenden Erwachen aus der Anästhesie und zu einer Aufhebung der anästhesiebedingten Atemdepression und Hypothermie (Erhardt et al. 2012c).

## 2.3 Inhalationsanästhetikum

### 2.3.1 Isofluran

Isofluran ist ein volatiles Anästhetikum, welches 1965 synthetisiert wurde (Holaday et al. 1975, Eger 1981, Larsen 2006a). Unter den Inhalationsanästhetika hat es derzeit wohl das beste Nutzen/Risiko-Verhältnis und wird sowohl human- als auch veterinärmedizinisch sehr häufig eingesetzt (Larsen 2006a, Erhardt et al. 2012c).

### Chemische Struktur

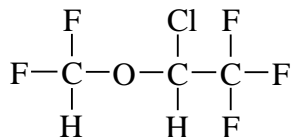


Abb. 9: Strukturformel von Isofluran nach Ebert und Kollegen (2002)

Isofluran ist ein stark halogener Ether und zu Enfluran ein Strukturisomer (Kavan und Julien 1974, Holaday et al. 1975, Kayaba und Shimosato 1985, Larsen 2006a, Erhardt et al. 2012c). Es ist eine

## Literaturstudie

klare, farblose und flüchtige Flüssigkeit, die gegenüber Atemkalk und UV-Licht stabil ist (Dale und Brown 1987, Larsen 2006a, Erhardt et al. 2012c). Der Siedepunkt für Isofluran ist bei 48,5°C erreicht und der Dampfdruck liegt bei 20°C Raumtemperatur bei 239 mmHg (Eger 1981, Larsen 2006a, Erhardt et al. 2012c). Isofluran ist gut lipidlöslich und hat einen leicht etherartigen, stechenden Geruch, welcher jedoch angenehmer erscheint als der Geruch von CO<sub>2</sub> (Eger 1984, Larsen 2006a, Hildebrandt et al. 2008, Erhardt et al. 2012c, Wong et al. 2013). Es hat weder explosive noch brennbare Eigenschaften (Kayaba und Shimosato 1985, Haskins 1992, Waynforth und Flecknell 1992, Erhardt et al. 2012c).

### Wirkungsmechanismus

Isofluran reduziert, wie auch andere moderne Inhalationsanästhetika, die myoneuronale Transmission (Eger 1998). Der genaue Wirkungsmechanismus ist jedoch noch nicht näher bekannt. Eine Membranmodulation aufgrund der lipophilen Eigenschaften, sowie Effekte an GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren und muskarinergen Acetylcholin-Rezeptoren werden diskutiert (Quinlan et al. 1995, Alkire und Haier 2001).

### Pharmakokinetik

Isofluran wird in der Regel als volatiles Anästhetikum per inhalationem verabreicht. Dabei sollte mit speziell für Isofluran kalibrierten Verdampfern, sogenannte Präzisionsverdampfer, gearbeitet werden, da sonst aufgrund der potenten Wirkung von Isofluran die Gefahr einer Überdosierung besteht (Waynforth und Flecknell 1992, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Brunson 2008, Erhardt et al. 2012c). Die Isofluran-Aufnahme und -Verteilung ist abhängig von der eingeatmeten Konzentration, der Belüftung der Lunge, der Herzleistung und der Löslichkeit von Isofluran in Blut und Gewebe (Dale und Brown 1987). Dank der guten Lipidlöslichkeit kann Isofluran leicht die Alveolenwand durchdringen und gelangt schnell ins Blut (Hildebrandt et al. 2008). Die Löslichkeit im Blut ist hingegen eher schlecht, daher findet schnell ein Übertritt ins lipophile zentrale Nervensystem statt (Eger 1984). Ebenso kann es die Plazentaschranke ungehindert durchdringen (Erhardt et al. 2012c). Der Blut/Gas-Verteilungskoeffizient ist relativ niedrig und wird zwischen 1,4 und 1,48 angegeben (Eger 1984, Haskins 1992, Alef 2003a, Erhardt et al. 2012c). Durch die geringe Blutlöslichkeit kommt es zu einer schnellen An- und Abflutung des Isoflurans (Kavan und Julien 1974, Kayaba und Shimosato 1985, Haskins 1992, Ebert et al. 2002). Dank dieser Eigenschaft ist es möglich die Anästhesietiefe sehr schnell zu variieren (Alef 2003a, Erhardt et al. 2012c). Eine Anästhesie mit Isofluran wird mit etwa 3,0 - 4,5 Vol% eingeleitet und zwischen 0,6 - 3,0 Vol% weiter aufrechterhalten. Diese Angaben variieren je nach Spezies und sind auch sehr individuell und richten sich außerdem ganz danach, ob nur Sauerstoff oder auch Lachgas als Trägergas verwendet wird (Alef

## Literaturstudie

2003a, Larsen 2006a, Hildebrandt et al. 2008). Die Elimination aus dem zentralen Nervensystem ist schneller, als aus den unterschiedlichen Geweben des restlichen Körpers (Lu et al. 2008). In einer Studie beim Menschen wurde gezeigt, dass sowohl die Geschwindigkeit der Aufnahme, als auch die der Elimination abhängig vom Alter ist (Fitzal et al. 1985). Das Isofluran unterliegt so gut wie keiner Metabolisierung und wird nahezu vollständig wieder abgeatmet (Dale und Brown 1987, Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Nur 0,2% werden vom Organismus in der Leber metabolisiert und 0,17 % lassen sich als Metaboliten im Urin nachweisen (Holaday et al. 1975, Eger 1984, Ebert et al. 2002, Alef 2003a, Brunson 2008). Aufgrund der geringen Metabolisierungsrate hat Isofluran wenig Einfluss auf das Leberenzymssystem und weist daher keine Leber- und Nierentoxizität auf (Eger 1984, Kayaba und Shimosato 1985, Njoku et al. 1997, Alef 2003a, Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Tierexperimentell wurde gezeigt, dass auch eine intravenöse Applikation von emulgierter Isofluran-Lösung zu einer Allgemeinanästhesie führt. Während eine Bolusinjektion schnell zu einem Konzentrationspeak mit anschließender Umverteilung im Muskel- und Fettgewebe führt, kann durch eine Infusion eine bestimmte Isofluran-Konzentration länger aufrechterhalten werden (Yang et al. 2013). Durch blockierende Eigenschaften an  $\text{Na}^+$ -Kanälen, führt Isofluran nach intrathekaler Injektion zu einer Spinalanästhesie. Die Wirkung ist zwar weniger potent, als die von Lidocain, aber die Dauer der Blockade ist wesentlich länger (Hung et al. 2011).

### Pharmakologische Wirkung

Isofluran wirkt sehr gut hypnotisch, in klinisch ungefährlichen Konzentrationen jedoch kaum analgetisch (Schulte am Esch et al. 2000a, Alef 2003, Larsen 2006a). Der  $\text{MAC}_{50}$ -Wert ist sehr speziesspezifisch und individuell, liegt jedoch für die meisten Spezies in dem Bereich von 1,15-2,05 Vol% (Eger 1984, Alef 2003a, Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Neben der gut hypnotischen Eigenschaft wirkt Isofluran sehr gut muskelrelaxierend und erzeugt keine krampfartigen Geschehen während der Anästhesie (Eger 1984, Schulte am Esch et al. 2000a, Ebert et al. 2002, Alef 2003a, Larsen 2006a, Hildebrandt et al. 2008). Der muskelrelaxierende Effekt wirkt sich auch auf den Uterus aus und kann bei hohen Konzentrationen während eines chirurgischen Eingriffes zu einem erhöhten Blutverlust führen (Eger 1981, Schulte am Esch et al. 2000a, Ebert et al. 2002, Larsen 2006a). Der Muskeltonus des unteren Oesophagussphinkters nimmt ab, sodass ein gewisses Regurgitationspotential besteht (Chassard et al. 1996). Des Weiteren potenziert Isofluran die Wirkung von nicht-depolarisierenden Muskelrelaxantien (Eger 1981, Larsen 2006a). Übelkeit wird in der Regel nicht beobachtet (Eger 1981). Isofluran hat in Bezug auf seine Kreislaufwirkung noch die größte therapeutische Breite unter den halogenierten Inhalationsanästhetika (Eger 1984). Unter normalen Anästhesiebedingungen hat Isofluran einen hohen Herzindex und eine gute Herzleistung (Seyde und Longnecker 1984, Kayaba und Shimosato 1985, Bahrami et al. 2011). Es hat keine arrhythmogene Wirkung und die depressiven Effekte auf den Herzmuskel scheinen nur gering zu sein (Eger 1984,

## Literaturstudie

Dale und Brown 1987, Haskins 1992, Schulte am Esch et al. 2000a, Alef 2003a, Larsen 2006a, Brunson 2008, Hildebrandt et al. 2008). Es kann jedoch zu einer Herzfrequenzsteigerung bis hin zur Tachykardie kommen (Eger 1984, Kayaba und Shimosato 1985, Dale und Brown 1987, Schulte am Esch et al. 2000a, Erhardt et al. 2012c). Isofluran soll auf den Herzmuskel eine sensibilisierende Wirkung gegenüber exogenen Katecholaminen haben (Kayaba und Shimosato 1985, Ebert et al. 2002, Alef 2003a, Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Einige Autoren sind jedoch anderer Meinung und widersprechen dieser Ansicht (Eger 1981, Larsen 2006a, Brunson 2008, Erhardt et al. 2012c). Verglichen mit manchen Injektionsanästhetika sind die hämodynamischen Effekte von Isofluran zwar weniger stark ausgeprägt, jedoch bleibt es ein potenter Vasodilatator und führt konzentrationsabhängig zur Senkung des systemischen arteriellen Blutdruckes (Eger 1984, Gelman et al. 1984, Haskins 1992, Schulte am Esch et al. 2000a, Ebert et al. 2002, Alef 2003a, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Janssen et al. 2004, Erhardt et al. 2012c). Vornehmlich werden auch die kleinen Herzkranzgefäße dilatiert und es kommt zu einer Verschlechterung der Koronardurchblutung [Nakamura et al. 1993, Schulte am Esch et al. 2000a, Ebert et al. 2002, Alef 2003a, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Brunson 2008, Erhardt et al. 2012c). Für Isofluran wurde festgestellt, dass die Vasodilatation eher nicht-neurogen vermittelt wird (Sundeman et al. 1995). Die Leberdurchblutung und die zerebrale Durchblutung steigen an und es kann zu einem erhöhten Hirndruck kommen (Gelman et al. 1984, Drummond et al. 1986, Schulte am Esch et al. 2000a). Der renale Blutfluss sowie die glomeruläre Filtrationsrate sind gemindert und führen zu einem reduziertem Harnfluss (Eger 1981, Larsen 2006a, Erhardt et al. 2012c). Neben diesen Effekten hat Isofluran auch eine dosis-abhängige atemdepressive Wirkung, die bis hin zur Apnoe führen kann (Eger 1984, Kayaba und Shimosato 1985, Haskins 1992, Alef 2003a, Hedenqvist und Hellebrekers 2003, Erhardt et al. 2012c). Von Vorteil für Asthmatiker ist, dass verengte Bronchien durch Isofluran dilatiert werden, allerdings kann die Speichel- und Bronchialsekretion leicht, beim Meerschweinchen sogar sehr stark, erhöht sein (Hirshman et al. 1982, Eger 1984, Ebert et al. 2002, Larsen 2006a, Erhardt et al. 2012c). Die Atemfrequenz kann leicht ansteigen, dies ist jedoch meistens verbunden mit einem reduziertem Tidalvolumen (Brunson 2008). Von Isofluran sind bisher keine karzinogenen oder mutagenen Eigenschaften bekannt und selbst nach wiederholter Administration wurden keine toxisch bedingten Organveränderungen festgestellt (Eger 1981, Eger et al. 1987, Larsen 2006a). Es wird ihm sogar eine gewisse neuroprotektive Eigenschaft zugesprochen (Statler et al. 2006).

### Anwendung im tiermedizinischen und tierexperimentellen Bereich

Isofluran ist in Deutschland für die Anwendung bei vielen Tierspezies zugelassen; dazu gehören Hunde, Katzen, Meerschweinchen, Ratten, Mäuse, Wüstenrennmäuse, Chinchillas, Hamster, Frettchen, Pferde, Reptilien, Tauben und Ziervögel (Erhardt et al. 2012c). Aufgrund der guten Steuerbarkeit und des geringen Gefahrenpotentials für das Personal hat die Inhalationsanästhesie mit Isofluran sowohl in

## Literaturstudie

der tierärztlichen Praxis, als auch in der Versuchstierkunde Einzug gehalten (Mason 1997). Dennoch sollte im Umgang mit Isofluran immer berücksichtigt werden, dass je nach Anästhesiesystem (offen, halboffen, geschlossen), unterschiedliche Arbeitsplatzkonzentrationen des Anästhesiegases entstehen können, für die eine entsprechende Abzugsvorrichtung vorhanden sein muss (Haberstroh 2012). Obwohl die Bevorratung von Injektionsanästhetika und deren Antagonisten für die neueren Kombinationsanästhesien ebenfalls sehr kostspielig sein kann, stellt Isofluran in der Versuchstierkunde, trotz des höheren Kostenaufwandes durch erforderliches Equipment, das Mittel der Wahl zur Anästhesie von Nagern dar (Waynforth und Flecknell 1992). Die geringe Metabolisierungsrate und die nicht vorhandene toxische Wirkung auf Organsysteme ist gerade im tierexperimentellen Bereich von großem Vorteil (Dale und Brown 1987, Eger et al. 1987, Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Isofluran bietet sich deswegen hervorragend zur Verwendung als Anästhetikum in toxikologischen Studien an (Eger 1981, Flecknell 2009). Ebenso ist Isofluran aufgrund seiner pharmakologischen Eigenschaften das Mittel der Wahl bei jeglichen neurochirurgischen Eingriffen (Dale und Brown 1987). Bei der Anästhesieeinleitung mit Isofluran beim Kaninchen und Meerschweinchen muss beachtet werden, dass diese Spezies dazu neigen, aufgrund des unangenehmen Geruchs die Luft anzuhalten, wodurch sich die Dauer der Einleitung erheblich in die Länge ziehen kann (Flecknell 2009). Außerdem sollte wegen besonders starker bronchosekretorischer Reaktion auf Isofluran beim Chinchilla und Meerschweinchen eine Atropin-Prämedikation in Erwägung gezogen werden (Ebert et al. 2002, Heide 2003, Erhardt et al. 2012c). Bei mittelgradigen bis schwerwiegenden und länger andauernden chirurgischen Eingriffen, zu denen eine tiefe Anästhesie nötig ist, wird empfohlen, die Inhalationsanästhesie mit Injektionsanästhetika zu kombinieren. Nach diesem Schema der balancierten Anästhesie können so Anästhetika eingespart und die Potenzierungseffekte maximal ausgenutzt werden (Erhardt und Baumgartner 2012).

## 2.4 Telemetrische Datenerfassung

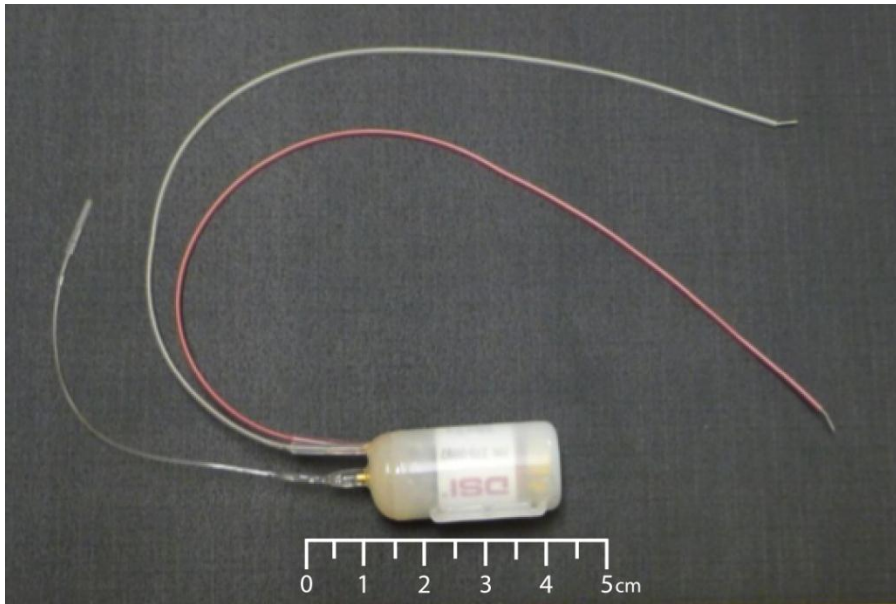
### 2.4.1 Definition Telemetrie

Unter Telemetrie versteht man die Übertragung von Messwerten eines am Messort befindlichen Fühlers (Sensor) durch Kommunikationssysteme zu einer räumlich getrennten Stelle und deren dortige Verarbeitung (Lassmann 2006). Bei der Radiotelemetrie werden die Daten mithilfe von Radiowellen übertragen. Hierbei moduliert der Transmitter das Messsignal in Radiowellen und sendet dieses Signal an eine Antenne. Ein Receiver empfängt ebenfalls mithilfe einer Antenne diese speziellen Radiofrequenzwellen in einer bestimmten Frequenz, demoduliert das Signal und wandelt es in ein lesbares Format um (Bailey 2003). Im Speziellen befasst sich die Biotelemetrie mit der Messung und Übertragung von biologischen Messwerten, wie zum Beispiel der Körperkerntemperatur, dem EKG und dem Blutdruck (Pschyrembel 2007).

### 2.4.2 Telemetriesysteme für kleine Versuchstiere

Vollständig implantierbare Telemetriesysteme für Langzeitmessungen haben in der Versuchstierkunde seit über 50 Jahren Einzug gehalten und wurden von anfänglichen Systemen, die nur einen Parameter erfassen konnten, stets weiterentwickelt bis hin zu komplexeren Systemen, die heutzutage mehrere Parameter zeitgleich erfassen können (Guiol et al. 1992, Brockway und Hassler 1993, Kramer und Kinter 2003). Erst seit etwa 20 Jahren sind gut entwickelte und leicht anwendbare Telemetriesysteme für Versuchstiere einfach und kommerziell zugänglich (Kramer und Kinter 2003). Für die Ratte sind unterschiedliche Telemetriesysteme erhältlich bei Data Science International (DSI™), Königsberg Instruments Inc., Millar Inc. und TSE Systems (Stellar telemetry). Heutzutage ist es möglich bei der Ratte folgende Parameter telemetrisch zu messen: Körperkerntemperatur, Aktivität, arterieller Blutdruck, Ventrikeldruck, intrakranieller Druck, Atemfrequenz, Tidalvolumen, EKG, EEG, EMG, EOG, Sauerstoffkonzentration im Gewebe, Blutglukose, pH-Wert und sympathische Nervenaktivität (Kramer und Kinter 2003, Silasi et al. 2009, Stocker und Muntzel 2013). Die genannten Hersteller bieten Telemetriesender mit verschiedenen Konstellationen der zu erfassenden Parameter an. In Abbildung 10 ist ein Telemetriesender der Firma DSI™ dargestellt, der arteriellen Blutdruck, EKG, Körperkerntemperatur und Aktivität simultan erfassen kann. Dieses Modell (TL11M2-C50-PXT) läuft jedoch im Oktober 2014 aus und wird durch das Nachfolgemodell HD-S11 abgelöst, welches sich jedoch im äußeren Erscheinungsbild kaum vom Vorgängermodell unterscheidet.

## Literaturstudie



*Abb. 10: Vollständig implantierbarer Telemetriesender (TL11M2-C50-PXT) für kleine Tiere (> 175 g Körpergewicht) der Firma DSI™. Transmitter mit Blutdruckkatheter (transparentes Kabel) und zwei Elektroden (graues und rotes Kabel) zur EKG-Ableitung.*

Ein Telemetriesender, der aus vollständig biokompatiblen Material besteht, wird unter sterilen Operationsbedingungen während einer Allgemeinanästhesie implantiert (Kramer und Kinter 2003, Morton et al. 2003). Meistens wird dabei der Blutdruckkatheter zwischen den Aa. renales und der Bifurcatio aortae in der Aorta abdominalis platziert und mit Gewebekleber fixiert und der Transmitter wird mit einem nicht resorbierbaren Faden an der Innenseite der seitlichen Bauchdeckenmuskulatur mit Einzelheften befestigt (siehe Abb. 11) (Kramer und Kinter 2003, Braga und Burmeister 2011).

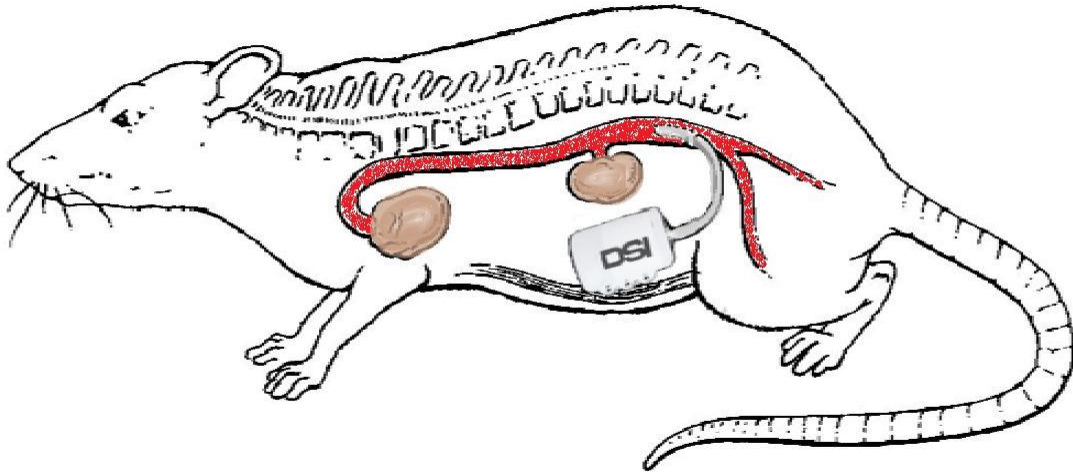


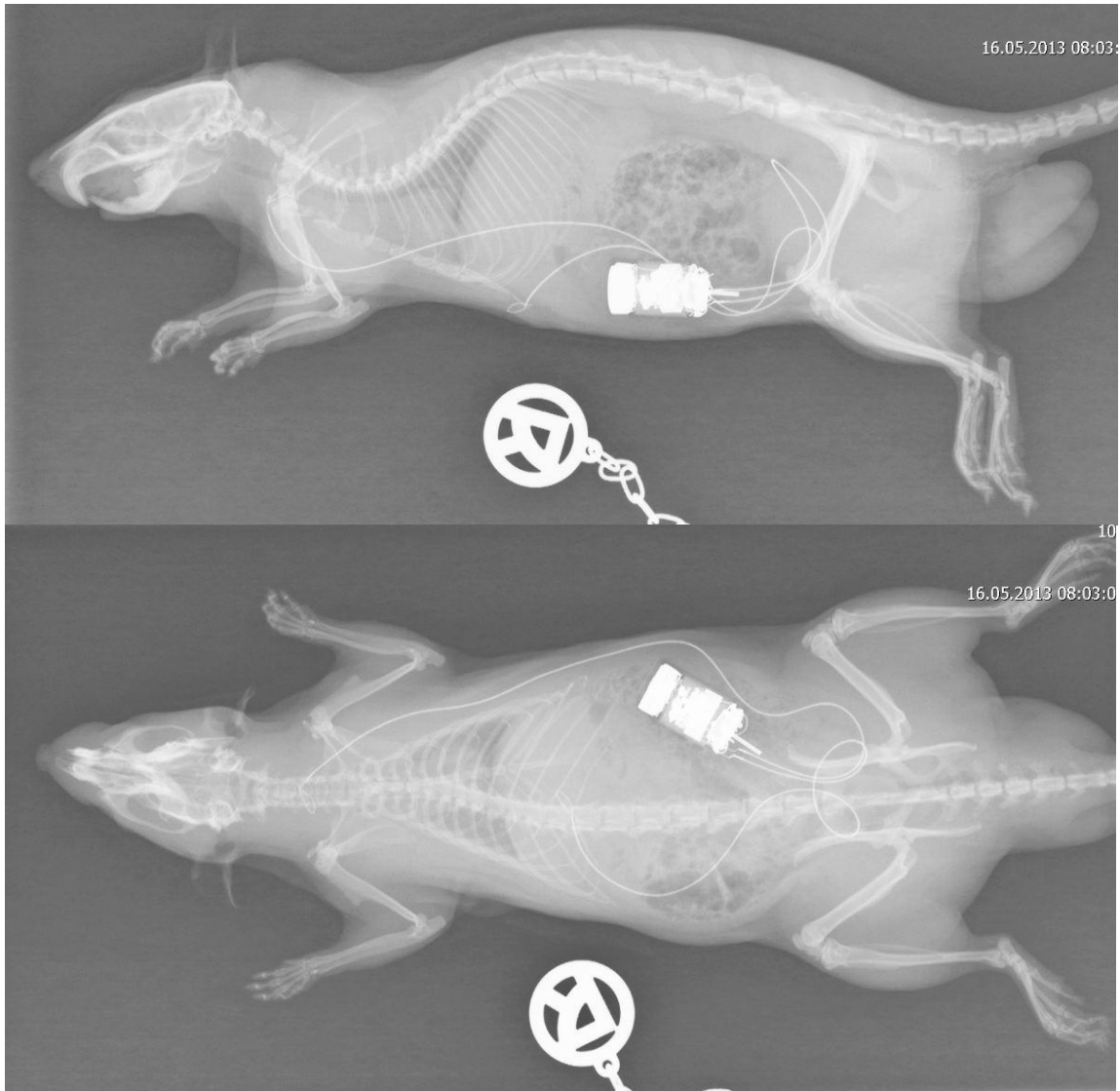
Abb. 11: Implantierter Transmitter mit Blutdruckkatheter in der Aorta abdominalis nach Grenwis (2010)

Es wurden auch weitere Möglichkeiten beschrieben, den Druckaufnehmer in andere arterielle Gefäße zu platzieren. Für die Maus hat sich der Zugang über die A. carotis communis als vorteilhaft herausgestellt (Carlson und Wyss 2000, Kaidi et al. 2007, Schuler et al. 2009). Eine weitere erfolgreich durchgeführte Option ist der Zugang über die A. femoralis (Balakrishnan und McNeill 1996). Des Weiteren wurde auch die intrakardiale Implantation des Blutdruckkatheters sowohl in den linken, als auch in den rechten Ventrikel beschrieben, um den jeweiligen Ventrikeldruck messen zu können (Handoko et al. 2008, Tate et al. 2011). Die Möglichkeit, den Transmitter unfixiert in der Bauchhöhle verbleiben zu lassen oder ihn im Falle des Carotiszuganges unter der Haut im Bereich des Nackens oder auch der Flanke zu fixieren, wurde ebenfalls beschrieben (Balakrishnan und McNeill 1996, Carlson und Wyss 2000, Butz und Davisson 2001, Leon et al. 2004). Wenn der Transmitter intraabdominal fixiert wird, dann werden die Elektrodenkabel mithilfe einer großlumigen Kanüle durch die Bauchdeckenmuskulatur aus der Bauchhöhle verlagert und subkutan an die entsprechende Stelle getunnelt. Die optimale Elektroden-Position für eine bipolare Konfiguration ist abhängig von der gewünschten Ableitung. In der Regel wird empfohlen die negative Elektrode an der rechten Schulter und die positive Elektrode an der linken ventrale Brustwand anzubringen (Kramer et al. 2001). Sgoifo und Kollegen (1996) stellen in ihrer Studie eine alternative Elektrodenpositionierung vor, die auch während intensiver Bewegung nur minimal zu Artefakten im EKG führt. Dabei werden an den distalen Enden der Elektroden Drahtschlaufen geformt. Eine Elektrode wird an der dorsalen Fläche des Processus xiphoideus mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial fixiert und die andere Elektrode wird vom Musculus sternohyoideus ausgehend entlang der Trachea im Mediastinum in Richtung des rechten Herzvorhofes verankert. In Abbildung 12 ist eine telemetrierte Ratte



## Literaturstudie

röntgenologisch dargestellt. Die Positionierung der Elektroden ist der beschriebenen Methode von Sgoifo und Kollegen (1996) sehr ähnlich. Die eine Elektrode ist anstatt dorsal des Processus xiphoideus an der ventralen Seite des Processus angebracht und die andere Elektrode liegt näher an der Trachea cranial der Apertura thoracis anstatt mediastinal. Zu sehen sind der intraabdominal implantierte Transmitter und die subkutan verlaufenden Elektrodenkabel. Der Blutdruckkatheter lässt sich röntgenologisch sehr schlecht darstellen und ist daher in dieser Abbildung nicht zu sehen.



*Abb. 12: Röntgenaufnahmen einer telemetrierten Ratte in der laterolateralen (oben) und dorsoventralen (unten) Ansicht.*

### 2.4.3 Erfasste Parameter

#### 2.4.3.1 Blutdruck

Der Blutdruck bezeichnet im eigentlichen Sinne das arterielle systemische Druckverhältnis, welches im arteriellen Schenkel herrscht. Er wird definiert als das Produkt von Herzminutenvolumen und totalem peripherem Widerstand und wird demnach sowohl von kardialen (z.B. Pumpvolumen), sowie vaskulären (z.B. Gefäßwandspannung), als auch hämatopoetischen (z.B. Blutviskosität) Faktoren beeinflusst (Egner 2002).

Zur Blutdruckmessung gibt es invasive und nichtinvasive Methoden. Zu den nichtinvasiven Messmethoden gehören die oszillometrische und die Doppler-sonographische Blutdruckmessung (Erhardt und Henke 2002, Henke und Erhardt 2012a). Bei der invasiven Blutdruckmessung wird ein Katheter intraarteriell verlegt und entweder wird dabei ein flüssigkeitsgefüllter Katheter an einen elektronischen Druckaufnehmer angeschlossen, oder es wird ein sogenannter Tip-Katheter verwendet, bei dem sich der Druckaufnehmer am Ende des Katheters befindet und direkt im Gefäß zu liegen kommt (Erhardt und Henke 2002). Der Druckaufnehmer erfasst kontinuierlich die Druckschwankungen im Gefäß und generiert eine fortlaufende Blutdruckkurve (siehe Abb. 13). Der höchste Punkt dieser Amplitude entspricht dem systolischen Blutdruck und der niedrigste Punkt dem diastolischen Blutdruck. Die Höhe dieser Amplitude berechnet sich aus der Differenz von systolischem und diastolischem Blutdruck und wird auch als Pulsdruck bezeichnet und ist als Pulswelle fühlbar (Erhardt und Henke 2002). Der Druck, der durchschnittlich während der Dauer eines Schlagintervalls herrscht, wird als mittlerer arterieller Druck bezeichnet und ist ein rein berechneter Blutdruckwert (Berechnungsformel siehe Abb. 13) (Egner 2002). Bei der Betrachtung des mittleren arteriellen Blutdrucks muss beachtet werden, dass einem dieser Wert keine Vorstellung vom Ausmaß der Blutdruckamplitude vermittelt. Ein mittlerer arterieller Blutdruck von 93 mmHg kann zum Beispiel sowohl aus den Werten  $P_{\text{syst.}} = 120 \text{ mmHg}$  und  $P_{\text{diast.}} = 80 \text{ mmHg}$  berechnet werden, als auch aus den Werten  $P_{\text{syst.}} = 140 \text{ mmHg}$  und  $P_{\text{diast.}} = 70 \text{ mmHg}$ .

## Literaturstudie

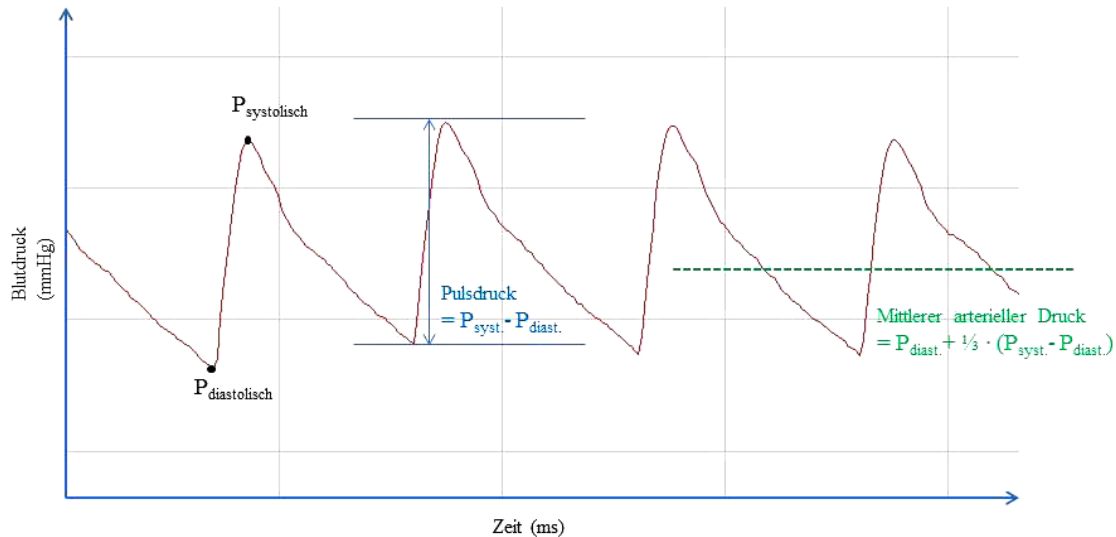


Abb. 13: Blutdruckamplitude

Die telemetrische Blutdruckmessung wird mithilfe eines flüssigkeitsgefüllten Katheters durchgeführt, der mit einer Silikongelmembran am distalen Ende ausgestattet ist, die verhindert, dass Blutbestandteile in das Katheterlumen eindringen können (Brockway und Hassler 1993, Van Vliet et al. 2000). Die Druckmessung erfolgt mittels Druckübertragung durch die Flüssigkeit im Katheter. Ein antithrombotischer Film ummantelt den gesamten Blutdruckkatheter, damit im Gefäß keine Thrombenbildung forciert wird (Brockway und Hassler 1993, Van Vliet et al. 2000). Neuere Telemetriesender-Modelle sind mittlerweile auch mit Tip-Katheter erhältlich (Van Vliet et al. 2000). Im Gegensatz zur direkten Blutdruckmessung mit herausgelagertem Katheter hat die telemetrische Blutdruckmessung den Vorteil, dass das Signal länger beständig ist, die Infektionsgefahr reduziert ist und die Tiere frei beweglich sind (Brockway et al. 1991).

### 2.4.3.2 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz beschreibt die Anzahl der Herzkontraktionen pro Minute und ist in der Regel übereinstimmend mit der Pulsfrequenz (Pschyrembel 2007).

Neben der auskultatorischen Möglichkeit die Herzfrequenz zu messen, stehen auch noch elektronische Messmethoden zur Verfügung. Das Pulsoxymeter erfasst mittels spektrophotometrischer Messung den Gehalt an oxygeniertem Hämoglobin. Es reproduziert eine Kurve anhand der Änderung des absorbierten Lichts während des pulsatilen Blutflusses und berechnet somit die Pulsfrequenz. Mittlerweile sind auch veterinärmedizinische Pulsoxymeter erhältlich, die speziell für die höheren Herzfrequenzen sehr kleiner Tiere ausgerichtet sind (Flecknell 2009b, Henke und Erhardt 2012a).

## Literaturstudie

Eine weitere Möglichkeit ist das Schreiben eines EKG, wobei mithilfe von Krokodilklemmen, Nadel- oder Klebeelektroden die elektrische Herzaktivität abgeleitet wird. Außer der Herzfrequenz lassen sich daraus noch viele weitere kardiale Parameter ablesen (Henke und Erhardt 2012a).

Bei der telemetrischen Erfassung der Herzfrequenz kann man auf unterschiedliche Art und Weise die Herzkontraktionen pro Minute berechnen lassen. Dies ist davon abhängig, welches Telemetriesender-Modell verwendet wird. Als Berechnungsgrundlage für die Herzfrequenz werden entweder die R-Zacken der QRS-Komplexe im EKG oder die  $P_{\max}$ -Werte (=  $P_{\text{sys}}$ ) der Blutdruckamplitude herangezogen. Wenn man beide Parameter zur Verfügung hat, wird empfohlen, den Parameter als Berechnungsgrundlage zu wählen, bei dem man im Versuch mit weniger Störeinflüssen rechnet, ansonsten kann es zu fehlerhaften Frequenzangaben kommen (Krause und Mayer 2014).

### 2.4.3.3 Körpertemperatur

Die Körpertemperatur wird über zentrale Wärmezentren reguliert und aufrechterhalten. Im Körperkern sind stets höhere Temperaturen zu messen als an den Extremitäten und nur dort ist der Körper eigentlich homoiotherm (Steinlechner 2010).

Zur Körperkerntemperaturmessung werden konventionelle Fieberthermometer verwendet. Da jedoch manche speziesspezifische Werte außerhalb des Messbereiches solcher Fieberthermometer liegen, werden häufig auch Raumthermometer mit flexiblen Sonden eingesetzt. Am genauesten erfolgt die Körperkerntemperaturbestimmung im unteren Ösophagusabschnitt, aber auch die rektale und pharyngeale Messung liefern repräsentative Werte. Bei der rektalen Messung können jedoch im Enddarm liegende Kotballen das Messergebnis beeinflussen (Henke und Erhardt 2012a).

Telemetriesender haben ihren Temperatursensor entweder im Transmittergehäuse lokalisiert oder am Ende eines Kabels. Je nachdem, ob der Transmitter intraabdominal oder subkutan fixiert wird, erhält man die Körperkern- oder Oberflächentemperatur. Die intraabdominal gemessene Temperatur ist vergleichbar mit der rektal gemessenen Körperkerntemperatur, wenn man den körpertemperaturerhöhenden Handling-Effekt der Rektalmessung außer Acht lässt (Dilsaver et al. 1992, Kramer et al. 2001). Der Sensor im Kabel hat den Vorteil, dass man ihn an den verschiedensten Stellen anbringen kann, wie zum Beispiel auch im Schwanz der Ratte, der eine bedeutende Rolle in der Thermoregulation spielt (Sharp und La Regina 1998a, Krause und Mayer 2014).

### 2.4.4 Datenverarbeitung von telemetrischen Messungen

Um die vom Receiver empfangenen Telemetriesignale an einem Bildschirm grafisch darstellen zu können ist eine bestimmte Datenverarbeitungssoftware notwendig. Hierfür gibt es eine Auswahl an sehr vielseitig einsetzbaren Programmen, wie zum Beispiel von ADInstruments®

## Literaturstudie

(www.adinstruments.com) und Biopac<sup>®</sup> (www.biopac.com). Diese Programme können sowohl telemetrisch empfangene Daten, als auch Daten von direkt angeschlossenen Messinstrumenten zeitgleich in einem System verarbeiten und wiedergeben. Die Softwareprogramme Notocord-hem<sup>TM</sup> (www.notocord.com), iox2<sup>®</sup> (www.emka.fr) und Ponemah (www.datasci.com) können ihre Benutzeroberfläche den Studienbedürfnissen entsprechend anpassen, so dass sie auch für GLP-Zwecke validiert werden können (Grenwis 2010). Abbildung 14 und 15 zeigen die Bildschirmoberfläche der Software von Notocord<sup>®</sup>. Es kann frei gewählt werden, welche Parameter in der Grafik angezeigt werden sollen. Der Skalierungsabstand der einzelnen Achsen ist dabei individuell einstellbar. In Abbildung 14 ist ein etwa einstündiger Ausschnitt einer Messung abgebildet. Die Blutdruckamplitude und das EKG-Signal erscheinen in dieser Ansicht als Balken. Wenn man diese Parameter im Detail betrachten möchte, wählt man einen Bildausschnitt mit einer viel kleineren Zeitachse (siehe Abb. 15).

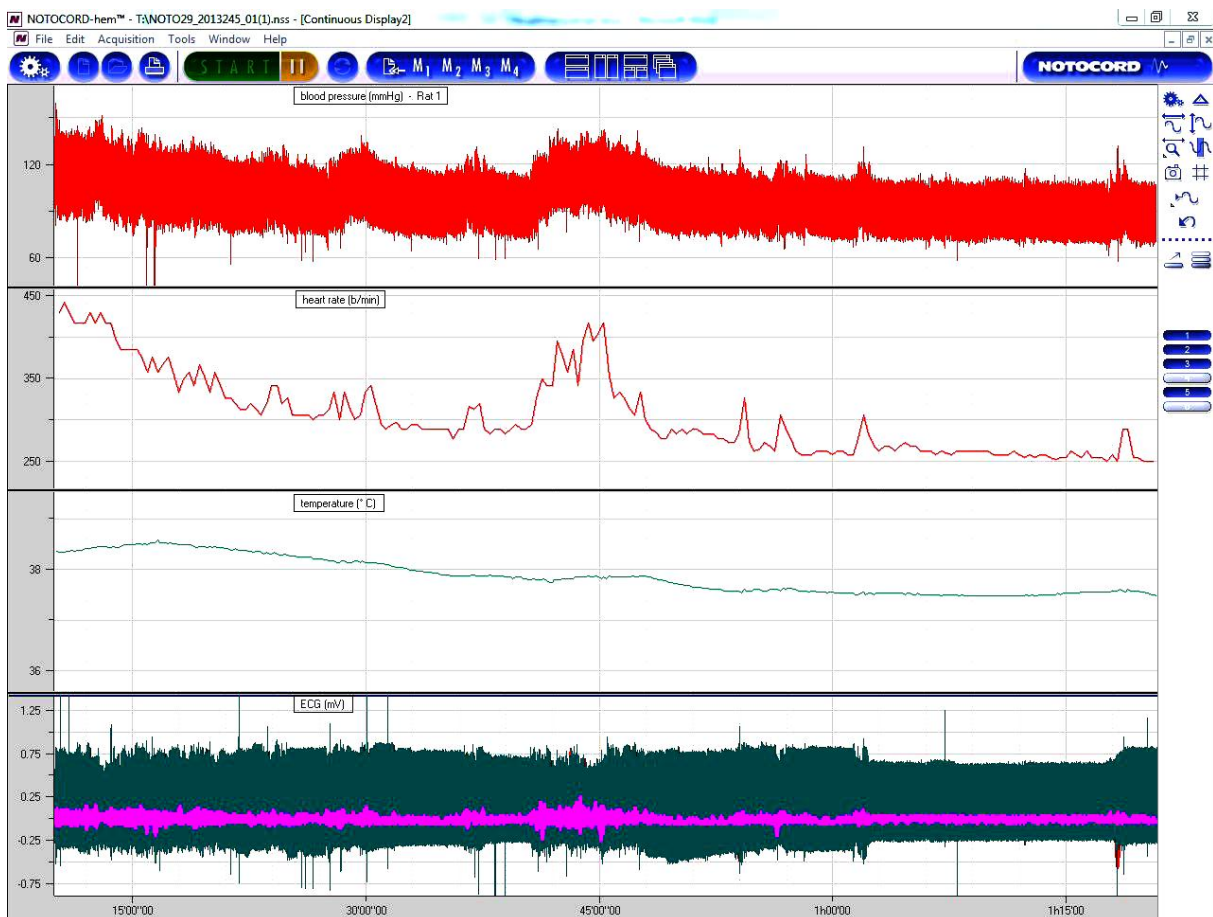


Abb. 14: Bildschirmoberfläche der Software Notocord-hem<sup>TM</sup> (Zeitausschnitt von ca. einer Stunde). Von oben nach unten sind folgenden Parameter der Ratte zu sehen: Blutdruck, Herzfrequenz, Körperkerntemperatur, EKG.

## Literaturstudie

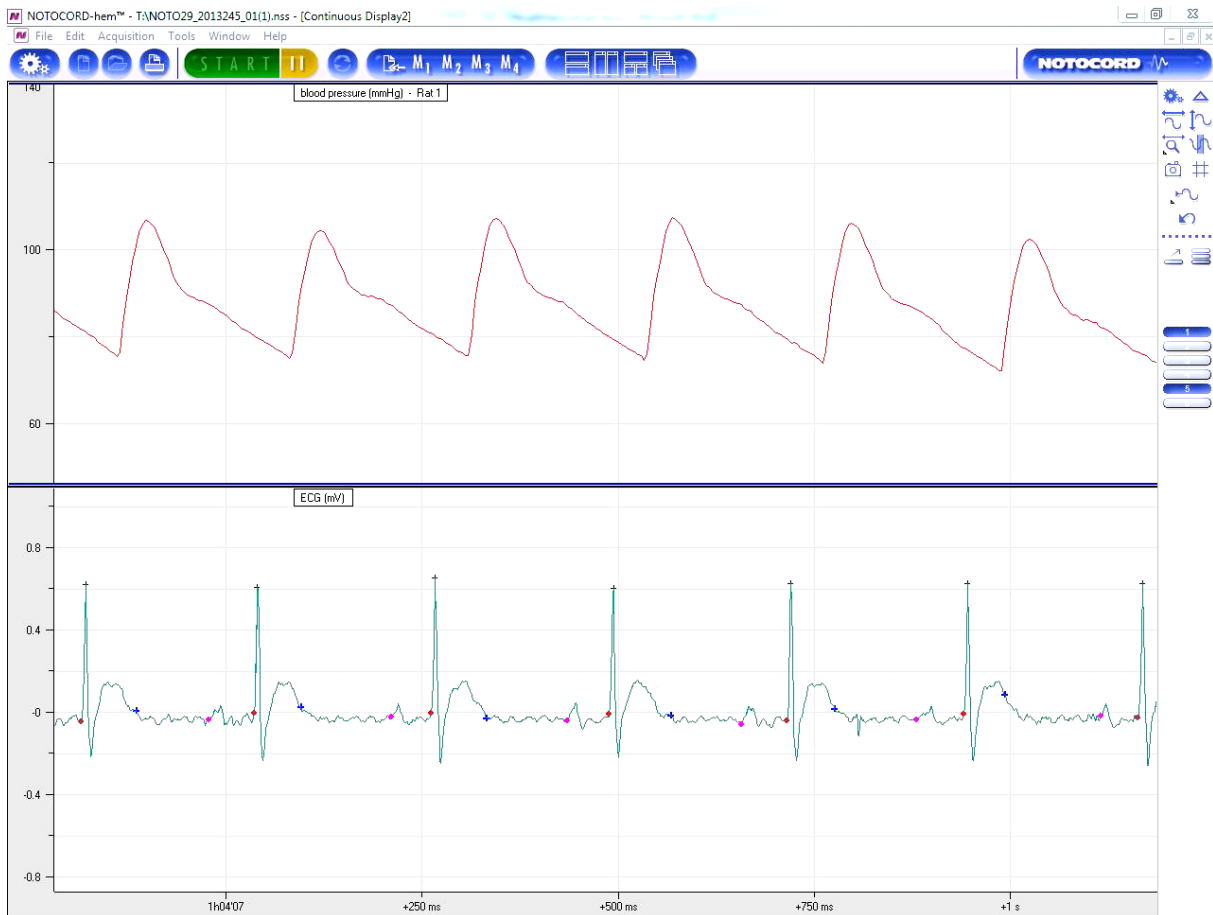


Abb. 15: Bildschirmoberfläche der Software Notocord-hem™ (Zeitausschnitt von ca. einer Sekunde). Von oben nach unten sind folgende Parameter der Ratte zu sehen: Blutdruck, EKG.

### 2.4.5 Telemetrische Datenerfassung zu Anästhesieuntersuchungen

Eine adäquat durchgeführte Anästhesie erfordert auch ein das Vorhandensein von speziellem Equipment, welches bei keiner Anästhesie fehlen darf (Flecknell 2009d). Dazu gehören ein Anästhesiegerät für die Applikation von Inhalationsanästhetika und/ oder Sauerstoff, dazugehörige Einleitungsboxen, Kopf- und Nasenkammern und vor allem eine Wärmemöglichkeit, da speziell kleine Tiere sehr schnell Körperwärme verlieren (Flecknell 2009b, Flecknell 2009d, Henke und Erhardt 2012b). Das ganze Equipment muss aus geeignetem Material sein und muss zusammen mit dem Tier während der gesamten Messung richtig positioniert werden, damit ein kontinuierliches Signal vom Transmitter im Tier zur Antenne des Receivers stattfinden kann. Das bedeutet, dass zum Beispiel zwischen Transmitter und Receiver keine Gegenstände sein dürfen, die die Signalübertragung zu stark abschwächen oder stören (Metallgitter o.Ä.). Der Abstand zwischen Transmitter und Receiver darf auch nicht größer sein, als die Reichweite des jeweiligen Signals (Bailey 2003). Dieser Abstand beträgt zum Beispiel für den DSI-Sender TL11M2-C50-PXT etwa 30 cm (Krause und Mayer 2014).

## Literaturstudie

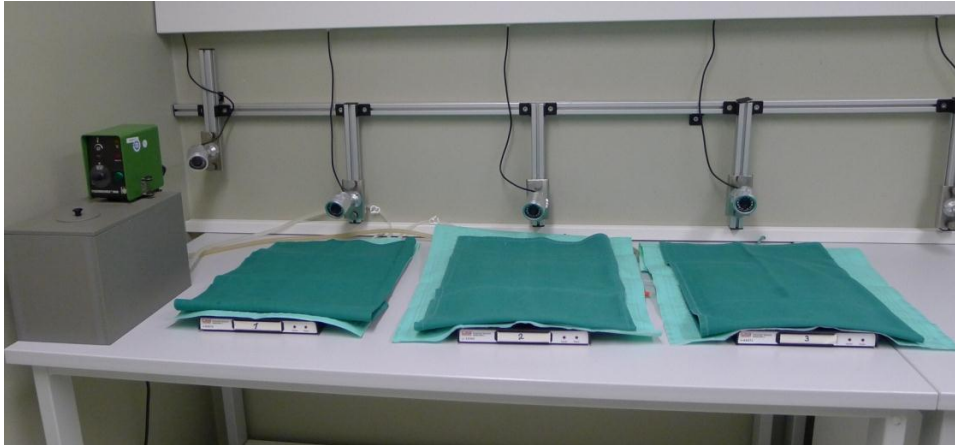
In den folgenden Abbildungen (Abb. 16-21) ist exemplarisch der Versuchsaufbau zur telemetrischen Messung einer Anästhesie bei der Ratte dargestellt, wie es auch Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist. In Abbildung 16 ist der Versuchsplatz dargestellt mit den Receiver-Platten, die mit ihrer Antenne das Telemetrie-Signal empfangen. Die Abstände der einzelnen Platten müssen so groß sein, dass sich in ihrem Empfängerradius nur ein signalsendender Transmitter befindet. Bei diesem System von DSI™ senden die Transmitter alle mit der gleichen Frequenz, so dass zwischen den Signalen der einzelnen Tiere nicht unterschieden werden kann.



*Abb. 16: Drei Anästhesieplätze mit jeweils einer Receiver-Platte.*

Da es während einer Anästhesie eine Wärmemöglichkeit für die Tiere geben sollte, wird auf jede Receiver-Platte eine Warmwasser-Wärmematte gelegt (Abb. 17). Elektrische Heizmatten eignen sich hierfür nicht, da das Innenleben solcher Matten mäanderartig gewundene, metallhaltige Leitungen enthält, die die Signalübertragung erheblich stören würden.

## Literaturstudie

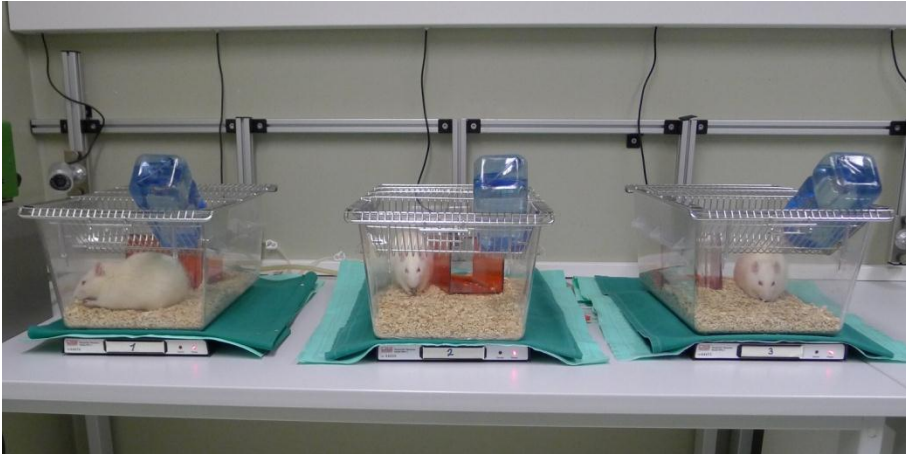


*Abb. 17: Mit je einer Warmwasser-Wärmematte und einem OP-Tuch abgedeckte Receiver-Platten.*

Auf jede Receiver-Platte wird ein Makrolon-Käfig mit je einer Ratte darin positioniert (Abb. 18). Da Ratten sich von Natur aus viel in Tunnelsystemen und Höhlen aufhalten und direktes Licht von oben eher meiden, wird jeder Makrolon-Käfig mit einem rot-transparenten Häuschen ausgestattet und mit einem OP-Tuch abgedeckt (Abb. 19) (Classen 2000). Das OP-Tuch dient zusätzlich als Sichtschutz für die anderen Ratten, wenn bei einem dieser Tiere eine Anästhesie durchgeführt wird. Um die dabei entstehenden Geräusche etwas abzdämpfen wird mit einem Radio für eine gewisse andauernde Geräuschkulisse gesorgt, so dass die Tiere nicht von einem unerwarteten Geräusch erschreckt werden. Den Tieren wird Wasser in einer Trinkflasche zur Verfügung gestellt. Obwohl das Nüchtern setzen von Nagern vor einer Anästhesie nicht empfohlen wird, erhalten die Ratten zum Zeitpunkt der Baseline-Messung kein Futter, da sie erfahrungsgemäß ohne Futter schneller zur Ruhe kommen, so dass gleichmäßige und regelmäßige Ruhewerte schneller erreicht werden und besser über einen längeren Zeitraum gemessen werden können. Da eine Ratte den größten Teil der Futterration nachts aufnimmt, fällt ein Futterentzug tagsüber nicht so schnell ins Gewicht (Erhardt und Baumgartner 2012, Krause und Mayer 2014).



## Literaturstudie



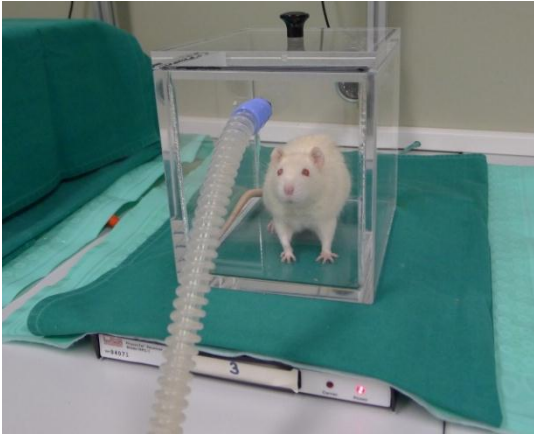
*Abb. 18: Receiver-Platten mit je einem Makrolon-Käfig und einer Ratte darin.*



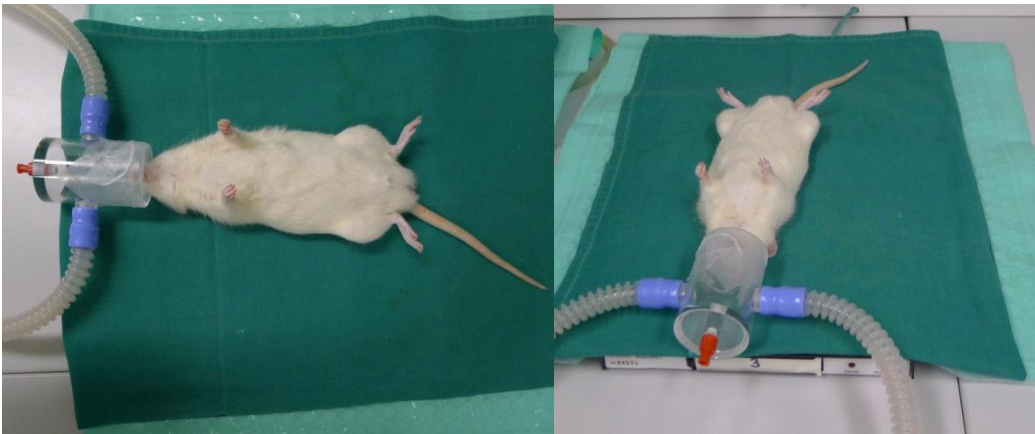
*Abb. 19: Mit OP-Tüchern abgedeckte Makrolon-Käfige.*

Zur Einleitung einer Inhalationsanästhesie wird das Tier vom Makrolon-Käfig in eine Einleitungsbox verbracht (Abb. 20). Um die Kontinuität des Signals zu garantieren, muss dieser Umsetzungsvorgang direkt über der Receiver-Platte stattfinden. Injektionsanästhetika werden direkt in dem Makrolon-Käfig appliziert, in dem sich das Tier befindet und die Ratte verbleibt in diesem Käfig bis sie den Stellreflex verloren hat. Danach wird sie aus dem Käfig bzw. aus der Einleitungsbox herausgeholt und direkt auf die Receiver-Platte mit der Warmwasser-Wärmematte gelegt. Die weitere Anästhesiegasadministration oder bei Injektionsanästhesien auch nur reine Sauerstoffgabe erfolgt anschließend über eine Nasenkammer (Abb. 21).

## Literaturstudie



*Abb. 20: Receiver-Platte mit direkt darauf positionierter Ratte in einer Einleitungsbox.*



*Abb. 21: Anästhesiegas bzw. Sauerstoff-Applikation während Anästhesie über eine Nasenkammer.*

### **3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN**

Die Durchführung der folgenden Studien wurde vom zuständigen Regierungspräsidium in Tübingen genehmigt (Genehmigungsantrag Nr. 12-038).

#### **3.1 Effects of isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl on physiological variables continuously measured by telemetry in Wistar rats**

## RESEARCH ARTICLE

## Open Access

# Effects of isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl on physiological variables continuously measured by telemetry in Wistar rats

Maike Albrecht<sup>1</sup>, Julia Henke<sup>1\*</sup>, Sabine Tacke<sup>2</sup>, Michael Markert<sup>3</sup> and Brian Guth<sup>3</sup>

## Abstract

**Background:** This study investigated effects on cardiovascular parameters during anaesthesia with isoflurane (ISO, 2–3 Vol%), ketamine-xylazine (KX, 100 mg·kg<sup>-1</sup> + 5 mg·kg<sup>-1</sup>) or a combination of medetomidine-midazolam-fentanyl (MMF, 0.15 mg·kg<sup>-1</sup> + 2.0 mg·kg<sup>-1</sup> + 0.005 mg·kg<sup>-1</sup>) in rats throughout induction, maintenance and recovery from anaesthesia. Rats were instrumented with a telemetric system for the measurement of systolic, diastolic and mean arterial pressure (SAP, DAP, MAP), pulse pressure (PP), heart rate (HR) and core body temperature (BT). The parameters were continuously measured before, during and after each type of anaesthesia. Forty minutes after induction, ISO delivery was terminated and MMF was antagonized with atipamezole-flumazenil-naloxone (AFN, 0.75 mg·kg<sup>-1</sup> + 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> + 0.12 mg·kg<sup>-1</sup>) whereas KX was not antagonized.

**Results:** Differences were observed between anaesthetics with KX (301 min) lasting much longer than MMF (45 min) and ISO (43 min). HR in ISO ( $\bar{x} = 404 \pm 25$  bpm) increased during the time of surgical tolerance whereas a HR decrease was observed in KX ( $\bar{x} = 255 \pm 26$  bpm) and MMF ( $\bar{x} = 209 \pm 24$  bpm). In ISO (MAP during time of surgical tolerance:  $\bar{x} = 89 \pm 12.3$  mmHg) and KX (MAP during wake-up period:  $\bar{x} = 84 \pm 8.5$  mmHg) mild hypotensive values were observed, whereas blood pressure (BP) in MMF (MAP during time of surgical tolerance:  $\bar{x} = 138 \pm 9.9$  mmHg) increased. Despite keeping animals on a warming pad, a loss of BT of about 1°C was seen in all groups. Additionally, we observed a peaked increase of HR ( $\bar{x} = 445 \pm 20$  bpm) during the wake-up period with ISO and an increase of PP ( $\bar{x} = 59 \pm 8.5$  mmHg) in MMF during the time of surgical tolerance.

**Conclusion:** The anaesthetics influenced very differently the cardiovascular parameters measured in Wistar rats. ISO caused mild hypotension and increased HR whereas MMF produced a marked hypertension and a significant decrease of HR. The slightest alterations of BP, HR and BT were observed using KX, but the long wake-up and recovery period suggest the need for prolonged monitoring.

**Keywords:** Rat, Anaesthesia, Isoflurane, Ketamine-xylazine, Medetomidine-midazolam-fentanyl, Telemetry, Heart rate, Blood pressure, Core body temperature

\* Correspondence: julia.henke@boehringer-ingenheim.com

<sup>1</sup>Department of Nonclinical Drug Safety, Biological Laboratory Service, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Birkendorfer Str. 65, 88397 Biberach, Germany

Full list of author information is available at the end of the article



© 2014 Albrecht et al.; licensee BioMed Central Ltd. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly credited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.



## Background

The rat is a commonly used animal in research and for many experimental procedures anaesthesia is required or recommended [1,2]. In the selection of an optimal anaesthetic agent to use, the considerations include: 1) ease of handling, 2) a low-stress induction and recovery, 3) minimal impact on physiological parameters and thereby the research results, 4) the ability to adjust the level of anaesthesia or to prolong it if necessary and, when needed, 5) a rapid recovery from the anaesthesia. Since a given anaesthesia regime may influence experimental outcomes, the choice of a suitable anaesthesia has to be considered carefully in regard to the experimental requirements [1,3]. The influence of different anaesthetics on cardiovascular and respiratory parameters, body temperature, circadian rhythm, blood values, locomotor activity, intracranial pressure or even on cognitive skills has been the subject of previous studies [4-14]. It was also shown that responses to anaesthetics may be strain-dependent [1,15]. However, the methods for assessing effects on arterial blood pressure (BP) in many studies were limited, data collection was too short, or the data analysis was inadequate to detect potentially important alterations. Thus, the purpose of this study was to provide an accurate and continuous assessment of the cardiovascular effects of three commonly used anaesthetic regimens in rats. We therefore compared inhalational anaesthesia using isoflurane (ISO), with an intramuscular (i.m.) combination of ketamine and xylazine (KX) as well as a completely antagonizable anaesthesia using the combination of medetomidine, midazolam and fentanyl (MMF) administered i.m. in adult male Wistar rats instrumented for the continuous, telemetric collection of cardiovascular parameters.

The use of ISO increased over the last years, although specialized equipment is required for an inhalational anaesthesia [16]. ISO has little influence on metabolism because of an almost complete elimination via exhaled air and it offers simple handling in deepening and prolongation of anaesthesia which could be reasons for its increased use [1,3,17]. However, for painful procedures one should supplement ISO with analgesics due to its weak analgesic properties [18]. KX is a routinely used anaesthetic mixture in laboratory animals, although it is not always recommended as a suitable anaesthetic combination for use specifically in rats [3,16,19-21]. MMF is commonly used in Germany, although it is not as common as KX or ISO in other countries. Therefore, experimental data concerning MMF anaesthesia are limited. This anaesthesia offers the advantage of a rapid and complete reversal by using an injection of atipamezole, flumazenil and naloxone (AFN) [20,22-25]. Anaesthesia in rodents influences diurnal rhythm and often results in hypothermia and hypoglycemia because of their high

metabolic rate and their large surface area to body weight ratio [3,20,26-28]. Due to a fast resumption of food and water intake because of a very short recovery period when antagonized and, by our experience, its excellent survival rate, MMF seems to be advantageous over other anaesthetics in rodents. One important point to consider with MMF is the reversal of analgesia by naloxone. Postoperative pain management has to be provided by other compounds than opioids or one has to keep into consideration a partial antagonization with an opioid-agonist/antagonist or partial agonist such as butorphanol or buprenorphine [29-32]. Despite these possible advantages or disadvantages of these three anaesthesia regimes, there is little data on their cardiovascular effects throughout induction, maintenance and recovery from the anaesthesia, effects that could be decisive for the selection of the optimal anaesthesia for a given setting.

To ensure high quality data, we used rats implanted with a telemetry device to provide continuous, state-of-the-art monitoring of cardiovascular parameters [33-36]. Telemetry technology allows group-housing conditions and measurement in freely moving rats, without the need for a stressful restraint. The data is also not influenced by an additional anaesthesia performed a few days or only hours prior to an experiment, to implant an exteriorized catheter for measuring blood pressure [37].

The aim of this study was to show alterations in cardiovascular parameters including systolic arterial pressure (SAP), diastolic arterial pressure (DAP), mean arterial pressure (MAP), pulse pressure (PP), heart rate (HR) and core body temperature (BT) during ISO, KX and MMF anaesthesia in male Wistar rats at specific stages of anaesthesia (induction, maintenance and recovery).

## Methods

### Animals

Twelve, male Wistar rats with a mean body weight of  $287 \pm 30$  g were acquired from a commercial breeder (Charles River Laboratories, Sulzfeld, Germany). These animals were housed in groups of three in a Makrolon® cage (Type IV) containing a wooden bedding material (Lignocel select fine, J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co. KG, Rosenberg, Germany). Cage bedding changes were performed twice weekly. Two red, transparent plastic tubes, nesting material and a wooden chewing block were provided in each cage for animal enrichment. The rats received a commercially available diet (3438 maintenance diet, KLIBA NAFAG, Provimi Kliba AG, Kaiseraugst, Switzerland) and tap water *ad libitum*. The animal room was maintained at  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  and  $55 \pm 10\%$  relative humidity and there was an air change of at least 15 cycles/hour. Light was on from 6:00 am to 6:00 pm, starting and ending with a dimmer-period of 30 minutes. Together with the light, a radio was turned on. The rats

were allowed to acclimate to the housing conditions and the husbandry procedures for at least two weeks prior to the surgical implantation of the radiotelemetry transmitter (see below).

#### Implantation of the radiotelemetry transmitter

The implantation of the transmitter (DSI PhysioTel™ C50-PXT) was performed under general anaesthesia using MMF in the same dosage as described below in this study. One third of the initial dosage was administered again after 45 minutes in order to maintain anaesthesia. For analgesia, the rats received prior to surgery 50 mg•kg<sup>-1</sup> metamizole i.m. (Novalgine®, 500 mg•ml<sup>-1</sup>, Sanofi Aventis, Frankfurt/Main, Germany) and 1 mg•kg<sup>-1</sup> meloxicam s.c. (Metacam®, 20 mg•ml<sup>-1</sup>, Boehringer Ingelheim, Ingelheim/Rhein, Germany). Metamizole application was repeated three times until the next day. To prevent a bacterial infection, 10 mg•kg<sup>-1</sup> enrofloxacin (Baytril® 2.5% ad us. vet., Bayer, Leverkusen, Germany) was administered subcutaneously after the analgesic injections. As soon as the rats lost their righting reflex, the ventral site of the rat was shaved and then disinfected with Kodan®-spray (Schülke & Mayr, Norderstedt, Germany) and Betaisodona®-solution (Mundipharma GmbH, Limburg (Lahn), Germany). Protective eye lubricant (VitA-POS, Ursapharm, Saarbrücken, Germany) was administered to both eyes, loss of body temperature was minimized using a warm water heating pad and supplemental oxygen was provided through a nose cone. Once a surgical level of anaesthesia was confirmed through the loss of reflexes, an incision was made in the *linea alba* from below the sternum to the umbilical region to open the abdominal cavity. The intestinal tract was carefully repositioned using a moist swab in a cranial direction to exposure the *aorta abdominalis* which was dissected free for insertion of the blood pressure catheter of the telemetry unit. Blood flow was temporarily stopped using two vascular clips and the catheter was inserted between them and fixed in place with tissue glue (Histoacryl®, B. Braun, Aesculap AG, Tuttlingen, Germany). Clips and the swab were then removed and the transmitter was sutured to the abdominal wall (Mersilene® 3-0, Ethicon®, Johnson-Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Germany). The ECG leads were exteriorized through the abdominal muscle layer and placed subcutaneously, one to the end of the sternum and the other to the ventral region of the trachea. The ECG leads were sutured to the nearby muscle tissue (Mersilene® 3-0, Ethicon®, Johnson-Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Germany). The abdominal cavity was closed in layers with first a muscle and then a skin suture (Vicryl® 3-0, Ethicon®, Johnson-Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Germany). At the end of the procedure the rats received 20 ml•kg<sup>-1</sup> warmed lactated ringer's solution (Ringer-Lactat nach Hartmann B. Braun, B. Braun,

Melsungen, Germany) subcutaneously. The anaesthesia was then antagonized with a subcutaneous injection of AFN (same dosage as used in this study, see below). The whole implantation procedure took 90 minutes on average. Meloxicam was administered once-daily for two additional days. The rats were allowed two weeks to recover from this surgical procedure before entering the study.

#### Experimental design

The three different anaesthetic treatments were evaluated using a randomized, crossover design with each rat receiving each of the following three anaesthetic treatments on different days: 1) an inhalational anaesthesia with isoflurane for 40 minutes (Forene® 100% (V/V), Abbott, Wiesbaden, Germany), 2) a combination of ketamine (Ketavet®, 100 mg•ml<sup>-1</sup>, Pfizer, Berlin, Germany) and xylazine (Rompun® 2%, 20 mg•ml<sup>-1</sup>, Bayer, Leverkusen, Germany) administered intramuscularly and 3) a combination of medetomidine (Domitor, 1 mg•ml<sup>-1</sup>, Orion Pharma, Espoo, Finland), midazolam (Dormicum®, 5 mg/ml, Roche, Grenzach-Wyhlen, Germany) and fentanyl (Fentanyl-Janssen, 0.05 mg•ml<sup>-1</sup>, Janssen, Wien, Austria) administered intramuscularly and reversed after 40 minutes with a subcutaneous injection of atipamezole (Antisedan®, 5 mg•ml<sup>-1</sup>, Orion Pharma, Espoo, Finland), flumazenil (Flumazenil Hexal®, 0.1 mg•ml<sup>-1</sup>, Hexal, Holzkirchen, Germany) and naloxone (Naloxon Inresa, 0.4 mg•ml<sup>-1</sup>, Inresa, Freiburg, Germany). With KX anaesthesia the rats received no treatment to reverse the anaesthesia. The rats were allowed a recovery period of two weeks between the anaesthesias. To allow for a thorough monitoring of each individual rat during anaesthesia, only three anaesthesias were performed per day. SAP, DAP, MAP, PP, HR and BT were continuously measured from the start of measurements (6.00 am) until the end of measurements (~5 pm). A complete measurement consisted of a 2–4 hour pre-treatment acclimatization period for reaching baseline values, the time for performing anaesthesia (a duration of 40 minutes was chosen for ISO and MMF anaesthesia; KX anaesthesia lasted in some animals up to 395 minutes, because it was not reversed), a wake-up and a recovery period. All anaesthesias were performed by the same veterinarian to reduce variability.

The experimental procedures were approved by the Animal Care and Ethics Committee of the Regional Authority in Tuebingen, Baden-Wuerttemberg, Germany (Approval number: 12–038).

#### Procedure

Before starting the telemetric measurement, each rat was weighed and placed individually into a Makrolon® cage, containing bedding material and a red, transparent plastic tube and covered with a cloth. Single housing and withdrawal of food were required, because rats had



come to rest to assess individual baseline values. Tap water was provided in a water bottle during the entire time of data collection. Each cage was placed on a radio-frequency receiver plate. A water heating pad was placed between the cage and the telemetric receiver plate and it was left on (38°C) throughout the study. Data collection started by switching on the radiotransmitter using a magnet, the operator left the room and the animals were given at least two hours to establish resting, baseline conditions. Afterwards, the induction of anaesthesia was started with the first rat. It was of note that this procedure seemed to have no impact on the cardiovascular parameters measured from the other two rats in the room. Their cages were still covered with a cloth and anaesthesia was performed as quiet as possible so that the produced noise did not drown out the radio, which was switched on at the beginning of measurements. Each rat received protective eye lubricant (VitA-POS, Ursapharm, Saarbrücken, Germany) at the beginning of anaesthesia. After induction of anaesthesia, the righting reflex (defined as positive, when a rat, placed on its back/side, immediately turns over to the normal position with all four feet on the ground) and pedal withdrawal reflex on the hind and forelimbs were monitored and classified (+, ±, -) after 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20, 30, 40, 42.5, 45, 47.5, 50, 60, 70... minutes until the righting reflex had returned. The time until loss and later regaining of the righting reflex was determined. Based on the presence or absence of the reflexes assessed, the anaesthesia time was divided into the following intervals: 1) the **induction time** defined as the time from application of the anaesthetic(s) to loss of the righting reflex, 2) the **time of non-surgical tolerance**, defined as the time from the loss of the righting reflex until loss of the pedal withdrawal reflexes on the hind and forelimbs, 3) the **time of surgical tolerance**, defined as the time from the absence of righting and pedal withdrawal reflexes until regaining at least one pedal withdrawal reflex, 4) the **wake-up period**, describing the time from regaining one pedal withdrawal reflex until regaining the righting reflex and 5) the **time of recovery**, defined as the time from regaining the righting reflex until the end of measurements. The measurements were terminated not earlier than six hours after induction for all three anaesthesias. Because of long-lasting effects of KX, measurements continued for at least two hours after the rats regained the righting reflex.

The different anaesthetic treatments were performed as described below.

#### ISO

A whole body chamber was prefilled with 5 Vol % ISO in 100% oxygen. The chamber was placed on the transmitter receiver plate and the rat was positioned into the

chamber and the time was measured till loss of the righting reflex. To assess the righting reflex, the chamber with the animal was tipped over. The rat was then placed in dorsal recumbency in the middle of the water heating pad and 5 Vol % ISO was further administered using a nose cone. The concentration of ISO was then individually regulated and reduced to 2–3 Vol % for producing a depth of anaesthesia suitable for surgical procedures, which meant that all reflexes tested had to disappear. Forty minutes after induction of anaesthesia, ISO administration was stopped and the rat was put back in its cage on the receiver. The rat was positioned on its back, so that return of the righting reflex could be determined, when the animal turned around to a ventral recumbency.

#### KX

Ketamine (100 mg•kg<sup>-1</sup>) and xylazine (5 mg•kg<sup>-1</sup>) were mixed together in one syringe. The volume of the KX injection was too large (1.25 ml•kg<sup>-1</sup>) to be administered in one hind leg, therefore, it was divided in half and injected intramuscularly in the caudal parts of the femoral musculature of both hind legs. For a continuous telemetric measurement even during this procedure, the injection was performed next to the receiver plate to assure capture of the telemetric signals. After loss of the righting reflex, the rat was placed on its back in the middle of the heating pad and supplied with 100% oxygen using a nose cone. Due to the fact that the duration of this anaesthesia could not be accurately predicted, the rat stayed on the heating pad until its righting reflex returned. Thereafter, the animal was immediately placed back in its cage located on the receiver. The long sleeping and recovery time in KX anaesthesia necessitated the administration of fluids and therefore all rats received 5 ml of warmed lactated ringer's solution (Ringer-Lactat nach Hartmann B. Braun, B. Braun, Melsungen, Germany) subcutaneously one hour after induction.

#### MMF

Medetomidine (0.15 mg•kg<sup>-1</sup>), midazolam (2.0 mg•kg<sup>-1</sup>) and fentanyl (0.005 mg•kg<sup>-1</sup>) were mixed in one syringe (total volume: 0.65 ml•kg<sup>-1</sup>) and were administered intramuscularly in the caudal part of the femoral musculature of one hind leg. After loss of the righting reflex the cage was removed and the rat was placed in dorsal recumbency in the middle of the heating pad and 100% oxygen was provided using a nose cone. The antagonists atipamezole (0.75 mg•kg<sup>-1</sup>), flumazenil (0.2 mg•kg<sup>-1</sup>) and naloxone (0.12 mg•kg<sup>-1</sup>) were mixed in one syringe and administered subcutaneously 40 minutes after induction of the anaesthesia. Thereafter, the rat was returned to its cage in dorsal recumbency to determine the moment of righting.

**Statistical analysis**

NOTOCORD-hem™ was used for telemetric data acquisition and data were further evaluated using MS Excel. Values for each parameter over 10 minutes were summarized by the assessment of mean baseline values. Baseline values were calculated as the mean of the measurements starting 60 up to 10 minutes before the induction of anaesthesia. Mean values measured during and after anaesthesia were calculated with medians based on 20 second intervals. For data import from MS Excel the software package SAS 9.2 was used. The statistical evaluation was done using the software package SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA). The statistical evaluation was done for each parameter measured (SAP, DAP, MAP, PP, HR and BT) and each of the defined intervals (induction time, time of non-surgical tolerance, time of surgical tolerance, wake-up and recovery period). The area under the curve (AUC) was calculated for each animal individually using the trapezoidal rule for the intervals. The different intervals were compared to the baseline interval by an analysis of variance (ANOVA) for repeated measurements for every anaesthesia separately. Effects were quantified by mean differences and their two-sided 95% confidence interval. Additionally, the parameters were analysed by a one-factorial analysis of covariance (ANCOVA) with heteroscedastic variances and the fix factor treatment including the baseline as covariate. The following comparisons were performed by two sided t-tests:

ISO vs. KX,  
ISO vs. MMF,  
KX vs. MMF.

Treatment effects were quantified by mean differences, based on the adjusted mean values, and their two-sided 95% confidence interval. The level of significance for both analysis was fixed at  $\alpha = 5\%$ . A p-value less than 0.05 was considered to be statistically significant.

**Results**

In the course of experiments three rats developed a poor quality blood pressure signal; in two rats it occurred between the first and the second anaesthesia and in one rat between the second and third anaesthesia. Therefore two ISO, two MMF and one KX measurements were not available for the statistical analysis. Furthermore an anaesthetic emergency occurred during one MMF anaesthesia and one rat receiving KX anaesthesia never reached the anaesthetic stage of surgical tolerance. These animals were excluded from further analysis. Consequently, ten ISO, ten KX and nine MMF measurements were included in the statistical analysis.

All haemodynamic data and body temperature are summarized in Table 1 and the statistical analysis for the comparison of anaesthetic treatments is found in Table 2. There were no relevant differences in baseline values among the three treatment groups. The PP in KX (25 mmHg) was, however, slightly lower than that seen in ISO (31 mmHg) or MMF (31 mmHg).

Figure 1 shows the mean durations of the anaesthetic stages for ISO, KX and MMF anaesthesia. The durations of induction time (40 sec) and time of non-surgical tolerance (3 min) in ISO were shorter compared to those using KX (4 min, 6 min) and MMF (5 min, 8 min). Surgical tolerance using ISO and MMF lasted for 40 minutes after induction, since ISO delivery was then stopped and MMF was reversed with its antagonists at this point in time. KX anaesthesia was not reversed and the duration of surgical tolerance (110 min) was much longer compared to those of ISO (36 min) or MMF (28 min). The duration of the wake-up period in ISO (3 min) and MMF (4 min) were comparable and much shorter than the wake-up period of KX (182 min).

**ISO**

During induction time SAP, DAP and MAP increased significantly to 133, 97, and 109 mmHg, respectively. PP increased significantly to 36 mmHg, HR increased significantly to 381 bpm and BT remained stable at 37.4°C. PP (35 mmHg), HR (369 bpm) and BT (37.3°C) showed only a slight reduction from induction to the time of non-surgical tolerance but remained significantly increased. SAP (120 mmHg), DAP (85 mmHg) and MAP (96 mmHg) decreased almost to their baseline values and showed no significant differences compared to their baseline values. During surgical tolerance PP remained significantly increased with 33 mmHg. SAP decreased to 111 mmHg, DAP and MAP decreased significantly to 78 and 89 mmHg, respectively. HR increased significantly to 404 bpm and BT decreased significantly to 36.6°C. BP values (SAP 126 mmHg, DAP 89 mmHg, MAP 101 mmHg, PP 37 mmHg) started to increase during the wake-up period. HR reached a peak of 445 bpm and BT decreased significantly further to 36.4°C. During recovery time, HR partially normalized to 300 bpm but was still significantly increased compared to baseline and BT returned to the baseline value (37.3°C). BP returned almost to baseline values (SAP 119 mmHg, DAP 90 mmHg, MAP 100 mmHg, PP 30 mmHg) as well but with still significant increases in DAP and MAP compared to baseline.

**KX**

BP values (SAP 144 mmHg, DAP 113 mmHg, MAP 123 mmHg, PP 31 mmHg) and HR (371 bpm) increased significantly during the induction time, whereas BT



**Table 1 Mean values with standard deviation**

Parameter	Treatment	Baseline	Induction time	Non-surgical tolerance	Surgical tolerance	Wake-up period	Recovery
		Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
SAP (mmHg)	ISO	118 ± 8.2	133 ± 11.2*	120 ± 21.5	111 ± 12.9	126 ± 10.8*	119 ± 6.2
	KX	117 ± 7.0	144 ± 10.5*	129 ± 19.1*	111 ± 14.3	99 ± 8.1*	113 ± 10.3
	MMF	120 ± 9.1	167 ± 14.1*	170 ± 12.7*	177 ± 15.1*	113 ± 10.0	117 ± 5.2
DAP (mmHg)	ISO	87 ± 5.8	97 ± 9.5*	85 ± 19.2	78 ± 12.1*	89 ± 9.1	90 ± 4.6*
	KX	92 ± 9.1	113 ± 8.9*	99 ± 17.3	85 ± 14.2*	76 ± 9.6*	86 ± 5.9
	MMF	89 ± 5.9	124 ± 8.9*	121 ± 9.3*	118 ± 7.6*	86 ± 7.9	91 ± 4.5
MAP (mmHg)	ISO	97 ± 6.5	109 ± 10.0*	96 ± 19.9	89 ± 12.3*	101 ± 9.6	100 ± 5.0*
	KX	100 ± 8.0	123 ± 8.9*	109 ± 17.7*	93 ± 13.9*	84 ± 8.5*	95 ± 6.5
	MMF	99 ± 6.9	138 ± 10.6*	137 ± 10.1*	138 ± 9.9*	95 ± 8.5	100 ± 4.6
PP (mmHg)	ISO	31 ± 3.8	36 ± 3.5*	35 ± 3.4*	33 ± 2.9*	37 ± 3.7*	30 ± 2.7
	KX	25 ± 5.9	31 ± 6.7*	30 ± 5.9*	26 ± 6.8	23 ± 7.0*	27 ± 8.7
	MMF	31 ± 3.8	43 ± 5.7*	50 ± 5.9*	59 ± 8.5*	27 ± 3.1*	26 ± 2.4*
HR (bpm)	ISO	293 ± 18.1	381 ± 35.1*	369 ± 22.0*	404 ± 24.5*	445 ± 20.0*	300 ± 14.1*
	KX	281 ± 22.7	371 ± 33.9*	271 ± 24.0	255 ± 25.7*	289 ± 31.3	316 ± 17.1*
	MMF	293 ± 32.9	303 ± 30.2	229 ± 20.9*	209 ± 24.0*	255 ± 28.6*	286 ± 22.5
BT (°C)	ISO	37.34 ± 0.17	37.38 ± 0.23	37.33 ± 0.26	36.56 ± 0.55*	36.39 ± 0.71*	37.34 ± 0.16
	KX	37.34 ± 0.26	37.27 ± 0.25	37.22 ± 0.22	36.78 ± 0.41*	36.95 ± 0.53	37.55 ± 0.45
	MMF	37.49 ± 0.41	37.43 ± 0.40	37.30 ± 0.51	36.90 ± 0.86*	36.54 ± 0.93*	37.25 ± 0.43

No. of animals per treatment: ISO n = 10, KX n = 10, MMF n = 9.

\*statistically significant difference (p value ≤ 0.05) based on the ANOVA for the comparison of anaesthetic intervals versus baseline.

(37.3°C) remained stable. From induction to time of non-surgical tolerance a reduction was observed in all parameters. PP (30 mmHg) was still significantly increased and BT (37.2°C) was not significantly affected. BP values (SAP 129 mmHg, DAP 99 mmHg, MAP 109 mmHg) and HR (271 bpm) came close to baseline values but SAP and MAP showed still a significant increase. From non-surgical to surgical tolerance all parameters showed a decrease and, except PP, reached levels lower than their baseline values (SAP 111 mmHg, DAP 85 mmHg, MAP 93 mmHg, PP 26 mmHg, HR 255 bpm, BT 36.8°C). The difference was significant for DAP, MAP, HR and BT. A significant decrease still could be observed during wake-up period (SAP 99 mmHg, DAP 76 mmHg, MAP 84 mmHg, PP 23 mmHg), except in HR (289 bpm) and BT (37.0°C) which showed values close to their baseline. BP values increased (SAP 113 mmHg, DAP 86 mmHg, MAP 95 mmHg, PP 27 mmHg) once the animals had righted themselves and values returned almost to baseline. HR significantly increased to 316 bpm and BT continued to increase to a final value of 37.6°C.

#### MMF

Significant increases in BP values (SAP 167 mmHg, DAP 124 mmHg, MAP 138 mmHg, PP 43 mmHg) were observed during the induction time. HR (303 bpm) and

BT (37.4°C) did not change significantly from their baseline values. PP (50 mmHg) and SAP (170 mmHg) continued to increase significantly during the time of non-surgical tolerance and MAP (137 mmHg) and DAP (121 mmHg) showed no great alteration compared to induction time but remained significantly increased. A decrease in HR (from 303 to 229 bpm) was observed from induction time to time of non-surgical tolerance and BT was not significantly affected. During time of surgical tolerance PP reached a maximum of 59 mmHg with a SAP of 177 mmHg, a DAP of 118 mmHg and a MAP of 138 mmHg. HR and BT significantly decreased to 209 bpm and 36.9°C, respectively. During the wake-up period initiated by the administration of the three antagonists, BP parameters (SAP 113 mmHg, DAP 86 mmHg, MAP 95 mmHg, PP 27 mmHg) decreased to levels lower than baseline values, but this change from baseline was only significant for PP. HR (255 bpm) remained significantly decreased. BT further decreased to 36.5°C during wake-up period. BP values (SAP 117 mmHg, DAP 91 mmHg, MAP 100 mmHg), HR (286 bpm) and BT (37.3°C) returned back to baseline values during the time of recovery, except PP (26 mmHg), where a significant decrease still could be observed.

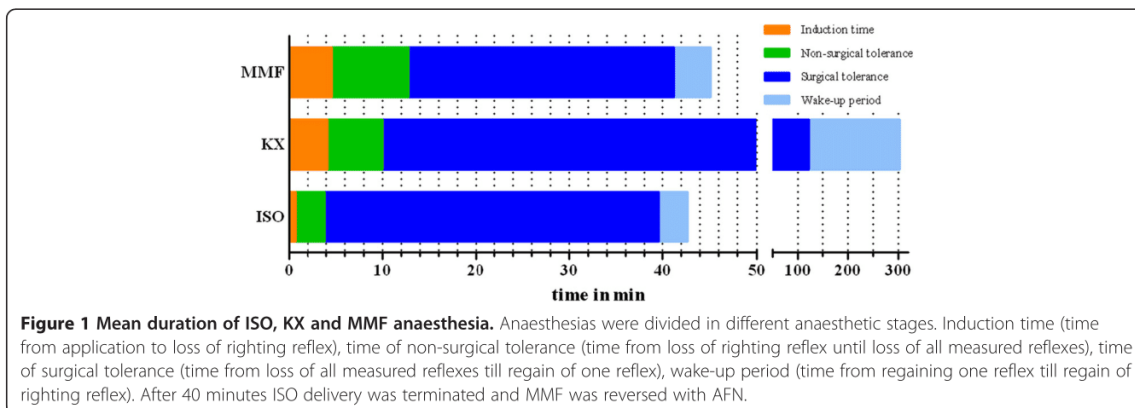
As demonstrated in Figures 2, 3, 4 and 5 (MAP, PP, HR, BT) the measured parameters showed differences

**Table 2 P values based on the ANCOVA**

Parameter	Treatment	Induction time		Non-surgical tolerance		Surgical tolerance		Wake-up period		Recovery	
		Mean difference	P value	Mean difference	P value	Mean difference	P value	Mean difference	P value	Mean difference	P value
SAP (mmHg)	ISO vs. KX	-13.18	< 0.01*	-9.15	0.15	-0.58	0.88	26.46	< 0.01*	6.33	0.07
	ISO vs. MMF	-33.07	< 0.01*	-45.79	< 0.01*	-63.08	< 0.01*	15.41	< 0.01*	3.54	0.03*
	KX vs. MMF	-19.88	< 0.01*	-36.64	< 0.01*	-62.50	< 0.01*	-11.05	0.03*	-2.80	0.38
DAP (mmHg)	ISO vs. KX	-13.57	< 0.01*	-7.27	0.27	-1.72	0.70	16.39	< 0.01*	5.96	0.01*
	ISO vs. MMF	-27.08	< 0.01*	-33.41	< 0.01*	-38.62	< 0.01*	4.83	< 0.01*	-0.95	0.52
	KX vs. MMF	-13.50	< 0.01*	-26.14	< 0.01*	-36.90	< 0.01*	-11.56	< 0.01*	-6.92	< 0.01*
MAP (mmHg)	ISO vs. KX	-13.12	< 0.01*	-7.33	0.25	-0.90	0.83	19.57	< 0.01*	6.14	0.02*
	ISO vs. MMF	-29.09	< 0.01*	-37.48	< 0.01*	-46.74	< 0.01*	8.32	0.05*	0.54	0.71
	KX vs. MMF	-15.98	< 0.01*	-30.16	< 0.01*	-45.84	< 0.01*	-11.25	< 0.01*	-5.60	0.03*
PP (mmHg)	ISO vs. KX	-0.76	0.59	2.10	0.26	2.68	0.15	8.41	< 0.01*	-0.44	0.80
	ISO vs. MMF	-6.41	< 0.01*	-13.95	< 0.01*	-25.42	< 0.01*	11.09	< 0.01*	4.55	< 0.01*
	KX vs. MMF	-5.65	< 0.01*	-16.05	< 0.01*	-28.10	< 0.01*	2.69	0.20	4.99	0.02*
HR (bpm)	ISO vs. KX	14.62	0.36	93.14	< 0.01*	144.75	< 0.01*	148.62	< 0.01*	-20.86	< 0.01*
	ISO vs. MMF	85.80	< 0.01*	139.93	< 0.01*	195.12	< 0.01*	190.22	< 0.01*	13.41	0.09
	KX vs. MMF	71.17	< 0.01*	46.79	< 0.01*	50.37	< 0.01*	41.60	< 0.01*	34.27	< 0.01*
BT (°C)	ISO vs. KX	0.11	0.11	0.10	0.26	-0.22	0.34	-0.56	0.08	-0.21	0.18
	ISO vs. MMF	0.09	0.26	0.16	0.20	-0.19	0.52	-0.04	0.92	0.19	0.17
	KX vs. MMF	-0.01	0.87	0.06	0.67	0.03	0.90	0.52	0.14	0.39	0.04*

\*statistically significant difference (p value ≤ 0.05 in bold print) based on the ANCOVA with baseline as covariate for the comparison of anaesthetic treatments.

## Eigene Untersuchungen

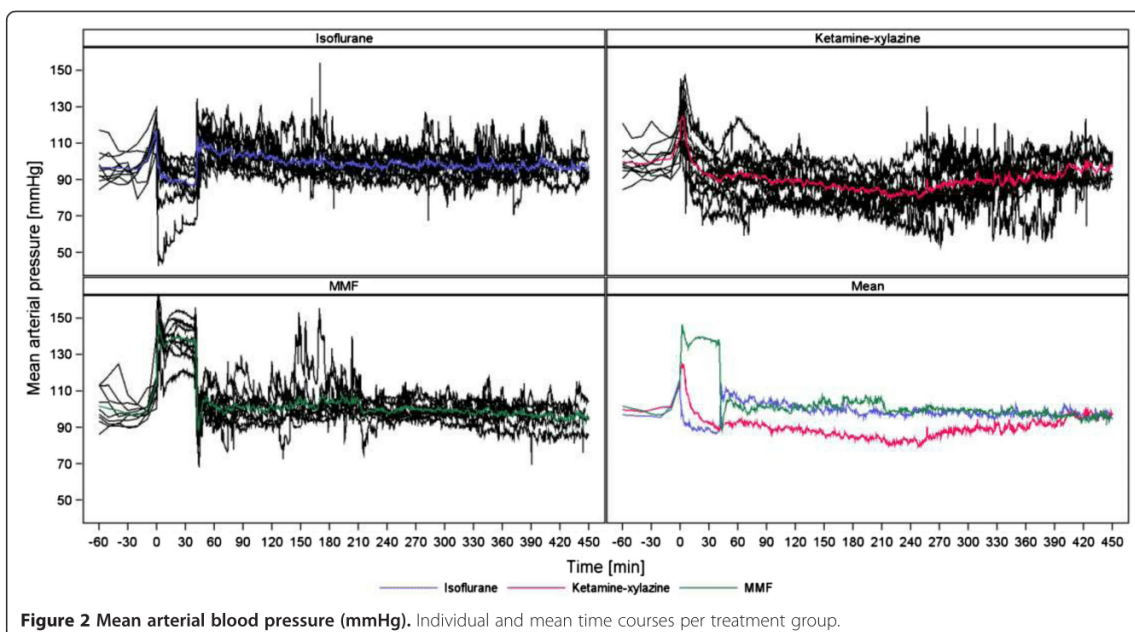


among the anaesthetic treatments. P-values for comparisons of the three treatments with each other are presented in Table 2. Most prominent differences in haemodynamic parameters were observed during anaesthesia if MMF was compared either with ISO or KX. ISO compared with KX showed significant differences in BP values only during induction time, wake-up period and recovery. Significant differences in HR were observed almost in all anaesthetic stages comparing ISO, KX and MMF among each other. On the other hand, BT did not differ significantly between the anaesthetics during the different phases, except during recovery if comparing KX with MMF.

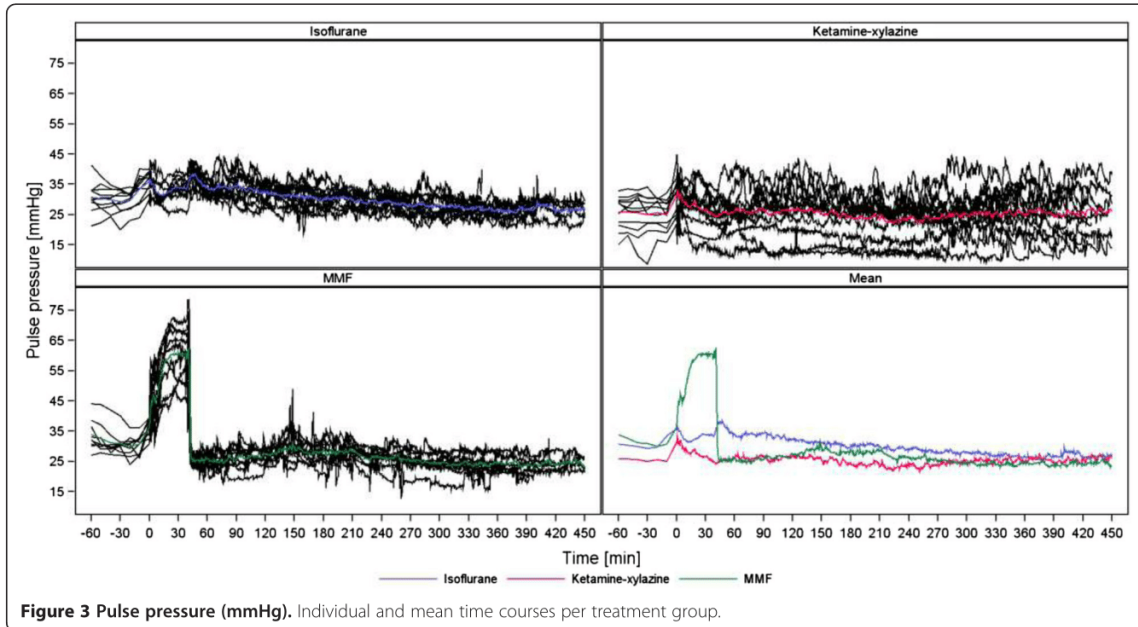
### Discussion

The present study was designed to determine the effect of three anaesthetic regimes (ISO, KX, MMF) in adult, male Wistar rats on cardiovascular parameters and BT. The novel use of telemetric data assessment for these parameters provided accurate and continuous measurements. To our knowledge, such detailed cardiovascular data for ISO, KX and MMF in the rat have never been reported.

ISO, KX and MMF showed significantly different effects on cardiovascular parameters and BT. We evaluated continuously the impact of the anaesthetics and compared them to baseline values assessed in the same

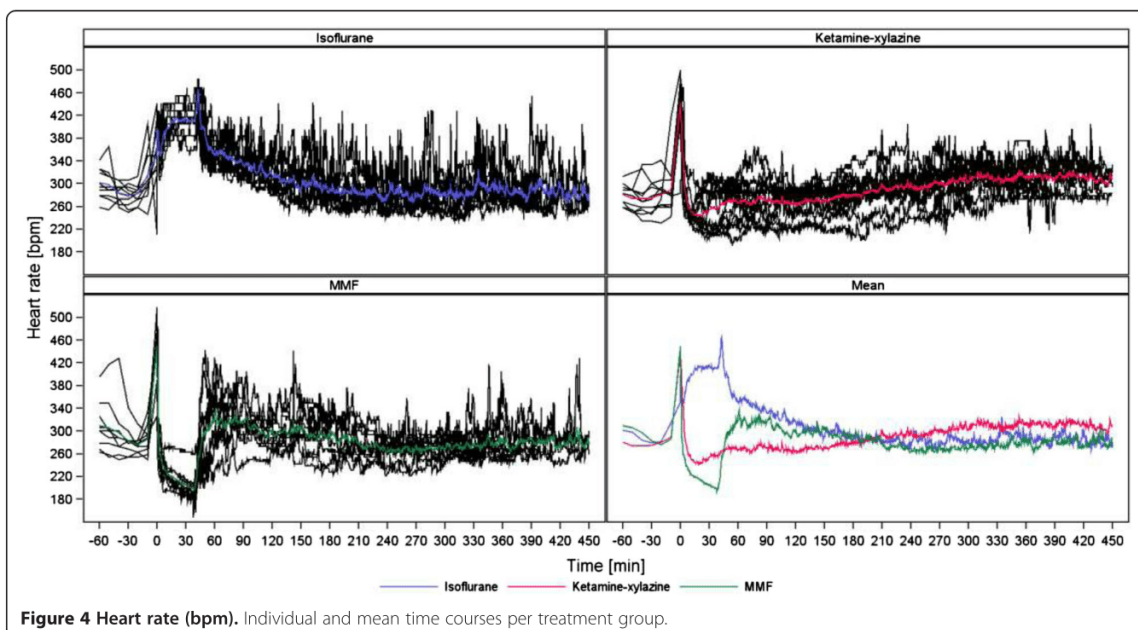


## Eigene Untersuchungen

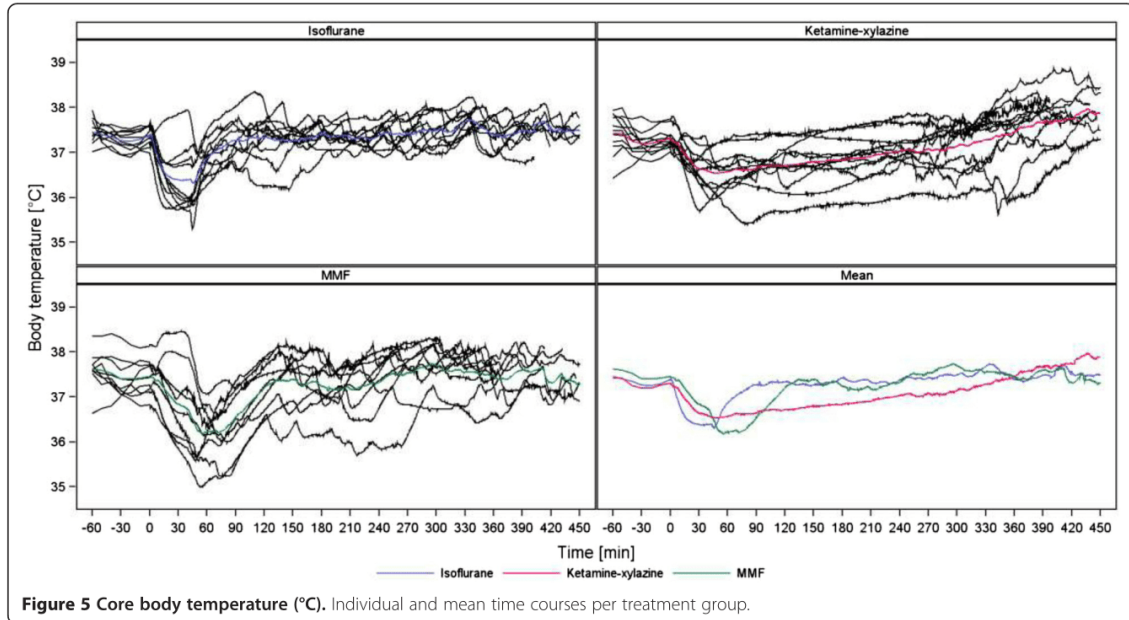


rats. It was important to measure baseline values in each rat used in this study under low stress conditions directly before anaesthetic measurement, because baseline values found in the literature show a great variability. In our study mean HR at baseline ranged from 281 to 293 bpm indicating that the rats were well adapted to

the experimental environment, because these values are at the low end of those found in literature (250–500 bpm) [1,3,20]. Given the comparable baseline data between the treatment groups, we can attribute subsequent changes observed to the three different anaesthesia regimes tested.







### Route of administration

The route of administration is an important consideration. The most convenient and less stressful method to induce anaesthesia in rats is to use an inhalant, like ISO, with an anaesthetic chamber for induction [3,21]. We used the intramuscular route in the other two treatment groups because intraperitoneal injection may cause more stress to the animals and there is a risk of up to 30% for misdirected injections into the gastrointestinal tract or the urinary bladder [20,38-40]. Furthermore even a small failure rate of i.p. injections may have serious consequences for analysis and data interpretation [41]. For MMF the intramuscular application route worked well but with KX we observed defensive movements of the rats during injection and in three animals we noticed local tissue necrosis at the injection site one week after anaesthesia. The volumes being injected were comparable for MMF ( $0.65 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and KX ( $2 \times 0.625 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) when considering that the volume of KX was divided in half and being injected in the femoral muscles of both hind legs. Therefore, we propose that the acidic formulation of ketamine was responsible for this severe tissue necrosis and not the amount of injected anaesthetics. Other studies have reported local tissue necrosis or self-mutilation after an intramuscular injection of ketamine or combinations including it [42-46]. Due to these facts the application route for KX and the use of a less acidic formulation of ketamine should be considered for further investigations.

### Duration of anaesthesia

The planned duration of anaesthesia was 40 minutes. Many types of surgical procedures can be performed during this timeframe and other comparative studies selected similar durations for anaesthesia [24,25,42-45]. As shown in Figure 1, ISO and MMF are best suited for this intention, whereas the mean duration of KX anaesthesia lasted 301 minutes. MMF was quickly reversed with a subcutaneous injection of AFN and anaesthesia with ISO was reversed quickly after stopping ISO delivery. The possibility of quickly terminating anaesthesia with ISO and MMF and the resultant short wake-up period provide distinct advantages compared to KX anaesthesia for some procedures. The xylazine-dependent portion of the KX anaesthesia could have been antagonized. In two studies the  $\alpha_2$ -adrenoceptor antagonist atipamezole was used after KX and ketamine-medetomidine anaesthesia in mice, to reverse the effects of the  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonists, xylazine and medetomidine, respectively. However, it was reported that mice need more time for recovery after early reversal, compared to a later partial antagonisation after 40 minutes [47,48]. Therefore, if using atipamezole for reversal of KX anaesthesia in rats, it has to be considered which is the most suitable moment for the administration in this species. In regard to the long duration of wake-up and recovery period a reversal with atipamezole is recommendable, although ketamine induced effects (increased muscle tone, increased catecholamine levels) could still be observed if administering atipamezole- too early [21,49].

### Effects on blood pressure

BP was affected variably by the three anaesthetic regimens. Due to handling and anaesthetic administration stress (i.m. injection or exposure to an irritant gas) SAP, DAP, MAP and PP increased transiently during administration in all of the three regimens. In contrast to ISO and KX, the BP values with MMF were substantially higher than with the other two up to and including the time of surgical tolerance. BP during ISO and KX tended to decrease compared to their baseline values. BP values with ISO were lowest during the time of surgical tolerance with a MAP of 89 mmHg. Vasodilative properties of ISO can lead to serious hypotension [17,20], but our lowest measured values never indicated a marked hypotension. The administration of xylazine, an  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist, results in an initial increase in BP but changes to a long-lasting hypotension. To produce a general anaesthesia and to compensate for the negative effects of xylazine on BP it is recommended to combine xylazine with the dissociative anaesthetic agent ketamine because of its stimulating effects on the central nervous system [20]. Although the combination of KX should therefore not lead to a marked hypotension, BP continuously decreased over a long time to mild hypotensive values almost until the rats had regained their righting reflex. These findings are in accordance with another study, which showed the most prominent hypotension after 150 minutes of KX anaesthesia in rats [50]. In contrast, MMF had a completely different effect on BP. MMF has been reported to provide stable haemodynamic conditions, but a marked decrease of BP after its reversal [20,24,25]. Values were often only presented as MAP, so the real extent of the increase of SAP, DAP and PP remained unclear. Previous studies with MMF anaesthesia found a notable increase of MAP in rats, but not in rabbits, mongolian gerbils and chinchillas [22,24,25,32,51-54]. Another study evaluated MMF in the syrian golden hamster and based on that data it was suspected that different ages of the hamsters could have had a different effect on BP [55]. In mice, a decrease of BP parameters to lower values compared to a KX anaesthesia was reported [56]. Another study described an increase of BP in dogs (beagles) during medetomidin-midazolam-butorphanol and medetomidin-midazolam-buprenorphine anaesthesia and a significant decrease after antagonization with atipamezole [57]. Based on these various effects of MMF on cardiovascular parameters, there is the necessity of further studies, which evaluate the influence of this anaesthetic combination in different species. MMF in the present study produced a significant increase in all BP parameters. With such hypertensive values it is not recommended to perform surgical procedures on large blood vessels, due to a greater risk of bleedings. Retrospectively, we noticed that the implantation of our telemetry device performed under

MMF anaesthesia lead to a higher bleeding risk during surgery than when using ISO anaesthesia. The reason for choosing MMF for the implantation surgery for our study was the better analgesic properties of MMF compared to ISO. As described in literature, we also observed a decrease of BP after injection of the antagonists. Although these values were lower than their baseline values we do not consider them to indicate a marked hypotension, especially since they lasted for less than two minutes. However, one published study stated that the antagonization of MMF during an anaesthetic emergency could result in a haemodynamically critical and life-threatening state because of the decreased BP [24]. In a further study, the reversal of MMF after an induced hemorrhagic shock in rats did not lead to life-threatening haemodynamic conditions [58].

### Methods for blood pressure measurement

BP values reported in this study are different from values reported in other studies. A likely explanation is the method of measuring BP parameters. The direct measurement of BP in the abdominal aorta as used in the present study provides more precise data than a tail-cuff system or an exteriorized catheter in the *A. carotis* or *A. femoralis* [37,59]. Exteriorized catheters, despite routine flushing, will eventually clot and lose their ability to transmit high frequency pressure signals. Their utility is thereby limited and cannot be maintained for as long as for animals implanted with a telemetry device. Furthermore, a complete recovery from a catheter implantation surgery under normal group-housing conditions is not possible. Thus for the present study, using a cross-over experimental design with adequate washout periods between the anaesthesias, the implantable telemetry-based system was clearly advantageous.

### Effects on heart rate

Differences in HR were present in all stages of anaesthesia among the groups receiving ISO, MMF and KX. Low BP values with ISO due to its vasodilative properties may have led to the observed increase in HR through baroreceptor activation. The highest HR being observed during the wake-up period has not been observed previously. One might expect an increase in BP with the loss of vasodilative effects of ISO during the wake-up period with a decrease in HR. However, we noticed that BP as well as HR increased after terminating ISO delivery, which may reflect a recovery of sympathetic tone. The ISO-induced increase of HR should be taken into account in the design of studies assessing drug-induced effects. When using MMF or KX, stress associated with the injection caused an initial increase of HR followed by a rapid decrease lower than baseline. With KX, the lowest HR was observed after 30 minutes followed by a



continuous, slow increase of HR almost until the end of the measurement. One study described similar findings of alterations in HR during KX anaesthesia in rats and it was suggested that the cardiovascular depressant effect of xylazine overrides the increased sympathetic and reduced vagal tone and the adverse effect of baroreceptor reflex attributed to ketamine [50]. HR during MMF rapidly decreased after injection and continued to decrease slightly until it was antagonized. It is known that the  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist medetomidine and the opioid fentanyl can lead to dose-dependent bradycardia [3,20] and the dosage needed for MMF anaesthesia were associated with bradycardia. Other studies were in accordance with this finding as the authors noted a decrease of HR in rats, rabbits and chinchillas during MMF anaesthesia until antagonization [24,25,32,51,52].

### Effects on body temperature

It is known that anaesthetics alter thermoregulation [3,20]. Hypothermia impedes metabolism of anaesthetics, prolongs the wake-up period and is a frequent cause of post-anaesthetic deaths [3,16]. Small animals like rodents rapidly lose body heat because of their relatively large surface to volume ratio [3,20]. Although there was only a significant difference of BT between KX and MMF during recovery, all anaesthetic regimes showed a notable decrease in BT after induction of anaesthesia. MMF and ISO showed their lowest values during the wake-up period, whereas BT in KX had its lowest value during time of surgical tolerance (about 40 minutes after injection). During the wake-up period a significant decrease of BT could no longer be observed with KX. We suggest that the normalization of BT in KX during anaesthesia was caused by an increased muscle tone due to the cataleptic property of ketamine and mainly by a long lasting wake-up period where animals slowly regain thermoregulatory control. The wake-up period durations of MMF and ISO were too short to produce a significant impact on BT because of regaining consciousness and thermoregulatory control, therefore BT showed normalization only during the time of recovery. In contrast to our findings, another study, evaluating parameters during KX anaesthesia in rats, showed the lowest value of BT at 150 minutes after injection. In that study it is not mentioned whether heat was provided during anaesthesia [48]. Compared to a study which evaluated the effects of KX, MMF and ISO on BT in mice and observed the greatest decrease of BT during ISO anaesthesia, our measurements showed no significant differences in the decrease of BT during anaesthesia. In that study heat-supply is not only recommended during anaesthesia, but also during the pre-anaesthetic period [60]. It seems that proving warmth, as done in the present study throughout the procedure,

cannot completely prevent a decrease of BT during anaesthesia, but it may effectively reduce the extent of heat-loss.

### Conclusion

Our study compared the haemodynamic effects of ISO, KX and MMF anaesthesia in chronically instrumented rats using telemetric data collection.

ISO caused a mild hypotension and a significant increase of HR during anaesthesia. But with ISO, the greatest increase of HR was observed in the wake-up period. BP as well as HR decreased significantly using KX and while HR returned to baseline during wake-up period, BP continued to decrease until the animals regained consciousness. Marked increases of BP values and a significant decrease of HR were observed with MMF. Although these effects were completely reversed with an injection of AFN, in MMF the increased bleeding risk when manipulating large blood vessels should be kept in mind.

ISO, KX and MMF all have advantages and disadvantages, but which anaesthesia is most suitable for an experimental investigation depends on the aim of the study. Without partial antagonization with atipamezole we would not recommend KX for experimental procedures requiring a quick recovery and since it caused tissue necrosis at the injection site, when administered i.m.

### Abbreviations

AFN: Atipamezole-flumazenil-naloxone; BP: Blood pressure; bpm: Beats per minute; BT: Body temperature; DAP: Diastolic arterial pressure; DSI™: Data Science International™; Fig.: Figure; HR: Heart rate; i.m.: Intramuscular; ISO: Isoflurane; KX: Ketamine-xylazine; MAP: Mean arterial pressure; min: Minute; MMF: Medetomidine-midazolam-fentanyl; PP: Pulse pressure; SAP: Systolic arterial pressure; s.c.: Subcutaneous; sec: Second; SD: Standard deviation.

### Competing interests

None of the authors of this paper has a financial or personal relationship with other people or organizations that could inappropriately influence or bias the content of the paper. The authors declare that they have no competing interests.

### Authors' contributions

MA developed the experimental design of the study, performed the transmitter implantation surgery and all anaesthetics, prepared and interpreted data, created tables and figures, drafted and finalized the manuscript. JH initiated the study, developed the experimental design, analyzed and interpreted data and revised the manuscript. ST was involved in developing the study design, discussed the result with MA and JH and revised the manuscript. MM developed the experimental design of the study, analyzed and interpreted data and revised the manuscript and supervised the study. BG is the supervisor of the experimental group in which the studies were conducted, actively participated in the interpretation of the data as well as in the editing of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

### Acknowledgements

The authors thank Florian Krause and Werner Mayer for their assistance in radiotelemetry implantation surgery, telemetric data acquisition and data preparation. We would like to express our appreciation to Anna-Lena Martin and Louis Josef Bour of the Department of Non-Clinical Biostatistics at Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG for their assistance with the statistical treatment and illustrations of the results. Further we would like to thank Maren Bathge, Siegmund Feser and Alfred Ruf for their excellent animal care and handling assistance.

## Author details

<sup>1</sup>Department of Nonclinical Drug Safety, Biological Laboratory Service, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Birkendorfer Str. 65, 88397 Biberach, Germany. <sup>2</sup>Department of Veterinary Clinical Sciences, Clinic for Small Animals-Surgery, Justus-Liebig University, Frankfurter Str. 108, 35392 Giessen, Germany. <sup>3</sup>Department of Drug Discovery Support, General Pharmacology, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Birkendorfer Str. 65, 88397 Biberach, Germany.

Received: 17 April 2014 Accepted: 15 August 2014  
 Published: 23 August 2014

## References

- Krinke GJ: *The Laboratory Rat*. London: Academic Press; 2000.
- Kraus AL: **Research Methodology, VI Anesthetic Techniques**. In *The Laboratory Rat - Research Applications Volume II*. Edited by Baker H, Lindsey J, Weisbroth S. New York: Academic Press; 1980:22–24.
- Flecknell PA: *Laboratory Animal Anaesthesia: An Introduction for Research Workers and Technicians*. San Diego: Academic Press; 1987.
- Tremoleda JL, Kerton A, Gsell W: **Anaesthesia and physiological monitoring during in vivo imaging of laboratory rodents: considerations on experimental outcomes and animal welfare**. *EJNMMI Res* 2012, **2**:44.
- Hildebrandt IJ, Su H, Weber WA: **Anesthesia and other considerations for in vivo imaging of small animals**. *ILAR J* 2008, **49**:17–26.
- Prudian F, Gantenbein M, Pelissier AL, Attolini L, Bruguerolle B: **Daily rhythms of heart rate, temperature and locomotor activity are modified by anaesthetics in rats: a telemetric study**. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1997, **355**:774–778.
- Arnold M, Langhans W: **Effects of anesthesia and blood sampling techniques on plasma metabolites and corticosterone in the rat**. *Physiol Behav* 2010, **99**:592–598.
- Dang V, Bao S, Ault A, Murray C, Farlane-Mills J, Chiedi C, Dillon M, Todd JP, Detolla L, Rao S: **Efficacy and safety of five injectable anesthetic regimens for chronic blood collection from the anterior vena cava of Guinea pigs**. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2008, **47**:56–60.
- Karwacki Z, Kowianski P, Morys J: **General anaesthesia in rats undergoing experiments on the central nervous system**. *Folia Morphol (Warsz)* 2001, **60**:235–242.
- Fitzner TM, Petersen MH, Dragsted N, Hansen AK: **The impact of different blood sampling methods on laboratory rats under different types of anaesthesia**. *Lab Anim* 2006, **40**:261–274.
- Bahrani S, Benisch C, Zifko C, Jafarmadar M, Schochl H, Redl H: **Xylazine-/ diazepam-ketamine and isoflurane differentially affect hemodynamics and organ injury under hemorrhagic/traumatic shock and resuscitation in rats**. *Shock* 2011, **35**:573–578.
- Murphy KL, Baxter MG: **Long-term effects of neonatal single or multiple isoflurane exposures on spatial memory in rats**. *Front Neurol* 2013, **4**:87.
- Pelissier AL, Gantenbein M, Prudian F, Bruguerolle B: **Influence of general anaesthetics on circadian rhythms of heart rate, body temperature and locomotor activity in rats**. *Sci et Techniques de l'Animal de Laboratoire* 1998, **23**:91–98.
- Salice VS, Valenza FV, Pizzocri MP, Valenti LV, Chevallard GC, Umbrello MU, Gatti SG, Fargion SF, Iapichino GI, Gattinoni LG: **Benzodiazepines induce hyperglycemia in rats by affecting peripheral disposal of glucose**. *Crit Care* 2013, **17**:144.
- Avsaroglu H, van der Sar AS, van Lith HA, van Zutphen LF, Hellebrekers LJ: **Differences in response to anaesthetics and analgesics between inbred rat strains**. *Lab Anim* 2007, **41**:337–344.
- Stokes EL, Flecknell PA, Richardson CA: **Reported analgesic and anaesthetic administration to rodents undergoing experimental surgical procedures**. *Lab Anim* 2009, **43**:149–154.
- Eger EI: **The pharmacology of isoflurane**. *Br J Anaesth* 1984, **56**(Suppl 1):715–99S.
- Schulte am Esch J, Kochs E, Bause H: **Allgemeinanästhesie, Inhalationsanästhetika**. In *Anästhesie und Intensivmedizin*. Edited by Schulte am Esch J, Kochs E, Bause H. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2000:147–161.
- Dittmar MS, Fehm NP, Vatanakha B, Horn M: **Ketamine/xylazine anesthesia for radiologic imaging of neurologically impaired rats: dose response, respiratory depression, and management of complications**. *Comp Med* 2004, **54**:652–655.
- Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S: *Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen*. 2nd edition. Stuttgart: Schattauer; 2012.
- Green CJ, Knight J, Precious S, Simpkin S: **Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10 year experience**. *Lab Anim* 1981, **15**:163–170.
- Henke J, Baumgartner C, Roltgen I, Eberspacher E, Erhardt W: **Anaesthesia with midazolam/medetomidine/fentanyl in chinchillas (*Chinchilla lanigera*) compared to anaesthesia with xylazine/ketamine and medetomidine/ketamine**. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2004, **51**:259–264.
- Henke J, Roberts U, Otto K, Lendl C, Matis U, Brill T, Erhardt W: **Clinical investigations of an i.m. combination anaesthesia with fentanyl/ climazolam/xylazine and postoperative i.v. antagonism with naloxone/sarmazenil/yohimbine in guinea pigs**. *Tierarztl Prax* 1996, **24**:85–87.
- Mantel R: **Zur Anästhesie bei der Ratte mit den vollständig antagonistisierbaren Anästhetika Medetomidin, Midazolam und Fentanyl [The anaesthesia in rats with medetomidine, midazolam and fentanyl and its complete reversal by atipamezole, flumazenil and naloxone]**. In *PhD Thesis*. München: Institut für experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München; 1999.
- Henke J, Lendl C, Mantel R, Englert S, Erhardt W: *Reversal of Anaesthesia in Rats: Effects on Various Parameters*. Edinburgh: Proceedings of the Spring meeting AVA; 1998:70.
- Dispersyn G, Pain L, Touitou Y: **Circadian disruption of body core temperature and rest-activity rhythms after general (propofol) anesthesia in rats**. *Anesthesiology* 2009, **110**:1305–1315.
- Mihara T, Kikuchi T, Kamiya Y, Koga M, Uchimoto K, Kurahashi K, Goto T: **Day or night administration of ketamine and pentobarbital differentially affect circadian rhythms of pineal melatonin secretion and locomotor activity in rats**. *Anesth Analg* 2012, **115**:805–813.
- Kikuchi T, Tan H, Mihara T, Uchimoto K, Mitsushima D, Takase K, Morita S, Goto T, Andoh T, Kamiya Y: **Effects of volatile anesthetics on the circadian rhythms of rat hippocampal acetylcholine release and locomotor activity**. *Neuroscience* 2013, **237**:151–160.
- Hu C, Flecknell PA, Liles JH: **Fentanyl and medetomidine anaesthesia in the rat and its reversal using atipamezole and either nalbuphine or butorphanol**. *Lab Anim* 1992, **26**:15–22.
- Bourque SL, Adams MA, Nakatsu K, Winterborn A: **Comparison of buprenorphine and meloxicam for postsurgical analgesia in rats: effects on body weight, locomotor activity, and hemodynamic parameters**. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2010, **49**:617–622.
- Hedenqvist P, Roughan JV, Flecknell PA: **Sufentanil and medetomidine anaesthesia in the rat and its reversal with atipamezole and butorphanol**. *Lab Anim* 2000, **34**:244–251.
- Perantoni D: **Die antagonistisierbare Anästhesie bei der Ratte unter dem Aspekt der prä-, intra- und postoperativen Analgesie [The antagonisable anaesthesia in the rat in respect of pre-, intra- and postoperative analgesia]**. In *PhD Thesis*. München: Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforchung der Technischen Universität München; 2000.
- Kramer K, Kinter LB: **Evaluation and applications of radiotelemetry in small laboratory animals**. *Physiol Genomics* 2003, **13**:197–205.
- Braga VA, Burmeister MA: **Applications of Telemetry in Small Laboratory Animals for Studying Cardiovascular Diseases**. In *Modern Telemetry*. Edited by Krejcar O. Rijeka: InTech; 2011:183–196.
- Greene AN, Clapp SL, Alper RH: **Timecourse of recovery after surgical intraperitoneal implantation of radiotelemetry transmitters in rats**. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2007, **56**:218–222.
- Schierok H, Markert M, Pairet M, Guth B: **Continuous assessment of multiple vital physiological functions in conscious freely moving rats using telemetry and a plethysmography system**. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2000, **43**:211–217.
- Morton DB, Hawkins P, Bevan R, Heath K, Kirkwood J, Pearce P, Scott L, Whelan G, Webb A: **Refinements in telemetry procedures. Seventh report of the BVA/AVF/FRAME/RSPCA/UFVAW Joint Working Group on Refinement, Part A**. *Lab Anim* 2003, **37**:261–299.
- Meijer MK, Spruijt BM, van Zutphen LF, Baumans V: **Effect of restraint and injection methods on heart rate and body temperature in mice**. *Lab Anim* 2006, **40**:382–391.



39. Coria-Avila GA, Gavrila AM, Menard S, Ismail N, Pfaus JG: Cecum location in rats and the implications for intraperitoneal injections. *Lab Anim (NY)* 2007, **36**:25–30.
40. Steward JP, Ornellas EP, Beernink KD, Northway WH: Errors in the technique of intraperitoneal injection of mice. *Appl Microbiol* 1968, **16**:1418–1419.
41. Gaines DR, North D: Implications of experimental technique for analysis and interpretation of data from animal experiments: outliers and increased variability resulting from failure of intraperitoneal injection procedures. *Lab Anim* 2007, **41**:312–320.
42. Sun FJ, Wright DE, Pinson DM: Comparison of ketamine versus combination of ketamine and medetomidine in injectable anesthetic protocols: chemical immobilization in macaques and tissue reaction in rats. *Contemp Top Lab Anim Sci* 2003, **42**:32–37.
43. Wellington D, Mikaelian I, Singer L: Comparison of ketamine-xylazine and ketamine-dexmedetomidine anesthesia and intraperitoneal tolerance in rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2013, **52**:481–487.
44. Gaertner DJ, Boschert KR, Schoeb TR: Muscle necrosis in Syrian hamsters resulting from intramuscular injections of ketamine and xylazine. *Lab Anim Sci* 1987, **37**:80–83.
45. Smiler KL, Stein S, Hrapkiewicz KL, Hibben JR: Tissue response to intramuscular and intraperitoneal injections of ketamine and xylazine in rats. *Lab Anim Sci* 1990, **40**:60–64.
46. Wenger S: Anesthesia and Analgesia in Rabbits and Rodents. *J Exotic Pet Med* 2012, **21**:7–16.
47. Janssen BJ, De CT, Debets JJ, Brouns AE, Callahan MF, Smith TL: Effects of anesthetics on systemic hemodynamics in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004, **287**:H1618–H1624.
48. Baker NJ, Schofield JC, Caswell MD, McLellan AD: Effects of early atipamezole reversal of medetomidine-ketamine anesthesia in mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2011, **50**:916–920.
49. Kari HP, Davidson PP, Kohl HH, Kochhar MM: Effects of ketamine on brain monoamine levels in rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1978, **20**:475–488.
50. Picollo C, Serra AJ, Levy RF, Antonio EL, dos Santos L, Tucci PJF: Hemodynamic and thermoregulatory effects of xylazine-ketamine mixture persist even after the anesthetic stage in rats. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2012, **64**:860–864.
51. Astner S: Vergleich intramuskulär verabreichter Kombinationsanästhesien beim Kaninchen - Xylazin/Ketamin, Medetomidin/Ketamin, Medetomidin/Fentanyl/Midazolam [Comparison of three intramuscularly administered anaesthetic combinations in the rabbit - xylazine/ketamine, medetomidine/ketamine, medetomidine/fentanyl/midazolam]. In *PhD Thesis*. München: Institut für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München; 1998.
52. Röltgen I: Zur Anästhesie beim Chinchilla (*Chinchilla lanigera*) mit Midazolam, Medetomidin und Fentanyl und ihrer vollständigen Antagonisierung mit Flumazenil, Atipamezol und Naloxon im Vergleich zur Anästhesie mit Xylazin/Ketamin und Medetomidin/Ketamin [The anaesthesia in chinchillas (*chinchilla lanigera*) with midazolam, medetomidine and fentanyl and its complete reversal by flumazenil, atipamezole and naloxone in comparison to the anaesthesia with xylazine/ketamine and medetomidine/ketamine]. In *PhD Thesis*. München: Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforchung der Technischen Universität München; 2002.
53. Henke J, Schneider E, Erhardt W: Medetomidine combination anaesthesia with and without antagonisation - influence on vital parameters in mongolian gerbils (*mesocricetus unguiculatus*). In *Proceedings, 7th WCVA, Berne*. 2000:99–100.
54. Henke J, Astner S, Brill T, Eissner B, Busch R, Erhardt W: Comparative study of three intramuscular anaesthetic combinations (medetomidine/ketamine, medetomidine/fentanyl/midazolam and xylazine/ketamine) in rabbits. *Vet Anaesth Analg* 2005, **32**:261–270.
55. Neff U: Vergleichende Untersuchungen zu subkutan verabreichten Kombinationsanästhesien beim Syrischen Goldhamster mit Medetomidin/Midazolam/Fentanyl, Medetomidin/Ketamin und Xylazin/Ketamin [Comparison of subcutaneously injectable anesthetic combinationa in the syrian golden hamster, medetomidine/midazolam/fentayl, medetomidine/ketamine and xylazine/ketamine]. In *PhD Thesis*. München: Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforchung der Technischen Universität München; 2000.
56. Hjalmsdottir B: Hämodynamische Untersuchung zur vollständig antagonistisierbaren Anästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl im Vergleich zur Ketamin/Xylazin-Kombinationsanästhesie bei der Maus [Hemodynamic analysis of the completely reversible anaesthesia using medetomidine, midazolam and fentanyl in comparison to ketamine/xylazine combinations in mice]. In *PhD Thesis*. München: Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforchung der Technischen Universität München; 2005.
57. Pypendop B, Seriteyn D, Versteegen J: Hemodynamic effects of medetomidine-midazolam-butorphanol and medetomidine-midazolam-buprenorphine combinations and reversibility by atipamezole in dogs. *Am J Vet Res* 1996, **57**:724–730.
58. Heitz A: Zum Einfluss der vollständigen Antagonisierung der Anästhesie mit Medetomidin/Midazolam/Fentanyl auf die Hämodynamik, die Atmung und den Glukosestoffwechsel von Ratten im Volumenmangelschock [Effects of completely antagonizing medetomidine/midazolam/fentanyl anaesthesia on hemodynamics, respiration and glucose metabolism in rats with hypovolemic shock]. In *PhD Thesis*. München: Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforchung der Technischen Universität München; 2005.
59. Whitesall SE, Hoff JB, Vollmer AP, D'Alecy LG: Comparison of simultaneous measurement of mouse systolic arterial blood pressure by radiotelemetry and tail-cuff methods. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004, **286**:H2408–H2415.
60. Kosanke Y: Einfluss verschiedener Anästhesiemethoden auf die Rektal- und Oberflächentemperatur von C57Bl/6-Mäusen (Inhalationsnarkose mit Isofluran und Injektionsnarkose mit Medetomidin-Midazolam-Fentanyl und Ketamin-Xylazin) [Influence of different anaesthetic regimes on rectal and body surface temperature of C57Bl/6-mice (inhalational anaesthesia with isoflurane and injectable anaesthesia with medetomidine-midazolam-fentanyl and ketamine-xylazine)]. In *PhD Thesis*. München: Zentrum für klinische Tiermedizin der Ludwig-Maximilians Universität München; 2012.

doi:10.1186/s12917-014-0198-3

Cite this article as: Albrecht et al.: Effects of isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl on physiological variables continuously measured by telemetry in Wistar rats. *BMC Veterinary Research* 2014 **10**:198.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at  
[www.biomedcentral.com/submit](http://www.biomedcentral.com/submit)



**3.2 Influence of repeated anaesthesia on physiological parameters in male Wistar rats: a telemetric study about isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl**

## RESEARCH ARTICLE

## Open Access

# Influence of repeated anaesthesia on physiological parameters in male Wistar rats: a telemetric study about isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl

Maike Albrecht<sup>1</sup>, Julia Henke<sup>1\*</sup>, Sabine Tacke<sup>2</sup>, Michael Markert<sup>3</sup> and Brian Guth<sup>3</sup>

## Abstract

**Background:** This study evaluated the influence of repeated anaesthesia using isoflurane (ISO, 2–3 Vol%), ketamine-xylazine (KX, 100 mg·kg<sup>-1</sup> + 5 mg·kg<sup>-1</sup>, i.m.) or a combination of medetomidine-midazolam-fentanyl (MMF, 0.15 mg·kg<sup>-1</sup> + 2.0 mg·kg<sup>-1</sup> + 0.005 mg·kg<sup>-1</sup>, i.m.) on heart rate (HR), arterial blood pressure (BP), body temperature (BT), duration of anaesthetic intervals and body weight (BW) in Wistar rats. Rats were instrumented with a telemetric system for the measurement of systolic, diastolic and mean arterial pressure (SAP, DAP, MAP), pulse pressure (PP), HR and BT during induction, maintenance and recovery of anaesthesia. Each anaesthesia was performed six times within three weeks. KX was not antagonized, but ISO delivery was terminated 40 minutes after induction and MMF was reversed with atipamezole-flumazenil-naloxone (AFN, 0.75 mg·kg<sup>-1</sup> + 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> + 0.12 mg·kg<sup>-1</sup>, s.c.).

**Results:** With repeated anaesthesia, ISO showed a decrease of HR and BP. A significant decrease of PP could be observed with repeated anaesthesia using MMF. HR and BP were not affected by repeated KX anaesthesia, but we noted a reduction of sleeping time and BW. Neither MMF nor ISO showed significant differences in the duration of anaesthetic intervals and BW. With KX we observed tissue necrosis at the injection site and surgical tolerance was not achieved in 25% of the anaesthetics performed.

**Conclusion:** HR, BP values, BT, duration of anaesthetic intervals and BW were affected differently by repeated anaesthesia performed with ISO, KX or MMF. ISO produced a reproducible anaesthesia, thereby being suitable for repeated use, but with a decrease of HR and BP throughout the six anaesthetics. The use of ISO in cases where these parameters should be unaffected is therefore not advised. The inability to produce a surgical tolerance, the reduction of sleeping time and BW, as well as the tissue necrosis are significant contraindications for a repeated use of KX. Only mild changes of BP were found with repeated MMF anaesthesia, so it seems suitable for serial use, unless the high BP and the low HR during the surgical plane of anaesthesia are undesirable for a special procedure.

**Keywords:** Rat, Repeated anaesthesia, Isoflurane, Ketamine-xylazine, Medetomidine-midazolam-fentanyl, Telemetry, Heart rate, Blood pressure, Body temperature, Body weight

\* Correspondence: julia.henke@boehringer-ingenelheim.com

<sup>1</sup>Department of Nonclinical Drug Safety, Biological Laboratory Service, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Birkendorfer Str. 65, 88397 Biberach, Germany

Full list of author information is available at the end of the article



© 2014 Albrecht et al.; licensee BioMed Central. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly credited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

## Background

Repeated general anaesthesia may be required in animal experiments several times a day, or on different days. This might arise, for example, in longitudinal imaging studies, in pharmacokinetic studies where a serial collection of blood or other samples is required and in studies where surgical procedures or drug administrations are performed under anaesthesia on different days. Also in veterinary practice, repeated anaesthetics may be required for some therapeutic treatments (painful wound care, regular dental care...) [1-4]. The rat is a commonly used laboratory animal and has gained popularity as a pet [5]. For producing general anaesthesia in the rat, isoflurane (ISO), a mixture of ketamine-xylazine (KX) or a combination of medetomidine-midazolam-fentanyl (MMF) have been used [5-8]. In a previous study we have shown the influence of these anaesthetics on HR, SAP, DAP, MAP, PP and BT in adult, male Wistar rats [9]. With ISO we observed a significant increase of HR and a mild hypotension during anaesthesia. A marked hypertension and a significant decrease of HR were seen during MMF anaesthesia. The slightest alterations on the parameters measured were observed with KX, but prolonged monitoring was needed, because of long wake-up and recovery periods. It is not known, however, if the effects observed change with repeated anaesthesia, which may be of importance, since such changes could have an impact on the outcome of studies requiring repeated anaesthesia. Some studies have already evaluated influences of different anaesthetic regimes on the animal's physiology, but none of these studies used telemetric data assessment to evaluate continuously alterations of HR, BP values and core BT before, during and after anaesthesia. Radiotelemetry is regarded as the state-of-the-art monitoring method to provide reliable values of cardiovascular parameters and body temperature without stressful manipulations of the animal which could affect the data collected [10-14].

The aim of this study was to assess the effects of repeated anaesthesia using ISO, KX or MMF in telemetrically instrumented male Wistar rats on HR, SAP, DAP, MAP, PP, BT and duration of different anaesthetic stages. We hypothesized that change in the parameters measured would be observed with repeated anaesthesia. Further it was our intention to assess BW during the series of performed anaesthetics, because significant weight loss is one critical point in evaluating the general health condition of rodents.

## Methods

### Animals

Nine male Wistar rats with a mean body weight of 275 ± 24 g were obtained from Charles River Laboratories, Sulzfeld, Germany. They were housed in groups of three in a Makrolon® cage (Type IV). The cages contained a

wooden bedding material (Lignocel select fine, J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co. KG, Rosenberg, Germany) and as cage enrichment a wooden chewing block and two red, transparent plastic tubes were provided. The cages were changed twice per week. Rats were given free access to a commercially available diet (3438 maintenance diet, KLIBA NAFAG, Provimi Kliba AG, Kaiseraugst, Switzerland) and tap water. The animals were acclimated for two weeks prior to surgical implantation of the radiotelemetry transmitter in an animal room maintained at 22 ± 2°C and 55 ± 10% relative humidity, on a twelve-hour light-dark cycle (beginning at 6:00 am) with at least 15 air changes per hour. A radio was turned on during the working hours to reduce possible stress caused by environmental noises. After the implantation surgery and a rehabilitation period of at least two weeks, rats were used in a previous anaesthetic study, which lasted nine weeks [9]. The rats were then given a recovery period of at least three weeks prior to the start of the present study. At the beginning of the present study, the rats had a mean body weight of 434 ± 48 g.

### Radiotelemetry transmitter implantation surgery

The radiotelemetry transmitter (DSI PhysioTel™ C50-PXT) was implanted under general anaesthesia. Anaesthesia was induced with MMF (same dosage as used in this study) and was maintained with a second injection of MMF (one third of the initial dosage) after 45 minutes. Analgesics and antibiotics were administered prior to surgery: 50 mg·kg<sup>-1</sup> metamizole i.m. (Novalgin®, 500 mg·ml<sup>-1</sup>, Sanofi Aventis, Frankfurt/Main, Germany), 1 mg·kg<sup>-1</sup> meloxicam s.c. (Metacam®, 20 mg·ml<sup>-1</sup>, Boehringer Ingelheim, Ingelheim/Rhein, Germany), 10 mg·kg<sup>-1</sup> enrofloxacin s.c. (Baytril® 2.5% ad us. vet., Bayer, Leverkusen, Germany). After induction of anaesthesia, protective eye lubricant (VitA-POS, Ursapharm, Saarbrücken, Germany) was administered in both eyes, the rat was laid in a supine position in the middle of a water heating pad, shaved on the ventral site and disinfected with Kodan®-spray (Schülke & Mayr, Norderstedt, Germany) and Betaisodona®-solution (Mundipharma GmbH, Limburg (Lahn), Germany). Supplemental Oxygen was provided via a head chamber throughout the anaesthesia. The rat was covered with a sterile foil and an incision was made along the *linea alba* to open the abdominal cavity. The intestines were moved towards the diaphragm and held in position with a wet swab. The aorta was exposed and blood flow was stopped with two vascular clips. The blood pressure catheter was inserted between the two clips and fixed with one drop of tissue glue (Histoacryl®, B.Braun, Aesculap AG, Tuttlingen, Germany). The clips were carefully opened and the swab was removed. The transmitter was fixed with a permanent suture (Mersilene® 3-0, Ethicon®, Johnson-Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Germany) to the abdominal wall. Before the abdominal cavity was closed with



a muscle and skin suture (Vicryl® 3-0, Ethicon®, Johnson-Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Germany), the ECG leads were exteriorized through the muscle layer. One ECG lead was placed subcutaneously near the sternum and the other was placed on the ventral site of the trachea, both fixed to the nearby muscle tissue with a non-absorbable suture (Mersilene® 3-0, Ethicon®, Johnson-Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Germany). Twenty ml·kg<sup>-1</sup> warmed lactated ringer's solution (Ringer-Lactat nach Hartmann B. Braun, B/BRAUN, Melsungen, Germany) were administered subcutaneously and anaesthesia was reversed with a s.c. injection of AFN (same dosage as used in this study). After surgery the rats received analgesics for another two days.

#### Experimental design

The following three anaesthetic regimes were performed repeatedly in male Wistar rats: 1) an inhalational anaesthesia with 2–3 Vol% isoflurane (Forene® 100% (V/V), Abbott, Wiesbaden, Germany) at maintenance, terminated after 40 minutes, 2) a combination of 100 mg·kg<sup>-1</sup> ketamine (Ketavet®, 100 mg·ml<sup>-1</sup>, Pfizer, Berlin, Germany) and 5 mg·kg<sup>-1</sup> xylazine (Rompun® 2%, 20 mg·ml<sup>-1</sup>, Bayer, Leverkusen, Germany) administered i.m., which was not reversed, and 3) an anaesthesia consisting of 0.15 mg·kg<sup>-1</sup> medetomidine (Domitor, 1 mg·ml<sup>-1</sup>, Orion Pharma, Espoo, Finland), 2 mg·kg<sup>-1</sup> midazolam (Dormicum®, 5 mg·ml<sup>-1</sup>, Roche, Grenzach-Wyhlen, Germany) and 0.005 mg·kg<sup>-1</sup> fentanyl (Fentanyl®-Janssen, 0.05 mg·ml<sup>-1</sup>, Janssen, Wien, Austria), which was administered i.m. and antagonized after 40 minutes with a s.c. injection of the antagonists 0.75 mg·kg<sup>-1</sup> atipamezole (Antisedan®, 5 mg·ml<sup>-1</sup>, Orion Pharma, Espoo, Finland), 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> flumazenil (Flumazenil Hexal®, 0.1 mg·ml<sup>-1</sup>, Hexal, Holzkirchen, Germany) and 0.12 mg·kg<sup>-1</sup> naloxone (Naloxon Inresa, 0.4 mg·ml<sup>-1</sup>, Inresa, Freiburg, Germany). Anaesthesias were performed twice weekly (Monday + Thursday or Tuesday + Friday) over three consecutive weeks. The six anaesthesias were described in the following text as *run 1* to *run 6*. The anaesthetic regimes were assigned randomly to each individual rat. Each rat received only two of the three anaesthetic treatments for six times with a wash out and recovery period of at least two weeks between them. SAP, DAP, MAP, PP, HR and BT were measured continuously before, during and after each anaesthesia. To monitor the anaesthetic depth, the righting reflex and the pedal withdrawal reflex on the fore- and hind limbs were measured (classified with +, ±, and -) after 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20, 30, 40, 42.5, 45, 47.5, 50, 60, 70...minutes until the righting reflex had returned. One *run* was divided into different intervals: 1) an acclimatization period prior to the anaesthesia of at least two hours for assessing baseline values, 2) the performance of anaesthesia, and 3) a recovery period. To analyse alterations in the duration of the anaesthetic effect,

the anaesthesia period was further divided in different anaesthetic stages: 1) **induction time** (defined as the time from application to loss of the righting reflex), 2) **time of non-surgical tolerance** (defined as the time from loss of the righting reflex until loss of all reflexes tested), 3) **time of surgical-tolerance** (defined as the time from loss of all reflexes tested until regaining of at least one reflex), 4) **wake-up period** (defined as the time from regaining the first reflex until regaining the righting reflex), and 5) **recovery period** (defined as the time from regaining the righting reflex until measurement was terminated). The end of measurement was not earlier than six hours after induction. Sleeping times longer than six hours occurred with KX, therefore data assessment was prolonged and terminated not earlier than two hours after the righting reflex had returned. Additionally, each rat was weighed to calculate the individual dose of injectable anaesthetics and to assess a possible influence of repeated anaesthesia on BW. Daily monitoring of the animals' general condition and well-being were carried out, especially with regard to inflammation and tissue necrosis at the hind legs after injection of anaesthetics. Only visible changes (open wounds, lameness) were assessed, because the animals were used in further studies.

The Animal Care and Ethics Committee of the Regional Authority in Tuebingen, Baden-Wuerttemberg, Germany approved this study (Approval number: 12-038).

#### Procedure

The experimental set-up was the same as that used in the previous study [9]. To reduce variability, anaesthesias were performed by the same veterinarian supported always by the same animal care takers, who were familiar with the animals. To ensure a thorough monitoring of each rat during anaesthesia, not more than three rats were anaesthetized per day. The measurements have been carried out in the same laboratory as described below:

The implanted radiotelemetry transmitters of the three rats were switched on using a magnet before starting the measurements. The rats were then placed individually into a Makrolon® cage, each positioned directly on a receiver plate, and continuous data collection of arterial blood pressure and BT was started. The cages contained bedding material (Lignocel select fine, J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co. KG, Rosenberg, Germany), a red, transparent plastic tube and water was provided in a water bottle during the entire measurement. Following recommendations to pre-warm animals prior to anaesthetic induction, a warm water heating pad was placed between the receiver plate and the Makrolon® cage and it was maintained at 38°C throughout the measurement period [15,16]. To facilitate reaching resting baseline values, rats were housed individually, food was withdrawn, each cage was covered

with a cloth, a radio was switched on (because rats were habituated to background music), and the operator left the room for at least two hours. After this acclimatization period the operator started with the anaesthetic induction of the first rat, while the other two rats remained in their covered cages. Performing anaesthesia on one rat did not appear to have an influence on the measured parameters of the other two. All anaesthetics were carried out close to the receiver plate to ensure the continuous capture of the telemetric signal and are described in detail below:

**ISO:** An anaesthetic chamber was prefilled with 5 Vol% ISO supplemented with oxygen. The rat was placed in the whole body chamber, which was positioned directly on the receiver plate. Loss of righting reflex was tested by tipping over the anaesthetic chamber. When the righting reflex was lost, the animal was laid on its back on the receiver plate and ISO was administered using a nose cone. The concentration of ISO was reduced to 2–3 Vol% to maintain an anaesthetic depth of surgical tolerance. ISO administration was terminated 40 minutes after induction of anaesthesia and the rat was laid back in its cage, which was placed on the receiver plate again. The rat was positioned in a dorsal recumbency to test reflexes until regaining the righting reflex.

**KX:** Ketamine ( $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) and xylazine ( $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) were mixed in one syringe with a total volume of  $1.25 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ , which is too much to be injected all at once. Therefore, half of this volume was administered in the caudal part of the thigh muscle of each hind leg. As soon as the righting reflex was lost, the rat was placed directly on the receiver plate in dorsal recumbency. Oxygen was supplemented using a head chamber. Rats received no treatment to reverse the anaesthesia. Therefore, the duration of the sleeping time was variable. Accordingly, rats were laid on their backs on the receiver plate until the righting reflex returned and after that they were put back in their cage for the rest of the measurements. Wake-up and recovery periods lasted several hours and therefore prevented a normal food and water uptake. Therefore, each rat was administered s.c. 5 ml of warmed lactated ringer's solution (Ringer-Lactat nach Hartmann B. Braun, B. Braun, Melsungen, Germany) one hour after induction of anaesthesia.

**MMF:**  $0.15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  medetomidine,  $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  midazolam and  $0.005 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  fentanyl were combined in one syringe with a total volume of  $0.65 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ . The mixture was administered i.m. in the caudal part of the thigh muscle of one hind leg while holding the rat next to the receiver plate. The rat was put back in its cage until loss of the righting reflex. The rat was placed directly on the receiver plate in dorsal recumbency and oxygen was provided using a head chamber. A mixture of antagonists ( $0.75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  atipamezole +  $0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  flumazenil +  $0.12 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  naloxone) was administered s.c. 40 minutes

after induction of the anaesthesia and the rat was placed in dorsal recumbency in its cage to determine the time when the righting reflex was regained.

#### Statistical analysis

For the continuous telemetric data acquisition the software NOTOCORD-hem™ was used and the raw data were further evaluated with MS Excel with subsequent export to SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) for the statistical evaluation. The statistical analysis was performed separately for each treatment group (ISO, KX, MMF), parameter (SAP, DAP, MAP, PP, HR, BT, BW) and anaesthetic interval (induction time, time of non-surgical tolerance, time of surgical tolerance, wake-up period, recovery period). The standardized area under the curve (AUC divided by interval length) was calculated for each animal individually using the trapezoidal rule for each anaesthetic interval. Baseline values were calculated for each animal as the standardized AUC including the measurements from 60 to 10 minutes before induction of anaesthesia. The standardized AUC was then used as target variable for the statistical evaluation. The differences between the *1st run* and its consecutive *runs* were analysed. An analysis of covariance (ANCOVA) for repeated measurements was calculated including baseline as covariate. The parameter body weight was analysed by an analysis of variance (ANOVA). In addition, the length of the intervals was analysed using an ANOVA model for repeated measurements. To exclude effects of repeated anaesthesia on baseline values, parameters were analysed during the baseline interval using an analysis of variance (ANOVA). Treatment effects for the telemetry parameters were quantified by mean differences, based on the adjusted mean values and their two-sided 95% confidence interval. Treatment effects for body weight and the length of the intervals were quantified by the differences in mean and their two-sided 95% confidence interval. The level of significance was fixed at  $\alpha = 5\%$ . A p-value of less than 0.05 was considered to be statistically significant.

#### Results

During the course of this study we had four runs that needed to be excluded from the analysis. One rat anaesthetized with ISO in *run 6* developed a poor blood pressure signal and could not be evaluated. Another rat died during induction of KX anaesthesia in *run 6*. With MMF there was one rat in its *6th run* with an elevated BT and an increased HR already during the baseline assessment such that we excluded that rat from the evaluation. Finally, one rat had a failed application of MMF in its *4th run* due to strenuous defensive movements of the animal. Therefore, these four measurements were excluded from the statistical analysis of HR, BP values, BT and duration of

anaesthesia, but we still included these rats for the statistical analysis of BW.

Our intention to divide the anaesthetics in five different anaesthetic stages failed for KX, because in 25% of the anaesthesia runs with KX the animals did not reach a stage of surgical tolerance. Instead of excluding these measurements from the statistical analysis, we decided to divide all KX anaesthetics (irrespective of whether or not surgical tolerance was reached) only in three different anaesthetic stages: 1) an **induction time** (time from injection until loss of the righting reflex), 2) a **time of non-surgical tolerance** (time from loss of the righting reflex until regaining the reflex) and 3) a **recovery period** (time from regaining the righting reflex until end of measurement).

**Duration of anaesthetic stages**

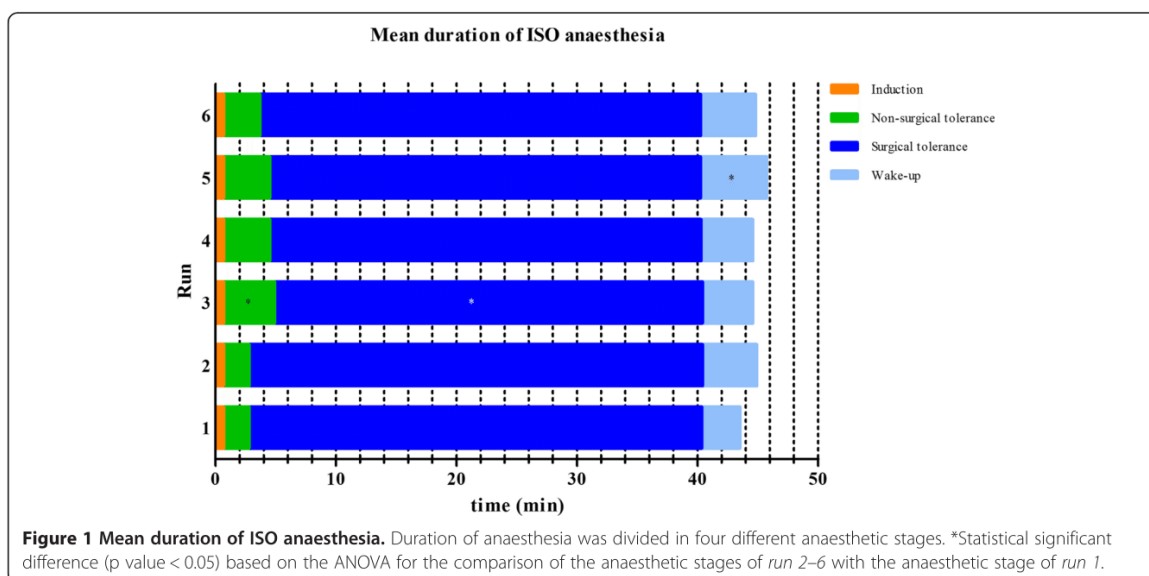
The mean durations of the different anaesthetic stages of ISO, KX and MMF are depicted in Figures 1, 2 and 3, respectively. Significant changes were seen for ISO in *run 3*, when the stage of non-surgical tolerance and the time of surgical tolerance were compared with the same stages of *run 1* and in *run 5*, when the wake-up period was compared with the wake-up period of *run 1*. With KX significant differences of anaesthetic durations were observed. Induction times of *run 2* and *4* were significantly shorter than the induction time of *run 1* and times of non-surgical tolerance from *run 3-6* were significantly shorter when compared to *run 1*. For MME, there were no significant differences observed in the duration of any anaesthetic stage between any of the runs.

**Heart rate, blood pressure values and body temperature**

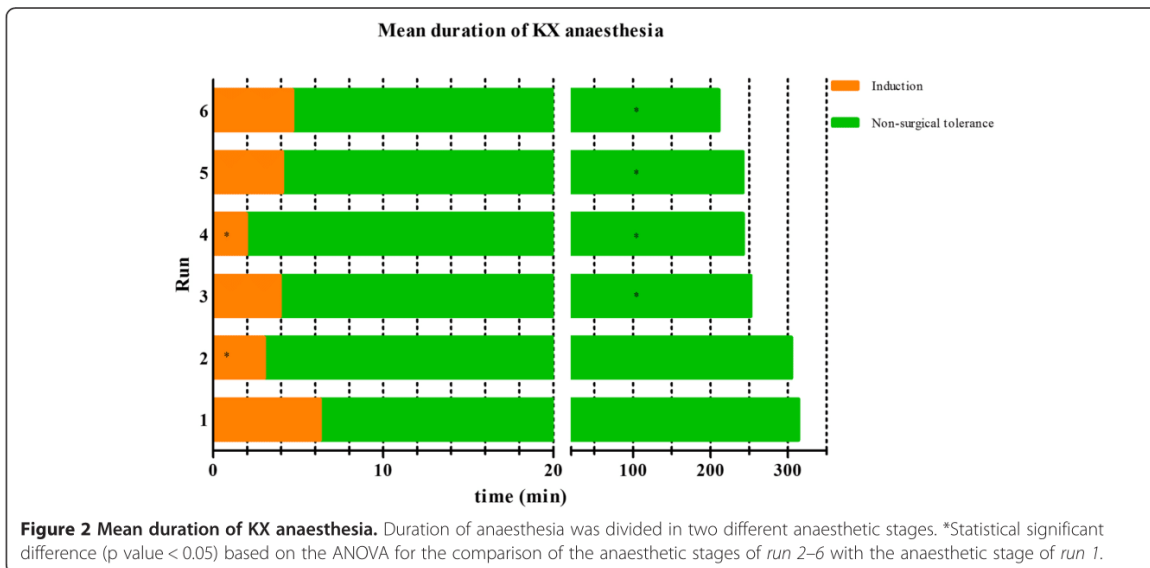
The mean values of HR, BP values and BT of ISO, KX and MMF anaesthesia with the statistical analysis are presented in Tables 1, 2 and 3, respectively. No significant differences were observed during baseline assessment, except in *run 3* and *run 4* for BT in ISO anaesthesia. The absolute differences of mean BT of *run 3* and *4* to *run 1* were only 0.22°C. These deviations were judged to be of no clinical relevance.

**ISO:** During ISO the most significant alterations were seen in HR. HR in *run 3* and *5* during induction time, in *run 2-6* during time of non-surgical tolerance, in *run 3-6* during time of surgical tolerance and in *run 2-6* during the wake-up period were significantly lower compared to the HR of *run 1*. For induction time, time of non-surgical tolerance and time of surgical tolerance we noted a continuous decrease of HR with repeated anaesthesia. For SAP, DAP and MAP significantly lower values were observed during time of surgical tolerance if *run 5* and *6* were compared with *run 1*. PP was significantly higher during induction time in *run 3* and *4* compared to *run 1* and BT was significantly lower in *run 6* during time of surgical tolerance and during wake-up period compared to *run 1*.

**KX:** With KX significant differences of BP values compared to *run 1* were only observed once during induction time (SAP in *run 4*) and during the time of non-surgical tolerance (DAP in *run 6*). PP was significantly higher during induction time in *run 2* and *4* and during recovery period in *run 4* and *6* if compared to *run 1*. During time of non-surgical tolerance BT was significantly higher in *run 2, 4, 5* and *6*, when compared to *run 1*.

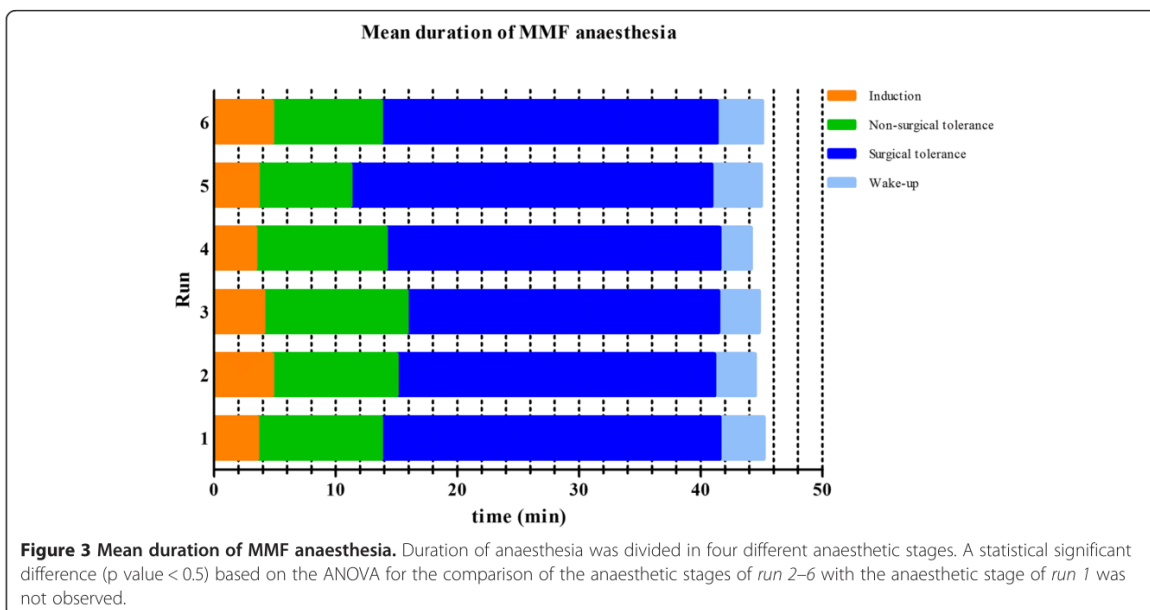






**MMF:** Significant differences of BP values with MMF could be observed during the induction time. SAP and MAP were significantly lower in run 2 compared to run 1. SAP was also significantly lower during time of non-surgical tolerance in run 6 and during time of surgical tolerance in run 3 and 5. During the wake-up period, SAP and MAP showed significantly higher values in run 6 and during the recovery period SAP, DAP and MAP were significantly higher in run 6 compared to run 1. PP showed significantly lower values during induction time

in run 6, during time of non-surgical tolerance in run 5 and 6 and during time of surgical tolerance in run 3, 5 and 6, when each was compared to run 1 of its respective anaesthetic stage. A significantly higher HR could be observed in run 6, if compared to the 1st run, during induction time, time of non-surgical tolerance and wake-up period. During the recovery period HR was significantly higher in run 5 and 6, if compared to run 1. BT was significantly higher in run 4 compared to run 1 during time of non-surgical tolerance.





## Eigene Untersuchungen

**Table 1 Isoflurane – mean values with standard deviation**

Parameter	Run (No. of animals)	Baseline Mean ± SD	Induction Mean ± SD	Non-surgical tolerance Mean ± SD	Surgical tolerance Mean ± SD	Wake-up Mean ± SD	Recovery Mean ± SD
SAP (mmHg)	1 (6)	121 ± 11.33	141 ± 13.09	133 ± 15.24	117 ± 7.76	123 ± 12.44	122 ± 11.41
	2 (6)	120 ± 11.55	140 ± 10.78	128 ± 16.02	113 ± 9.33	121 ± 10.11	122 ± 10.94
	3 (6)	121 ± 7.72	140 ± 11.81	130 ± 12.45	114 ± 8.71	123 ± 8.63	122 ± 8.45
	4 (6)	120 ± 13.04	139 ± 12.48	130 ± 12.84	111 ± 9.11	120 ± 12.45	119 ± 9.77
	5 (6)	115 ± 18.93	134 ± 16.08	124 ± 18.84	104 ± 16.35*	112 ± 20.32	116 ± 14.24
	6 (5)	120 ± 8.00	139 ± 9.83	129 ± 14.88	106 ± 12.51*	120 ± 16.26	121 ± 8.87
DAP (mmHg)	1 (6)	90 ± 7.73	106 ± 11.97	97 ± 12.48	85 ± 6.96	87 ± 11.22	92 ± 7.94
	2 (6)	89 ± 10.32	105 ± 10.06	92 ± 14.54	81 ± 7.68	86 ± 7.95	91 ± 8.58
	3 (6)	89 ± 6.26	103 ± 10.88	93 ± 9.52	82 ± 7.54	87 ± 5.22	91 ± 7.24
	4 (6)	88 ± 9.13	102 ± 10.85	93 ± 9.39	79 ± 6.44	85 ± 7.16	90 ± 8.45
	5 (6)	85 ± 11.05	101 ± 9.30	90 ± 10.33	75 ± 7.76*	80 ± 9.46	89 ± 8.00
	6 (5)	89 ± 7.55	103 ± 6.26	93 ± 10.85	75 ± 7.84*	84 ± 9.10	91 ± 7.64
MAP (mmHg)	1 (6)	100 ± 8.43	118 ± 11.99	109 ± 13.10	96 ± 6.72	99 ± 11.21	102 ± 8.72
	2 (6)	99 ± 10.48	116 ± 9.96	104 ± 14.79	92 ± 7.99	97 ± 8.36	101 ± 9.12
	3 (6)	100 ± 6.46	116 ± 10.94	105 ± 10.21	93 ± 7.41	99 ± 5.71	102 ± 7.31
	4 (6)	99 ± 10.20	115 ± 11.11	105 ± 10.28	90 ± 6.93	97 ± 8.68	100 ± 8.79
	5 (6)	95 ± 13.43	112 ± 11.17	102 ± 12.93	85 ± 10.42*	90 ± 13.00	98 ± 9.86
	6 (5)	100 ± 7.28	115 ± 7.01	105 ± 11.92	85 ± 9.16*	96 ± 11.40	101 ± 7.69
PP (mmHg)	1 (6)	32 ± 7.21	35 ± 6.27	36 ± 6.57	32 ± 5.69	35 ± 6.65	30 ± 6.49
	2 (6)	31 ± 5.01	35 ± 5.63	35 ± 5.84	32 ± 4.55	35 ± 5.33	30 ± 5.14
	3 (6)	32 ± 4.40	37 ± 5.07*	37 ± 5.89	32 ± 6.14	36 ± 6.83	31 ± 4.86
	4 (6)	31 ± 6.06	37 ± 5.58*	37 ± 5.99	32 ± 5.72	35 ± 6.88	30 ± 3.14
	5 (6)	29 ± 9.60	33 ± 9.24	34 ± 10.02	29 ± 9.63	32 ± 11.29	27 ± 7.66
	6 (5)	31 ± 5.37	36 ± 6.44	36 ± 6.82	31 ± 6.47	35 ± 7.82	29 ± 5.18
HR (bpm)	1 (6)	307 ± 27.11	417 ± 37.53	385 ± 22.02	389 ± 20.42	420 ± 22.31	297 ± 16.06
	2 (6)	291 ± 16.65	392 ± 33.78	364 ± 18.80*	379 ± 16.73	409 ± 19.53*	297 ± 16.66
	3 (6)	295 ± 12.59	393 ± 26.09*	365 ± 15.65*	377 ± 20.73*	411 ± 20.94*	295 ± 11.67
	4 (6)	297 ± 25.77	401 ± 28.61	366 ± 20.41*	373 ± 21.72*	407 ± 19.90*	284 ± 12.68*
	5 (6)	288 ± 17.14	387 ± 29.30*	358 ± 18.14*	366 ± 16.16*	406 ± 16.86*	291 ± 9.42
	6 (5)	298 ± 18.58	386 ± 41.82	352 ± 24.35*	367 ± 7.26*	412 ± 18.68*	289 ± 13.51
BT (°C)	1 (6)	37.62 ± 0.49	37.52 ± 0.50	37.48 ± 0.52	36.50 ± 0.45	36.11 ± 0.52	37.26 ± 0.21
	2 (6)	37.46 ± 0.43	37.43 ± 0.34	37.35 ± 0.33	36.19 ± 0.37	35.71 ± 0.41	37.25 ± 0.16
	3 (6)	37.40 ± 0.37*	37.30 ± 0.28	37.20 ± 0.35	36.22 ± 0.35	35.82 ± 0.47	37.19 ± 0.32
	4 (6)	37.40 ± 0.37*	37.39 ± 0.22	37.29 ± 0.24	36.32 ± 0.17	35.90 ± 0.37	37.25 ± 0.18
	5 (6)	37.46 ± 0.33	37.27 ± 0.29	37.17 ± 0.38	36.16 ± 0.27	35.72 ± 0.30	37.13 ± 0.32
	6 (5)	37.56 ± 0.38	37.55 ± 0.25	37.45 ± 0.26	36.20 ± 0.52*	35.71 ± 0.60*	37.20 ± 0.12

\*Statistical significant difference (p value ≤ 0.05) based on the ANCOVA with baseline as covariate for the comparison of anaesthetic stages between run 2–6 versus run 1.

### Body weight

Mean BW including the statistical analysis is depicted in Figure 4. No significant differences of BW could be observed during repeatedly performed anaesthesia with ISO. With KX a continuous decrease of BW was seen

with an increased number of performed anaesthesias. The reduction of BW was significant from run 2 to 6, if compared with run 1. A reduction of BW was significant once for MMF in run 4, if compared to BW of run 1.

## Eigene Untersuchungen

**Table 2 Ketamine-Xylazine– mean values with standard deviation**

Parameter	Run (No. of animals)	Baseline Mean ± SD	Induction Mean ± SD	Non-surgical tolerance Mean ± SD	Recovery Mean ± SD
SAP (mmHg)	1 (6)	116 ± 11.27	130 ± 12.81	96 ± 12.38	104 ± 9.16
	2 (6)	118 ± 11.85	133 ± 13.38	97 ± 7.07	106 ± 8.86
	3 (6)	114 ± 7.93	134 ± 11.38	96 ± 10.78	106 ± 6.18
	4 (6)	116 ± 10.03	138 ± 10.86*	95 ± 9.36	105 ± 6.09
	5 (6)	115 ± 9.65	133 ± 6.83	100 ± 9.89	103 ± 5.40
	6 (5)	115 ± 6.14	138 ± 6.62	102 ± 6.18	105 ± 4.85
DAP (mmHg)	1 (6)	85 ± 9.85	96 ± 9.39	68 ± 10.01	76 ± 6.38
	2 (6)	88 ± 10.40	96 ± 13.27	69 ± 7.57	77 ± 8.68
	3 (6)	86 ± 10.10	103 ± 7.13	69 ± 9.81	78 ± 6.66
	4 (6)	87 ± 8.15	103 ± 8.76	69 ± 7.13	75 ± 2.87
	5 (6)	86 ± 7.04	99 ± 7.09	72 ± 9.14	75 ± 2.57
	6 (5)	84 ± 5.83	102 ± 6.44	71 ± 5.24*	74 ± 1.39
MAP (mmHg)	1 (6)	95 ± 10.13	108 ± 10.35	77 ± 10.65	85 ± 7.08
	2 (6)	98 ± 10.40	108 ± 12.93	79 ± 6.68	87 ± 8.34
	3 (6)	95 ± 8.86	113 ± 8.12	78 ± 9.29	87 ± 5.76
	4 (6)	96 ± 8.40	115 ± 9.05	78 ± 6.92	85 ± 3.64
	5 (6)	96 ± 7.24	110 ± 6.16	81 ± 8.42	84 ± 2.20
	6 (5)	95 ± 5.50	114 ± 6.35	81 ± 5.07	85 ± 2.39
PP (mmHg)	1 (6)	31 ± 4.42	34 ± 5.40	28 ± 4.52	28 ± 4.74
	2 (6)	30 ± 6.95	36 ± 6.67*	28 ± 6.76	29 ± 5.51
	3 (6)	28 ± 6.89	32 ± 7.08	27 ± 8.65	27 ± 6.39
	4 (6)	30 ± 5.73	35 ± 6.20*	27 ± 8.29	30 ± 4.57*
	5 (6)	29 ± 7.22	33 ± 7.09	28 ± 8.86	28 ± 6.47
	6 (5)	31 ± 4.71	36 ± 2.97	31 ± 4.91	31 ± 3.94*
HR (bpm)	1 (6)	283 ± 36.14	354 ± 38.00	273 ± 23.56	288 ± 19.35
	2 (6)	284 ± 20.10	375 ± 45.16	281 ± 20.12	292 ± 12.37
	3 (6)	278 ± 14.31	359 ± 33.95	273 ± 19.86	296 ± 21.69
	4 (6)	281 ± 22.22	340 ± 28.56	275 ± 35.47	290 ± 27.95
	5 (6)	285 ± 20.98	362 ± 31.88	275 ± 29.33	292 ± 13.50
	6 (5)	282 ± 21.89	362 ± 10.24	269 ± 21.50	277 ± 18.54
BT (°C)	1 (6)	37.39 ± 0.59	37.34 ± 0.63	36.96 ± 0.48	37.57 ± 0.47
	2 (6)	37.49 ± 0.27	37.44 ± 0.22	37.34 ± 0.32*	37.79 ± 0.32
	3 (6)	37.42 ± 0.19	37.27 ± 0.24	37.18 ± 0.37	37.72 ± 0.31
	4 (6)	37.59 ± 0.23	37.40 ± 0.26	37.35 ± 0.45*	37.54 ± 0.53
	5 (6)	37.56 ± 0.37	37.55 ± 0.39	37.46 ± 0.45*	37.79 ± 0.32
	6 (5)	37.73 ± 0.48	37.58 ± 0.58	37.43 ± 0.36*	37.79 ± 0.08

\*Statistical significant difference (p value ≤ 0.05) based on the ANCOVA with baseline as covariate for the comparison of anaesthetic stages between run 2–6 versus run 1.

### Tissue reaction to injections

Clinical effects on the hind legs were seen in four rats anaesthetized with KX (a total of six rats were repeatedly anaesthetized with KX). In two rats we observed tissue necrosis on the right hind leg. Both hind legs were affected

with necrotic lesions in two other rats. The time of the first occurrence of the tissue necrosis differed between the four rats. The earliest occurrence of the necrosis was one day after the second anaesthesia in two rats and the other necrosis occurred after the fourth and fifth run with KX.

## Eigene Untersuchungen

**Table 3 Medetomidine-midazolam-fentanyl – mean values with standard deviation**

Parameter	Run (No. of animals)	Baseline Mean ± SD	Induction Mean ± SD	Non-surgical tolerance Mean ± SD	Surgical tolerance Mean ± SD	Wake-up Mean ± SD	Recovery Mean ± SD
SAP (mmHg)	1 (6)	117 ± 5.42	158 ± 19.28	160 ± 21.24	157 ± 23.24	101 ± 15.20	113 ± 9.43
	2 (6)	111 ± 7.34	144 ± 19.22*	151 ± 24.77	151 ± 25.47	105 ± 15.15	113 ± 7.08
	3 (6)	112 ± 9.32	153 ± 18.24	152 ± 23.21	147 ± 24.90*	101 ± 13.70	115 ± 7.90
	4 (5)	116 ± 8.18	149 ± 19.24	157 ± 28.86	146 ± 20.77	102 ± 11.90	114 ± 11.13
	5 (6)	115 ± 6.49	153 ± 19.81	154 ± 21.44	146 ± 25.10*	103 ± 10.03	117 ± 9.90
	6 (5)	117 ± 11.54	150 ± 17.01	146 ± 14.86*	148 ± 26.76	109 ± 17.16*	121 ± 11.21*
DAP (mmHg)	1 (6)	89 ± 4.40	120 ± 15.38	112 ± 7.78	107 ± 12.31	76 ± 13.69	90 ± 11.00
	2 (6)	84 ± 7.51	112 ± 10.63	106 ± 12.00	103 ± 12.22	81 ± 10.84	90 ± 6.40
	3 (6)	84 ± 5.49	117 ± 12.26	108 ± 9.00	103 ± 11.24	77 ± 11.00	91 ± 9.09
	4 (5)	89 ± 13.66	114 ± 6.48	111 ± 15.30	101 ± 6.64	76 ± 4.93	91 ± 13.87
	5 (6)	87 ± 5.85	116 ± 9.81	112 ± 8.85	103 ± 9.61	78 ± 8.78	92 ± 10.43
	6 (5)	89 ± 12.07	117 ± 10.93	110 ± 7.56	106 ± 10.62	84 ± 12.95	97 ± 11.12*
MAP (mmHg)	1 (6)	98 ± 2.90	132 ± 15.27	128 ± 10.61	123 ± 14.23	84 ± 13.90	98 ± 10.09
	2 (6)	93 ± 6.90	123 ± 12.88*	121 ± 15.41	119 ± 15.59	89 ± 12.11	98 ± 6.27
	3 (6)	93 ± 5.91	129 ± 12.90	123 ± 12.68	118 ± 14.39	85 ± 11.55	99 ± 8.38
	4 (5)	98 ± 11.61	126 ± 9.62	126 ± 19.01	116 ± 10.48	84 ± 6.59	99 ± 12.78
	5 (6)	96 ± 5.27	128 ± 12.79	126 ± 12.53	117 ± 14.16	86 ± 8.81	101 ± 9.98
	6 (5)	98 ± 11.39	128 ± 12.03	122 ± 8.47	120 ± 15.02	93 ± 14.07*	105 ± 10.66*
PP (mmHg)	1 (6)	28 ± 8.01	38 ± 14.80	48 ± 18.77	51 ± 18.78	25 ± 6.32	23 ± 6.17
	2 (6)	27 ± 5.94	33 ± 12.11	45 ± 16.81	48 ± 18.10	24 ± 6.08	23 ± 4.64
	3 (6)	28 ± 7.98	36 ± 14.18	43 ± 18.11	44 ± 19.42*	24 ± 6.67	24 ± 5.03
	4 (5)	27 ± 7.33	35 ± 16.25	46 ± 18.03	45 ± 16.88	27 ± 9.47	23 ± 5.29
	5 (6)	28 ± 6.38	37 ± 11.88	42 ± 14.75*	43 ± 17.89*	25 ± 5.78	24 ± 5.08
	6 (5)	28 ± 7.29	33 ± 11.90*	36 ± 13.39*	42 ± 19.92*	25 ± 7.30	24 ± 6.96
HR (bpm)	1 (6)	289 ± 23.42	285 ± 37.92	211 ± 16.99	197 ± 19.63	249 ± 19.49	275 ± 15.28
	2 (6)	274 ± 14.20	285 ± 45.73	214 ± 14.44	195 ± 15.42	255 ± 23.43	276 ± 15.52
	3 (6)	277 ± 19.13	298 ± 26.01	215 ± 17.93	194 ± 16.58	247 ± 11.99	274 ± 19.53
	4 (5)	282 ± 30.50	290 ± 26.66	214 ± 15.00	193 ± 15.97	251 ± 15.56	278 ± 20.03
	5 (6)	276 ± 18.01	290 ± 39.66	212 ± 15.61	193 ± 13.88	257 ± 30.82	282 ± 24.58*
	6 (5)	271 ± 15.55	298 ± 42.95*	215 ± 13.24*	191 ± 9.46	272 ± 43.96*	279 ± 26.52*
BT (°C)	1 (6)	37.50 ± 0.21	37.18 ± 0.16	36.88 ± 0.25	36.09 ± 0.17	35.67 ± 0.20	37.17 ± 0.58
	2 (6)	37.48 ± 0.34	37.44 ± 0.31	37.05 ± 0.34	36.11 ± 0.25	35.65 ± 0.17	37.14 ± 0.48
	3 (6)	37.27 ± 0.29	37.17 ± 0.36	36.86 ± 0.25	36.07 ± 0.26	35.66 ± 0.36	37.14 ± 0.36
	4 (5)	37.58 ± 0.31	37.50 ± 0.37	37.24 ± 0.36*	36.28 ± 0.24	35.78 ± 0.25	37.32 ± 0.26
	5 (6)	37.46 ± 0.19	37.13 ± 0.39	36.94 ± 0.42	36.08 ± 0.36	35.63 ± 0.28	37.23 ± 0.31
	6 (5)	37.28 ± 0.28	37.18 ± 0.15	36.90 ± 0.16	35.96 ± 0.35	35.53 ± 0.42	37.38 ± 0.29

\*Statistical significant difference (p value ≤ 0.05) based on the ANCOVA with baseline as covariate for the comparison of anaesthetic stages between run 2–6 versus run 1.

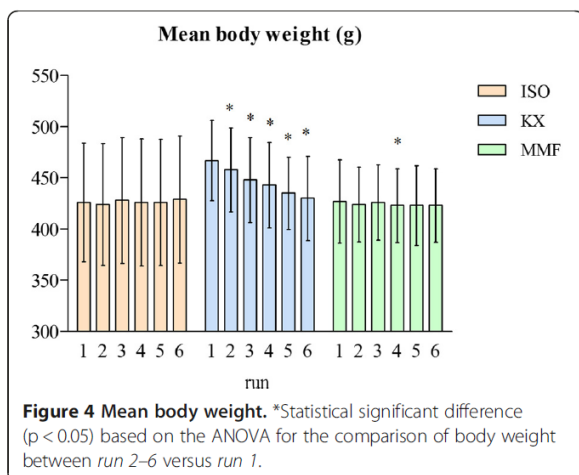
### Discussion

This study investigated if repeated anaesthesia with ISO, KX or MMF alter their influence on HR or BP values, BT and BW of male Wistar rats. To our knowledge, it was the first time that these parameters, together with the duration of anaesthetic intervals were evaluated

during repeatedly performed anaesthesia using telemetric data assessment.

### Effects on duration of anaesthesia

**ISO:** The significant differences in duration of anaesthetic stages we observed with ISO occurred only sporadically,



once in the time of non-surgical tolerance (*run 3*), once in the time of surgical tolerance (*run 3*) and once in the wake-up period (*run 5*). It must be kept in mind, however, that each rat needed a slightly different concentration of ISO (between 2–3 Vol%) to reach a defined stage of anaesthesia. This resulted in different times to adjust the ISO. Furthermore, the total length of surgical tolerance depended on the duration of the induction time and time of non-surgical tolerance, because we terminated ISO delivery after 40 minutes. Thus, it seemed inappropriate to interpret the duration of non-surgical and surgical tolerance. Finally, since the absolute differences in the durations were less than three minutes, we do not classify these differences, despite statistical significant, as being clinically relevant.

**KX:** With KX there was tendency for the sleeping time to decrease from *run 1* to *run 6*. These findings are in accordance with other studies evaluating the sleeping time during ketamine or ketamine-medetomidine anaesthesia in which the authors suggested an increased induction of metabolizing enzymes, which resulted in an increased clearance of the anaesthetics [17-21]. In one of these studies the authors stated that the hypnotic effect was caused by a specified plasma level of ketamine in the brain and that the duration of anaesthesia depends on the speed of tissue redistribution and metabolism [18]. Furthermore, a faster ketamine metabolism during anaesthesia has been demonstrated after a daily low-dose ketamine pretreatment over ten days, which is consistent with there being an increase in metabolizing enzymes [17,20]. We suggest that similar mechanisms may have caused the decrease of sleeping time after repeatedly performed KX anaesthesia in the present study. A relationship between the continuous reduction of sleeping time and the failure to reach surgical tolerance was not observed, because some rats failed to reach this stage in almost all *runs* (except in *run 4*) and therefore this was not associated with the increased number of anaesthetics. The inconsistency of

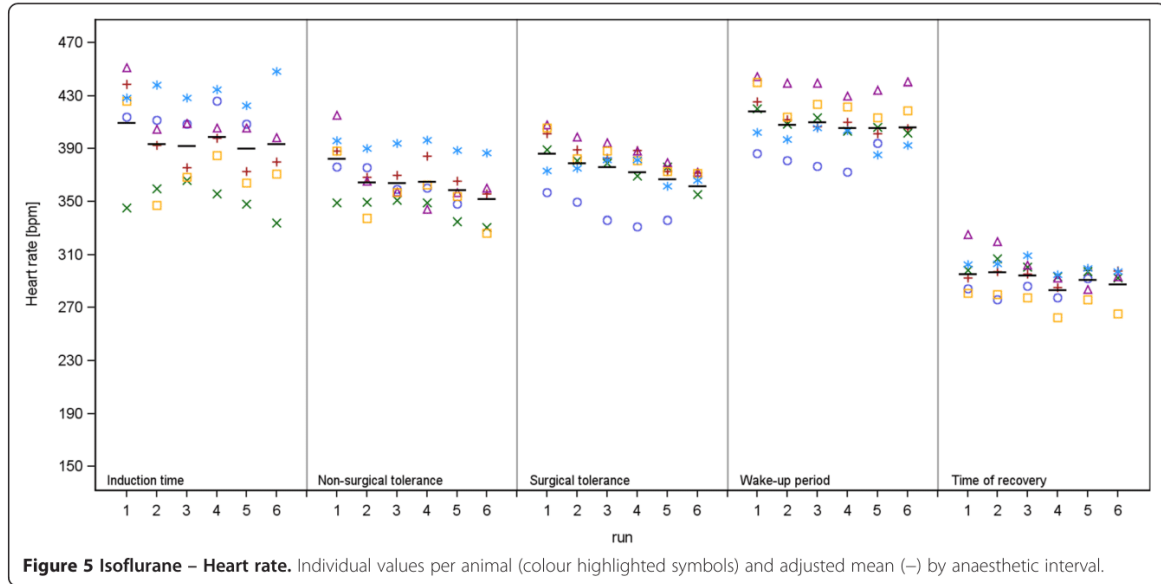
ketamine-xylazine to produce anaesthesia of sufficient depth has been reported in previous studies [22,23]. This effect has also been observed with the combinations of ketamine-medetomidine or ketamine-dexmedetomidine [24]. Since it was also suggested that the risk of anaesthetic mortality may increase with the application of higher dosages, we chose not to increase the ketamine-xylazine dosage in this study [23].

**MMF:** With MMF no significant differences in the duration of the anaesthetic stages were observed with repeated anaesthesia. In contrast to KX, MMF was antagonized after 40 minutes. Therefore, it was not possible to detect a change in whole sleeping time even if there had been an increase of metabolizing enzymes. It would be possible if rats became conscious before antagonization, but this did not occur in this study. As with ISO we were not able to evaluate alterations of the time of surgical tolerance, but for induction time, time of non-surgical tolerance and wake-up period, repeated MMF anaesthesia had no effect.

#### Effects on heart rate, arterial blood pressure and body temperature

**ISO:** With repeated anaesthesia using ISO, there was a decrease in arterial BP. The decrease was significant from *run 5–6* in comparison to *run 1* during the time of surgical tolerance. Significant lower HR compared to *run 1* could also be observed during the induction time, time of non-surgical and surgical tolerance and wake-up period in almost all subsequent *runs* (*run 2–6*). The HR decrease is depicted in Figure 5. This was an unexpected effect, because with decreasing BP values one would usually expect a compensatory increase of HR through baroreceptor-mediated effects. It seemed that the depressant effect of ISO on BP became more pronounced with an increased number of performed anaesthetics, but the ability to compensate for this BP decrease with an increased HR also diminished. Repeated ISO anaesthesia did not have any effect on myocardial, anatomical or histological endpoints in previous studies [25,26]. A further study noticed no significant QT prolongation in the ECG, no myocardial repolarization abnormalities or any evidence for left ventricular enlargement after repeated anaesthesia with ISO [27]. Taken together, a histopathological explanation for the sequential depression of HR and BP appears not to be the case. Another aspect could be that the ISO concentration was adapted to the needs of each individual rat (2–3 Vol%). This variable, not standardized ISO concentration could have had an influence on the measured parameters. The decreases in BP and HR we observed during six anaesthetics were not severe enough to require intervention and are not interpreted to be indicative of acute heart failure. Whether or not the extent of the decrease in HR and BP





would be greater if more repetitions of ISO anaesthesia were performed is not known. The significant increase of PP observed during induction time in *run 3* and *4* were not associated with significant differences of the absolute BP values in the same *runs* and these two PP values were still well within the physiological range [5]. Therefore, we concluded that the observed increase of PP had no clinical relevance. In *run 6* BT was significantly lower compared to *run 1* in time of surgical tolerance and wake-up period. A possible explanation could be the lower BP values in *run 6*, due to the vasodilative effects of ISO, leading to a greater heat loss during anaesthesia [6].

**KX:** The significant changes of BP parameters during repeated KX anaesthesia occurred sporadically and did not correlate with the different anaesthetic stages. In our previous study, which evaluated the effect of a single KX anaesthesia, we observed similar BP values compared to those indicated to be different compared to *run 1*, suggesting that changes were without clinical relevance, since all values were within normal, physiological ranges [5,9,28]. During the time of non-surgical tolerance BT showed a tendency to increase and was significantly different to *run 1* in *run 2, 4, 5* and *6*. As mentioned above, the duration of this anaesthetic stage decreased progressively from *run 1–6*. It is well known that anaesthetics influence the thermoregulatory control and that especially small animals, like rodents, due to their large surface area to body weight ratio, lose heat rapidly and may become hypothermic during prolonged anaesthesia [6,8]. With the duration of anaesthesia becoming shorter from *run 1–6*, there was less time for the rats to lose body

heat and therefore, BT was comparatively higher during the time of non-surgical tolerance. One animal receiving KX died during its sixth anaesthesia. After injection of the anaesthetics the rat immediately lost its righting reflex. HR and BP decreased markedly and the animal stopped breathing. Different mortality rates have been reported previously for ketamine-xylazine, but without post-mortem data we could not exclude any other factors (e.g. latent infections) that may have contributed to the rat's death [23,29]. Many investigators now use ketamine combined with medetomidine or dexmedetomidine rather than xylazine. Anaesthesia of similar quality and depth was reported for the combination of ketamine-xylazine and ketamine-dexmedetomidine in rats [30]. Another study evaluating the effects of repeated ketamine-medetomidine anaesthesia reported that anaesthesia was not associated with anaesthetic mortality, but in combination with buprenorphine they observed an increased risk of anaesthetic related death [31].

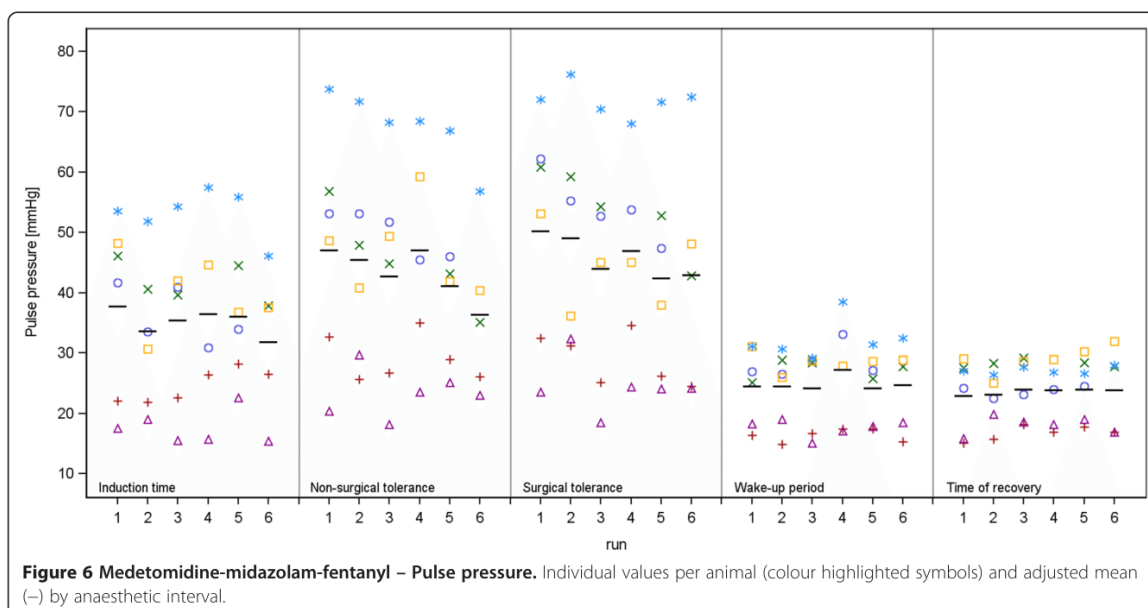
**MMF:** From induction time to the time of surgical tolerance a slight decrease of BP values, especially PP, could be observed from *run 1–6*, whereas during wake-up and recovery periods BP parameters slightly increased with a significant difference only observed in *run 6*. HR tended to increase from *run 1–6* but not during the time of surgical tolerance. The increased HR was only significant, however, in *run 6*. In a previous report on the effects of repeated MMF anaesthesia in rats, the authors observed only a slight decrease of a vitality index (escape reaction, aggressiveness, speed of movements and paresis were classified and scored) [32]. They did not observe significant differences of HR and BT when

performing ten anaesthetics within three months [32]. In our previous study we observed significant increases of all BP values, with PP almost doubled compared to its baseline value and HR was significantly decreased during MMF anaesthesia [9]. As also seen in this study, a rapid and short-lasting decrease of BP values occurred after antagonism. We noted that the BP values of *run 1* were already lower compared to the values of this single MMF anaesthesia, although we had expected approximately similar values at least during the *1st run* of MMF anaesthesia. Furthermore, we observed a much larger variability with the repeated anaesthesia compared to the variability seen with the same anaesthetic stages in the previous study. Baseline values of these two studies were comparable, therefore, the cardiovascular condition of the rats and the quality of the telemetric signal were comparable during time of anaesthetic induction. We conclude, therefore, that the effect of MMF anaesthesia on haemodynamic parameters was indeed more variable as in the previous study. An example of the great inter-individual difference of PP values is depicted in Figure 6. We noticed that the anaesthetic profiles were most similar to the previous study with the youngest animal in the group, whereas lowest BP values during MMF anaesthesia were mostly seen in the older animals. The differences of *run 1* compared to the values of the previous study could be related to the different ages of the rats (maximum of five months age difference). It is known that metabolism and mechanisms of the autonomic nervous system and cardiovascular system undergo age-related changes [6,33]. Effects of age have been described

for other anaesthetic regimes, but have not yet been reported for haemodynamic parameters during MMF treatment [34,35]. BT was not affected substantially by repeated anaesthesia, with only one significant difference during time of non surgical tolerance in *run 4*. If we compared the BT of the repeated anaesthesia with the BT values of the previous study, there was a difference of almost one degree, especially during time of surgical tolerance and wake-up period, although the same conditions were provided to maintain heat throughout the measurements [9]. Baseline values of BT and recovery values of these two studies were comparable. Therefore, the influence of MMF anaesthesia on BT in the two studies appears to be different. Fentanyl and midazolam have only little effect on BP values, but medetomidine is known to cause a vasoconstriction in the peripheral circulation and loss of body heat depending, among other things, on the perfusion of the periphery [5,6]. Medetomidine might have caused a less intensive vasoconstriction which resulted in lower BP values in this study compared to the values of the previous study. An effect of age or BW could also be responsible, but BT with ISO or KX anaesthesia was comparable between the two studies and there were the same differences in age and BW. Therefore, an age- or BW-related effect seems unlikely. Nevertheless, the effect on BT was consistent within the three weeks of performing six MMF anaesthetics.

### Effects on body weight

BW did not alter significantly during the three weeks of repeated ISO and MMF anaesthesia, except at one time



point with MMF (*run 4*). This difference was, however, a BW reduction of less than 1% compared to the BW in *run 1*. Hence, it is not of clinical relevance, since BW remained unaffected in the following *runs* using MMF anaesthesia. A continuous decrease of BW was observed with KX, however. The reduction of mean BW from *run 1-6* was nearly 8%. This could be due to the long sleeping time and recovery period, such that the rats ate and drank less. Another negative effect on food and water uptake could be the disturbing influence of ketamine on the circadian rhythm of the animal [36,37]. The seriousness of a BW loss of 8% depends on the initial body weight of the animal. Decreases in body weight in the range of 15-30%, alone or in combination with a poor general condition, have been used in the past to indicate the necessity for a humane endpoint of a test animal [38,39]. We did not reach a BW loss of this extent after performing six anaesthetics within three weeks, but it could be more pronounced if performing more than 6 *runs* or reducing the time between two anaesthetics. Furthermore, one has to consider the additional influence of experimental procedures (surgery, drug application, etc.) on BW.

#### Effects of administration route

No obvious detrimental effects could be observed with repeated ISO inhalation or i.m. administration of MME, but with KX, we often noticed visible tissue necrosis at the injection site. A reason could be the administered volume of anaesthetics. The injected volumes of KX and MMF in this study appear higher than volumes recommended for intramuscular injection in rats in some guidelines [40]. However, recommendations are typically given in volume per animal (ml) as opposed to volume per kg body weight. The rats used in this study had a mean body weight of  $434 \pm 48$  g and thus were substantially heavier than commonly used laboratory rats. We chose not to administer the anaesthetics intraperitoneally, because of the presence of the telemetry device in the abdominal cavity and the risk to damage the cables during injection. Additionally, peritonitis as a result of intraperitoneal injection of irritants would be associated with more complications in rats implanted with a telemetry device. Furthermore, an intraperitoneal injection has a risk to be misdirected into the gastrointestinal tract or the urinary bladder [6,41,42]. This depends on how familiar one is with the technique and differed between personnel. The variable failure rate may have serious consequences for analysis and data interpretation [43,44]. We suggest that the acidic formulation of ketamine, and not the injected volume, caused these necrotic lesions, because the injected volume of KX at each injection site was comparable with that of MMF. Of course, we cannot exclude the possibility, that also MMF caused

necrotic lesions to a lesser extent, which were not obvious visible during our daily clinical monitoring. Histological examinations, which were not carried out in this study, are required to clarify the tissue response after an intramuscular injection of MMF. We treated the wounds at the injection sites daily with an ointment (Pana Veyxal® Salbe, Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn, Germany) to accelerate the healing process, but with an increased number of performed KX anaesthetics, the tissue necrosis became worse. The size of the necrosis did not become too large, so that an injection of subsequent KX administrations in healthy tissue was still possible. The absorption of drugs injected in inflamed muscle tissue is different due to an altered tissue pH and an increased vascularization [45,46]. Duration and depth of anaesthesia could be influenced as well as HR, BP and BW. Therefore, a comparison of anaesthetics injected in healthy and inflamed tissue is not advisable.

Altogether, with regard to a low-stress administration and smooth and rapid induction of anaesthesia, ISO offers a clear advantage compared to the injectable anaesthetics. Additionally, it cannot be denied that ISO is only minimally metabolized compared to the other anaesthetics, easily adjustable to the individual needs of each animal and simple to handle and to prolong the duration of anaesthesia if needed. These advantageous aspects of ISO have to be taken into consideration for the repeated use, unless the experimental procedure would not allow an inhalational anaesthetic regimen.

#### Conclusion

Our study evaluated the effect of repeated anaesthesia with ISO, KX or MMF on HR, SAP, DAP, MAP, PP, BT, duration of anaesthetic intervals and BW in male Wistar rats.

With the decrease of HR and BP during the six repetitive ISO anaesthesia, the use of ISO has to be considered if a change of these parameters is not acceptable for a given study design. Otherwise, ISO is well-suited for serial use, since it is possible to produce anaesthesia with comparable duration and depth and it has some advantageous aspects compared to the injectable regimens. With the inability to consistently produce a surgical plane of anaesthesia and the reduction of sleeping time and BW, as well as the frequent production of a local tissue necrosis at the injection site, KX has some distinct disadvantages. Although HR, BP values and BT remained unaffected after six KX anaesthetics, the other results of this study may be considered significant contraindications for the repeated use of KX. With only mild changes of BP values with repeated anaesthesia, MMF seems suitable for serial use, unless the high BP and the low HR during the surgical plane of anaesthesia are undesirable.



**Abbreviations**

AFN: Atipamezole-flumazenil-naloxone; BP: Blood pressure; bpm: Beats per minute; BT: Body temperature; BW: Body weight; DAP: Diastolic arterial pressure; DSI™: Data Science International™; fig: Figure; HR: Heart rate; i.m.: Intramuscular; ISO: Isoflurane; KX: Ketamine-xylazine; MAP: Mean arterial pressure; min: Minute; MMF: Medetomidine-midazolam-fentanyl; PP: Pulse pressure; SAP: Systolic arterial pressure; s.c.: Subcutaneous; SD: Standard deviation.

**Competing interests**

None of the authors of this paper has a financial or personal relationship with other people or organizations that could inappropriately influence or bias the content of the paper. The authors declare that they have no competing interests.

**Authors' contributions**

MA developed the experimental design of the study, performed the transmitter implantation surgery and all anaesthetics, prepared and interpreted data, created tables and figures, drafted and finalized the manuscript. JH initiated the study, developed the experimental design, analysed and interpreted data and revised the manuscript. ST was involved in developing the study design, discussed the result with MA and JH and revised the manuscript. MM developed the experimental design of the study, analysed and interpreted data and revised the manuscript and supervised the study. BG is the supervisor of the experimental group in which the studies were conducted, actively participated in the interpretation of the data as well as in the editing of the manuscript. The final version of the manuscript was read and approved by all authors of this study.

**Acknowledgements**

The authors want to thank Florian Krause and Werner Mayer for their assistance with the telemetric system and the assistance in data preparation. We gratefully acknowledge the statistical support of Anna-Lena Martin and Louis Josef Bour of the Department of Non-Clinical Biostatistics at Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG. Excellent animal handling assistance during the study was provided by Maren Bathge, Siegmund Feser and Alfred Ruf.

**Author details**

<sup>1</sup>Department of Nonclinical Drug Safety, Biological Laboratory Service, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Birkendorfer Str. 65, 88397 Biberach, Germany. <sup>2</sup>Department of Veterinary Clinical Sciences, Clinic for Small Animals-Surgery, Justus-Liebig University, Frankfurter Str. 108, 35392 Giessen, Germany. <sup>3</sup>Department of Drug Discovery Support, General Pharmacology, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Birkendorfer Str. 65, 88397 Biberach, Germany.

Received: 26 August 2014 Accepted: 17 December 2014

Published online: 31 December 2014

**References**

- Hildebrandt IJ, Su H, Weber WA: Anesthesia and other considerations for in vivo imaging of small animals. *ILAR J* 2008, **49**:17–26.
- Altholtz LY, Fowler KA, Badura LL, Kovacs MS: Comparison of the stress response in rats to repeated isoflurane or CO<sub>2</sub>O<sub>2</sub> anesthesia used for restraint during serial blood collection via the jugular vein. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2006, **45**:17–22.
- Tremoleda JL, Kerton A, Gsell W: Anaesthesia and physiological monitoring during in vivo imaging of laboratory rodents: considerations on experimental outcomes and animal welfare. *EJNMMI Res* 2012, **2**:44.
- Lukasik VM, Gillies RJ: Animal anaesthesia for in vivo magnetic resonance. *NMR Biomed* 2003, **16**:459–467.
- Krinke GJ: *The Laboratory Rat*. London: Academic; 2000.
- Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S: *Anästhesie und analgesie beim klein- und heimtier mit exoten, labortieren, vögeln, reptilien, amphibien und fischen*. 2nd edition. Stuttgart: Schattauer; 2012.
- Wenger S: Anesthesia and analgesia in rabbits and rodents. *J Exotic Pet Med* 2012, **21**:7–16.
- Flecknell PA: *Laboratory Animal Anaesthesia: An Introduction for Research Workers and Technicians*. San Diego: Academic; 1987.
- Albrecht M, Henke J, Tacke S, Markert M, Guth B: Effects of isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl on physiological variables continuously measured by telemetry in Wistar rats. *BMC Vet Res* 2014, **10**:198.
- Kramer K, Kinter LB: Evaluation and applications of radiotelemetry in small laboratory animals. *Physiol Genomics* 2003, **13**:197–205.
- Braga VA, Burmeister MA: Applications of Telemetry in Small Laboratory Animals for Studying Cardiovascular Diseases. In *Modern Telemetry*. Edited by Krejcar O. Rijeka: InTech; 2011:183–196.
- Greene AN, Clapp SL, Alper RH: Timecourse of recovery after surgical intraperitoneal implantation of radiotelemetry transmitters in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2007, **56**:218–222.
- Schierok H, Markert M, Pairet M, Guth B: Continuous assessment of multiple vital physiological functions in conscious freely moving rats using telemetry and a plethysmography system. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2000, **43**:211–217.
- Morton DB, Hawkins P, Bevan R, Heath K, Kirkwood J, Pearce P, Scott L, Whelan G, Webb A: Refinements in telemetry procedures. Seventh report of the BVA/AVF/FRAME/RSPCA/UFVAW Joint working group on refinement, part A. *Lab Anim* 2003, **37**:261–299.
- Kosanke Y: Einfluss verschiedener Anästhesiemethoden auf die Rektal- und Oberflächentemperatur von C57BL/6-Mäusen (Inhalationsnarkose mit Isofluran und Injektionsnarkose mit Medetomidin-Midazolam-Fentanyl und Ketamin-Xylazin) [Influence of different anaesthetic regimes on rectal and body surface temperature of C57BL/6-mice (inhalational anaesthesia with isoflurane and injectable anaesthesia with medetomidine-midazolam-fentanyl and ketamine-xylazine)]. München: Zentrum für klinische Tiermedizin der Ludwig-Maximilians Universität München; 2012. PhD thesis.
- Kroiß M, Bencec M, Stolz A, Tacke S: Perioperative hypothermia and warming therapy in dogs and cats. *Kleintierpraxis* 2013, **58**:644–658.
- Livingston A, Waterman AE: Self induction of metabolism by ketamine in the rat [proceedings]. *Br J Pharmacol* 1977, **60**:296P–297P.
- Marietta MP, White PF, Pudwill CR, Way WL, Trevor AJ: Biodisposition of ketamine in the rat: self-induction of metabolism. *J Pharmacol Exp Ther* 1976, **196**:536–544.
- Livingston A, Waterman AE: Effects of repeated doses of ketamine on sleeping times in rats [proceedings]. *Br J Pharmacol* 1976, **57**:457P.
- Livingston A, Waterman AE: The development of tolerance to ketamine in rats and the significance of hepatic metabolism. *Br J Pharmacol* 1978, **64**:63–69.
- Settle TL, Rico PJ, Lugo-Roman LA: The effect of daily repeated sedation using ketamine or ketamine combined with medetomidine on physiology and anesthetic characteristics in rhesus macaques. *J Med Primatol* 2010, **39**:50–57.
- Green CJ, Knight J, Precious S, Simpkin S: Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10 year experience. *Lab Anim* 1981, **15**:163–170.
- Arras M, Autenrieth P, Rettich A, Spaeni D, Rulicke T: Optimization of intraperitoneal injection anesthesia in mice: drugs, dosages, adverse effects, and anesthesia depth. *Comp Med* 2001, **51**:443–456.
- Burnside WM, Flecknell PA, Cameron AI, Thomas AA: A comparison of medetomidine and its active enantiomer dexmedetomidine when administered with ketamine in mice. *BMC Vet Res* 2013, **9**:48.
- Eger EI, Johnson BH, Ferrell LD: Comparison of the toxicity of I-653 and isoflurane in rats: a test of the effect of repeated anaesthesia and use of dry soda lime. *Anesth Analg* 1987, **66**:1230–1233.
- Chassagne MC, Descotes J, Héritier-Pigeon B, Forichon A, Garnier F, Burnett R: A comparison of the effects of repeated anaesthesia with ether or isoflurane in rats. *Comp Haematol Int* 2000, **10**:126–131.
- Öztürk A, Altug ME: Effects of repeated application of isoflurane and desflurane on electrocardiogram, anaesthesia induction, and recovery characteristics in rats. *Bull Vet Inst Pulawy* 2007, **51**:635–640.
- Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH: *The Laboratory Rat*. London: Academic; 1980.
- Smith W: Responses of laboratory animals to some injectable anaesthetics. *Lab Anim* 1993, **27**:30–39.
- Wellington D, Mikaelian I, Singer L: Comparison of ketamine-xylazine and ketamine-dexmedetomidine anaesthesia and intraperitoneal tolerance in rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2013, **52**:481–487.
- Hedenqvist P, Roughan JV, Flecknell PA: Effects of repeated anaesthesia with ketamine/medetomidine and of pre-anaesthetic administration of buprenorphine in rats. *Lab Anim* 2000, **34**:207–211.
- Rahmanian-Schwarz A, Held M, Knoeller T, Amr A, Schaller HE, Jaminet P: The effect of repetitive intraperitoneal anesthesia by application of fentanyl-medetomidine and midazolam in laboratory rats. *J Invest Surg* 2012, **25**:123–126.



33. Vyskocilova E, Szotakova B, Skalova L, Bartikova H, Hlavacova J, Bousova I: **Age-related changes in hepatic activity and expression of detoxification enzymes in male rats.** *Biomed Res Int* 2013, **2013**:408573.
34. Livingston A, Waterman AE: **Influence of age and sex on the duration of action ketamine in the rat [proceedings].** *Br J Pharmacol* 1977, **59**:491P.
35. Veilleux-Lemieux D, Castel A, Carrier D, Beaudry F, Vachon P: **Pharmacokinetics of ketamine and xylazine in young and old Sprague-Dawley rats.** *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2013, **52**:567-570.
36. Prudian F, Gantenbein M, Pelissier AL, Attolini L, Bruguerolle B: **Daily rhythms of heart rate, temperature and locomotor activity are modified by anaesthetics in rats: a telemetric study.** *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1997, **355**:774-778.
37. Mihara T, Kikuchi T, Kamiya Y, Koga M, Uchimoto K, Kurahashi K, Goto T: **Day or night administration of ketamine and pentobarbital differentially affect circadian rhythms of pineal melatonin secretion and locomotor activity in rats.** *Anesth Analg* 2012, **115**:805-813.
38. Morton DB: **A systematic approach for establishing humane endpoints.** *ILAR J* 2000, **41**:80-86.
39. Franco NH, Correia-Neves M, Olsson IA: **How "humane" is your endpoint? Refining the science-driven approach for termination of animal studies of chronic infection.** *PLoS Pathog* 2012, **8**:e1002399.
40. Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, Vidal JM, van de Vorstenbosch C: **A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes.** *J Appl Toxicol* 2001, **21**:15-23.
41. Coria-Avila GA, Gavrila AM, Menard S, Ismail N, Pfaus JG: **Cecum location in rats and the implications for intraperitoneal injections.** *Lab Anim (NY)* 2007, **36**:25-30.
42. Meijer MK, Spruijt BM, van Zutphen LF, Baumans V: **Effect of restraint and injection methods on heart rate and body temperature in mice.** *Lab Anim* 2006, **40**:382-391.
43. Steward JP, Ormellas EP, Beernink KD, Northway WH: **Errors in the technique of intraperitoneal injection of mice.** *Appl Microbiol* 1968, **16**:1418-1419.
44. Gaines DR, North D: **Implications of experimental technique for analysis and interpretation of data from animal experiments: outliers and increased variability resulting from failure of intraperitoneal injection procedures.** *Lab Anim* 2007, **41**:312-320.
45. Becker DE, Reed KL: **Essentials of local anesthetic pharmacology.** *Anesth Prog* 2006, **53**:98-108.
46. Schmaljohann D: **Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery.** *Adv Drug Deliv Rev* 2006, **58**:1655-1670.

**Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:**

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at  
[www.biomedcentral.com/submit](http://www.biomedcentral.com/submit)



### 4. ERWEITERTE DISKUSSION

Das Ziel dieser Arbeit war es, den einmaligen und repetitiven Einfluss von drei verschiedenen Anästhesiemethoden bei der Ratte auf bestimmte physiologische Parameter, wie Blutdruck, Herzfrequenz und Körperkerntemperatur und die Dauer der einzelnen Anästhesiestadien zu evaluieren. Mithilfe vollständig implantierbarer Telemetriesysteme war eine kontinuierliche Datenerhebung und Interpretation zuverlässiger und aussagekräftiger Werte möglich.

Zunächst wurden die Auswirkungen einer Anästhesie auf Herz-Kreislauf-Parameter und Körperkerntemperatur untersucht. Als Anästhesiemethoden kamen die Inhalationsanästhesie mit Isofluran, die Kombination Ketamin-Xylazin und die vollständig antagonistische Anästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl zum Einsatz. Ausgehend von den Ruhewerten (Baseline) wurden die Veränderungen der Parameter während der einzelnen Anästhesiestadien auf signifikante Unterschiede (Signifikanzwert  $p \leq 0,05$ ) getestet. Zusätzlich wurde untersucht, ob sich die Parameter während der einzelnen Anästhesiestadien zwischen den drei Anästhesiemethoden signifikant unterscheiden. In einer zweiten Versuchsreihe wurden die gleichen Anästhesieregime hinsichtlich ihrer Auswirkungen bei wiederholter Anwendung einer Anästhesiemethode analysiert. Nicht nur die Veränderungen der telemetrisch erfassten Parameter, sondern auch Änderungen des Körpergewichts und der Dauer der einzelnen Anästhesiestadien wurden hierbei auf statistisch signifikante Unterschiede getestet.

#### 4.1 Telemetriesysteme zur Erfassung physiologischer Parameter

Die Datenerfassung mittels Telemetriesystemen, wie sie in beiden Versuchsreihen zum Einsatz kam, ist derzeit die Methode der Wahl zur Messung von Körperkerntemperatur und kardiovaskulärer Parameter (Schierok et al. 2000, Kramer und Kinter 2003, Greene et al. 2007, Braga und Burmeister 2011). Da zum Messen der Parameter keine Handlings- oder Zwangsmaßnahmen durchgeführt werden müssen, die für die Tiere mit viel Stress verbunden sein können, sind die erfassten Werte vollständig unbeeinflusst von der Messmethode und repräsentieren den tatsächlichen physiologischen Zustand der Tiere. Es besteht die Möglichkeit die telemetrische Messung in gewohnter Umgebung durchzuführen, wenn die entsprechende Hardware vor Ort angebracht wird. Es können sogar zusätzlich Begleittiere mit im Käfig gehalten werden, um das Stresslevel während der Messung noch weiter zu reduzieren. Wenn die Tiere jedoch, wie es in dieser Arbeit der Fall war, an den Messraum und an die Haltungsbedingungen im Messraum gewöhnt werden, dann lassen sich auch unter diesen Umständen repräsentative Ruhewerte erzielen. Die in der vorliegenden Arbeit erfassten Ruhewerte lagen bei den Ratten sogar teilweise noch unter den in der Literatur angegebenen Werten, was sowohl ein Zeichen für eine gute Eingewöhnungsphase an die Haltungsbedingungen im Messraum, als auch für die

## Erweiterte Diskussion

stressarme und das Tier nicht weiter beeinflussende Messmethode darstellt (Waynforth und Flecknell 1992, d'Uscio et al. 2000, Henke und Erhardt 2012b). Die große Varianz zwischen den angegebenen Ruhewerten, die sich in der Literatur finden und den Werten aus dieser Arbeit, liegt mit großer Wahrscheinlichkeit an den verschiedenen Messmethoden, mit denen diese Parameter erfasst wurden. Meistens wurde bei den publizierten Ruhewerten die verwendete Messmethode nicht mit erwähnt, was den Vergleich und die Diskussion erschwert. Ein weiterer Vorteil der Telemetriesysteme ist, dass man den Tieren nach der Implantation des Telemetriesenders eine ausreichend lange Erholungsphase gewähren kann, da die Kontinuität und die Qualität des Blutdrucksignals viel länger (mehrere Monate bis Jahre) bestehen bleibt, als bei einem herausgelagerten Blutdruckkatheter, der täglich gespült werden muss und der vor Manipulation von Seiten des Tieres nie ganz sicher ist. Solche herausgelagerten Katheter werden oft nur wenige Tage bis Stunden vor der eigentlichen Messung unter einer Allgemeinanästhesie implantiert, so dass den Tieren nicht viel Zeit zum Erholen bleibt. Die Tiere müssen nach der Implantation dauerhaft in Einzelhaltung leben, um die Beschädigung des Katheters durch andere Tiere zu verhindern. Auf eine Applikation von Analgetika wird zudem meistens verzichtet, um mögliche Arzneimittelinteraktionen auszuschließen. In einer Studie wurde für die Ratte eine Erholungsphase nach einer Telemetrie-Operation von einer Woche als ausreichend definiert (Greene et al. 2007). In der vorliegenden Arbeit wurde jeder Ratte sogar eine Erholungsphase von mindestens zwei Wochen zugesprochen, bevor mit den Anästhesieuntersuchungen begonnen wurde. Somit konnten Analgetika unter Zuhilfenahme eines Schmerz-Scoresheets ausreichend lang appliziert werden. Ein Einfluss des chirurgischen Eingriffes und der Anästhesie auf die gemessenen Parameter bei telemetrierten Tieren kann daher so gut wie ausgeschlossen werden, was man bei anderen invasiven Blutdruckmessmethoden nicht behaupten kann (Morton et al. 2003).

Die Inhalationsanästhesie mit Isofluran und die Injektionsanästhesie mit der Kombination aus Ketamin und Xylazin sind seit langem etablierte Standardanästhesiemethoden bei der Ratte (Gaertner et al. 2008). Die vollständig antagonistische Anästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl ist erstmals 1998 bei der Ratte untersucht worden und wird seitdem zunehmend in der Heimtieranästhesie eingesetzt (Henke et al. 1998, Mantel 1999, Henke und Erhardt 2012b). Ähnliche Untersuchungen zu dieser oder vergleichbarer antagonistischer Anästhesiekombinationen wurden bereits beim Chinchilla, Gerbil, Hamster, Kaninchen und Meerschweinchen, sowie auch bei Mäusen und Tauben durchgeführt (Roberts et al. 1993, Astner 1998, Neff 2000, Schneider 2000, Weiske 2001, Röltgen 2002, Hjalmsdottir 2005). Bei keiner dieser Untersuchungen wurden jedoch vollständig implantierbare Telemetriesysteme zur Datenerhebung verwendet. Mantel (1999) und Perantoni (2000) implantierten den Ratten in ihrer Studie den Katheter unter einer Isofluran-Anästhesie jeweils eine bzw. eineinhalb Stunden vor Beginn der eigentlichen Anästhesieuntersuchung. Heitz (2005) nutzte die zu untersuchende Anästhesie zur Implantation des Katheters und hat erst ab Minute 40 nach Injektion der Anästhetika Blutdruckwerte bei ihren Ratten messen können. Bei den anderen Tierspezies wurde der Katheter zur Blutdruckmessung ebenfalls unter einer vorherigen Isofluran-Anästhesie oder erst unter

## Erweiterte Diskussion

der zu untersuchenden Anästhesie implantiert (Roberts et al. 1993, Röltgen 2002). Lediglich beim Kaninchen erfolgte das Einführen des Katheters im Wachzustand über die Ohrarterie. Nach zehn Minuten Erholungszeit wurde der Wachwert gemessen und nach weiteren zehn Minuten wurde die zu untersuchende Anästhesie eingeleitet (Astner 1998). Es ist bekannt, dass allein Handling und Zwangsmaßnahmen für verschiedene versuchstierkundliche und veterinärmedizinische Maßnahmen den Tieren erheblichen Stress bereitet. Daher erscheinen zehn Minuten sehr kurz für eine angemessene Erholungszeit beim Kaninchen und auch bei anderen Spezies (Balcombe et al. 2004). Mithilfe telemetrisch erhobener Werte sollte es in der vorliegenden Arbeit ermöglicht werden, an minimal gestressten Tieren die gemessenen Parameter vor, während und nach einer Anästhesie mit Isofluran, Ketamin-Xylazin oder Medetomidin-Midazolam-Fentanyl zu vergleichen.

### **4.2 Erweiterte Diskussion zu „Effects of isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl on physiological variables continuously measured by telemetry in rats“**

Die kardiovaskulären Veränderungen der gemessenen Parameter während einer MMF-Anästhesie zeigten in dieser Arbeit einige Parallelen zu den bisherigen MMF-Untersuchungen bei der Ratte. Mantel (1999) und Perantoni (2000) konnten ebenfalls einen initialen Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks beobachten, der im Laufe einer Anästhesie langsam wieder zurückging. Nach der Antagonisierung konnte auch in beiden Studien, sowie in der Arbeit von Heitz (2005), ein kurzzeitiger Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks festgestellt werden. Beim Gerbil, Chinchilla und Kaninchen konnte ebenfalls ein kurzzeitiger, nur wenige Minuten andauernder Blutdruckabfall nach der Antagonisierung beobachtet werden (Astner 1998, Schneider 2000, Röltgen 2002). Beim Meerschweinchen kam es dagegen zu einem Blutdruckanstieg (Roberts et al. 1993). Jedoch lagen in dieser Studie beim Meerschweinchen die Werte des mittleren arteriellen Blutdrucks während der Anästhesie bereits im hypotonen Bereich. Grund dafür könnten die Differenzen bei der für diese Meerschweinchen verwendeten Anästhetika-Kombination sein (Xylazin-Climazolam-Fentanyl antagonisiert mit Yohimbin-Sarmazenil-Naloxon). Kaninchen und Hamster zeigten während der Anästhesie relativ stabile und gleichbleibende Blutdruckwerte (Astner 1998, Neff 2000). Beim Hamster lagen diese jedoch eher im hypertonen Bereich. Leider wurde in all diesen Arbeiten der Blutdruck nur als mittlerer arterieller Blutdruck angegeben, so dass ein Vergleich von systolischen und diastolischen Werten nicht möglich ist. Die Arbeit von Hjalmsdottir (2005) zur MMF-Anästhesie bei der Maus erfasste systolische und diastolische Blutdruckwerte, jedoch zeigte die Maus hämodynamisch eine vollständig andere Reaktion auf eine MMF-Anästhesie als die Ratte. Anstatt eines Blutdruckanstiegs während der Anästhesie wurden bei der Maus hypotone Werte gemessen, allerdings wurde der erste Blutdruckwert auch erst ab Minute 30 nach Applikation erfasst, so dass ein Vergleich von initialen Blutdruckwerten hier nicht möglich war. Die deutliche Bradykardie während

## Erweiterte Diskussion

der Anästhesie und der Anstieg der Herzfrequenz nach Antagonisierung konnten Mantel (1999), Perantoni (2000) und Heitz (2005) bei der Ratte ebenfalls zeigen. Die Bradykardie war jedoch bei den Ratten in der vorliegenden Arbeit noch deutlicher ausgeprägt, da die gemessene Herzfrequenz während der Anästhesie um 20 bis 50 Schläge pro Minute noch niedriger war, verglichen mit den Herzfrequenzwerten der anderen Studien. Meerschweinchen, Hamster, Chinchillas, Gerbille, Kaninchen und Mäuse zeigten ebenfalls Herzfrequenzwerte im bradykarden Bereich während der MMF-Anästhesie (Astner 1998, Neff 2000, Schneider 2000, Röltgen 2002, Seidensticker 2004, Hjalmsdottir 2005). Anhand der sehr speziesspezifisch unterschiedlichen Reaktionen einer MMF-Anästhesie auf kardiovaskuläre Parameter wird deutlich, dass die beobachteten Effekte während einer Anästhesie bei einer bestimmten Spezies nicht auf eine andere Spezies übertragbar sind und unterstreicht die Wichtigkeit der speziesspezifischen Anästhesieuntersuchungen.

Der Vergleich der vollständig antagonistischen Anästhesie mit der Ketamin-Xylazin-Anästhesie hat gezeigt, dass sich Blutdruckparameter und Herzfrequenz von der Einleitungsphase bis hin in die Recoveryphase signifikant voneinander unterscheiden. Mantel (1999) hingegen konnte trotz Einsatz des gleichen Rattenstammes und Verwendung gleicher Dosierungen in der Herzfrequenz während der Anästhesie keinen signifikanten Unterschied feststellen. Der Blutdruck zeigte ebenfalls nur in der nicht antagonistischen MMF-Gruppe im Zeitraum von der 10. bis 50. Minute und in den beiden antagonistischen MMF-Gruppen von der 40. Minute (Antagonisierung) bis 90. Minute einen signifikanten Unterschied zur Ketamin-Xylazin-Anästhesie. Die Differenzen zu dieser Arbeit könnten dadurch begründet werden, dass Mantel (1999) sowohl männliche als auch weibliche Tiere in seiner Studie verwendet hat. In der vorliegenden Arbeit wurden jedoch nur männliche telemetrierte Tiere eingesetzt. Es ist bekannt, dass geschlechtsspezifische Unterschiede bei Anästhesien auftreten können (Livingston und Waterman 1977a, Ohtsuka et al. 2007, Henke et al. 2012). Sabatini und Kollegen (2013) haben bei drei verschiedenen Anästhesieregimen (Pentobarbital, Ketamin-Medetomidin, Ketamin-Midazolam) geschlechtsspezifische Unterschiede verschiedener Herzparameter bei Sprague-Dawley-Ratten feststellen können. Eine weitere mögliche Ursache könnten die unterschiedlichen Messmethoden und deren Qualität der gemessenen Parameter sein (Pulsoxymeter und herausgelagerter Blutdruckkatheter vs. Telemetrie). Die Baseline-Werte des mittleren arteriellen Blutdruckes in der Studie von Mantel (1999) sind verglichen mit den Ruhewerten dieser Arbeit um etwa 10 mmHg höher. Diese höheren Blutdruckwerte könnten eine Folge der Katheterimplantation sein, die durchaus auch mit Schmerzen für die Tiere verbunden ist. Hinzu kommt, dass die Standardabweichungen bei Mantel (1999) deutlich größer waren und selbst die drei MMF-Gruppen zeigten während der Anästhesiephase starke Differenzen im Blutdruck, obwohl sie sich nur in der Art und Dosis der Antagonisierung unterschieden haben. Die vorangegangene Isofluran-Anästhesie könnte bei Mantel (1999) bereits die Ausgangswerte der Parameter beeinflusst haben. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen eindeutig den blutdrucksenkenden und herzfrequenzerhöhenden Effekt von Isofluran während der Anästhesie. Die in der ersten Versuchsreihe graphisch dargestellten Werte der Herzfrequenz zeigen

## Erweiterte Diskussion

deutlich, dass erst ab Minute 180 annähernd der Baseline-Wert wieder erreicht wird. Gleiches gilt für den mittleren arteriellen Blutdruck, wobei hier der Baseline-Wert etwa zwischen Minute 120 und 150 wieder erreicht wird. In Anbetracht der kurzen Erholungszeit von 60 Minuten nach der Kanülierung der A. carotis ist ein Einfluss der Isofluran-Anästhesie auf die kardiovaskulären Werte von Mantel (1999) denkbar. Zumal der Vergleich von Isofluran und MMF in der ersten Versuchsreihe auch gezeigt hat, dass diese zwei Anästhesieregime in jedem Anästhesiestadium in allen Parametern, mit Ausnahme der Körperkerntemperatur, signifikant unterschiedlich waren und sich Isofluran daher als Anästhesie vor einer MMF-Anästhesieuntersuchung nach so kurzer Erholung nur bedingt eignet. Der Vergleich von Isofluran mit der Kombination Ketamin-Xylazin zeigte da etwas geringere Unterschiede. Diese zwei Methoden unterschieden sich in dieser Arbeit zwar signifikant in ihrer Herzfrequenz, zeigten jedoch während der Anästhesie ähnliche Blutdruckwerte, die nur in der Einschlaf- und Aufwachphase signifikant unterschiedlich waren. Redfors und Kollegen (2014) kamen zu einem ähnlichen Ergebnis bei ihrem Vergleich von Isofluran mit Ketamin-Xylazin. Sie haben ebenfalls festgestellt, dass sich nur die Herzfrequenz, nicht aber die Blutdruckverhältnisse signifikant voneinander unterscheiden. Allerdings beschränkte sich in der Studie von Redfors und Kollegen (2014) die gesamte Dauer der Anästhesie auf 30 Minuten und die Parameter wurden nur zwischen Minute 20 und 30 erhoben, da zuvor der Katheter zur Messung des Blutdrucks eingeführt wurde. Trotz des ebenso festgestellten signifikanten Unterschiedes der Herzfrequenz war diese in der Studie von Redfors und Kollegen (2014) bei Ketamin-Xylazin mehr als 100 Schläge pro Minute höher ( $364 \pm 18$  bpm), verglichen mit den Werten der vorliegenden Arbeit. Die verwendete Dosierung von 30 mg/kg Ketamin ist deutlich geringer, als die in dieser Arbeit verwendeten Ketamin-Dosierung (100 mg/kg) und hätte neben der gleichen Xylazin-Dosierung von 5 mg/kg eine vergleichsweise hohe Herzfrequenz nicht vermuten lassen. Hier stellt sich definitiv die Frage, ob das Zeitintervall der Messung in der Studie von Redfors und Kollegen (2014) adäquat gewählt war und ob die zu Beginn der Anästhesie durchgeführte Kanülierung der A. carotis einen Einfluss auf die gemessenen Parameter hatte. Die Herzfrequenzwerte von Isofluran waren jedoch trotz des kurzen Messintervalls mit den Werten der vorliegenden Arbeit vergleichbar. Die Isofluran-Anästhesie wurde aber auch bei einer vergleichbaren Konzentration gefahren. Ein Anstieg der Herzfrequenz unter Isofluran, wie es in der vorliegenden Arbeit der Fall war, wurde auch beim Kaninchen, Gerbil und Hamster festgestellt (Koch 1995, Wrede 1999, Schurian 2000, Strack 2002). Bei Meerschweinchen, Mäusen und bei kleinen Lanzennasen wurde jedoch ein Abfall der Herzfrequenz während einer Isofluran-Anästhesie beobachtet (Heide 2003, Janssen et al. 2004, Kley 2011). Heide (2003) nennt eine vagale Reizung während der Platzierung des Blutdruckkatheters als mögliche Ursache für den Pulsabfall. Eine Isofluran-Studie bei Hunden hat gezeigt, dass sich die Herzfrequenz mit Zunahme der Isofluran-Konzentration nicht signifikant verändert und relativ stabil bleibt (Kazama und Ikeda 1988). Für Isofluran gilt allgemein, dass es mit steigender Konzentration stärker depressiv auf das Myokard wirkt und den Blutdruck zunehmend reduziert aufgrund der vasodilatativen Eigenschaft (Eger 1981, Haskins 1992). Imai und

## Erweiterte Diskussion

Kollegen (1999) haben bei einem MAC-Wert von 0,8 Vol% einen mittleren arteriellen Blutdruck von 108 mmHg bei Ratten gemessen. Hämodynamisch gesehen ist dieser Wert noch im physiologischen Bereich, allerdings beobachteten sie ebenfalls eine dosisabhängige Abnahme des mittleren arteriellen Blutdrucks und unter manchen Umständen und auch unterschiedlichen individuellen Ansprüchen sind höhere Isofluran-Konzentrationen erforderlich. Obwohl in der Literatur häufig beschrieben wird, dass es unter Isofluran zu einer starken Hypotension kommen kann, waren die Blutdruckwerte in der vorliegenden Arbeit zu keinem Zeitpunkt der Anästhesie in einen Bereich, der ein therapeutisches Eingreifen erforderlich gemacht hätte (Eger 1981, Haskins 1992).

### **4.3 Erweiterte Diskussion zu „Influence of repeated anaesthesia on physiological parameters in male Wistar rats: a telemetric study about isoflurane, ketamine-xylazine and a combination of medetomidine, midazolam and fentanyl“**

Die Einflüsse der drei Anästhesieregime nach wiederholter Durchführung wurden in der zweiten Versuchsreihe näher untersucht. Hintergrund dieser Untersuchung war die Fragestellung, ob eine Anästhesiemethode, die mehrmals hintereinander durchgeführt wird, jedes Mal dieselben Effekte im gleichen Ausmaß auf die Tiere hat, oder ob sich mit zunehmender Zahl der durchgeführten Anästhesien der Einfluss verändert. Im Rahmen von wissenschaftlichen Versuchsvorhaben, bei denen die Tiere aufgrund des Versuchsdesigns häufiger anästhesiert werden müssen, kann eine Änderung des Anästhesieeinflusses wesentliche Auswirkungen auf Versuchsergebnisse und deren Interpretation haben. Zum Beispiel werden während der bildgebenden Diagnostik in Imaging-Studien Tiere in regelmäßigen Abständen zur leichteren Fixation und auch zur Stressreduktion anästhesiert. Wenn nun die hämodynamischen Verhältnisse von einer Anästhesie zur nächsten derart variieren, kann es aufgrund einer veränderten Organperfusion zu unterschiedlichen Kontrastmittelanreicherungen in den Organen kommen. Dies kann wiederum die Bildinterpretation wesentlich beeinflussen. Bei einer unter Anästhesie durchgeführten wiederholten Substanzapplikation (z.B. intratracheal, intrathekal,...) können Veränderungen in der Hämodynamik zu Differenzen in der Absorption, Verteilung und Metabolisierung führen. Dies kann sich erheblich auf die pharmakologischen Effekte der Substanz auswirken. Die genannten Beispiele verdeutlichen, dass die Effekte eines Anästhesieregimes, welches wiederholt zum Einsatz kommt, eine gewisse Konstanz mit sich bringen sollten, dass man von einem gleichbleibenden Einfluss der Anästhesie auf die gemessenen Parameter ausgehen kann.

In der Literatur gibt es bisher wenig vergleichbare Untersuchungen, die den wiederholten Einsatz dieser Anästhesieregime und deren Auswirkungen auf die gemessenen Parameter untersuchen. In der veterinärmedizinischen Praxis sind die Kollegen aufgrund eigener Erfahrungswerte oft geteilter Meinung, was die Effekte der Anästhesien nach mehrmaliger Durchführung betrifft. Einmal besteht die Ansicht des Toleranzeffektes, was bedeutet, dass mit zunehmender Anzahl an durchgeführten



## Erweiterte Diskussion

Anästhesien eine bestimmte Anästhesietiefe bzw. Anästhesiedauer immer schlechter erreicht wird. Die andere Ansicht ist die des Potenzierungseffektes, dass mit steigender Anzahl der Anästhesien, die Effekte immer ausgeprägter werden. Hierfür gibt es jedoch in der Literatur noch keine wissenschaftlich fundierten Beweise.

Die Untersuchungen der Wiederholungsanästhesien zeigten mit zunehmender Anzahl der Anästhesien einige beachtliche Veränderungen. Bei der Kombination mit Ketamin-Xylazin konnte von der ersten bis zur sechsten Anästhesie eine deutliche kontinuierliche Abnahme der erzielten Anästhesiedauer festgestellt werden. Die gesamte Schlafdauer reduzierte sich im Durchschnitt von anfänglich über 300 auf etwas knapp über 200 Minuten. Das ist nach sechs Anästhesien eine Reduktion der Anästhesiedauer um ein Drittel. Die Tatsache, dass bei 25 % der Anästhesien keine chirurgische Toleranz erreicht wurde, konnte nicht in Zusammenhang mit der Anzahl der durchgeführten Anästhesien gebracht werden. Da das Ausbleiben der chirurgischen Toleranz zeitlich einem zufälligen Muster gefolgt ist und sich kein Zusammenhang zu anderen Umständen hat finden lassen, bleibt die Ursache auch nach wie vor ungeklärt. Arras und Kollegen (2001) konnten in einer Anästhesiestudie bei Mäusen mit der Kombination aus Ketamin und Xylazin ebenso keine chirurgische Toleranz erreichen. Die Ausbildung eines Toleranzeffektes wurde für Ketamin und Ketamin-Medetomidin Kombinationen beschrieben. Zugrunde gelegt wurde eine schnellere Umverteilung und Clearance der Anästhetika durch Enzym-Induktion (Livingston und Waterman 1976 Marietta et al. 1976, Livingston und Waterman 1977b, Livingston und Waterman 1978, Settle et al. 2010). Die Effekte auf das Herz-Kreislauf-System und auf die Körperkerntemperatur hatten sich nicht wirklich klinisch relevant im Laufe der sechs Anästhesien geändert. Dies spricht dafür, dass sich durch eine mögliche Enzym-Induktion zwar die Wirkdauer verändert, jedoch nicht die eigentliche pharmakologische Wirkung der Ketamin-Xylazin Kombination. Was nach wie vor bleibt, ist die langanhaltende Regenerationsphase dieser Anästhesiemethode und die negativen Auswirkungen auf die Futter- und Wasseraufnahme und den zirkadianen Rhythmus (Prudian et al. 1997, Mihara et al. 2012). Die kontinuierlich signifikante Gewichtsreduktion von der ersten bis zur sechsten Anästhesie betrug bei Ketamin-Xylazin letztendlich 8 %. Es muss jedoch mit einem stärkeren Verlust an Körpergewicht gerechnet werden, wenn ein kürzerer Zeitabstand zwischen zwei Anästhesien gewählt wird oder mehr als sechs Anästhesien durchgeführt werden sollen. In Verbindung mit weiteren Versuchseinflüssen kann der Gewichtsverlust ebenfalls stärker ausgeprägt sein. Da ein erheblicher Verlust des Körpergewichts in der Versuchstierkunde häufig ein Abbruchkriterium darstellt, sollte bei einer Versuchsplanung die Auswirkungen einer wiederholten Ketamin-Xylazin-Anästhesie auf das Körpergewicht berücksichtigt werden (Morton 2000, Franco et al. 2012). Die Anästhesien mit Isofluran und MMF zeigten aufgrund ihrer schnellen Regenerationsphase keine signifikanten Auswirkungen auf das Körpergewicht. Relevante Veränderungen in der Dauer einzelner Anästhesiestadien konnten mit zunehmender Anzahl der Anästhesien auch nicht beobachtet werden. Dass sich in der Dauer der Anästhesiestadien bei Isofluran keine Veränderungen gezeigt haben, war nicht ganz unerwartet, da Isofluran kaum einer

## Erweiterte Diskussion

Metabolisierung unterliegt (Dale und Brown 1987, Hedenqvist und Hellebrekers 2003). Bei der Injektionsanästhesie mit MMF wäre eine Enzym-Induktion durchaus plausibel gewesen, da alle Komponenten, ebenfalls wie bei Ketamin-Xylazin, enzymatisch abgebaut werden (Erhardt et al. 2012c). Durch den Einfluss der Antagonisierung nach 40 Minuten können bei MMF jedoch nur die Dauer der Einschlafphase und die Dauer bis zum Erreichen der chirurgischen Toleranz beurteilt werden, nicht aber die gesamte Schlafdauer. Es kann jedoch gesagt werden, dass auch nach sechs Anästhesien eine Anästhesiedauer von mindestens 40 Minuten erreicht werden kann. Ob eine Reduktion der gesamten Schlafphase zu beobachten gewesen wäre, wenn man nicht nach 40 Minuten antagonisiert hätte, bedarf weiterer Untersuchungen. Aufgefallen ist bei der Anästhesie mit MMF, dass bei den Blutdruckwerten ein abnehmender Trend während der sechs Anästhesien beobachtet wurde, der sich nicht immer als signifikant in der Statistik herausgestellt hat. Eine Ursache dafür könnte sein, dass die Blutdruckwerte der ersten Wiederholungsanästhesie bereits schon nicht mehr so hoch angestiegen waren, wie die Werte der MMF-Einzelanästhesie in der ersten Versuchsreihe. Die erste Anästhesie der Wiederholungsversuche hatte aber eine vergleichbare Ausgangssituation, wie die Einzelanästhesie mit MMF in der ersten Versuchsreihe. Eine vorangegangene Anästhesie lag bei all diesen Tieren mehr als zwei Wochen zurück und die Ruhewerte waren ebenfalls vergleichbar. Nach näherer Betrachtung der Einzelmessungen konnte festgestellt werden, dass bei den wiederholten Anästhesien eine deutlich größere Streuung der Werte zwischen den einzelnen Tieren zu beobachten war. Zudem ist aufgefallen, dass die Werte der jüngsten Tiere noch am ehesten den Werten aus der ersten Versuchsreihe entsprachen. Außerdem wurde bei den Wiederholungsversuchen ein stärkerer, signifikanter Temperaturabfall (fast 1°C mehr) während der MMF-Anästhesie beobachtet im Vergleich zu den MMF-Einzelanästhesien. Es ist bekannt, dass sich durch altersbedingte Veränderungen des vegetativen und zentralen Nervensystems, des endokrinen und Herz-Kreislauf-Systems der Einfluss einer Anästhesie auf physiologische Parameter anders auswirken kann (Erhardt et al. 2012b). Für Anästhesieregime mit Ketamin, auch in Kombination mit Xylazin, sind altersbedingte Effekte in der Literatur beschrieben, nicht jedoch für die Kombination mit MMF (Livingston und Waterman 1977a, Veilleux-Lemieux et al. 2013). Veränderungen in der kardiovaskulären Reflexantwort wurden bei alten Ratten unter  $\alpha$ -Chloralose- und Urethan-Anästhesie gezeigt (Wei et al. 1985). Da Fentanyl und Midazolam nachweislich nur einen geringen Effekt auf das Herz-Kreislauf-System haben, ist der blutdruckerhöhende Effekt der MMF-Kombination sicherlich dem Medetomidin zuzuschreiben (Erhardt et al. 2012c). Bei den älteren Tieren könnte eine schwächere vasokonstriktive Reaktion auf das Medetomidin zu den niedrigeren Blutdruckwerten geführt haben. Die folglich bessere Durchblutung in der Peripherie wäre demnach auch eine mögliche Erklärung für den stärkeren Verlust der Körperkerntemperatur (Allmann-Iselin 2000). Ob hinter der kontinuierlichen Abnahme der Herzfrequenz und der Blutdruckwerte bei den Wiederholungsanästhesien mit Isofluran ein Altersaspekt eine Rolle gespielt hat, ist fraglich. Die Veränderungen dieser Parameter fanden innerhalb der sechs Anästhesien in einem Zeitraum von drei

## Erweiterte Diskussion

Wochen statt. Dieser Zeitraum kann, trotz der kurzen Lebenserwartung einer Ratte (2,5 – 3,5 Jahre), nicht mit Alterungsprozessen dieser Spezies in Verbindung gebracht werden (Sharp und La Regina 1998a). Anatomische und histologische Veränderungen am Herzen und Änderungen im EKG konnten nach mehrmaliger Isofluran-Anästhesie bei der Ratte in wissenschaftlichen Studien auch nicht nachgewiesen werden (Eger et al. 1987, Chassagne et al. 2000, Öztürk und Altug 2007). Bei Hunden wurde allerdings festgestellt, dass Isofluran ab einer Konzentration von 2,6 Vol% den Barorezeptorreflex signifikant negativ beeinflusst (Seagard et al. 1983). Ob sich dieser Einfluss nach wiederholter Isofluran-Anästhesie verstärkt, war nicht Gegenstand der Studie. Die in der vorliegenden Arbeit erfassten Herzfrequenz- und Blutdruckwerte unter wiederholter Isofluran-Anästhesie haben zwar eine kontinuierliche Abnahme von einer Anästhesie zur nächsten gezeigt, jedoch lagen die Werte zu keiner Zeit in einem klinisch kritischen Bereich. Wenn jedoch mehr als sechs Isofluran-Anästhesien durchgeführt werden sollen, besteht nach diesen Ergebnissen die Vermutung, dass sich dieser abnehmende Trend von Blutdruck und Herzfrequenz weiter fortsetzen könnte. Diese Überlegung gilt ebenso für den abnehmenden Trend des Blutdrucks unter MMF, der nach mehr als sechs Anästhesien stärker ausfallen könnte.

### 4.4 Unvorhergesehene Beobachtungen zur Ketamin-Xylazin-Anästhesie

Eine der unangenehmsten Auswirkungen, die in beiden Versuchsreihen beobachtet wurde, war das Auftreten von Gewebenekrosen an den Hintergliedmaßen etwa eine Woche nach einer Anästhesie mit Ketamin-Xylazin. Während der Wiederholungsanästhesien mit Ketamin-Xylazin musste vor jeder Injektion das Ausmaß der Gewebenekrose kontrolliert werden, um nicht in bereits entzündetes Gewebe zu injizieren. Einen Einfluss auf Absorption und Verteilung der Anästhetika durch die veränderten Gewebeerhältnisse (z.B. veränderter pH-Wert und Durchblutung) hätte man sonst nicht ausschließen können (Becker und Reed 2006, Schmaljohann 2006). Das Auftreten von Gewebenekrosen nach intramuskulärer Injektion von Ketamin-Kombinationen wurde bereits in einigen Studien beschrieben (Gaertner et al. 1987, Smiler et al. 1990, Sun et al. 2003). Für die Anästhesieuntersuchungen dieser Arbeit wurde dennoch die intramuskuläre Injektion gewählt. Zum einen ist eine bessere Vergleichbarkeit zur ebenfalls intramuskulär applizierten MMF-Anästhesie und zu vorherigen Studien mit intramuskulär appliziertem Ketamin-Xylazin möglich und zum anderen besteht nicht wie bei einer intraperitonealen Injektion die Gefahr einer Fehlapplikation in Hohlorgane (Steward et al. 1968, Coria-Avila et al. 2007, Henke und Erhardt 2012b). Zudem ist die intraperitoneale Applikation bei telemetrierten Tieren aufgrund der subkutan verlaufenden Elektroden nicht zu empfehlen, da es zur Beschädigung der Kabel kommen kann. Das Ausmaß der Nekrosen nach intramuskulärer Injektion war dennoch schwerer als erwartet. Daher ist ein Anästhesieregime, wie es in dieser Arbeit durchgeführt wurde, mit derselben Ketamin-Xylazin-Zusammensetzung nicht weiterzuempfehlen. Eine Alternative bietet das in der Schweiz erhältliche Ketasol<sup>®</sup>. Dies ist ein

## Erweiterte Diskussion

Ketamin-Präparat, deren Injektionslösung einen etwas höheren pH-Wert aufweist, als die in Deutschland erhältlichen Präparate. Die Verwendung von Ketazol<sup>®</sup> könnte das Ausmaß der Gewebenekrosen daher deutlich reduzieren, wenn nicht sogar vollständig verhindern. Das deutsche Arzneimittelgesetz verbietet allerdings die Verwendung von Ketazol<sup>®</sup>, da es in Deutschland zugelassene veterinärmedizinische Ketamin-Präparate gibt.

### 4.5 Schlussfolgerung

Die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Ergebnisse verdeutlichen, wie unterschiedlich die drei verschiedenen Anästhesieregime die gemessenen Parameter bei der Ratte beeinflussen. Nach diesen Ergebnissen zu urteilen liegt bei Isofluran der Haupteinfluss in der signifikant erhöhten Herzfrequenz und im geringgradig abfallenden Blutdruck während der Anästhesie. Die Herzfrequenz zeigte sich bei Isofluran auch im wiederholten Einsatz als der Parameter mit der deutlichsten Veränderung (signifikante Abnahme) von der ersten zur sechsten Anästhesie. Bei der antagonistisierbaren Anästhesie waren ebenfalls die kardiovaskulären Parameter, die am stärksten beeinflussten Werte. Im Gegensatz zu Isofluran wurden hier allerdings ein signifikanter Anstieg der Blutdruckwerte und eine signifikante Abnahme der Herzfrequenz festgestellt, die sich auch beim wiederholten Einsatz zeigten. Die Kombination aus Ketamin und Xylazin zeigte sowohl als Einzelanästhesie, als auch im wiederholten Einsatz die geringsten kardiovaskulären Veränderungen. Von wesentlicher Bedeutung waren hier jedoch die sehr lange Schlafphase, die beobachteten Gewebenekrosen und das Unvermögen zuverlässig eine chirurgische Toleranz zu erzeugen. Bedeutende Veränderungen während des wiederholten Einsatzes von Ketamin-Xylazin waren die signifikante Abnahme der Anästhesiedauer und der signifikante Verlust an Körpergewicht. Aufgrund dieser unterschiedlichen Einflüsse und Veränderungen ist es daher umso wichtiger, die Wahl einer Anästhesiemethode nicht nur anhand der Praktikabilität zu treffen, sondern auch zu überlegen, ob die anästhesiebedingten Effekte einen negativen Einfluss auf den geplanten Eingriff haben könnten.

### 5. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war es, die Einflüsse folgender Allgemeinanästhesien bei der Ratte auf deren Herz-Kreislauf-Parameter und Körperkerntemperatur zu untersuchen: Eine Inhalationsanästhesie mit Isofluran, eine intramuskulär applizierte Kombinationsanästhesie mit Ketamin (100 mg/kg) und Xylazin (5 mg/kg) und eine vollständig antagonisierbare Anästhesie mit Medetomidin (0,15 mg/kg), Midazolam (2,0 mg/kg) und Fentanyl (0,005 mg/kg) (intramuskulär appliziert) antagonisiert mit der Kombination aus den Antagonisten Atipamezol (0,75 mg/kg), Flumazenil (0,2 mg/kg) und Naloxon (0,12 mg/kg) (subkutan appliziert). Die Parameter wurden mit Hilfe vollständig implantierbarer Telemetriesysteme (DSI™) kontinuierlich vor, während und nach den Anästhesien erfasst. Somit war die Erfassung von zuverlässigen Basalwerten an nicht gestressten Tieren möglich.

In der ersten Versuchsreihe wurden die Einflüsse dieser drei Anästhesieregime nach einmaliger Anästhesie evaluiert und die Einflüsse untereinander verglichen. Dabei zeigten sich bei der Anästhesie mit Isofluran eine geringgradige Hypotonie (mittlerer arterieller Blutdruck =  $89 \pm 12,3$  mmHg) und ein Anstieg der Herzfrequenz ( $404 \pm 25$  Schläge/Minute), die sogar während der Aufwachphase noch weiter anstieg ( $445 \pm 20$  Schläge/Minute). Bei der vollständig antagonisierbaren Anästhesie mit Midazolam, Medetomidin und Fentanyl konnte ein starker Blutdruckanstieg (mittlerer arterieller Blutdruck =  $138 \pm 9,9$  mmHg) und eine Abnahme der Herzfrequenz ( $209 \pm 24$  Schläge/Minute) festgestellt werden. Die Blutdruckamplitude erreichte dabei im Durchschnitt ein Ausmaß von  $59 \pm 8,5$  mmHg. Die Kombination aus Ketamin und Xylazin zeigte im Vergleich zu den anderen beiden Anästhesiemethoden das geringste Ausmaß an Blutdruck- und Herzfrequenzveränderungen. Es konnten nur eine leichte Hypotonie ( $84 \pm 8,5$  mmHg) und eine geringgradige Abnahme der Herzfrequenz ( $255 \pm 26$  Schläge/Minute) beobachtet werden.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde untersucht, ob sich die beobachteten Einflüsse der drei verschiedenen Anästhesieregime auf die erfassten Parameter nach wiederholtem Einsatz verändern. In einem Zeitraum von drei Wochen wurden die Ratten in regelmäßigen Abständen insgesamt sechsmal hintereinander mit immer der gleichen Anästhesiemethode anästhesiert. Bei der Anästhesie mit Isofluran konnte im Verlauf der sechs Anästhesien eine signifikante und kontinuierliche Abnahme der Herzfrequenz und des Blutdrucks beobachtet werden. Die Anästhesie mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl zeigte dagegen mit zunehmender Anzahl der Anästhesien einen leicht abnehmenden Trend der Blutdruckwerte. Veränderungen der kardiovaskulären Parameter konnten während des wiederholten Einsatzes von Ketamin-Xylazin nicht festgestellt werden, jedoch zeigte sich eine kontinuierlich signifikante Abnahme der gesamten Anästhesiedauer. Nach sechs Anästhesien mit Ketamin-Xylazin lag die Dauer von Anästhesieeinleitung bis Wiedererlangen des Stellreflexes nur noch im Schnitt bei etwa 200 Minuten von anfänglichen 300 Minuten. Außerdem wurde bei dieser Anästhesiemethode in 25 % der durchgeführten Anästhesien keine zuverlässige chirurgische Toleranz

## **Zusammenfassung**

erreicht. Zudem entwickelten sich ein paar Tage nach der Anästhesie häufig Gewebenekrosen an den Injektionsstellen. In der zweiten Versuchsreihe wurde neben den telemetrisch erfassten Parametern noch die Entwicklung des Körpergewichts beobachtet. Nach sechs Ketamin-Xylazin-Anästhesien konnte eine kontinuierliche Gewichtsreduktion um insgesamt 8 % festgestellt werden. Die vollständig antagonistische Anästhesie und die Inhalationsanästhesie mit Isofluran hatten das Körpergewicht der Ratten nach diesen sechs Anästhesien nicht signifikant beeinflusst.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, wie unterschiedlich die Einflüsse von Isofluran, Ketamin-Xylazin und Medetomidin-Midazolam-Fentanyl auf physiologischen Parameter der Ratte sind, sowohl nach einmaliger Anästhesie, als auch nach wiederholtem Einsatz. Jede Anästhesiemethode hat für bestimmte tierexperimentelle oder tiermedizinische Anlässe gewisse Vor- und Nachteile. Die vorliegende Arbeit bietet umfangreiche Informationen über diese drei Anästhesien bei der Ratte und kann als Entscheidungshilfe zur Wahl einer geeigneten Anästhesie herangezogen werden.

## Summary

### 6. SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the influence of the following anaesthetics on cardiovascular parameters and core body temperature in rats: An inhalational anaesthesia with isoflurane, an anaesthesia with an intramuscularly administered combination of ketamine (100 mg/kg) and xylazine (5 mg/kg) and a complete reversible anaesthesia with medetomidine (0.15 mg/kg), midazolam (2.0 mg/kg) and fentanyl (0.005 mg/kg) (administered intramuscularly) reversed with the combination of the antagonists atipamezole (0.75 mg/kg), flumazenil (0.2 mg/kg) and naloxone (0.12 mg/kg) (administered subcutaneously). The cardiovascular data were acquired continuously with a full-implant telemetry device (DSI™) so that the control values could be obtained from the animals in an unstressed physiological state.

In the first test series the influences of a single anaesthesia, either with isoflurane, ketamine-xylazine or medetomidine-midazolam-fentanyl, were evaluated and compared with each other. With isoflurane there was a mild hypotension (mean arterial pressure =  $89 \pm 12.3$  mmHg) and an increase of heart rate ( $404 \pm 25$  beats/minute), which continued to increase during the wake-up period ( $445 \pm 20$  beats/minute). The completely reversible anaesthesia with medetomidine, midazolam and fentanyl showed a marked increase of blood pressure values (mean arterial pressure =  $138 \pm 9.9$  mmHg) and a decrease of heart rate ( $209 \pm 24$  beats/minute). Pulse pressure increased to a magnitude of  $59 \pm 8.5$  mmHg. The slightest alterations were seen with the combination of ketamine and xylazine. Only mild hypotensive blood pressure values ( $84 \pm 8.5$  mmHg) and a slight decrease of heart rate ( $255 \pm 26$  beats/minute) were observed.

The second test series evaluated if the observed influences of the three different anaesthetic regimes vary with repeatedly performed anaesthesia. Rats were anaesthetized six times within three weeks always with the same anaesthetic regime. With repeated isoflurane anaesthesia a significant and continuous decrease of blood pressure and heart rate was observed. During the course of repeated anaesthetics with medetomidine, midazolam and fentanyl there was only a tendency for the blood pressure values to decrease. No alterations of cardiovascular parameters were observed with repeated anaesthesia with ketamine-xylazine, but there was a continuous significant decrease of the duration of anaesthesia. During the course of six ketamine-xylazine anaesthetics the duration of anaesthesia decreased from 300 to 200 minutes. Furthermore, in 25 % of the ketamine-xylazine anaesthetics rats did not reach the stage of surgical tolerance and in some cases there was tissue necrosis at the injection site a few days after anaesthesia. In addition to the telemetrically measured parameters the influence of the anaesthetic regimes on body weight was evaluated. With repeated ketamine-xylazine anaesthesia a continuous decrease of 8 % was observed, whereas the completely reversible anaesthesia and the inhalational anaesthesia with isoflurane did not have a significant influence on body weight after six anaesthetics.



## **Summary**

The results of this study show the different influences of isoflurane, ketamine-xylazine and medetomidine-midazolam-fentanyl on physiological parameters of the rat either after a single anaesthesia or repeated anaesthesias. Each anaesthetic regime has advantages and disadvantages for experimental or veterinary purposes. The present study provides detailed information about the three different types of anaesthesia in rats and could be used as a decision-making aid in selecting a suitable anaesthesia.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

Alef M:

Führen der Inhalationsanästhesie

In: Alef M, Oechtering G (Hrsg.):

Praxis der Inhalationsanästhesie

Enke Verlag, Stuttgart (2003) 6, 63-80

Alef M:

Inhalationsanästhetika und Trägergase

In: Alef M, Oechtering G (Hrsg.):

Praxis der Inhalationsanästhesie

Enke Verlag, Stuttgart (2003a) 1, 1-17

Alkire MT, Haier RJ:

Correlating in vivo anaesthetic effects with ex vivo receptor density data supports a GABAergic mechanism of action for propofol, but not for isoflurane

Br J Anaesth (2001) 86, 618-626

Allmann-Iselin I:

Husbandry

In: Krinke GJ (Hrsg.):

The laboratory rat

Academic Press, London (2000) 4, 45-55.

Amrein R, Hetzel W:

Pharmacology of Dormicum (midazolam) and Anexate (flumazenil)

Acta Anaesthesiol Scand Suppl (1990) 92, 6-15

Amrein R, Hetzel W, Hartmann D, Lorscheid T:

Clinical pharmacology of flumazenil

Eur J Anaesthesiol Suppl (1988) 2, 65-80

## Literaturverzeichnis

Amrein R, Leishman B, Bentzinger C, Roncari G:

Flumazenil in benzodiazepine antagonism. Actions and clinical use in intoxications and anaesthesiology

Med Toxicol Adverse Drug Exp (1987) 2, 411-429

Arras M, Autenried P, Rettich A, Spaeni D, Rulicke T:

Optimization of intraperitoneal injection anesthesia in mice: drugs, dosages, adverse effects, and anesthesia depth

Comp Med (2001) 51, 443-456

Astner S:

Vergleich intramuskulär verabreichter Kombinationsanästhesien beim Kaninchen - Xylazin/ Ketamin, Medetomidin/ Ketamin, Medetomidin/ Fentanyl/ Midazolam

Vet Med Diss, München (1998)

Avsaroglu H, van der Sar AS, van Lith HA, van Zutphen LF, Hellebrekers LJ:

Differences in response to anaesthetics and analgesics between inbred rat strains

Lab Anim (2007) 41, 337-344

Bahrami S, Benisch C, Zifko C, Jafarmadar M, Schochl H, Redl H:

Xylazine-/diazepam-ketamine and isoflurane differentially affect hemodynamics and organ injury under hemorrhagic/traumatic shock and resuscitation in rats

Shock (2011) 35, 573-578

Bailey D:

Radio technology

In Bailey D (Hrsg.):

Practical radio engineering and telemetry for industry

Newnes, Oxford (2003) 1, 1-103

Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH:

Selected normative data

In: Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH (Hrsg.):

The laboratory rat - Volume I - Biology and diseases

Academic Press, London (1979) Appendix 1, 411-412

## Literaturverzeichnis

Balakrishnan S, McNeill JR:

Cardiac output mediates the antihypertensive effect of vasopressin in spontaneous hypertension  
Am J Physiol (1996) 271, H1728-H1733

Balcombe JP, Barnard ND, Sandusky C:

Laboratory routines cause animal stress  
Contemp Top Lab Anim Sci (2004) 43, 42-51

Bauck L, Bihun C:

Basic anatomy, physiology, husbandry, and clinical techniques

In: Hillyer EV, Quesenberry KE (Hrsg.):

Ferrets, rabbits, and rodents

Saunders, Philadelphia (1997) 26, 291-306

Becker DE, Reed KL:

Essentials of local anesthetic pharmacology

Anesth Prog (2006) 53, 98-108

Berkowitz BA:

The relationship of pharmacokinetics to pharmacological activity: morphine, methadone and naloxone

Clin Pharmacokinet (1976) 1, 219-230

Braga VA, Burmeister MA:

Applications of Telemetry in Small Laboratory Animals for Studying Cardiovascular Diseases

In: Krejcar O. (Hrsg.):

Modern Telemetry

InTech, Rijeka (2011) 9, 183-196

Brockway BP, Hassler CR:

Application of radiotelemetry to cardiovascular measurements in pharmacology and toxicology

In: Salem H, Baskin SI (Hrsg.):

New technologies and concepts for reducing drug toxicities

CRC Press, Boca Raton (1993) 9, 109-132

## Literaturverzeichnis

Brockway BP, Mills PA, Azar SH:

A new method for continuous chronic measurement and recording of blood pressure, heart rate and activity in the rat via radio-telemetry

Clin Exp Hypertens A (1991) 13, 885-895

Brogden RN, Goa KL:

Flumazenil. A reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic efficacy as a benzodiazepine antagonist

Drugs (1991) 42, 1061-1089

Brunson DB:

Pharmacology of inhalation anesthetics

In: Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ (Hrsg.):

Anesthesia and analgesia in laboratory animals

Academic Press, London (2008) 3, 83-95

Bryant CE, Clarke KW, Thompson J:

Cardiopulmonary effects of medetomidine in sheep and in ponies

Res Vet Sci (1996) 60, 267-271

Butz GM, Davisson RL:

Long-term telemetric measurement of cardiovascular parameters in awake mice: a physiological genomics tool

Physiol Genomics (2001) 5, 89-97

Carlson SH, Wyss JM:

Long-term telemetric recording of arterial pressure and heart rate in mice fed basal and high NaCl diets

Hypertension (2000) 35, E1-E5

Carroll GL, Hooper RN, Boothe DM, Hartsfield SM, Randoll LA:

Pharmacokinetics of fentanyl after intravenous and transdermal administration in goats

Am J Vet Res (1999) 60, 986-991

Chassagne MC, Descotes J, Héritier-Pingeon B, Forichon A, Garnier F, Burnett R:

A comparison of the effects of repeated anaesthesia with ether or isoflurane in rats

Comp Haematol Int (2000), 10, 126-131

## Literaturverzeichnis

Chassard D, Tournadre JP, Berrada KR, Bryssine B, Bouletreau P:

Effect of halothane, isoflurane and desflurane on lower oesophageal sphincter tone

Br J Anaesth (1996) 77, 781-783

Chen JC, Smith ER, Cahill M, Cohen R, Fishman JB:

The opioid receptor binding of dezocine, morphine, fentanyl, butorphanol and nalbuphine

Life Sci (1993) 52, 389-396

Classen W:

Behaviour, neurology and electrophysiology

In: Krinke GJ (Hrsg.):

The laboratory rat

Academic Press, London (2000) 21, 419-435

Coria-Avila GA, Gavrilu AM, Menard S, Ismail N, Pfaus JG:

Cecum location in rats and the implications for intraperitoneal injections

Lab Anim (NY) (2007) 36, 25-30

Cosola C, Albrizio M, Guaricci AC, De Salvia MA, Zarrilli A, Sciorsci RL, Minoia R:

Opioid agonist/antagonist effect of naloxone in modulating rabbit jejunum contractility in vitro

J Physiol Pharmacol (2006) 57, 439-449

d'Uscio LV, Kilo J, Lüscher TF, Gassmann M:

Circulation

In: Krinke GJ (Hrsg.):

The laboratory rat

Academic Press, London (2000) 17, 345-357

Dahan A, Yassen A, Bijl H, Romberg R, Sarton E, Teppema L, Olofsen E, Danhof M:

Comparison of the respiratory effects of intravenous buprenorphine and fentanyl in humans and rats

Br J Anaesth (2005) 94, 825-834

Dale O, Brown BR, Jr.:

Clinical pharmacokinetics of the inhalational anaesthetics

Clin Pharmacokinet (1987) 12, 145-167

## Literaturverzeichnis

Dewangen R, Ktiwari S, Sharda R, Nath K:

Reversal of xylazine sedation by yohimbine and atipamezole in dogs

Indian J Anim Sci (2009) 79, 175-177

Dilsaver SC, Overstreet DH, Peck JA:

Measurement of temperature in the rat by rectal probe and telemetry yields compatible results

Pharmacol Biochem Behav (1992) 42, 549-552

Dowling J, Isbister GK, Kirkpatrick CM, Naidoo D, Graudins A:

Population pharmacokinetics of intravenous, intramuscular, and intranasal naloxone in human volunteers

Ther Drug Monit (2008) 30, 490-496

Drummond JC, Todd MM, Scheller MS, Shapiro HM:

A comparison of the direct cerebral vasodilating potencies of halothane and isoflurane in the New Zealand white rabbit

Anesthesiology (1986) 65, 462-467

Dyson DH, Doherty T, Anderson GI, McDonell WN:

Reversal of oxymorphone sedation by naloxone, nalmefene, and butorphanol

Vet Surg (1990) 19, 398-403

Ebert U, Frey HH, Schulz R:

Pharmakologie des zentralen Nervensystems (ZNS)

In: Frey HH, Löscher W (Hrsg.):

Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin

Enke, Stuttgart (2002) 3, 87-138

Edwards M, Serrao JM, Gent JP, Goodchild CS:

On the mechanism by which midazolam causes spinally mediated analgesia

Anesthesiology (1990) 73, 273-277

Eger EI, Johnson BH, Ferrell LD:

Comparison of the toxicity of I-653 and isoflurane in rats: a test of the effect of repeated anesthesia and use of dry soda lime

Anesth Analg (1987) 66, 1230-1233



## Literaturverzeichnis

Eger EI:

Isoflurane: a review

Anesthesiology (1981) 55, 559-576

Eger EI:

The pharmacology of isoflurane

Br J Anaesth (1984) 56 Suppl 1, 71S-99S

Eger EI:

Current and future perspectives on inhaled anesthetics

Pharmacotherapy (1998) 18, 895-910

Egner B:

Blutdruckmesen - Grundlagen und praktische Umsetzung

In: Egner B (Hrsg.):

Blutdruck auf den Punkt gebracht

Parey, Berlin (2002) 1, 1-22

Emmerich IU:

Neue Arzneimittel für Kleintiere 2012

Tierarztl Prax (2013) 41, 237-243

Engert M:

Klinischer Einsatz von Fentanyl-Patches beim Hund - Pharmakokinetik, Wirkungen und Nebenwirkungen

Vet Med Diss, Gießen (2010)

Erhardt W, Baumgartner C:

Mechanismen der Anästhesie - Anästhesieregime

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen

Schattauer, Stuttgart (2012) 9.2, 327-340

## Literaturverzeichnis

Erhardt W, Henke J:

Technik

In: Egner B (Hrsg.):

Blutdruck auf den Punkt gebracht

Parey, Berlin (2002) 6, 125-144

Erhardt W, Henke J:

Praktische Durchführung einer Anästhesie - Allgemeinanästhesie

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien,  
Amphibien und Fischen

Schattauer, Stuttgart (2012) 10.1, 349-368

Erhardt W, Henke J, Baumgartner C:

Speziesspezifische Anästhesie - Labortiere

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien,  
Amphibien und Fischen

Schattauer, Stuttgart (2012a) 14.6, 758-789

Erhardt W, Henke J, Tacke S:

Anästhesie bei Tieren mit physiologischen oder pathophysiologischen Besonderheiten - Alte Patienten

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien,  
Amphibien und Fischen

Schattauer, Stuttgart (2012b) 12.2, 446-457

Erhardt W, Henke J, Tacke S, Baumgartner C, Kroker R:

Pharmaka im Rahmen der Anästhesie und der perioperativen Schmerzlinderung -  
Allgemeinanästhetika

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien,  
Amphibien und Fischen

Schattauer, Stuttgart (2012c) 3.1, 17-110

## Literaturverzeichnis

Erhardt W, Lendl C, Tacke S:

Anästhesie bei Tieren mit physiologischen oder pathophysiologischen Besonderheiten - Pädiatrische Patienten

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen

Schattauer, Stuttgart (2012d) 12.1, 435-445

Fargetton X, Vähä-Vahe T:

Medetomidine and atipamezole in small animal practice

Tijdschr Diergeneeskd (1989) 114 Suppl 1, 91S-93S

Farooqui M, Geng ZH, Stephenson EJ, Zaveri N, Yee D, Gupta K:

Naloxone acts as an antagonist of estrogen receptor activity in MCF-7 cells

Mol Cancer Ther (2006) 5, 611-620

Feierman DE:

Identification of cytochrome P450 3A1/2 as the major P450 isoform responsible for the metabolism of fentanyl by rat liver microsomes

Anesth Analg (1996) 82, 936-941

Feierman DE, Lasker JM:

Metabolism of fentanyl, a synthetic opioid analgesic, by human liver microsomes. Role of CYP3A4

Drug Metab Dispos (1996) 24, 932-939

Fitzal S, Germann P, Gilly H, Grunwald C, Semsroth M:

Uptake and elimination of isoflurane and halothane by children and adults

Anaesthesist (1985) 34, 571-577

Flecknell P:

Anaesthesia

In: Flecknell P (Hrsg.):

Laboratory animal anaesthesia

Academic Press, London (2009) 2, 19-78

## Literaturverzeichnis

Flecknell P:

Anaesthesia of common laboratory species: special considerations

In: Flecknell P (Hrsg.):

Laboratory animal anaesthesia

Academic Press, London (2009a) 6, 181-241

Flecknell P:

Anaesthetic management

In: Flecknell P (Hrsg.):

Laboratory animal anaesthesia

Academic Press, London (2009b) 3, 79-108

Flecknell P:

Analgesia and postoperative care

In: Flecknell P (Hrsg.):

Laboratory animal anaesthesia

Academic Press, London (2009c) 5, 139-179

Flecknell P:

Preparing for anaesthesia

In: Flecknell P (Hrsg.):

Laboratory animal anaesthesia

Academic Press, London (2009d) 1, 1-17

Foldager N, Bonde-Petersen F:

Human cardiovascular reactions to simulated hypovolaemia, modified by the opiate antagonist naloxone

Eur J Appl Physiol Occup Physiol (1988) 57, 507-513

Franco NH, Correia-Neves M, Olsson IA:

How "humane" is your endpoint? Refining the science-driven approach for termination of animal studies of chronic infection

PLoS Pathog (2012) 8, e1002399

Gaertner DJ, Boschert KR, Schoeb TR:

Muscle necrosis in Syrian hamsters resulting from intramuscular injections of ketamine and xylazine

Lab Anim Sci (1987) 37, 80-83

## Literaturverzeichnis

Gaertner D, Hallman T, Hankenson F, Batchelder M:

Anesthesia and analgesia for laboratory rodents

In: Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ (Hrsg.):

Anesthesia and analgesia in laboratory animals

Academic Press, London (2008) 10, 239-297

Garcia-Villar R, Toutain PL, Alvinerie M, Ruckebusch Y:

The pharmacokinetics of xylazine hydrochloride: an interspecific study

J Vet Pharmacol Ther (1981) 4, 87-92

Gardocki JF, Yelnosky J:

A study of some of the pharmacologic actions of fentanyl citrate

Toxicol Appl Pharmacol (1964) 6, 48-62

Gelman S, Fowler KC, Smith LR:

Liver circulation and function during isoflurane and halothane anesthesia

Anesthesiology (1984) 61, 726-730

Green CJ, Knight J, Precious S, Simpkin S:

Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10 year experience

Lab Anim (1981) 15, 163-170

Greene AN, Clapp SL, Alper RH:

Timecourse of recovery after surgical intraperitoneal implantation of radiotelemetry transmitters in rats

J Pharmacol Toxicol Methods (2007) 56, 218-222

Grenwis JE:

Recent advances in telemetry promote further progress in reduction and refinement

NC3Rs (2010) 20, 1-9

Grieder FB, Strandberg JD:

The contribution of laboratory animals to medical progress - past, present and future

In: Hau J, Van Hoosier GL (Hrsg.): Handbook of laboratory animal science

CRC Press, Boca Raton (2003) 1, 1-11

## Literaturverzeichnis

Guiol C, Ledoussal C, Surge JM:

A radiotelemetry system for chronic measurement of blood pressure and heart rate in the unrestrained rat validation of the method

J Pharmacol Toxicol Methods (1992) 28, 99-105

Haberstroh J:

Arbeitssicherheits- und umweltrechtliche Aspekte der Inhalationsanästhesie

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen

Schattauer, Stuttgart (2012) 4.2, 154-160

Handoko ML, Schalij I, Kramer K, Sebkhil A, Postmus PE, van der Laarse WJ, Paulus WJ, Vonk-Noordegraaf A:

A refined radio-telemetry technique to monitor right ventricle or pulmonary artery pressures in rats: a useful tool in pulmonary hypertension research

Pflugers Arch (2008) 455, 951-959

Haskins SC:

Inhalational anesthetics

Vet Clin North Am Small Anim Pract (1992) 22, 297-307

Heavner JE, Cooper DM:

Pharmacology of analgesics

In: Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ (Hrsg.):

Anesthesia and analgesia in laboratory animals

Academic Press, London (2008) 4, 97-123

Hedenqvist P, Hellebrekers LJ:

Laboratory animal analgesia, anesthesia, and euthanasia

In: Hau J, Van Hoosier GL (Hrsg.):

Handbook of laboratory animal science

CRC Press, Boca Raton (2003) 17, 413-457

## Literaturverzeichnis

Hedrich HJ:

History, Strains and Models

In: Krinke GJ (Hrsg.):

The laboratory rat

Academic Press, London (2000) 1, 3-16

Heide C:

Zur Inhalationsnarkose unter Isofluran oder Sevofluran mit und ohne Atropin-Prämedikation beim Meerschweinchen (*Cavia porcellus*)

Vet Med Diss, München (2003)

Heitz A:

Zum Einfluss der vollständigen Antagonisierung der Anästhesie mit Medetomidin/ Midazolam/ Fentanyl auf die Hämodynamik, die Atmung und den Glukosestoffwechsel von Ratten im Volumenmangelschock

Vet Med Diss, München (2005)

Henke J, Erhardt W:

Narkoseversorgungseinheit - Narkoseüberwachung

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen

Schattauer, Stuttgart (2012a) 5.2, 199-214

Henke J, Erhardt W:

Speziesspezifische Anästhesie - Nager

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen

Schattauer, Stuttgart (2012b) 14.4, 703-725

Henke J, Erhardt W, Haberstroh J:

Präanästhetische Untersuchung, Einschätzung der Anästhesiefähigkeit und Dokumentation

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien, und Fischen

Schattauer, Stuttgart (2012) 8, 291-316



## Literaturverzeichnis

Henke J, Lendl C, Mantel R, Englert S, Erhardt W:  
Reversal of anaesthesia in rats: effects on various parameters  
Proceedings of the Spring meeting AVA, Edinburgh (1998) 70

Henke J, Tacke S, Erhardt W:  
Analgesie  
In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S (Hrsg.):  
Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien,  
Amphibien und Fischen  
Schattauer, Stuttgart (2012) 11, 383-431

Hess R, Stiebler G, Herz A:  
Pharmacokinetics of fentanyl in man and the rabbit  
Eur J Clin Pharmacol (1972) 4, 137-141

Hildebrandt IJ, Su H, Weber WA:  
Anesthesia and other considerations for in vivo imaging of small animals  
ILAR J (2008) 49, 17-26

Hirota K, Lambert DG:  
Ketamine: its mechanism(s) of action and unusual clinical uses  
Br J Anaesth (1996) 77, 441-444

Hirshman CA, Edelstein G, Peetz S, Wayne R, Downes H:  
Mechanism of action of inhalational anesthesia on airways  
Anesthesiology (1982) 56, 107-111

Hjalmarsdottir B:  
Hämodynamische Untersuchung zur vollständig antagonisierbaren Anästhesie mit Medetomidin,  
Midazolam und Fentanyl im Vergleich zur Ketamin/Xylazin-Kombinationsanästhesie bei der Maus  
Vet Med Diss, München (2005)

Hoffman EJ, Warren EW:  
Flumazenil: a benzodiazepine antagonist  
Clin Pharm (1993) 12, 641-656

## Literaturverzeichnis

Holaday DA, Fiserova-Bergerova V, Latta IP, Zumbiel MA:

Resistance of isoflurane to biotransformation in man

Anesthesiology (1975) 43, 325-332

Hug CC, Jr., Murphy MR:

Tissue redistribution of fentanyl and termination of its effects in rats

Anesthesiology (1981) 55, 369-375

Hung CH, Chu CC, Chen YC, Chen YW, Hong HJ, Wang JJ:

Isoflurane for spinal anesthesia in the rat

Neurosci Lett (2011) 501, 138-142

Ilkiw JE, Suter CM, Farver TB, McNeal D, Steffey EP:

The behaviour of healthy awake cats following intravenous and intramuscular administration of midazolam

J Vet Pharmacol Ther (1996) 19, 205-216

Imai A, Steffey EP, Farver TB, Ilkiw JE:

Assessment of isoflurane-induced anesthesia in ferrets and rats

Am J Vet Res (1999) 60, 1577-1583

Jang HS, Choi HS, Lee SH, Jang KH, Lee MG:

Evaluation of the anaesthetic effects of medetomidine and ketamine in rats and their reversal with atipamezole

Vet Anaesth Analg (2009) 36, 319-327

Jang HS, Lee MG:

Atipamezole changes the antinociceptive effects of butorphanol after medetomidine-ketamine anaesthesia in rats

Vet Anaesth Analg (2009) 36, 591-596

Janssen BJ, De CT, Debets JJ, Brouns AE, Callahan MF, Smith TL:

Effects of anesthetics on systemic hemodynamics in mice

Am J Physiol Heart Circ Physiol (2004) 287, H1618-H1624

## Literaturverzeichnis

Kaidi S, Brutel F, Van DF, Kramer K, Remie R, Dewe W, Remusat P, Delaunois A, Depelchin O:  
Comparison of two methods (left carotid artery and abdominal aorta) for surgical implantation of  
radiotelemetry devices in CD-1 mice

Lab Anim (2007) 41, 388-402

Kavan EM, Julien RM:

Central nervous systems' effects of isoflurane (Forane)

Can Anaesth Soc J (1974) 21, 390-402

Kayaba K, Shimosato S:

Isoflurane (Forane), a new inhalation anesthetic agent

Masui (1985) 34, 746-753

Kazama T, Ikeda K:

The comparative cardiovascular effects of sevoflurane with halothane and isoflurane

J Anesth (1988) 2, 63-68

Kleiman-Wexler RL, Adair CG, Ephgrave KS:

Pharmacokinetics of naloxone: an insight into the locus of effect on stress-ulceration

J Pharmacol Exp Ther (1989) 251, 435-438

Kley NHG:

Vergleichsuntersuchung zur Inhalationsanästhesie mit Isofluran und Sevofluran bei der kleinen  
Lanzennase (*Phyllostomus discolor*)

Vet Med Diss, München (2011)

Koch M:

Zur Isoflurannarkose beim Kaninchen im geschlossenen System

Vet Med Diss, München (1995)

Kohrs R, Durieux ME:

Ketamine: teaching an old drug new tricks

Anesth Analg (1998) 87, 1186-1193

Kosterlitz HW, Paterson SJ:

Characterization of opioid receptors in nervous tissue

Proc R Soc Lond B Biol Sci (1980) 210, 113-122

## Literaturverzeichnis

Kosterlitz HW, Watt AJ:

Kinetic parameters of narcotic agonists and antagonists, with particular reference to N-allylnoroxymorphone (naloxone)

Br J Pharmacol Chemother (1968) 33, 266-276

Kramer K, Kinter L, Brockway BP, Voss HP, Remie R, Van Zutphen BL:

The use of radiotelemetry in small laboratory animals: recent advances

Contemp Top Lab Anim Sci (2001) 40, 8-16

Kramer K, Kinter LB:

Evaluation and applications of radiotelemetry in small laboratory animals

Physiol Genomics (2003) 13, 197-205

Krause F and Mayer W:

Persönliches Gespräch zum Thema Telemetriesender, Messprinzip und Software

Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Biberach am 01.08.2014

Kreek MJ, Schaefer RA, Hahn EF, Fishman J:

Naloxone, a specific opioid antagonist, reverses chronic idiopathic constipation

Lancet (1983) 1, 261-262

Larsen R:

Inhalationsanästhetika

In: Larsen R (Hrsg.):

Anästhesie

Urban & Fischer, München (2006a) 3, 19-56

Larsen R:

Intravenöse Anästhetika, Benzodiazepine und Neuroleptika

In: Larsen R (Hrsg.):

Anästhesie

Urban & Fischer, München (2006b) 4, 57-83

## Literaturverzeichnis

Larsen R:

Opioide

In: Larsen R (Hrsg.):

Anästhesie

Urban & Fischer, München (2006c) 85-107

Lassmann W:

Anwendungen

In: Lassmann W (Hrsg.):

Wirtschaftsinformatik: Nachschlagewerk für Studium und Praxis

Gabler, Wiesbaden (2006) 11, 447-502

Lehmann KA, Zech D:

Transdermal fentanyl: clinical pharmacology

J Pain Symptom Manage (1992) 7, S8-16

Leon LR, Walker LD, DuBose DA, Stephenson LA:

Biotelemetry transmitter implantation in rodents: impact on growth and circadian rhythms

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol (2004) 286, R967-R974

Levine JD, Gordon NC, Jones RT, Fields HL:

The narcotic antagonist naloxone enhances clinical pain

Nature (1978) 272, 826-827

Liu YQ, Sun JX, Zang XY, Gao YL:

Pharmacokinetic and absolute bioavailability study of naloxone hydrochloride nasal spray

Chinese Journal of New Drugs (2010) 19, 718-721 + 728

Livingston A, Waterman AE:

Effects of repeated doses of ketamine on sleeping times in rats

Br J Pharmacol (1976) 57, 457P

Livingston A, Waterman AE:

Influence of age and sex on the duration of action ketamine in the rat

Br J Pharmacol (1977a) 59, 491P

## Literaturverzeichnis

Livingston A, Waterman AE:

Self induction of metabolism by ketamine in the rat

Br J Pharmacol (1977b) 60, 296P-297P

Livingston A, Waterman AE:

The development of tolerance to ketamine in rats and the significance of hepatic metabolism

Br J Pharmacol (1978) 64, 63-69

Lu CC, Tsai CS, Hu OY, Chen RM, Chen TL, Ho ST:

Pharmacokinetics of isoflurane in human blood

Pharmacology (2008) 81, 344-349

Lukasik V:

Premedication and sedation

In: Seymour C, Gleed R (Hrsg.):

Manual of small animal anaesthesia and analgesia

British small animal veterianrian association, Mid Glamorgan (1999) 71-85

Maguire P, Tsai N, Kamal J, Cometta-Morini C, Upton C, Loew G:

Pharmacological profiles of fentanyl analogs at mu, delta and kappa opiate receptors

Eur J Pharmacol (1992) 213, 219-225

Mantel R:

Zur Anästhesie bei der Ratte mit den vollständig antagonistisierbaren Anästhetika Medetomidin,

Midazolam und Fentanyl

Vet Med Diss, München (1999)

Marietta MP, White PF, Pudwill CR, Way WL, Trevor AJ:

Biodisposition of ketamine in the rat: self-induction of metabolism

J Pharmacol Exp Ther (1976) 196, 536-544

Mason DE:

Anesthesia, analgesia, and sedation for small mammals

In: Hillyer EV, Quesenberry KE (Hrsg.):

Ferrets, rabbits, and rodents - clinical medicine and surgery

Saunders, Philadelphia (1997) 32, 378-391

## Literaturverzeichnis

Mather LE:

Clinical pharmacokinetics of fentanyl and its newer derivatives

Clin Pharmacokinet (1983) 8, 422-446

McClain DA, Hug CC, Jr.:

Intravenous fentanyl kinetics

Clin Pharmacol Ther (1980) 28, 106-114

McNicholas LF, Martin WR:

New and experimental therapeutic roles for naloxone and related opioid antagonists

Drugs (1984) 27, 81-93

Meijer MK, Spruijt BM, van Zutphen LF, Baumans V:

Effect of restraint and injection methods on heart rate and body temperature in mice

Lab Anim (2006) 40, 382-391

Meyer RE, Fish RE:

Pharmacology of injectable anesthetics, sedatives, and tranquilizers

In: Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ (Hrsg.):

Anesthesia and analgesia in laboratory animals

Academic Press, London (2008) 2, 27-82

Mihara T, Kikuchi T, Kamiya Y, Koga M, Uchimoto K, Kurahashi K, Goto T:

Day or night administration of ketamine and pentobarbital differentially affect circadian rhythms of pineal melatonin secretion and locomotor activity in rats

Anesth Analg (2012) 115, 805-813

Mizuno J:

Flumazenil

Masui (2013) 62, 10-18

Montastruc JL:

Pharmacologie clinique de la naloxone, antagoniste de la morphine

Rev Med Toulouse (1982) 18, 261-263



## Literaturverzeichnis

Morton DB:

A systematic approach for establishing humane endpoints

ILAR J (2000) 41, 80-86

Morton DB, Hawkins P, Bevan R, Heath K, Kirkwood J, Pearce P, Scott L, Whelan G, Webb A:

Refinements in telemetry procedures. Seventh report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement, Part A

Lab Anim (2003) 37, 261-299

Nakamura K, Toda H, Hatano Y, Mori K:

Comparison of the direct effects of sevoflurane, isoflurane and halothane on isolated canine coronary arteries

Can J Anaesth (1993) 40, 257-261

Neff U:

Vergleichende Untersuchungen zu subkutan verabreichten Kombinationsanästhesien beim Syrischen Goldhamster mit Medetomidin/ Midazolam/ Fentanyl, Medetomidin/ Ketamin und Xylazin/ Ketamin  
Vet Med Diss, München (2000)

Ngai SH, Berkowitz BA, Yang JC, Hempstead J, Spector S:

Pharmacokinetics of naloxone in rats and in man: basis for its potency and short duration of action  
Anesthesiology (1976) 44, 398-401

Nguyen D, Abdul-Rasool I, Ward D, Hsieh J, Kobayashi D, Hadlock S, Singer F, Bloor B:

Ventilatory effects of dexmedetomidine, atipamezole, and isoflurane in dogs

Anesthesiology (1992) 76, 573-579

Nishimura R, Kim H, Matsunaga S, Sakaguchi M, Sasaki N, Tamura H, Takeuchi A:

Antagonism of medetomidine sedation by atipamezole in pigs

J Vet Med Sci (1992) 54, 1237-1240

Njoku D, Laster MJ, Gong DH, Eger EI, Reed GF, Martin JL:

Biotransformation of halothane, enflurane, isoflurane, and desflurane to trifluoroacetylated liver proteins: association between protein acylation and hepatic injury

Anesth Analg (1997) 84, 173-178

## Literaturverzeichnis

Ohtsuka H, Fujita K, Kobayashi H:

Pharmacokinetics of fentanyl in male and female rats after intravenous administration

Arzneimittelforschung (2007) 57, 260-263

Ossipov MH, Harris S, Lloyd P, Messineo E, Lin BS, Bagley J:

Antinociceptive interaction between opioids and medetomidine: systemic additivity and spinal synergy

Anesthesiology (1990) 73, 1227-1235

Öztürk A, Altug ME:

Effects of repeated application of isoflurane and desflurane on electrocardiogram, anaesthesia

induction, and recovery characteristics in rats

Bull Vet Inst Pulawy (2007) 51, 635-640

Pace NL, Parrish RG, Lieberman MM, Wong KC, Blatnick RA:

Pharmacokinetics of naloxone and naltrexone in the dog

J Pharmacol Exp Ther (1979) 208, 254-256

Paddleford RR, Harvey RC:

Alpha 2 agonists and antagonists

Vet Clin North Am Small Anim Pract (1999) 29, 737-745

Panchagnula R, Bokaliyal R, Sharma P, Khandavilli S:

Transdermal delivery of naloxone: skin permeation, pharmacokinetic, irritancy and stability studies

Int J Pharm (2005) 293, 213-223

Perantoni D:

Die antagonistisierbare Anästhesie bei der Ratte unter dem Aspekt der prä-, intra- und postoperativen

Analgesie

Vet Med Diss, München (2000)

Pieri L:

Preclinical pharmacology of midazolam

Br J Clin Pharmacol (1983) 16 Suppl 1, 17S-27S

## Literaturverzeichnis

Pieri L, Schaffner R, Scherschlicht R, Polc P, Sepinwall J, Davidson A, Mohler H, Cumin R, Da PM, Burkard WP, Keller HH, Muller RK, Gerold M, Pieri M, Cook L, Haefely W:

Pharmacology of midazolam

Arzneimittelforschung (1981) 31, 2180-2201

Prudian F, Gantenbein M, Pelissier AL, Attolini L, Bruguerolle B:

Daily rhythms of heart rate, temperature and locomotor activity are modified by anaesthetics in rats: a telemetric study

Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol (1997) 355, 774-778

Pschyrembel W:

Pschyrembel Klinisches Wörterbuch

Walter de Gruyter, Berlin (2007)

Quinlan JJ, Firestone S, Firestone LL:

Isoflurane's enhancement of chloride flux through rat brain gamma-aminobutyric acid type A receptors is stereoselective

Anesthesiology (1995) 83, 611-615

Ranheim B, Horsberg TE, Nymoen U, Soli NE, Tyler NJ, Arnemo JM:

Reversal of medetomidine-induced sedation in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) with atipamezole increases the medetomidine concentration in plasma

J Vet Pharmacol Ther (1997) 20, 350-354

Ranheim B, Horsberg TE, Soli NE, Ryeng KA, Arnemo JM:

The effects of medetomidine and its reversal with atipamezole on plasma glucose, cortisol and noradrenaline in cattle and sheep

J Vet Pharmacol Ther (2000) 23, 379-387

Ranheim B, Soli NE, Ryeng KA, Arnemo JM, Horsberg TE:

Pharmacokinetics of medetomidine and atipamezole in dairy calves: an agonist-antagonist interaction

J Vet Pharmacol Ther (1998) 21, 428-432

Rector E, Otto K, Kietzmann M, Nolte I, Lehmacher W:

Pharmacokinetics and effects of xylazine (Rompun) in dogs

Berl Munch Tierarztl Wochenschr (1996) 109, 18-22

## Literaturverzeichnis

Redfors B, Shao Y, Omerovic E:

Influence of anesthetic agent, depth of anesthesia and body temperature on cardiovascular functional parameters in the rat

Lab Anim (2014) 48, 6-14

Riviere JE, Papich MG:

Anesthetics and analgesics

In: Riviere JE, Papich MG (Hrsg.):

Veterinary pharmacology and therapeutics

Wiley-Blackwell, Ames (2009) 3, 181-408

Roberts U, Henke J, Brill T, Erhardt W:

Fully antagonisable anaesthesia of the guinea pig. Part I: Experimental investigations

In: Schmidt-Oechtering G, Alef M (Hrsg.):

Neue Aspekte der Veterinärnarkose und Intensivtherapie

Parey, Berlin, Hamburg (1993) 295

Röltgen I:

Zur Anästhesie beim Chinchilla (*Chinchilla lanigera*) mit Midazolam, Medetomidin und Fentanyl und ihrer vollständigen Antagonisierung mit Flumazenil, Atipamezol und Naloxon im Vergleich zur Anästhesie mit Xylazin/Ketamin und Medetomidin/Ketamin

Vet Med Diss, München (2002)

Romagnoli A:

Duration of action of fentanyl

Anesthesiology (1973) 39, 568-569

Sabatini CF, O'Sullivan ML, Valcour JE, Sears W, Johnson RJ:

Effects of injectable anesthetic combinations on left ventricular function and cardiac morphology in Sprague-Dawley rats

J Am Assoc Lab Anim Sci (2013) 52, 34-43

Saha JK, Xia J, Grondin JM, Engle SK, Jakubowski JA:

Acute hyperglycemia induced by ketamine/xylazine anesthesia in rats: mechanisms and implications for preclinical models

Exp Biol Med (Maywood ) (2005) 230, 777-784

## Literaturverzeichnis

Salonen JS:

Pharmacokinetics of medetomidine

Acta Vet Scand Suppl (1989) 85, 49-54

Salonen JS, Eloranta M:

Biotransformation of medetomidine in the rat

Xenobiotica (1990) 20, 471-480

Salonen S, Vuorilehto L, Vainio O, Anttila M:

Atipamezole increases medetomidine clearance in the dog: an agonist-antagonist interaction

J Vet Pharmacol Ther (1995) 18, 328-332

Sarton E, Teppema L, Dahan A:

Naloxone reversal of opioid-induced respiratory depression with special emphasis on the partial agonist/antagonist buprenorphine

Adv Exp Med Biol (2008) 605, 486-491

Savola JM:

Cardiovascular actions of medetomidine and their reversal by atipamezole

Acta Vet Scand Suppl (1989) 85, 39-47

Sawynok J, Pinsky C, LaBella FS:

On the specificity of naloxone as an opiate antagonist

Life Sci (1979) 25, 1621-1632

Schierok H, Markert M, Pairet M, Guth B:

Continuous assessment of multiple vital physiological functions in conscious freely moving rats using telemetry and a plethysmography system

J Pharmacol Toxicol Methods (2000) 43, 211-217

Schmaljohann D:

Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery

Adv Drug Deliv Rev (2006) 58, 1655-1670

## Literaturverzeichnis

Schneider E:

Zur Anästhesie beim Gerbil (*Meriones unguiculatus*) mit Midazolam, Medetomidin und Fentanyl und ihrer vollständigen Antagonisierung mit Sarmazenil, Atipamezol und Naloxon im Vergleich zur Anästhesie mit Ketamin und Medetomidin

Vet Med Diss, München (2000)

Scholz J, Steinfath M, Schulz M:

Clinical pharmacokinetics of alfentanil, fentanyl and sufentanil. An update

Clin Pharmacokinet (1996) 31, 275-292

Schuler B, Rettich A, Vogel J, Gassmann M, Arras M:

Optimized surgical techniques and postoperative care improve survival rates and permit accurate telemetric recording in exercising mice

BMC Vet Res (2009) 5, 28

Schulte am Esch J, Kochs E, Bause H:

Allgemeinanästhesie - Inhalationsanästhetika

In: Schulte am Esch J, Kochs E, Bause H (Hrsg.):

Anästhesie und Intensivmedizin

Thieme, Stuttgart (2000a) 3.3, 147-161

Schulte am Esch J, Kochs E, Bause H:

Allgemeinanästhesie - Intravenöse Pharmaka

In: Schulte am Esch J, Kochs E, Bause H (Hrsg.):

Anästhesie und Intensivmedizin

Thieme, Stuttgart (2000b) 3.2, 123-146

Schulz H, Muhle H:

Respiration

In: Krinke GJ (Hrsg.):

The laboratory rat

Academic Press, London (2000) 16, 323-344

Schurian FJ:

Zum Einsatz von Sevofluran beim Syrischen Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) - eine Vergleichsstudie zu Halothan und Isofluran

Vet Med Diss, München (2000)

## Literaturverzeichnis

Schwartz M, Munana KR, Nettifee-Osborne JA, Messenger KM, Papich MG:  
The pharmacokinetics of midazolam after intravenous, intramuscular, and rectal administration in healthy dogs

J Vet Pharmacol Ther (2013) 36, 471-477

Seagard JL, Elegbe EO, Hopp FA, Bosnjak ZJ, von Colditz JH, Kalbfleisch JH, Kampine JP:  
Effects of isoflurane on the baroreceptor reflex

Anesthesiology (1983) 59, 511-520

Seidensticker Y:

Die Anästhesie beim Meerschweinchen (*Cavia porcellus*) mit Fentanyl, Medetomidin und Midazolam und die Steuerung der Aufwachphase durch Antagonisierung mit Naloxon und Atipamezol sowie mit und ohne Sarmazenil

Vet Med Diss, München (2004)

Settle TL, Rico PJ, Lugo-Roman LA:

The effect of daily repeated sedation using ketamine or ketamine combined with medetomidine on physiology and anesthetic characteristics in rhesus macaques

J Med Primatol (2010) 39, 50-57

Seyde WC, Longnecker DE:

Anesthetic influences on regional hemodynamics in normal and hemorrhaged rats

Anesthesiology (1984) 61, 686-698

Sgoifo A, Stilli D, Medici D, Gallo P, Aimi B, Musso E:

Electrode positioning for reliable telemetry ECG recordings during social stress in unrestrained rats

Physiol Behav (1996) 60, 1397-1401

Sharp PE, La Regina MC:

Important biological features

In: Sharp PE, La Regina MC (Hrsg.):

The laboratory rat

The laboratory animal pocket reference series

CRC Press, Boca Raton (1998a) 1, 1-19

## Literaturverzeichnis

Sharp PE, La Regina MC:

Veterinary care

In: Sharp PE, La Regina MC (Hrsg.):

The laboratory rat

The laboratory animal pocket reference series

CRC Press, Boca Raton (1998b) 4, 65-128

Shibutani M:

Anesthesia, artificial ventilation and perfusion fixation

In: Krinke GJ (Hrsg.):

The laboratory rat

Academic Press, London (2000) 26, 511-521

Silasi G, MacLellan CL, Colbourne F:

Use of telemetry blood pressure transmitters to measure intracranial pressure (ICP) in freely moving rats

Curr Neurovasc Res (2009) 6, 62-69

Sinclair MD:

A review of the physiological effects of alpha2-agonists related to the clinical use of medetomidine in small animal practice

Can Vet J (2003) 44, 885-897

Smiler KL, Stein S, Hrapkiewicz KL, Hiben JR:

Tissue response to intramuscular and intraperitoneal injections of ketamine and xylazine in rats

Lab Anim Sci (1990) 40, 60-64

Stanley TH:

The history and development of the fentanyl series

J Pain Symptom Manage (1992) 7, S3-S7

Statler KD, Alexander H, Vagni V, Dixon CE, Clark RS, Jenkins L, Kochanek PM:

Comparison of seven anesthetic agents on outcome after experimental traumatic brain injury in adult, male rats

J Neurotrauma (2006) 23, 97-108



## Literaturverzeichnis

Steinlechner S:

Wärmebilanz und Temperaturregulation

In Engelhardt W (Hrsg.):

Physiologie der Haustiere

Enke Verlag, Stuttgart (2010) 19, 476-491

Stenberg D:

Physiological role of alpha 2-adrenoceptors in the regulation of vigilance and pain: effect of medetomidine

Acta Vet Scand Suppl (1989) 85, 21-28

Steward JP, Ornellas EP, Beernink KD, Northway WH:

Errors in the technique of intraperitoneal injection of mice

Appl Microbiol (1968) 16, 1418-1419

Stocker SD, Muntzel MS:

Recording sympathetic nerve activity chronically in rats: surgery techniques, assessment of nerve activity, and quantification

Am J Physiol Heart Circ Physiol (2013) 305, H1407-H1416

Strack T:

Vergleichsuntersuchungen zur Inhalationsanästhesie mit Isofluran oder Sevofluran beim Gerbil

Vet Med Diss, München (2002)

Sun FJ, Wright DE, Pinson DM:

Comparison of ketamine versus combination of ketamine and medetomidine in injectable anesthetic protocols: chemical immobilization in macaques and tissue reaction in rats

Contemp Top Lab Anim Sci (2003) 42, 32-37

Sundeman H, Biber B, Martner J, Raner C, Winso O:

Vasodilator effects of desflurane and isoflurane in the feline small intestine

Acta Anaesthesiol Scand (1995) 39, 1105-1110

Tate MK, Lawrence WS, Gourley RL, Zavala DL, Weaver LE, Moen ST, Peterson JW:

Telemetric left ventricular monitoring using wireless telemetry in the rabbit model

BMC Res Notes (2011) 4, 320

## Literaturverzeichnis

Thompson JR, Kersting KW, Hsu WH:

Antagonistic effect of atipamezole on xylazine-induced sedation, bradycardia, and ruminal atony in calves

Am J Vet Res (1991) 52, 1265-1268

Vähä-Vahe AT:

The clinical effectiveness of atipamezole as a medetomidine antagonist in the dog

J Vet Pharmacol Ther (1990) 13, 198-205

Vainio O:

Introduction to the clinical pharmacology of medetomidine

Acta Vet Scand Suppl (1989) 85, 85-88

Vainio O:

Reversal of medetomidine-induced cardiovascular and respiratory changes with atipamezole in dogs

Vet Rec (1990) 127, 447-450

van Lersberghe C, Camu F, de KE, Sacre S:

Continuous administration of fentanyl for postoperative pain: a comparison of the epidural, intravenous, and transdermal routes

J Clin Anesth (1994) 6, 308-314

van Vliet BN, Chafe LL, Antic V, Schnyder-Candrian S, Montani JP:

Direct and indirect methods used to study arterial blood pressure

J Pharmacol Toxicol Methods (2000) 44, 361-373

van Wijngaarden I, Soudijn W:

The metabolism and excretion of the analgesic fentanyl (R 4263) by wistar rats

Life Sci (1968) 7, 1239-1244

Veilleux-Lemieux D, Castel A, Carrier D, Beaudry F, Vachon P:

Pharmacokinetics of ketamine and xylazine in young and old sprague-dawley rats

J Am Assoc Lab Anim Sci (2013) 52, 567-570

Verstegen J, Petcho A:

Medetomidine-butorphanol-midazolam for anaesthesia in dogs and its reversal by atipamezole

Vet Rec (1993) 132, 353-357

## Literaturverzeichnis

Virtanen R:

Pharmacological profiles of medetomidine and its antagonist, atipamezole

Acta Vet Scand Suppl (1989) 85, 29-37

Virtanen R, Savola JM, Saano V:

Highly selective and specific antagonism of central and peripheral alpha 2-adrenoceptors by atipamezole

Arch Int Pharmacodyn Ther (1989) 297, 190-204

Virtanen R, Savola JM, Saano V, Nyman L:

Characterization of the selectivity, specificity and potency of medetomidine as an alpha 2-adrenoceptor agonist

Eur J Pharmacol (1988) 150, 9-14

Votey SR, Bosse GM, Bayer MJ, Hoffman JR:

Flumazenil: a new benzodiazepine antagonist

Ann Emerg Med (1991) 20, 181-188

Waynforth HB, Flecknell P:

Vital statistics and miscellaneous information

In: Waynforth HB, Flecknell P (Hrsg.):

Experimental and surgical technique in the rat

Academic Press, London (1992) 7, 341-367

Waynforth HB, Flecknell PA:

Anaesthesia and postoperative care

In: Waynforth H, Flecknell P (Hrsg.):

Experimental and surgical technique in the rat

Academic Press, London (1992) 3, 100-152

Wei JY, Mendelowitz D, Anastasi N, Rowe JW:

Influence of age on cardiovascular reflex response in anesthetized rats

Am J Physiol (1985) 249, R31-R38

## Literaturverzeichnis

Weiske A:

Untersuchungen zu einer Injektionsanästhesie bei der Taube (*Columba livia*, var. dom., Gmel. 1789) mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl und ihrer vollständigen Antagonisierung mit Atipamezol, Sarmazenil und Naloxon  
Vet Med Diss, München (2001)

Whitwam JG, Amrein R:

Pharmacology of flumazenil  
Acta Anaesthesiol Scand Suppl (1995) 108, 3-14

Wong D, Makowska IJ, Weary DM:

Rat aversion to isoflurane versus carbon dioxide  
Biol Lett (2013) 9, 20121000

Wrede B:

Vergleichsuntersuchung zur Inhalationsanästhesie mit Isofluran oder Sevofluran beim Kaninchen  
Vet Med Diss, Hannover (1999)

Wright M:

Pharmacologic effects of ketamine and its use in veterinary medicine  
J Am Vet Med Assoc (1982) 180, 1462-1471

Yang XL, Zhang WS, Liu J, Yang ZB, Jiang XH:

Pharmacokinetics of intravenous emulsified isoflurane in beagle dogs  
Br J Anaesth (2013) 110, 128-136

Yassen A, Olofsen E, Kan J, Dahan A, Danhof M:

Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the effectiveness and safety of buprenorphine and fentanyl in rats  
Pharm Res (2008) 25, 183-193

## 8. TABELLENVERZEICHNIS

<b>Tabelle</b>		<b>Seite</b>
Tab. 1	Referenzwerte für physiologische Parameter bei der Ratte	6
Tab. 2	Übersicht der Opioid-Rezeptoren und deren agonistische Wirkung	23

### 9. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<b>Abbildung</b>	<b>Seite</b>
Abb. 1	7
Abb. 2	10
Abb. 3	12
Abb. 4	14
Abb. 5	17
Abb. 6	20
Abb. 7	22
Abb. 8	26
Abb. 9	29
Abb. 10	35
Abb. 11	36
Abb. 12	37
Abb. 13	39
Abb. 14	41
Abb. 15	42
Abb. 16	43
Abb. 17	43
Abb. 18	45
Abb. 19	45
Abb. 20	46
Abb. 21	46

## 10. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

<b>A.</b>	Arteria
<b>Aa.</b>	Arteriae
<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>AFN</b>	Atipamezol-Flumazenil-Naloxon
<b>BP</b>	blood pressure
<b>Bpm</b>	beats per minute
<b>BT</b>	body temperature
<b>bzw.</b>	Beziehungsweise
<b>DAP</b>	diastolic arterial pressure
<b>EEG</b>	Elektroenzephalographie
<b>EKG</b>	Elektrokardiographie
<b>EMG</b>	Elektromyographie
<b>EOG</b>	Elektrookulographie
<b>HR</b>	heart rate
<b>ISO</b>	Isofluran
<b>KX</b>	Ketamin-Xylazin
<b>MAP</b>	mean arterial pressure
<b>Min./ min.</b>	Minute/ minute
<b>MMF</b>	Medetomidin-Midazolam-Fentanyl
<b>o.Ä.</b>	oder Ähnliches
<b>PP</b>	pulse pressure
<b>SAP</b>	systolic arterial pressure
<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>vs.</b>	Versus
<b>z.B.</b>	Zum Beispiel
<b>ZNS</b>	Zentrales Nervensystem

## Danksagung

### 11. DANKSAGUNG

Das erste große Dankeschön geht an Frau PD Dr. Julia Henke für die Überlassung des Themas und die hervorragende und mehr als freundliche Betreuung meiner Doktorarbeit. Jegliche Fragen von Genehmigungsantrag stellen über Versuchsdurchführungen planen bis hin zu Publikationen schreiben und Manuskript entwerfen wurden sogar trotz Abwesenheitsnotiz umgehend von ihr beantwortet. Für diesen persönlichen Einsatz bin ich ihr von Herzen dankbar.

Frau Prof. Dr. Sabine Tacke danke ich vielmals für die Übernahme dieser Arbeit an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Justus-Liebig-Universität Gießen und für die Mitarbeit und Durchsicht der Publikationen und des Manuskripts.

PD Dr. Brian Guth danke ich für die Aufnahme in seine Gruppe, für die Bereitstellung eines schönen Arbeitsplatzes und für die Mitarbeit und sprachliche Ausarbeitung der Publikationen.

Ein weiterer Dank geht an Michael Markert für die Möglichkeit der Versuchsdurchführung in seiner Laborgruppe und seine Mitarbeit und Unterstützung bei den Publikationen.

Florian Krause und Werner Mayer möchte ich ganz herzlich danken für die Einführung in die Telemetrie und die jederzeit gewährte Hilfestellung bei allen anfallenden Fragen und Problemen. Ebenso danken möchte ich allen weiteren Mitarbeitern der Allgemeinpharmakologie für die nette Aufnahme in die Gruppe, insbesondere Michael Winter für die tolle gemeinsame Zeit im Büro.

Danken möchte ich auch allen Mitarbeitern der BLS, die mich in irgendeiner Art und Weise bei dieser Arbeit unterstützt haben. Insbesondere erwähnen möchte ich da meine Kollegen vom Tiergesundheitsdienst (Miri, Myri, Lukas, Britta, Katharina, Gabi, Tina, Jenni, Bine und Josef), die stets ein offenes Ohr und gute Ratschläge für mich hatten, Angelika Bader, die gefühlte eine Millionen Anrufe von mir ertragen musste und Maren Bathge, Alfred Ruf und Siegmund Feser, die mich im Forschungsgebäude wirklich „rattenstark“ unterstützt haben.

Claudia Kruppa danke ich wirklich von Herzen für die vielen gemeinsamen Mittagspausen in allen erdenklichen Lebenslagen. Mit einschließen möchte ich hier auch Juli, Oli, Sara und Claudi Nase für die freundschaftlichen Dienste, das Verständnis, die offenen Ohren und aufmunternden Worte, sowie Matze und Teresa, die ihre Doktorandenerfahrungen stets mit mir teilten und immer einen motivierenden Spruch übrig hatten.

Meinen Freunden vom Spielmannszug Reute e.V. bin ich zu Dank verpflichtet, weil mindestens einmal die Woche lautstarke Spielmannsmusik mein Hirn wieder freigeblasen hat. Danke für das befreiende Gefühl.



## **Danksagung**

Meinem Freund Moritz Dollinger, mitsamt seiner ganzen Familie, möchte ich besonders danken, für den Rückhalt, die mentale Unterstützung, die Care-Pakete und die Integration in die Familie. Einen Doktoranden zu ertragen ist keine Selbstverständlichkeit.

Der wichtigste Dank gilt meiner Mutter. Ohne ihre Unterstützung und ihren Rückhalt wäre weder das Studium, noch diese Doktorarbeit zustande gekommen. Danke für das Dach über dem Kopf und für die etlichen Stunden Katzensitting.

Mein letzter Dank geht an meine treuen Weggefährten, die mit mir zusammen diese Arbeit zustande gebracht haben. Die liebsten Ratten der Welt: Mopsel, Nucki, Schlitzi, Funzel, Helmut, Max, Willi, Grobi, Mo, Fred, Oskar, Fussel, Rudi und Charmin.

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6331-3

