

## **2 Literaturübersicht**

### **2.1 Pathophysiologie und klinische Bedeutung von Nierenfunktionsstörungen der Katze sowie Beeinflussung ihrer Progredienz**

Die Nieren sind ein lebensnotwendiges Organ. Sie erfüllen wichtige Aufgaben zur Aufrechterhaltung der Homöodynamik des Körpers. Ihre Funktion besteht in der Ausscheidung von harnpflichtigen und harnfähigen Stoffwechselendprodukten, der Exkretion von Wasser und Osmolyten und damit der Regulation des Elektrolyt-, Wasser- und Säure-Basen-Haushaltes sowie der Synthese von Hormonen.

Die normale Funktion der Nieren ist von einer adäquaten Perfusion des Organs (renaler Blutfluss, RBF) und von dem Vorhandensein einer ausreichenden Menge funktionalen Nierengewebes abhängig (FINCO, 1995a).

Funktionelle Einheit der Nieren ist das Nephron. In ihm erfolgt die Urinbildung durch glomeruläre Filtration, tubuläre Sekretion und tubuläre Reabsorption. Die Henleschen Schleifen sind bei der Katze wesentlich länger als beim Hund. Sie reichen bis in die innere Nierenmarkregion hinein (NISSEN, 1966). Da in den Henleschen Schleifen die wichtige Leistung der Harnkonzentrierung stattfindet, ist die Katze in der Lage, sehr stark konzentrierten Harn zu produzieren.

Die Funktionsstörungen der Nieren gehören zu den häufigsten Organkrankheiten der Katze (KRAFT, 1996). LULICH et al. (1992) gaben, basierend auf den Daten von 189.371 Tieren in Nordamerika, eine Prävalenz in der Gesamtpopulation von 1,18 % (2.228 Tiere) an.

Nach KRAFT (1996) treten Nierenerkrankungen sowohl bei weiblichen und männlichen Tieren als auch bei den verschiedenen Rassen mit der gleichen Häufigkeit auf. Von LULICH et al. (1992) wird jedoch eine Rasseprädisposition bei Main Coon, Abessinern, Siamesen, Russian Blue und Burmesen beschrieben. Bei diesen ist die Prävalenz verglichen mit der Gesamtpopulation mehr als doppelt so hoch.

Bedeutsam für die klinische Praxis ist die starke Altersabhängigkeit der Prävalenz für das Auftreten einer Nierenerkrankung (Abbildung 2-1). Etwa 63 % aller Tiere, die eine Nierenerkrankung haben, sind älter als 10 Jahre.

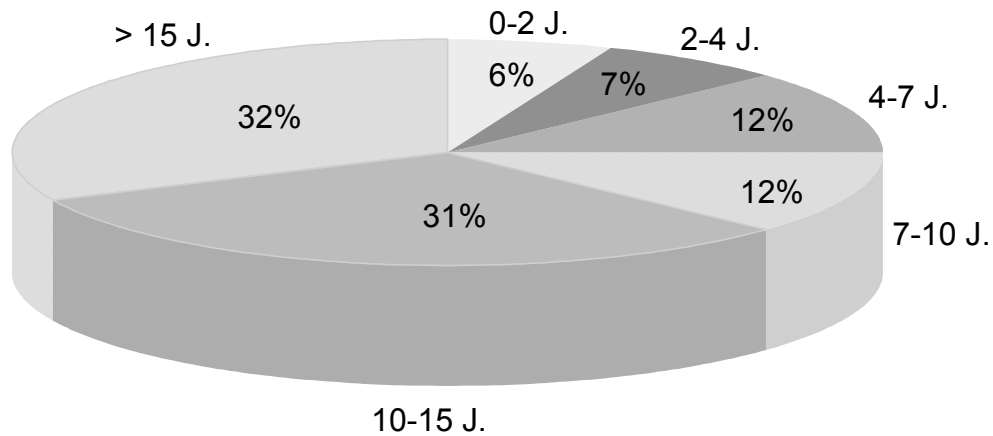


Abbildung 2-1: Verteilung von Nierenerkrankungen bei 2.228 Katzen unterschiedlichen Alters (nach LULICH et al., 1992).

Die Prävalenz für das Vorliegen einer Nierenerkrankung bei sehr alten Tieren beträgt je nach untersuchter Population ca. 15-30 % (Abbildung 2-2). Ab einem Alter von ca. 7 Jahren nimmt die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Nierenerkrankung sehr stark zu (CHEW und DIBARTOLA, 2000c).

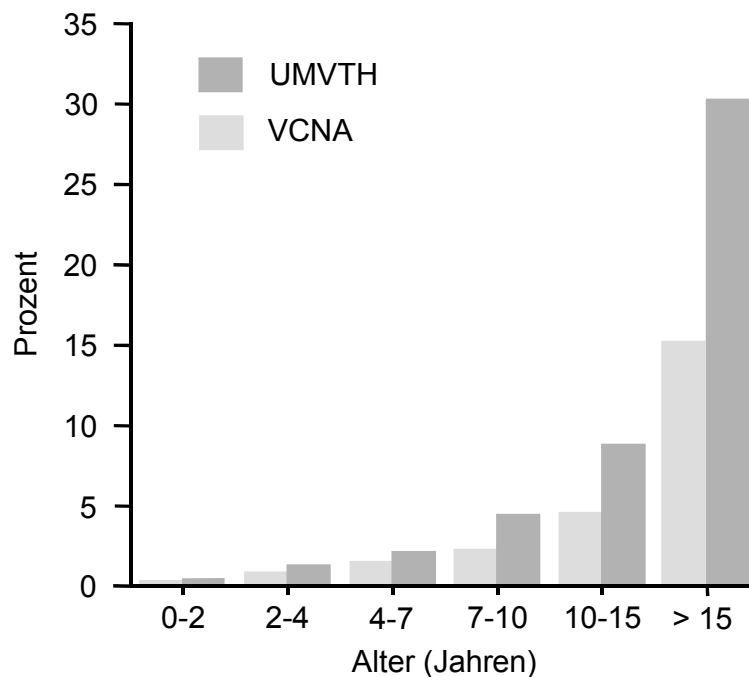


Abbildung 2-2: Prävalenz von Nierenerkrankungen bei Katzen verschiedenen Alters (nach LULICH et al., 1992).

Die Zahlen basieren auf Daten von 8.928 Katzen, die an der University of Minnesota College of Veterinary Medicine (UMVTH), und 89.371 Tieren, die an insgesamt 23 Universitäten in Nordamerika (VNCA) untersucht wurden.

Nierenerkrankungen werden bei Katzen zunehmend häufiger festgestellt. LULICH et al. (1992) konnten innerhalb von 10 Jahren eine Vervierfachung der Anzahl der diagnostizierten Fälle feststellen. Ursächlich kommen ein häufigeres Auftreten dieser Erkrankungen, aber auch die zunehmende Anwendung der diagnostischen Möglichkeiten bei Katzen und hier v. a. auch bei älteren Katzen in Betracht (CHEW und DIBARTOLA, 2000c). Ein weiterer Grund besteht darin, dass sich die Altersverteilung stark zu Gunsten alter und sehr alter Katzen verschoben hat (KRAFT und DANCKERT, 1999).

Nierenfunktionsstörungen können in akut und chronisch auftretende Krankheitsgeschehen unterteilt werden:

Das akute Nierenversagen (ANV) ist definiert als das plötzliche Auftreten einer Azotämie – oft in Verbindung mit Oligurie. Es kommt zu einer rapiden Verschlechterung der Nierenfunktionen und des Allgemeinzustandes (SCHWENDENWEIN, 1993). Ein ANV kann prärenale, renale und postrenale Ursachen haben. Prärenal bedingte akute Niereninsuffizienzen entstehen durch eine mangelhafte Perfusion des Organs auf Grund von kardial, hypovolämisch oder hypotensiv bedingten Zirkulationsstörungen. Postrenale Funktionsstörungen haben ihre Ursache in einer Abflussstörung des Urins durch Obstruktionen in den harnableitenden Strukturen (Uretherobstruktion, Urethraobstruktion, Harnblasendysfunktion). Renale Ursachen für ein akutes Nierenversagen (z. B. akute Glomerulopathien, interstitielle Nephritis, akute Pyelonephritis) sind bei Katzen relativ selten anzutreffen (KRAFT, 1996). Ischämische oder toxische Insulte des Tubulusapparates rufen akute Tubulusnekrosen hervor, die die häufigste Ursache des akuten Nierenversagens darstellen (SCHWENDENWEIN, 1993).

Die häufigste Nierenfunktionsstörung bei der Katze ist die chronische Niereninsuffizienz (CNI), die mit einer Prävalenz von 1,6 % auftritt (POLZIN et al., 1995). Sie ist durch einen progressiven Verlauf gekennzeichnet, im Zuge dessen die glomeruläre Filtrationsrate (GFR, vgl. Kap. 2.3) durch irreversiblen Verlust an funktionellem Nierengewebe immer weiter abnimmt. Dies hat Störungen des Wasser-Elektrolyt-Säure-Basen-Status sowie endokrine Funktionsstörungen zur Folge.

Das klinische Symptombild der CNI ist das der Urämie (KRAFT, 1996), das durch Anorexie, Lethargie und Gewichtsverlust gekennzeichnet ist. Als Urämie werden alle pathologischen – einschließlich der metabolischen – Veränderungen bezeichnet, die

durch eine eingeschränkte Nierenfunktion hervorgerufen werden (POLZIN und OSBORNE, 1995).

Die Symptome Polyurie und Polydipsie werden im Unterschied zum Hund bei weniger als der Hälfte aller Fälle festgestellt. Bei 30-50 % der Katzen mit CNI wird Vomitus beschrieben. Durch die klinische Untersuchung sind Dehydratation und Abmagerung sowie häufig auch Ulzerationen der Maulhöhle festzustellen. Bei ca. 25 % der Katzen sind kleine Nieren mit einer unregelmäßigen Oberfläche zu palpieren. Weitere 25 % weisen eine tastbare Vergrößerung der Nieren auf (CHEW und DIBARTOLA, 2000c). Die Prävalenz für die Entwicklung einer Hypertonie bei Katzen mit CNI beträgt 29-65 % (DIBARTOLA, 2000).

Labordiagnostisch lassen sich u. a. Azotämie, Hyperphosphatämie, Hypokaliämie, Isosthenurie und nicht-regenerative normochrom-normozytäre Anämie feststellen. Eine metabolische Azidose tritt bei 60-80 % der Katzen auf (DIBARTOLA et al., 1987; LULICH et al., 1992). Sie kommt durch eine inadäquate Exkretion von  $H^+$ -Ionen, eine gestörte tubuläre Reabsorption von Bicarbonat, eine unzureichende tubuläre  $NH_3$ -Sekretion und einen erhöhten Anfall saurer Metabolite aus dem Proteinkatabolismus zu Stande (SCHWENDENWEIN, 1989).

Im Gegensatz zur Urämie handelt es sich bei dem Begriff Azotämie nicht um eine klinische Diagnose, sondern um einen Laborbefund (SCHWENDENWEIN, 1989). Als Azotämie wird die pathologisch erhöhte Konzentration von Harnstoff, Creatinin oder anderen Nicht-Protein-Stickstoffen im Blut bezeichnet. Der Grund kann in einem Anstieg der Produktionsrate dieser Stoffe, in einer geringeren Ausscheidung oder in beidem liegen (POLZIN und OSBORNE, 1995).

Die Ätiologie chronischer Niereninsuffizienzen bleibt häufig unklar. Idiopathische chronische interstitielle Nephritis ist die häufigste Diagnose bei Vorliegen einer CNI (CHEW und DIBARTOLA, 2000c). Weitere Formen sind chronische Glomerulopathien und Hydronephrosen. Ursachen können Pyelonephritiden, feline infektiöse Peritonitis oder renale Lymphome sein (KRAFT, 1996).

Bei jüngeren Tieren können angeborene Missbildungen (z. B. Nierenzysten) oder Stoffwechselstörungen (z. B. Amyloidosen) zu chronischen Niereninsuffizienzen führen (SCHWENDENWEIN, 1993). Chronische Niereninsuffizienzen auf Grund von Nierenzysten sind eine insbesondere bei Perser- und anderen Langhaarkatzen auftretende Erkrankung, bei der es durch einen autosomal dominant erblichen Defekt zur Bildung corticaler und medullärer Zysten im Nierengewebe kommt. Diese werden

mit zunehmendem Alter größer und führen so zu einem fortschreitenden Verlust funktionellen Nierengewebes (CHEW und DIBARTOLA, 2000c). MEYER-LINDENBERG et al. (1998a) konnten bei 29,7 % von insgesamt 192 untersuchten Perserkatzen per Ultraschall Nierenzysten diagnostizieren, die bei allen Tieren beidseitig auftraten.

Neben den genannten renalen Ursachen einer CNI können auch prä- und postrenale Noxen zu einer Schädigung des Nierengewebes führen, wenn diese über längere Zeit andauern. Befinden sich die Nieren bereits im Stadium der Kompensation, so können prärenale Faktoren eine Nierenfunktionsstörung klinisch manifest werden lassen (SCHWENDENWEIN, 1989).

Nur in Frühstadien der CNI ist durch Biopsie und histologische Untersuchung in einigen Fällen die Ätiologie zu ermitteln (KRAFT, 1996).

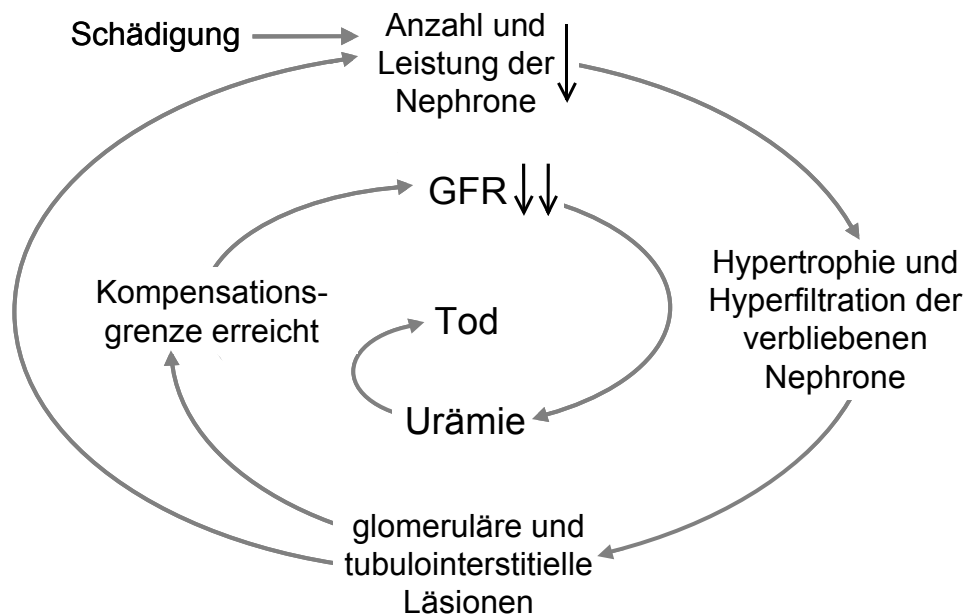


Abbildung 2-3: Pathogenese der CNI (nach POLZIN et al., 1995).

Unabhängig vom ursprünglichen Auslöser kommt es bei einer CNI zu einem fortschreitenden Verlust an funktionierenden Nephronen (Abbildung 2-3). Dies führt dazu, dass die noch intakten Nephrone vermehrt durchblutet werden. Zellproliferationen und Membranverdickungen durch Proteineinlagerungen und damit Hypertrophie der Tubuli sind die Folge. Durch die erhöhte Filtrationsleistung bleibt die Funktion zunächst aufrechterhalten (BROWN et al., 1996a). Eine solche kompensatorische Zunahme der Größe der verbliebenen Nephrone wurde u. a. bei Katzen nachgewiesen (ADAMS et al., 1994). Im weiteren Verlauf der Erkrankung kommt es aber durch die

glomeruläre Hyperfiltration zu einem Fortschreiten der Niereninsuffizienz, da durch die strukturellen Veränderungen weitere gesunde, durch die Primärnoxie noch nicht betroffene Nephrone, zerstört werden (HOSTETTER et al., 1981; HOSTETTER et al., 2001; POLZIN et al., 1983).

Die Ursache für die Diskrepanz von pathologisch-histologisch erkennbaren Veränderungen und klinisch relevanten Funktionsstörungen liegt in der enormen Reservekapazität der Nieren (SCHWENDENWEIN, 1989). Noch Monate nach Verlust von ca. 75 % aller Nephrone können die systemischen Nierenfunktionen durch kompensatorische Hypertrophie der übrigen Nephrone 50 % oder weniger unter dem Ausgangswert liegen. In dieser Zeit tritt noch keine Azotämie auf, und die Urinkonzentrationsfähigkeit ist häufig noch erhalten (POLZIN und OSBORNE, 1995).

Die CNI ist durch vier Verlaufsstadien gekennzeichnet (Tabelle 2-1):

Im ersten Stadium (Stadium der vollen Kompensation) sind klinisch und mit den labordiagnostischen Routineverfahren (vgl. Kap. 2.2) keine Veränderungen feststellbar. Die Nieren sind in der Lage, durch die Mehrarbeit der noch funktionsfähigen Nephrone ihre Leistung aufrechtzuerhalten. Dieses Stadium kann durch Belastungen, wie Flüssigkeitsmangel oder reduzierte Nierendurchblutung, schnell in ein schwerwiegenderes Stadium übergehen (GRÜNBAUM, 2000).

Im zweiten Stadium ist ein Anstieg der Serumharnstoff- und Creatinin-Werte und/oder eine Verschiebung der Elektrolytkonzentrationen labordiagnostisch zu erfassen. Klinisch ist dieses Stadium durch leichte und unspezifische Symptome, wie Apathie, Inappetenz und Polyurie/Polydipsie, gekennzeichnet.

*Tabelle 2-1: Stadien der chronischen Niereninsuffizienz (modifiziert nach GRÜNBAUM, 2000)*

Stadium	Klinik	Labor
I Latenz / volle Kompensation (leichte Ausscheidungs- und Konzentrationsinsuffizienz)	-	-
II kompensierte Retention (mäßige Insuffizienz)	±	+
III dekompenzierte Retention (fortgeschrittene Insuffizienz)	+	+
IV Endstadium-Niere (Nierenversagen)	++	++

Die fortgeschrittene Niereninsuffizienz (Stadium III) zeigt sich labordiagnostisch durch massive Elektrolytverschiebungen im Blutserum, metabolische Azidose und stärker werdende klinische Symptome der Urämie (s. o.).

Im vierten Stadium kommt es durch schwerste Nierenfunktionsstörungen zum sog. Urämiesyndrom. Es ist gekennzeichnet durch urämische Intoxikation mit starker Beeinträchtigung anderer Organe. Dieses Stadium ist irreversibel und endet mit dem Tod des Tieres.

Die therapeutischen Möglichkeiten bei der chronischen Niereninsuffizienz sind begrenzt. Da die Ätiologie der Erkrankung häufig ungeklärt bleibt, kann ausschließlich eine symptomatische Therapie durchgeführt werden. Dazu gehören Infusionen zur Rehydratation des Patienten sowie Maßnahmen zur Bekämpfung der übrigen Allgemeinsymptome (Beseitigung der Azidose, Bekämpfung von Stomatitis und Gastritis mit H<sub>2</sub>-Antihistaminika) (SCHWENDENWEIN, 1989).

Calcitriol kann eingesetzt werden, um die intestinale Calciumabsorption zu erhöhen und die Parathormonsekretion zu senken (NAGODE et al., 1996). Einer nichtregenerativen Anämie kann mittels rekombinantem humanem Erythropoetin entgegengewirkt werden (CHEW und DIBARTOLA, 2000a). Bei Katzen, deren systolischer Blutdruck ständig über 22,6 kPa (170 mm Hg) liegt oder die einen erhöhten Blutdruck in Verbindung mit einer hypertensiven Retinopathie aufweisen, sollte eine anti-hypertensive Therapie mittels Calciumkanal-Blockern oder ACE-Hemmern eingeleitet werden (DIBARTOLA, 2000).

Als Langzeittherapie können Nierendiäten verabreicht werden. Diese sollen die klinischen Anzeichen der Urämie verbessern, Elektrolyt- und Harnstoffimbilanzen minimieren und dadurch die Lebensqualität des Patienten steigern. Weiteres Ziel ist das Fortschreiten der Nierenerkrankung zu verlangsamen (ELLIOTT et al., 2000; POLZIN et al., 2000).

Diese Wirkungen sollen v. a. durch eine Reduktion des Protein- und Phosphorgehaltes der Nahrung erreicht werden:

Durch die Vermeidung der Aufnahme nicht-essenzieller Mengen an Proteinen wird die Produktion von Abfallprodukten des Stickstoff-Stoffwechsels gesenkt, was sich wiederum positiv auf die klinischen Symptome wie Anorexie, Vomitus, Lethargie und Gewichtsverlust auswirken soll (POLZIN et al., 1996).

Zwei Studien an Katzen mit künstlich hervorgerufener CNI kommen zu gegensätzlichen Ergebnissen bzgl. des Effektes von Nahrung mit hohem Proteingehalt auf Proteinurie und renale Läsionen (ADAMS et al., 1994; FINCO et al., 1998). Aus zwei anderen Untersuchungen an Katzen mit natürlich auftretender CNI kann kein eindeutiger Schluss bzgl. der Rolle des Proteingehaltes in der Nahrung gezogen werden (ELLIOTT et al., 2000; HARTE et al., 1994). Da in beiden Studien die verabreichten Diäten sowohl protein- als auch phosphatreduziert waren, können positive Effekte, wie der Rückgang von Harnstoff-, Creatinin- und Phosphatwerten im Serum, sowie eine längere mittlere Überlebensdauer nicht eindeutig auf die Proteinreduktion, die Phosphatreduktion oder auf einen wechselseitigen Effekt der beiden Faktoren zurückgeführt werden. Welchen Einfluss außerdem der höhere Proteinbedarf von Katzen im Vergleich zu Hunden auf die Effektivität einer proteinreduzierten Diät in Bezug auf die Verbesserung klinischer Symptome von CNI hat, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden (POLZIN et al., 2000).

Weiterhin sollen Nierendiäten die Folgen abnehmender regulatorischer Funktionen der Nieren ausgleichen, durch die eine Retention von Phosphor, Natrium und Protonen und andererseits ein starker Verlust von Kalium entstehen.

Ziel des phosphatreduzierten Futters ist es, der Retention von Phosphat im Körper und damit der Entstehung eines sekundären renalen Hyperparathyreoidismus entgegenzuwirken. Dieser tritt bei einem Großteil der Katzen mit CNI auf (BARBER und ELLIOTT, 1998). Sowohl der Plasmaphosphatspiegel als auch die Aktivität der Nebenschilddrüse können durch Gabe einer solchen Diät entscheidend gesenkt werden (BARBER et al., 1999). Inwieweit eine Phosphatreduktion im Futter die Progression einer CNI bei Katzen verlangsamen kann, ist bislang nicht belegt (POLZIN et al., 2000). Eine Studie von ROSS et al. (1982) konnte bei Katzen, die mit einer phosphatreduzierten Diät gefüttert wurden, gegenüber Tieren, die phosphatreiches Futter erhielten, keine signifikanten Veränderungen der Nierenfunktionen (Harnstoff- und Creatinin-Werte, renale [ $^{14}\text{C}$ ]Inulin-Clearance) nachweisen. Histologisch waren aber Unterschiede in der Ausprägung der Läsionen im Nierengewebe zu finden.

Bei Hunden wurde eine Studie durchgeführt, in der die Einflüsse von Protein- und Phosphatreduktion getrennt untersucht wurden (FINCO et al., 1992). Die Überlebenszeit wurde durch die Gabe einer phosphatreduzierten Diät signifikant erhöht, wohingegen ein solcher Effekt durch einen niedrigen Proteingehalt im Futter nicht erzielt werden konnte. Ebenso konnte durch die phosphatreduzierte Diät die Zeit, in der



die GFR noch nicht erniedrigt war, signifikant verlängert werden. Der Proteingehalt der Nahrung hatte keinen signifikanten Effekt auf die GFR.

Kann allein durch eine Diät der Serumphosphatspiegel nicht wieder in den Normalbereich gebracht werden, können zusätzlich phosphatbindende Stoffe, z. B. Aluminiumhydroxid, mit dem Futter verabreicht werden (ELLIOTT et al., 2000).

Ob die Gabe mehrfach ungesättigter  $\omega$ -3-Fettsäuren auch bei Katzen, ebenso wie dies beim Hund beschrieben ist, zu einer Verlangsamung der Progredienz der Erkrankung führt, ist bislang nicht belegt (BROWN et al., 1996a).

Häufiges Problem bei der Gabe von Nierendiäten ist die schlechte Akzeptanz der Nahrung durch die Katzen. Diese muss aber nicht unbedingt durch eine geringe Schmackhaftigkeit der Produkte bedingt sein, sondern kommt häufig durch mangelnden Appetit auf Grund der Urämie zustande (POLZIN et al., 2000).

In Analogie zu den Ergebnissen bei Hunden und auf Grund des höheren Proteinbedarfs von Katzen scheint der Nutzen einer proteinreduzierten Diät bei der Katze fraglich. Die frühzeitige und ausschließliche Gabe einer phosphatreduzierten Diät ist hingegen sinnvoll, um die klinischen Symptome zu mildern und die Progredienz der Erkrankung zu verlangsamen.

## **2.2 Gebräuchliche Methoden der Nierenfunktionsdiagnostik**

In der Kleintierpraxis stehen eine Reihe von Untersuchungsmethoden, labordiagnostischen Analysen und Funktionstests zur Verfügung, die Aussagen über die Nierentätigkeit ermöglichen. Mit vielen dieser Untersuchungen kann eine Funktionsminderung der Nieren jedoch erst in einem fortgeschrittenen Stadium nachgewiesen werden.

Die klinischen Anzeichen einer Funktionsbeeinträchtigung der Nieren sind unspezifisch und können insbesondere in den frühen Stadien (vgl. Kap. 2.1) auch von einer Vielzahl anderer Erkrankungen hervorgerufen werden.

### **Blutuntersuchung**

Gebräuchliche Screening-Parameter sind die Harnstoff- und Creatinin-Konzentration im Blutserum.

Harnstoff wird in der Leber aus Ammoniak, einem Endprodukt des Proteinstoffwechsels, synthetisiert und hauptsächlich über die Nieren ausgeschieden (SCHWENDENWEIN, 1989). Ein Teil des im Glomerulum filtrierte Harnstoffs wird

im Tubulus passiv reabsorbiert, wobei der Grad der tubulären Reabsorption durch die Rate des RBF beeinflusst wird. Je kleiner der RBF, desto mehr Harnstoff wird reabsorbiert und ist im Blut nachweisbar (CHEW und DIBARTOLA, 2000b).

Die Serum-Harnstoffkonzentration ist stark vom Proteingehalt der Nahrung abhängig. Nach Aufnahme von Nahrung mit einem hohem Eiweißgehalt steigt der Harnstoffspiegel im Blut an, und diese Erhöhung kann bis zu 18 h nach der Nahrungsaufnahme erhalten bleiben (SCHWENDENWEIN, 1989).

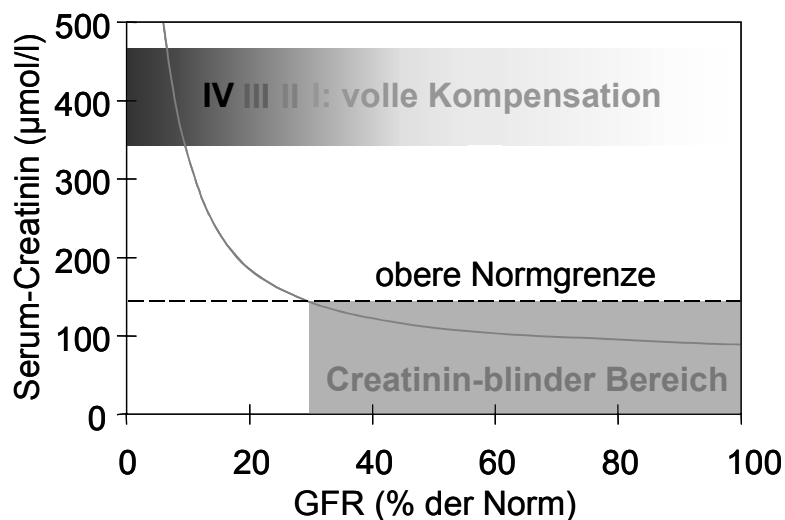


Abbildung 2-4: Anstieg des Serum-Creatinin-Wertes findet erst statt, wenn bereits  $\frac{2}{3}$  der Nierenfunktionen ausgefallen sind.

I-IV: Stadien der Nierenfunktionen (siehe Tabelle 2-1)  
(Abb. nach HÖCHEL et al., 2001b)

Creatinin ist ein Abbauprodukt des endogenen Muskelstoffwechsels (vgl. Kap. 2.4.2) und hat gegenüber Harnstoff den Vorteil, dass seine Konzentration im Blutserum nicht nahrungsabhängig ist und vom endogenen Proteinmetabolismus nicht beeinflusst wird. Es ist daher durch Nahrungskarenz nicht scheinbar „normal“ und kann durch diätetische Maßnahmen nicht erniedrigt werden (KRAFT und DÜRR, 1999).

Ebenso wie in Abbildung 2-4 für den Serum-Creatinin-Gehalt gezeigt, ist auch beim Serum-Harnstoff-Gehalt der Mangel an diagnostischer Sensitivität problematisch. Ein Anstieg der Harnstoff- und Creatinin-Werte ist erst dann zu verzeichnen, wenn mehr als 70-75 % der Nephrone ausgefallen sind (DIBARTOLA, 1995; FINCO, 1995b; FINCO und DUNCAN, 1976; OSBORNE et al., 1981). Bis zu diesem Zeitpunkt sind die Nieren in der Lage, durch Hyperfiltration der verbliebenen funktionstüchtigen Nephrone die Ausscheidung von Wasser und Osmolyten zu gewährleisten. Aus diesem Grund kann das Vorliegen eines normalen Serum-Harnstoff- und Creatinin-

Spiegels niemals das Vorhandensein einer Nierenerkrankung ausschließen (CHEW und DIBARTOLA, 2000b).

Neben Creatinin und Harnstoff wird seit einiger Zeit Cystatin C als endogener Marker der GFR diskutiert. Cystatin C ist ein Protein mit niedriger Molekularmasse, das in allen kernhaltigen Zellen mit einer konstanten Rate produziert wird. Auf Grund seines geringen Molekulargewichtes wird Cystatin C im Glomerulum frei filtriert, weshalb seine Konzentration im Serum in erster Linie durch die GFR beeinflusst wird (ALMY et al., 2002).

Sowohl bei Menschen (NEWMAN et al., 1995) als auch bei Hunden (ALMY et al., 2002; JENSEN et al., 2001) konnte nachgewiesen werden, dass Cystatin C eine größere Sensitivität und Spezifität als Marker für die GFR hat als endogenes Creatinin. Dies zeigte sich insbesondere bei Fällen mit nur moderat erniedrigter GFR.

Allerdings war bei dehydratisierten Tieren die Korrelation zwischen der renalen Clearance (R-CL) von exogenem Creatinin und Cystatin C geringer als zwischen R-CL und endogenem Creatinin. Daraus wurde geschlossen, dass Cystatin C bei Hunden kein sensitiver Indikator für die GFR bei prärenal bedingten Ursachen der Niereninsuffizienz und bei ANV ist (ALMY et al., 2002).

Ein Vorteil von Cystatin C als Screening-Methode zur Erkennung von Frühstadien eines Nierenfunktionsverlustes gegenüber den Clearanceverfahren (vgl. Kap. 2.3.2) besteht darin, dass keine Injektion von Markersubstanzen notwendig ist und nur eine Blutprobe entnommen werden muss (ALMY et al., 2002).

Außerdem haben nicht-renale Faktoren, wie Infektionen und Entzündungen sowie Alter, Geschlecht und Muskelmasse, keinen Einfluss auf die Serumkonzentration von Cystatin C (GRUBB, 1992; GRUBB et al., 1985; SIMONSEN et al., 1985).

Untersuchungen bei Katzen über Eignung und Aussagekraft von Cystatin C als Screening-Methode zur Feststellung einer erniedrigten GFR stehen bislang noch aus.

Weitere Veränderungen, die insbesondere bei fortgeschrittenen chronischen Nephropathien gefunden werden, sind eine normozytäre, normochrome, nicht-regenerative Anämie, metabolische Azidose, Hypokaliämie, Isosthenurie und ein erhöhter Parathormonspiegel (PTH). Diese sind jedoch nicht spezifisch für Nierenerkrankungen.

Ein Anstieg des Serum-Phosphatgehaltes ist im Verlauf einer CNI erst wesentlich später als der Anstieg der Serum-Creatinin- und -Harnstoff-Konzentration feststellbar (CHEW und DIBARTOLA, 2000b).

### **Harnuntersuchung**

Die Fähigkeit, den Harn zu konzentrieren, ist von dem Vorhandensein einer ausreichenden Anzahl funktionierender Nephrone abhängig. Nimmt diese ab, so kommt es zu einer Isosthenurie, d. h. die Dichte des Harns beträgt nur noch zwischen 1.008 und 1.012 g/l und nähert sich damit den Werten im Plasma an.

Bleibt die Harnkonzentration unabhängig vom Hydratationszustand des Tieres in diesem Bereich fixiert, so sind nicht mehr genügend Nephrone zur Harnkonzentrierung fähig (SCHWENDENWEIN, 1989).

Da Katzen den Urin sehr stark konzentrieren können (OSBORNE et al., 1981), bleibt die Harnkonzentrierungsfähigkeit häufig bis zu dem Grad des Verlustes der Nierenfunktionen erhalten, bei dem auch eine Azotämie auftritt (ROSS und FINCO, 1981). LULICH et al. (1992) schlugen aus diesem Grund vor, eine Dichte von mehr als 1.040 g/l als normal zu bezeichnen, da auch bei Katzen, bei denen experimentell  $\frac{5}{6}$  der Nierenmasse ausgeschaltet wurden, ein Wert von 1.035 g/l häufig noch erreicht wurde.

Eine weitere Methode zur Überprüfung der Nierenfunktionen ist der sog. Harnkonzentrierungsversuch. Hierbei wird dem Tier über einen definierten Zeitraum das Trinkwasser entzogen und so die Fähigkeit der Nieren, den Harn zu konzentrieren, getestet. Nachteile dieser diagnostischen Methode bestehen darin, dass zum einen das Harnkonzentrierungsvermögen erst eingeschränkt ist, wenn mehr als ca.  $\frac{2}{3}$  des funktionalen Nierengewebes verloren gegangen sind (DIBARTOLA, 1995). Zum anderen besteht die Gefahr, durch diesen Versuch eine bereits vorgeschädigte Niere weiter zu schädigen (HALLER et al., 1998). Die Dehydratation eines azotämischen Patienten kann eine urämische Krise verursachen (FINCO, 1995b).

Weiterhin ist ein Verlust der Harnkonzentrierungsfähigkeit nicht spezifisch für ein generalisiertes Nierenversagen, sondern tritt auch auf, wenn das Ansprechen der Tubuli auf das antidiuretische Hormon (ADH) beeinträchtigt ist bzw. ein ADH-Mangel vorliegt (peripher bzw. zentraler *Diabetis insipidus*), die übrigen Funktionen aber voll erhalten sind (FINCO et al., 1982).

Proteinurien werden häufig bei Katzen mit CNI gefunden. Sie gelten als Anzeichen einer glomerulären Erkrankung und Dysfunktion (POLZIN et al., 1995). Andererseits muss eine Proteinurie nicht immer durch ein pathologisches Geschehen im Harntrakt bedingt sein. Proteinurien können bei hochgradiger körperlicher Anstrengung, Fieber etc. auftreten und verschwinden, sobald der Auslöser nicht mehr vorhanden ist. Bei hoch konzentriertem Urin sind kleine Mengen Protein im Harn der Katze physiologisch. Außerdem wird die Proteinmenge im Harn durch den Proteingehalt der Nahrung beeinflusst.

Eine renale Proteinurie kann zum einen durch eine Glomerulopathie, die eine erhöhte Permeabilität der Basalmembran bewirkt, zu Stande kommen. Diese tritt auf, sobald die tubuläre Reabsorptionskapazität überschritten wird. Aber auch Schädigungen des Tubulussystems können zu Proteinurien führen (SCHWENDENWEIN, 1989). Hiervon abzugrenzen sind Proteinurien nicht-renaler Genese, z. B. durch Entzündungen der ableitenden Harnwege.

Da keine Korrelation zwischen der Schwere einer Läsion und dem Grad der Proteinurie besteht (SCHWENDENWEIN, 1989) und eine Proteinurie nicht unbedingt renaler Genese sein muss, kann der Nachweis von Proteinen im Urin ein renales Geschehen nicht von einem extrarenalen Krankheitsprozess abgrenzen.

Durch die SDS-PAGE (Sodium-Dodecyl-Sulfat-Polyacrylamln-Gradientengel-Elektrophorese) werden im Harn vorhandene Proteine mittels eines Gradientengels nach ihrer Molekularmasse bzw. ihrer elektrischen Ladung aufgetrennt. Anhand dieses Proteinmusters kann bei Hunden und Menschen eine Differenzierung in Mikro- und Makroproteinurie erfolgen, die Aufschluss darüber gibt, ob es sich um eine glomeruläre oder tubulointerstitielle Funktionsbeeinträchtigung handelt. Bei Katzen wird diese Unterscheidung dadurch, dass auch im Harn gesunder Tiere Proteinbanden im makromolekularen Bereich vorkommen, erschwert (MEYER-LINDENBERG et al., 1997). Mittels der SDS-PAGE kann eine Nierenerkrankung festgestellt werden, ehe es zu einem Anstieg der Harnstoff- und Creatinin-Konzentration im Blutserum kommt, und die Erkrankung kann als glomerulär oder tubulointerstitiell lokalisiert werden. Es können jedoch keine Aussagen über den Schweregrad der Erkrankung, die genaue Nephropathieform und das Ausmaß des Funktionsverlustes getroffen werden (MEYER-LINDENBERG et al., 1996).

Die fraktionelle Exkretion (FE) von Elektrolyten beschreibt den relativen Anteil der filtrierten Substanzen, der im Anschluss an tubuläre Sekretions- und/oder Reabsorptionsprozesse im Urin ausgeschieden wird (ADAMS et al., 1991).

Gold-Standard zur Bestimmung der FE ist die Messung der Elektrolyte in 24(72) h-Urinproben. Diese Methode bedarf u. a. der Anwendung eines Stoffwechselläbfigs und der Messung der renalen Clearance und eignet sich daher nicht für den Routineeinsatz. Als Alternative kann die Bestimmung von Elektrolyt- und Creatininkonzentration in Serum und Urin zu nur einem Zeitpunkt herangezogen werden [1].

$$[1] \text{ FE} = ([\text{Elektrolyt}]_{\text{Urin}} / [\text{Elektrolyt}]_{\text{Serum}}) \cdot ([\text{Creatinin}]_{\text{Serum}} / [\text{Creatinin}]_{\text{Urin}})$$

Eine vergleichende Untersuchung beider Methoden kommt aber zu dem Schluss, dass die Berechnung der FE anhand jeweils einer zeitgleich gewonnenen Urin- und Blutprobe keine exakten Ergebnisse über die renale tubuläre Behandlung von Elektrolyten bei der Katze liefert und die wirkliche FE nur unzureichend widerspiegelt (FINCO et al., 1997). Bei allen untersuchten Elektrolyten (Calcium, Kalium, Natrium, Phosphat und Magnesium) stimmten die Ergebnisse aus nur 1 Blut- und Harnprobe nicht mit denen der FE-Berechnung anhand von 72 h-Urinproben überein.

Wird bei der Untersuchung des Harnsediments eine deutliche Erhöhung der Menge an Harnzylindern gefunden, so weist dies auf die Beteiligung der Tubuli an einem pathologischen Prozess hin. Allerdings ist die morphologische Beschaffenheit der Zylinder kein zuverlässiger Indikator für den Charakter der ursächlichen Noxe (SCHWENDENWEIN, 1989).

### **Ultraschall und Röntgen**

Mittels Ultraschall und Röntgen können anatomische Besonderheiten in Form und Lage sowie strukturelle Veränderungen des Parenchyms beurteilt werden. Jedoch können aus dem Vorhandensein von morphologischen Veränderungen keine Rückschlüsse auf die Funktion der Nieren gezogen werden (HÖCHEL et al., 2001a).

### **Szintigraphie**

Die Nierenszintigraphie ist eine nuklearmedizinische Nierenfunktionsuntersuchung, bei der nach intravenöser Injektion eines Radiopharmakons der zeitliche Verlauf des Radioaktivitätstransportes durch die Nieren mit Hilfe einer Gammakamera gemessen und über einen Computerbildschirm dargestellt wird.

Der große Vorteil dieser Methode besteht darin, dass eine seitengetrennte Beurteilung der Nierenfunktionen ermöglicht wird. Dies ist vor allem bei Katzen mit morphologischen Veränderungen (Nierenzysten, Hydronephrosen, Tumoren) von Bedeutung, die auf diese Weise funktionell beurteilt werden können (MEYER-LINDENBERG et al., 1996).

Bei der Diagnostik und Früherkennung einer in der Regel beidseitigen chronischen Niereninsuffizienz spielt dieses Verfahren eine untergeordnete Rolle (WESTHOFF et al., 1995). Die Durchführung bleibt auf Grund der notwendigen Ausstattung und des Umgangs mit radioaktiver Strahlung Kliniken und radiologischen Praxen vorbehalten (FINCO, 1995b).

### **Nierenbiopsie**

Die histologische Untersuchung von Nierenbiopsaten kann Aufschluss über Pathogenese und Ätiologie einer Nephropathie geben. Dies ist allerdings auch nur in frühen Phasen einer Nierenerkrankung möglich, da sich bei fortgeschrittenen Prozessen häufig ein einheitliches Bild mit Zunahme des Zellgehaltes und Verdickung der Basalmembran zeigt (SCHWENDENWEIN, 1989). Da in der Frühphase von chronischen Nierenerkrankungen auf Grund des Fehlens klinischer Symptome meist keine Indikation für eine Biopsie gegeben ist und wegen der mit dem Eingriff verbundenen Risiken, bleibt dieses Verfahren eher wissenschaftlichen Fragestellungen vorbehalten (SCHWENDENWEIN, 1989).

Chronische Nierenerkrankungen geringeren Ausmaßes sind also mit den aktuell gängigen Untersuchungsmethoden nicht erfassbar. Für eine frühzeitige Diagnose von Nephropathien ist es notwendig, auf speziellere und empfindlichere Untersuchungsmethoden zurückzugreifen (ROGERS et al., 1991)

Eine wichtige Methode, die Nierenfunktionen genauer zu bestimmen, besteht in einer Messung der GFR mittels der Clearance von Markersubstanzen (vgl. Kap. 2.3.2).

## **2.3 Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)**

### **2.3.1 Physiologische und pathologische Komponenten der GFR**

Die glomeruläre Filtration ist ein passiver Vorgang, bei dem infolge der Druckdifferenz zwischen der Glomerulumkapillare und dem Bowman'schen Raum eine große Flüssigkeitsmenge und alle niedermolekularen Solute durch die Membranen der Glo-

meruli filtriert werden (FROMM und HIERHOLZER, 2000; KRAFT, 1996). Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) ist definiert als das von allen Glomeruli pro Zeiteinheit filtrierte Flüssigkeitsvolumen (SILBERNAGL und DESPOPOULOS, 1991).

Im Verlauf des Tubulussystems werden durch Reabsorption diejenigen Stoffe zurückgewonnen, die vom Körper noch benötigt werden. Darüber hinaus werden Substanzen durch tubuläre Sekretion zusätzlich ins Tubuluslumen abgegeben.

Die GFR wird beeinflusst vom Blutvolumen, dem hydrostatischen Druck, dem kolloid-osmotischen Druck, von der Zahl der funktionsfähigen glomerulären Kapillaren, von deren Permeabilität, vom Druck des Niereninterstitiums und dem intratubulären hydrostatischen Druck. Sie lässt sich durch folgende Formel beschreiben [2]:

$$[2] \text{ GFR} = \underbrace{(P_{iv} - P_B) - (COP_{iv} - COP_B)}_{\text{Nettofiltrationsdruck (P}_f\text{)}} \cdot \underbrace{k \cdot F}_{\text{Ultrafiltrationskoeffizient (K}_f\text{)}}$$

$P_{iv}$ : hydrostatischer Druck intravaskulär

$P_B$ : hydrostatischer Druck im Bowman'schen Raum

$COP_{iv}$ : kolloidosmotischer Druck intravaskulär

$COP_B$ : kolloidosmotischer Druck im Bowman'schen Raum

$k$ : Effektive Permeabilität

$F$ : Filtrationsfläche

Durch temporäre oder permanente Veränderung eines oder mehrerer dieser Faktoren ändert sich die Menge des filtrierte Primärharns.

Die Höhe der beim gesunden Tier auftretenden GFR wird außerdem auch durch die Tierart mitbestimmt. So soll die GFR bei der Katze physiologischerweise niedriger als beim Hund sein (MEYER-LINDENBERG et al., 1996). Neben der Art nimmt weiterhin die Größe des Tieres Einfluss auf die Höhe der physiologischerweise auftretenden GFR (vgl. Kap. 2.3.2.3).

Die GFR hat eine hohe Aussagekraft bzgl. der Nierenfunktionen, da sie in direkter Relation zu dem noch vorhandenen funktionalen Nierengewebe steht (HALLER et al., 1998) und damit ein Maß für die Exkretionsleistung der Nieren darstellt (SCHWENDENWEIN, 1989).

### 2.3.2 Methoden zur Bestimmung der GFR

Die Bestimmung der GFR kann nicht direkt, sondern ausschließlich über die Messung der Clearance von endogenen und/oder exogenen Markersubstanzen erfolgen.



Die Clearance ist definiert als das Plasmavolumen, das in einem bestimmten Zeitintervall von einer Substanz befreit wird (FROMM und HIERHOLZER, 2000; SCHWENDENWEIN, 1989).

*Tabelle 2-2: Literaturangaben über Referenzwerte für verschiedene Clearance-Methoden bei der Katze.*

Literatur	Marker	Methode	n	GFR
Brown et al. (1996)	Inulin	R-CL nach Bolusapplikation	3	1,77 ± 0,27 ml/min/kg
	Creatinin			1,7 ± 0,29 ml/min/kg
Fettman et al. (1985)	[ <sup>14</sup> C]Inulin	P-CL nach Bolusapplikation	25	3,24 ± 0,14 ml/min/kg
Goy-Thollot et al. (2001)	Iohexol	P-CL nach Bolusapplikation	12	2,64 ± 0,75 ml/min/kg
				41,93 ± 11,22 ml/min/m <sup>2</sup>
Haller et al. (2001)	Inulin	P-CL nach Bolusapplikation	30	2,88 (2,07-3,69) ml/min/kg
				47,2 (35,9-58,59) ml/min/m <sup>2</sup>
Le Garrères et al. (2001)	Creatinin (exogen)	P-CL nach Bolusapplikation	5	2,1 ± 0,76 ml/min/kg
	Iohexol			1,6 ± 0,50 ml/min/kg
Meyer-Lindenberg et al. (1996)	Iohexol	P-CL nach Bolusapplikation	31	3,45 ± 1,0 ml/min/kg
Miyamoto (1997)	Inulin	P-CL nach Bolusapplikation	10	3,63 ± 0,67 ml/min/kg
	Creatinin (exogen)			4,24 ± 0,99 ml/min/kg
Osaldiston und Fuhrmann (1970)	Inulin	R-CL	35	3,83 ± 0,83 ml/min/kg
	Creatinin (endogen)			2,70 ± 1,12 ml/min/kg
Rogers et al. (1991)	Creatinin (exogen)	R-CL	6	2,56 ± 0,6 ml/min/kg
Ross und Finco (1981)	[ <sup>14</sup> C]Inulin	R-CL	8	3,51 ± 0,14 ml/min/kg
	Creatinin (exogen)		11	2,94 ± 0,32 ml/min/kg
Russo et al. (1986)	Creatinin (endogen)	R-CL <sub>24h</sub>	12	2,31 ± 0,47 ml/min/kg
	99m Tc-DTPA	P-CL		2,52 ± 0,58 ml/min/kg
Uribe et al. (1992)	Inulin	R-CL	6	2,64 ± 1,12 ml/min/kg
	Creatinin (endogen)	R-CL <sub>24h</sub>		1,81 ± 0,99 ml/min/kg

Zur Bestimmung der GFR werden grundsätzlich zwei verschiedene Verfahren der Clearancemessung unterschieden: die renale Clearance (R-CL, vgl. Kap. 2.3.2.1) und die Plasmaclearance (P-CL, vgl. Kap. 2.3.2.2). Bei beiden Methoden können verschiedene radioaktive und nicht-radioaktive Markersubstanzen zum Einsatz kommen, deren Eigenschaften, Vor- und Nachteile in Kap. 2.4 dargestellt werden.

Die Referenzbereiche verschiedener Clearancemethoden unterscheiden sich (Tabelle 2-2). Aus diesem Grund muss für jede Markersubstanz und für jedes Clearanceverfahren ein eigener Referenzbereich erarbeitet und für jedes Analysever-

fahren ein eigener Standard entwickelt werden (VAN DEN BROM und BIEWENGA, 1981).

### 2.3.2.1 Renale Clearance (R-CL)

Zur Bestimmung der klassischen renalen Clearance (R-CL) wird, nach vollständiger Verteilung einer Markersubstanz im Körper, die Menge der Markersubstanz, die im Urin ausgeschieden wird sowie die korrespondierende Serum- oder Plasmakonzentration der Substanz bestimmt (HEIENE und MOE, 1998). Die Clearance errechnet sich nach der Formel:

$$[3] \text{ R-CL} = \frac{V_{tU} \cdot C_{Urin}}{C_{Serum}}$$

$V_{tU}$ : Harnzeitvolumen in ml/min

$C_{Urin}$ : Konzentration der Markersubstanz im Urin

$C_{Serum}$ : Konzentration der Markersubstanz im Serum/Plasma

Es werden mehrere Bestimmungen in aufeinander folgenden Sammelperioden durchgeführt, und die Clearance wird als Mittelwert aller Messungen berechnet.

Für die Durchführung der Bestimmung der R-CL sind eine Dauertropfinfusion mit der Markersubstanz (bei Durchführung einer exogenen Clearance, s. u.) sowie die Katheterisierung der Harnblase zur Bestimmung der Urinmenge pro Zeiteinheit und der Konzentration der Markersubstanz im Urin notwendig.

Durch Verabreichung der Dauertropfinfusion werden Einflüsse durch unterschiedliche Hydratationszustände minimiert. TABARU et al. (1993) konnten in einer Studie an Hunden nachweisen, dass eine Dehydratation einen signifikanten Abfall der Clearancewerte gegenüber den Werten euhydratisierter Tiere zur Folge hatte. Die Autoren zogen aus dieser Studie den Schluss, dass auch subklinische Dehydratationszustände das Ergebnis einer Clearancemessung beeinflussen können. Darüber hinaus waren die Clearancewerte bei Euhydratation signifikant niedriger als Werte nach einmaliger Gabe von 30 ml Wasser/kg KM an euhydratisierte Tiere.

Als Markersubstanzen für die Bestimmung der R-CL können zum einen endogene Stoffe verwendet werden (endogene Clearance, z. B. Creatinin, Cystatin C) oder aber Marker, die von außen zugeführt werden (exogene Clearance, z. B. Iohexol, Inulin, Creatinin).

Die Messung der R-CL von endogenem Creatinin erfordert ein Sammeln des gesamten produzierten Urins über 12-24 h. Dies ist nur mit Hilfe eines Stoffwechsellkäfigs zu realisieren (HALLER et al., 1998), was die Anwendung in der Routinediagnostik aus-

schließt. Die bei der Laborbestimmung von Creatinin auftretenden Ungenauigkeiten durch die Mitbestimmung sog. Nicht-Creatinin-Chromogene (vgl. Kap. 2.4.2) kommt bei dieser Methode auf Grund der geringeren Creatinin-Konzentrationen mehr zum Tragen, als dies bei Clearancebestimmungen nach Applikation von exogenem Creatinin der Fall ist (FINCO et al., 1991; REDER und HARTMANN, 1994).

Die R-CL des Markers Inulin gilt als Gold-Standard zur Bestimmung der GFR (FINCO et al., 1991). Dazu wird dem Patienten Inulin mittels Dauertropf appliziert. Nach Abschluss der Verteilungsphase werden mehrere Harnsammelperioden von 20-30 Minuten Dauer durchgeführt. Jeweils am Anfang und am Ende der Sammelperiode wird eine Blutprobe entnommen und die Serum-Konzentration des Inulins als Mittelwert der beiden Proben berechnet.

Eine Vereinfachung des Procederes der Bestimmung der R-CL stellt die von SCHWENDENWEIN (1989) vorgeschlagene Methode der Kurzzeitclearancebestimmung dar. Bei dieser wird die Harnblase vollständig entleert. Nach 10 Minuten wird eine Blutprobe entnommen, und die Harnblase wird nach 20 Minuten abermals vollständig entleert.

Eine ähnliche Methode wurde bei Hunden angewandt, indem 60 und 80 Minuten nach s. c. Applikation einer Creatinin-Lösung Blutproben entnommen wurden und der in diesem Zeitraum produzierte Harn mittels eines Katheters vollständig gewonnen wurde (FINCO et al., 1982).

Nachteile dieser vereinfachten Methoden sind die zahlreichen Fehlerquellen (ungegenaue Bestimmung des Harnvolumens sowie zirkadiane Schwankungen werden nicht berücksichtigt), die auf Grund der nur einmaligen Messung wesentlich mehr zum Tragen kommen als bei der klassischen R-CL.

Nachteile der R-CL sind der hohe zeitliche Aufwand, die Schwierigkeit der Katheterisierung – insbesondere bei Katzen – sowie das Risiko einer Harnwegsinfektion (HALLER et al., 1998; HEIENE und MOE, 1998; LE GARRÉRÈS et al., 2001). Diese Manipulationen sind bei Katzen kaum ohne Sedation/Narkose durchführbar, so dass das Risiko einer Narkose – insbesondere bei Tieren mit bereits stark geschädigten Nieren – zusätzlich bedacht werden muss. Ein weiteres Problem besteht darin, dass bei Oligurie Methoden, die ein Sammeln des Urins erfordern, unzuverlässig sind (HALL et al., 1977). Auch bei ausreichender Harnproduktion ist es schwierig sicherzustellen, dass die Entleerung der Harnblase mittels des Katheters vollständig erfolgt. Verbleibender Restharn führt zu einer Unterschätzung der wahren GFR

(HEIENE und MOE, 1998). Insgesamt lassen die Nachteile die Anwendung dieser Methode in der klinischen Praxis als nicht durchführbar erscheinen (BROWN et al., 1996b).

### 2.3.2.2 Plasmaclearance (P-CL)

Obwohl unter dem Begriff Clearance *per definitionem* Plasmaclearance zu verstehen ist (vgl. Kap. 2.3.2 und ROWLAND und TUCKER, 1986), wird zur deutlicheren Abgrenzung gegenüber der R-CL die Plasmaclearance im Folgenden mit P-CL bezeichnet.

Zur Bestimmung der P-CL einer Markersubstanz wird nach einer einmaligen Injektion die Konzentration dieser Substanz im Plasma in bestimmten Zeitabständen gemessen. Das Sammeln von Harnproben entfällt vollständig. Die Plasmaclearance ist gleich der verabreichten Dosis der Markersubstanz geteilt durch die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (Ausscheidungskurve) [4].

$$[4] \text{ P-CL} = \frac{D}{\text{AUC}}$$

D: Dosis der Markersubstanz

AUC: Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve

Durch Bestimmung der Markerkonzentration in einer ausreichenden Anzahl von Blutproben ergibt sich das in Abbildung 2-5 dargestellte Ausscheidungsprofil. Wird die Plasmakonzentration logarithmisch gegenüber der Zeit aufgetragen, so ist der Abfall der Plasmakonzentration nach Ende der Verteilungsphase linear (FINCO, 1995b). Diese Phase wird als terminale oder monoexponentielle Phase bezeichnet (HEIENE und MOE, 1998).

Je geringer die Ausscheidungsleistung der Nieren ist, desto langsamer erfolgt die Elimination des Markers und desto flacher verläuft die Konzentrations-Zeit-Kurve.

Die Größe der AUC kann anhand verschiedener pharmakokinetischer Modelle oder Modell-freier Verfahren berechnet werden (vgl. Kap. 2.3.2.3). Um eine möglichst hohe Genauigkeit der Bestimmung der Größe der AUC zu erzielen, muss abhängig von dem gewählten Verfahren und der Markersubstanz eine jeweils geeignete Berechnungsmethode gewählt werden (HEIENE und MOE, 1998).

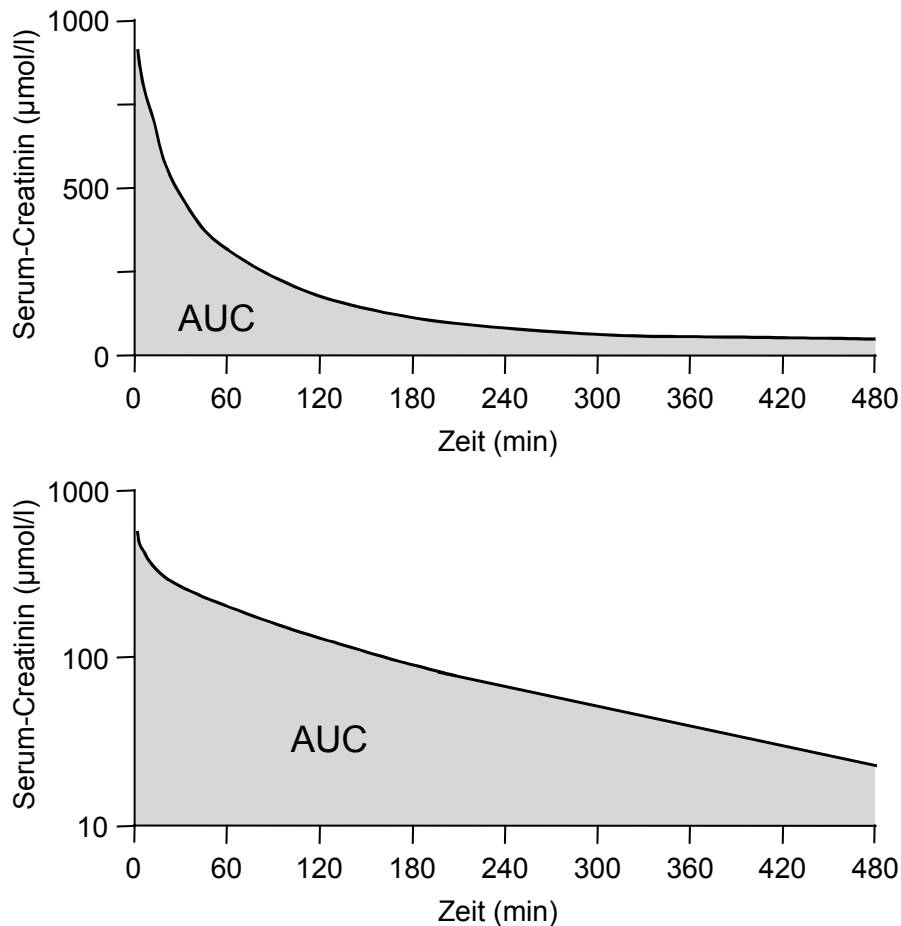


Abbildung 2-5: Konzentrations-Zeit-Kurve nach einmaliger Applikation einer Markersubstanz. Ordinate in linearer (oben) und logarithmischer Skalierung (unten).

Entspricht die Markersubstanz den in Kap. 2.4.1 genannten Anforderungen und erfolgt die Berechnung der AUC anhand eines adäquaten pharmakokinetischen Modells, so entspricht die P-CL weitgehend der R-CL (HEIENE und MOE, 1998; WATSON et al., 2002).

Wird der Verlauf der Konzentrations-Zeit-Kurve vom Zeitpunkt der Applikation des Markers bis zu dem Zeitpunkt, zu dem seine Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze liegt (bzw. sich bei der exogenen Creatinin-Clearance der Konzentration des endogenen Creatinins annähert), berechnet, so wird dies als  $P-CL_{\text{gesamt}}$  bezeichnet.

Der Vorteil der  $P-CL_{\text{gesamt}}$  gegenüber der R-CL besteht darin, dass keine Dauertropfinfusion mit der Markersubstanz und vor allem keine Gewinnung von Urinproben notwendig sind (REDER und HARTMANN, 1994).

Um den Verlauf der Konzentrations-Zeit-Kurve möglichst genau bestimmen zu können, ist die Entnahme vieler (i. d. R. 6-12) Blutproben insbesondere am Anfang der

Ausscheidungskurve notwendig. Dies schränkt die Anwendbarkeit der  $P\text{-CL}_{\text{gesamt}}$  in der klinischen Praxis, insbesondere bei Katzen, stark ein.

Aus diesem Grund sind einige Verfahren entwickelt worden, die trotz Entnahme einer geringeren Anzahl von Blutproben eine Beurteilung der GFR erlauben sollen:

Der Vergleich der  $P\text{-CL}_{\text{gesamt}}$  des Markers Inulin nach Bolusapplikation bei Menschen anhand von 2 Blutproben innerhalb der Verteilungsphase und 4 weiteren während der Elimination des Markers ergab eine enge Korrelation mit der R-CL (FLORIJN et al., 1994). Die Werte der P-CL waren aber konstant höher als die mittels R-CL ermittelte GFR.

Es liegen eine Vielzahl von Untersuchungen mit unterschiedlich stark reduzierter Probenanzahl bei Menschen (z. B. BROWN und O'REILLY, 1991; BRØCHNER-MORTENSEN und RØDBRO, 1976; STAKE et al., 1991a), Hunden (z. B. GLEADHILL et al., 1995; WATSON et al., 2002) und auch bei Pferden (GLEADHILL et al., 1999) vor.

Eine Reduzierung der Anzahl der Blutproben nach Applikation eines Markers geht mit einer Erhöhung des dadurch verursachten Fehlers im Vergleich zur  $P\text{-CL}_{\text{gesamt}}$  einher (WATSON et al., 2002).

Wichtig ist, dass – wenn die GFR nur anhand weniger Proben bestimmt werden soll – erst dann mit der Entnahme der Proben begonnen wird, wenn die terminale, monoexponentielle Phase erreicht ist (HEIENE und MOE, 1998). So können Abweichungen der Clearancewerte, die sich durch eine Reduzierung der Probenanzahl ergeben, zumindest zum Teil mit zu frühen Entnahmezeitpunkten erklärt werden. In einer Studie bei Menschen wurden nach Gabe von Iohexol die Proben 1, 1,5 und 2 h *p. appl.* entnommen (GASPARI et al., 1995), was zu deutlichen Abweichungen gegenüber den Clearancewerten anhand von 6 Proben führte.

In einer Untersuchung an Hunden und Katzen von BARTHEZ et al. (2000) war der Fehler durch die Reduzierung von 12 auf 4 Blutproben zur Berechnung der P-CL klein. Auch in einer Studie an Hunden ergab sich durch eine Reduktion der Anzahl der Blutproben von 6 auf 3 keine Abschwächung der Korrelation zwischen der  $P\text{-CL}_{\text{gesamt}}$  und den vereinfachten Methoden (GLEADHILL et al., 1995).

Die Berechnung der P-CL anhand von 2 Blutproben ist bei Katzen mittels eines jodhaltigen Kontrastmittels (Iohexol, vgl. Kap. 2.4.4) untersucht worden. Nach einmaliger *i. v.* Injektion des Markers wurden nach 2,5 und 4 h bzw. bei urämischen Patienten nach 3 und 5 h Blutproben entnommen. Mittels eines sog. Renalyzers kann an-

hand des Konzentrationsabfalls des Markers nach dem Ein-Kompartiment-Modell (vgl. Kap. 2.3.2.3) die GFR berechnet werden (MEYER-LINDENBERG et al., 1996, 1998). Der Renalyzer ermöglichte bei Katzen eine zuverlässige Messung der GFR, wobei aber der errechnete Wert die tatsächliche Clearance überschätzte und deshalb mit einem empirisch ermittelten Faktor korrigiert wurde. Bei urämischen Katzen, deren GFR unter 1 ml/min betrug, war auf Grund der Messungengenauigkeit des Gerätes eine exakte Bestimmung der Clearance nicht möglich.

Die stärkste mögliche Vereinfachung zur Bestimmung der P-CL ist die Ermittlung der Clearance anhand von nur einer Blutprobe nach Applikation einer Markersubstanz. Hierzu liegen Untersuchungen mit verschiedenen Markersubstanzen vor:

In einer Studie an Hunden wurde eine zwar enge, aber nicht lineare Korrelation zwischen der R-CL und der P-CL anhand der Bestimmung einer Blutprobe, die 75 Minuten *p. appl.* von 1000 mg Inulin pro Tier entnommen wurde, ermittelt (BROWN, 1994). Da die Inulin-Dosierung pro Tier erfolgte, wurde die höhere Metabolisierungsrate und damit die höhere GFR bei kleinen Tieren außer Acht gelassen. Es ist aber notwendig, die Dosierung des Markers auf eine einheitliche Größe zu beziehen (vgl. Kap. 2.3.2.3), um die ermittelten Werte miteinander bzw. mit einem zu bildenden Referenzbereich vergleichen zu können (HALLER et al., 1998).

Nach *i. v.* Applikation von 3000 mg Sinistrin/m<sup>2</sup> KOF wurde bei Hunden nach 120 Minuten (HALLER et al., 1998) und bei Katzen nach 180 Minuten (HALLER et al., 2001) eine Blutprobe entnommen. Dieser Wert kann bei Hunden, deren Serum-Creatinin-Wert sich noch im Normbereich befindet, die aber bereits Polyurie (PU)/Polydipsie (PD) zeigen, als Screening-Test zur Feststellung einer Funktionseinschränkung der Nieren dienen. Auch bei Katzen wird diese Methode als geeignet beschrieben, um eine Nierenfunktionsstörung bereits zu einem frühen Zeitpunkt zu erkennen.

Zum Zeitpunkt 120 Minuten nach Applikation von 88 mg Creatinin/kg KM wiesen 95 % der untersuchten gesunden, erwachsenen Hunde einen Serum-Creatinin-Wert von unter 460 µmol/l auf (LABATO und ROSS, 1991). Ein höherer Wert deutet darauf hin, dass eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion vorliegt und dass eine genaue Messung der GFR angezeigt ist. Bei Tieren mit nachgewiesener oder vermuteter Niereninsuffizienz lag der Wert nie unter 530 µmol/l.

Ebenfalls anhand der Applikation von exogenem Creatinin (80 mg/kg KM) wurde von WATSON et al. (2002) ein Screening-Test entwickelt. Von einer in einem bestimmten

Zeitraum *p. appl.* entnommenen Blutprobe wurde der basale Creatinin-Wert subtrahiert, und der errechnete Wert wurde mit den anhand einer Referenzpopulation gewonnenen Werten verglichen.

Problematisch bei der Bestimmung der GFR mittels nur einer Blutprobe ist, dass die Verteilung des Markers im Körper zum Zeitpunkt der Probenentnahme vollständig abgeschlossen sein muss, damit der Messwert ausschließlich durch die renale Elimination bestimmt wird (HEIENE und MOE, 1998). Durch unterschiedlich schnelle Verteilungsvorgänge bei voneinander abweichenden Hydratationszuständen oder verzögerter Verteilung auf Grund reduzierter GFR kann es zu einer starken Verfälschung der ermittelten Werte kommen. Im Unterschied zu dem Ausscheidungsprofil nach Entnahme mehrerer Proben, anhand dessen der Zeitpunkt, an dem die Verteilungsvorgänge abgeschlossen sind, deutlicher zu ersehen ist, können solche Abweichungen bei Entnahme von nur einer Probe nicht beurteilt werden.

Bei Menschen konnte nachgewiesen werden, dass Änderungen des Verteilungsvolumens um 50 % keine Fehler von klinischer Relevanz verursacht haben. Dies war allerdings nicht der Fall bei sehr hohen oder stark eingeschränkten Nierenfunktionen (STAKE et al., 1991a).

Eine vergleichende Untersuchung der  $P-CL_{\text{gesamt}}$  (12 Proben *p. appl.* von  $^{99m}\text{Tc}$ -pentetat, Berechnung nach dem 2-Kompartiment-Modell) mit zwei vereinfachten Verfahren bei Hunden und Katzen ergab, dass die Ergebnisse bei Entnahme von 2 Proben besser mit der  $P-CL_{\text{gesamt}}$  übereinstimmen als die Berechnung nach Entnahme von nur 1 Probe (BARTHEZ et al., 2001). Dabei sind die optimalen Entnahmezeitpunkte sowohl von der Tierart als auch von dem verwendeten Marker abhängig. Bedeutsame Fehler entstehen, wenn der Marker versehentlich *s. c.* statt *i. v.* appliziert wird. Die korrekte Applikation des Markers zeigt sich bei Bestimmung einer Reihe von Proben anhand der Form der Ausscheidungskurve. Diese Kontrolle ist bei Entnahme von nur 1 oder 2 Proben nicht möglich.

Neben Änderungen im Verteilungsvolumen spielt auch der korrekte Zeitpunkt der Probenentnahme eine Rolle. Dieser ist um so wichtiger, je niedriger die GFR ist. Die zu frühe Entnahme der Probe stellt eine große Fehlerquelle dar (STAKE et al., 1991b).



### 2.3.2.3 Pharmakokinetische Verfahren und Modelle zur Berechnung der AUC

Zur Bestimmung der AUC ist es notwendig, entweder den Verlauf der Konzentrations-Zeit-Kurve anhand vieler Proben möglichst genau zu erfassen oder den Verlauf anhand einer reduzierten Probenanzahl zu berechnen. Zu diesem Zweck stehen verschiedene pharmakokinetische Modelle zur Verfügung. Diese beschreiben die Verteilung nach Applikation des Markers aus einem zentralen Kompartiment (Intravasalraum) in den Extravasalraum sowie die weitere Verteilung in den Extrazellular- und evtl. auch in den Intrazellularraum.

Welches Modell für die Beschreibung der Ausscheidungs- und Verteilungsvorgänge eines Pharmakons zu wählen ist, hängt zum einen von der Pharmakokinetik der gewählten Markersubstanz ab und zum anderen davon, inwieweit die Daten der Ausscheidungskurve zu einem Modell passen.

#### Pharmakokinetische Parameter

Neben der Clearance wird die Pharmakokinetik einer Substanz u. a. von ihrem Verteilungsvolumen ( $V_d$ ), der Eliminationshalbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) sowie der Eliminationskonstanten ( $k$ ) bestimmt. Die Clearance und das Verteilungsvolumen werden als primäre pharmakokinetische Parameter bezeichnet, da sie voneinander unabhängig sind und ausschließlich von physiologischen Variablen bestimmt werden.  $t_{1/2}$  und  $k$  werden als sekundäre physiologische Parameter bezeichnet, da diese sich bei Veränderungen von CL und  $V_d$  ebenfalls ändern (HEIENE und MOE, 1998).

Das Verteilungsvolumen stellt einen Proportionalitätsfaktor zwischen der im Organismus befindlichen Menge ( $M$ ) und der Plasmakonzentration ( $c$ ) einer Substanz dar (FORTH et al., 1992).

$$[5] M = c \cdot V$$

Dabei entspricht das errechnete Verteilungsvolumen nur in wenigen Fällen einem realen Raum im Organismus (ATKINSON et al., 1991). Dies ist nur dann der Fall, wenn die Markersubstanz nicht an Plasma- und/oder Gewebeproteine gebunden wird (FORTH et al., 1992). Da diese Bedingung für Markersubstanzen zur Bestimmung der GFR erfüllt sein muss (vgl. Kap. 2.4.1), entspricht das Verteilungsvolumen der meisten Markersubstanzen annähernd dem extrazellulären Flüssigkeitsvolumen (HEIENE und MOE, 1998).

## Pharmakokinetische Verfahren und Modelle

Es existieren verschiedene Verfahren und Modelle, anhand derer sich die Verteilung und Ausscheidung von Stoffen im und aus dem Organismus beschreiben lässt. Dabei ist prinzipiell zwischen Kompartiment-Modellen und Nicht-Kompartiment-Verfahren zu unterscheiden.

Die **Nicht-Kompartiment-Analyse** ist eine Modell-unabhängige Methode zur Berechnung der AUC (GILLESPIE, 1991), bei der ausschließlich die Daten der Konzentrations-Zeit-Kurve der Markersubstanz benötigt werden (MARTINEZ, 1998a). Die AUC wird in einzelne Trapeze unterteilt (Abbildung 2-6), deren Flächen nach der trapezoidalen Rechenregel ermittelt und dann addiert werden. Dabei ist bei Substanzen, deren Ausscheidung einer Exponentialfunktion folgt, die logarithmisch trapezoidale Rechenregel [6] der linearen trapezoidalen Rechenregel [7] vorzuziehen (HEIENE und MOE, 1998).

$$[6] \text{ AUC} = \sum_{t=0}^{t=\infty} (t_{i+1} - t_i) \cdot \left( \frac{C_{t_i} + C_{t_{i+1}}}{2} \right)$$

$$[7] \text{ AUC} = \sum_{t=0}^{t=\infty} \frac{(C_{t_i} - C_{t_{i+1}}) \cdot (t_{i+1} - t_i)}{\text{Ln} \frac{C_{t_i}}{C_{t_{i+1}}}}$$

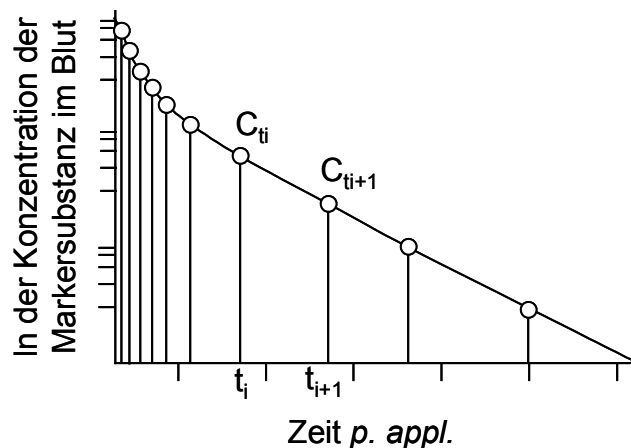


Abbildung 2-6: Ermittlung der AUC mittels Nicht-Kompartiment-Analyse. Die AUC wird als Summe der Flächen der einzelnen Trapeze berechnet. Ordinate in logarithmischer Skalierung

Obwohl es sich um ein Modell-unabhängiges Verfahren handelt, werden bestimmte Annahmen, wie eine konstante Clearancerate zwischen den einzelnen Messzeitpunkten und eine monoexponentielle Ausscheidung des Stoffes in der terminalen

Phase, vorausgesetzt (GILLESPIE, 1991; HALL et al., 1977). Auf Annahmen gründet sich auch die Berechnung der AUC vor dem ersten ( $AUC_{(0-t_1)}$ ) und nach dem letzten ( $AUC_{(t_{last}-\infty)}$ ) Messzeitpunkt. Zur Berechnung der  $AUC_{(0-t_1)}$  werden meist die Konzentrationen  $C_1$  und  $C_2$  zu  $C_0$  linear extrapoliert. Die Berechnung der  $AUC_{(t_{last}-\infty)}$  erfolgt nach der Formel:

$$[8] AUC_{(t_{last}-\infty)} = \frac{C_{t_{last}}}{\beta}$$

$\beta$ : Exponent in der terminalen Phase der Ausscheidung des Markers

Von Vorteil ist, dass die Anzahl der theoretisch vorhandenen Kompartimente nicht definiert werden muss (HEIENE und MOE, 1998) und dass nicht zu beachten ist, wann sich ein Gleichgewicht zwischen den verschiedenen Kompartimenten eingestellt hat (HALL et al., 1977).

Nachteilig ist, dass eine große Anzahl von Proben benötigt wird, wobei genügend Proben in der frühen Phase der Ausscheidung entnommen werden müssen. Außerdem sind die Probenentnahmen fortzusetzen, bis der größte Anteil der Markersubstanz eliminiert bzw. der monoexponentielle Teil der Ausscheidungskurve erreicht ist (HALL et al., 1977; HEIENE und MOE, 1998).

Kompartimentmodelle unterteilen den Körper in einzelne voneinander getrennte Abschnitte (HEIENE und MOE, 1998). Bei diesen Kompartimenten handelt es sich um abstrakte mathematische Größen, die in der Regel keine physiologische Entsprechung haben (GILLESPIE, 1991). Eine exogen zugegebene Substanz verteilt sich in den verschiedenen Kompartimenten, wird aber ausschließlich aus dem zentralen Kompartiment eliminiert.

Die Konzentrations-Zeit-Kurve wird als Summe mehrerer e-Funktionen ( $n=1, 2, 3...x$ ) beschrieben. Je mehr Funktionen in einem Modell verwendet werden, desto besser ist die Anpassung an die tatsächlichen Messwerte. Diesen Modellen liegen bestimmte Annahmen die Verteilung und Ausscheidung der Markersubstanz betreffend zu Grunde.

Dem **Drei-Kompartiment-Modell** liegt die Annahme zu Grunde, dass ein Marker mit der Geschwindigkeit  $k_a$  in das zentrale Kompartiment aufgenommen und von diesem aus weiter in ein peripheres Kompartiment verteilt wird. Anschließend erfolgen noch weitere Verteilungsvorgänge in ein sog. tiefes Kompartiment (Abbildung 2-7). Gleich-

zeitig mit der Verteilung der Substanz in die verschiedenen Kompartimente beginnt die Elimination mit der Geschwindigkeit  $k_{el}$ .

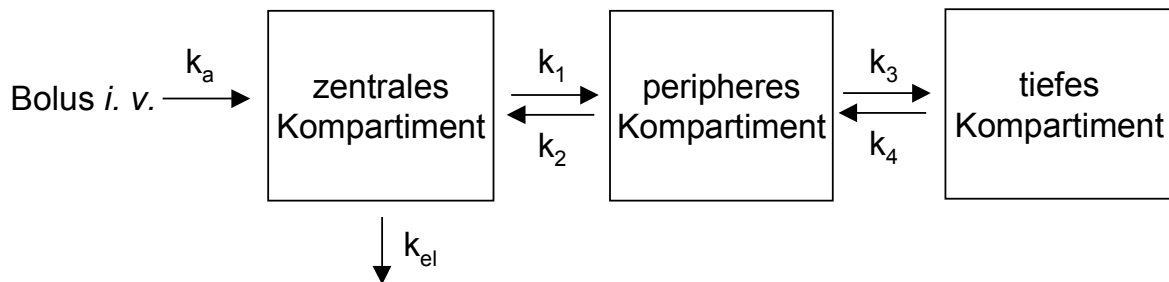


Abbildung 2-7: Verteilung einer Markersubstanz nach dem Drei-Kompartiment-Modell.

Der Konzentrationsverlauf im zentralen Kompartiment lässt sich durch folgende Gleichung darstellen:

$$[9] C_t = A_1 \cdot e^{-\alpha_1 \cdot t} + A_2 \cdot e^{-\alpha_2 \cdot t} + B \cdot e^{-\beta \cdot t}$$

$C_t$ : Konzentration des Markers im Serum zum Zeitpunkt  $t$

Nach diesem Modell ist die Verteilungsphase zweigeteilt. Der erste Term stellt die Verteilungsvorgänge in das periphere Kompartiment und der zweite die Verteilungsvorgänge in das tiefe Kompartiment dar. Term 3 beschreibt die Ausscheidung des Markers (Abbildung 2-8).

Die AUC ist nach Gleichung [10] zu berechnen:

$$[10] AUC = \frac{A_1}{\alpha_1} + \frac{A_2}{\alpha_2} + \frac{B}{\beta} \quad (\text{vgl. Kap. 3.4.1.2, Formel [36]})$$

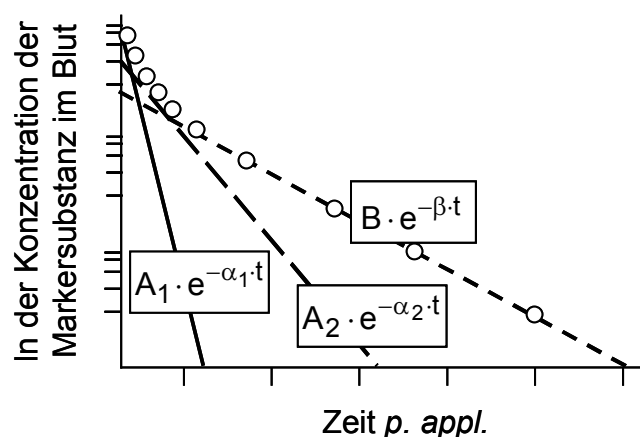


Abbildung 2-8: Ermittlung der Konzentrations-Zeit-Kurve nach dem Drei-Kompartiment-Modell. Ordinate in logarithmischer Skalierung. Die Punkte stellen die tatsächlich gemessenen Werte dar.

Dieses Modell stellt ebenso wie Multi-Kompartiment-Modelle eine weitere Annäherung an die tatsächlich stattfindenden Verteilungsvorgänge dar.

Analog zum Drei-Kompartiment-Modell gelangt beim **Zwei-Kompartiment-Modell** ein Stoff mit der Geschwindigkeit  $k_a$  in das zentrale Kompartiment. Aus diesem verteilt er sich in andere Körperreaktionsräume (peripheres Kompartiment). Noch während die Verteilung andauert, beginnt bereits die Elimination der Substanz, die mit der Eliminationsgeschwindigkeit  $k_{el}$  aus dem zentralen Kompartiment ausgeschieden wird (Abbildung 2-9). Je größer der Umfang ist, in dem ein Stoff in das periphere Kompartiment gelangt, desto kleiner ist sein Anteil, der im Blut zirkuliert und ausgeschieden werden kann. Je größer also das Verteilungsvolumen eines Stoffes ist, desto länger ist die Eliminationshalbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) (MARTINEZ, 1998b). Der Zeitraum der Verteilungsphase ist abhängig von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der verwendeten Markersubstanz.

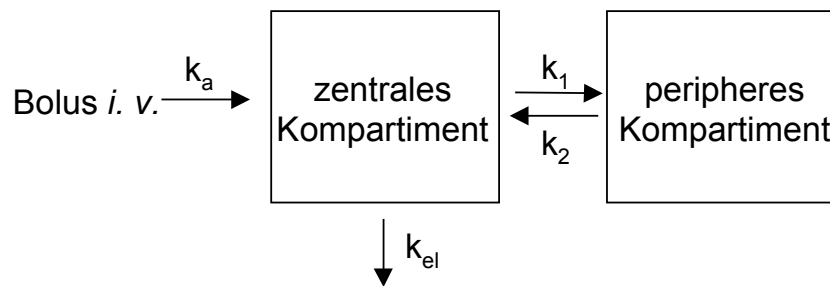


Abbildung 2-9: Zwei-Kompartiment-Modell: Der Marker gelangt über i. v. Applikation in den Körper, wird von dort in ein peripheres Kompartiment verteilt und mit der Eliminationsgeschwindigkeit  $k_{el}$  ausgeschieden.

Der Konzentrationsverlauf im zentralen Kompartiment kann durch eine biexponentielle Gleichung beschrieben werden (FORTH et al., 1992):

$$[11] C_t = A \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B \cdot e^{-\beta \cdot t}$$

Der erste Term der Gleichung beschreibt die Verteilungsphase des Markers zwischen zentralem und peripherem Kompartiment ( $\alpha$ -Phase), der zweite Term stellt die Ausscheidung des Markers dar ( $\beta$ -Phase) (HEIENE und MOE, 1998). Die Ausscheidung des Markers beginnt bereits während der  $\alpha$ -Phase. Das  $\alpha$  ist die Verteilungskonstante der Verteilungsphase und  $\beta$  die Verteilungskonstante der Eliminationsphase. Die semilogarithmische Darstellung lässt erkennen, zu welchem Zeitpunkt  $p$ . appl. die Verteilungsphase abgeschlossen ist (Abbildung 2-10).

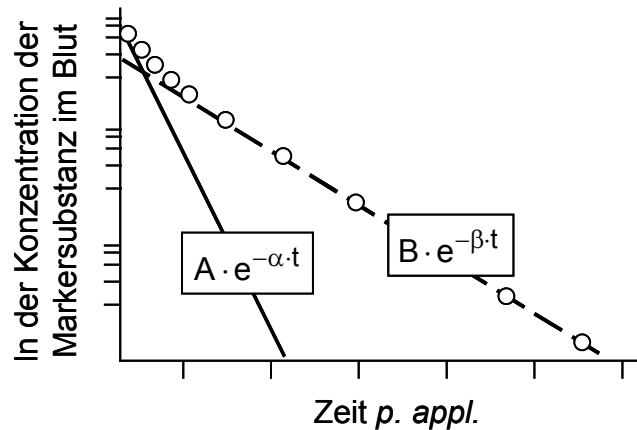


Abbildung 2-10: Ausscheidungskurve zum Zwei-Kompartiment-Modell in semi-logarithmischer Darstellung. Die Punkte stellen den tatsächlichen Verlauf der Ausscheidung des Markers dar.

Die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve errechnet sich nach Formel [12].

$$[12] \text{ AUC} = \frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta}$$

Das Zwei-Kompartiment-Modell stellt für die meisten Substanzen eine starke Vereinfachung gegenüber den tatsächlichen Verteilungsvorgängen dar (GILLESPIE, 1991). HALL et al. (1977) konnten in Untersuchungen an Hunden nachweisen, dass Veränderungen des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens starke Schwankungen in den Ergebnissen der GFR-Berechnung nach dem Zwei-Kompartiment-Modell ergeben. Dennoch konnte in einigen Studien für Creatinin und Tc-DTPA gezeigt werden, dass dieses Modell gut zu den gewonnenen Messwerten passt (MOE und HEIENE, 1995; PETERS, 1991; POWERS et al., 1981; SAPIRSTEIN et al., 1955).

Das einfachste Modell ist das **Ein-Kompartiment-Modell** (Abbildung 2-11). Der Körper besteht aus einem einzigen Kompartiment, in dem sich die injizierte Dosis (D) unmittelbar im gesamten Verteilungsvolumen (V) verteilt (FORTH et al., 1992). Die Elimination einer Markersubstanz lässt sich nach diesem Modell als monoexponentielle Ausscheidungskurve darstellen (HEIENE und MOE, 1998). Diese wird in semilogarithmischer Darstellung zu einer Geraden (Abbildung 2-12). Die Exponentialfunktion der Konzentrations-Zeit-Kurve lautet:

$$[13] C_t = A \cdot e^{-\alpha \cdot t}$$

Die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) lässt sich demnach folgendermaßen berechnen:

$$[14] \text{ AUC} = \frac{A}{\alpha}$$

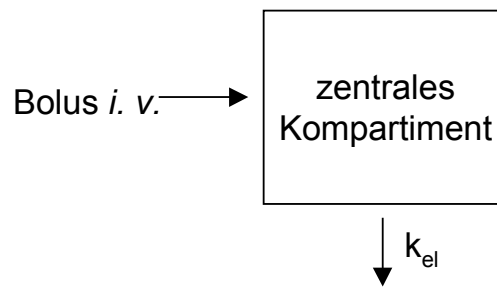


Abbildung 2-11: Ein-Kompartiment-Modell: Der Marker gelangt über i. v. Applikation in den Körper und wird mit der Eliminationsgeschwindigkeit  $k_{el}$  wieder ausgeschieden.

Die Markersubstanz wird mit der Eliminationsgeschwindigkeit  $k_{el}$  aus dem Verteilungsraum eliminiert. Dieses Modell stellt eine starke Vereinfachung der physiologischen Gegebenheiten im Organismus dar.

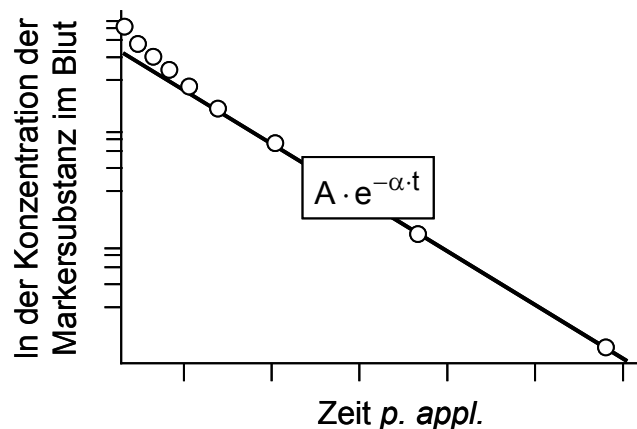


Abbildung 2-12: Berechnung der Konzentrations-Zeit-Kurve nach dem Ein-Kompartiment-Modell. Ordinate in logarithmischer Skalierung. Die Punkte stellen die tatsächlich gemessenen Werte dar.

Ein Vorteil des Ein-Kompartiment-Modells besteht darin, dass nur 1-2 Blutproben *p. appl.* der Markersubstanz entnommen werden müssen (HEIENE und MOE, 1998). Bei Anwendung dieses Modells kommt es aber zu einer Überschätzung der GFR, da die initiale Phase der Ausscheidungskurve nicht in die Berechnung eingeht und dadurch die AUC unterschätzt wird (HEIENE und MOE, 1998; HEIENE und MOE, 1999). Die Größe der dabei außer Acht gelassenen Fläche ist dem Grad der Nierenfunktion nicht proportional (BRØCHNER-MORTENSEN, 1972). Die nicht mit-

einberechnete Fläche ist relativ größer bei kleiner AUC, woraus folgt, dass der Fehler bei normalen Nierenfunktionen größer ist als bei reduzierten Nierenfunktionen.

Der Fehler, der durch die Nichtbeachtung der Verteilungsvorgänge entsteht, ist nur bei Substanzen, deren Verteilung unmittelbar erfolgt, vernachlässigbar klein (HEIENE und MOE, 1998). Bei Einsatz des Ein-Kompartiment-Modells zur GFR-Bestimmung erlangt dieser Fehler nach HEIENE und MOE (1998) und GILLESPIE (1991) zumeist klinische Relevanz.

Es sind sowohl für die Anwendung in der Humanmedizin (BRØCHNER-MORTENSEN und RØDBRO, 1976; PETERS, 1992) als auch für die Clearancebestimmung bei Hunden (GLEADHILL et al., 1995; HEIENE und MOE, 1999) Korrekturformeln entwickelt worden, um diesen Fehler auszugleichen.

### **Bezugsgrößen für die GFR**

In zahlreichen Untersuchungen wurden die ermittelten GFR-Werte bezogen auf das Individuum angegeben (z. B. FINCO et al., 1991; HALL et al., 1977; ROBINSON et al., 1974; SAPIRSTEIN et al., 1955). Um aber den Betrag der GFR eindeutig bestimmen zu können und einen Vergleich mit Referenzwerten zu ermöglichen, ist es notwendig, die ermittelte GFR zu einer normierten Bezugsgröße in Relation zu setzen (HEIENE und MOE, 1998; VERLANDER, 1997). Dafür stehen die Körpermasse (KM), die Körperoberfläche (KOF) und das extrazelluläre Flüssigkeitsvolumen (extracellular fluid volume, ECFV) zur Verfügung.

Die Körpermasse ist eine leicht zu bestimmende Größe, anhand derer die Körperoberfläche berechnet werden kann. In vielen Untersuchungen zur Clearancebestimmung dient die KM als Bezugsgröße (vgl. Tabelle 2-2), was voraussetzt, dass Clearance und KM sich proportional zueinander verhalten. Es kommt aber bei schweren und leichten Tieren zu einem systematischen Fehler, da bei größeren Tieren die GFR bezogen auf die KM kleiner ist als bei kleinen Tieren. Die Clearance rate ist bei kleineren Tieren relativ höher als bei großen Tieren (HALLER et al., 1998).

Haller et al. (1998) schlagen vor, die GFR auf die KOF des Tieres zu beziehen, da die Metabolisierungsrate enger mit der KOF als mit der KM korreliert (MOE und HEIENE, 1995). Die KOF ist nach der Formel von MEEH (1879) einfach zu berechnen (vgl. Kap. 3.2.1, Formel [21]). Clearancebestimmungen an Hunden ergaben eine enge Korrelation zwischen der GFR und der KOF (HALLER et al., 1998).



Andere Autoren halten das ECFV für die optimale Bezugsgröße der GFR, da die Regulation des ECFV in enger Beziehung zur glomerulären Filtration steht (GLEADHILL et al., 1995; PETERS, 1991; PETERS, 1992).

Dazu ist nicht die Berechnung des ECFV notwendig, sondern die mittlere Verweildauer (mean residence time, MRT) einer Substanz im Organismus. Diese ergibt sich aus ihrem Verteilungsvolumen in Relation zur Clearance:

$$[15] \text{ MRT} = \frac{\text{Verteilungsvolumen}}{\text{GFR}} \quad (\text{NOSSLIN, 1965})$$

Für eine Markersubstanz, deren Verteilungsvolumen gleich dem extrazellulären Flüssigkeitsvolumen ist, gilt somit:

$$[16] \frac{\text{GFR}}{\text{ECFV}} = \frac{1}{\text{MRT}} = \frac{\text{AUC}}{\text{AUMC}} \quad (\text{s. a. PETERS, 1992})$$

AUMC: Area under the first moment curve

Da das Verteilungsvolumen exakt dem extrazellulären Flüssigkeitsvolumen entsprechen muss, können nur Markersubstanzen verwendet werden, die sich ausschließlich im ECFV verteilen. Dies wurde für  $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$  beim Menschen (PETERS, 1992), bei Hunden (GLEADHILL et al., 1995) und bei Pferden (GLEADHILL et al., 1999) nachgewiesen.

Durch Bezug der GFR auf das ECFV werden Einflüsse auf die GFR durch den Hydratationszustand eines Tieres, wie sie von TABARU et al. (1993) bei Hunden beschrieben werden, ausgeschlossen.

In einer Studie bei Hunden und Katzen wurde die  $P\text{-CL}_{\text{gesamt}}$  nach Bolusapplikation von Iohexol anhand von 10 Blutproben nach dem 2-Kompartiment-Modell bestimmt. Die Clearancewerte wurden vergleichend bzgl. KM, KOF und ECFV standardisiert und anhand ihres Variationskoeffizienten beurteilt. Danach erwies sich der Bezug auf die KOF als die optimale Methode der Standardisierung für die  $P\text{-CL}_{\text{gesamt}}$  des Markers Iohexol bei Hunden und Katzen (GOY-THOLLOT et al., 2001).

Auch ein weiterer Vergleich der Standardisierungsmethoden bei Hunden (berechnet nach dem Nicht-Kompartiment-Modell) ergab, dass der Bezug auf das ECFV weniger genaue Werte lieferte als dies bei Bezug auf die KM oder die KOF der Fall war (HEIENE und MOE, 1999). Außerdem änderte sich bei einigen Hunden der Clearancewert durch die unterschiedlichen Bezugsgrößen beträchtlich, bei anderen blieb er bei allen drei Bezugsgrößen nahezu gleich. Diese Abweichungen waren bei sehr großen und bei sehr kleinen Hunden am größten, traten aber auch bei Tieren

mit mittlerer KM auf. Das bedeutet, dass ein Tier abhängig davon, auf welche Größe der ermittelte Clearancewert bezogen wird, bzgl. seiner Nierenfunktion u. U. sehr unterschiedlich beurteilt werden kann. Bei der Etablierung von Referenzwerten gesunder Tiere erhält man bei der gleichen Tiergruppe in Abhängigkeit von der gewählten Bezugsgröße unterschiedliche Werte.

Auf Grund der wesentlich geringeren Schwankungen der Größe der Tiere innerhalb einer Population spielt die Bezugsgröße bei der Katze wohl eine weniger wichtige Rolle als dies bei Hunden der Fall ist.

## **2.4 Markersubstanzen**

### **2.4.1 Eigenschaften idealer Markersubstanzen**

Eine Substanz, die als Marker zur Bestimmung der Clearance verwendet werden soll, muss idealerweise folgende Eigenschaften aufweisen.

Ihre Ausscheidung erfolgt ausschließlich über die Nieren durch freie Filtration, d. h. sie wird im Tubulussystem weder sezerniert noch reabsorbiert. Weiterhin darf sie in der Niere weder metabolisiert noch neu gebildet werden und sie darf die Nierenfunktionen nicht beeinträchtigen. Die Markersubstanz darf nicht an Proteine gebunden werden, nicht in Erythrocyten eindringen, nicht toxisch sein und die GFR nicht beeinflussen (HEIENE und MOE, 1998).

Es stehen eine Vielzahl von Markersubstanzen für die Clearancebestimmung zur Verfügung, die diese Anforderungen weitgehend erfüllen. Im Folgenden sollen die Eigenschaften, Vor- und Nachteile der verwendeten Marker Creatinin und Sinistrin näher beschrieben werden. In einem weiteren Abschnitt wird kurz begründet, welche Nachteile andere Markersubstanzen bzgl. ihrer klinischen Anwendbarkeit aufweisen.

### **2.4.2 Creatinin**

Creatinin ist ein Abbauprodukt des endogenen Muskelstoffwechsels. 1-2 % des in den Muskelzellen zur Energiespeicherung vorhandenen Creatins wird kontinuierlich in Creatinin umgewandelt. Dabei entstehen aus Creatin durch nicht enzymatischen Abbau Creatinin und Wasser. Diese Reaktion ist *in vivo* irreversibel. Creatinin wird aus der Zelle transportiert und soll sich nach Becker (1987) gleichmäßig im gesamten Extrazellularraum verteilen.

Die Ausscheidung erfolgt in den Nieren über glomeruläre Filtration. Unterschiedliche Untersuchungen existieren zu der Frage, ob für die Creatinin-Ausscheidung bei der Katze auch tubuläre Sekretionsprozesse eine Rolle spielen. Nachgewiesen ist dies bei Hunden (besonders ausgeprägt bei männlichen Tieren) und beim Menschen, wobei der relative Anteil der Sekretion an der Gesamtausscheidung bei steigenden Creatinin-Konzentrationen und bei Nierenfunktionsverlusten zunimmt (LEE et al., 1983; ROBINSON et al., 1974).

Vergleichende Untersuchungen an 43 männlichen und 14 weiblichen Hunden mittels R-CL von Inulin und exogenem Creatinin ergaben ein Creatinin-/Inulin-Verhältnis von 0,95 bei weiblichen Tieren und 1,03 bei männlichen Tieren. Eine solche schwache Creatinin-Sekretion konnte auch bei den weiblichen Tieren durch die Applikation von Testosteron hervorgerufen werden (O'CONNELL et al., 1962).

Untersuchungen an männlichen Hunden unter *stop-flow* Bedingungen ergaben, dass nach 10-minütigem Abklemmen des Ureters *i. v.* appliziertes Creatinin früher als ebenfalls *i. v.* verabreichtes Inulin in den Urin-Proben nachweisbar war. Nach Gabe von Probenecid wurden niedrigere Creatinin-Clearancewerte erzielt, was auf eine Blockade des Creatinin-Sekretionsmechanismus durch Probenecid zurückgeführt wurde (SWANSON und HAKIM, 1962).

Die vergleichende Bestimmung der R-CL von endogenem Creatinin und Inulin an 35 gesunden, sedierten Katzen ergab (mit einer Ausnahme) bei allen Tieren höhere Werte für die Inulin-Clearance als für die Creatinin-Clearance, d. h. es lag eine Netto-Reabsorption des Creatinins vor. Es zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen Inulin- und Creatinin-Clearance (OSBALDISTON und FUHRMANN, 1970).

Ein Vergleich der R-CL von exogenem Creatinin und [<sup>14</sup>C]Inulin bei 11 Katzen ergab für die Creatinin-Clearance ebenfalls niedrigere Werte als für die [<sup>14</sup>C]Inulin-Clearance. Die Creatinin- und Inulin-Clearancewerte waren in hohem Maße miteinander korreliert, die Creatinin-Clearancewerte betragen aber nur 85,6 % ± 4,1 (MW ± SD) der Werte der Inulin-Clearance (ROSS und FINCO, 1981).

Demgegenüber kommen FINCO und BARSANTI (1982) in einer weiteren Untersuchung zu dem Schluss, dass Creatinin bei der Katze ausschließlich über glomeruläre Filtration ausgeschieden wird. Verglichen wurden die Werte der R-CL von exogenem Creatinin und [<sup>14</sup>C]Inulin bei 3 sedierten Katzen, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen den Clearancewerten festgestellt wurde. Der Vergleich von

Creatinin/[<sup>14</sup>C]Inulin und von Creatinin/[<sup>14</sup>C]Creatinin ergab jeweils ein Verhältnis von etwas weniger als 1,0. Dies kann durch analysebedingte Unterschiede beim chemischen Nachweis von Creatinin gegenüber dem Nachweis der radioaktiven Isotope verursacht sein. Evtl. spielt auch der Einfluss von Nicht-Creatinin-Chromogenen (s. u.) eine Rolle. Ein Vergleich der Clearancewerte von [<sup>14</sup>C]Inulin und [<sup>14</sup>C]Creatinin ergab nahezu gleiche Ergebnisse, woraus geschlossen wurde, dass beide Stoffe in der Niere der Katze gleich behandelt werden.

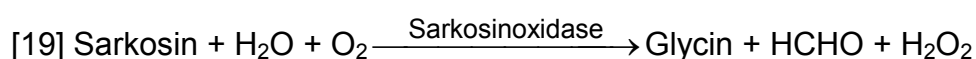
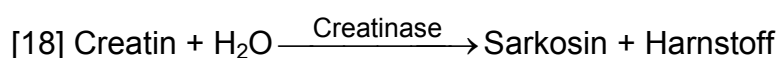
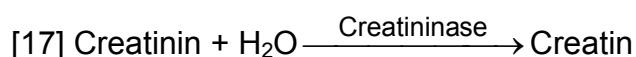
Ein Vorteil des Creatinins gegenüber der Anwendung anderer Markersubstanzen zur Bestimmung der GFR ist, dass die Creatinin-Bestimmung zu den labordiagnostischen Standardmethoden gehört (REDER und HARTMANN, 1994). Sie ist in jedem Routinelabor leicht und mit geringem Kostenaufwand durchführbar. Vorteilhaft ist weiterhin, dass nur eine geringe Menge Blut (pro Probe ca. 100 µl Serum/Plasma) für die Analyse benötigt wird (WATSON et al., 2002).

Für den Nachweis von Creatinin in Serum/Plasma und Urin stehen unterschiedliche Analysemethoden zur Verfügung:

Referenzmethode zur Bestimmung von Creatinin ist die High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC) (LE GARRÉRÈS et al., 2001; REDER und HARTMANN, 1994).

Bei der gebräuchlichen Jaffé-Reaktion reagiert Creatinin mit alkalischer Pikrinsäure unter Bildung eines orange-gelben Farbstoffes, der photometrisch bestimmt wird (Becker, 1987). Diese Reaktion ist relativ unspezifisch: Eine Vielzahl anderer Substanzen (Oxalacetat, Acetacetat, Ascorbinsäure, Barbiturate, Pyruvat etc.) reagieren als sog. nichtcreatinine Chromogene mit (SCHWENDENWEIN, 1993) und können 20-50 % des ermittelten Creatinin-Wertes ausmachen (HEINEGARD und TIDERSTRÖM, 1973; KNAPP und HADID, 1987; SOLDIN et al., 1978). Dieser Fehler tritt fast ausschließlich bei der Bestimmung des Creatinins im Serum oder Plasma, nicht aber im Urin auf.

Alternativ kann die enzymatische Methode angewandt werden, der folgende Reaktionen zu Grunde liegen:





TBHB = 2,4,6-Tribrom-3-Hydroxybenzoesäure

Die Farbentstehung wird photometrisch gemessen. Der Vorteil dieser Methode besteht darin, dass sie spezifischer ist und es damit nicht durch den Einfluss von nicht-creatininen Chromogenen zu scheinbar erhöhten Werten kommen kann (KRAFT und DÜRR, 1999).

Inwieweit nichtcreatinine Chromogene auf das Ergebnis der Creatinin-Bestimmung Einfluss nehmen, wird in der Literatur kontrovers diskutiert.

Untersuchungen an humanem Plasma (GENNARO et al., 1995) sowie an Rinderharn und -serum (HARTMANN et al., 2001) ergaben keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Analysemethoden. In anderen Untersuchungen (HORIO und ORITA, 1996; WRIGHT et al., 2001) wurden sowohl im Blutserum als auch im Urin bei den nach der Jaffé-Methode gemessenen Proben signifikant höhere Werte als bei den nach der enzymatischen Methode bestimmten Proben festgestellt. Dieser Effekt kommt insbesondere bei niedrigen Creatinin-Konzentrationen (unter 100  $\mu\text{mol/l}$ ) zum Tragen.

Der Einfluss der nichtcreatininen Chromogene ist aber – je nach angewandter Methode zur Clearancebestimmung – unterschiedlich groß: Da bei der R-CL der Clearancewert als Quotient der Urin-/Plasmacreatinin-Konzentration berechnet wird, der Plasmawert aber falsch hoch ist, kommt es zu einer Unterschätzung der wahren GFR (FINCO et al., 1982; REDER und HARTMANN, 1994) (vgl. Gleichung [3], Kap. 2.3.2.1). Dieser Effekt wird insbesondere bei der endogenen Creatinin-Clearance deutlich; gemindert werden kann der Einfluss der nichtcreatininen Chromogene hingegen durch Applikation exogenen Creatinins. Nach FINCO et al. (1982) wird dadurch der nichtcreatinine Anteil am insgesamt gemessenen Creatinin vernachlässigbar klein. Nach einer Untersuchung von LE GARRÉRÈS et al. (2001) an Katzen kann die Jaffé-Methode jedoch auch zur Analyse von Proben zur Bestimmung der P-CL von exogenem Creatinin nicht empfohlen werden.

Das Verteilungsvolumen ( $V_d$ ) von Creatinin ist annähernd gleich dem Volumen des Gesamt-Körperwassers (HEIENE und MOE, 1998; LE GARRÉRÈS et al., 2001). Das  $V_d$  in der terminalen Eliminationsphase beträgt bei gesunden Katzen  $885 \pm 160 \text{ ml/kg KM}$  (MIYAMOTO, 1998).

Nach *i. v.* Bolusapplikation von Creatinin bei Hunden zeigten die Werte der Konzentrations-Zeit-Kurve ein zweiphasiges Ausscheidungsmuster, weshalb SAPIRSTEIN et al. (1955) davon ausgehen, dass sich Creatinin in zwei Kompartimenten verteilt. Aus dem ersten Kompartiment wird es proportional zu seiner Konzentration ausgeschieden und zwischen den zwei Kompartimenten proportional zum Konzentrationsgradienten verteilt. Bei 9 von 10 Hunden entsprachen die Werte der Konzentrations-Zeit-Kurve nach *i. v.* Applikation von Creatinin einer biexponentiellen Ausscheidungskurve (SAPIRSTEIN et al., 1955).

Die Verteilung von Creatinin ist 4 h *p. appl.* abgeschlossen (SCHLOERB, 1960).

### 2.4.3 Sinistrin

Sinistrin (syn. Polyfructosan S, PFS) ist ein stärkeähnliches Polymer mit einem Molekulargewicht von ca. 3500 Dalton. Es besteht aus  $\beta$ -D-Fructofuranoseeinheiten, an die terminal  $\alpha$ -Glucopyranoseeinheiten angehängt sind (NITSCH, o. J.; SPIES et al., 1992). Sinistrin wird aus den Zwiebeln von *Urginea Maritima (L.)* gewonnen und unterscheidet sich von Inulin dadurch, dass an das lineare Molekül Fructoseseitenketten angehängt sind. Da die Molekülgröße nicht einheitlich ist, werden Sinistrin-Konzentrationen in mg/l angegeben (HALLER et al., 1998)

Sinistrin ist durch die Verzweigungen – anders als Inulin – bei Raumtemperatur wasserlöslich und weist eine bessere Alkalistabilität auf (MERTZ, 1963; NITSCH et al., 1979). Dies hat den Vorteil, dass die Markersubstanz nicht wie Inulin vor der Applikation erhitzt werden muss, was zum einen die Anwendung erleichtert und wodurch zum anderen die Gefahr einer partiellen Hydrolyse durch die Hitzeeinwirkung entfällt.

Laut Herstellerangaben darf in Sinistrin (Inutest<sup>®</sup>) max. 5 mg/ml freie Fructose enthalten sein, die auf unsere Anfrage hin getestete Charge enthielt 1,5 mg/ml freie Fructose (Schreiben der Fa. Fresenius vom 14.11. 2000).

Sowohl eine partielle Hydrolyse vor der Applikation als auch ein höherer Anteil freier Fructose hat zur Folge, dass diese Fructose im Körper abgebaut wird. Diese steht dann nicht mehr für die Analyse zur Verfügung, und es werden geringere Markerkonzentrationen in den Proben gemessen. Das kommt insbesondere bei der P-CL zum Tragen, da so die AUC kleiner und damit die Clearance größer wird (vgl. Kap. 2.3.2.2, Formel [4]).

Sinistrin erfüllt die oben genannten Anforderungen an eine ideale Markersubstanz, da es ebenso wie Inulin durch die glomeruläre Kapillarwand frei filtriert wird. Es kann auf Grund des Fehlens eines spezifischen Transportsystems nicht aktiv aus den Tubuli rückresorbiert oder in das Tubulussystem sezerniert werden und erfährt keine chemische Veränderung während der Passage durch die Tubuli (NITSCH et al., 1979).

Verschiedene Chemikalien und Wirkstoffe, wie Quecksilber, organische Säuren, organische Basen, Testosteron und 2,4-Dinitrophenol haben keinen Einfluss auf die Inulin-Ausscheidung unter *stop-flow* Bedingungen. Diese Befunde sprechen dafür, dass Inulin keiner renalen tubulären Behandlung unterliegt (O'CONNELL et al., 1962).

Sinistrin ist ungiftig und verursacht keine pyrogenen Reaktionen (MERTZ, 1963). Es wird im Körper von Hunden und Ratten nicht messbar abgebaut, und seine renale Clearance stimmt mit der Inulin-Clearance überein (HARTH, 1963). Da die R-CL von Sinistrin von der Höhe der Plasmakonzentration unabhängig ist, gehen MERTZ und SARRE (1963) von einer rein glomerulären Ausscheidung des Stoffes aus.

Zum Nachweis von Sinistrin (und Inulin) sind in der Literatur verschiedene chemische, chemoenzymatische und vollenzymatische Methoden beschrieben.

Die chemischen Methoden basieren auf der Bildung von Hydroxymethylfurfural (HMF) durch Einwirkung starker anorganischer Säuren unter hohen Temperaturen. Das entstandene HMF wird photometrisch quantitativ bestimmt. Wesentliche Nachteile dieser Methode bestehen darin, dass die Proben vor der Bestimmung entproteinisiert werden müssen und dass die hydrolytische Aufspaltung des Polyfructosans mittels konzentrierter anorganischer Säuren erfolgt. Weiterhin ist die Reaktion nur wenig spezifisch, da einige andere Serumkomponenten – insbesondere Glucose – zu einem gewissen Anteil ebenfalls reagieren (PETEK, o. J.).

Das Prinzip der enzymatischen Nachweismethoden besteht in einer hydrolytischen Aufspaltung des Sinistrins in die einzelnen Fructosemoleküle, die anschließend von verschiedenen Enzymen (s. u.) metabolisiert werden. Dabei werden proportional gleiche Mengen NADH umgesetzt, die quantitativ photometrisch bestimmt werden können.

Enzymatische Methoden haben gegenüber den chemischen den Vorteil, dass die zu untersuchenden Proben nicht entproteinisiert werden müssen. Es werden keine star-

ken Säuren verwendet, und außerdem wird die Bestimmung des Markers durch die im Blut vorhandene Glucose auf Grund der Substratspezifität der Enzyme nicht gestört (Kundeninformation Fa. Fresenius).

Bei den enzymatischen Methoden ist zu unterscheiden zwischen solchen, bei denen bereits die Aufspaltung des Sinistrins in Fructosemoleküle enzymatisch durch Inulinasen erfolgt (z. B. bei dem inzwischen nicht mehr erhältlichen Test-Kit zum Nachweis von Sinistrin Inuquant® [Fresenius, Linz]), und solchen, bei denen sich an eine Säurehydrolyse enzymatische Umsetzungsschritte anschließen.

Die von SUMMERFIELD et al. (1993) für Inulin und SUGITA et al. (1995) für Sinistrin angewandte Spaltung der Polyfructosane mittels verschiedener Inulinasen wird von SOPER et al. (1995) als für die Anwendung zum Nachweis von Sinistrin weniger geeignet beschrieben, da das Sinistrin durch seine Seitenketten schwerer von Inulinasen aufzuspalten ist. Es wird deshalb eine vielfach höhere Konzentration von Inulinasen sowie eine längere Inkubationszeit benötigt, um eine vollständige Hydrolyse des Sinistrins zu erzielen.

Die andere Möglichkeit Sinistrin-Moleküle aufzuspalten besteht in der Hydrolyse mittels verschiedener Säuren. Dabei ist Perchlorsäure (0,3 mol/l) gegenüber der Anwendung von 25 %iger Salzsäure zu bevorzugen, da weniger andere Fructose enthaltende Saccharide aufgespalten werden, die das Analyseergebnis beeinflussen würden (BERGMEYER, 1984).

Nach hydrolytischer Aufspaltung von Inulin und Sinistrin werden die gleichen Substanzen (Fructose und geringe Mengen Glucose) freigesetzt, weshalb die weiteren Analyseschritte zur Bestimmung beider Marker identisch sind (MERTZ und SARRE, 1963).

Für die anschließenden enzymatischen Umsetzungsschritte zum quantitativen Nachweis der Fructose stehen zwei Wege zur Verfügung:

Bei der von SUMMERFIELD et al. (1993) beschriebenen Methode wird Fructose durch die Sorbitoldehydrogenase zu Sorbitol reduziert. Dabei wird  $\text{NADH} + \text{H}^+$  zu  $\text{NAD}^+$  umgesetzt. Die Abnahme der NADH-Konzentration wird photometrisch bestimmt. Die Sorbitoldehydrogenase setzt spezifisch Fructose um, sodass die im Serum vorhandene Glucose die Messung nicht beeinträchtigt. Die Wiederauffindungsrate betrug nahezu 100 %, und die Linearität der Messungen konnte für Konzentrationen bis 300 mg/l nachgewiesen werden ( $\text{VK} = 1,4 \%$  für Plasma und 4 %



im Urin). Die Umsetzung von Fructose zu Sorbitol wird von BERGMAYER (1984) als nicht quantitativ kritisiert.

Bei der von RENSCHLER (1963) vorgeschlagenen Vorgehensweise wird die nach Säurehydrolyse mittels 0,3 mol/l Perchlorsäure entstandene Fructose durch die Enzyme Hexokinase (HK), Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) und Phosphoglucoseisomerase (PGI) zu D-Gluconat-6-Phosphat umgesetzt (Abbildung 2-13). Entscheidend ist dabei, dass das Enzym PGI spezifisch Fructose-6-P umsetzt, wodurch die bei der Hydrolyse des Sinistrins entstandene Fructose von der im Blut vorhandenen und auch bei Sinistrin-Hydrolyse in geringen Mengen freigesetzten Glucose unterschieden werden kann (vgl. Kap. 3.3.2). Der VK wird von BERGMAYER (1984) und DEGENAAR et al. (1987) mit 1,2 % angegeben. Es sind Sinistrin-Konzentrationen zwischen 5 und 2000 mg/l messbar (HALLER et al., 1998).

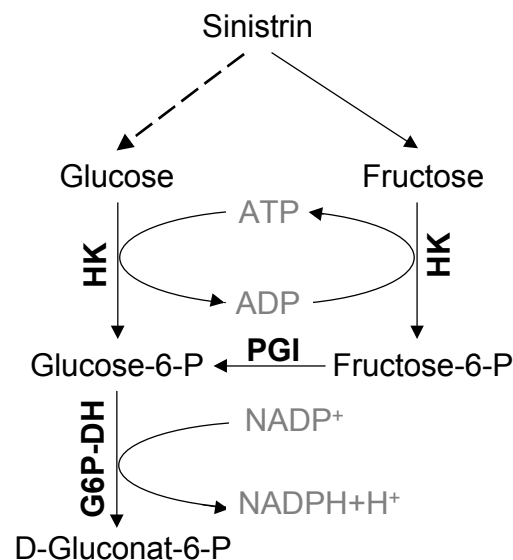


Abbildung 2-13: Enzymatische Umsetzungsschritte zur Bestimmung der Sinistrin-Konzentration (modifiziert nach DEGENAAR et al., 1987).

ADP:	Adenosin-5'-diphosphat
ATP:	Adenosin-5'-triphosphat
D-Gluconat-6-P:	D-Gluconat-6-phosphat
Fructose-6-P:	D-Fructose-6-Phosphat
G6P-DH:	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
Glucose-6-P:	Glucose-6-Phosphat
HK:	Hexokinase
NADP <sup>+</sup> :	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
NADPH+H <sup>+</sup> :	reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
PGI:	Phosphoglucose-Isomerase

Obwohl das Verteilungsvolumen von Sinistrin nicht dem des Creatinins entspricht, soll die Pharmakokinetik dieser beiden Substanzen gleich sein (SAPIRSTEIN et al.,

1955). Dem widerspricht eine Untersuchung von MIYAMOTO (1998), in der bei gesunden Katzen Unterschiede in der Pharmakokinetik von Inulin und Creatinin festgestellt wurden. Creatinin wies ein wesentlich größeres Verteilungsvolumen als Inulin auf, und die Verteilungskonstanten zwischen den verschiedenen Kompartimenten der beiden Markern unterschieden sich. Die  $t_{1/2}$  von Inulin war hingegen ähnlich der des Creatinins und betrug  $57 \pm 7$  Minuten (MW $\pm$ SD) (MIYAMOTO, 1998).

Die Konzentrations-Zeit-Kurve nach Bolusinjektion von Sinistrin zeigt ein zweiphasiges Ausscheidungsmuster. Nach initialem schnellem Abfall der Konzentration im Plasma folgt eine Phase mit allmählichem Abfall, weshalb HALLER et al. (1998) das Zwei-Kompartiment-Modell für die beste Methode halten, um die Konzentrations-Zeit-Kurve zu beschreiben.

Das Verhältnis Sinistrin-/Inulin-Clearance sowie das Verhältnis der Verteilungsvolumina beider Substanzen zueinander zeigten in einer Untersuchung von MERTZ und SARRE (1963) an insgesamt 48 Personen mit und ohne Nierenfunktionsstörungen gute Übereinstimmung. Die Autoren gehen davon aus, dass beide Marker in ihrem pharmakokinetischen Verhalten identisch sind.

Die Verteilungsphase nach Applikation von Sinistrin scheint schneller abgeschlossen als beim Creatinin: Bereits 1-2 h *p. appl.* kann mit der Probenentnahme begonnen werden (HEIENE und MOE, 1998). In einigen Untersuchungen an Menschen wurde jedoch von 10-15 h *p. appl.* bis zum Erreichen einer vollständigen Verteilung berichtet (ESTELBERGER et al., 1995; FLORIJN et al., 1994; HELLERSTEIN et al., 1993). In einer Studie an Hunden mit reduzierter Nierenmasse war die P-CL um fast 10 % höher als die R-CL des Markers Creatinin (BROWN, 1994), was evtl. zumindest teilweise auf eine nicht abgeschlossene Verteilung des Inulins (Probenentnahmen 1-75 Minuten *p. appl.*) zurückgeführt werden kann (HEIENE und MOE, 1998).

In einer Studie zur P-CL nach *i. v.* Applikation von Inulin bei gesunden Katzen wurde in der Eliminationsphase ein Verteilungsvolumen von 308 ml/kg KM gefunden. Dieses ist um ca. 50 % größer als das geschätzte Extrazellulärvolumen von 200 ml/kg KM, was annehmen lässt, dass Inulin in einige Gewebe oder Organe des zentralen Kompartiments aufgenommen wird (MIYAMOTO, 1998).

#### 2.4.4 Andere Markersubstanzen

Es existiert eine Vielzahl weiterer Markersubstanzen, die sich aber alle auf Grund verschiedener Probleme in der Anwendung oder im Nachweis nicht im klinischen Alltag durchgesetzt haben.

Iohexol ist ein nicht ionisches, jodhaltiges Kontrastmittel, das nach einmaliger Injektion und kurzer Verteilungsphase zwischen Blut und Extrazellularraum mit konstanter Eliminationsrate aus dem Blut über die Nieren entfernt wird (MEYER-LINDENBERG et al., 1998b). Iohexol weist eine geringe Toxizität auf (MOE und HEIENE, 1995).

Nachteile der Anwendung jodhaltiger Kontrastmittel bestehen darin, dass relativ große Injektionsvolumina notwendig sind und dass die Analyse der Proben sehr teuer ist (GLEADHILL und MICHELL, 1996).

Zahlreiche Untersuchungen zur Clearancebestimmung wurden mit verschiedenen radioaktiv markierten Substanzen (z. B. [ $^{14}\text{C}$ ]Creatinin, [ $^{14}\text{C}$ ]Inulin,  $^{99\text{M}}\text{Tc}$ -DTPA, [ $^{51}\text{Cr}$ ]EDTA) durchgeführt. Deren Anwendung bleibt jedoch auf Kliniken beschränkt, die über die Genehmigung und die Ausrüstung zum Arbeiten mit radioaktiven Materialien verfügen.