

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Tiere und Methoden

3.1.1 Patientengut

Für die Untersuchungen zur Bestimmung der GFR mittels der exogenen Kreatinin-Clearance standen insgesamt $n= 29$ Tiere zur Verfügung. Es handelte sich hierbei um $n=10$ Hunde der Rasse Beagle aus einer Versuchstierhaltung der Firma Biopharm GmbH, Berlin, und um $n= 7$ Hunde der Rasse Beagle aus der Versuchstierhaltung des Institutes für Veterinär-Pharmakologie des Fachbereiches Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin ($n=17$ Versuchstiere).

Weiterhin stammen $n= 12$ Hunde aus privater Haltung (Feldtiere). Darunter waren verschiedene Rassen und Mischlinge vorhanden. Diese Tiere wurden aufgrund des Vorberichtes, den Angaben der Besitzer und der allgemeinen klinischen Untersuchung, insbesondere in Bezug auf die Nierenfunktion mit einer Ausnahme (H 10) als gesund eingestuft.

Die Rasseverteilung der Feldtiere ist der Tabelle 9 zu entnehmen.

Tab.9 Rasseverteilung der Feldtiere

Deutscher Schäferhund	$n= 1$
Greyhound	$n= 2$
Mischling	$n= 7$
Golden Retriever	$n= 1$
Riesenschnauzer	$n=1$

Das Alter der Versuchstiere lag zwischen 2 und 11 Jahren ($3,6 \pm 2,7$). Das Alter der Feldtiere schwankte zwischen 3 und 11 Jahren ($5,5 \pm 2,9$).

Die Körpermasse aller Versuchstiere lag zum Zeitpunkt der Versuchsreihen zwischen 11,1 kg und 19,3 kg ($14,7 \pm 2,4$). Die Körpermasse der Feldtiere betrug zwischen 11,2 kg bis 35 kg ($25,1 \pm 9,3$).

In den Versuchstiergruppen standen Hunde $n= 8$ männlichen Geschlechts und $n= 9$ weiblichen Geschlechts zur Verfügung. Die Feldtiere klassifizierten sich in $n= 8$ männliche und $n= 4$ weibliche Probanden.

Die Versuchstiere wurden in Einzelboxen mit festgelegtem zirkadianen Lichtablauf gehalten.

Die orale Applikation von Kreatinin und Xylose erfolgte 2h oder 1h nach der stattgefundenen oder nicht erfolgten Morgenfütterung (ca. 8.00 Uhr). Wasser stand den Tieren stets ad libitum zur Verfügung.

Die Fütterung der Feldtiere erfolgte zwischen 1h und 2h vor Versuchsbeginn. Auch hier stand Wasser stets zur freien Aufnahme zur Verfügung.

3.1.2 Applikation von Kreatinin und Xylose

Die Menge an oral und subcutan verabreichtem Kreatinin richtet sich nach der funktionellen Körperoberfläche. Sie betrug 4 g pro m² Körperoberfläche (KOF) bei der oralen Applikation und 2 g pro m² KOF bei der subcutanen Verabreichung. Die KOF berechnet sich nach der Meeh'-Formel aus der Lebendmasse (LM) in kg und dem Koeffizienten k.

$$\text{KOF} = \text{LM}(\text{kg})^{0,667} \cdot k \quad [k_{\text{Kleintier}} = 0,1] \quad (14).$$

Zur oralen Applikation von Kreatinin wurden Kreatinintabletten genutzt, die zu diesem Zweck aus einer Kreatininreinsubstanz der Fa. Sigma, Produkt-Nr.: C4255- 100 g, hergestellt wurden.

Folgende Zusammensetzung enthielt eine Tablette:

Kreatinin	0,471 g
Saccharin-Natrium	0,004 g
Magnesiumstearat	0,002 g
Weizenstärke	0,093 g

Zur subcutanen Applikation wurde eine 5 %ige Kreatinin- Lösung verwendet, die in mehreren Depots am Hundekörper verabreicht wurde.

Xylose wurde als ca. 10 %ige Lösung oral zugeführt. Die Dosierung betrug 0,5 g D-Xylose/ kg KM.

3.1.3 Untersuchungsplan mit Probenentnahmen

Die Entnahme von Blutproben erfolgte nach einem zuvor aufgestellten Zeitplan. Die Abnahmezeitpunkte sind aus den Tabellen 10-14 ersichtlich.

Tab. 10 Zeitpunkte der Probenentnahme bei den Feldtieren

Proben-Nr.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Zeit post appl.(min)	0	60	120	150	180	210	240	360	540	915	1170	1440

Tab. 11 Zeitpunkte der Probenentnahme in Versuchstierreihe I (Biopharm)- orale Applikation von Kreatinin und Xylose

Proben-Nr.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Zeit post appl. (min)	0	30	60	90	120	150	180	210	240	360	540	720	900	1440

Tab. 12 Zeitpunkte der Probenentnahme in Versuchstierreihe I (Biopharm)- subcutane Applikation von Kreatinin

Proben-Nr.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Zeit post appl. (min)	0	30	60	90	120	180	240	360	540	720	900	1440

Tab. 13 Zeitpunkte der Probenentnahme in Versuchstierreihe II (Studie Koserstr.)- orale Applikation von Kreatinin und Xylose

Proben-Nr.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Zeit post appl. (min)	0	30	60	90	120	150	180	210	240	360	540	720

Tab. 14 Zeitpunkte der Probenentnahme in Versuchstierreihe II (Koserstr.)- subcutane Applikation von Kreatinin

Proben-Nr.	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Zeit post appl. (min)	0	30	60	120	180	240	360	540	720

Die Einteilung der Probanden nach Applikationsart ist aus Tabelle 15 ersichtlich.

Tab. 15 Anzahl der Probanden in den Gruppen (Applikationsart)

Feldtiere n= 12		Versuchstiere n= 17			
oral nüchtern	oral gefüttert	oral nüchtern	oral gefüttert	sc nüchtern	sc gefüttert
9	3	17	17	7	17

Zum Zeitpunkt 0 wurden eine Blutprobe für die Nullwertbestimmung von Plasma-[Kreatinin] und -[Xylose], eine Blutprobe für hämatologische Untersuchungen und bei den Feldtieren, soweit möglich, eine Urinprobe gewonnen.

Die Blutentnahme erfolgte aus der zuvor angestauten Vena cephalica antebrachii bzw. Vena saphena mittels steriler Einmalkanülen 1,2 mm (Firma Terumo). Für die Serumbestimmung von Kreatinin und Xylose wurde das Blut in Neutralröhrchen aufgefangen. Die Proben wurden zunächst 20 min kühl gelagert und anschließend abzentrifugiert (20 min bei 2000 U/min). Das Plasma wurde in Einmalküvetten (Fa. Heiland) abpipettiert und bis zur Bestimmung der Parameter (≤ 24 h) der Proben im Kühlschrank bei 8 °C gelagert.

3.1.4 Verwendete Labormethoden

Die verwendeten Labormethoden zur Bestimmung der Parameter im Blut sind in Tabelle 16 aufgeführt. Die Methodik zur Ermittlung der Harnwerte ist aus der Tabelle 17 zu entnehmen. Xylose wurde in den Versuchsreihen ebenfalls im Serum bestimmt. Dazu wurde ein enzymatischer Farbttest genutzt. Vor Messung der Extinktionen wird Trichloressigsäure zur Deproteinisierung des Plasmas hinzugegeben. Bei der Anwendung der enzymatischen Farbreaktion kommt p-Bromanillin-Reagenz zum Einsatz. Die Extinktionen werden bei 515 nm gegen Wasser abgelesen.

Tab. 16 Bestimmungsmethoden, verwendete Geräte und analytische Präzision (VK-Variationskoeffizient) der bestimmten Parameter im Blut

Parameter im Blut	Bestimmungsmethode	verwendete Geräte	Variationskoeffizient (%)
Kreatinin	kinet. Farbtest nach Jaffè	Roche Hitachi	4,7
Natrium	indir. ionenselektive Messung	Modulares System	1,3
Kalium	indir. ionenselektive Messung	ISE900 (Fa. Roche Diagnostics, Mannheim)	2,1
Phosphat	Ammoniummolybdat-Komplex	Modulares System P800 (Fa. Roche Diagnostics, Mannheim)	2,4
Calcium	Kresolphtalein- Komplex		1,6
Osmolalität	Kryoskopie	Osmometer Fa. Gonotec	1,3
Gesamtprotein	Photometrische Biuretmethode	Modulares System P800 (Fa. Roche Diagnostics, Mannheim)	2
Harnstoff	Urease-GLDH- Methode		3,4
Leukozyten	Widerstandsmessung	Blutzell-Counter SE-9000 (Fa. Sysmex, Norderstedt)	2,8
Erythrozyten	Widerstandsmessung		1,9
Thrombozyten	Widerstandsmessung		1,8
HB	SLS Hb Messung		1,3
HK	Widerstandsmessung		2,1
MCV	Berechnung		
MCH	Berechnung		
MCHC	Berechnung		

Tab. 17 Bestimmungsmethoden, verwendete Geräte und analytische Präzision (VK-Variationskoeffizient) der bestimmten Parameter im Harn

Parameter im Harn	Bestimmungsmethode	verwendete Geräte	Variationskoeffizient (%)
Kreatinin	kinet. Farbttest nach Jaffè	Roche Hitachi	5,2
Natrium	indir. ionenselektive Messung	Roche Hitachi	1,3
Kalium	indir. ionenselektive Messung	Roche Hitachi	2,1
Chlorid	indir. ionenselektive Messung	Roche Hitachi	1,6
Phosphat	Ammoniummolybdat-Komplex	Roche Hitachi	2,4
Calcium	Kresolphtalein- Komplex	Roche Hitachi	1,6
Osmolalität	Gefrierpunktserniedrigung	Osmometer Fa. Gonotec	1,3
Protein	Biuret- Methode	Roche Hitachi	2
Harnstoff	Urease- GLDH- Methode	Roche Hitachi	3,4

3.1.5 Pharmakokinetik der Markersubstanzen Kreatinin und Xylose

Die Kreatinin- und Xylosekonzentrationen wurden zuerst in einem Koordinatensystem mit linearer Skalierung der Achsen dargestellt. Zum Einsatz kamen Mittelwertdiagramme mit Angabe der Standardabweichung. Dabei wurden die Zeitpunkte der Blutabnahmen (x-Achse) gegen die vorhandenen Kreatinin- und Xylosekonzentrationen zum Zeitpunkt t (y-Achse) aufgetragen. Von der jeweiligen Serum-[Kreatinin] und Serum-[Xylose] zum Zeitpunkt t wurde die endogene Serum-[Kreatinin] bzw. Serum-[Xylose] der Zeitpunkte t_0 subtrahiert ($\text{Serum-[Kreatinin bzw. Xylose}_{\text{exogen}}] = \text{Serum-[Kreatinin bzw. Xylose}_{\text{gesamt}}] - \text{Serum-[Kreatinin bzw. Xylose}_{\text{endogen}}]$).

Auswertungsparameter sind die Maximalkonzentration c_{\max} und die Zeit bis zum Erreichen der Maximalkonzentrationen t_{\max} nach Substanzapplikation. Weiterhin wurden die Zeiträume bis zum Erreichen der endogenen Ausgangskonzentrationen von Kreatinin und Xylose näher untersucht.

Nachdem die Serumkonzentration des Kreatinins auf einer logarithmischen Ordinate dargestellt wurde, konnte der Konzentrationsabfall des Kreatinins mit Hilfe einer Exponentialfunktion beschrieben werden.

Berechnung der Exponenten nach der Formel:

$$e = - (\ln c_1 - \ln c_2) / (t_2 - t_1) \quad (15)$$

(c = Serumkonzentration an Kreatinin, $t_2 - t_1$ = Differenz der Blutabnahmezeiten).

Mit Hilfe des errechneten Exponenten kann der Abfall des Kreatinins im Serum zu den Blutabnahmezeiten näher beschrieben werden. Sie sind Ausgangspunkt der weiteren Untersuchungen zur Bestimmung der GFR.

Wie aus der Abbildung 5 und der Formel $\beta = \frac{\ln c_1 - \ln c_2}{t_2 - t_1}$ hervorgeht, bestimmt der Exponent

β die Steilheit der Konzentrations-Zeitkurve für Serumkreatinin und damit die Exkretionsgeschwindigkeit des Markers aus dem Organismus.

Unter der Voraussetzung, dass das Serum-Kreatinin über die Nieren und dort nur glomerulär filtriert wird, lässt sich aus diesen Angaben die GFR des Probanden errechnen.

3.1.6 Bestimmung der GFR anhand der Plasma-Clearance mit exogenem Kreatinin

Für die Berechnung der $P-CL_{\text{Kreatinin}}$ wurde das Programm der Pharmakokinetik Topfit^R, Version 2.0, genutzt. Zur Anwendung kam eine Nichtkompartiment-Analyse.

Die beim Probanden gemessenen Kreatininwerte zum Zeitpunkt t abzüglich des endogenen Kreatiningehaltes des Anfangszeitpunktes der Untersuchungen wurden in das Programm eingegeben. Zur Regression in der terminalen Phase der Ausscheidung wurden genau jene Daten genutzt, die in der Vorphase der Untersuchungen mit Hilfe der Konfidenzanalyse selektiert werden konnten.

3.1.7 Statistische Auswertungen

Die statistischen Auswertungen erfolgten in Zusammenarbeit mit den Mitarbeitern des Institutes für Biometrie und Datenverarbeitung des Fachbereiches Veterinärmedizin der FU

Berlin. Die Parameter werden teilweise als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}) und einfache Standardabweichung (s) angegeben.

Die Erstellung der Mittelwertdiagramme der Serum-[Kreatinin] und der Serum-[Xylose] erfolgten mit Hilfe des Computerprogramms SPSS^R für Windows (Version 10.0).

Nach Bestimmung der Exponenten entsprechend Gleichung 15 erfolgte die Darstellung dieser Exponenten mittels kombinierter Boxplots (s. Abb. 6).

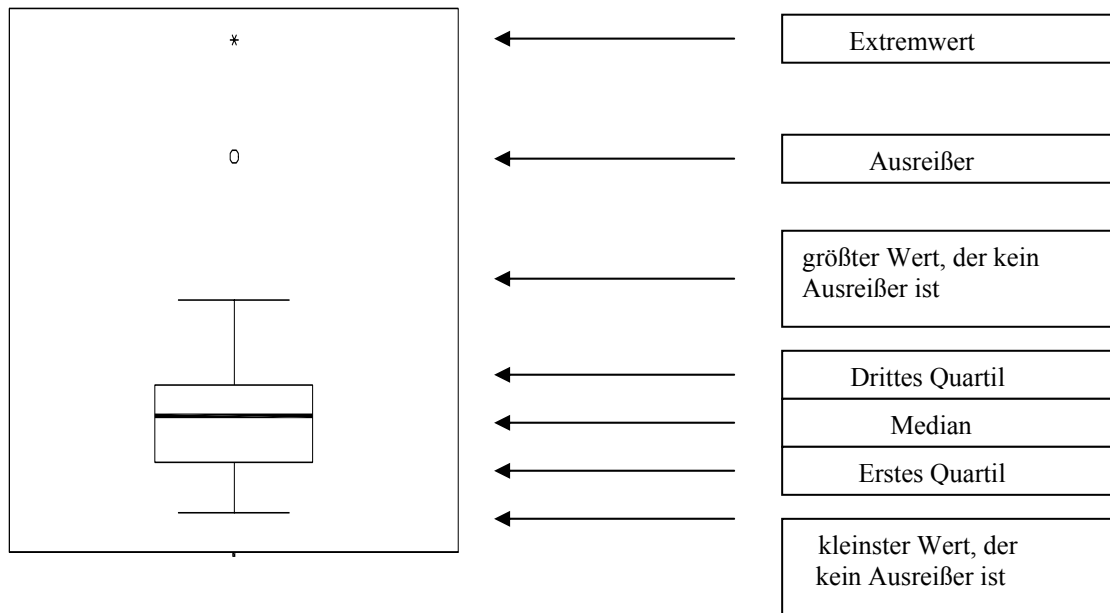


Abb. 6 Box- und Whisker-Plot einer Messreihe

Innerhalb der Box, auch Kasten genannt, befinden sich 50 % der Werte. Die Whisker („Schnurrhaare“) erstrecken sich vom kleinsten bis zum größten Wert der Messreihe, die nicht als Ausreißer eingestuft werden. In der Box ist der Median dargestellt. Er lässt Rückschlüsse auf eine symmetrische oder asymmetrische Verteilung zu. Eine asymmetrische Verteilung liegt vor, wenn 1. und 3. Quartil (die obere bzw. untere Grenze der Box) unterschiedliche Abstände zum Median aufweisen. Man unterscheidet dabei links- und rechtsschiefe Verteilungen. Die Variabilität oder Ausdehnung kann anhand der Länge der Box beurteilt werden. Die Ausreißer sind jene Werte, die zwischen 1,5 und 3 Boxlängen vom oberen oder unteren Rand der Box entfernt sind. Sie werden mit einem kleinen Kreis gekennzeichnet. Fälle, die mehr als drei Boxenlängen vom oberen bzw. unteren Boxenrand entfernt liegen, werden als Extremwerte bezeichnet. Ihre Kennzeichnung erfolgt mit einem Sternchen.

Nach Bildung der Exponentendifferenzen in den Zeitabschnitten wurden diese Differenzen mit Hilfe von SPSS^R (Version 10.0 für Windows) ausgewertet.

Zur Darstellung und Auswertung der Exponentendifferenzen kamen Konfidenzintervalle zum Einsatz. Die Konfidenzintervalle mit der geringsten Spannweite und einem Mittelwert nahe Null wurden für die weiteren Berechnungen selektiert.

Nach Berechnung der $P-CL_{\text{Kreatinin}}$ erfolgte die Auswertung dieser Daten mittels Wilcoxon-Test (nichtparametrischer Test) für abhängige Stichproben.

Die von uns erstellten und im Ergebnisteil erwähnten Signifikanzen beschreiben die Zusammenhänge der Daten, die wir in unserer explorativen Arbeit erhoben haben. Von einer Verallgemeinerung auf die Grundgesamtheit der Hundepopulation kann man, statistisch gesehen, nicht ausgehen.

3.2 Darstellung der Ergebnisse

Von jedem der Probanden wurde vor Beginn der Versuche ein allgemeines Profil wichtiger Blut- und Harninhaltsstoffe erstellt. Anhand dieser Werte sollte mit die Entscheidung über „gesund“ oder „krank“ der Patienten getroffen werden. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 18-24 zusammengefasst.

3.2.1 Ausgewählte Parameter zur Beurteilung des Gesundheitsstatus der Tiere

3.2.1.1 Klinische Untersuchung

Die klinische Untersuchung der Probanden aus der Feldtierstudie ergab vor Versuchsbeginn keinen Hinweis auf eine Erkrankung. Klinische Parameter, wie Rektaltemperatur, Herzfrequenz sowie Pulsfrequenz und – qualität befanden sich im Normbereich ($T = 38 - 39\text{ °C}$; $HF = 80 - 120/\text{min}$). Adspektion und Palpation der Hunde blieben ohne pathologischen Befund.

Die Probanden aus der Versuchstierstudie standen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle. Sie zeigten vor Versuchsbeginn keine klinischen Anzeichen einer Erkrankung.

3.2.1.2 Hämatologische und blutchemische Parameter

In der Tabelle 18 sind die Laborwerte für die hämatologischen Parameter bei den Feldtieren mit ihren Referenzbereichen festgehalten. Bei den Versuchstieren wurden aufgrund des bekannten Gesundheitszustandes der Hunde keine hämatologischen Parameter im Blut bestimmt.

Bei folgenden Parametern der Hämatologie befanden sich die Messwerte von Probanden der Feldtierstudie außerhalb des Referenzbereiches: Erythrozyten ($n=1$), HB ($n=6$), HK ($n=5$), MCV ($n=7$), MCH ($n=8$), MCHC ($n=3$), Thrombozyten ($n=7$), Leukozyten ($n=3$), Eosinophile ($n=1$) und Lymphozyten ($n=2$). Bis auf den Probanden H10 ($L = 17,7\text{ G/l}$) waren die ermittelten Werte der einbezogenen Feldtiere nur geringfügig außerhalb des Normbereiches.

In der nachfolgenden Tabelle 19 sind die blutchemischen Parameter der Feldtiere mit zugehörigen Referenzbereichen der Messwerte verzeichnet.

Bei folgenden Parametern des Blutes befanden sich die Messwerte von Probanden der Feldtierstudie geringfügig außerhalb des Referenzbereiches: Harnstoff ($n=2$), Kalium ($n=3$), Phosphat ($n=5$), Gesamtprotein ($n=3$), Calcium ($n=2$) und Osmolalität ($n=10$).

Die Tabelle 20 beinhaltet die blutchemischen Parameter der Versuchstiere. Auch dort sind die zugehörigen Referenzbereiche angegeben.

Tab. 18 Hämatologische Parameter der Feldtiere (n= 12)

Parameter	$\bar{x} \pm s$	x_{\min}	x_{\max}	Referenzbereich
Erythrozyten (T/l)	7,2 ± 1,3	5,54	10,20	5,5 - 8,5 ²⁾
HB (mmol/l)	10,6 ± 1,46	8,32	12,54	9,3 - 11,8 ²⁾
HK (l/l)	0,53 ± 0,89	0,40	0,65	0,44 - 0,52 ²⁾
MCV (fl)	74 ± 11,3	43,4	88,0	60 - 77 ²⁾
MCH (fmol)	1,5 ± 0,2	0,89	1,68	1,0 - 1,4 ²⁾
MCHC (mmol/l)	20 ± 0,9	18,7	21,4	19 - 21 ²⁾
Thrombozyten (G/l)	132 ± 78,1	37,00	267,00	150 - 500 ²⁾
Leukozyten (G/l)	9,4 ± 3,92	3,79	17,70	6 - 15 ²⁾
Segmentkernige n.G. (G/l)	5,9 ± 1,57	3,7	8	2,8 - 8,8 ²⁾
Stabkernige n.G. (G/l)	0,03 ± 0,075	0	0,19	0 - 0,5 ²⁾
Eosinophile G. (G/l)	0,1 ± 0,03	0	1,03	0 - 0,2 ²⁾
Basophile G. (G/l)	0	0	0	0 - 0,2 ²⁾
Monozyten (G/l)	0,3 ± 0,29	0	0,75	0 - 1 ²⁾
Lymphozyten (G/l)	2,8 ± 1,55	1,2	5,3	1,5 - 5 ²⁾

HB: Hämoglobin

HK: Hämatokrit

MCV: Mittleres Erythrozytenvolumen

MCH: Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten

MCHC: Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten

n.G.: neutrophile Granulozyten

G.: Granulozyten

¹⁾ Aus: Grünbaum; Diagnostik von Nierenerkrankungen bei Hund und Katze (siehe Literaturverzeichnis).

²⁾ Aus: W. Kraft und U. M. Dürr; Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin (siehe Literaturverzeichnis).

Tab. 19 Blutchemische Parameter der Feldtiere (n= 12)

Parameter im Serum	$\bar{x} \pm s$	x_{\min}	x_{\max}	Referenzbereich
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	$87,5 \pm 21,17$	46,9	120,4	$< 159,0$ ¹⁾
Harnstoff (mmol/l)	$5,5 \pm 1,82$	3,0	10,5	$3,3 - 8,3$ ¹⁾
Kalium (mmol/l)	$4,9 \pm 0,34$	4,3	5,4	$3,5 - 5,1$ ¹⁾
Natrium (mmol/l)	$149,1 \pm 1,97$	145,7	152,0	$140,0 - 155,0$ ¹⁾
Phosphat (mmol/l)	$1,46 \pm 0,33$	1,03	2,13	$0,94 - 1,6$ ¹⁾
Gesamtprotein (g/l)	$63,1 \pm 4,70$	55,0	73,0	$60 - 80$ ¹⁾
Kalzium (mmol/l)	$2,5 \pm 0,34$	1,9	2,9	$2,0 - 3,0$ ²⁾
Osmolalität (mosmol/kg)	317 ± 34	247	397	$290 - 310$ ²⁾

Tab. 20 Blutchemische Parameter der Versuchstiere (n= 17)

Parameter im Serum	$\bar{x} \pm s$	x_{\min}	x_{\max}	Referenzbereich
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	$56,8 \pm 5,07$	49,6	68,1	$< 159,0$ ¹⁾
Harnstoff (mmol/l)	$4,3 \pm 0,54$	3,2	5,5	$3,3 - 8,3$ ¹⁾
Kalium (mmol/l)	$4,5 \pm 0,24$	4,1	5,0	$3,5 - 5,1$ ¹⁾
Natrium (mmol/l)	$147,4 \pm 3,2$	143,0	158,0	$140,0 - 155,0$ ¹⁾
Chlorid (mmol/l)	$117 \pm 4,64$	111,0	122,0	$96,0 - 113,0$ ¹⁾
Phosphat (mmol/l)	$1,3 \pm 0,21$	1,0	1,7	$0,94 - 1,6$ ¹⁾
Gesamtprotein (g/l)	$64,4 \pm 3,77$	56,0	71,0	$60 - 80$ ¹⁾
Glukose (mmol/l)	$4,5 \pm 1,32$	2,8	7,3	$3,3 - 6,7$ ²⁾
Kalzium (mmol/l)	$2,7 \pm 0,12$	2,5	2,9	$1,2 - 1,8$ ²⁾

¹⁾ Aus: Grünbaum, Diagnostik von Nierenerkrankungen bei Hund und Katze (siehe Literaturverzeichnis).

²⁾ Aus: W. Kraft und U. M. Dürr; Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin (siehe Literaturverzeichnis).

Wie aus Tabelle 20 ersichtlich, waren bei der Messung der Blutparameter der Versuchstiere folgende Werte außerhalb des Referenzbereiches: Harnstoff (n=1), Natrium (n=1), Chlorid

(n=10), Phosphat (n=2), Gesamtprotein (n=1) und Glukose (n=4). Diese Werte lagen nur geringfügig unter- bzw. oberhalb des Referenzintervalls.

Anhand des klinischen Gesamteindrucks und der nur gering veränderten Blutparameter wurden alle Versuchstiere als gesund eingestuft.

3.2.1.3 Harnparameter einschließlich fraktioneller Elektrolytausscheidung und Quotienten von Nierenfunktionsparametern

In der Tabelle 21 sind die gemessenen Harn- Parameter der Feldtiere mit den zugehörigen Referenzbereichen enthalten.

Tab. 21 Harn- Parameter der Feldtiere (n= 12)

Parameter	$\bar{X} \pm s$	X_{\min}	X_{\max}	Referenzbereich
Gesamteiweiß (g/l)	26,9 ± 18,38	3,2	46,2	variabel
Kreatinin (µmol/l)	21189,4 ± 8417,3	4778,8	32169,9	9000 – 27000 ²⁾
Kalium (mmol/l)	115,9 ± 58,47	12,00	216,30	variabel
Natrium (mmol/l)	156,2 ± 71,97	29,10	232,90	variabel
Kalzium (mmol/l)	0,07 ± 0,034	0,009	0,14	variabel
Phosphat (mmol/l)	6,8 ± 3,9	1,2	14,1	variabel
Osmolalität (mosmol/kg)	1516 ± 453,78	363	2006	975 – 2545 ²⁾

Der Kreatininwert im Urin befand sich bei n=3 Probanden außerhalb des Referenzbereiches. Die Osmolalität war bei einem Probanden erniedrigt (Proband H10).

In der Tabelle 22 geschieht die Darstellung der Werte für die fraktionelle Elektrolytausscheidung (FE) über die Nieren. Sie errechnet sich

$$FE_x (\%) = \left(\frac{[X]_{Harn}}{[X]_{Plasma}} \right) \times \left(\frac{[Kreatinin]_{Plasma}}{[Kreatinin]_{Harn}} \right) \cdot 100 \quad (16).$$

Tab. 22 Fraktionelle Elektrolytausscheidung der Feldtiere (n= 12)

	$\bar{x} \pm s$	x_{\min}	x_{\max}	Referenzbereich
FE Natrium (%)	0,5 ± 0,42	0,03	1,4	0,0- 0,7 ¹⁾
FE Phosphat (%)	15,3 ± 8,17	0,9	23,1	3,0- 39,0 ¹⁾
FE Kalium (%)	6,9 ± 3,49	0,3	12,1	0,0- 20,0 ¹⁾

Bei der Ermittlung von FE_{Na} befand sich ein Wert außerhalb des Referenzbereiches (Proband H7). Alle anderen errechneten Ausscheidungsparameter befanden sich im angegebenen Referenzintervall.

Außerdem bestimmten wir noch die in Tabelle 23 angegebenen Parameter der Nierenfunktion.

Tab. 23 Parameter der Nierenfunktionen bei den Feldtieren (n= 12)

Urin/ Serum-Quotient	$\bar{x} \pm s$	x_{\min}	x_{\max}	Referenzbereich
Kreatinin	251,1 ± 90,54	101,9	351,3	> 100 ¹⁾
Osmolalität	4,8 ± 1,46	1,2	6,2	> 3 ¹⁾
Protein/ Kreatinin- quotient im Urin	0,8 ± 0,48	0,1	1,3	< 1 ¹⁾

Bei der Ermittlung des Quotienten aus Urin- und Serumosmolalität konnte beim Probanden H10 (Q= 1,15) ein Wert außerhalb des Referenzintervalles festgestellt werden. Beim Protein/ Kreatinin-Quotienten im Urin konnten n=2 Werte außerhalb der Grenzen des Referenzbereiches ermittelt werden. Darunter befand sich ebenfalls der vermutlich erkrankte Hund H10.

Anhand der gemessenen Parameter in Blut und Urin konnten die Tiere (Ausnahme H10) als gesund eingestuft werden. Der Proband H10 muss als verdächtig für eine Nierenerkrankung angesehen werden.

Er wurde nach Versuchsdurchführung aufgrund des hohen Alters für einen großwüchsigen Hund (10 Jahre) und einer bestehenden hochgradigen Pyometra mit Einverständnis des Tierbesitzers euthanasiert.

3.2.2 Pharmakokinetik von Kreatinin nach peroraler oder subkutaner Gabe des Markers

3.2.2.1 Serumkonzentrations-Zeit-Verläufe, c_{\max} und t_{\max} der Markersubstanz Kreatinin bei Hunden im Nüchtern- Zustand

Orale Marker- Applikation: Nach oraler Applikation des Kreatinins an Hunde im „Nüchtern – Zustand“ stieg nachfolgend die Serum-[Kreatinin] im Zeitraum bis 120 min bei allen Versuchstieren steil an (Abbildungen 7, 8).

Die ermittelten Serum-[Kreatinin] lagen 12 h (720 min) nach Markerapplikation über den endogenen Ausgangskonzentrationen. Bei weiterführenden Messungen in der Gruppe der Feldtiere sind nach 24 Stunden (1440 min) die anfänglichen Serum-[Kreatinin] wieder erreicht (s. Abb. 8).

Insgesamt gleicht die Serumkonzentrations-Zeit-Kurve der applizierten Markersubstanz Kreatinin weitgehend einem umgekehrten „V“.

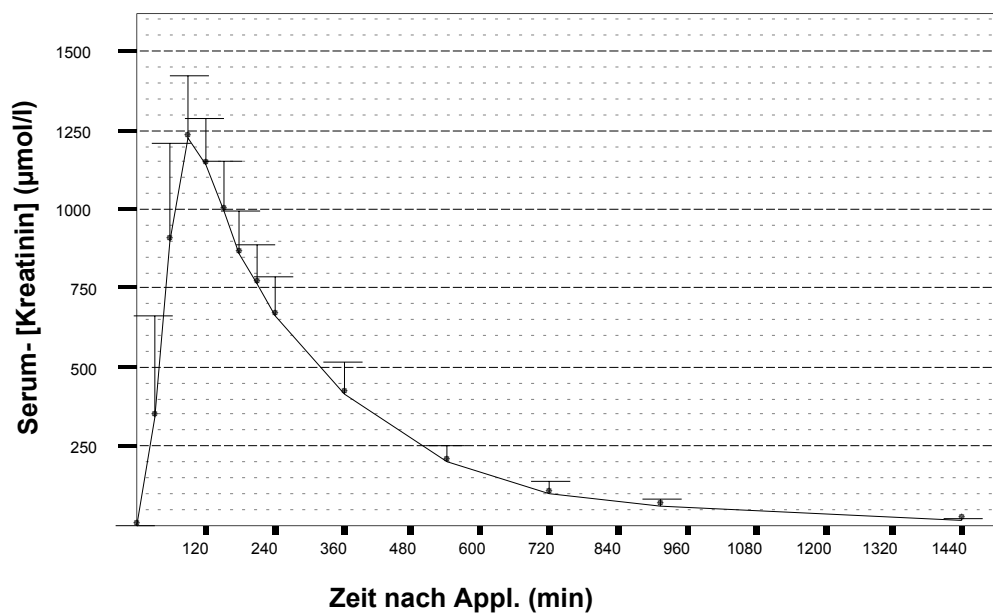


Abb. 7 Serum- [Kreatinin] ($\bar{x} + s$) der Versuchstiere (n=17) nach oraler Applikation des Markers Kreatinin (Nüchtern-Zustand)

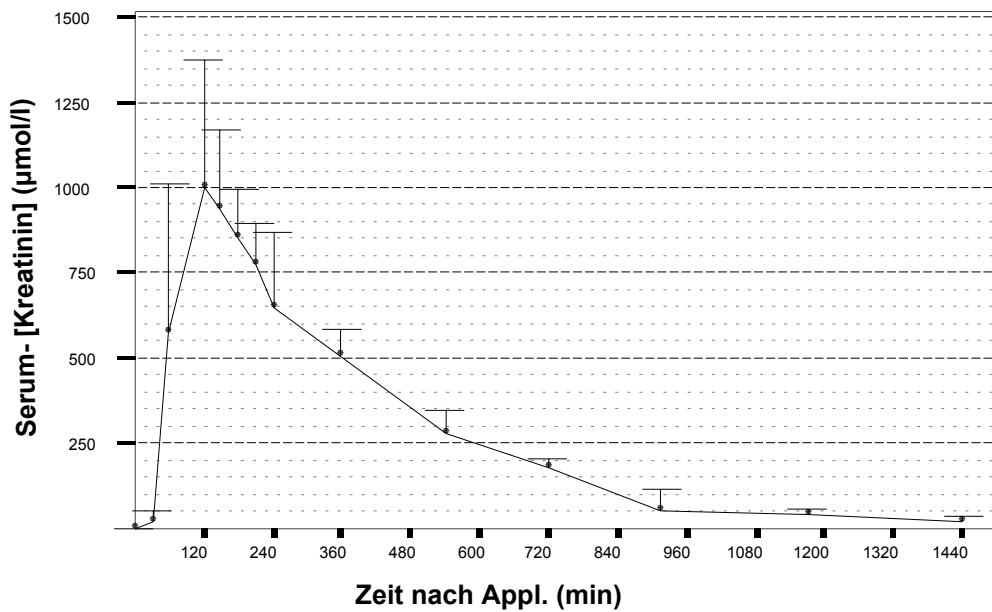


Abb. 8 Serum- [Kreatinin] ($\bar{x} + s$) der Feldtiere (n=9) nach oraler Applikation des Markers Kreatinin (Nüchtern-Zustand)

Die jeweils maximalen Konzentrationen $c_{\max, \text{Krea}}$ betragen bei den Versuchstieren $\leq 1519,5 \mu\text{mol/l}$ ($1282,3 \pm 174,14 \mu\text{mol/l}$). Der Minimalwert in dieser Gruppe lag bei $988,5 \mu\text{mol/l}$. Bei den Probanden aus der Feldstudie konnten maximale Konzentrationen des Markers im Serum $c_{\max, \text{Krea}} \leq 1470,8 \mu\text{mol/l}$ ($947,6 \pm 292,86 \mu\text{mol/l}$) ermittelt werden. Der geringste maximale Serum-[Kreatinin]-Wert lag in der Gruppe der Feldtiere bei $574,3 \mu\text{mol/l}$ (s. Abb. 9).

Bei den Versuchstieren wird zwischen 60 und 120 min ($t_{\max} = 92 \pm 18,7 \text{ min}$) nach Markierzufuhr die Maximalkonzentration (c_{\max}) von Kreatinin im Serum erreicht (siehe Abb.10). In der Gruppe der Feldtiere wurden die Werte für t_{\max} im Zeitraum zwischen 120 bis 360 min ($189 \pm 84,8 \text{ min}$) nach Kreatininzufuhr gemessen (siehe Abb.10).



Abb. 9 Gegenüberstellung der Werte für c_{\max} von Serum-[Kreatinin] nach oraler Gabe des Markers Kreatinin zwischen den Probandengruppen (Nüchtern-Zustand)

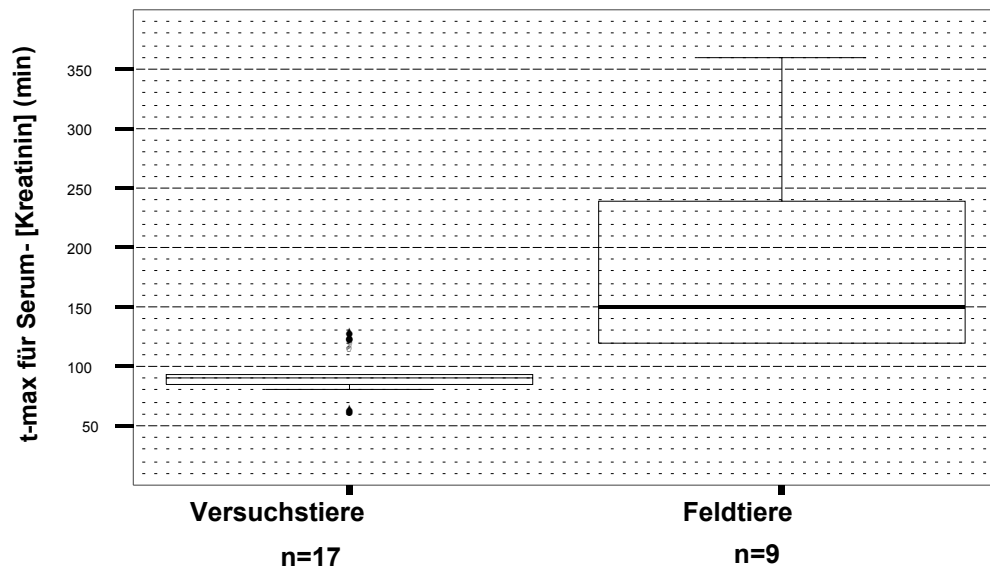


Abb. 10 Gegenüberstellung der Zeitpunkte t_{\max} für Serum- [Kreatinin] nach oraler Gabe des Markers Kreatinin zwischen den Probandengruppen (Nüchtern-Zustand)

Subcutane Markergabe: Nach subcutaner Applikation von Kreatinin stiegen die Serum - [Kreatinin] bei allen Probanden übereinstimmend im Zeitraum bis 30 min steil an (Abb. 11). Zwischen 30 und 60 min verlangsamte sich der Anstieg der Serum-[Kreatinin]. Nach 60 min begannen die Kreatininkonzentrationen wieder abzufallen. Die Maximalwerte von Kreatinin im Serum wurden im Bereich zwischen 30 und 60 min (52 ± 11 min) erreicht. Sie betragen $c_{\max, \text{Krea}} \leq 856,6 \mu\text{mol/l}$ ($670,4 \pm 105,98 \mu\text{mol/l}$). Die kleinste maximale Serum-[Kreatinin] war $546,0 \mu\text{mol/l}$.

Bei allen Probanden lagen die gemessenen Serum- [Kreatinin] zum Zeitpunkt 12 Stunden nach subcutaner Gabe des Markers Kreatinin nur noch geringfügig über den Ausgangskonzentrationen an endogenem Kreatinin ($c > 69 \mu\text{mol/l}$).

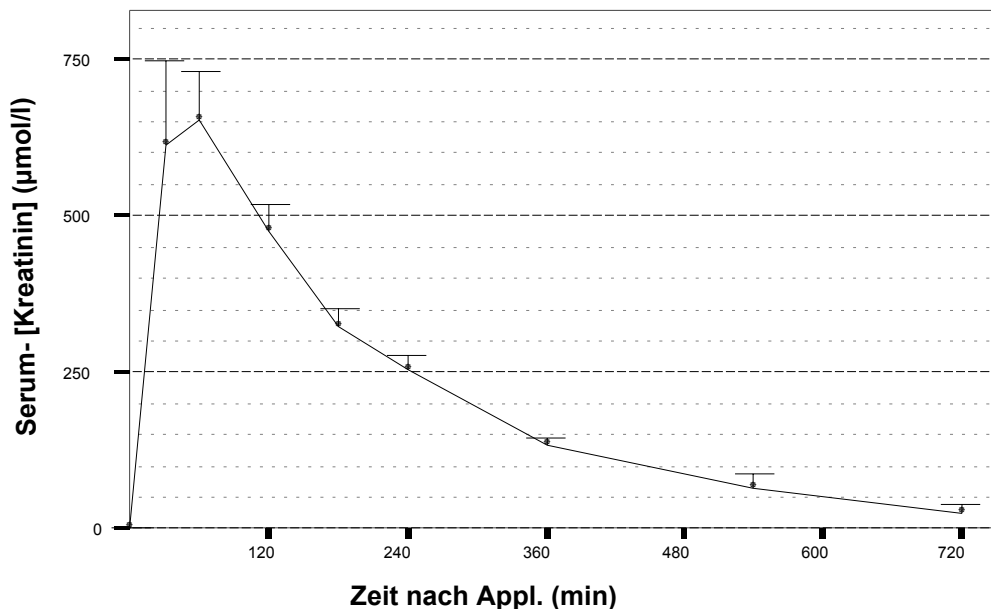


Abb. 11 Serum- [Kreatinin] ($\bar{x} + s$) der Versuchstiere (n=7) nach subcutaner Applikation des Markers Kreatinin (Nüchtern-Zustand)

Die Tabelle 24 enthält die ermittelten Maximalkonzentrationen und die dazugehörigen Zeitpunkte nach subcutaner Applikation des Markers Kreatinin im Nüchtern-Zustand der Hunde.

Tab. 24 Kennwerte der Serum- [Kreatinin] nach subcutaner Applikation der Markersubstanz Kreatinin (Nüchtern-Zustand)

	Maximalkonzentration c_{\max} ($\mu\text{mol/l}$)	Zeitpunkt t_{\max} (min)
Mittelwert	670,4	52
Standardabweichung	105,98	11
Median	672,6	55
1. Quartil	600	52
3. Quartil	708,85	58

3.2.2.2 Exogene Kreatinin-Plasma-Clearance bei Tieren im Nüchtern- Zustand

Wie aus der Tabelle 25 hervorgeht, waren die ermittelten Clearancewerte der Feldtiere nach oraler Applikation des Markers Kreatinin im Nüchtern-Zustand im Mittelwert etwa gleich den Werten der Versuchstiere. Der Proband H10 aus der Feldtierstudie, der aufgrund seiner blutchemischen und hämatologischen Parameter als verdächtig für eine Nierenerkrankung angesehen wurde, zeigte nach oraler Applikation von Kreatinin im Nüchtern- Zustand einen Clearance-Wert von $111,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. Eine Einschränkung der GFR konnte somit nicht nachgewiesen werden.

Tab. 25 Ergebnisse der Plasma- Clearance (P- CL) mit exogen zugeführtem Kreatinin der Probanden-Gruppen (Nüchtern- Zustand) in $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$

	Versuchstiere		Feldtiere
	orale Marker- Applikation	subcutane Marker- Applikation	orale Applikation
\bar{X}	99,8	113,7	102,9
S	19,53	11,50	20,17

Aus der Tabelle 25 ist weiterhin ersichtlich, dass die Werte der $P\text{-}CL_{\text{Kreatinin}}$ nach subcutaner Verabreichung des Markers bei den Versuchstieren im Mittel gering über den Werten nach oraler Verabreichung des Indikators liegen.

Eine Versuchsreihe bei den Feldtieren mit subcutaner Applikation des Kreatinins fand nicht statt, da die Besitzer der Hunde nur einer oralen Gabe des Markers zugestimmt hatten.

3.2.2.3 Bestimmung des monoexponentiellen Bereiches der Kreatinin- Ausscheidungskurve bei Tieren im Nüchtern- Zustand

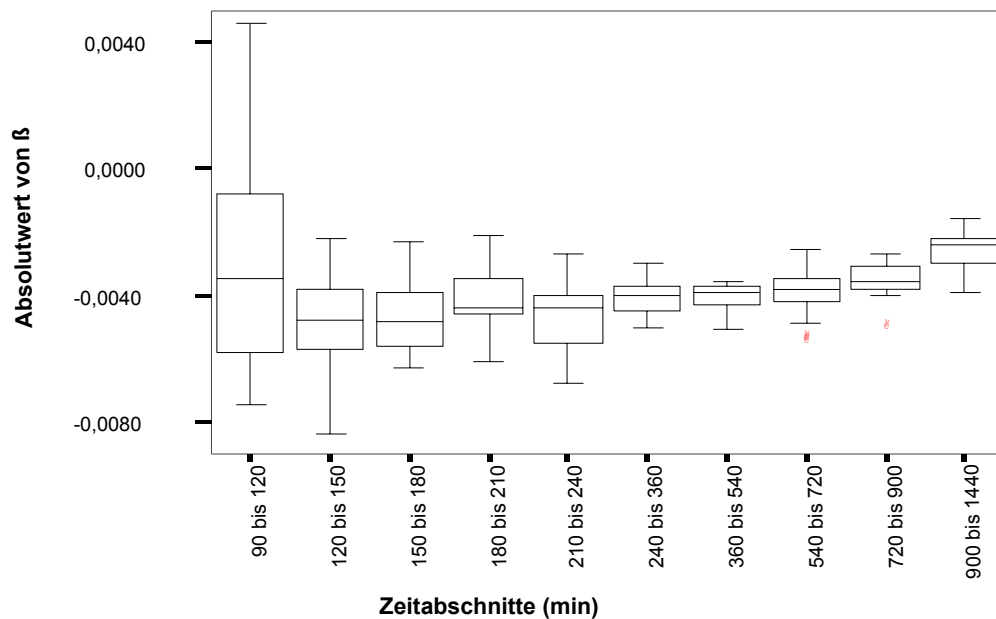
Nach Applikation von Kreatinin an die Hunde (oral, subcutan) erfolgen intestinale Absorption bzw. Resorption aus dem Gewebe des subcutanen Depots. Die im Verlaufe des Tests bestimmten Serum-[Kreatinin] drücken dabei das Nettoergebnis folgender Variablen aus: (1) Anfluten des Markers aus dem Magen-Darm-Kanal bzw. dem subcutanen Depot, (2) Verteilung des Markers im Körper sowie (3) Ausscheidung aus dem Organismus. Anfänglich dominieren die Variablen (1) und (2) das Bild der Serum-Kreatininkonzentrations-Zeitkurve. Nach erfolgter Absorption bzw. Resorption von Kreatinin und seiner vollständigen Verteilung im Hundeorganismus werden die Werte der Serum-[Kreatinin] nur noch von der Exkretion des Markers, d.h. im Fall von Kreatinin, von seiner renalen Ausscheidung geprägt.

Die Ausscheidung des Kreatinins aus dem Organismus folgt in der logarithmischen Darstellung einer Exponentialfunktion:

$$y = a \cdot e^{-\beta \cdot x} .$$

Die Steilheit der Ausscheidungskurve wird allein vom Betrag des Exponenten β ausgedrückt. Unter der Voraussetzung, dass exogen zugeführtes Kreatinin den Hundeorganismus über die Nieren verlässt, ergeben sich aus dem Exponentenwert für β Hinweise auf die GFR beim Probanden. Daher ist es unser diagnostische Ziel, bei den Probanden die Absolutwerte der Exponenten und damit die Nierentätigkeit (= GFR) zu bestimmen.

Vergleichend werden die Exponenten benachbarter Zeitabschnitte betrachtet. Erfolgt die Ausscheidung gleichmäßig, ergibt sich bei benachbarten Zeitabschnitten der gleiche Exponent, d.h. die Exkretion erfolgt dann monoexponentiell. Dieser Zeitraum ist entscheidend für die Ermittlung der GFR (s. Kap. 2.4.3.2) .



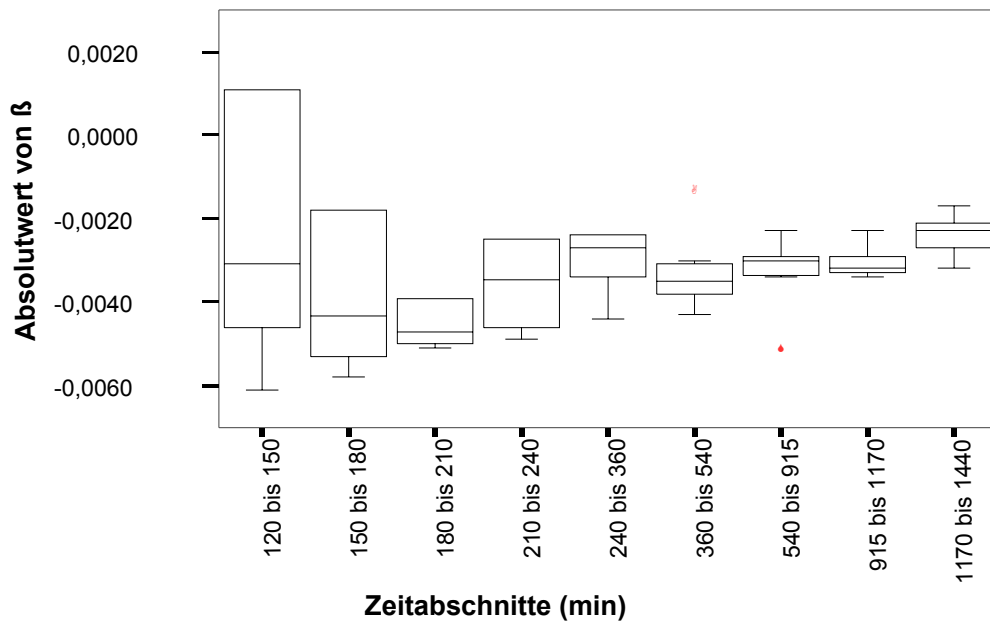
(Folgende Abschnitte befinden sich außerhalb des Darstellungsbereiches:
 30 bis 60 min, Median= 0,0481, 1.Quartil= 0,0381, 3.Quartil= 0,0651
 60 bis 90 min, Median= 0,0114, 1.Quartil= 0,00684, 3.Quartil= 0,0199).

Abb. 12 Exponenten der Ausscheidungskurve für Versuchstiere (n=17) nach oraler Applikation des Kreatinins (Nüchtern-Zustand)

Wie aus Abb.12 hervorgeht, befinden sich die Exponenten nach oraler Verabreichung von Kreatinin im Nüchtern- Zustand bei den Versuchstieren im Bereich von 2,5 h bis 12 h auf ähnlichem Niveau ($-0,0038 \leq M \leq -0,0048$).

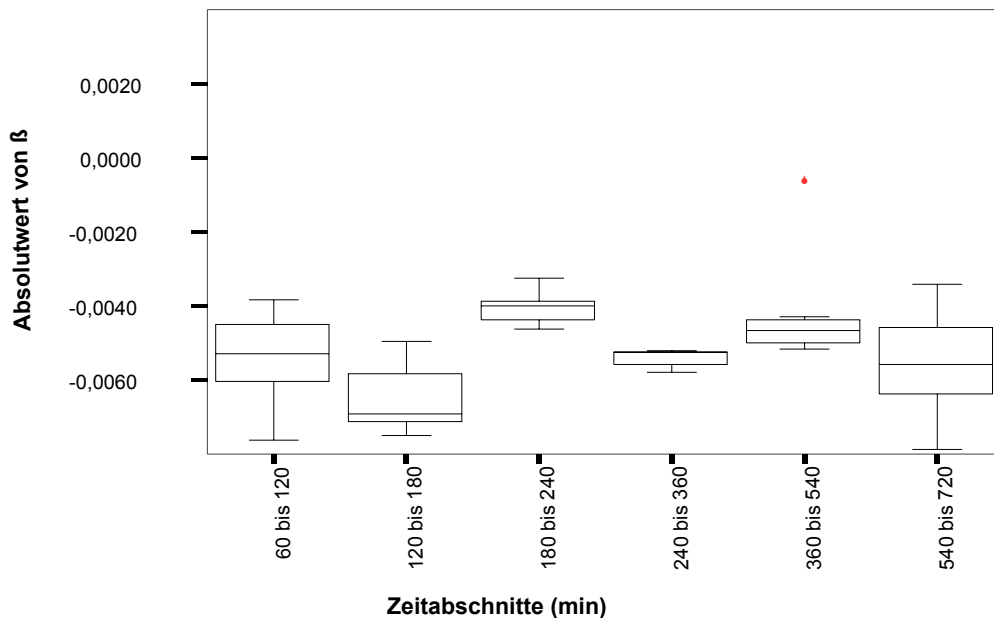
Bei den Feldtieren lässt sich der Bereich zwischen 3,5 h und 19,5 h nach oraler Verabreichung des Markers bestimmen, in dem die Exponenten ähnliche Werte erreichen ($-0,0027 \leq M \leq -0,0035$) (Abb. 13).

Subcutane Marker- Applikation: Nach subcutaner Applikation von Kreatinin im ungefütterten Zustand konnte das Zeitfenster zwischen 3 h und 9 h ermittelt werden, in dem der Abfall des Serum- Kreatinins auf ähnlichem Niveau verlief ($-0,0040 \leq M \leq -0,0052$) (Abb. 14).



(Der Abschnitt 60 bis 120 min befindet sich außerhalb des Darstellungsbereiches, Median= 0,00162, 1.Quartil= 0,0105, 3.Quartil= 0,0446)

Abb. 13 Exponenten der Ausscheidungskurve für Feldtiere (n=9) nach oraler Applikation des Kreatinins (Nüchtern-Zustand)



(Der Abschnitt 30 bis 60 min befindet sich außerhalb des Darstellungsbereiches, Median= 0,00507, 1.Quartil= 0,00083, 3.Quartil= 0,00552)

Abb. 14 Exponenten der Ausscheidungskurve für Versuchstiere (n=7) nach subcutaner Applikation des Kreatinins (Nüchtern-Zustand)

Zur besseren Beschreibung des monoexponentiellen Bereiches der Kreatinin-Ausscheidungskurve wurden die Differenzen der Werte für die Exponenten benachbarter Zeitabschnitte gebildet. Anschließend wurden Mittelwerte plus Konfidenzintervalle dieser Exponentendifferenzen errechnet. Anhand dieser statistischen Kenngrößen kann der monoexponentielle Zeitbereich vorteilhaft ermittelt werden.

Konfidenzintervalle mit geringem Absolutbetrag kennzeichnen die monoexponentielle Ausscheidungsphase des exogen zugeführten Kreatinins.

Orale Marker- Applikation

Die kleinsten Konfidenzintervalle konnten bei den Versuchstieren (n=17) im Bereich zwischen 2 und 24 h ermittelt werden (Abb. 15). Mit einer Ausnahme, die Exponentendifferenz (4-6) – (6-9) h, ergaben sich für die Feldtiere (n= 9) identische Befunde (Abb. 16).

Ausgangspunkt aller Auswertungen sind die 95 %- Konfidenzintervalle mit einem $\alpha = 0,05$.

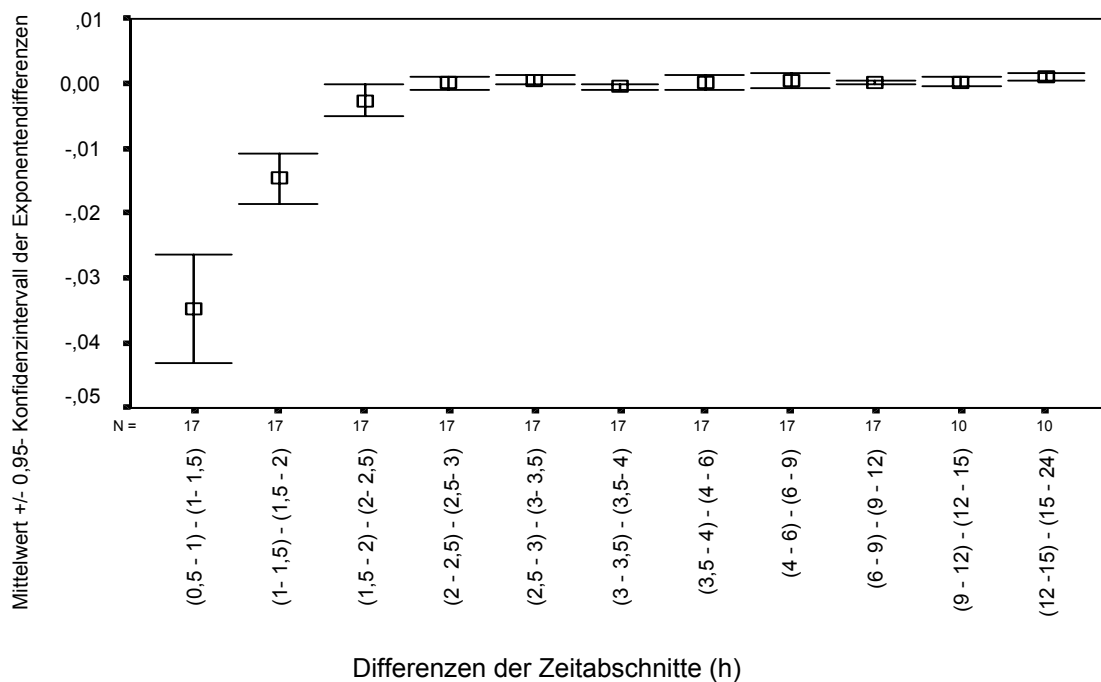


Abb. 15 Differenzen von β der Ausscheidungskurve zwischen untersuchten Zeitabschnitten ($\bar{x} \pm 0,95$ - Konfidenzintervall) im Nüchtern- Zustand bei den Versuchstieren (n= 17) nach oraler Markerapplikation

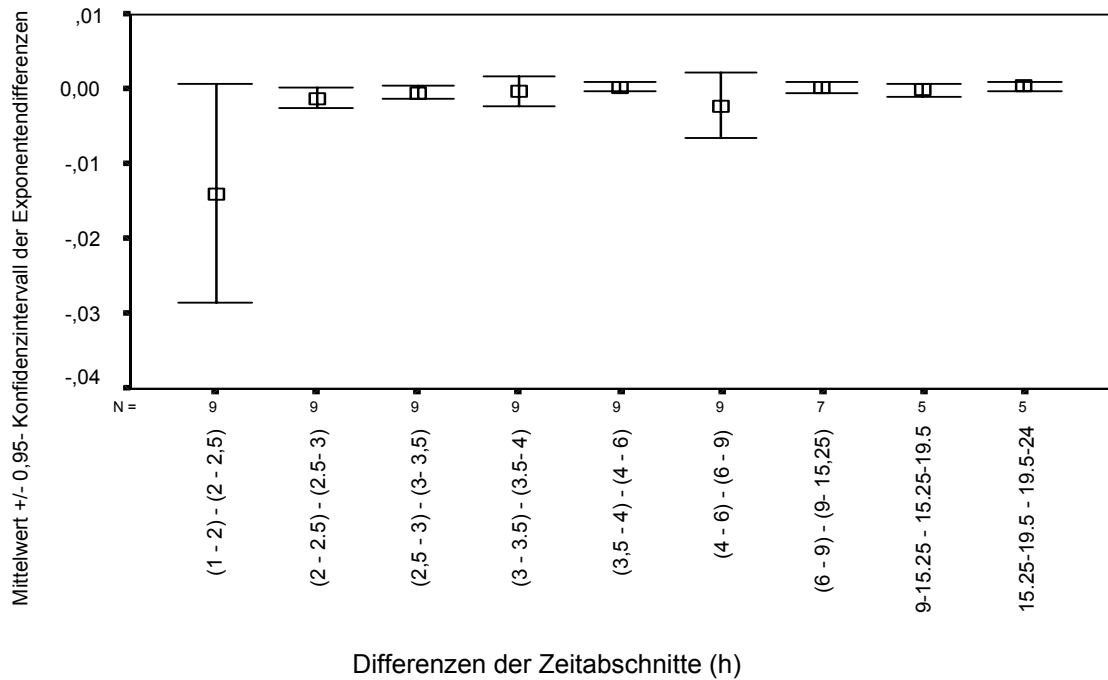


Abb. 16 Differenzen von β der Ausscheidungskurve zwischen untersuchten Zeitabschnitten ($\bar{x} \pm 0,95$ - Konfidenzintervall) im Nüchtern- Zustand bei den Feldtieren (n= 9) nach oraler Markerapplikation

Subcutane Markerzuführung

Nach subcutaner Applikation von Kreatinin im nüchternen Zustand konnte der Zeitraum zwischen 1 bis 12 Stunden (n=7) als das Zeitfenster ermittelt werden, in dem die Konfidenzintervalle der Exponentendifferenzen niedrige Werte aufwiesen (Abb. 17).

Die geringste Streuung der Exponentendifferenzen fanden wir für den Zeitabschnitt 3 bis 6 h.

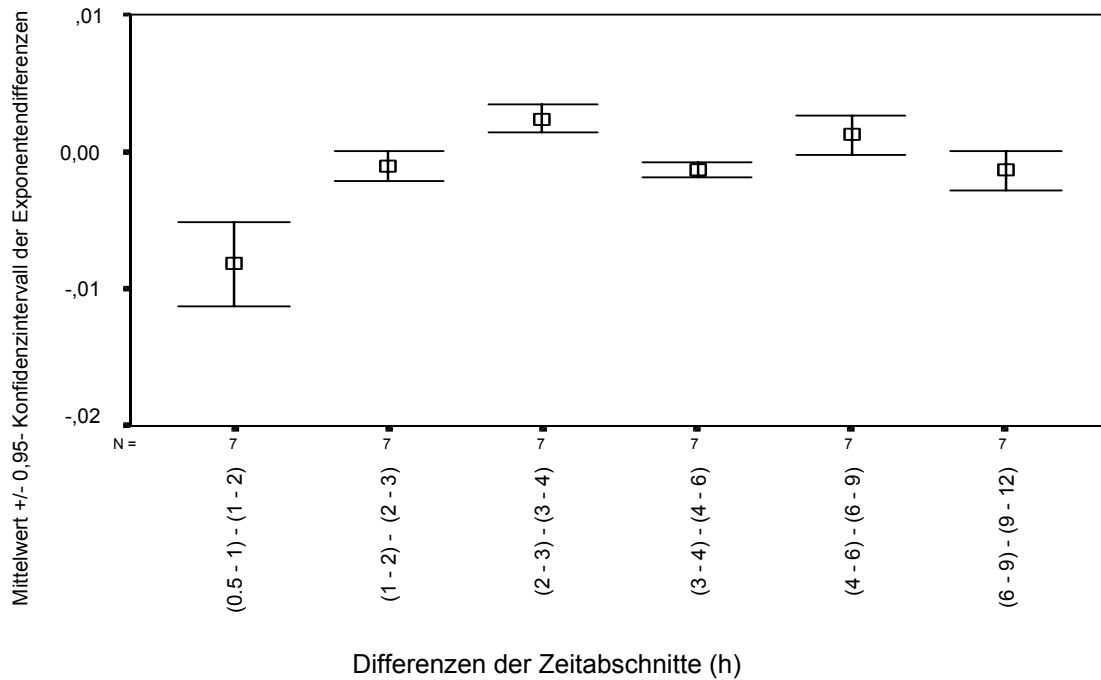


Abb. 17 Differenzen von β der Ausscheidungskurve zwischen untersuchten Zeitabschnitten ($\bar{x} \pm 0,95$ - Konfidenzintervall) im Nüchtern- Zustand bei den Versuchstieren (n= 7) nach subcutaner Markerapplikation

Bestimmtheitsmaße der geeigneten Zeitabschnitte der Ausscheidungskurve

Zur näheren Beschreibung und als weitere Form der Darstellung des monoexponentiellen Charakters der einzelnen Zeitabschnitte wurden die Bestimmtheitsmaße berechnet.

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Computerprogramms Excel®. Durch die drei gemessenen Punkte der zeitabhängigen Kreatininkonzentrationen eines Probanden wurde eine exponentielle Trendlinie konstruiert und die Gleichung mit dem zugehörigen Bestimmtheitsmaß errechnet (Abb.18).

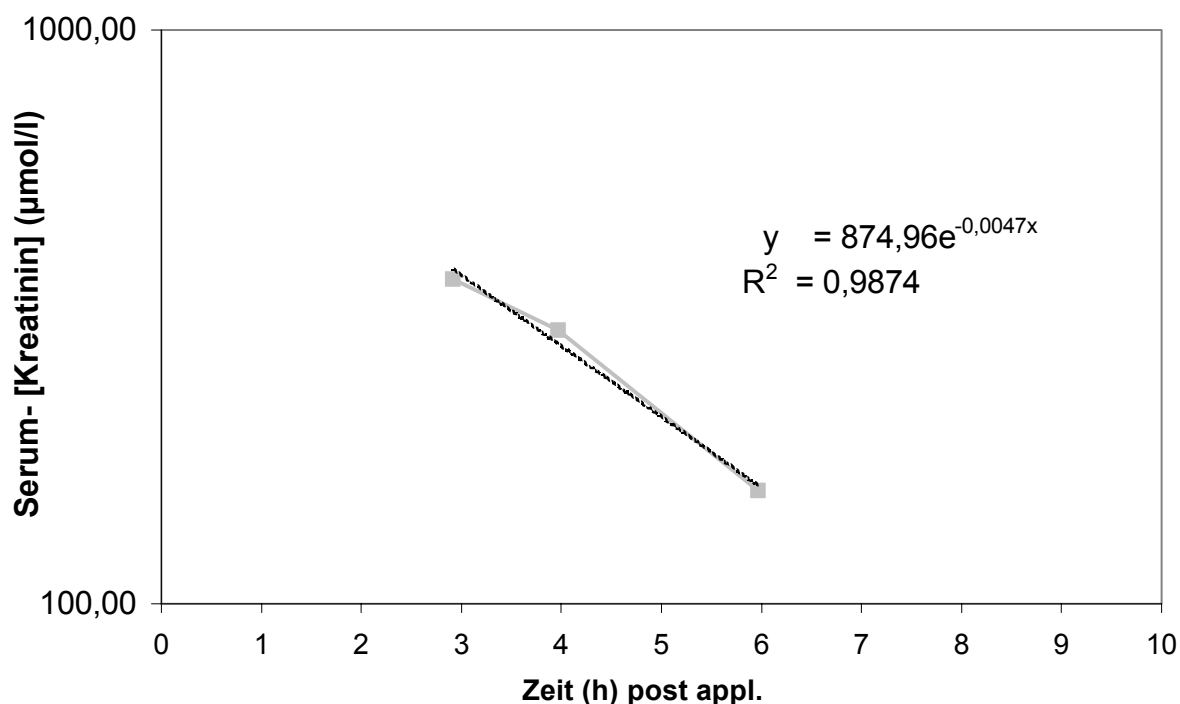


Abb. 18 Darstellung von Konzentrations-Zeit-Kurve (grau) und Trendlinie (schwarz) mit korrespondierender Exponentialgleichung für den Hund Kos- H2 nach subcutaner Applikation (Nüchtern-Zustand)

In der Tabelle 26 sind die Zeiträume aufgeführt, von denen das Bestimmtheitsmaß der Serumkonzentrations-Zeit-Kurve über die drei Blutentnahmezeitpunkte ermittelt wurde.

Tab. 26 Selektierte Zeiträume (h) der Tiergruppen zur Berechnung der Bestimmtheitsmaße

Tiergruppe	oral Nüchtern	subcutan nüchtern
Versuchstiere	2,5 – 12	3 - 9
Feldtiere	3,5 – 19,5	-

Bei der Auswertung ergaben sich die Bestimmtheitsmaße mit dem höchsten Medianwert bei den Versuchstieren im nüchternen Zustand nach oraler Applikation ($R^2 = 0,9985$), gefolgt von der subcutanen ($R^2 = 0,9980$) Applikation.

In der Feldtierstudie konnten bei den oralen Applikationen im nüchternen Zustand ähnliche Bestimmtheitsmaße ermittelt werden ($R^2 = 0,9982$).

Damit ergaben sich nahezu identische Bestimmtheitsmaße für Versuchstiere und Feldtiere nach oraler bzw. subcutaner Applikation der Markersubstanz Kreatinin im Nüchtern- Zustand.

Tab. 27 Median und Quartile der Bestimmtheitsmaße (R^2) für die selektierten Zeiträume bei allen Tiergruppen nach Applikation der Markersubstanz Kreatinin (Nüchtern- Zustand)

Tiergruppe	Median	25 %- Quartil	75 %- Quartil
Versuchstiere oral nüchtern	0,9985	0,9976	0,9995
Versuchstiere subcutan nüchtern	0,9980	0,9967	0,9989
Feldtiere oral nüchtern	0,9982	0,9937	0,9992

Wie aus der Abbildung 18 hervorgeht, erfolgt die Berechnung des Exponenten durch die Messung der Konzentration der Markersubstanz in 3 Proben post appl. und der Bestimmung des Abfalls der Serum-Konzentrations-Zeit- Kurve mittels Bildung der Regressionsgerade durch diese 3 Punkte.

Das aus dieser Bestimmung resultierende Bestimmtheitsmaß stellt ein Kriterium dar, mit welchem die Güte der Anpassung dieser 3 gemessenen Punkte an die Regressionsgerade gemessen werden kann.

Folglich kann ein Bestimmtheitsmaß $\geq 0,9937$ nach oraler Applikation der Markersubstanz Kreatinin und ein Bestimmtheitsmaß $\geq 0,9967$ nach subcutaner Applikation des Markers akzeptiert werden. Liegt das Bestimmtheitsmaß unterhalb dieser Grenze, die das 25 %- Quartil dieser Versuchsreihe darstellt, kann die Ermittlung der $P-CL_{\text{Kreatinin}}$ anhand dieser gewählten 3 Proben nicht durchgeführt werden, und die Funktionsprüfung der Nieren sollte wiederholt werden.

3.2.3.1 Einfluss der Fütterung auf die Pharmakokinetik exogenen Kreatinins

Vergleichend zur oralen und subcutanen Applikation des Kreatinins im nüchternen Zustand wurden die Ergebnisse nach oraler und subcutaner Verabreichung im Zustand nach vorgehender Fütterung herangezogen.

Orale Marker- Applikation

Wie aus der Abbildung 19 ersichtlich, steigt die Serum-[Kreatinin] bis zum Zeitpunkt 30 min nach oraler Applikation des Markers Kreatinin im gefütterten Zustand bei den Versuchstieren steil an. Bei den Feldtieren erstreckt sich der Zeitraum des Kreatininanstiegs bis 240 min nach oraler Applikation (Abb. 20).

Die Serumkonzentrations-Zeit-Kurve entspricht wiederum dem Bild eines umgekehrten „V“. Bei den Feldtieren fällt nach dem Erreichen der Maximalkonzentration $c_{\max, \text{Kreatinin}}$ die Serumkonzentration von Kreatinin langsamer ab als bei den Versuchstieren.

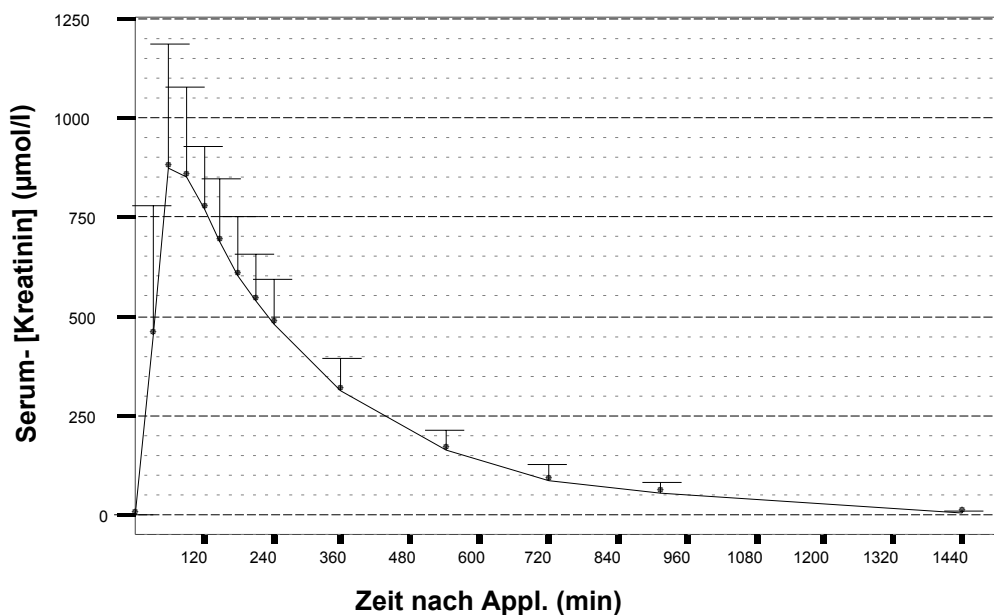


Abb. 19 Serum-[Kreatinin] ($\bar{x} + s$) der Versuchstiere (n=17) nach oraler Applikation des Markers (Fütterungszustand)

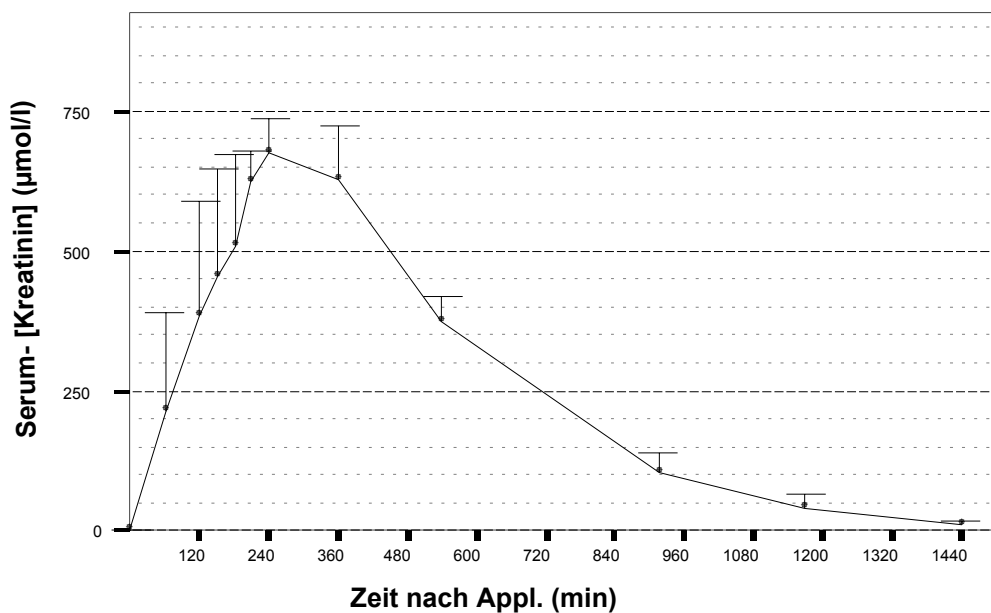


Abb. 20 Serum-[Kreatinin] ($\bar{x} + s$) der Feldtiere (n=3) nach oraler Applikation des Markers (Fütterungszustand)

Maximalkonzentration c_{\max} sowie Zeit bis zum Erreichen der maximalen Konzentration t_{\max}

Wie aus der Tabelle 30 ersichtlich, werden die Maximalkonzentrationen bei den Feldtieren später als bei den Versuchstieren erreicht. Die Werte von $c_{\max, \text{Kreatinin}}$ der Versuchstiere liegen im Mittelwert über den Ergebnissen der Feldtiere (Tab.28).

Die maximal messbare Serum-[Kreatinin] $c_{\max, \text{Kreatinin}}$ liegt nach Fütterung sowohl bei den Versuchstieren als auch bei den Feldtieren niedriger als nach oraler Applikation im nüchternen Zustand (vgl. Abbildungen 7, 8). Bei den Versuchstieren beträgt die Differenz der Mittelwerte 338,7 µmol/l, bei den Feldtieren 257,9 µmol/l.

Wie aus Tabelle 28 erkennbar, sind die maximal messbaren Konzentrationen an Kreatinin bei den Versuchstieren im Mittelwert um 76 min post applicationem exogenes Kreatinin erreicht. Zeitlich kann c_{\max} im Mittel damit früher als nach oraler Applikation im nüchternen Zustand gemessen werden ($92 \pm 18,7$ min).

Bei den Feldtieren zeigen sich etwas andere Verhältnisse. In dieser Gruppe wird die maximale Serum-[Kreatinin] im Mittel 41 min später als im Nüchtern-Zustand erreicht.

Tab. 28 Werte der maximalen Serum- [Kreatinin] c_{\max} ($\mu\text{mol/l}$) nach oraler Applikation (Fütterungszustand)

	Versuchstiere	Feldtiere
\bar{X}	943,6	689,7
S	201,3	41,5

Tab. 29 Kennwerte der t_{\max} (min) nach oraler Applikation (Fütterungszustand)

	Versuchstiere	Feldtiere
\bar{X}	76	230
S	25,3	17,3

Bestimmung der monoexponentiellen Phase der Kreatininausscheidung

Nach Bestimmung der Exponenten und Erfassung der zugehörigen Exponentendifferenzen zwischen benachbarten Zeitabschnitten konnte als geeignetes Zeitfenster für die Probenentnahmen nach exogener oraler Kreatininzufuhr der Zeitraum zwischen 3 und 12 h ermittelt werden. In diesem Bereich lagen die Exponentendifferenzen mit dem geringsten Konfidenzintervall vor (Abb. 21). Dieses Zeitintervall befand sich im ermittelten Zeitraum nach oraler Applikation von Kreatinin im Nüchtern- Zustand zwischen 2 bis 24 h (Abb. 15).

Bei den Feldtieren konnte der Zeitraum zwischen 4 h und 19,5 h als der Zeitabschnitt mit den geringsten Konfidenzintervallen der Exponentendifferenzen berechnet werden (Abb. 22). Er war damit kürzer als im Nüchtern-Zustand mit 2 bis 24 h (Abb. 16).

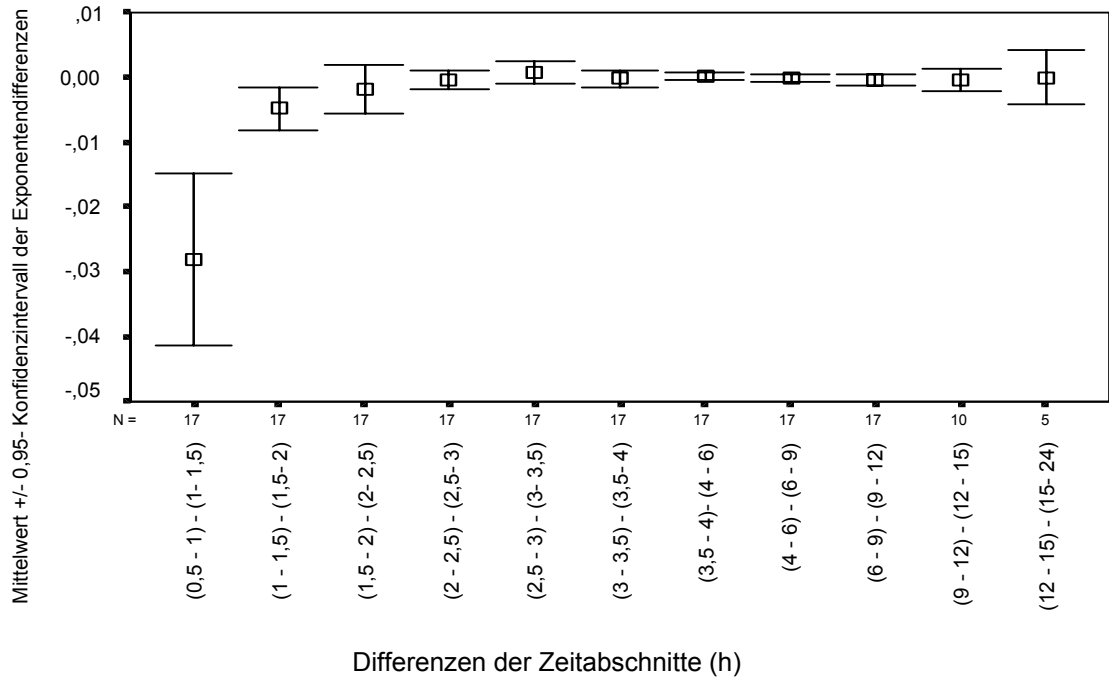


Abb. 21 Differenzen von β der Ausscheidungskurve zwischen untersuchten Zeitabschnitten ($\bar{x} \pm 0,95$ - Konfidenzintervall) im gefütterten Zustand bei den Versuchstieren (n= 17) nach oraler Markerapplikation

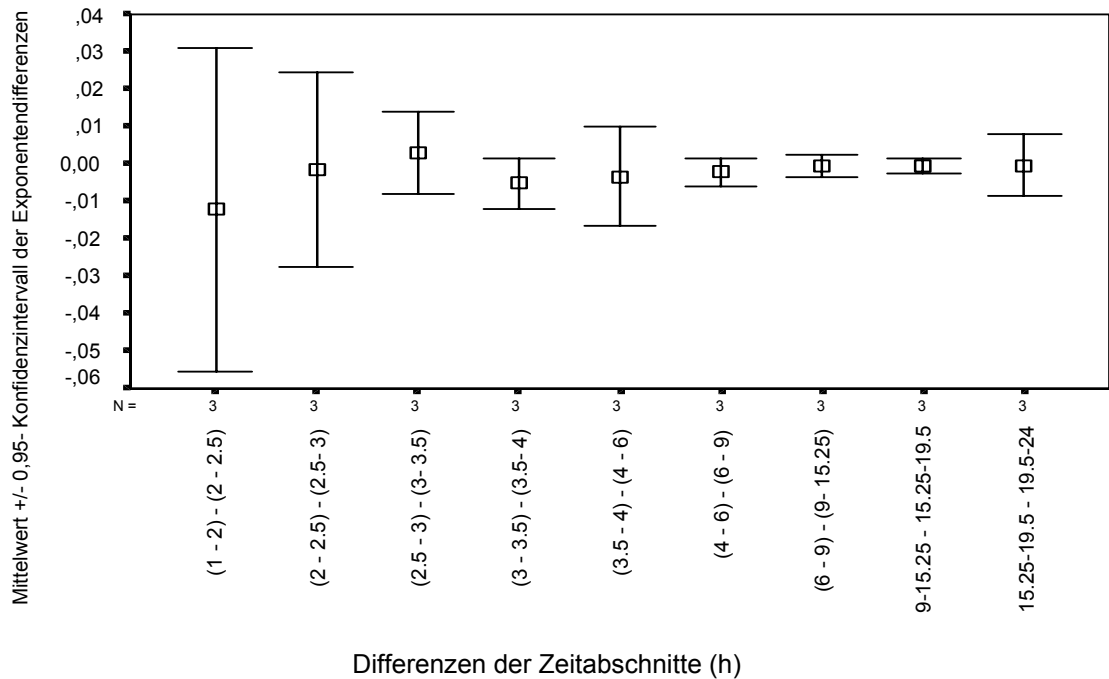


Abb. 22 Differenzen von β der Ausscheidungskurve zwischen untersuchten Zeitabschnitten ($\bar{x} \pm 0,95$ - Konfidenzintervall) im gefütterten Zustand bei den Feldtieren (n= 3) nach oraler Markerapplikation

Subcutane Marker- Applikation

Die Serum- [Kreatinin] bei den Versuchstieren im gefütterten Zustand stiegen bis 30 min nach subcutaner Applikation bei allen Probanden steil an. Das Bild der Serumkonzentrations- Zeit-Kurve gleicht einem umgekehrten „V“ (Abb. 23).

24 Stunden nach subcutaner Zufuhr des Markers konnten bei allen Probanden Serum-[Kreatinin] ermittelt werden, die unter den endogenen Ausgangskonzentrationen lagen.

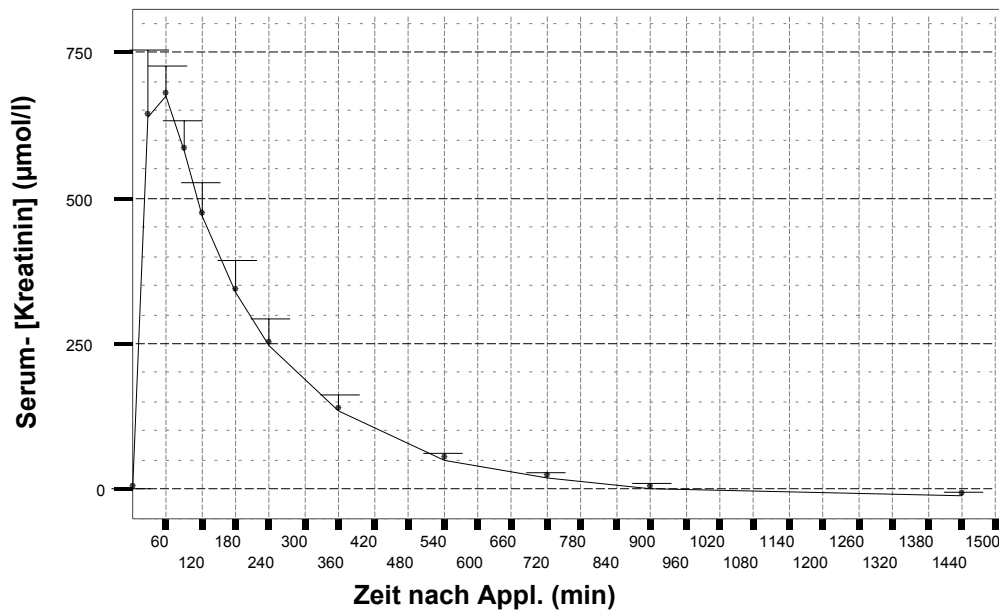


Abb. 23 Serum-[Kreatinin] ($\bar{x} + s$) der Versuchstiere (n=17) nach subcutaner Applikation des Markers Kreatinin (Fütterungszustand)

Wie Tabelle 31 andeutet, werden Höchstwerte an Kreatinin im Serum 30 bis 60 min ($48 \pm 14,6$ min) nach Applikation ermittelt. Diese maximal messbaren Werte $c_{\max, \text{Krea}}$ betragen $\leq 871,7 \mu\text{mol/l}$ ($699,4 \pm 74,51 \mu\text{mol/l}$) (s.Tab. 30).

Damit konnten nach subcutaner Injektion des Markers Kreatinin im Fütterungszustand ähnliche Werte wie im Nüchtern-Zustand festgestellt werden (s.Tab. 24).

Tab. 30 Maximalkonzentration c_{\max} ($\mu\text{mol/l}$) nach subcutaner Applikation des Markers Kreatinin (Fütterungszustand)

Kennwert	Subcutan gefüttert
Mittelwert	699,4
Standardabweichung	74,51

Tab. 31 Zeit bis Erreichen der Maximalkonzentration t_{max} (min) nach subcutaner Applikation des Markers Kreatinin (Fütterungszustand)

Kennwert	subcutan gefüttert
Mittelwert	48
Standardabweichung	14,6

Bestimmung der monoexponentiellen Phase der Kreatininausscheidung nach subcutaner Injektion

Nach subcutaner Injektion im gefütterten Zustand konnte der Zeitraum 1,5 bis 12 Stunden als der Zeitabschnitt mit den geringsten Konfidenzintervallen bestimmt werden (Abb. 24). Dieses Zeitfenster war damit länger als der ermittelte Zeitraum nach subcutaner Injektion im Nüchtern-Zustand (3 h bis 9 h).

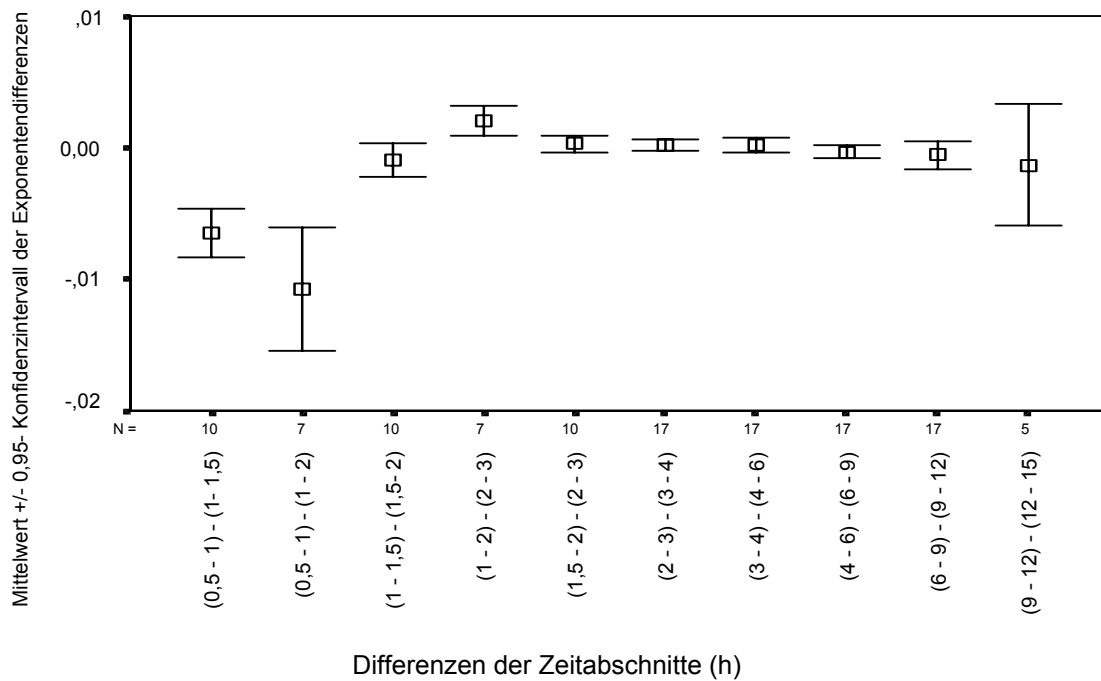


Abb. 24 Differenzen von β der Ausscheidungskurve zwischen untersuchten Zeitabschnitten ($\bar{x} \pm 0,95$ - Konfidenzintervall) im gefütterten Zustand bei den Versuchstieren (n= 17) nach subcutaner Markerapplikation

Bestimmtheitsmaße der selektierten Zeiträume

Wie aus Tabelle 32 hervorgeht, konnten die höchsten Medianwerte der Bestimmtheitsmaße bei den Versuchstieren im gefütterten Zustand nach subcutaner Applikation ($R^2 = 0,9969$) ermittelt werden. Nach oraler Applikation des Markers im gefütterten Zustand ergab sich ein Medianwert der Bestimmtheitsmaße von $R^2 = 0,9949$ bei den Versuchstieren und von $R^2 = 0,9829$ bei den Feldtieren.

Die Werte befanden sich damit auf etwas niedrigerem Niveau als nach Applikation im nüchternen Zustand (s. Tab. 27).

Tab. 32 Median und Quartile der Bestimmtheitsmaße (R^2) der selektierten Zeiträume bei allen Tiergruppen nach Applikation im gefütterten Zustand

Tiergruppe	Median	25 %- Quartil	75 %- Quartil
Versuchstiere oral gefüttert	0,9949	0,9880	0,9980
Versuchstiere subcutan gefüttert	0,9969	0,9925	0,9983
Feldtiere oral gefüttert	0,9829	0,9752	0,9852

Werte für $P-CL_{Kreatinin,exogen}$

In der Tabelle 33 sind die Werte der $P-CL_{Kreatinin,exogen}$ nach Gabe von Kreatinin im gefütterten Zustand aufgeführt. Alle Probanden zeigen höhere Clearance-Werte nach Zufuhr von Nahrung im Vergleich zum Nüchtern-Zustand (vgl. Tab. 25).

Bei den gefütterten Versuchstieren liegt der Wert der Plasma-Clearance von exogenem Kreatinin nach oraler Applikation im Mittel um $31,8 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ und nach subcutaner Applikation um $3,8 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ höher als im Nüchtern-Zustand der gleichen Applikationsart.

Bei den gefütterten Feldtieren konnten Clearance-Werte nach oraler Applikation ermittelt werden, die im Mittelwert $4,6 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ geringer waren als im ungefütterten Zustand.

Tab. 33 Ergebnisse der P-CL mit exogenem Kreatinin der Probanden- Gruppen (Fütterungszustand) in $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$

	Versuchstiere		Feldtiere
	orale Applikation	subcutane Applikation	orale Applikation
\bar{X}	131,6	117,5	98,3
S	27,78	14,03	12,07

Wilcoxon-Test der Clearance-Werte und der Exponenten

Zur Bewertung vorhandener Unterschiede bei den Clearance-Werten der Versuchstiere wurde der nichtparametrische Test für gepaarte Stichproben (Wilcoxon-Test) durchgeführt.

Wie aus Tabelle 34 ersichtlich, konnten statistisch gesicherte Unterschiede der Werte für die Clearance zwischen den Tiergruppen (oral gefüttert - oral nüchtern), (subcutan gefüttert - oral nüchtern), (subcutan nüchtern - oral gefüttert), (subcutan gefüttert - oral gefüttert) sowie (subcutan gefüttert - subcutan nüchtern) nachgewiesen werden.

Zwischen den ermittelten Clearance-Werten im nüchternen Zustand gab es keine nachweisbaren Signifikanzen.

Tab. 34 Wilcoxon-Test der Clearance-Werte bei den Versuchstieren nach oraler und subcutaner Marker- Applikation

	Oral Gefüttert - Oral Nüchtern	Sc Nüchtern - Oral Nüchtern	Sc Gefüttert - Oral Nüchtern	Sc Nüchtern - Oral Gefüttert	Sc Gefüttert - Oral Gefüttert	Sc Gefüttert - Sc Nüchtern
Z	-3,148 ^a	-,676 ^a	-2,935 ^a	-2,197 ^b	-2,864 ^b	-2,366 ^a
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,002	,499	,003	,028	,004	,018

a. Basiert auf negativen Rängen.

b. Basiert auf positiven Rängen.

Zum Nachweis von Signifikanzen in den ausgewählten Zeitabschnitten der monoexponentiellen Phase der Kreatininausscheidung wurden die Exponenten in diesen Abschnitten dem Wilcoxon-Test für gepaarte Stichproben unterzogen. Dazu wurden in den Zeitabschnitten die Mittelwerte der Exponenten gebildet. Diese gingen in die statistische Auswertung ein.

Wie aus Tabelle 35 hervorgeht, konnten statistisch gesicherte Signifikanzen zwischen den Exponenten (subcutan gefüttert - subcutan nüchtern), (subcutan gefüttert - oral nüchtern) und

(subcutan gefüttert - oral gefüttert) nachgewiesen werden. Zwischen den Exponenten (oral gefüttert - oral nüchtern), (subcutan nüchtern - oral nüchtern) und (subcutan nüchtern - oral gefüttert) bestand keine nachweisbare Signifikanz.

Tab. 35 Wilcoxon-Test mit den Exponenten der selektierten Zeitabschnitte für die Versuchstiere nach oraler und subcutaner Applikation

	Expo oral gef. - Expo oral nüch	Expo sc gef. - Expo oral nüch	Expo sc nüch - Expo oral nüch	Expo sc gef. - Expo oral gef.	Expo sc nüch - Expo oral gef.	Expo sc nüch - Expo sc gef.
Z	-1,735 ^a	-3,519 ^b	-,736 ^a	-3,625 ^b	-,507 ^a	-2,366 ^a
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,083	,000	,462	,000	,612	,018

a. Basiert auf negativen Rängen.

b. Basiert auf positiven Rängen.

3.2.3 Pharmakokinetik von oral verabfolgter Xylose

Zum Vergleich des intestinalen Absorptionsverhaltens von Kreatinin wurde der bekannte Marker Xylose oral verabreicht. Ausgewertet werden die Maximalkonzentrationen c_{\max} , Zeit bis zum Erreichen der Maximalkonzentration t_{\max} und die Zeitspanne bis zum Erreichen der Ausgangskonzentration an Serum-[Xylose].

Von der Markersubstanz Xylose ist das Absorptionsverhalten auch im Hundeorganismus hinreichend bekannt. Insbesondere die Transportwege durch das Epithel und der parazelluläre Absorptionsvorgang von Xylose sind bereits dargestellt worden. Des Weiteren sind in vorangegangenen Untersuchungen die Absorptionsgeschwindigkeit und Maximalkonzentrationen ermittelt worden.

3.2.3.1 Serumkonzentrations-Zeit-Verläufe, c_{\max} und t_{\max} bei Tieren im Nüchtern-Zustand

Wie aus Abbildung 25 ersichtlich, steigt die Serum-[Xylose] bis zum Zeitpunkt 60 min nach oraler Applikation des Markers bei den Probanden an. Die Serumkonzentrations-Zeit-Kurve gleicht einem umgekehrten „V“. Bei n= 4 Hunden konnten Ausgangskonzentrationen von > 0 mmol/l festgestellt werden.

Nach 6 Stunden waren Xylosekonzentrationen im Serum erreicht, die nur noch wenig über den Ausgangswerten vor Versuchsdurchführung lagen ($c \leq 0,61$ mmol/l).

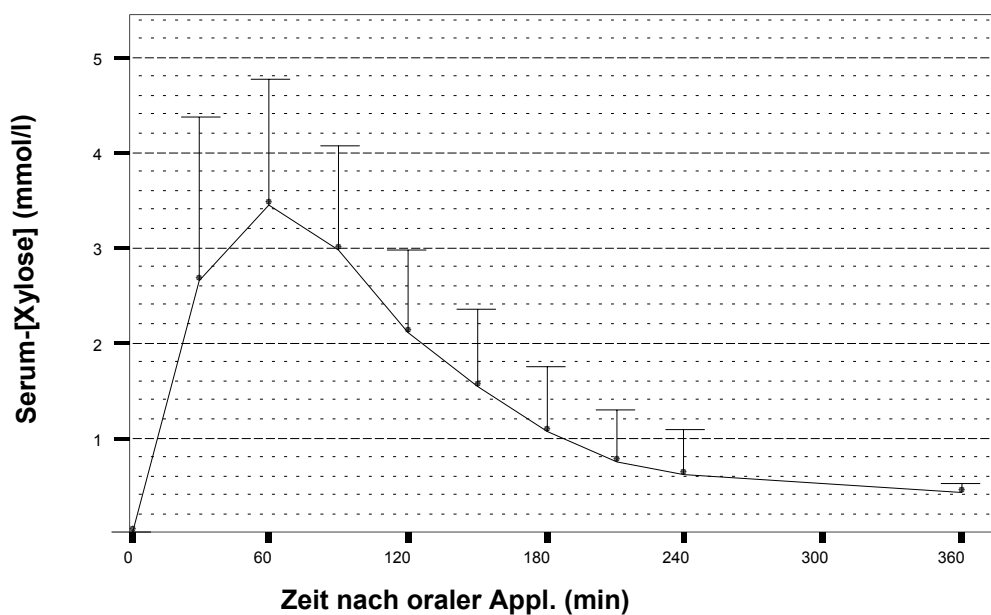


Abb. 25 Serum-[Xylose] ($\bar{x} + s$) der Versuchstiere (n=17) nach oraler Applikation des Markers Xylose (Nüchtern-Zustand)

Die Tabelle 36 enthält die Kennwerte der Serumkonzentrations-Zeit-Kurve nach oraler Verabfolgung von Xylose im Nüchtern- Zustand.

Im Zeitraum von 30 bis 90 min ($62 \pm 19,7$ min) werden die Maximalkonzentrationen c_{\max} von Xylose im Serum erreicht. Die höchsten Werte betragen $c_{\max} \leq 5,27$ mmol/l ($3,7 \pm 1,27$ mmol/l).

Tab. 36 Kennwerte der Serum-[Xylose] nach oraler Applikation der Markersubstanz Xylose (Nüchtern-Zustand)

	Maximalkonzentration c_{\max} (mmol/l)	Zeitpunkt t_{\max} (min)
\bar{x}	3,7	62
s	1,27	19,7
Median (M)	4,15	60
1.Quartil	2,75	53
3.Quartil	4,61	64

3.2.3.2 Einfluss der Fütterung auf die Pharmakokinetik von Xylose

Wie aus Abbildung 26 hervorgeht, steigt die Serum-[Xylose] im gefütterten Zustand 30 min nach oraler Applikation des Markers Xylose bei den Probanden steil an. Danach bis 60 min erfolgt der Anstieg langsamer.

Die Ausgangswerte der Serum-[Xylose] sind nach 6 Stunden annähernd wieder erreicht ($c \leq 0,46 \text{ mmol/l}$) (Abb. 26).

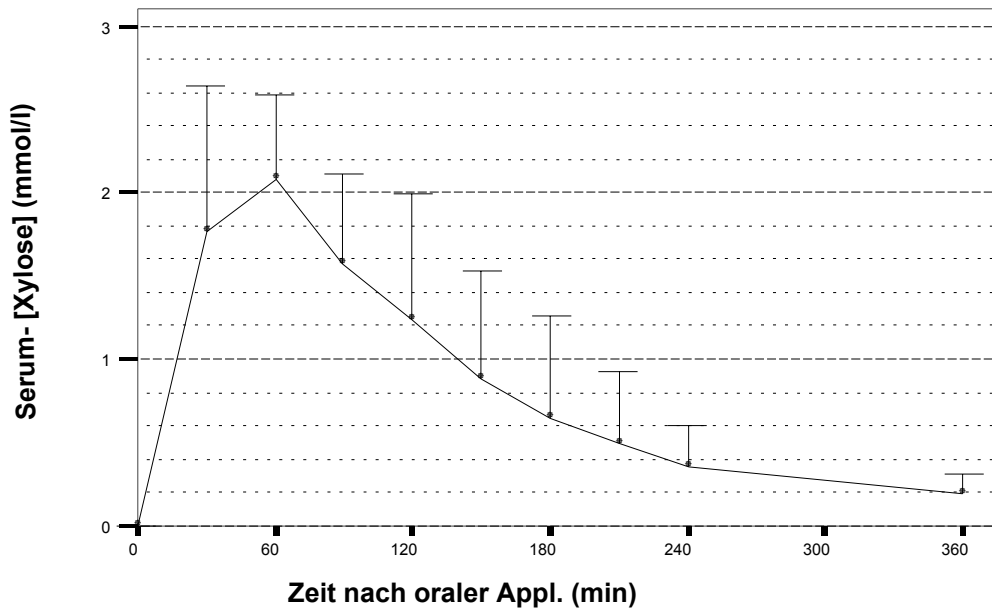


Abb. 26 Serum-[Xylose] ($\bar{x} + s$) der Versuchstiere ($n=10$) nach oraler Applikation des Markers Xylose (Fütterungszustand)

Abweichend zur oralen Gabe im nüchternen Zustand werden jetzt die Maximalkonzentration $c_{\max, \text{Xylose}}$ zeitlich geringfügig eher erreicht (vgl. Ergebnisse in Tabellen 36 und 37). Maximalwerte an Xylose sind bei den Einzeltieren im Zeitraum von 30 bis 120 min ($52 \pm 28 \text{ min}$) messbar. Die höchsten Werte betragen $c_{\max} \leq 3,28 \text{ mmol/l}$ ($2,4 \pm 0,58 \text{ mmol/l}$). Sie liegen damit durchschnittlich niedriger als die Maximalkonzentration nach oraler Applikation von Xylose im Nüchtern-Zustand der Tiere.

Tab. 37 Kennwerte der Serum-[Xylose] nach oraler Applikation der Markersubstanz Xylose (Fütterungszustand)

	Maximalkonzentration c_{\max} (mmol/l)	Zeitpunkt t_{\max} (min)
\bar{x}	2,4	52
s	0,58	28
Median (M)	2,3	47,5
1.Quartil	2	31
3.Quartil	2,6	60