Aus der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie des Klinikum im Friedrichshain, Vivantes-Netzwerk für Gesundheit GmbH Akademisches Lehrkrankenhaus der medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Analyse der Wirkstoffkonzentration von Paracetamol in Serum und Speichel nach rektaler Applikation bei gynäkologischen Eingriffen - Vergleichende Bestimmung der Paracetamol-Konzentrationen mittels HPLC und Immunoassay

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)
vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von Sabine Welfle aus Königs Wusterhausen

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. S. Veit

2. Prof. Dr. med. W. Lichtenegger

3. Priv.-Doz. Dr. med. U. Torsten

Datum der Promotion: 23.09.2007

Inhaltsverzeichnis

1.	Einle	itung	1
	1.1.	Eigenschaften und Formel von Paracetamol	1
	1.2.	Historischer Abriss	1
	1.3.	Klinische Verwendung von Paracetamol	2
	1.4.	Wirkungsmechanismus von Paracetamol	3
	1.5.	Pharmakokinetik und Pharmakodynamik	3
	1.6.	Nebenwirkungen und Toxizität	5
	1.7.	Behandlung der akuten Überdosierung	6
	1.8.	Sicherheit von Paracetamol	7
	1.9.	Durchgeführte Messungen und Zielstellungen	9
2.	Mate	rial und Methoden	9
	2.1.	Patientenauswahl und Ausschlusskriterien	9
	2.2.	Methodik	9
	2.3.	Analytische Methoden	11
		2.3.1. Immunoassay	12
		2.3.2. High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC)	12
	2.4.	Statistische Auswertung der Versuchsdaten	13
3.	Ergeb	onisse	15
	3.1.	Demographische Ergebnisse und Zusatzmedikation	15
	3.2.	Originaldaten	17
	3.3.	Graphische Darstellung der Paracetamol-Konzentrationen in	
		Serum und Speichel einzelner Patientinnen	22
	3.4.	Berechnung der Mittelwerte und Standardfehler	25
	3.5.	Graphische Darstellungen der Mittelwerte	27

	3.6.	Errechn	ung des Korrelationskoeffizienten	29
		3.6.1. V	Vergleich der Serum- und Speichelwerte	29
		3.6.2. V	Vergleich der Methoden zur Paracetamol-Bestimmung mittels	
]	HPLC und Immunoassay	31
	3.7.	Darstell	ung der Werte in Scatter-Diagrammen	32
		3.7.1.	Graphische Darstellung der mittels HPLC und Immunoassay	
		ϵ	ermittelten Serumwerte	32
		3.7.2.	Graphische Darstellung der mittels HPLC und Immunoassay	
		(ermittelten Speichelwerte	34
		3.7.3.	Graphischer Vergleich der mittels HPLC und Immunoassay	
		ŀ	pestimmten Serum- und Speichelwerte	35
	3.8.	Regress	ionsanalyse	36
	3.9.	Verhält	nis zwischen Speichel- und Serumkonzentrationen	36
4.	Disku	ssion		38
	4.1.	Patiente	nauswahl	38
	4.2.	Verglei	ch der Serum- und Speichelwerte	38
	4.3.	Vergleio	ch von HPLC und Immunoassay	41
	4.4.	Dosieru	ng und rektale Applikationsform	42
	4.5.	Extremy	werte	43
5.	Ausb	lick		45
6.	Zusar	nmenfassi	ung	47
7.	Im Te	ext verwer	ndete Abkürzungen	49
8.	Litera	turverzeio	chnis	50
9.	Dank	sagung		58
10.	Lebei	nslauf		59
11.	Erklä	rung		60

1. EINLEITUNG

1.1. Eigenschaften und Formel von Paracetamol

Paracetamol ist ein Metabolit des Phenacetins und hemmt die Cyclooxygenase im zentralen Nervensystem. Es wird als Analgetikum und Antipyretikum eingesetzt und hat keine nennenswerten antiphlogistischen Eigenschaften. Die chemische Strukturformel von Paracetamol ist in Abbildung 1 dargestellt.

Abb. 1. Strukturformel des Paracetamols.

Paracetamol wird im amerikanischen Schriftbereich Acetaminophen genannt. Weitere Synonyme sind Tylenol, 4-Acetamidophenol, 4-Hydroxyacetanilid oder N-Acetyl-p-aminophenol.

Paracetamol ist ein weißes, geruchloses, kristallines und gut in Wasser lösliches Pulver mit einem bitteren Geschmack. Eine gesättigte, wässrige Lösung hat einen pH-Wert von 6 und ist sehr stabil (Halbwertzeit von über 20 Jahren). Die Stabilität sinkt in saurem oder basischem Milieu, indem Paracetamol langsam in Essigsäure und p-Aminophenol zerfällt. Es hat eine Molmasse von 151,17 Da. Der pK_a-Wert beträgt 9,5.

1.2. Historischer Abriss

Die ersten Untersuchungen über die analgetischen und antipyretischen Eigenschaften von Paracetamol führen zurück in das späte 19. Jahrhundert, als man nach fiebersenkenden Mitteln bei Infektionen suchte. 1886 wurde Acetanilid und 1887 Phenacetin entwickelt. 1893 entdeckte man in Deutschland Paracetamol und seine ebenfalls guten analgetischen und antipyretischen Eigenschaften. Bereits 1895 vermutete man, dass Paracetamol im Urin von Patienten vorkam, die Phenacetin eingenommen hatten. Erst 1948 wiesen Brodie and Axelrod nach, dass Paracetamol ein Metabolit von Phenacetin und Acetanilid ist [http://www.pharmweb.net/pwmirror/pwy/paracetamol - Paracetamol Information Centre - History of

Paracetamol]. Bis zur Mitte des 20. Jahrhunderts wurde es nur selten verwendet. Über die Hepatotoxizität des frei verkäuflichen Analgetikums wurde erstmalig 1966 berichtet [Thomsen and Prescott, 1966; Davidson and Eastham, 1966 zitiert in Sheen et al., 2002]. Zwischen 1978 und 1988 stieg die Verwendung von Paracetamol um das Fünffache an, in der Annahme, dass es in normalen Dosen sicher sei. 1994/95 wurden in einigen Industrieländern mehr als 20 g/Person/Jahr konsumiert, obgleich in Großbritanien, USA, Canada, Australien und Neuseeland weniger als 8 g Paracetamol/Person/Jahr verbraucht wurden [Spooner and Harvey, 1976; Newson et al., 2000 zitiert in Sheen et al., 2002].

1.3. Klinische Verwendung von Paracetamol

Paracetamol hat im Vergleich zu den nicht steroidalen Antirheumatika (NSAR) geringere Nebenwirkungen und wird deshalb auch häufig bei Säuglingen und Kleinkindern eingesetzt [Rumack et al., 1978 zitiert in Beck et al., 2001, Hopkins et al., 1990]. Es ist bei akuten und chronischen, fieberhaften und nicht entzündlichen Schmerzzuständen indiziert, wie z.B. beim Migräneanfall, beim Spannungskopfschmerz, bei der Trigeminusneuralgie oder bei postoperativen Schmerzen. Die Tageshöchstdosis beträgt 4 bis 5 g. Häufig wird Paracetamol auch in Kombinationspräparaten verwendet, zum Beispiel mit Codein oder Dihydrocodein.

Die analgetische Potenz von Paracetamol wurde immer wieder unterschätzt, da es häufig speziell bei rektaler Applikation unterdosiert worden ist [Gaudreaut et al., 1988; Hopkins et al., 1990; Anderson and Holford, 1997; Rømsing et al., 1998; Hahn et al., 2000a; Stocker and Montgomery, 2001]. In den letzten Jahren haben zahlreiche Studien gezeigt, dass zur Erlangung einer guten Analgesie höhere Dosierungen notwendig sind als die zur antipyretischen Therapie gebräuchlichen [Montgomery et al., 1995, Birmingham et al., 1997; Schug et al., 1998; Beck et al., 2000, Birmingham et al., 2001]. Die akzeptierte therapeutische Plasmakonzentration für antipyretische Effekte von Paracetamol liegt bei 10-20 μg/ml (entspricht 66 - 132 μmol/l) [Jackson et al., 1984; zitiert in Montgomery et al., 1995; Birmingham et al., 1997; Cobby et al., 1999; Anderson et al., 1999; Beck et al., 2000]. Es ist nach wie vor nicht eindeutig definiert, wie hoch die Plasmakonzentration von Paracetamol sein muss, um eine analgetische Wirkung zu erreichen. Jahrelang nahm man an, dass die antipyretische Dosis von 10-20 μg/ml auch der analgetischen Dosis entspricht.

Neuere Studien lassen vermuten, dass für eine ausreichende Analgesie Konzentrationen von 25-30 μg/ml notwendig sind [Andersen et al. 1996, zitiert in Beck et al., 2000; Howell and Patel, 2003]. Somit gewinnt Paracetamol auch im Rahmen der postoperativen Schmerztherapie in Kombination mit Opioiden einen zunehmenden Stellenwert.

1.4. Wirkmechanismus von Paracetamol

Lange Zeit war der genaue Wirkmechanismus von Paracetamol unbekannt. Paracetamol hat keinen signifikanten Einfluss auf die Cyclooxygenase-Enzyme Cox-1 und Cox-2, was das Fehlen der antiinflammatorischen Wirkung erklärt und auch begründet, warum es nicht die typischen gastrointestinalen Nebenwirkungen der nicht steroidalen antiphlogistisch wirksamen Antirheumatika hat [http://www.pharmweb.net/pwmirror/pwy/paracetamol-Mechanism of Action of Paracetamol].

Frühere Arbeiten [Flower and Vane, 1972] haben gezeigt, dass die fieberreduzierende Wirkung von Paracetamol auf einen Wirkort im Gehirn zurückzuführen ist, während das Fehlen jeglicher klinischer antiinflammatorischer Wirkung mit dem Fehlen der peripheren Hemmung der Prostaglandinsynthese einhergeht.

Kürzlich wurde Cox-3, ein neues Cyclooxygenase-Enzym, beschrieben, das im Gehirn und im Rückenmark vorkommt und selektiv durch Paracetamol inhibiert wird [Chandrasekharan et al., 2002]. Cox-3 unterscheidet sich deutlich von den bereits bekannten Cyclooxygenase-Enzymen Cox-1 und Cox-2. Die selektive Hemmung von Cox-3 im Gehirn und im Rückenmark erklärt die Effektivität von Paracetamol bei der Schmerzlinderung und Fiebersenkung und das Fehlen von unerwünschten gastrointestinalen Nebenwirkungen.

1.5. Pharmakokinetik und Pharmakodynamik

Paracetamol wird nach oraler Gabe zu 85% gastrointestinal resorbiert [Wellhöner, Springer-Verlag, S. 209]. Die rektale Resorptionsrate ist im Vergleich zur oralen Applikation ca. 20% niedriger [Seidemann et al., 1980]. Dem entsprechend ist die

Bioverfügbarkeit von Paracetamol-Suppositorien etwas geringer als die von Tabletten. Die Angaben in der Literatur schwanken zwischen 71% und 80-86%.

Das Verteilungsvolumen beträgt 0,95 ± 0,12 l/kg. Die Plasmaproteinbindung von Paracetamol ist in therapeutischen Dosen unerheblich, bei Überdosierung kann jedoch die Proteinbindung bis zu 50 % betragen [Stewart and Watson, 1987]. Die Halbwertzeit beträgt 1,8 bis 3 h [Klein et al., 1986]. Der Metabolismus von Paracetamol ist komplex und dosisabhängig. In therapeutischen Dosen werden 65% zu Glucuronsäure und 30% zu Sulfatester konjugiert, so dass in 24 Stunden 95% des Paracetamols als Konjugate über die Niere ausgeschieden werden [Estler, Schattauer-Verlag, S. 19; Steward and Watson, 1987]. Neugeborene, Säuglinge und Kinder bis zu 12 Jahren können phenolische Substanzen nur eingeschränkt glucuronidieren. Kompensatorisch erfolgt eine gesteigerte Sulfat-Konjugation, so dass letztlich die Halbwertzeiten bei Kindern und Erwachsenen nach Einzeldosen ähnlich sind [Miller et al., 1975]. Die verbleibenden 5% werden zu Cystein konjugiert, eine geringe Menge wird durch Cytochrom P 450 (CYP 3A4) zu

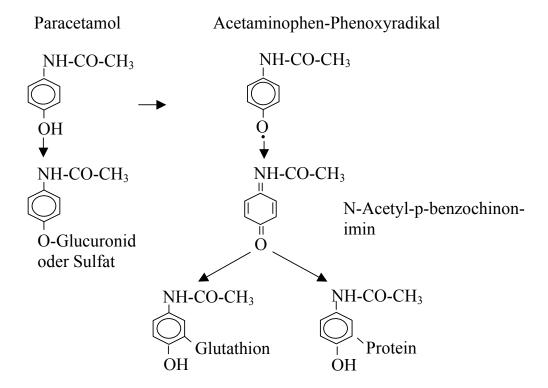


Abb. 2. Abbauwege des Paracetamols.

hydroxylierten und acetylierten Metaboliten umgesetzt. Über diesen Nebenweg entstehen toxische Oxydationsprodukte wie Acetaminophen-Phenoxyradikal und N-Acetyl-p-benzochinon-imid (Abb. 2). 3-4% des Paracetamols werden unverändert über die Niere ausgeschieden.

1.6. Nebenwirkungen und Toxizität

Über hämolytische Anämie, Thrombozytopenie, Agranulozytose, Panzytopenie und Leukopenie nach Paracetamol-Gabe ist berichtet worden. Ebenfalls können allergische Reaktionen auftreten, die mit Hautrötung, Urtikaria und Fieber beschrieben wurden. Insbesondere bei der Anwendung hoher Dosen (>10 g/d) über einen Zeitraum können nephrotoxische oder hepatotoxische längeren Nebenwirkungen auftreten. Das Risiko der Leberschädigung ist erhöht bei Langzeiteinnahme von gleichzeitigem Alkoholkonsum, Barbituraten (z.B. Phenobarbital), Carbamazepin, Isoniazid, Rifampizin und Sulfinpyrazone. Kontrollen der Leberwerte werden empfohlen. Nach neuesten Erkenntnissen soll Phenytoin sogar das Potential haben, die Toxizität von Paracetamol zu reduzieren [Rumack, 2002]. Die Wirkung von Warfarin kann verstärkt werden, so dass bei gleichzeitiger Einnahme über einen längeren Zeitraum Gerinnungskontrollen (INR) empfohlen werden [Slage, 2001].

Glucose-6-phosphat-dehydrogenase

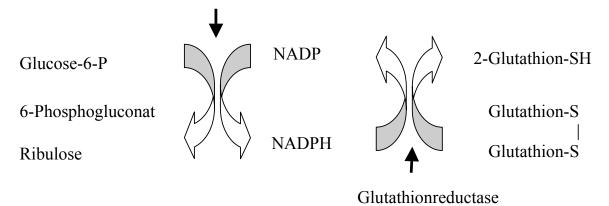


Abb. 3. Bereitstellung der SH-Gruppen.

Bei Überdosierung führt die Überlastung des Konjugationsmechanismus zur Bildung der hochreaktiven Verbindungen N-Acetyl-benzochinon-imid und Acetaminophen-

Phenoxylradikal. In geringen Mengen werden sie durch die Thiolgruppe von Glutathion entgiftet (Abb 3).

Bei Intoxikationen oder bei verringerten Glutathionreserven (z.B. bei Alkoholikern, nach Diäten) oder bei Glucose-6-phosphat-dehydrogenase-Mangel kommt es zur Überlastung dieses Entgiftungsweges und die N-Acetyl-benzochinonimide reagieren mit Strukturproteinen der Hepatozyten, was zum Zelluntergang und zu Nekrosen führt. Bei Überdosierungen ist die Halbwertzeit von Paracetamol im Plasma erhöht. Deshalb verwendet man Behandlungsnomogramme [Steward and Watson, 1987]. Da Acetaminophen frei im Handel erhältlich ist, kommt es auch immer wieder zu Intoxikationen. Bei Zufuhr von mehr als 6 g Einzeldosis besteht Gefahr, bei 15 g Einzeldosis Paracetamol stirbt der Patient infolge der Bildung von Lebernekrosen, wenn nicht eine entsprechende Therapie eingeleitet wird. Anders ausgedrückt, ab 150 mg/kg oder mehr als 12 g bei Erwachsenen besteht die Gefahr von schweren Leberschäden [http://www.pharmaweb.net - Guidelines for the Management of Acute Paracetamol Overdosage]. Frühsymptome Paracetamolvergiftung einige Stunden nach der Einnahme sind Schwindel, Erbrechen, Schwitzen und Bauchschmerzen [Burgis, Urban & Fischer, 2. Auflage, S. 506]. Das Bewusstsein ist zunächst nicht beeinträchtigt. Nach 1-2 Tagen der Symptombesserung kommt es dann zu Lebervergrößerung, Transaminasen- und Bilirubin-Anstieg sowie Quick-Abfall. Nach 3-5 Tagen entsteht das Vollbild der toxischen Leberzellschädigung bis hin zum Leberausfall-Koma. Nierentubulus-Nekrosen kann es zum akuten Nierenversagen kommen. Häufig treten Kardiomyopathie und Hirnödem auf [Küttler, Urban & Fischer, 18. Auflage, S. 339].

Da in den ersten Stunden nach Paracetamolvergiftung das Bewusstsein der Patienten nicht eingeschränkt und das Allgemeinbefinden zunächst nur wenig beeinträchtigt ist, wäre die Speichelbestimmung eine einfachere Alternative zur Blutabnahme, um frühzeitig anhand von Nomogrammen Prognose und Therapie einschätzen zu können.

1.7. Behandlung der akuten Überdosierung

Die spezielle Therapie besteht in der intravenösen Gabe von N-Acetylcystein (NAC[®], Fluimucil[®]). Damit werden in der Leberzelle SH-Gruppen für die Reaktion mit den reaktiven Paracetamolmetaboliten bereitgestellt. Die Strukturformel von N-

Acetylcystein ist in Abb. 4 dargestellt. Die Therapie ist auch im fortgeschrittenen Stadium der Vergiftung wirksam (>16 h nach Aufnahme) [Wellhöner, Springer-Verlag, 6. Auflage, S. 210]. Prognostisch kritische Paracetamol-Konzentrationen im Plasma sind 200 μg/ml nach 4 Stunden, 100 μg/ml nach 8 Stunden oder noch 50 μg/ml 16 Stunde nach der Applikation von Paracetamol. Gefahr bedeutet auch die Verlängerung der Halbwertzeit auf mehr als 4 h. Als Antidot-Therapie wird empfohlen, 150 mg/kg Acetylcystein, gelöst in 200 ml 5%iger Glucose innerhalb von 15 Minuten intravenös zu infundieren. In den nächsten 4 Stunden ist ein Drittel der Dosis nachzugeben, und in den nächsten 20 Stunden sind nochmals zwei Drittel dieser Dosis zu geben [Wellhöner, Springer-Verlag, 6. Auflage, S. 210].

$$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \text{HS} - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \text{CH} \\ \text{N} - \text{C} \end{array}$$

Abb. 4. Strukturformel von N-Acetylcystein.

Bei renaler Insuffizienz wurde die Hämodialyse erfolgreich eingesetzt [http://www.pharmaweb.net – Guidelines for the Management of Acute Paracetamol Overdosage].

1.8. Sicherheit von Paracetamol

Paracetamol gehört zu den frei verkäuflichen Analgetika/Antipyretika. Seine gute Wirksamkeit und seine geringen Nebenwirkungen in empfohlenen therapeutischen Dosen sowie die häufige Verordnung im Säuglings- und Kindesalter können in der Bevölkerung zur Unterschätzung der Toxizität von Paracetamol führen. Im Kindesalter treten Überdosierungen meist versehentlich auf und/oder das Risiko wird von den Eltern unterschätzt, was zum späten Vorstellen in der Klinik führt [Rivera-Pinera et al., 1997]. Der Erfolg der Antidot-Therapie mit N-acetyl-cystein (NAC) hängt jedoch wesentlich vom Zeitpunkt des Behandlungsbeginns ab. Im Erwachsenenalter werden Paracetamol-Überdosen häufig in suizidaler Absicht eingenommen. Durch seine leichte Zugänglichkeit ist Paracetamol das Medikament Nummer 1 in der Liste der durch Medikamente induzierten Leberschäden bis hin zur Notwendigkeit von Lebertransplantationen [Lazerow et al., 2005]. Es liegen einzelne

Berichte vor, wonach täglich sehr hohe Dosen (15-20 g) über 5 Jahre konsumiert wurden, ohne einen Leberschaden zu verursachen [Tredger et al., 1995, zitiert in Schug et al., 1998]. Dem gegenüber stehen Berichte, dass therapeutische Dosen nach 5 Tagen zu schweren Leberschäden geführt haben [Morten and Arana, 1991, zitiert in Hahn et al., 2000a]. Auf jeden Fall ist eine Verharmlosung der Toxizität nicht angebracht. Ein großes Problem beim Paracetamol ist der schnelle Anstieg der Toxizizät, wenn Kofaktoren wie z.B. Diäten, Alkohol- oder Medikamentenabusus sowie Erkrankungen wie Glucose-6-phosphat-dehydrogenase-Mangel bestehen. Trotzdem empfehlen Dart et al. (2000), Paracetamol bei der analgetischen und antipyretischen Therapie von Alkoholikern sogar den Vorzug zu geben. Wiederholte therapeutische Dosen führten nicht zur Erhöhung von Transaminasen bei Patienten mit schwerem Alkoholabusus. Auch wenn Paracetamol in therapeutischen Dosierungen ein sicheres und im Vergleich zu anderen Analgetika (z.B. NSAR) ein nebenwirkungsarmes Analgetikum ist, sollte wegen der Gefahr des fulminanten Leberversagens nach weiteren Möglichkeiten gesucht werden, die Toxizität zu senken. Diese könnten in verstärkter Aufklärung der Öffentlichkeit bestehen, in der Erforschung weiterer Paracetamol-Antidot-Kombinationen und der Einführung der Verschreibungspflicht [Sheen et al., 2002].

1.9. Durchgeführte Messungen und Zielstellung

Ziel dieser Studie war es zu untersuchen, ob und wie simultan gewonnene Paracetamolspiegel im Serum und im Speichel miteinander korrelieren. Wir vermuteten eine direkte Korrelation beider Werte. Für diesen Fall nahmen wir an, dass zukünftig die Beschaffung von Speichelproben eine bessere Alternative zur Blutabnahme sein könnte. Die Gewinnung von Speichelproben wäre gerade bei Kindern weniger traumatisierend, da ohne Punktionsschmerz, so dass die Wirkstoffkonzentrationen problemlos wiederholt bestimmt werden könnten. Bei Verdacht auf akute Überdosierung sind häufig auch mehrfache Paracetamolbstimmungen zur frühzeitigen Einschätzung des Schweregrades bzw. der Notwendigkeit der Antidottherapie indiziert. Die Paracetamol-Konzentrationen in Serum und Speichel wurden parallel mittels Immunoassay und High-Performance-Liquid-Chromatographie (HPLC) bestimmt und die Werte hinsichtlich Sensitivität, erforderlicher Probenmenge und Korrelation verglichen.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Patientenauswahl und Ausschlusskriterien

Es wurden insgesamt 38 Patientinnen in die Studie aufgenommen, die sich einer gynäkologischen Operation unterzogen. In Vorstudien hatte sich gezeigt, dass Patientinnen nach größeren gynäkologischen Eingriffen wie zum Beispiel abdominalen oder vaginalen Hysterektomien nicht in ausreichenden Mengen Speichelproben abgeben konnten. Grund dafür war die postoperativ notwendige Nahrungskarenz. Deshalb wurden nur Patientinnen, die sich lediglich kleineren gynäkologischen Eingriffen wie Hysteroskopien, Kürettagen und diagnostischen Laparoskopien unterziehen mussten, nach ihrem Einverständnis zur Teilnahme befragt. Diese Patientinnen durften postoperativ sofort wieder oral Flüssigkeit aufnehmen und waren somit in der Lage, Speichelproben abzugeben.

Ausgeschlossen wurden Patientinnen mit Leber- bzw. Niereninsuffizienz und mit bekannter Paracetamol-Unverträglichkeit oder -allergie, Patienten mit bekanntem Glukose-6-phosphat-dehydrogenase-Mangel sowie Risikopatienten der ASA-Klassifikation (American Society of Anesthesiologists) Stufe 4. Ein präoperativ bestehender Hämatokrit von < 30 % führte ebenfalls zum Ausschluss von der Studie. Patienten, die in den letzten 24 Stunden Paracetamol eingenommen hatten, durften nicht an der Studie teilnehmen.

Die Patientinnen waren zwischen 19 und 86 Jahre alt. Mit den Frauen wurde ein ausführliches Aufklärungsgespräch durchgeführt und Kenntnisnahme sowie Einverständnis zur Teilnahme an der Untersuchung schriftlich dokumentiert. Die Studie war von der zuständigen Ethikkommission genehmigt.

2.2. Methodik

Den Patientinnen wurde Paracetamol (ben-u-ron® Zäpfchen, Firma bene-Arzneimittel, Novartis Consumer Health) rektal verabreicht. Diese Zäpfchen haben einen lipophilen Träger (Hartfett, 3-sn-Phosphatidylcholin). Die Applikation erfolgte zum Zeitpunkt T₀. Anfänglich wählten wir diesen Zeitpunkt T₀ sofort nach der Narkoseeinleitung. Dann stellten wir jedoch bei einer Patientin fest, dass ein Teil der rektal applizierten Paracetamol-Suppositorien während der Operation durch die gynäkologische Spiegeleinstellung wieder herausgedrückt worden war. Um Fehler bei der Applikationsmenge zu vermeiden, wurde in der Folge die Paracetamol-Dosis erst unmittelbar nach Beendigung der Operation verabreicht. Nach einer Randomisierungsliste gaben wir 20, 30 und 40 mg Paracetamol pro kg Körpergewicht (mg/kg). Im Speichel und Serum der ersten Patientin der A20-Gruppe ermittelten wir ausschließlich subtherapeutische Konzentrationen von Paracetamol, die auch unterhalb der quanitativen Bestimmungsgrenze des Immunoassays (< 10 μg/ml, Variationskoeffizient von 12%) lagen. Deshalb wurde die Dosierung von 20 mg/kg von der Randomisierungsliste gestrichen und durch Dosierungen von 30 und 40 mg/kg ersetzt, um bei allen Probandinnen sicher gut messbare Werte zu erzielen. Die berechneten Dosierungen wurden in bester Näherung mit Hilfe von ben-u-ron®-Zäpfchen der Stärke 250, 500 und 1000 mg gegeben. Es wurden keine Suppositorien geteilt, da der Wirkstoff innerhalb der Suppositorien unterschiedlich verteilt sein kann und somit das Zerteilen zu ungenauen Dosierungen führen würde [Birmingham et al., 2001; Howell and Patel, 2003]. Alle Patientinnen erhielten zur Prämedikation Midazolam in Tablettenform in üblicher bedarfsgerechter Dosierung, d.h. es wurden meist 7,5 mg Midazolam verordnet, jedoch bei sehr ängstlichen Patientinnen auch bis zu 15 mg oder bei älteren Patientinnen bzw. Patientinnen in reduziertem Allgemeinzustand auch nur 3,75 mg Midazolam. Es wurde immer eine totale intravenöse Anästhesie (TIVA) durchgeführt. Dazu verwendeten wir zur Narkoseeinleitung Propofol (2 bis 3 mg/kg) und Alfentanil (0,5 bis 1 mg, entspricht 0,015 mg/kg) als Analgetikum. Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde kontinuierlich Propofol[®] von 6-8 mg/kg·h über einen Perfusor verabreicht. Mit einem Sauerstoff-Luftgemisch (F_iO₂ 0,33) beatmeten wir alle Patientinnen. Für die kurzen gynäkologischen Eingriffe war keine Dauerapplikation von Propofol notwendig. Bei Bedarf verabreichten wir einen zusätzlichen Bolus Propofol von 0,5 bis 1,0 mg/kg. Es wurden einmalig 1000 ml E153 (Vollelektrolytlösung) infundiert. Zur postoperativen Schmerztherapie erhielten die Patientinnen bei Bedarf Piritramid intravenös titriert. Bei Übelkeit oder Erbrechen verabreichten wir bedarfsweise 31 mg Vomex[®] intravenös.

Bei allen Patientinnen wurde prä- und postoperativ Hämoglobin und Hämatokrit bestimmt, um einen größeren Blutverlust oder starke Verdünnungen durch die Gabe von isoelektrischen Infusionslösungen oder oraler Flüssigkeitsaufnahme aufzudecken.

Die simultane Abnahme von Blut- und Speichelproben erfolgte zum Zeitpunkt 60 (T₁), 120 (T₂), 180 (T₃), 240 (T₄), 360 (T₅), 480 (T₆) und 720 (T₇) Minuten nach der Applikationszeit T₀. Die Blutproben wurden über eine liegende Braunüle abgenommen. Die Speichelproben wurden mittels Salivette (Firma Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) gewonnen. Diese Salivetten bestehen aus einem Zentrifugenröhrchen, einem Einhängegefäß, einer Watterolle Verschlussstopfen. Die Patientinnen erhielten zum Abnahmezeitpunkt als Erstes die herausnehmbare Watterolle und wurden angehalten, während der Blutabnahme darauf zu kauen, bis sich der Watteträger vollständig mit Speichel gefüllt hatte, d.h. bis sie das Gefühl hatten, den gesammelten Speichel nicht mehr im Mund halten zu können. Dann wurde die eingespeichelte Watterolle wieder in das Einhängegefäß zurückgegeben und mit dem Stopfen verschlossen. Die Patientinnen durften unmittelbar postoperativ Wasser ad libidum trinken, um ausreichende Speichelmengen produzieren zu können.

Blutröhrchen und Salivetten zentrifugierten wir unmittelbar nach der Entnahme 5 min bei 5000 U/min. So gewonnenes Serum- und Speichelmaterial wurde geteilt, in Eppendorfgefäße abpipettiert und in jeweils zwei Laboren mit zwei unterschiedlichen Verfahren analysiert. In einem Labor (BBGes, Berlin)*1 bestimmten wir die Paractamolwerte aus Serum und Speichel mittels Immunoassay und in einem anderen*2 mittels HPLC (High-Pressure-Liquid-Chromatographie). Die Proben für den Immunoassay lagerten wir im Kühlschrank. Die Werte konnten am Tag nach der Abnahme bestimmt werden. Die Proben für die HPLC-Bestimmung wurden bei –20°C eingefroren, gesammelt und zu einem späteren Zeitpunkt untersucht.

2.3. Analytische Methoden

Alle gewonnenen Blut- und Speichelproben wurden mittels Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay (FPIA, im Text kurz Immunoassay bzw. IMA genannt) und High-Pressure-Liquid-Chromatographie (HPLC) untersucht. Diese Methoden werden im folgenden kurz beschrieben.

_

^{*1} Berliner Betrieb für Zentrale Gesundheitliche Aufgaben, Fachbereich Klinische Toxikologie und Pharmakologie

^{*&}lt;sup>2</sup> Institut für Rechtsmedizin, Chemische Toxikologie der Charité, Universitätsklinikum der Humboldt-Universität zu Berlin

2.3.1. Immunoassay

Von der Firma Abbott wird ein AxSYM[®] genannter Acetaminophen-Bestimmungstest angeboten. Der Assay ist ein quantitatives Reagenzsystem zur Messung von Paracetamol in menschlichem Serum oder Plasma. Entwickelt wurde der Test insbesondere zur Diagnose und Therapie von Paracetamol-Überdosierungen. Der Hersteller gibt in seiner Produktinformation eine Sensitivität von 1 μg/ml an. Die Sensitivität ist definiert als die niedrigste messbare Konzentration, welche mit 95%iger Sicherheit von 0 μg/ml unterschieden werden kann. Im Gegensatz dazu räumte jedoch das Labor des BBGes, welches die Untersuchungen durchführte, eine eingeschränkte Datenqualität im Messbereich unter 10 μg/ml ein (mit einem Variationskoeffizienten von 12 %). Da unsere Paracetamolwerte durch therapeutische Dosierungen und nicht infolge von Intoxikationen zustande kamen, lagen die Werte häufig in diesem Bereich. Alle Paracetamol-Konzentrationen unter 5 μg/ml waren vom Labor mit einem Ausrufezeichen gekennzeichnet, um auf die eingeschränkte Testqualität unter 5 μg/ml hinzuweisen.

Der AxSYM[®] Acetaminophen Assay verwendet die Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay (FPIA)-Technologie. Der Testkit enthält 6 Flaschen mit einer definierten Acetaminophen-Konzentration (0, 10, 20, 50, 100, 200 μg/ml). Diese Lösungen dienen als Kalibratoren. Weiterhin wird ein < 25% Acetaminophen-Antiserum verwendet und ein < 0,01% Acetaminophen-Fluoreszenz-Tracer. Die Probe und alle AxSYM[®]-Acetaminophen-Reagenzien werden in verschiedene Mulden des Reaktionsgefäßes pipettiert. Das Acetaminophen der Probe und der AxSYM-Acetaminophen-Fluoreszenz-Tracer konkurrieren um die Bindungsplätze am Antikörpermolekül. Die Intensität des polarisierenden Fluoreszenzlichtes wird durch eine optische FPIA-Baugruppe gemessen.

Vom Hersteller wird das minimal benötigte Volumen mit 150 µl angegeben. Allerdings reichte dieses Probenvolumen in der Regel nicht aus und es waren wenigstens 0,5 ml erforderlich, um die Analysen sicher durchführen zu können.

2.3.2. High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC)

Die HPLC-Bestimmungen wurden im Institut für Rechtsmedizin, Chemische Toxikologie der Charité, Universitätsklinikum der Humboldt-Universität zu Berlin

durchgeführt. Für die quantitative Bestimmung von Paracetamol in Plasma und Speichel wurde ein mit einer Lichrospher RP8ec-+Säule (5 μm, 250 x 4,0 mm, Merck/Darmstadt) ausgestattetes HPLC – Gerät der Fa. Shimadzu (Duisburg, BRD) benutzt. Für die mobile Phase wurde ein Gemisch von Acetonitril/0,1 M Phosphatpuffer pH 2,3 (20 : 80 v/v) mit einer Fliessgeschwindigkeit von 1ml/min benutzt. Das HPLC – Gerät bestand aus einer Pumpe LC–6A, einem Probensammler SIL-9A, einem Photodiodenarray-Detektor SPD-M10AVP und einem Entgasungsgerät DG1210 (Optilap Berlin). Der Photodiodenarray-Detektor SPD-M10AVP wurde mit der Software CLASS-VP 5.032 betrieben.

Für die Probenbehandlung wurden 100 μ l Serum oder Speichel mit 100 μ l Acetonitril intensiv für 2 min mit einem Vortexer VF2 (Janke & Kunkel, Staufen) gemischt und dann für 5 min zentrifugiert. Die flüssige Phase (100 bis 150 μ l) wurde abgetrennt und ein 10 μ l-Aliquot in das HPLC-Gerät injiziert.

Die Detektion erfolgte bei 250 nm. Die Kalibrierung wurde mit einem Paracetamol–Referenzstandard (4-Acetamidophenol, Sigma/Deisenhofen) im Bereich von 0,1 bis 50 μg/ml in klarem Serum bzw. in Wasser durchgeführt. In diesem Bereich waren die Kalibrierungskurven linear, die Nachweisgrenzen (LOD) wurden aus dem 3-fachen und dem 10-fachen des Rauschpegels bei 0,1 und 0,3 μg/ml bestimmt. Der Paracetamol-Peak wurde durch seine UV-Absorption identifiziert. Sehr niedrige Werte (unter 0,5 μg/ml) wurden mit einem "<"-Zeichen gekennzeichnet. Messwerte, die so gekennzeichnet waren, wurden mit dem halben Betrag in die weitere Berechnung aufgenommen.

2.4. Statistische Auswertung der Versuchsdaten

Zur statistischen Auswertung der gemessenen Daten wurde das Programm SPSS 13 für Windows benutzt.* Für die verwendeten statistischen Testverfahren wurde ein Signifikanzniveau von ≤ 0.05 ($\leq 5\%$) vorgegeben.

Für den Vergleich von zwei abhängigen Stichproben wurde der t-Test für abhängige Stichproben verwendet. Die Normalverteilungsannahme der Paardifferenzen wurde mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests geprüft. Für den überwiegenden Teil der Testergebnisse wurde die Normalverteilungsannahme bei

-

^{*1} Statistk-Service Dr. Gladitz, Schwedter Str. 225, D-10435 Berlin

einer vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit von ≤0,05 (≤5%) nicht signifikant abgelehnt. Damit die Einheitlichkeit und Vergleichbarkeit der einzelnen Testergebnisse gewährleistet ist, wurde auch für die nicht-normal-verteilten Paardifferenzen der t-Test für abhängige Stichproben verwendet. Neben dem P-Wert (Signifikanz) des Tests werden auch die 95%-Konfidenzintervalle für die Mittelwertdifferenz angegeben. Wird die Null von dem 95%-Konfidenzintervall eingeschlossen, dann können signifikante Mittelwert-Unterschiede nicht nachgewiesen werden. Demzufolge ist dann auch der p-Wert größer als 0,05.

Um die Stärke des Zusammenhanges zu messen, wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson (r) berechnet. Seine Werte liegen zwischen -1 und +1. Besteht kein statistischer Zusammenhang, dann ist r=0. Bei einer totalen positiven Abhängigkeit erreicht r den Wert +1, bei einer totalen negativen Abhängigkeit erreicht r den Wert -1. Weiterhin berechneten wir durch einfache Division das Speichel/Serum-Verhältnis (siehe Abb. 12 und 13).

Die statistischen Parameter wurden mit folgenden Formeln berechnet [Trampisch, Springer-Verlag, 2. Auflage, 2000].

Arithmetischer Mittelwert (mean) \bar{x} :

$$\overline{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} x_i$$

Standardfehler des Mittelwertes SEM (Standard-Error-of-the-Mean):

$$SEM = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Empirische Standardabweichung s:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1}} \sum (x_i - \overline{x})^2$$

Empirische Varianz (variance) s² (mittlere quadratische Abweichung vom arithmetischen Mittelwert):

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_i (x_i - \overline{x})^2$$

3. ERGEBNISSE

3.1. Demographische Daten und Zusatzmedikation

Die nachfolgende Tabelle 1 zeigt die demographischen Daten der Patientinnen, d.h. Alter, Gewicht, Größe und Body-Mass-Index (BMI).

Tabelle 1. Demographische Daten der Patientinnen.

PatNr.	Alter	Gewicht	Größe	BMI
	[a]	[kg]	[cm]	[kg/m ²]
1	48	74	166	27
2	54	58	160	23
3	23	63	162	24
4	34	35	140	18
5	44	72	156	30
6	46	115	170	40
7	67	75	170	26
8	46	56	168	20
9	31	58	172	20
10	80	80	168	28
11	47	88	169	31
12	67	100	165	37
13	68	81	150	36
14	49	55	164	20
15	20	60	170	21
16	31	77	166	28
17	63	88	165	32
18	71	75	172	25
19	58	80	168	28
20	67	68	152	29
21	72	74	151	32
22	63	70	160	27
23	42	67	162	26
24	46	54	161	21
25	72	90	148	41
26	86	69	160	27
27	59	81	162	31
28	63	95	173	32
29	60	65	163	24
30	66	58	161	20
31	65	60	155	25
32	48	55	168	19
33	52	82	175	27
34	63	70	154	30
35	19	65	162	25
36	40	60	170	21
37	63	63	164	24
38	75	60	163	23

 Tabelle 2. Patientendaten: Dosis, Laborwerte, Zusatzmedikation.

Pat. Nr.	Gruppe	Dosis	Hb ₁	Hk ₁	Hb ₂	Hk ₂	Zusatzmedikation
		[mg]	[mmol/l]		[mmol/l]		
1	A20	1500	9	0,44	8,2	0,39	2 g Baypen/0,5 g Clont, PCA-Pumpe
2	A30	1750	8,6	0,42	8,8	0,41	2 g Baypen/0,5 g Clont, PCA-Pumpe
3	A30	2000	8,7	0,42	8,5	0,41	Baypen/Clont, Dipidolor
4	A40	1500	6,8	0,34	6,2	0,31	Baypen/Clont, Glaukom-Augentropfen
5	A40	3000	8,5	0,43	7,5	0,37	Baypen/ Clont, Metoprolol 50, Dipidolor
6	A40	4500	8	0,41	7,9	0,39	L-Thyroxin, Clozopin
7	A30	2250	8,7	0,42	8,3	0,38	
8	A40	2250	8,9	0,44	8,3	0,38	Vomex, Atropin
9	A30	1750	8,7	0,43	8,5	0,4	Jod-Thyrox, Vomex
10	A30	2500	9,6	0,48	8,3	0,41	Atropin, Kalymin, Nivalin, Dipidolor
11	A40	3500	8,2	0,4	7,4	0,35	Vomex, Atropin, Kalymin, Dipidolor
12	A30	3000	9,1	0,45	8,2	0,41	Insulin, Atropin, Kalymin, Nivalin
13	A40	3250	9	0,45	7,4	0,36	Baypen/ Clont, Dipidolor, Vomex
14	A30	1750	7,3	0,36	6,6	0,33	
15	A30	1750	8	0,4	7,7	0,38	2,5 mg Dipidolor
16	A30	2250	8,9	0,44	7,4	0,34	Vomex, Dipidolor
17	A40	3500	8,8	0,45	8,2	0,41	Blocotenol50, (Pentalong,Mg,Euthyrox,Actrapid)
18	A30	2250	8,2	0,4	8	0,38	Beloc zok, (L-Thyroxin, KMA)
19	A30	2500	8,6	0,42	6,2	0,3	Vomex, (Sortis), 0,5 mg Anexate
20	A20	1250	8,4	0,42	7,8	0,39	Omeprazol, Pentalong 50
21	A30	2250	8,5	0,42	7,4	0,37	Beloc zok, Blocopress
22	A40	2750	8,7	0,42	7,8	0,38	
23	A40	2750	8,4	0,4	7,3	0,35	
24	A30	1500	7,9	0,39	6,9	0,34	Vomex
25	A20	1750	8,2	0,41	7	0,35	Beloc zok, Capto 50, Akrinor, Naloxon, Vomex
26	A40	2750	8,1	0,42	7,4	0,38	Aescusan, Herz-Ass
27	A30	2500	8,6	0,42	7,6	0,37	Delmuno, (Uripurinol)
28	A40	3750	8,7	0,43	7,7	0,39	(L-Thyroxin, Mg)
29	A30	2000	8,3	0,44	7	0,38	0,5 Tabl. Dilatrent, Neurolex, Karvea, Tamoxifen
30	A40	2250	8,9	0,44	8,2	0,39	Tachmalcor
31	A30	1750	9,1	0,42	8	0,38	Cordanum 50, ISDN, Nitrendipin, Dipidolor
32	A40	2250	5,9	0,3	5,4	0,29	
33	A40	3250	7,8	0,38	7,5	0,38	(Berlthyrox, 0,5 Tabl. Fondril)
34	A30	2000	8,1	0,4	7,2	0,35	Obsidan, Acernorm 50, Allopurinol, Nolvadex
35	A30	2000	8,6	0,42	8	0,4	
36	A40	2500	7,8	0,39	7,3	0,36	(Allergospasmin-Spray, L-Thyroxin, Aescusan)
37	A30	2000	9	0,43	8,2	0,39	
38	A30	1750	8,1	0,4	7,3	0,36	Hexal, Querto, Akrinor

In Tabelle 2 werden die Dosierungsgruppen A20, A30, A40 und die tatsächlich individuell verabreichten Dosierungen angegeben. Zur Berechnung der Dosis diente immer das reale und nicht das Normalgewicht, so dass z.B. stark übergewichtige Patientinnen (Pat. 27) und Patientinnen mit normalem BMI (Pat. 36) die gleiche Dosis bekamen aber unterschiedlichen Gruppen zugeordnet waren.

Hb₁ und Hk₁ sind die präoperativ erhobenen Hämoglobin- [mmol/l] und Hämatokrit-Werte. Hb₂ und Hk₂ sind die postoperativen Kontrollwerte. Sie zeigen bei keiner der Patientinnen einen nennenswerten Blutverlust oder durch Flüssigkeitszufuhr hervorgerufene Hydratation. Weiterhin werden die Dauermedikationen der Patientinnen und erhaltene Zusatzmedikationen aufgelistet. Die in Klammern stehenden Medikamente wurden nicht am Operationstag verabreicht.

3.2. Originaldaten

Alle mittels Immunoassay und HPLC bestimmten Paracetamolwerte, die von den 38 untersuchten Patientinnen ermittelt wurden, sind in den Tabellen 3 und 4 zu sehen. Tabelle 3 zeigt die Serumwerte, in Tabelle 4 sind die Speichelwerte dargestellt. Die Paracetamol-Konzentrationen sind in μg/ml angegeben. Die angegebenen Gruppen A20, A30 und A40 beziehen sich auf die verabreichten Dosierungen, d. h. es wurden 20 mg/kg, 30 mg/kg und 40 mg/kg Paracetamol gegeben. Die Spalten B₁ bis B₂ bzw. S₁ bis S₂ entsprechen den Probenentnahmezeiten für Blut bzw. für Speichel (60, 120, 180, 240, 360, 480 und 720 Minuten) nach Applikation der Paracetamol-Suppositorien.

Zwei der Patientinnen (Pat. 4 und Pat. 9) haben die Studie abgebrochen. Aus den Tabellen ist ersichtlich, dass insbesondere einige Speichelwerte fehlen. Wie bereits erwähnt, lag das hauptsächlich daran, dass die Patientinnen postoperativ bei erforderlicher Nahrungskarenz häufig Schwierigkeiten hatten, ausreichende Mengen Speichel abzugeben. Tabelle 5 und 6 zeigen die Serum- und Speichelwerte einer Bestimmungsmethode im Vergleich. In Tabelle 5 sind die Ergebnisse des Immunoassays und in Tabelle 6 die Werte der HPLC-Methode zusammengefasst.

Tabelle 3. Paracetamol-Konzentrationen [μg/ml] im Serum. Immunoassay (IMA) – und HPLC-Bestimmungen.

Pat. Nr.	Gruppe Methode	B1	B2	В3	B4	B5	В6	B7	Methode	B1	B2	В3	B4	B5	В6	B7
1	A 20 IMA	2,7	5,6	5,5	5,5	4,7	4,6	2,5	HPLC	2,2	4,2	4,5	4,8	3,6	3,2	1,2
2	A 30 IMA	7,9	9,1	11,4	11,7	8,5	7,6	4,0	HPLC	5	7,3	10,5	9,1	6,9	5	3
3	A 30 IMA	5,3	7,0	5,2	4,1	5,3	2,9	1,9	HPLC	3,2	4	3,2	3,1	3,6	2,2	0,4
4	A 40 IMA	7,1	15,4	19,8	21,5	13,7			HPLC	6,3	14,5	19,4	23,3	10,8		
5	A 40 IMA	3,1	6,0	9,4	9,9	8,7	5,8	2,3	HPLC	1,9	4	7,9	8,7	7,8	5,6	2,6
6	A 40 IMA	4,0	6,3	7,4	8,1	7,0	12,0	7,6	HPLC	3,1	4,9	5,6	6,9	6,5	12,7	13,2
7	A 30 IMA	4,0	5,8	8,5	8,8	8,8	4,1	3,7	HPLC	5,2	7,8	10,7	10,3	10,8	6,8	5,8
8	A 40 IMA	3,1	5,3	5,8	5,5	2,7	1,5	0,6	HPLC	2,1	5	6,2	4,8	2,2	1,2	0,2
9	A 30 IMA	5,1	7,8	10,5	9,8				HPLC	4	5,9	8,8	8,2			
10	A 30 IMA	2,9	4,6	7,7	8,0	9,9	10,2	5,6	HPLC	2,1	4,1	6,4	7,7	9,6	7,9	4,7
11	A 40 IMA	3,3	5,9	7,9	8,8	9,2	6,6	4,8	HPLC	2,7	5,8	8,5	9,9	11,4	9,7	5,7
12	A 30 IMA	3,1	5,7	6,7	5,8	6	5,4	3,8	HPLC	4	6,2	6,5	6,4	10	6,3	3,7
13	A 40 IMA	5,7	7,5	11,2	12,5	9,9	6,9	4,7	HPLC	3,6	6,6	13	13,5	6,3	7	4,3
14	A 30 IMA	4,7	9,6	13,1	14,5	18,1	13,3	5,5	HPLC	3,3	9,1	9,9	12,1	12,6	9,9	5
15	A 30 IMA	2,8	7,3	8,2	9,4	5,1	4,7	1,4	HPLC	2,8	6,3	5,7	6,6	ca. 0,3	1,5	0,7
16	A 30 IMA	2,5	2,4	1,5	1,9	2,4	2,9	3,6	HPLC	1,4	1,7	1,6	1,3	2,2	1,2	2,4
17	A 40 IMA	2,5	9,4	13,6	12,2	9,1	5,5	2,2	HPLC	2,3	7,8	11,3	10,6	9	6,5	3,1
18	A 30 IMA	0,9	8,1	13,8	12,2	7,6	5,3	3,8	HPLC	0,7	5,8	10,7	9	5,6	4,5	1,9
19	A 30 IMA	0,8	5,5	6,9	7,6	6,9	7,0	2,0	HPLC	1,3	4	5	6,2	6,7	5,3	1,7
20	A 20 IMA	2,4	6,0	7,0	8,8	9,1	3,8	2,0	HPLC	2,6	5,8	7,3	6,8	7,5	4,1	1,5
21	A 30 IMA	2,4	8,6	9,5	6,4	4,5	3,2	0,9	HPLC	6,3	2,3	7,4	5,7	3,3	2,1	<0,2
22	A 40 IMA	1,3	2,7	6,2	6,2	9,7	25,1	10,2	HPLC	1,6	3,3	8,1	6,1	10	23,7	0,9
23	A 40 IMA	5,5	9,5	11,9	13,8	10,1	4,5	1,1	HPLC	4	8,7	8,5	9,3	6,6	2,4	1,1
24	A 30 IMA	2,6	5,4	7,6	9,1	5,7	6,1	2,7	HPLC	2,1	4,3	7,8	7,7	5,3	4,9	2,6
25	A 20 IMA	4,1	6,5	4,8	4,0	1,5	0,7	0,4	HPLC	4,3	5,7	4,5	3,3	1,9	0,9	<0,2
26	A 40 IMA	7,9	12,2	12	13,1	6,3	3,2	1,4	HPLC	6,2	11	6,2	9,1	4,8	2,2	0,8
27	A 30 IMA	3,5	34,1	12,7	9,2	5,8	4,0	0,5	HPLC	3,6	8,2	12,8	6,4	4,3	3,3	0,7
28	A 40 IMA	1,1	5,3	8,1	9,5	11,3	6,6	4,1	HPLC	1,6	3,2	5,5	7,9	9,7	7	4,1
29	A 30 IMA	1,6	6,2	11,9	15,1	10,9	9,3	2,8	HPLC	2,5	7,7	14,2	14,7	11,8	11,4	4,9
30	A 40 IMA	1,8	4,6	7,7	19,2	14,7	7,2	1,8	HPLC	0,9	3,3	6,3	19	14,3	7	1,6
31	A 30 IMA	2,3	3,4	6,7	16,3	11,3	8,8	3,1	HPLC	1	2,9	5,7	12,8	11,9	8,1	1,6
32	A 40 IMA	6,5	12,7	12,9	13,6	8,5	7,7	4,2	HPLC	5,5	13	12,6	10,9	7,8	11,5	2,4
33	A 40 IMA	4,5	10,3	12,9	15,3	14,5	12,3	6,8	HPLC	3,9	7,9	10,3	13,7	15,4	11,8	6
34	A 30 IMA	4,2	7,2	8,8	12,1	13,2	4,2	0,8	HPLC	2,1	5,5	7,6	10,1	12,3	10,5	2
35	A 30 IMA	2,6	4,8	7,8	11,8	6,3	10,4	3,4	HPLC	1,2	4,9	7,4	12	7,7	3,8	<0,5
36	A 40 IMA	3,5	6,8	11,5	9,9	12,7	11,6	3,1	HPLC	3,2	5,4	10,5	8,6	10,4	9,1	1,5
37	A 30 IMA	2,1	5,7	8,7	8,3	5,6	4	0,7	HPLC	2,4	6	9	8,6	7,3	6,1	<0,5
38	A 30 IMA	1,3	2,5	4,2	5,6	3,4	73	7,1	HPLC	1,8	3,2	4,1	4,2	3,8	8,1	6,8

Gruppe A20, A30, A40 = Dosierungsgruppe 20, 30, 40 mg/kg Paracetamol; B_1 - B_7 = Serumwerte zu den Abnahmezeiten 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h nach Applikation; IMA = Immunoassay; HPLC = High-Performance-Liquid-Chromatographie.

Tabelle 4. Paracetamol-Konzentrationen [μg/ml] im Speichel. Immunoassay(IMA)- und HPLC-Werte.

Pat. Nr.	Gruppe Method	e S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	Methode	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
1	A 20 IMA	1,4	-,	,	-, -	,	5,3	3,4	HPLC		-,-	-	, ,	,	-,-	0,8
2	A 30 IMA	3,8	14,4		12,8	6,9	9,3		HPLC	0,3	8,4	4,5	6,7	5,5	4,6	3
3	A 30 IMA	4,7		7,6	3,8	5,4	6,5	3,4	HPLC	2,1	4,1	1,9	3,4	2,3	1,7	
4	A 40 IMA	3,4	15,9	13,2					HPLC	1,9	13,7	8	10,3			
5	A 40 IMA	2,9	4,5	10,6	12,5	10,9	8,3	5,6	HPLC	<0,2	0,7	9,8	11	9,1	8,3	4,2
6	A 40 IMA		5,9	10,2	10,3	12,9	15,2	19,5	HPLC	5,8	7,7	9,8	11	12,3	10,5	15,3
7	A 30 IMA	7,2	7,9	12,3	10,7	13,2	9,6	7,3	HPLC	4,9	5,2	7,6	8	7,9	4,2	4,1
8	A 40 IMA	1,5	7,9	12,2	8,1	5,5	3,6	3,2	HPLC	<0,2	5,3	6,6	0,9	1,6	0,9	0.3
9	A 30 IMA			10,9	10,4				HPLC	2,3	3,4	5,6	7,1			
10	A 30 IMA	5,7	5,0	3,3	8,9	12,1	4,1	6,0	HPLC	1,8	9,3			5,2		
11	A 40 IMA	7,3		7,9		12,1	9,1	8,9	HPLC	0,4	6,9	5,6		5,1	4,8	3,9
12	A 30 IMA		7,4	10,6	9,3	11,5	9,5	8,1	HPLC	<0,5	<0,5	4,2	5,9	7,4	6,3	3,9
13	A 40 IMA				8.7				HPLC	0,3	7,3	5,5	7,6	5,9		
14	A 30 IMA	5,7	16,9	19,7	20,3	9,7	19,7	9,4	HPLC	4,1	10,9	13,1	10,1	9,8	9,1	3,2
15	A 30 IMA	4,2	12,8	10,7	16,9	12,5	8,3	4,6	HPLC	<0,5	5,8	4,6	7,5	4,8	2,7	0,7
16	A 30 IMA		0,9	1,9	2,7	5,3	5,6	2,9	HPLC	<0,2	<0,2	0,4	0,8	1,9	1,5	1,9
17	A 40 IMA	4,2	12,9	19,3	18,8	14,2	9,3	6,7	HPLC	0,6	8,3	12	9,7	7,4	5,9	2,6
18	A 30 IMA			19,0	16,5	14,6	8,6	6,0	HPLC		4,9	8,6	7,9	8	5,2	1,8
19	A 30 IMA	2,0	5,5			10,2	9,6	2,4	HPLC	0,6		5,6	6,6	5	6,1	1
20	A 20 IMA	4,0	12,1	12,4		7,0	8,2	4,0	HPLC	1,3	4,8	7,4	5,1	3,7	3,2	0,9
21	A 30 IMA	5,5	16,1	12,0	11,8	7,1	5,9	4,2	HPLC	1,6	7,6	7,7	5	3	1,5	0,5
22	A 40 IMA	4,9	6,5	11,0	9,5	16,7	29,7	14,1	HPLC	1,8	3	4,8	5,7	9,2	18,6	8
23	A 40 IMA	9,1	11,6	14,5	17,7	13,6	2,4	3,4	HPLC	4,1	7	8,2	10	7,5	3,5	0,5
24	A 30 IMA		7,0	11,5	12,2	11,2	9,5	7,6	HPLC	2,4	6,3	6	7,4	5,4	3,6	2,3
25	A 20 IMA	6,8	10,4	9,4	8,4	4,6	4,2	2,0	HPLC	5,2	4,9	4,2	3	1,8	1,7	<0,2
26	A 40 IMA	18,9	21	18	15,8	8,2	6,9	4,0	HPLC	11	12,7	9	3,5	9,7	1,7	0,6
27	A 30 IMA	3,4	9,4	16,6	14,6	10,5	9,9	4,4	HPLC	0,7	7,4	10,9	8,9	5,5	3	0,9
28	A 40 IMA	5,3	6,6	10,8	15,8	18,4	12,5	9,4	HPLC	1,8	2,6	4,6	6,5	8,7	5,6	3,3
29	A 30 IMA	7,8	15,2	21,5	21,9	16,4	13,9	9,3	HPLC	2,9	8	9,2	10,3	7,9	5,3	4
30	A 40 IMA	6,1	7,6	14,8	21,6	20,4	11,8	4,9	HPLC	2,9	5,1	8,3	15,4	12,2	6,2	1,2
31	A 30 IMA	2,9	6,7	8,0	21,5	14,5	9,7	5,7	HPLC	1,4	4,5	7,3	13,7	8,9	7,7	3
32	A 40 IMA	9,3	14,6	18,5	19,8	17,5	12,2	7,2	HPLC	4,1	10,1	12,4	12,4	12,7	8,1	4,4
33	A 40 IMA	11,6	17,8	18,6	21,5	20,8	17,3	11,7	HPLC	4,5	9	11,3	15,3	12	12,9	6,6
34	A 30 IMA	8,1	10,8	13,7	13,5	18	12,1	6,2	HPLC	3,1	7,5	8,7	9,4	10,9	8,3	2,1
35	A 30 IMA	6,8	9,3	17,4	17,2	11	9,2	4,4	HPLC	2,8	5,7	11,5	10,7	7,8	4,4	<0,5
36	A 40 IMA	6,6	9,9	15,1	19,5	14,7	15,4	7,5	HPLC	3,6	6,9	12,8	9,4	9,9	8,6	2,7
37	A 30 IMA	1,6	7,2	12,4	13,8	10,7	8,5	4,3	HPLC	<0,5	4,4	6,5	8	3,9	4,1	<0,5
38	A30 IMA	4,7	6,1	6,7	5,4	6,4	11,0	7,8	HPLC	<0,5	6,2	4,4	4,8	3,2	6,3	5,8

Gruppe A20, A30, A40 = Dosierungsgruppe 20, 30, 40 mg/kg Paracetamol; S_1 - S_7 : Speichelwerte zu den Abnahmezeiten 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h und 12 h nach Applikation; IMA = Immunoassay; HPLC = High-Performance-Liquid-Chromatographie.

Tabelle 5. Paracetamol-Konzentrationen [μg/ml] im Serum und Speichel mittels Immunoassay bestimmt.

Dot Nr	Gruppe Methode	B1	B2	В3	B4	B5	В6	B7	Methode	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
1 1	A 20 IMA	2,7	5,6	5,5	5,5	4,7	4,6	2,5	IMA	1,4	32	33	34	33	5,3	3,4
2	A 30 IMA	7,9	9,1	11,4	11,7	8,5	7,6	4,0	IMA	3,8	14,4		12,8	6,9	9,3	0,4
3	A 30 IMA	5,3	7,0	5,2	4,1	5,3	2,9	1,9	IMA	4,7	, .	7,6	3,8	5,4	6,5	3,4
4	A 40 IMA	7,1	15,4	19,8	21,5	13,7	_,0	.,0	IMA	3,4	15,9	13,2	0,0	٥, .	0,0	٥, .
5	A 40 IMA	3,1	6,0	9,4	9,9	8,7	5,8	2,3	IMA	2,9	4,5	10,6	12,5	10,9	8,3	5,6
6	A 40 IMA	4,0	6,3	7,4	8,1	7,0	12,0	7,6	IMA		5,9	10,2	10,3	12,9	15,2	19,5
7	A 30 IMA	4,0	5,8	8,5	8,8	8,8	4,1	3,7	IMA	7,2	7,9	12,3	10,7	13,2	9,6	7,3
8	A 40 IMA	3,1	5,3	5,8	5,5	2,7	1,5	0,6	IMA	1,5	7,9	12,2	8,1	5,5	3,6	3,2
9	A 30 IMA	5,1	7,8	10,5	9,8				IMA			10,9	10,4			
10	A 30 IMA	2,9	4,6	7,7	8,0	9,9	10,2	5,6	IMA	5,7	5,0	3,3	8,9	12,1	4,1	6,0
11	A 40 IMA	3,3	5,9	7,9	8,8	9,2	6,6	4,8	IMA	7,3		7,9		12,1	9,1	8,9
12	A 30 IMA	3,1	5,7	6,7	5,8	6	5,4	3,8	IMA		7,4	10,6	9,3	11,5	9,5	8,1
13	A 40 IMA	5,7	7,5	11,2	12,5	9,9	6,9	4,7	IMA				8,7			
14	A 30 IMA	4,7	9,6	13,1	14,5	18,1	13,3	5,5	IMA	5,7	16,9	19,7	20,3	9,7	19,7	9,4
15	A 30 IMA	2,8	7,3	8,2	9,4	5,1	4,7	1,4	IMA	4,2	12,8	10,7	16,9	12,5	8,3	4,6
16	A 30 IMA	2,5	2,4	1,5	1,9	2,4	2,9	3,6	IMA		0,9	1,9	2,7	5,3	5,6	2,9
17	A 40 IMA	2,5	9,4	13,6	12,2	9,1	5,5	2,2	IMA	4,2	12,9	19,3	18,8	14,2	9,3	6,7
18	A 30 IMA	0,9	8,1	13,8	12,2	7,6	5,3	3,8	IMA			19,0	16,5	14,6	8,6	6,0
19	A 30 IMA	0,8	5,5	6,9	7,6	6,9	7,0	2,0	IMA	2,0	5,5			10,2	9,6	2,4
20	A 20 IMA	2,4	6,0	7,0	8,8	9,1	3,8	2,0	IMA	4,0	12,1	12,4		7,0	8,2	4,0
21	A 30 IMA	2,4	8,6	9,5	6,4	4,5	3,2	0,9	IMA	5,5	16,1	12,0	11,8	7,1	5,9	4,2
22	A 40 IMA	1,3	2,7	6,2	6,2	9,7	25,1	10,2	IMA	4,9	6,5	11,0	9,5	16,7	29,7	14,1
23	A 40 IMA	5,5	9,5	11,9	13,8	10,1	4,5	1,1	IMA	9,1	11,6	14,5	17,7	13,6	2,4	3,4
24	A 30 IMA	2,6	5,4	7,6	9,1	5,7	6,1	2,7	IMA		7,0	11,5	12,2	11,2	9,5	7,6
25	A 20 IMA	4,1	6,5	4,8	4,0	1,5	0,7	0,4	IMA	6,8	10,4	9,4	8,4	4,6	4,2	2,0
26	A 40 IMA	7,9	12,2	12	13,1	6,3	3,2	1,4	IMA	18,9	21	18	15,8	8,2	6,9	4,0
27	A 30 IMA	3,5	34,1	12,7	9,2	5,8	4,0	0,5	IMA	3,4	9,4	16,6	14,6	10,5	9,9	4,4
28	A 40 IMA	1,1	5,3	8,1	9,5	11,3	6,6	4,1	IMA	5,3	6,6	10,8	15,8	18,4	12,5	9,4
29	A 30 IMA A 40 IMA	1,6	6,2	11,9	15,1	10,9	9,3	2,8	IMA	7,8	15,2	21,5	21,9	16,4	13,9	9,3
30 31	A 30 IMA	1,8	4,6	7,7 6,7	19,2 16,3	14,7	7,2	1,8	IMA IMA	6,1	7,6 6,7	14,8	21,6	20,4	11,8	4,9
32	A 40 IMA	2,3 6,5	3,4 12,7	12,9	13,6	11,3 8,5	8,8 7,7	3,1 4,2	IMA	2,9 9,3	6,7 14,6	8,0 18,5	21,5 19,8	14,5 17,5	9,7 12,2	5,7 7,2
33	A 40 IMA		10,3	12,9	15,6	0,5 14,5	12,3	4,2 6,8	IMA	9,3 11,6	17,8	18,6	,		17,3	11,7
33 34	A 30 IMA	4,5 4,2	7,2	8,8	12,1	14,5	4,2	0,8	IMA	8,1	17,8	13,7	21,5 13,5	20,8 18	17,3	6,2
35	A 30 IMA	4,2 2,6	7,2 4,8	0,0 7,8	12,1	6,3	4,2 10,4	3,4	IMA	6,8	9,3	17,4	17,2	11	9,2	4,4
36	A 40 IMA	2,0 3,5	4,8 6,8	11,5	9,9	12,7	11,6	3,4	IMA	6,6	9,3 9,9	17,4	17,2	14,7	15,4	7,5
37	A 30 IMA	2,1	5,7	8,7	8,3	5,6	4	0,7	IMA	1,6	9,9 7,2	12,4	13,8	14,7	8,5	4,3
38	A 30 IMA	1,3	2,5	4,2	5,6	3,4	73	7,1	IMA	4,7	6,1	6,7	5,4	6,4	11	7.8
30	A 30 IIVIA	1,3	۷,5	4,2	5,0	5,4	13	1,1	IIVIA	4,7	υ, ι	0,7	5,4	0,4	1.1	1,0

Gruppe A20, A30, A40 = Dosierungsgruppe 20, 30, 40 mg/kg Paracetamol; B_1 - B_7 = Serumwerte und S_1 - S_7 = Speichelwerte zu den Abnahmezeiten 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h und 12 h nach Applikation; IMA = Imunoassay.

Tabelle 6. Paracetamol-Konzentrationen [µg/ml] im Serum und Speichel. Mittels HPLC bestimmt.

Pat. Nr.	Gruppe	Methode	B1	B2	В3	B4	B5	В6	B7	Methode	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
1	A 20	HPLC	2,2	4,2	4,5	4,8	3,6	3,2	1,2	HPLC		,	, -,	,	- /-	-,-	0,8
2	A 30	HPLC	5	7,3	10,5	9,1	6,9	5	3	HPLC	0,3	8,4	4,5	6,7	5,5	4,6	3
3	A 30	HPLC	3,2 4		3,2	3,1	3,6	2,2	0,4	HPLC	2,1	4,1	1,9	3,4	2,3	1,7	
4	A 40	HPLC	6,3	14,5	19,4	23,3	10,8			HPLC	1,9	13,7	8	10,3			
5	A 40	HPLC	1,9	4	7,9	8,7	7,8	5,6	2,6	HPLC	<0,2	0,7	9,8	11	9,1	8,3	4,2
6	A 40	HPLC	3,1	4,9	5,6	6,9	6,5	12,7	13,2	HPLC	5,8	7,7	9,8	11	12,3	10,5	15,3
7	A 30	HPLC	5,2	7,8	10,7	10,3	10,8	6,8	5,8	HPLC	4,9	5,2	7,6	8	7,9	4,2	4,1
8	A 40	HPLC	2,1	5	6,2	4,8	2,2	1,2	0,2	HPLC	<0,2	5,3	6,6	0,9	1,6	0,9	0,3
9	A 30	HPLC	4	5,9	8,8	8,2				HPLC	2,3	3,4	5,6	7,1			
10	A 30	HPLC	2,1	4,1	6,4	7,7	9,6	7,9	4,7	HPLC	1,8	9,3			5,2		
11	A 40	HPLC	2,7	5,8	8,5	9,9	11,4	9,7	5,7	HPLC	0,4	6,9	5,6		5,1	4,8	3,9
12	A 30	HPLC	4	6,2	6,5	6,4	10	6,3	3,7	HPLC	<0,5	<0,5	4,2	5,9	7,4	6,3	3,9
13	A 40	HPLC	3,6	6,6	13	13,5	6,3	7	4,3	HPLC	0,3	7,3	5,5	7,6	5,9		
14	A 30	HPLC	3,3	9,1	9,9	12,1	12,6	9,9	5	HPLC	4,1	10,9	13,1	10,1	9,8	9,1	3,2
15	A 30	HPLC	2,8	6,3	5,7	6,6	ca.0,3	1,5	0,7	HPLC	<0,5	5,8	4,6	7,5	4,8	2,7	0,7
16	A 30	HPLC	1,4	1,7	1,6	1,3	2,2	1,2	2,4	HPLC	<0,2	<0,2	0,4	0,8	1,9	1,5	1,9
17	A 40	HPLC	2,3	7,8	11,3	10,6	9	6,5	3,1	HPLC	0,6	8,3	12	9,7	7,4	5,9	2,6
18	A 30	HPLC	0,7	5,8	10,7	9	5,6	4,5	1,9	HPLC		4,9	8,6	7,9	8	5,2	1,8
19	A 30	HPLC	1,3	4	5	6,2	6,7	5,3	1,7	HPLC	0,6		5,6	6,6	5	6,1	1
20	A 20	HPLC	2,6	5,8	7,3	6,8	7,5	4,1	1,5	HPLC	1,3	4,8	7,4	5,1	3,7	3,2	0,9
21	A 30	HPLC	6,3	2,3	7,4	5,7	3,3	2,1	<0,2	HPLC	1,6	7,6	7,7	5	3	1,5	0,5
22	A 40	HPLC	1,6	3,3	8,1	6,1	10	23,7	0,9	HPLC	1,8	3	4,8	5,7	9,2	18,6	8
23	A 40	HPLC	4	8,7	8,5	9,3	6,6	2,4	1,1	HPLC	4,1	7	8,2	10	7,5	3,5	0,5
24	A 30	HPLC	2,1	4,3	7,8	7,7	5,3	4,9	2,6	HPLC	2,4	6,3	6	7,4	5,4	3,6	2,3
25	A 20	HPLC	4,3	5,7	4,5	3,3	1,9	0,9	<0,2	HPLC	5,2	4,9	4,2	3	1,8	1,7	<0,2
26	A 40	HPLC	6,2	11	6,2	9,1	4,8	2,2	0,8	HPLC	11	12,7	9	3,5	9,7	1,7	0,6
27	A 30	HPLC	3,6	8,2	12,8	6,4	4,3	3,3	0,7	HPLC	0,7	7,4	10,9	8,9	5,5	3	0,9
28	A 40 A 30	HPLC HPLC	1,6	3,2 7,7	5,5	7,9	9,7	7	4,1	HPLC HPLC	1,8	2,6 8	4,6	6,5	8,7	5,6	3,3
29		HPLC	2,5	,	14,2	14,7 19	11,8	11,4 7	4,9	HPLC	2,9		9,2	10,3	7,9	5,3	4
30	A 40		0,9	3,3	6,3 5,7		14,3		1,6	HPLC	2,9	5,1	8,3	15,4	12,2	6,2	1,2
31 32	A 30 A 40	HPLC HPLC	1	2,9 13	5,7 12,6	12,8 10,9	11,9 7,8	8,1	1,6 2,4	HPLC	1,4	4,5 10,1	7,3	13,7	8,9 12,7	7,7 8,1	3
33	A 40		5,5			,	,	11,5	2,4 6	HPLC	4,1	,	12,4	12,4	12,7	,	4,4
33 34	A 40 A 30	HPLC HPLC	3,9 2,1	7,9	10,3 7,6	13,7 10,1	15,4 12,3	11,8	2	HPLC	4,5 3,1	9 7,5	11,3 8,7	15,3 9,4	10,9	12,9 8,3	6,6
34 35	A 30	HPLC	2,1 1,2	5,5 4,9	7,6 7,4	10,1	12,3 7,7	10,5 3,8	<0.5	HPLC	3,1 2,8	7,5 5,7	8,7 11,5	9,4 10,7	70,9 7,8	8,3 4,4	2,1 <0,5
36	A 40	HPLC	3,2	4,9 5,4	7,4 10,5	8,6	10,4	3,6 9,1	1,5	HPLC	2,6 3,6	5,7 6,9	12,8	9,4	7,8 9,9	4,4 8,6	2,7
37	A 30	HPLC	3,2 2,4	5,4	10,5	8,6	7,3	9, i 6,1	<0,5	HPLC	3,6 <0,5	6,9 4,4	6,5	9, 4 8	3,9	6,0 4,1	<0,5
38	A30	HPLC	2, 4 1,8	3,2	4,1	4,2	7,3 3,8	8,1	6,8	HPLC	<0,5 <0,5	4,4 6,2	6,5 4,4	6 4,8	3,9	6,3	5,8
30	ASU	HPLU	1,0	3,2	4, 1	4,2	٥,٥	ο, Ι	0,8	HPLC	~ 0,5	0,2	4,4	4,8	3,2	0,3	5,8

Gruppe A20, A30, A40 = Dosierungsgruppe 20, 30, 40 mg/kg Paracetamol; B_1 - B_7 = Serumwerte und S_1 - S_7 = Speichelwerte zu den Abnahmezeiten 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h und 12 h nach Applikation; HPLC = High-Performance-Liquid-Chromatographie.

3.3. Graphische Darstellung der Paracetamol-Konzentrationen einzelner Patientinnen

In den folgenden Abbildungen sind die Paracetamol-Konzentrationen einzelner Patientinnen graphisch dargestellt. Die Abbildung 5 zeigt als Beispiele die Verlaufskurven der Patientinnen Nr. 14, 15, 27, 29, 31 und 34. Diese Frauen hatten 30 mg/kg Paracetamol erhalten. In allen Abbildungen zeigen die roten Kurven die Serumwerte und die blauen Kurven die Speichelwerte, bestimmt mit der IMA-Methode. Die grünen Kurven zeigen die Serumwerte und die schwarzen Kurven die Speichelwerte, bestimmt mit der HPLC-Methode. In allen Graphiken werden die gemessenen Konzentrationen von Paracetamol in μg/ml über der Zeit angegeben. Gut sichtbar werden die starken Schwankungen der Paracetamol-Resorption nach rektaler Applikation, die auch in früheren Studien beschrieben worden sind [Anderson and Holford, 1997, Montgomery et al., 1995].

Die Abbildungen der Patientinnen 14, 15 und 27 wurden gewählt, um an Hand der Kurvenverläufe zu demonstrieren, warum einzelne Messergebnisse aus den weiteren Betrachtungen herausgenommen wurden. Die Graphik der Patientin 14 zeigt nach 360 min einen unplausiblen Speichelwert des Immunoassay S₅ von 9,7 μg/ml. Bei der Patientin 15 war der Serumwert der HPLC-Methode B₄ mit ca. 0,3 µg/ml angegeben. Auch er wurde nicht in die weitere statistische Auswertung einbezogen. Die Abbildung der Patientin 27 zeigt nach 120 min einen außergewöhnlich hohen, mittels Immunoassay bestimmten Serumwert B₂ von 34,1 µg/ml. Diesen Wert haben wir ebenfalls als unplausibel angesehen und aus der weiteren Betrachtung ausgeschlossen, da in den drei anderen Kurven die maximalen Paracetamol-Konzentrationen bei dieser Patientin erst nach 180 Minuten erreicht werden und weit unter dem IMA-B₂-Wert liegen (IMA-B₃ = 12,6 μg/ml, HPLC-B₃ = 12,8 μg/ml, IMA- $S_3 = 16.6 \mu g/ml$, HPLC- $S_3 = 7.4 \mu g/ml$). Die anderen Werte nach 120 Minuten sind HPLC-B₂ = 8,2 μ g/ml, IMA-S₂ = 9,4 μ g/ml und HPLC-S₂ = 7,4 μ g/ml und zeigen gute Übereinstimmung. Die Abbildungen der Patientin 29 und 31 zeigen Plasmakonzentration-Zeit-Kurven von Paracetamol mit dem maximalen Wirkspiegel nach 3 bzw. 4 Stunden. Die Graphiken zeigen unter Berücksichtigung einzelner Extremwerte eine gute Übereinstimmung bzw. Korrelation. Bereits hier wird deutlich, dass die Immunoassay-Speichelwerte durchschnittlich höher liegen als die Immunoassay-Serumwerte oder die Speichel- und Serumwerte, die mittels HPLC erhoben wurden.

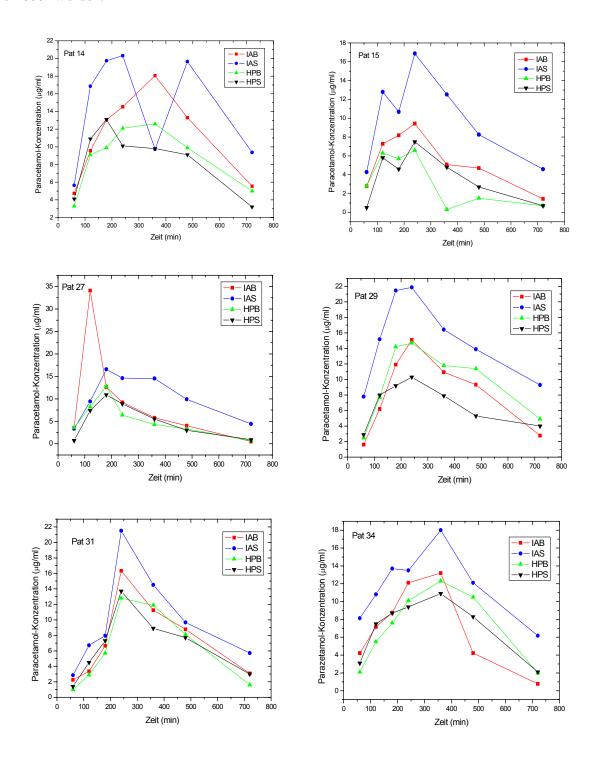


Abb. 5. Speichel- und Serum-Werte von 6 Patientinnen der Gruppe A30, bestimmt mittels Immunoassay und HPLC.

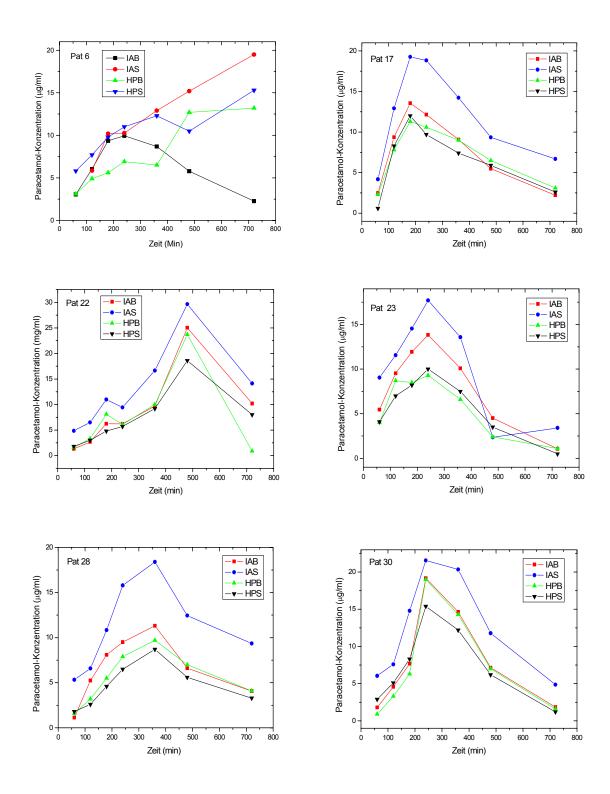


Abb. 6. Paracetamol-Konzentrationen in Speichel- und Serum von 6 Patientinnen der A40-Gruppe, bestimmt mittels HPLC und Immunoassay.

Die Abbildung der Patientin 34 zeigt, dass die Paracetamol-Spitzenspiegel erst nach 360 Minuten, d.h. nach 6 Stunden erreicht werden. Diese langsamen Anstiege

der Paracetamol-Konzentrationen sind nach rektaler Applikation nicht selten. Wir fanden starke Resorptionsschwankungen, die sich deutlich in dem individuellen Erreichen der Paracetamol-Spitzenspiegel zeigen.

Abbildung 6 zeigt die Verlaufskurven der Paracetamol-Konzentrationen von sechs Patientinnen der A40-Gruppe. Patientin 6 wählten wir, um am einzelnen Beispiel zu zeigen, wie groß die Schwankungen bei der rektalen Resorption sein können. Die Werte dieser Patientin stellen eine Ausnahme dar, sie ist die einzige, bei der 12 Stunden nach der Applikation noch kein Abfall des Paracetamol-Wirkspiegels nachweisbar ist. Lässt man die Kurve der Serumwerte des Immunoassays außer Betracht, zeigen beide Speichelkurven und die HPLC-Serumkurve, dass nach 12 Stunden die Plasmaspiegel immer noch anstiegen. Wir gehen davon aus, dass bei dieser Patientin tatsächlich erst nach 12 Stunden oder später maximale Paracetamolspiegel erreicht wurden.

Eine Erklärung für die zeitliche Verzögerung sehen wir darin, dass die Patientin mit 115 kg bei 1,70 m Körpergröße übergewichtig war und eine Dosis von 4500 mg (4,5 g) Paracetamol, das heißt 5 Suppositorien erhalten hat! Trotz der hohen Dosierung übersteigen die erfassten Maximalwerte nicht 20 μg/ml. Patientin 6 hatte als Dauermedikation L-Thyroxin[®] und Clozopin[®] eingenommen.

Die Verlaufskurven der Patientinnen 17, 22, 23, 28 und 30 demonstrieren die gute Korrelation der gemessenen Paracetamol-Werte. Die Graphiken zeigen eindrucksvoll die unterschiedlichen Zeitpunkte der maximalen Plasmaspiegel, die bei Patientin 17 nach 3 Stunden, Pat. 22 nach 8 Stunden, Pat. 23 nach 4 Stunden, Pat. 28 nach 5 Stunden und Pat. 30 nach 4 Stunden erreicht werden. Die erreichten Maximalwerte lagen auch in dieser Gruppe mit 40 mg/kg immer unter 30 μg/ml (maximaler IMA-Speichel = 29,7 μg/ml bei Pat. 22).

3.4. Berechnung der Mittelwerte und Standardfehler

Wegen der höheren Fallzahlen sortierten wir zunächst nur nach den beiden Dosierungsgruppen A30 und A40 und berechneten für diese beiden Gruppen die Mittelwerte (Tabellen 7 und 8). In der A20-Gruppe gab es nur 3 Patientinnen und eine davon hatte nur wenige (vier) Speichelwerte, so dass wir diese Gruppe nicht zur Berechnung von Mittelwerten verwendeten.

In Tabelle 7 werden alle errechneten Mittelwerte \overline{X} der A30-Gruppe dargestellt sowie die Standardfehler der Mittelwerte (SEM). Wir berechneten die Mittelwerte in dieser Gruppe für jeden Abnahmezeitpunkt. Es waren 20 Patientinnen in dieser Gruppe.

Tabelle 7. Mittelwerte \overline{X} der Speichel- und Serumkonzentrationen von Gruppe A30.

Zeit	IMA-S30	HPLC-S30	IMA-B30	HPLC-B30
60	4,9±0,6	2,2±0,4	2,7±0,3	2,8±0,3
120	9,1±1,2	6,5±0,5	7,5±1,6	5,4±0,5
180	12,2±1,4	6,8±0,7	8,6±0,7	7,8±0,7
240	13,6±1,4	7,5±0,7	9,6±0,9	8,1±0,8
360	11,4±0,9	6,0±0,6	7,7±1,0	7,5±0,8
480	9,7±0,9	4,8±0,5	6,5±0,7	5,7±0,7
720	5,8±0,5	2,6±0,4	3,0±0,5	3,0±0,5

Zeit = Zeitpunkt der Probenentnahme in Minuten nach Applikation des Paracetamols; IMA-S30 = Mittelwerte und Standardfehler der Immunoassay-Speichelwerte; HPLC-S30 = Mittelwerte und Standardfehler der HPLC-Speichelwerte; IMA-B30 = Mittelwerte und Standardfehler der Immunoassay-Serumwerte; HPLC-B30 = Mittelwerte und Standardfehler der HPLC-Serumwerte.

Abgesehen von den Immunoassay-Speichelwerten, die im Vergleich zu den anderen Werten immer deutlich höher sind, werden hier ausschließlich subtherapeutische Konzentrationen erreicht. Die Paracetamol-Maximalwerte der HPLC-Methode sowie die maximalen Serum-Mittelwerte des Immunoassay liegen unter $10~\mu g/ml$. Paracetamol-Spitzenspiegel werden erst nach 4 Stunden erreicht, und nach 12~Stunden ist ein deutlicher Abfall der Mittelwerte zu sehen.

Tabelle 8. Mittelwerte \overline{X} der Speichel- und Serumkonzentrationen von Gruppe A40.

Zeit	IMA-S40	HPLC-S40	IMA-B40	HPLC-B40
60	7,0±1,3	3,2±0,8	4,1±0,5	3,3±0,4
120	11,0±1,4	7,1±0,9	8,0±0,9	7,0±0,9
180	13,9±1,0	8,6±0,7	10,6±0,9	9,3±1,0
240	15,4±1,4	9,2±1,1	11,9±1,2	10,8±1,3
360	14,3±1,3	8,8±0,8	9,9±0,8	8,9±0,9
480	11,8±1,9	7,4±1,3	8,3±1,5	8,4±1,5
720	8,2±1,3	4,1±1,1	3,9±0,7	3,4±0,9

Zeit = Zeitpunkt der Probenentnahme in Minuten nach Applikation des Paracetamols; IMA-S40 = Mittelwerte und Standardfehler der Immunoassay-Speichelwerte; HPLC-S40 = Mittelwerte und Standardfehler der HPLC-Speichel-werte; IMA-B40 = Mittelwerte und Standardfehler der Immunoassay-Serumwerte; HPLC-B40 = Mittelwerte und Standardfehler der HPLC-Serumwerte.

In Tabelle 8 sind für die A40-Gruppe die entsprechenden Mittelwerte \overline{X} und deren Standardfehler zusammengefasst. In dieser Gruppe gab es 15 Patientinnen. Es ist zu sehen, dass die Mittelwerte und die mittleren Maximalkonzentrationen der A40-Gruppe besser im therapeutischen Bereich (10-20 µg/ml) liegen als bei der A30-Gruppe. Zumindest für eine antipyretische Therapie sind die Wirkspiegel zufriedenstellend. Ob diese Konzentrationen auch mit einem ausreichenden analgetischen Effekt einhergehen, wird in der Literatur kontrovers diskutiert [Cobby et al., 1999; Beck et al., 2000; Hernandez-Palazon, 2001]. Die erreichten Paracetamol-Konzentrationen liegen weit unter den als toxisch bekannten 150 µg/ml.

3.5. Graphische Darstellungen der Mittelwerte

Die beiden folgenden Abbildungen 7 und 8 sind die graphischen Darstellungen der errechneten Mittelwerte der Paracetamolkonzentrationen beider Patientengruppen und ihrer Standardfehler (SEM). In Abbildung 7 sind die Paracetamol-Mittelwerte der Patientengruppe A30 und deren Standardfehler graphisch dargestellt. Hier sind zur besseren Veranschaulichung die Serum- und Speichelwerte beider Bestimmungsmethoden im Vergleich zu sehen. Die blaue Kurve zeigt Mittelwerte aller Paracetamol-Konzentrationen, die in Speichel mittels Immunoassay bestimmt worden sind. Die rote Kurve entspricht den Mittelwerten aller Paracetamol-Konzentrationen, die in Serum mittels Immunoassay bestimmt worden sind. Die grüne und schwarze Kurve stellen die Mittelwerte der durch HPLC bestimmten Paracetamol-Konzentrationen in Serum und Speichel dar.

Auffällig ist, dass die durch Immunoassay bestimmten Speichelwerte im Mittel über den Serumwerten, sowie über den mittels HPLC bestimmten Serum- und Speichel-Werten liegen, und zwar im gesamten Verlauf der Untersuchung.

Abbildung 8 zeigt die Mittelwerte und Standardfehler der Paracetamol-Konzentrationen, die in Speichel und Serum der 40 mg/kg – Gruppe bestimmt worden sind. Die blaue und rote Kurve zeigen wieder die Mittelwerte, die in Speichel und Serum mittels Immunoassay bestimmt wurden. Die grüne und die schwarze Kurve zeigen die mittels HPLC in Serum und Speichel bestimmten Mittelwerte. In den Abbildungen 7 und 8 ist übereinstimmend zu sehen, dass die mittels

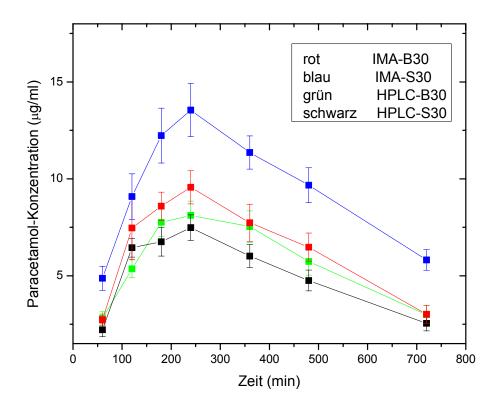


Abb. 7. Mittelwerte der Paracetamol-Konzentrationen der Patientengruppe A30.

Immunoassay bestimmten Speichelwerte immer deutlich höher sind als die entsprechenden Serumwerte, weiterhin sind die für Speichel bestimmten IMA-Werte höher als die HPLC-Werte. In beiden Abbildungen ist gut zu erkennen, dass die maximalen Konzentrationen nach 4 Stunden erreicht werden. Das entspricht den Ergebnissen von Hahn et al. (2000b). Der Abfall der Paracetamolkonzentration nach 12 Stunden ist ebenfalls gut ersichtlich.

In Übereinstimmung mit Literaturangaben zu anderen Untersuchungen [Preskott, 1971, zitiert in Hahn et al., 2000b] ermittelten auch wir bei keiner Patientin auch nur annähernd einen toxischen Paracetamolspiegel von 990 μmol/l bzw. 150 μg/ml, was bei der applizierten Paracetamol-Dosis vollständig den Erwartungen entspricht.

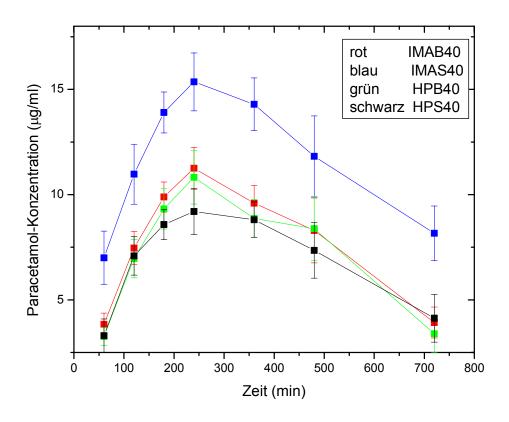


Abb. 8. Mittelwerte der Paracetamol-Konzentrationen der Patientengruppe A40.

3.6. Errechnung des Korrelationskoeffizienten

3.6.1. Vergleich der Serum- und Speichelwerte

In Tabelle 9 und Tabelle 10 werden die Mittelwerte der Serumwerte (MW B) und die Mittelwerte der Speichelwerte (MW S) aller Dosierungsgruppen A20, A30 und A40 zu den entsprechenden Zeiten $T_1 = 60$ min, $T_2 = 120$ min, $T_3 = 180$ min, $T_4 = 240$ min, $T_5 = 360$ min, $T_6 = 480$ min und $T_7 = 720$ min angegeben. In der Spalte Diff wird die Mittelwert-Differenz zwischen Serum- und Speichelwerten angezeigt. Weiterhin wurde die untere und obere 95%-Konfidenzintervallgrenze für die Mittelwert-Differenz errechnet (KI-U-Diff, KI-O-Diff). Sig Diff gibt die Signifikanz für den t- Test für abhängige Stichproben an. Überschreiten die 95%-Konfidenzintervall-Grenzen die Null, so ist das ein Zeichen dafür, dass die Paardifferenzen nicht signifikant verschieden sind, was sich auch in den Signifikanzangaben widerspiegelt, die dann > 0,05 sind. Bei der HPLC-Methode ist das zum Zeitpunkt T_2 , T_3 , T_4 , T_5 und T_7 der Fall. Das bedeutet, dass die Serum- und Speichelwerte der HPLC-Methode sich zu diesen Zeitpunkten nicht signifikant

unterscheiden (auch wenn die Serumwerte im Gegensatz zur IMA-Methode etwas höher als die Speichelwerte sind, auch zum Zeitpunkt T₁!).

Tabelle 9. Mittelwerte der mittels HPLC bestimmten Paracetamol-Konzentrationen in Serum und Speichel.

Zeitpunkt	MW B	MW S	Diff	KI-U-Diff	KI-O-Diff	Sig Diff	n	r	Sig r
T_1	3,09	2,27	0,82	0,11	1,52	0,024	36	0,440	0,010
T ₂	6,09	6,28	-0,19	-0,95	0,57	0,616	36	0,710	0,000
T ₃	8,03	7,45	0,58	-0,34	1,50	0,209	35	0,610	0,000
T_4	8,64	7,90	0,74	-0,03	1,50	0,059	34	0,820	0,000
T ₅	7,86	7,01	0,85	-0,07	1,77	0,068	34	0,700	0,000
T ₆	6,56	5,64	0,92	0,24	1,59	0,009	33	0,920	0,000
T ₇	2,77	2,69	0,08	-0,27	0,42	0,663	32	0,940	0,000
Gesamt	6,15	5,61	0,54	0,26	0,82	0,000	240	0,834	0,000

MWB = Mittelwert Serumwerte; MWS = Mittelwert Speichelwerte; Diff = Mittelwertdifferenz (Serum minus Speichel); KI-U-Diff = Untere 95%-Konfidenzintervallgrenze für Mittelwertdifferenz; KI-O-Diff = Obere 95%-Konfidenzintervallgrenze für Mittelwertdifferenz; Sig Diff = Signifikanz <math>t-Test für abhängige Stichproben; n = Gültige Fallzahl; r = Korrelation nach Pearson zwischen Serum- und Speichelwerten; Sig r = KSignifikanzangabe zum Korrelationskoeffizienten.

Der Korrelationskoeffizient r nach Pearson ist ein Maß für den statistischen Zusammenhang zwischen Serum- und Speichelwerten. Die Korrelationswerte für Serum und Speichel zeigen insgesamt einen sehr starken linearen statistischen Zusammenhang. Es fällt jedoch auf, dass nach 60 Minuten mit HPLC und Immunoassay deutlich geringere Korrelationswerte gegenüber den anderen Messzeitpunkten erzielt worden sind, mittels HPLC ist r=0,440 (p=0,01) und mittels IMA ist r=0,480 (p=0,01).

Tabelle 10. Mittelwerte der mittels IMA bestimmten Paracetamol-Konzentrationen in Serum und Speichel.

Zeitpunkt	MW B	MW S	Diff	KI-U-Diff	KI-O-Diff	Sig Diff	n	r	Sig r
T ₁	3,50	5,72	-2,22	-3,34	-1,10	0,000	31	0,480	0,010
T 2	6,85	10,14	-3,28	-4,32	-2,25	0,000	31	0,810	0,000
T 3	8,85	12,69	-3,85	-4,82	-2,87	0,000	33	0,830	0,000
T 4	10,09	13,70	-3,61	-4,59	-2,63	0,000	33	0,870	0,000
T 5	7,95	11,96	-4,01	-4,89	-3,13	0,000	33	0,840	0,000
T 6	6,83	10,05	-3,22	-4,10	-2,35	0,000	35	0,870	0,000
T 7	3,18	6,45	-3,27	-4,05	-2,49	0,000	34	0,790	0,000
Gesamt	6,76	10,12	-3,36	-3,71	-3,01	0,000	230	0,868	0,000

Abkürzungen wie in Tabelle 9.

Die Ergebnisse des Immunoassays zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen Serum- und Speichelwerten zu allen Zeitpunkten, da die Speichelwerte insgesamt etwas höher bestimmt wurden. Trotzdem besteht zwischen den mittels Immunoassay bestimmten Serum- und Speichelwerten ein starker linearer statistischer Zusammenhang (r = 0.868). Auch bei der HPLC-Methode liegt der Korrelationswert sehr hoch (r = 0.834) und zeigt einen starken linearen statistischen Zusammenhang.

3.6.2. Vergleich der Methoden zur Paracetamol-Bestimmung mittels HPLC und Immunoassay

In Tabelle 11 werden die Serumwerte der HPLC-Methode mit den Serumwerten des Immunoassays verglichen, in Tabelle 12 werden entsprechend die Speichelwerte der beiden Methoden verglichen. Die errechneten Mittelwerte MW sind die Mittelwerte aller Dosierungsgruppen A20, A30 und A40 zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten $T_1 = 60 \text{ min}$, $T_2 = 120 \text{ min}$, $T_3 = 180 \text{ min}$, $T_4 = 240 \text{ min}$, $T_5 = 360 \text{ min}$ min, $T_6 = 480$ min und $T_7 = 720$ min jeweils für Serum und Speichel. Zu allen Zeitpunkten sind die Mittelwerte der HPLC-Methode niedriger als die Mittelwerte des Immunoassays. Das gilt für die Serum- und für die Speichelwerte. Wie auch schon in den graphischen Abbildungen 7 und 8 im Abschnitt 3.5 zu sehen ist, sind besonders die Speichelwerte des Immunoassays signifikant höher (p < 0,001) als die Speichelwerte der HPLC- Methode. Der Pearson-Korrelationskoeffizient r zeigt, dass es zu allen Messzeitpunkten einen engen statistischen Zusammenhang zwischen den beiden Methoden sowohl für die Serum- als auch für die Speichelwerte gibt. Er reicht für die Serumwerte von 0.769 (p < 0.001) bis 0.940 (p < 0.001) und für die Speichelwerte von 0.757 (p < 0.001) bis 0.932 (p < 0.001). Die errechnete Gesamt-Korrelation für alle 258 Serumwerte-Paare der beiden Methoden HPLC und Immunoassay beträgt r = 0.919 mit einer hohen Signifikanz p < 0.001 und die errechnete Gesamt-Korrelation für alle 223 Speichelwerte-Paare beträgt 0,880 (p < 0,001).

Tabelle 11. Vergleich der mittels HPLC und Immunoassay bestimmten Paracetamol-Daten in Blut.

Zeitpunkt	MW HPLC	MW IMA	Diff	KI-U-Diff	KI-O- Diff	Sig Diff	n	r	Sig r
T_1	3,00	3,48	-0,48	-0,87	-0,09	0,017	38	0,769	0,000
T ₂	5,92	6,87	-0,95	-1,42	-0,48	0,000	37	0,873	0,000
T ₃	8,19	9,12	-0,93	-1,48	-0,38	0,001	38	0,882	0,000
T_4	8,93	10,14	-1,21	-1,69	-0,72	0,000	38	0,940	0,000
T ₅	7,83	8,43	-0,61	-1,21	-0,01	0,048	36	0,882	0,000
T ₆	6,51	6,83	-0,31	-1,09	0,46	0,417	36	0,866	0,000
T ₇	2,80	3,05	-0,25	-0,76	0,26	0,324	35	0,835	0,000
Gesamt	6,19	6,88	-0,69	-0,89	-0,48	0,000	258	0,919	0,000

 $MW\ HPLC = Mittelwert\ Methode\ HPLC;\ MW\ IMA = Mittelwert\ Methode\ IMA;\ Diff = Mittelwertdifferenz\ (HPLC\ minus\ IMA);\ KI-U-Diff = Untere\ 95\%-Konfidenzintervallgrenze\ für\ Mittelwertdifferenz;\ KI-O-Diff = Obere\ 95\%-Konfidenzintervallgrenze\ für\ Mittelwertdifferenz;\ Sig\ Diff = Signifikanz\ t-Test\ für\ abhängige\ Stichproben;\ n = Gültige\ Fallzahl;\ r = Korrelation\ nach\ Pearson\ zwischen\ HPLC-\ und\ IMA-Werten;\ Sig\ r = Signifikanzangabe\ zum\ Korrelationskoeffizienten.$

Tabelle 12. Vergleich der mittels HPLC und Immunoassay bestimmten Paracetamol-Daten in Speichel.

Zeitpunkt	MW HPLC	MW IMA	Diff	KI-U-Diff	KI-O- Diff	Sig Diff	n	r	Sig r
T_1	2,35	5,86	-3,51	-4,17	-2,86	0,000	30	0,889	0,000
T_2	6,43	10,26	-3,83	-4,94	-2,72	0,000	31	0,757	0,000
T ₃	7,66	12,98	-5,33	-6,28	-4,38	0,000	32	0,816	0,000
T_4	8,03	13,85	-5,82	-7,04	-4,60	0,000	32	0,783	0,000
T ₅	6,89	11,96	-5,07	-5,97	-4,18	0,000	33	0,833	0,000
T ₆	5,64	10,37	-4,73	-5,59	-3,87	0,000	33	0,895	0,000
T ₇	2,85	6,56	-3,71	-4,21	-3,22	0,000	32	0,932	0,000
Gesamt	5,72	10,31	-4,59	-4,94	-4,24	0,000	223	0,880	0,000

Abkürzungen wie in Tabelle 11.

3.7. Darstellung der Werte in Scatter-Diagrammen

3.7.1. Graphische Darstellung der mittels HPLC und Immunoassay ermittelten Serumwerte

In Abbildung 9 werden die Serumwerte der HPLC-Methode den Serumwerten der Immunoassay-Methode gegenüber gestellt. Die Paracetamolkonzentrationen sind jeweils in µg/ml angegeben. Es wurden alle gemessenen Werte von allen Zeitpunkten eingetragen, von denen jeweils ein Serumwertepaar von beiden Bestimmungsmethoden vorhanden war.

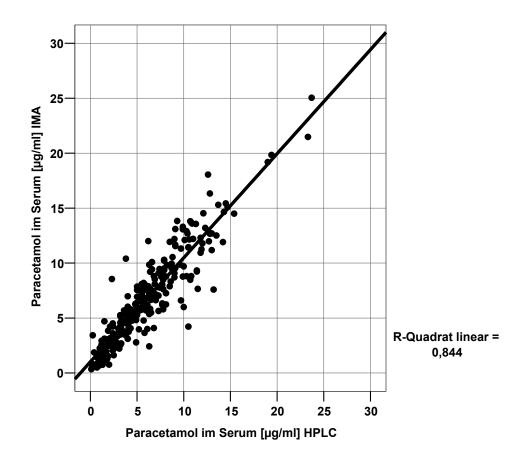


Abb. 9. Zusammenhang der mittels HPLC und Immunoassay bestimmten Paracetamol-Konzentrationen in Serum.

In der graphischen Darstellung wurden einzelne Extremwerte sichtbar. Diese im folgenden angegebenen Extremwerte nahmen wir aus der weiteren Berechnung und Darstellung heraus, da sie unplausibel erschienen und als Messfehler gewertet wurden. Es handelt sich bei den Serumwerten um folgende drei Werte:

Pat-Nr.15: HPLC-B₅ = 0,3 μ g/ml, Pat-Nr.22: HPLC-B₇ = 0,9 μ g/ml, Pat-Nr.27: IMA-B₂ = 34,09 μ g/ml.

Diese Werte wurden als Ausreißer betrachtet, weil sie weder im Vergleich zu den zeitgleichen Messungen im Speichel und Serum der anderen Bestimmungsmethode noch innerhalb des Kurvenverlaufs der gleichen Serumbestimmungsmethode plausibel waren. r² linear ist das Bestimmtheitsmaß einer linearen Regression. Der hohe Wert von 0,844 bedeutet, dass die IMA-Werte aus den HPLC-Werten gut

prognostiziert werden können und umgekehrt. Es lässt sich eine gute Korrelation zwischen den Serumwerten der beiden Bestimmungsmethoden erkennen.

3.7.2. Graphische Darstellung der mittels HPLC und Immunoassay ermittelten Speichelwerte

In Abbildung 10 werden die zu vergleichenden Speichelwerte graphisch dargestellt. Die x-Achse zeigt die HPLC-Speichelwerte und die y-Achse die Immunoassay-Speichelwerte. Alle Paracetamolkonzentrationen sind in μ g/ml angegeben. Auch bei den Speichelwerten stellten sich im Scatter-Diagramm einzelne Ausreißer dar, die wir aus der weiteren Betrachtung und Berechnung herausnahmen, weil sie unplausibel waren.

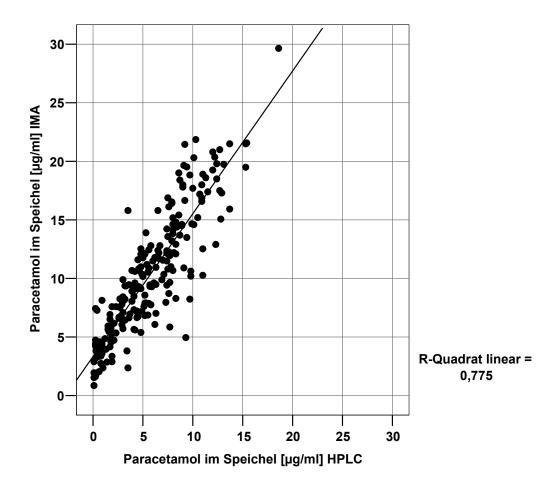


Abb. 10. Zusammenhang der mittels HPLC und Immunoassay bestimmten Paracetamol-Konzentrationen in Speichel.

Es handelt sich um folgende vier Werte:

Pat-Nr.4: HPLC-S₃ = 8,0
$$\mu$$
g/ml, IMA-S₃ = 13,17 μ g/ml, HPLC-S₄ = 10,3 μ g/ml,

Pat-Nr.14: IMA-S₅ = 9,73
$$\mu$$
g/ml.

Die mittels Immunoassay gemessenen Speichelwerte sind durchschnittlich etwas höher als die HPLC-Speichelwerte, was sich in einem steileren Anstieg der Regressionsgeraden zeigt. r² beträgt 0,775.

3.7.3. Graphischer Vergleich der mittels HPLC und Immunoassay bestimmten Serum- und Speichelwerte

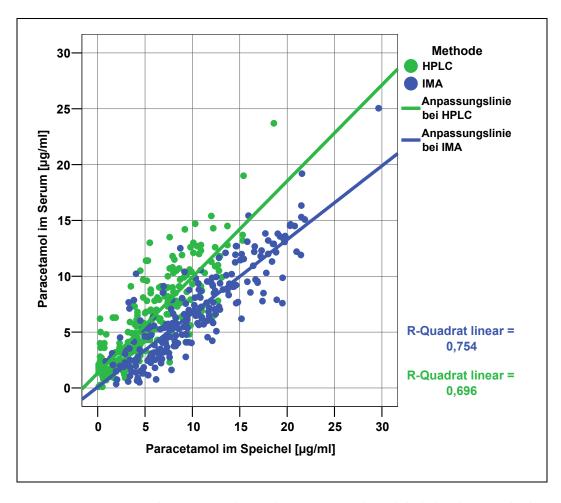


Abb. 11. Paracetamol-Konzentrationen in Serum- und Speichel, bestimmt mittels HPLC und Immunoassay.

Abbildung 11 zeigt die Serumwerte im Vergleich zu den Speichelwerten. Die grüne Punktwolke stellt alle mittels HPLC gemessen Wertepaare dar, die blaue Punktwolke zeigt die mittels Immunoassay erhaltenen Messwerte. Der geringere Anstieg der Regressionsgeraden des Immunoassays (blau) erklärt sich durch die tendenziell höher gemessenen Speichelwerte. r² linear beträgt für die HPLC-Methode 0,696 und für den Immunoassay 0,754.

3.8. Regressionsanalyse

Für jede der beiden Methoden wurde getrennt ein Prognosemodell zur Vorhersage von Paracetamol-Konzentrationen in Serum aus gemessenen Speichelwerten entwickelt.

Prognosemodel HPLC (Korrigiertes $r^2 = 0.695$)

Serumwert $[\mu g/ml] = 1,326 + 0,860*Speichelwert [\mu g/ml]$

Prognosemodel IMA (Korrigiertes $r^2 = 0.753$)

Serumwert[μ g/ml] = 0,079 + 0,660*Speichelwert [μ g/ml]

3.9. Verhältnis zwischen Speichel- und Serum-Konzentration

Die Abbildungen 12 und 13 zeigen das Verhältnis Speichel-/Serum-Konzentration jeweils für die beiden Methoden in Abhängigkeit von der Serum-Konzentration.

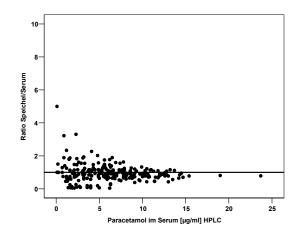


Abb. 12. HPLC.

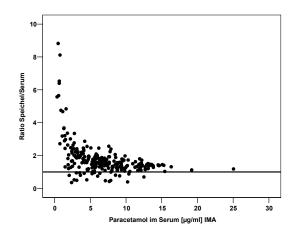


Abb. 13. Immunoassay.

In beiden Diagrammen ist zu sehen, dass es besonders in den niedrigen Messbereichen bis 5 μg/ml eine große Streuung gibt. In diesem Bereich scheinen bei beiden Methoden einzelne Speichelwerte deutlich über den Serumwerten zu liegen. In den höheren Messbereichen nähert sich das Speichel-/Serum-Verhältnis mehr an die 1 an. Jedoch zeigt Abbildung 13, dass die Punktwolke des Immunoassays in der Tendenz oberhalb der 1 liegt.

4. DISKUSSION

4.1. Patientenauswahl

Im Gegensatz zu vielen anderen Vorstudien, die gesunde Probanden untersuchten [Adithan and Thangam, 1982, Kamali et al., 1987, Sanaka et al., 2000] hatten wir weitreichende Einschlusskriterien. Dementsprechend haben wir eine große Altersspanne von 19 bis 86 Jahren gewählt, Patientinnen der Risiko-Klassen 1 bis 3 der ASA-Klassifikation eingeschlossen und Dauermedikationen zugelassen. Zwei unserer Patientinnen (Pat. 12 und 17) hatten einen insulinpflichtigen Diabetes mellitus. Adithan et al. (1988) beschreiben, dass die diabetische Stoffwechsellage eine signifikant verlängerte Wirkdauer infolge einer verminderten Elimination von Paracetamol aufweist. Darin sahen wir jedoch kein Problem, da bei Erfüllung der Annahme einer direkten Korrelation zwischen Serum- und Speichelwerten sich Effekte auf beide Werte gleichartig auswirken müssten. Niereninsuffiziente Patientinnen wurden ausgeschlossen, da Lee et al. (1996) die schlechte Korrelation von Speichel- und Serumwerten bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz und chronischer Hämodialyse beschrieb. Im Gegensatz dazu fanden Lowenthal et al. (1976) bei ihren terminal niereninsuffizienten Patienten eine gute Korrelation zwischen Serum- und Speichelwerten. Ausschlusskriterien wurden vor allem zum Schutz der Patientinnen angewandt, die selbstverständlich keine bekannten Kontraindikationen haben durften. Ansonsten war eine große Streuung unproblematisch, da die Studie unabhängig dem biologischen von Resorptionsverhalten den Vergleich der Serum- und Speichelwerte und den Vergleich der beiden Bestimmungsmethoden HPLC und Immunoassay zum Ziel hatte. Pharmakokinetik und Pharmakodynamik sollten dabei nicht einbezogen werden. Da wir bei der Patientenauswahl relativ großzügig waren, ist das sicher ein weiterer Grund für die recht großen individuellen Schwankungen, die nach rektaler Applikation ohnehin bekannt sind [Hopkins et al., 1990, Houck et al., 1995, Montgomery et al., 1995].

4.2. Vergleich der Serum- und Speichelwerte

Wir fanden sehr gute Korrelationen zwischen Serum- und Speichelwerte-Paaren für beide Messmethoden (HPLC: r = 0.834, p < 0.001 und Immunoassay: r = 0.868,

p < 0,001). Diese Korrelationswerte entsprechen den Ergebnissen anderer Autoren. So fanden Glynn and Bastian (1973) einen Korrelationskoeffizienten von r = 0.78, Adithan and Thangam (1982) ein r = 0.79 (p < 0.001), Kamali et al.(1987) ein r = 0.895 (p < 0.001), Smith et al. (1991) ein r = 0.67 (p < 0.001), Hahn et al. (2000a) ein r = 0.91 (p < 0.001), Sanaka et al. (2002) ein r = 0.934 (p < 0.0001!), und Gandia et al. (2003) ein r = 0.8707. Zum Zeitpunkt T_1 , also nach 60 Minuten, zeigten beide Methoden die niedrigsten Korrelationswerte (HPLC: r = 0,440 mit p = 0.01; IMA: r = 0.480 mit p = 0.01). Adithan und Thangam (1982) fanden besonders in den ersten 60 Minuten deutlich höhere Speichelwerte als Serumwerte. Auch Kamali et al. (1986) beschrieben dieses Phänomen und vermuteten, dass während der Resorptionsphase die Paracetamolkonzentration im arteriellen Blut höher als im venösen Blut sei und die gemessenen Speichelwerte den arteriellen Blutwerten entsprechen. Eine andere Erklärung wäre, dass aktive Transportmechanismen zum Übergang von Paracetamol in den Speichel beitragen, die zusätzlich zur passiven Diffusion wirken und damit zu den beobachteten, erhöhten Speichelwerten führen. Jedoch bleibt unklar, warum dieses Phänomen nur in den ersten 50 bis 60 Minuten auftrat und im weiteren Verlauf nicht mehr nachweisbar war. Smith et al. fanden 1991 eine relativ geringe Korrelation der Mittelwerte von r = 0.67 und p < 0.001 mit ebenfalls höheren Speichelwerten. Smith et al. kommen auf Grund der zu geringen Übereinstimmung von Serum- und Speichelwerten zu dem Schluss, dass es nicht empfehlenswert ist, pharmakokinetische Studien zu Paracetamol unter Verwendung von Speichelproben durchzuführen. Jedoch wurden nur 10 Probanden untersucht, denen lediglich 30 und 60 Minuten nach Paracetamol-Applikation Speichel und Blut abgenommen wurden. Im Gegensatz zu unserer Untersuchung wurden in den drei Studien die Paracetamol-Konzentrationen nach oraler Applikation des Wirkstoffs bestimmt. Sanaka et al. (2000) vermuteten, dass Paracetamol-Reste in der Mundhöhle nach oraler Aufnahme zu den initial erhöhten Speichelwerten führen könnten. Es ist fraglich, ob die von uns nach 60 Minuten beobachteten niedrigen Korrelationswerte mit den beschriebenen Phänomenen zusammenhängen, da die Mittelwerte der mittels HPLC im Speichel bestimmten Paracetamol-Konzentrationen sogar signifikant niedriger sind als die Serum-Werte. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen fanden Babalola et al. (2004) mittels HPLC durchgängig höhere Plasmaspiegel im Vergleich zu den Speichelwerten nach oraler Gabe von 1 g Paracetamol. Während der frühen Resorption von Paracetamol gibt es offensichtlich die größten Schwankungen zwischen Serum- und Speichelwerten. Wir vermuten, dass unsere mittels Immunoassay bestimmten, erhöhten Speichelwerte auf methodische Ursachen des Assays zurückzuführen sind. Dafür spricht auch, dass wir im gesamten Untersuchungsverlauf mittels Immunoassay signifikant (p < 0,001) höhere Speichelwerte bei gleichbleibend guter Korrelation messen. Dies ist die erste Studie, die Serum- und Speichelwerte mittels Immunoassay vergleicht. Gandia et al. (2003) bestimmten die Plasmawerte mittels Immunoassay und die Speichelwerte mittels HPLC und fanden eine gute Korrelation der Serum- und Speichelpaare mit einem Korrelationsfaktor von r = 0.8707. Sanaka et al. (2002) bestimmten Serumund Speichelwerte mittels HPLC nach oraler Paracetamolaufnahme und verglichen Probanden, die vor der Applikation feste Nahrung aufgenommen hatten, mit einer Kontrollgruppe. Die Kontrollgruppe zeigte eine deutlich geringere Korrelation von r = 0,503 (p = 0,0009) bei Einschluss der Werte der ersten 25 Minuten, während die Probanden mit Nahrungsaufnahme im gesamten Untersuchungszeitraum von 6 Stunden eine starke Korrelation von r = 0.971, p < 0.0001 zeigten. Die Speichelwerte waren leicht erhöht im Vergleich zu den Serumwerten. Jedoch wurden in dieser Studie nur 5 gesunde Probanden untersucht.

Wir erlaubten unseren Patientinnen unmittelbar nach dem Verlassen des Aufwachraumes (durchschnittliche Liegedauer 30 Minuten) im gesamten Untersuchungszeitraum orale Flüssigkeitszufuhr, da es zunächst bei den ersten Patientinnen mit größeren gynäkologischen Eingriffen und der postoperativ notwendigen Nahrungskarenz keine für die Probengewinnung ausreichende Speichelmenge gab. Sanaka et al. (2002) fanden keine Beeinflussung der Korrelation zwischen Serum- und Speichelwerten durch Aufnahme von fester Nahrung und schließen daraus, dass die Paracetamolkonzentration im Speichel nicht durch die Speichelflussrate beeinflusst wird. Aus diesem Grund sahen wir kein Problem in der oralen Flüssigkeitsaufnahme.

Die von uns beobachteten guten Korrelationswerte zeigen, dass die Messung von Paracetamol-Konzentrationen prinzipiell in Serum und Speichel möglich ist. Es liegt auf der Hand, dass die nicht invasive Probengewinnung von Speichel viele Vorteile bietet, wie z.B. keinen Punktionsschmerz, kein Infektionsrisiko, keine Notwendigkeit von qualifiziertem Personal. Gerade bei Kindern mit schwierigen Venenpunktionsverhältnissen ist die atraumatische Gewinnung von Speichel sowohl

bei der Durchführung pharmakokinetischer Studien als auch bei dem Monitoring von Paracetamol-Intoxikationen unbestritten sehr vorteilhaft. Dem steht entgegen, dass die Abgabe von ausreichenden Speichelmengen für unsere postoperativen Patientinnen, die noch Nahrungskarenz einhalten mussten oder mit Übelkeit und Erbrechen kämpften, häufig ein Problem darstellte. Erschwerend war zu berücksichtigen, dass wir für die Durchführung der Studie eine größere Materialmenge als üblich benötigten, um die Proben für die Doppelbestimmungen teilen zu können.

4.3. Vergleich von HPLC und Immunoassay

Beim Vergleich der mittels HPLC und Immunoassay erhaltenen Ergebnisse stellt sich erwartungsgemäß ein enger statistischer Zusammenhang dar. Vergleicht man die Serumwertepaare beider Methoden (n = 258) beträgt der Korrelations-Koeffizient nach Pearson r = 0,919 (p < 0,001). Ähnlich gut sind die Ergebnisse bei den Speichelwerten mit r = 0,880 (p < 0,001) bei einer Gesamtzahl von Messpaaren von n = 223. Es ergeben sich zu allen Messzeiten sehr gute Korrelationswerte. Der Hersteller des Immunoassays AxSYM® hat vergleichend 58 Serumwerte mittels HPLC und Immunoassay untersucht und gibt einen Korrelationskoeffizienten von r = 0,995 an [AxSYM® System Acetaminophen, 1997]. Bei diesen Tests lagen die Paracetamolwerte in einem Bereich von 10-393 µg/ml, der höher liegt als bei unseren Messungen und unter Umständen das im Vergleich zu unseren Daten bessere Korrelationsergebnis erklärt. In der Literatur haben wir nur eine weitere Studie zur vergleichenden Bestimmung von Paracetamol mittels HPLC und Enzymassay gefunden, in der ebenfalls gute Korrelationswerte (r = 0,97) beschrieben wurden [Starkey et al., 1986].

Anfänglich vermuteten wir, dass die niedrigen Korrelationswerte, die für die Serum- und Speichelwerte zum Zeitpunkt T_1 gefunden wurden, wesentlich durch die verminderte Bestimmungsgenauigkeit im Bereich unter $10~\mu g/ml$ zu erklären wären. Zum Zeitpunkt T_1 liegen die Mittelwerte zwischen 2,35 und 5,86 $\mu g/ml$. Da wir jedoch sehr starke statistische Zusammenhänge zwischen den Serumwerten beider Methoden (r = 0,769, p < 0,001) und zwischen den Speichelwerten beider Methoden (r = 0,889, p < 0,001) zum Zeitpunkt T_1 sehen, gehen wir davon aus, dass unsere Werte auch in den niedrigeren Messbereichen $< 10~\mu g/ml$ hinreichend genau sind.

Der Immunoassay ergab signifikant höhere Messergebnisse bei den Speichelwerten über unseren gesamten Untersuchungszeitraum von 12 Stunden. Da mittels HPLC eher höhere Paracetamol-Serumwerte als Speichelwerte erzielt wurden, scheinen die hohen IMA-Speichelwerte mit einem methodischen Problem des Immunoassay zusammenzuhängen. Die Serum- und Speichelwerte können jedoch mit Hilfe von Prognosemodellen wechselseitig ineinander umgewandelt und damit direkt vergleichbar gemacht werden. Die Sensitivität der beiden Test-Verfahren ist vergleichbar. Für den Immunoassay wird der Bestimmungsbereich für Paracetamol-Konzentrationen von 1-200 µg/ml angegeben, für dir HPLC-Methode beträgt der Bestimmungsbereich 0,1-50 µg/ml. Methodisch ist anzumerken, dass es bei toxikologischen Bestimmungen je nach Kalibrator und Verdünnung der Proben keine Grenze nach oben gibt. Da jedoch die Immunoassay-Werte alle etwas höher lagen, entsprechen sich die beiden Methoden hinsichtlich Sensibilität und Bestimmungsgrenzen. Eine Paracetamol-Einzelbestimmung mittels Immunoassay kostet zur Zeit (2006) 16,76 Euro und ca. 25,00 Euro mittels HPLC. Der zeitliche Aufwand (10 Minuten) ist für beide Methoden vergleichbar. Im Gegensatz zum Immunoassay werden bei der HPLC-Methode keine Einschränkungen zur keine Testgenauigkeit im unteren Bestimmungsbereich gemacht und Beeinträchtigungen durch Hämolyse oder starke Lipidämie angegeben. Laut Angabe des Herstellers sind für den Immunoassay nur 150 ul Probenmenge notwendig. Unsere Erfahrungen waren jedoch, dass wenigstens 0,5 ml gebraucht wurden. Für die HPLC-Methode waren mindestens 200 µl erforderlich.

4.4. Dosierung und rektale Applikationsform

Obwohl es nicht Ziel dieser Studie war, die pharmakokinetischen Eigenschaften von Paracetamol zu untersuchen, haben wir in Übereinstimmung mit vorangegangenen Arbeiten gefunden, dass es nach rektaler Applikation große individuelle Schwankungen der erreichten Serum- und Speichel-Konzentrationen gibt. Als Ursachen werden die variable venöse Drainage der rektalen Abschnitte, der unterschiedliche first-pass-Metabolismus in der Leber [Preskott, 1996 zitiert in Hahn et al, 2000a] sowie fäkale Akkumulation speziell bei geriatrischen Patienten diskutiert [Hagen et al., 1991]. Trotz der Verwendung von Paracetamol-Suppositorien auf lipophiler Basis, von denen bekannt ist, dass sie höhere Paracetamol-Spitzenspiegel erzeugen als hydrophile Zäpfchen [Cullen et al., 1989],

erreichten wir mit einer Dosis von 30 mg/kg nur subtherapeutische Konzentrationen. Es waren mindestens 40 mg/kg Paracetamol notwendig, um therapeutische Wirkspiegel von 10-20 µg/ml zu erreichen; und erst nach 4 Stunden (im Einzelfall auch deutlich später) wurden Maximalwerte erreicht. Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit früheren Studien [Gautreault et al., 1988; Hopkins et al., 1990; Anderson et al., 1995; Montgomery et al., 1995; Hahn et al., 2000b; Beck et al., 2000; Stocker and Montgomery, 2001; Howell and Patel 2003], wobei Kinder schneller höhere Spitzenwerte erreichen im Vergleich zu Erwachsenen [Hahn et al., 2002a]. Aus anästhesiologischer Sicht ist der rektale Applikationsweg keine empfehlenswerte Applikationsform zur Therapie von postoperativen Schmerzen, da Paracetamol auf Grund der genannten pharmakokinetischen Kriterien rektal sehr schlecht vorhersagbar ist. Bei rektaler Gabe muss unbedingt bedacht werden, dass bei Erwachsenen frühestens nach 2 Stunden eine Wirkung eintreten kann. Schon Nielson et al. (1992) kamen zu dem Schluss, dass die Rate des Anstieges der Paracetamol-Plasmaspiegel entscheidend für die analgetische Wirksamkeit sei. Luthy et al. (1993) fanden die Höhe der Paracetamol-Spitzenspiegel und nicht die im "Steady-State" erreichten durchschnittlichen Plasmaspiegel entscheidend für den analgetischen Effekt. Diese Erkenntnisse wären auch eine gute Erklärung für die in der Literatur sehr widersprüchlichen Ergebnisse hinsichtlich der analgetisch wirksamen Paracetamol-Konzentration. Sicherlich ist es schwierig, unter Berücksichtigung des individuellen Schmerzempfindens und der wenigen Möglichkeiten zur objektiven Messung von analgetischen Effekten, eine analgetische Wirkdosis zu definieren [Granados-Soto et al., 1992; Yuan et al., 1996]. Aber es scheint auch plausibel, dass die Applikationsform einen wesentlichen Einfluß auf die schmerzlindernde Wirkung hat. Da es nach rektaler Applikation ohnehin nicht zu schnellen Anstiegsraten kommen kann, empfiehlt es sich, zur postoperativen Schmerztherapie dem in Deutschland seit 2002 verfügbaren intravenösen Paracetamol (Perfalgan®) unbedingt den Vorzug zu geben [Piguet et al., 1998; Rawlins et al., 1977, Hernandez-Palazon et al., 2001; Hahn et al., 2003; Van-Aken et al., 2004; Murat et al., 2005].

4.5. Extremwerte

Uns stehen insgesamt 963 Messwerte zur Verfügung. Das ist im Vergleich zu anderen Studien eine deutlich höhere Anzahl an Stichproben. Geplant waren 1064

Werte. Gründe für den Ausfall einiger Werte waren: 1.) Die Patientinnen 4 und 9 haben die Studie abgebrochen. 2.) Es war in einigen Fällen schwierig, in ausreichender Menge Speichelproben zu gewinnen. 3.) 7 Werte wurden als unplausible Extremwerte aus der Bewertung ausgeschlossen. Dabei handelte es sich um 3 Werte des Immunoassays (1 Serumwert, 2 Speichelwerte) und 4 Werte der HPLC-Methode (2 Serumwerte, 2 Speichelwerte). Davon waren 3 Speichelwerte von Patientin 4, die sich wegen mehrfachen Erbrechens nicht mehr an der Studie beteiligt hat. Ein Serum-Wert der Patientin 15 war mit ca. 0,3 µg/ml angegeben. Alle diese Werte erschienen im Vergleich zu den zeitgleichen Paaren sowie im Kurvenverlauf unrealistisch. Die Patientinnen Nr. 14, 15, und 22 hatten keine Zusatz- oder Dauermedikation. Patientin 27 hatte von ihrer Dauermedikation 1 Tablette Delmuno® am Operationstag erhalten und nahm weiterhin noch regelmäßig Uripurinol® ein. Diese Begleitmedikamente erklären sicher nicht den einzelnen hohen IMA-B₂-Wert von 34,09 µg/ml. Dieser Wert wäre zugleich der höchste erreichte Maximalwert, der selbst wenn man ihn nicht anzweifelt und in der Betrachtung lässt, weit entfernt von toxischen Spiegeln ist.

16 Einzelwerte der HPLC-Methode lagen unterhalb der individuellen Bestimmungsgrenze, was mit der Angabe " < " dargestellt worden ist. Diese 16 Werte haben wir halbiert und in unseren weiteren Berechnungen belassen.

5. AUSBLICK

Paracetamol ist ein weit verbreitetes, häufig verwendetes und potentes Analgetikum und Antipyretikum. Es ist ein Medikament, dass unter Berücksichtigung der empfohlenen Dosierungen und der Kontraindikationen sehr sicher und nebenwirkungsarm angewendet werden kann. Die einmalige und kurzfristige Anwendung therapeutischer Dosen ist als unbedenklich zu werten. Aus diesem Grund ist es auch das am meisten verordnete Analgetikum/Antipyretikum im Säuglings- und Kindesalter. Bei chronischen Schmerzen und längerer Einnahme wiederholter Dosen sind Kontrollen von Leber- und Nierenfunktionswerten erforderlich, weiterhin sind Bestimmungen der Paracetamol-Konzentration zur Überwachung der Wirkspiegel wünschenswert. Ein Screening wäre bei der Nutzung von Speichelproben einfach und unkompliziert zu Hause möglich. Je nach Bestimmungsmethode könnten die Proben im Kühlschrank oder Gefrierschrank bis zur analytischen Untersuchung aufbewahrt werden.

Seine freie Verfügbarkeit auf dem Markt auch in Kombination mit anderen Schmerzmitteln ist völlig gerechtfertigt, birgt aber potentiell die Gefahr von akzidentiellen und suizidalen Intoxikationen. Um die Schwere der Paracetamol-Intoxikation und die Notwendigkeit einer Antidot-Therapie mit Acetylcystein einschätzen zu können, werden häufig mehrere Paracetamol-Bestimmungen notwendig sein. Auch hier ist das Monitoring mittels Speichelproben gut vorstellbar, da die Symptomatik zu Beginn von Paracetamol-Intoxikationen gering und unspezifisch ist und die Patienten kaum Einschränkungen im Wohlbefinden zeigen. Gerade bei Kleinkindern gibt es oft die Situation, dass unklar ist, ob oder welche Menge des Medikaments eingenommen wurde. Eine Speichelprobe ist natürlich wesentlich patientenfreundlicher, setzt aber die Kooperation des Patienten voraus, die bei Kleinkinder oder Säuglingen auch eingeschränkt sein kann.

Da es immer noch widersprüchliche Aussagen zur Definition der analgetisch wirksamen Paracetamol-Konzentration im Plasma wie im Speichel gibt, sind weitere Studien erforderlich, um den analgetischen Wirkspiegel noch besser einzugrenzen [Andersen et al., 1999, Beck et al., 2000, Hahn et al., 2000a, Hahn et al., 2000b].

Paracetamol ist hinsichtlich seiner Pharmakokinetik und -dynamik ein sehr gut untersuchtes Medikament. Da bekannt ist, dass Paracetamol nach oraler Aufnahme erst im Dünndarm resorbiert wird, wurde es bereits zur Einschätzung und Beurteilung der Magenentleerung von Flüssigkeiten herangezogen [Sanaka et al, 2000, Gandia et al 2003]. Bisher ist der Goldstandard zur Untersuchung von Magenentleerungen die Szintigraphie [Sanaka et al, 2002]. Für die Validierung der These, dass die Magenentleerung auch nach fester Nahrungsaufnahme an Hand von Paracetamol-Bestimmungen möglich wäre, sind weitere Studien nötig. Im Vergleich zur Szintigraphie wären Paracetamol-Bestimmungen wesentlich weniger invasiv und deutlich kostengünstiger.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Studie war es, zu untersuchen, ob und in welchem Maß Paracetamol-Konzentrationen im Serum und im Speichel miteinander korrelieren. Weiterhin wurden zwei verschiedene Bestimmungsmethoden für Paracetamol miteinander verglichen, die High-Performance-Liquid-Chromatographie (HPLC) und der Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay (FPIA).

Wir untersuchten 38 Patientinnen der ASA-Klassifikationen 1 - 3, die sich kleineren gynäkologischen Eingriffen, wie zum Beispiel Kürettagen oder Hysteroskopien, unterzogen. Die Frauen waren zwischen 19 bis 86 Jahre alt. Am Ende des chirurgischen Eingriffs erhielten die Probandinnen entweder 30 oder 40 mg/kg Paracetamol rektal verabreicht. Dann wurden simultan Blut- und Speichelproben gewonnen. Die Abnahmen erfolgten 1, 2, 3, 4, 6, 8 und 12 Stunden nach der Applikation der Paracetamol-Zäpfchen.

Wir fanden eine gute Korrelation zwischen den Serum- und den Speichelwerten für beide Bestimmungsmethoden (HPLC: r = 0.834 mit p < 0.001 und FPIA: r = 0.868 mit p < 0.001), wobei die geringste Korrelation nach 1 Stunde zwischen Serum- und Speichelwerten bestand (HPLC: r = 0.440 mit p = 0.01 und FPIA: r = 0.480 mit p = 0.01). Tendenziell wurden mit dem Immunoassay signifikant höhere Werte im Speichel gemessen, die jedoch sehr gut mit den Serum-Werten korrelierten. Für HPLC und Immunoassay wurde ein Prognosemodell zur Vorhersage der Serumwerte aus den Speichelwerten errechnet. Ebenfalls fanden wir eine sehr gute Korrelation zwischen den mittels HPLC und Immunoassay ermittelten Serumwerten (r = 0.919 mit p < 0.001) sowie zwischen den mittels HPLC und Immunoassay ermittelten Speichelwerten (r = 0.880 mit p < 0.001).

Unsere mittleren Maximalwerte c_{max} und deren Standardfehler (SEM) betrugen nach Applikation von 30 mg/kg Paracetamol folgende Werte in μ g/ml: IMA-Speichel: 13,55 (±1,37), HPLC-Speichel: 7,48 (±0,66), IMA-Serum: 9,57 (±0,86) und HPLC-Serum: 8,11 (±0,75). Nach Applikation von 40 mg/kg Paracetamol erreichten wir folgende mittlere Maximalwerte: IMA-Speichel: 15,36 (±1,38), HPLC-Speichel: 9,14 (±1,09), IMA-Serum: 11,93 (±1,15) und HPLC-Serum: 10,82 (±1,26). Die Mittelwerte lagen im therapeutischen und subtherapeutischen Bereich. Die mittleren Maximalwerte wurden erst 4 Stunden

nach Applikation erreicht. Die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Paracetamol-Konzentrationen T_{max} zeigte eine große individuelle Schwankungsbreite von 2 bis 12 Stunden. Insgesamt ist die rektale Applikation von Paracetamol zur postoperativen Schmerztherapie als ungeeignet zu bewerten, da die Paracetamol-Konzentration zu langsam ansteigt und darum zu schlecht gesteuert werden kann. Mit beiden Methoden wurde bestätigt, dass wegen der individuell extrem unterschiedlichen Zeitdauer bis zum Erreichen therapeutischer Spiegel die rektale Applikation von Paracetamol zur postoperativen Schmerztherapie nicht empfehlenswert ist.

Für uns war es schwierig, speziell bei postoperativ nüchternen Patientinnen immer die ausreichenden Mengen an Speichelproben zu gewinnen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass verlässliche Paracetamol-Konzentrationen sowohl im Serum als auch im Speichel bestimmt werden können und dass sich HPLC und Immunaassay hinsichtlich Sensitivität und Qualität entsprechen, wenn auch mittels FPIA signifikant höhere Speichelwerte erzielt werden.

7. Verzeichnis der im Text verwendeten Abkürzungen

ASA American Society of Anesthesiology

ACC Acetylcystein

BMI Body-Mass-Index

Cox Cyclooxygenasen

CYP 3A4 Cytochrom P 450 Variante 3A4

FPIA Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay

HPLC High-Performance-Liquid-Chromatography

IMA Immunoassay

INR International Normalized Ratio

iv intravenös

LOD Limit of Detection

min Minuten

NAC N-Acetyl-Cystein

NSAR Nicht Steroidale Antirheumatika

r Korrelationskoeffizient

p Signifikanz

SEM Standard Error of Mean

TIVA totale intravenöse Anästhesie

8. Literaturverzeichnis

- 1. **Adithan C,** Thangam J. A comparative study of saliva and serum paracetamol levels using a simple spectrophotometric method. Brit J Clin Pharmacol 1982;14(1):107-109.
- Adithan C, Danda D, Swaminathan RP, Indhiresan J, Sashindran CH, Bapna JS, Chandrasekar S. Effect of diabetes mellitus on salivary paracetamol elimination. Clin Exp Pharmacol Physiol 1988;15(6):465-471.
- 3. **Anderson BJ,** Woollard GA, Holford NHG. Pharmacokinetics of rectal paracetamol after major surgery in children. Pediatr Anaesth 1995;5:237-42.
- 4. **Anderson BJ,** Kanagasundarum S, Woolard G. Analgesic efficacy of paracetamol in children using tonsillectomy as a pain model. Anaesth Intensive Care 1996;24:669-73.
- 5. **Anderson BJ,** Holford NHG. Rectal paracetamol dosing regimes: determination by computer simulation. Paediatr Anaesth 1997;7:451-455.
- 6. **Anderson BJ,** Holford NHG, Woollard GA, Kanagasundaram S, Mahedevan M. Perioperative pharmacodynamics of acetaminophen analgesia in children. Anesthesiology 1999;90:411-421.
- 7. **AxSYM**[®] **System Acetaminophen.** Abbott Laboratories Diagnostics Devision Abbott Park, Illinois. 1997; Acetaminophen List No. 3B35 68-1920/R2.
- 8. **Babalola CP,** Oladimeji FA, Femi-Oyewo MN. Pharmacokinetics and saliva secretion of paracetamol in healthy male Nigerians. West Afr J Med 2004;23(1):10-4.
- 9. **Beck DH,** Schenk MR, Hagemann K, Doepfmer UR, Kox WJ. The pharmacokinetics and analgesic efficacy of larger dose rectal acetaminophen (40

- mg/kg) in adults: a double blinded, randomized study. Anaesth Analg 2000;90:431-436.
- Birmingham PK, Tobin MJ, Henthorn ThK, Fischer DM, Berkelhamer MC, Smith FA, Fanta KB, Cote'Chj. Twenty-four-hour pharmacokinetics or rectal acetaminophen in children. Anaesthesiology 1997;87:244-252.
- 11. **Birmingham PK,** Tobin MJ, Fisher DM, Henthorn ThK, Hall StC, Cote'ChJ. Initial and subsequent dosing of rectal acetaminophen in children. Anaesthesiology 2001;94(3):385-389.
- 12. **Burgis,** Intensivkurs Allgemeine und spezielle Pharmakologie, 2. Auflage, Urban & Fischer-Verlag.
- 13. **Chandrasekharan, NV,** et. al. Cox-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning structure and expression. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:13926-13931.
- 14. **Cobby TF,** Crighton IM, Kyriakidis K, Hobbs. Rectal paracetamol has a significant morphine-sparing effect after hysterekzomy. Brit J Anaesthesia 1999;83:253-6.
- 15. **Cullen S,** Kenny D, Ward OC, Sabra K. Paracetamol suppositories: a comparative study. Arc Dis Child 1989;64(10):1504-5.
- 16. **Dart RC**, Kuffner EK, Rumack BH. Treatment with pain or fever with paracetamol (acetaminophen) in alcoholic patients: a systematic review. Am J Ther 2000;7(2):123-34.
- 17. **Davidson DGD,** Eastham WN. Acute liver necrosis following overdose of paracetamol. Brit Med J 1966;2:497-9.
- 18. **Estler**, Pharmakologie und Toxikologie, 5. Auflage; Schattauer-Verlag.

- 19. **Flower RJ,** Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthetase in brain explains the antipyretic activity of Paracetamol (4-acetamidophenol). Nature 1972;240:410-411.
- 20. Gandia P, Bareille MP, Saivin S, Le-Traon A.P, Lavit M, Guell A, Houin G. Influence of simulated wightlessness on the oral pharmacokinetics of acetaminophen as a gasric emptying probe in man: a plasma and saliva study. J Clin Pharmacol 2003;43(11):1235-1243.
- 21. **Gaudreault P,** Guay J, Nicol O, Dupuis C. Pharmacokinetics and clinical efficacy of intrarectal solution of acetaminophen. Can J Anaesthesia 1988;35(2):149-152.
- 22. **Glynn JP**, Bastian W. Salivary excretion of paracetamol in man. J Pharm Pharmacol 1973;25(5):420-421.
- 23. **Granados-Soto V,** Flores-Murrieta FJ, López-Muňoz FJ, Salzar LA, Villareal JE, Castaňeda-Hernández G. Relationship between paracetamol plasma levels and its analgesic effect in the rat. J Pharm Pharmacol 1992;44:741-744.
- 24. **Hagen IJ**, Haream EM, Laake K. Absorption of paracetamol suppositories in geriatric patients with faecal accumulation in the rectum. Aging 1991;3:25-29.
- 25. Hahn TW, Hennberg SW, Holm-Knudsen RJ, Eriksen K, Rasmussen SN, Rasmussen M. Pharmacokinetics of rectal Paracetamol after repeated dosing in children. Brit J Anaesth 2000a;85(4):512-519. Erratum in Brit J Anaesth 2000:85(6):947.
- 26. **Hahn TW**, Mogensen T, Lund C, Schouenborg L, Rassmussen M. High dose rectal and oral acetaminophen in postoperative patients-serum and saliva concentrations. Acta Anaesthesiol Scand 2000b;44(3):302-306.
- 27. **Hahn TW,** Mogensen C, Lund C, Jacobson LS, Hjortsoe N-C, Rasmussen SN, Rasmussen M. Analgesic effect of i.v. paracetamol: possible ceiling effect of paracetamol in postoperative pain. Acta Anaesthesiol Scand 2003;47:2, 138-145.

- 28. **Hernandez-Palazon J,** Tortosa JA, Martinez-Lage JF, Perez-Flores D. Intravenous administration of propacetamol reduces morphine consumption after spinal fusion. Anaesth Analg 2001;92(6):1473-6.
- 29. **Hopkins CS,** Underhill S, Booker PD. Pharmacokinetics after cardiac surgery. Archives of Disease in Childhood 1990;65:971-976.
- 30. **Houck CS,** Sullivan LJ, Wilder RT, Rusy LM, Burrows FA. Pharmacokinetes of a higher dose of rectal acetaminophen in children. Anaesthesiology 1995;83:A1126.
- 31. **Howell TK,** Patel D. Plasmakonzentration von Paracetamol nach rektaler Gabe unterschiedlicher Dosierungen bei älteren Kindern. Vergleich von 1 g und 40 mg/kg. Anaesthesia 2003;58:50-83.
- 32. **Jackson CH,** Mac Donald NC, Cornett JWD. Acetaminophen: a practical pharmacological overview. Can Med Assoc J 1984;131:25-31.
- 33. **Kamali F,** Fry JR, BellGD. Salivary secretion of paracetamol in man. J Pharm Pharmacol 1987;39(2):150-152.
- 34. **Klein G,** Backworth MF, Birkenfeld A, Dyde CJ, Rehm KD, Toberich H, Cierka H. Relative Bioverfügbarkeit von Paracetamol aus Tabletten und Zäpfchen sowie von Paracetamol und Codein aus einer Kombinationstablette. Arzneimittelforschung 1986;36(3):496-499.
- 35. **Küttler,** Kurzlehrbuch Allgemeine Pharmakologie und Toxikologie, 188. Auflage. Urban & Fischer-Verlag.
- 36. **Lazerow SK**, Abdi MS, Lewis JH. Drug-induced liver disease 2004. Curr Opin Gastroenterol 2005;21(3):283-92.

- 37. **Lee HS,** Ti TY, Lye WC, Khoo YM, Tan CC. Paracetamol and its metabolites in saliva and plasma in chronic dialysis patients. British Journal of Clinical Pharmacology 1996;41(1):41-47.
- 38. **Lowenthal DT,** Oie S, Van Stone JC, Briggs WA, Levy G. Pharmacokinetics of acetaminophen elimination by anephric patients. J Pharmacol Exp Ther 1976;196(3):570-578.
- 39. **Luthy** et al, Clin Pharmacol Ther 1993;53:P11-3. Zitiert in: Beilage für Schmerztherapeuten, Springer-Verlag.
- 40. **Miller RP,** Roberts RJ, Fischer LJ. Acetaminophen eliminationkinetics in neonates, children and adults. Clin Pharmacol Ther 1975;19(3):284-294.
- 41. **Montgomery** CJ, McCormack JP, Reichert CC, Marsland CP. Plasma concentration after high-dose (45 mg/kg) rectal acetaminophen in children. Can J Anaesth 1995;42(11):982-986.
- 42. **Morton NS**, Arana A. Paracetamol-induced fulminant hepatic failure in a child after 5 days of therapeutic doses. Paediatr Anaesth 1991;9:463-5. Aus [Hahn, 2000a].
- 43. **Murat I,** Baujard C, Foussat C, Guyot E, Petel H, Rod B, Ricard C. Tolerance and analgesic efficacy of a new i.v. paracetamol solution in children after inguinal hernia repair. Paediatr Anaesth 2005;15(8):663-70.
- 44. **Newson RB,** Shaheen SO, Chinn S, Burney PG. Paracetamol sales and atopic disease in children and adults: in ecological analysis. Eur Respir J 2000;16:817-23.
- 45. **Nielson** et al., Eur J Clin Pharmacol 1992;42:261-264. Zitiert in: Beilage für Schmerztherapeuten, Springer-Verlag.
- 46. **Piguet V,** Desmeules J, Dayer P. Lack of acetaminophenceiling effect on R-III nociceptive flexion reflex. Eur J Clin Pharmacol 1998;53:321-324.

- 47. **Preskott LF**, Plasmaparacetamolhalflife and hepatic necrosis in patient with paracetamol overdose. Lancet 1971;1:519-522.
- 48. **Preskott LF.** The absorption of paracetamol. In: Preskott LF, ed. Paracetamol (Acetaminophen) A Critical Bibliographic Review. London: Taylor & Francio 1996;36-9.
- 49. **Rawlins MD,** Henderson DB, Hijab AR. Pharmacokinetics of paracetamol (acetaminophen) after intravenous and oral administration. Eur J Clin Pharmacol 1977;11:283-286.
- 50. **Rivera-Penera T,** Gugig R, Davis J et al. Outcome of acetaminophen overdose in pediatric patients and factors contributing to hepatotoxicity. J Pediatr 1997;130:300-4.
- 51. **Rømsing J,** Hertel St, Harder A, Rasmussen M. Examination of acetaminophen for outpatient management of postoperative pain in children. Paediatr Anaesth 1998;8:235-239.
- 52. **Rumack BH.** Aspirin versus acetaminophen: a comparative view. Pediatrics 1978;62:943-6.
- 53. **Rumack BH.** Acetaminophen hepatotoxicity: the first 35 years. J Toxicol Clin Toxicol 2002;40(1):3-20.
- 54. **Sanaka M,** Kuyama Y, Nishinakagawa S, Mineshita S. Use of salivary acetaminophen concentration to assess gastric emptying rate of liquids. J Gastroenterol 2000;35(6):429-433.
- 55. **Sanaka M,** Kuyama Y, Shimomura Y, Qui JF, Okamura S, Hao Y, Jainguo C, Mineshita S. Gastric emptying of liquids is delayed by co-ingesting solids: a study using salivary Paracetamol concentrations. J Gastroenterol 2002;37(10):785-790.

- 56. **Schug SA,** Sidebotham DA, McGuinnety M, Thomas J, Fox L. Acetaminophen as an adjunct to morphine by patient-controlled analgesia in the management of acute postoperative pain. Anaesth Analg 1998;87:368-372.
- 57. **Seideman P,** Alván G, Andrews RS, Labross A. Relative bioavailability of a paracetamol suppository. Eur J Clin Pharmacol 1980;17:465-468.
- 58. **Sheen CL,** Dillon JF, Bateman DN, Simpson KJ, MacDonald TM. Paracetamol toxicity: epidemiology, prevention and costs to health-care system. Q J Med 2002;95:609-619.
- 59. **Slagle MA.** Medication Update, Acetaminophen (Tylenol). South Med J 2001;94(8):771-774.
- 60. **Smith M,** Whitehead E, O'Sullivan, G, Reynolds F, A comparison of serum and saliva Paracetamol concentrations. Brit J Clin Pharmacol 1991;31(5):553-555.
- 61. **Spooner JB,** Harvey JG. The history and usage of paracetamol. J Int Med Res 1976;4:1-6.
- 62. **Starkey BJ,** Loscombe SM, Smith JM. Paracetamol (acetaminophen) analysis by high-performance-liquid-chromatography: Interference studies and comparison with an enzymatic procedure. Ther Drug Monit 1986;8:78-84.
- 63. Stewart, M.J., Watson, I.D. Analytical reviews in clinical chemistry: methods of the estimation of salicylate and paracetamol in serum, plasma and urine. Ann Clin Biochem 1987;24:552-565.
- 64. **Stocker ME,** Montgomery JE. Serum paracetamol concentrations in adult volunteers following rectal administration. Brit J Anaesthesia 2001;87(4):638-640.
- 65. **Thomsen JS**, Prescott LF. Liver damage and impaired glucose tolerance after paracetamol overdosage. Brit Med J 1966;2:506-7.

- 66. **Trampisch**, Windeler. Medizinische Statistik. Springer Verlag, 2. Auflage 2000.
- 67. **Tredger JM,** Thuluvath P, Williams R, Murray-Lyon IM. Metabolic basis for high paracetamol dosage without hepatic injury, a case study. Hum Exp Toxicol 1995;14:8-12.
- 68. Van Aken H, Thys L, Veekman L, Buerkle H. Assessing analgesia in single and repeated administrations of propacetamol for postoperative pain: comparison with morphin after dental surgery. Anesth Analg 2004;98(1):159-65.
- Wellhöner, Allgemeine und systemische Pharmakologie und Toxikologie, 6.
 Auflage Springer-Verlag.
- 70. **Yuan CS,** Foss JF, Attele A, Moss J. Effects of oral acetaminophen on could-pressure-induced pain in humans. Med Sci Res 1996;24:401-402

9. Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei meinem Doktorvater Priv.-Doz. Dr. med. S. Veit, unter dessen Leitung diese Arbeit in der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie entstanden ist, für die Überlassung des Themas und die stets freundliche Unterstützung bedanken.

Insbesondere danke ich meiner Familie, meiner Mutter und meinem Vater, die mir mit viel Liebe, Geduld und Verständnis beistanden.

Weiterhin danke ich Dr. med. Dieter Beck sowie Dr. Lampe und Prof. Pragst, den Leitern der toxikologischen Laboratorien, für die gute Zusammenarbeit. Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Erklärung

Ich, Sabine Welfle, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

"Analyse der Wirkstoffkonzentration von Paracetamol in Serum und Speichel nach rektaler

Applikation bei gynäkologischen Eingriffen - Vergleichende Bestimmung der Paracetamol-

Konzentration mittels HPLC und Immunoassay" selbst verfasst und keine anderen als die

angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst

und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Datum 30.11.2006

Sabine Welfle

60