

**Aus dem Institut für Radiologie
Charité - Universitätsmedizin Berlin
und dem Institut für Tierpathologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Erste präklinische in vivo Studie zur Wirksamkeit eines Maghemit-
basierten Wirkstoffes zur Behandlung der Hyperphosphatämie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Janna Luisa Gläser
Tierärztin aus Tübingen**

Berlin 2015

Journal-Nr.: 3795

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Prof. Dr. Robert Klopffleisch
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. med. Dipl.-Phys. Matthias Taupitz
Dritter Gutachter: PD Dr. Christoph Gabler

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

rats, hyperphosphatemia, kidney diseases, renal function, urine, bone tissue,
blood, serum, histology, photometry, computed tomography, maghemite,
phosphate, adsorbents, metabolism cages, food

Tag der Promotion: 08.01.2016

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen
Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über
<<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-701-9

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2015

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder
Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in
irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet,
vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch
ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der
Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von
jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written
authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2016

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meinem Vater

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Aufgabenstellung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1. Chronische Niereninsuffizienz.....	3
2.1.1. Definition.....	3
2.1.2. Stadien.....	3
2.2. Hyperphosphatämie	4
2.2.1. Definition.....	4
2.2.2. Ätiologie.....	4
2.2.3. Folgeerkrankungen.....	6
2.2.3.1. Sekundärer Hyperparathyreoidismus.....	6
2.2.3.2. Metabolische Knochenerkrankungen.....	6
2.2.3.3. Gefäßerkrankungen.....	6
2.2.4. Therapie.....	7
2.2.4.1. Phosphatrestriktion	7
2.2.4.2. Hämodialyse.....	8
2.2.4.3. Phosphatbinder.....	8
2.2.4.4. Phosphattransportinhibitoren	8
2.3. Phosphatbinder.....	9
2.3.1. Definition.....	9
2.3.2. Aluminiumhaltige Phosphatbinder	9
2.3.3. Calciumhaltige Phosphatbinder	9
2.3.4. Sevelamer.....	10
2.3.5. Lanthan.....	11
2.3.6. Eisenoxide.....	12

3. Material und Methoden	13
3.1. Versuchsaufbau	13
3.2. Tiere	13
3.3. Tierhaltung	14
3.4. Futter	14
3.5. Futterzusätze	14
3.5.1. Gelatine	14
3.5.2. Phosphatbinder.....	15
3.5.2.1. C-PAM-11	15
3.5.2.2. Sevelamercarbonat	16
3.6. Zeitlicher Verlauf	16
3.7. Aufarbeitung der Proben	16
3.7.1. Aufarbeitung des Urins	16
3.7.2. Gewinnung des Serums.....	17
3.7.3. Proben für Synlab.....	17
3.8. Analytik	17
3.8.1. Bestimmung der Phosphatkonzentration im Urin.....	17
3.8.2. Berechnung der absoluten Phosphatexkretion im Urin.....	18
3.8.3. Ermittlung des Phosphor/Kreatinin-Quotienten.....	18
3.8.4. Bestimmung der Blut- und Urinparameter.....	18
3.9. Histologie	18
3.9.1. Aufarbeitung der Organe.....	18
3.9.2. Färbungen.....	19
3.9.3. Histologische Auswertung.....	20
3.10. Untersuchung der Knochen	20
3.11. Statistische Auswertung	21

4. Ergebnisse	22
4.1. Versuchstierdaten	22
4.1.1. Allgemeinzustand.....	22
4.1.2. Entwicklung des Körpergewichts	22
4.1.3. Futteraufnahme	26
4.1.4. Urinmenge.....	29
4.1.5. Kotmenge.....	31
4.2. Relative Urinphosphatkonzentration	33
4.2.1. Auswirkung der Renvela®-Behandlung auf die rel. Urinphosphatkonzentration.....	33
4.2.2. Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die rel. Urinphosphatkonzentration.....	33
4.3. Absolute renale Phosphatexkretion	36
4.3.1. Auswirkung der Renvela® Behandlung auf die abs. Urinphosphatkonzentration.....	36
4.3.2. Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die abs. Urinphosphatkonzentration.....	36
4.4. Phosphor/Kreatinin-Quotient	39
4.4.1. Auswirkungen der Renvela®-Behandlung auf den Phosphor/Kreatinin- Quotient	39
4.4.2. Auswirkungen der C-PAM-11-Behandlung auf den Phosphor/Kreatinin- Quotienten.....	39
4.5. Serumphosphatkonzentration	42
4.5.1. Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die Serumphosphatkonzentration.....	42
4.6. Serumeisenkonzentration	43
4.6.1. Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die Serumeisenkonzentration	43
4.7. Sonstige Blutparameter	45
4.7.1. Leukozyten.....	45

4.7.2. Lymphozyten.....	45
4.7.3. Serumkreatinin.....	45
4.7.4. Serumharnstoff.....	46
4.7.5. Serumcalcium.....	46
4.8. Urinparameter	46
4.8.1. Urin-Kreatinin.....	46
4.8.2. 24-Stunden-Urin-Kreatinin.....	46
4.8.3. Urin-Harnstoff.....	47
4.8.4. 24-Stunden-Urin-Harnstoff.....	47
4.8.5. Urin-Natriumexkretion.....	47
4.8.6. 24-Stunden-Urin-Natriumexkretion.....	47
4.8.7. Urin-Gesamteiweiß	47
4.8.8. 24-Stunden-Urin-Gesamteiweiß	48
4.9. Histologische Auswertung.....	48
4.10. Messung der Knochen im HRpQCT.....	50
5. Diskussion	53
5.1. Versuchsaufbau.....	53
5.1.1. Fütterung.....	53
5.1.2. Stoffwechselkäfige.....	53
5.1.3. Urin	54
5.1.4. Tiere	54
5.1.5. Hilfsstoffe.....	54
5.2. Laborparameter.....	55
5.3. Effekte von Renvela®.....	55
5.3.1. Allgemeinbefinden.....	55
5.3.2. Gewichtsentwicklung.....	55

5.3.3. Phosphatexkretion im Urin	56
5.3.4. Serumphosphatkonzentration.....	56
5.3.5. Ausscheidung des Gesamteiweiß.....	56
5.4. Effekte von C-PAM-11.....	57
5.4.1. Gewichtsentwicklung.....	57
5.4.2. Futterraufnahme	57
5.4.3. Kotmenge.....	57
5.4.4. Phosphatexkretion im Urin	58
5.4.5. Serumphosphatkonzentration.....	58
5.4.6. Serumeisenkonzentration.....	59
5.4.7. Leuko- und Lymphozytenzahl.....	59
5.4.8. Serumkreatinin- und Serumharnstoffgehalt.....	59
5.4.9. Serumcalciumkonzentration.....	60
5.4.10. Urinkreatinin und -harnstoffgehalt	60
5.4.11. Natriumexkretion im Urin.....	60
5.4.12. Histologie	60
5.4.13. Knochen.....	61
5.5. Zu der Verwendung von Phosphatbindern im Allgemeinen.....	61
6. Zusammenfassung	63
7. Summary	64
8. Literaturverzeichnis	65
9. Anhang	76
9.1. Blut- und Urinwerte	76
9.2. Publikationsverzeichnis.....	84
9.3. Danksagung.....	85

9.4. Selbstständigkeitserklärung.....86

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Stadien der Niereninsuffizienz	3
Tab. 2: Faktoren, die die renale Phosphatreabsorption beeinflussen.....	4
Tab. 3: Körpergewicht	25
Tab. 4: Futteraufnahme.....	28
Tab. 5: Urinmenge	30
Tab. 6: Kotmenge.....	32
Tab. 7: rel. Urinphosphatkonzentration	35
Tab. 8: abs. renale Phosphatexkretion	38
Tab. 9: Phosphor/Kreatinin-Quotient	41
Tab. 10: Serumphosphatkonzentration	43
Tab. 11: Serumeisenkonzentration.....	44
Tab. 12: ex vivo Kortikalisdicke.....	51
Tab. 13: ex vivo Kortikalisdicke.....	52

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Standardgewichtsverteilung der CD® IGS Sprague Dawley Ratten des Züchters Charles River	23
Abb. 2: Körpergewicht	24
Abb. 3: Futteraufnahme	27
Abb. 4: Urinmenge	29
Abb. 5: Kotmenge.....	31
Abb. 6: rel. Urinphosphatkonzentration	34
Abb. 7: abs. renale Phosphatexkretion	37
Abb. 8: Phosphor/Kreatinin-Quotient	40
Abb. 9: Serumphosphatkonzentration	42
Abb. 10: Serumeisenkonzentration.....	44
Abb. 11 a) und b): Längsschnitt des Colons, Berliner-Blau-Färbung	49
Abb. 12 a) und b): Querschnitt des Colons, Berliner-Blau-Färbung	49
Abb. 13 a) und b): Mesenteriallymphknoten, Berliner-Blau-Färbung	49
Abb. 14: ex vivo Kortikalisdicke	51
Abb. 15: ex vivo Kortikalisdicke.....	52

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
abs.	absolute
ATP	Adenosintriphosphat
C-PAM-11	Charité - Phosphat adsorbierendes Maghemit - im Jahr 2011
Ca/P-Produkt	Calcium-Phosphat-Produkt
CKD	Chronic Kidney Disease
DOPPS	Dialysis Outcomes and Practice Patterns study
EBCT	Electron Beam Computed Tomography
ESRD	End Stage Renal Disease
et al.	und Mitarbeiter
ex vivo	außerhalb des Lebenden
Fe ²⁺	zweiwertige Eisenionen
FGF-23	Fibroblast Growth Factor 23
g	Gramm
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
h	Stunde
HCl	Chlorwasserstoff
in vitro	im Reagenzglas
in vivo	am lebenden Objekt
kDa	Kilodalton
KDOQI	Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
l	Liter
LDL	Low Density Lipoprotein
mg	Milligramm
mg HA/cm ³	Milligramm Hydroxylapatit pro Kubikzentimeter

mg/dl	Milligramm pro Deziliter
mg/kg/d	Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag
mg/l	Milligramm pro Liter
mg/mg	Milligramm pro Milligramm
ml	Milliliter
ml/min/1.73 m ²	Maßeinheit der GFR
mm	Millimeter
mmol/l	Millimol pro Liter
NKF	National Kidney Foundation
n	Anzahl der Proben
nm	Nanometer
NptIIa/ b/ c	Natrium-abhängiger Phosphattransporter Typ II a/ b/ c
NSF	Nephrogene Systemische Fibrose
p	Signifikanzwert
PTH	Parathormon
rel.	relative
rpm	rounds per minute
Tab.	Tabelle
µg/ml	Mikrogramm pro Milliliter
µl	Mikroliter
µmol/l	Mikromol pro Liter

Symbole

®	eingetragenes Warenzeichen
↑	erhöht
↓	erniedrigt
°C	Grad Celsius
X	Gruppenmittelwert
± s	Standardabweichung
<	Kleiner-als-Zeichen
>	Größer-als-Zeichen
≥	Größer-Gleich-Zeichen
*	$p < 0,05$
**	$p < 0,01$
***	$p < 0,001$
%	Prozent

1. Einleitung und Aufgabenstellung

Die chronische Niereninsuffizienz (Chronic Kidney Disease CKD) ist eine Erkrankung, die durch die demographische Entwicklung, aber auch durch den westlichen Lebensstil immer häufiger auftritt. Verursacht von Volkskrankheiten wie Diabetes Mellitus Typ 2 und Bluthochdruck wird ihre Prävalenz in der amerikanischen Erwachsenenpopulation bereits auf 12 Prozent geschätzt (Coresh et al. 2005). Lange Zeit unterschätzt wurde hierbei die durch mangelnde Exkretion von Phosphat aufgrund der fortschreitenden Nierenschädigung entstehende Hyperphosphatämie. Diese ist maßgeblich an der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen beteiligt, welche die häufigsten Ursachen für Morbidität und Mortalität unter nierenkranken Patienten darstellen. Nach der Veröffentlichung der Studie von Block et al. (1998) zum Zusammenhang zwischen Serumphosphat und erhöhter Mortalität bei CKD-Patienten wurde deshalb Phosphat in die Liste der urämischen Toxine aufgenommen. Bis zu diesem Zeitpunkt wurde Hyperphosphatämie eher als zum Hyperparathyreoidismus beitragendes und zu Pruritus führendes Ärgernis angesehen, jedoch nicht als Grund für Mortalität (Hutchison et al. 2011). Wie auch in den Richtlinien der National Kidney Foundation (NKF) dargestellt, muss die Senkung des Serumphosphatspiegels ein wichtiges Ziel der Therapie von Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz sein (KDIGO 2013).

Neben der Reduktion des Phosphatgehalts in der Nahrung und der Hämodialyse stehen zur Senkung des Serumphosphatspiegels orale Phosphatbinder zur Verfügung. Diese binden das in der Nahrung enthaltene Phosphat im Darm, verhindern die Aufnahme in den Organismus und senken somit den Serumphosphatgehalt. Sie werden bei ca. 90 Prozent der Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz eingesetzt und verursachen jährlich Kosten von ca. 750 Millionen U.S. Dollar weltweit (Tonelli et al. 2010). Allerdings besitzen sie zum einen teilweise erhebliche Nebenwirkungen, die die Compliance („Therapietreue“) der Patienten senkt und haben zum anderen bei ca. 50 Prozent der Patienten keinen ausreichenden Effekt, so dass der Serumphosphatspiegel nicht auf den von der NKF empfohlenen Wert gesenkt werden kann (Young et al. 2005).

Daher besteht großes Interesse daran, effektive neue Phosphatadsorber zu entwickeln, die entscheidend zur Senkung des Serumphosphatspiegels beitragen, somit die Entgleisung des Mineralstoffwechsels verlangsamen und die Ausbildung von Gefäßerkrankungen verhindern beziehungsweise zumindest vermindern können.

Der von der experimentellen Radiologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin entwickelte Maghemit-basierte Phosphatadsorber C-PAM-11 zeigte bei in vitro Versuchen bereits eine vielversprechende Phosphatbindungskapazität. Die Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit war es, in ersten Tierversuchen die Wirksamkeit und Verträglichkeit von C-PAM-11 im Vergleich zum derzeitigen Goldstandard Renvela® zu untersuchen. Dazu wurden die Wirkstoffe gesunden Versuchstieren über das Futter verabreicht. Anschließend wurde deren Wirksamkeit

anhand der Veränderungen im Urin- und Serumphosphatgehalt sowie im Knochenbau ermittelt.

2. Literaturübersicht

2.1. Chronische Niereninsuffizienz

2.1.1. Definition

Laut der Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI) der NKF (KDIGO 2013) liegt eine chronische Niereninsuffizienz vor, wenn:

- I. strukturelle oder funktionelle Störungen der Nieren für mindestens drei Monate, unabhängig von einer verminderten glomerulären Filtrationsrate (GFR), bestehen. Diese manifestieren sich entweder durch pathologische Veränderungen oder durch Marker der Nierenschädigung wie Auffälligkeiten im Blut, Urin oder bei bildgebenden Verfahren.
- II. die GFR für mindestens drei Monate unterhalb von $60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ liegt, unabhängig von einer Nierenschädigung.

2.1.2. Stadien

Laut der KDOQI-Richtlinien (KDIGO 2013) kann die Niereninsuffizienz nach Funktionsfähigkeit der Niere und Höhe der GFR in fünf Stadien eingeteilt werden. Die Tab. 1 zeigt die fünf Stadien und ihre zugehörigen GFR.

Tab. 1: Stadien der Niereninsuffizienz, entnommen aus den KDOQI-Richtlinien

Stadium	Beschreibung	GFR (ml/min/1,73 m ²)
1	Nierenerkrankung mit normaler oder erhöhter GFR	≥ 90
2	Nierenerkrankung mit leicht erniedrigter GFR	60 - 89
3	moderat erniedrigter GFR	30 - 59
4	stark erniedrigter GFR	15 - 29
5	Nierenversagen	< 15 (oder Dialyse)

2.2. Hyperphosphatämie

2.2.1. Definition

Serumphosphatwerte zwischen 5 - 8 mg/dl bezeichnet man als milde Hyperphosphatämie, schwere Hyperphosphatämien gehen mit Serumphosphatwerten zwischen 9 - 15 mg/dl einher. Der Normbereich liegt zwischen 2,5 - 5,0 mg/dl oder 0,8 - 1,6 mmol/l (Baenkler 2001).

2.2.2. Ätiologie

Von dem täglich mit der Nahrung aufgenommenen Phosphat werden bis zu 80 Prozent in den austauschbaren Phosphatpool adsorbiert. Dieser Pool besteht zum einen aus intrazellulärem Phosphat (70 %), zum anderen aus der Mineralisationsfront der Knochen (29 %) und aus Serumphosphat (1 %). Ein Austritt aus dem austauschbaren Pool erfolgt entweder durch Ausscheidung über die Nieren, den Darm oder durch Ablagerung in die Knochen. Die Regulation der Exkretion über die Nieren ist der Schlüsselmechanismus, um das Phosphatgleichgewicht im täglichen Leben zu erhalten (Hruska et al. 2008). Der Haupttransporter im proximalen Tubulus der Niere ist der natriumabhängige Phosphattransporter Typ IIa (NptIIa), der das im Glomerulum filtrierte Phosphat reabsorbiert (Tenenhouse 2005). Die Aktivität dieses Transporters wird durch Calcitriol erhöht und durch Parathormon (PTH) und Phosphatonine wie den Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) gedrosselt (Berndt et al. 2009). Hauptfaktoren für die renale tubuläre Phosphatreabsorption sind u.a. Phosphatverarmung und chronische Hypocalcämie. Verringert wird sie u.a. durch Hyperphosphatämie und chronische Hypercalcämie (Uribarri 2007).

Tab. 2: Faktoren, die die renale Phosphatreabsorption beeinflussen

↑ Phosphatreabsorption	↓ Phosphatreabsorption
Calcitriol	PTH
Hypophosphatämie	FGF-23
Hypocalcämie	Hyperphosphatämie
	Hypercalcämie

Allerdings deuten neue Studien darauf hin, dass auch der Darm aktiv an der Beibehaltung der Phosphathomöostase beteiligt ist. Hier findet der Phosphattransport vorrangig im Dünndarm statt. Dieser erfolgt einerseits über passiven diffusionsabhängigen parazellulären Transport, andererseits über natriumabhängige Phosphattransporter. Der wichtigste ist der natriumabhängige Phosphattransporter Typ IIb (NptIIb) (Sabbagh et al. 2011). An Mäusedärmen wurde nachgewiesen, dass seine Expression bei Phosphatrestriction in der Nahrung hoch reguliert wird, um somit eine ausreichende Absorption sicherzustellen (Radanovic et al. 2005). Die tierexperimentellen Arbeiten von Sabbagh et al. an NptIIb knockout Mäusen konnten zeigen, dass die Tiere trotz des Fehlens dieses Transporters ihren Serumphosphat Spiegel aufrecht erhalten können, indem der FGF-23-Spiegel gesenkt wird, wodurch die Expression von NptIIa in der Niere steigt und die Reabsorption zunimmt (Sabbagh et al. 2009). Dies weist darauf hin, dass ein Feedback zwischen Darm und Niere besteht, dessen Signalübertragung u.a. über FGF-23 abläuft. Genauere Mechanismen sind jedoch noch nicht bekannt und bedürfen weiterer Studien.

Bei fortschreitender Niereninsuffizienz, die eine stetig abnehmende GFR zur Folge hat, verliert die Niere nach und nach ihre Fähigkeit, Phosphat adäquat auszuscheiden. Zunächst kann die verringerte Filtration durch erhöhte Sekretion von FGF-23 und PTH, die eine herabgesetzte tubuläre Reabsorption zur Folge hat, ausgeglichen werden. Ab Stadium 4 der chronischen Niereninsuffizienz übersteigt die Phosphataufnahme aus der Nahrung jedoch die mögliche Exkretion über die Nieren, da immer größere Teile der Niere nicht mehr funktionstüchtig sind und die GFR unter $30 \text{ ml/min/1,73m}^2$ fällt. Die Hyperphosphatämie entsteht, und je weiter die GFR fällt, desto höher wird ihr Schweregrad (National Kidney Foundation 2003). Nicht abschließend geklärt ist, inwieweit der Darm von nierenkranken Patienten in der Lage ist, der Hyperphosphatämie mit verringerter Phosphatabsorption entgegenzuwirken. Nach den Untersuchungen von Marks et al. (2007) an Ratten mit mittels 5/6 Nephrektomie induzierter Niereninsuffizienz wird die Absorption im Darm trotz abnehmender Phosphatexkretion über die Nieren nicht dezimiert.

Um Richtwerte zur Behandlung von nierenkranken Patienten für Kliniker aufzustellen, brachte die KDOQI der NKF 1997 erstmals Richtlinien zur Anwendung bei Niereninsuffizienten aller Stadien heraus. Hiermit sollen Diagnose, Monitoring und Therapie der Patienten verbessert werden. Die KDOQI Richtlinien fordern für Patienten im Stadium 5 der Niereninsuffizienz die Einhaltung von Serumphosphatwerten von $3.5 - 5.5 \text{ mg/dl}$ (National Kidney Foundation 2003). Allerdings hat die Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS) gezeigt, dass 52 Prozent der Dialysepatienten den geforderten Serumphosphat Spiegel überschreiten (Young et al. 2005). Wie entscheidend die Kontrolle des Serumphosphats ist, stellen Palmer et al. (2011) in ihrem Review dar. Insgesamt 13 zu diesem Thema verfügbare und untersuchte Studien kommen zu dem Ergebnis, dass jeder 1 mg/dl Anstieg des Serumphosphatgehalts die Mortalitätsrate von CKD Patienten um 18 Prozent erhöht. Wertet man nur die drei adäquat adjustierten Studien, ergibt sich sogar eine um 35 Prozent erhöhte Mortalitätsrate.

2.2.3. Folgeerkrankungen

2.2.3.1. Sekundärer Hyperparathyreoidismus

Die Hyperphosphatämie führt aufgrund der Konstanterhaltung des Calcium-Phosphat-Gleichgewichts zu einer Senkung des Calciumspiegels. Hinzu kommt, dass das geschädigte Nierengewebe nicht mehr in der Lage ist, Calcitriol zu bilden, wodurch weniger Calcium im Darm resorbiert wird. Die resultierende Hypocalcämie veranlasst die Nebenschilddrüse dazu, vermehrt PTH zu sezernieren, und verursacht somit eine Proliferation ihrer Zellen (Siegenthaler 2013). Die PTH-Sekretion soll eine ausreichende Phosphatexkretion trotz verminderter GFR sicherstellen, allerdings kann die geschädigte Niere in den späten Stadien der Niereninsuffizienz nicht mehr adäquat auf dieses Signal reagieren. Jetzt zeigt der erhöhte PTH-Spiegel nur noch Auswirkungen auf die Knochen.

2.2.3.2. Metabolische Knochenerkrankungen

Im gesunden Organismus halten sich Knochenauf- und -abbau die Waage. Vorübergehend überschüssiges Phosphat kann in der Mineralisationsfront adsorbiert und in Knochen umgewandelt werden. Dies erlaubt es dem Knochen, als ein physiologisches Phosphat- und Calciumreservoir zu fungieren (Hruska et al. 2011). Als Folge der Niereninsuffizienz verlieren die Knochen diese Reservoirfunktion, da der hohe PTH-Spiegel zu vermehrtem Knochenabbau führt und Phosphat und Calcium in das Serum freigesetzt werden. Die Dichte der Knochen sinkt und Knochenerkrankungen wie Osteoporose entstehen. FGF-23, das hauptsächlich von Osteozyten und Osteoblasten bei verminderter Knochenbildung produziert wird, ist ein Signal des Skeletts an die Nieren, dass Phosphat nicht abgelagert wird und eine erhöhte Ausscheidung notwendig ist (Hruska et al. 2010). Die geschädigte Niere kann jedoch auch auf dieses Signal nicht mehr adäquat reagieren.

2.2.3.3. Gefäßerkrankungen

Eines der neuen Calcium-Phosphat-Reservoirs, das etabliert wird, wenn die Exkretion nicht länger ausreicht, um das Phosphatgleichgewicht zu halten, und der Knochen keine Reservoirfunktion mehr erfüllen kann, ist das Gefäßsystem. So können bei 47 Prozent der CKD-Patienten im Stadium 4 und 73 Prozent der Hämodialyse erhaltenden CKD-Patienten im Stadium 5, Anzeichen von vaskulärer Verkalkung nachgewiesen werden (Sigrist et al. 2006). Dies ist eine schwerwiegende Folge der Hyperphosphatämie, da die Hauptursache für Mortalität bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz (End Stage Renal Disease ESRD) kardiovaskuläre Erkrankungen sind. Diese haben 1998 50 Prozent der Todesfälle der Dialysepatienten verursacht (USRDS 1999). Dabei ist kardiovaskuläre Mortalität bei CKD Patienten signifikant mit dem Serumphosphatgehalt assoziiert (Kestenbaum et al. 2005). Wie ein in vitro Versuch zei-

gen konnte, wird die extrazelluläre Calcifizierung von glatten Muskelzellen der Aorta durch einen hohen Phosphatgehalt im Inkubationsmedium erhöht (Jono et al. 2000). Diese atherosklerotische Calcifizierung entsteht nicht nur aufgrund reiner metastatischer Calcium-Phosphat-Ablagerungen, sondern dadurch, dass Phosphat ein heterotopisches osteoblastisches Differenzierungsprogramm in der Gefäßwand stimuliert, welches die Fähigkeit besitzt, glatte Muskelzellen der Gefäße in Osteoblasten-ähnliche Zellen umzuwandeln. Des Weiteren konnte im Tierversuch gezeigt werden, dass durch Kontrolle der Hyperphosphatämie die CKD induzierte atherosklerotische Calcifizierung rückgängig gemacht werden kann (Mathew et al. 2008).

2.2.4. Therapie

Trotz des dreiseitigen Therapieansatzes, der im Folgenden besprochen wird, haben, wie bereits erwähnt, 52 Prozent der Dialysepatienten einen Serumphosphatwert, der den von der NKF empfohlenen Wert zwischen 3,5 - 5,5 mg/dl übersteigt (Young et al. 2005). Dies zeigt, dass die Therapie der Hyperphosphatämie verbesserungswürdig ist und effizientere Mittel und Wege zur Senkung des Serumphosphatgehalts gefunden werden müssen, um Morbidität und Mortalität der nierenkranken Patienten zu senken.

2.2.4.1. Phosphatrestriktion

Sobald der PTH-Spiegel erhöht und bevor eine klinische Hyperphosphatämie sichtbar ist, sollten nierenkranke Patienten die Phosphataufnahme mit der Nahrung reduzieren. Dies wird dadurch erschwert, dass in der Lebensmittelindustrie immer mehr Phosphate als Zusatzstoffe genutzt werden, da es derzeit keinerlei Beschränkungen für ihre Verwendung gibt und sie sich vielseitig einsetzen lassen. Sie eignen sich z.B. als Konservierungsmittel, Säuerungsmittel, Säureregulatoren, Emulgatoren oder Geschmacksverstärker. So enthält beispielsweise ein Liter Cola bereits 50 -75 Prozent der empfohlenen Tagesdosis für Erwachsene (Ritz et al. 2012). Außerdem muss die Menge an Phosphaten, die den Lebensmitteln hinzugefügt wird, nicht auf der Verpackung gekennzeichnet werden. Dies macht es für den Patienten schwierig, die tatsächliche Phosphataufnahme mit der Nahrung richtig einzuschätzen. Erschwerend kommt hinzu, dass das Phosphat aus den Zusatzstoffen eine höhere Bioverfügbarkeit besitzt und somit ein größerer Anteil aus dem Darm absorbiert wird, als das natürlich in Lebensmitteln vorkommende gebundene Phosphat. Somit trägt das zugesetzte Phosphat mehr zur Hyperphosphatämie bei als die gleiche Menge natürlich vorkommender Phosphate (Uribarri 2007). Ein weiteres Problem der Phosphatrestriktion ist die mit ihr einhergehende Proteinrestriktion, da die Aufnahme von Phosphat an die Aufnahme von Protein gekoppelt ist. Die Studie von Shinaberger et al. (2008) zeigt, dass trotz reduzierter Serumphosphatkonzentration eine niedrige

Proteinaufnahme mit einer erhöhten Mortalität assoziiert ist. Die Nachteile einer Proteinunterversorgung überwiegen also die Vorteile eines niedrigen Serumphosphatspiegels.

Somit kann die Phosphatrestriktion allenfalls einen Beitrag zur Senkung des Phosphatspiegels leisten, reicht aber als alleinige Therapie bei fortschreitender Niereninsuffizienz nicht aus.

2.2.4.2. Hämodialyse

Hämodialyse, die erst ab dem Stadium 5 der Niereninsuffizienz eingesetzt wird, kann ebenfalls zur Senkung des Serumphosphatspiegels beitragen. Verschiedene Studien zeigen, dass besonders die tägliche Heimhämodialyse über Nacht zu einer bedeutenden Senkung führt (Kooienga 2007). Diese Behandlungsform ist jedoch selten umsetzbar, da nur wenige Patienten die Voraussetzungen wie einen stabilen Gesundheitszustand erfüllen (Geberth et al. 2014).

2.2.4.3. Phosphatbinder

Der vielversprechendste Therapieansatz ist die Verwendung von oralen Phosphatbindern. Diese werden ausführlich unter Punkt 2.3. besprochen.

2.2.4.4. Phosphattransportinhibitoren

Eine weitere Möglichkeit, die Phosphataufnahme in den Organismus zu vermindern, ist die Blockierung der NptIIb-Transporter im Darm, da diese, wie bereits erwähnt, aktuellen Studien zufolge einen Großteil des aktiven Phosphattransports ausmachen. Dass diese Therapieform vielversprechend sein könnte, wiesen Schiavi et al. (2012) anhand der NptIIb-knockout-Mäuse, Tiere denen dieser Transporter fehlt, nach. An Mäusen, bei denen mittels des Adenin-Modells eine Niereninsuffizienz induziert wurde, konnten sie zeigen, dass NptIIb-knockout-Mäuse im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen und im Vergleich zu mit Sevelamercarbonat behandelten Tieren niedrigere Serumphosphatspiegel aufweisen. Allerdings finden Phosphattransportinhibitoren trotz jahrzehntelanger Forschung bislang noch keine Anwendung in der Praxis.

Nicotinamid wurde seit dem Jahr 2004 in mehreren klinischen Studien eine serumphosphatsenkende Wirkung bei Hämodialyse Patienten nachgewiesen (Takahashi et al. 2004; Cheng et al. 2008). Trotzdem gibt es derzeit keine zugelassenen Nicotinamidpräparate zur Senkung des Serumphosphatspiegels bei ESRD-Patienten. Ein Grund dafür könnten die beobachteten gastrointestinalen Nebenwirkungen und zum Teil auftretenden Thrombozytopenien sein (Delanaye et al. 2006; Rottembourg et al. 2005).

2.3. Phosphatbinder

Wie einleitend bereits erwähnt, ist auch der Behandlungserfolg durch den Einsatz von Phosphatbindern nicht zufriedenstellend. Sie besitzen zum einen teilweise erhebliche Nebenwirkungen und haben zum anderen bei ca. 50 Prozent der Patienten keinen ausreichenden Effekt, sodass der Serumphosphatspiegel nicht auf den von der NKF empfohlenen Wert gesenkt werden kann (Young et al. 2005).

2.3.1. Definition

Orale Phosphatadsorber binden das in der Nahrung enthaltene Phosphat, sodass es im Darm nicht resorbiert werden kann und über die Fäzes ausgeschieden wird. Alle derzeit auf dem Markt erhältlichen oralen Phosphatadsorber wirken auf ähnliche Weise. Entweder sie bilden zusammen mit dem Phosphat einen unlöslichen Komplex oder sie binden es in ein Harz (Hutchison et al. 2011).

2.3.2. Aluminiumhaltige Phosphatbinder

Bis zur Mitte der 80er Jahre waren aluminiumhaltige Phosphatadsorber die Haupttherapieachse zur Senkung der Hyperphosphatämie, da sie sehr effektiv Phosphat binden, weshalb geringe Dosen notwendig sind und sie so eine kostengünstige Therapieform darstellen. Allerdings stellte sich heraus, dass bei der Entwicklung einer Niereninsuffizienz eine erhöhte Resorption aus dem Darm bei verringerter Ausscheidung über die Nieren stattfindet (Ittel et al. 1987). Dies führt zur Aluminiumakkumulation und somit -toxizität mit Folgeerkrankungen wie Enzephalopathie, Osteomalazie und Anämie (Wills et al. 1983). Daher werden sie heutzutage praktisch nur noch in Entwicklungsländern aufgrund der geringen Kosten, in westlichen Ländern zur ersten Senkung einer akuten Hyperphosphatämie eingesetzt. Außerdem werden sie bei Patienten angewendet, deren Prognose aufgrund verschiedener Komorbiditäten so schlecht ist, dass der positive Effekt einer effektiven Phosphatbindung die möglichen Risiken überwiegt (Hutchison et al. 2011).

2.3.3. Calciumhaltige Phosphatbinder

Calciumhaltige Phosphatadsorber wie Calciumacetat, -carbonat und -citrat sind gegenwärtig, weil effektiv und kostengünstig, die am häufigsten eingesetzten Phosphatbinder weltweit. Sie binden Phosphat, indem sie im Gastrointestinaltrakt in Calcium und den entsprechenden Anionen dissoziieren und das elementare Calcium dann mit Phosphat ein unlösliches Präzipitat bildet, welches mit der Fäzes ausgeschieden wird (Sprague 2007).

Jedoch wird Calcium auch teilweise absorbiert, so dass calciumhaltige Phosphatbinder bei 22 Prozent der Patienten zur Hypercalcämie führen (Bleyer et al. 1999). Dies könnte zu einer weiteren Erhöhung des Ca/P-Produktes, vaskulären und extravaskulären Calcifizierungen und somit zu einer erhöhten Mortalitätsrate der CKD Patienten beitragen. Goodman konnte in seiner Studie mit jungen erwachsenen hämodialysepflichtigen Patienten anhand von Elektronenstrahl-Computertomografie-Aufnahmen (EBCT) zeigen, dass eine bemerkenswert signifikante Korrelation zwischen der Ausbreitung einer koronaren Calcifizierung mit dem Serumphosphatgehalt, dem Ca/P-Produkt und der geschätzten täglichen Einnahme von Calcium in der Form von calciumhaltigen Phosphatbindern besteht (Goodman et al. 2000). Aufgrund dieser Nebenwirkung empfehlen die KDOQI-Richtlinien die Vermeidung von calciumhaltigen Phosphatbindern bei Patienten, die an einer Hypercalcämie leiden oder Anzeichen von hochgradigen Gefäßverkalkungen zeigen (National Kidney Foundation 2003).

2.3.4. Sevelamer

Sevelamerhydrochlorid (RenaGel®) ist ein nicht-resorbierbares, phosphatbindendes Poly(allylaminhydrochlorid)polymer, das weder Aluminium noch Calcium enthält. Es verfügt über multiple Aminogruppen, die jeweils durch ein Kohlenstoffatom von dem Polymergerüst getrennt sind. Diese Amine werden teilweise im Darm protoniert und interagieren mit Phosphatmolekülen durch Ionen- und Wasserstoffbindung (Chertow et al. 1999).

Die Studie von Bleyer et al. (1999) zeigte, dass die Anwendung von Sevelamerhydrochlorid zu einer deutlichen Senkung des Serumphosphatgehalts zusammen mit einer Senkung des Ca/P-Produktes führt. Sevelamerhydrochlorid ist außerdem ein Gallensäure-Komplexbildner. Daher hat es zusätzlich zum phosphatsenkenden einen cholesterinsenkenden Effekt, welcher auch an der Senkung der Rate der kardiovaskulären Erkrankungen beteiligt sein könnte (Chertow et al. 1999; Bleyer et al. 1999). Dass ektopische Verkalkungen durch Verabreichung von Sevelamer verhindert werden können, stellten Katsumata et al. (2003) in ihrem in vivo Versuch dar. Niereninsuffiziente Ratten, denen Sevelamerhydrochlorid verabreicht wurde, entwickelten im Vergleich zu unbehandelten Tieren keine Calcifizierungen der thorakalen Aorta, wie auch der Nieren und des Magens. In einer anderen Studie gelang es der Forschungsgruppe, die Progression der Calcifizierung der Koronararterien und der Aorta in ESRD-Patienten durch Sevelamerhydrochlorid im Vergleich zu den mit Calciumpräparaten behandelten Patienten signifikant zu vermindern (Chertow et al. 2002).

Allerdings enthält Sevelamerhydrochlorid bezogen auf das Gewicht 17 Prozent Chlorwasserstoff (HCl), das für Phosphate oder andere Anione im Gastrointestinaltrakt ausgetauscht wird. Somit führt es direkt oder indirekt zu einer Reduktion des Serumbicarbonats, was zu einer metabolischen Azidose und gastrointestinalen Nebenwirkungen führt (Brezina et al. 2004). Daher wurde Sevelamercarbonat (Renvela®) als verbessertes, gepuffertes Nachfolgeprodukt entwickelt, welches durch Freisetzung von Bicarbonationen zur Erhöhung des Se-

rumbicarbonats führt. Ketteler et al. (2008) zeigten, dass Sevelamercarbonat effizient und gut verträglich ist und zu einer signifikanten Senkung des Ca/P-Produkts, Gesamtcholesterins und LDL-Cholesterins führt, das Serumbicarbonat jedoch statistisch signifikant erhöht. Effekte von Sevelamercarbonat auf die vaskuläre Calcifizierung wurden in unterschiedlichen Studien verschieden gewertet, daher gibt es keine klaren Erkenntnisse darüber, ob Sevelamer das Risiko einer Gefäßerkrankung mindert (Tonelli et al. 2010).

Sevelamercarbonat (Renvela®) gilt derzeit in westlichen Ländern als Goldstandard zur Behandlung der Hyperphosphatämie bei niereninsuffizienten Patienten und dient daher in der vorliegenden Arbeit als Vergleichswirkstoff.

2.3.5. Lanthan

Lanthancarbonat (Fosrenol®) ist ein neuerer, aluminium- und calciumfreier Phosphatbinder der dritten Generation. Lanthan gehört zu der Elementgruppe der Lanthanide und ist das stärkste elektropositive Element der seltenen Erde-Gruppe. Als trivalentes Kation zeigt es eine hohe Affinität zu oxygenenthaltenden Anionen, besonders zu Phosphat- und Carboxylgruppen, mit denen es sehr feste Komplexe bildet (Behets et al. 2004). Da Lanthan unlöslich ist, hat es ein geringes Potential im Körper zu akkumulieren. Damments et al. (2011) in vivo Versuchen zufolge ist es einer der wirksamsten derzeit auf dem Markt erhältlichen oralen Phosphatadsorber, der auch bei suprathérapeutischen Dosen keine bedenklichen Nebenwirkungen zeigt. Allerdings konnten mehrere in vivo Studien nachweisen, dass Lanthan bei chronischem Nierenversagen verstärkt im Darm absorbiert wird und somit wie Aluminium zur Akkumulation vor allem in Leber, Knochen, Nieren und Gehirn führt (Lacour et al. 2005; Slatopolsky et al. 2005). Auch wenn bislang noch keine toxischen Effekte der Lanthanablagerungen nachgewiesen wurden, sollte die lange Nachweisbarkeit in den Knochen nach den Erfahrungen mit der Aluminiumtherapie Vorsicht gebieten (Drüeke 2007; Spasovski et al. 2006).

Außerdem steht Lanthancarbonat unter dem Verdacht, in Zusammenhang mit nephrogener systemischer Fibrose (NSF) zu stehen. Dies ist eine zwar selten auftretende, aber fatal verlaufende systemische Entzündung des Bindegewebes, die von Cowper et al. im Jahr 2000 erstmals entdeckt wurde. Die genauen Pathomechanismen dieser Erkrankung sind noch unbekannt, doch scheint sie mit einer intravenösen Applikation von gadoliniumhaltenden Kontrastmitteln für Magnetresonanzbildgebung bei Patienten mit renaler Dysfunktion im Zusammenhang zu stehen (Kaewlai et al. 2012). Der Verdacht, Lanthan könne an diesem Krankheitsbild beteiligt sein, beruht darauf, dass NSF bei mit Gadolinium behandelten nierenkranken Patienten nur in den Ländern aufgetreten ist, in denen Lanthancarbonat einige Jahre zuvor zugelassen wurde (Brambilla et al. 2008).

Ein weiterer Nachteil der Verabreichung von Lanthancarbonat ist, dass es zu Obstipationen und Ileus-ähnlichen Symptomen führen kann, da es sich in der Darmwand anreichert (Camarero-Temino 2012). Dies senkt die Adhärenz der betroffenen Patienten.

2.3.6. Eisenoxide

Die dritte Gruppe der neuentwickelten oralen Phosphatbinder sind die eisenbasierten. Die Verwendung von Eisen als Phosphatadsorber beruht auf alten Beobachtungen, wonach Eisensalze zu Hypophosphatämie und Rachitis bei Versuchstieren und Patienten führen, da sie Phosphat im Darm adsorbieren (Brock et al. 1934; Liu et al. 1943). Diese Erkenntnis machten sich verschiedene Pharmafirmen zunutze und entwickelten eisenbasierte Phosphatadsorber mit vielversprechenden Phosphatbindungskapazitäten, die sich in ersten klinischen Studien als effektive Mittel zur Senkung des Serumphosphatspiegels erwiesen (Floege et al. 2014; Dwyer et al. 2013; Fukagawa et al. 2014).

Phan et al. (2013) konnten außerdem zeigen, dass der eisenbasierte Wirkstoff PA21 im Vergleich zu urämischen Kontrollen und zu mit Calciumcarbonat behandelten Tieren vaskuläre Calcifizierungen senkt.

Wie mehrere Studien zu verschiedenen eisenbasierten Phosphatadsorbern zeigten, wird das enthaltene Eisen auch zu einem geringen Anteil absorbiert und kann im Blut nachgewiesen werden (Gschwind et al. 2014; Sinsakul et al. 2012; Geisser et al. 2010). Daher könnten eisenbasierte Phosphatbinder gleichzeitig auch als Eisenersatztherapeutikum eingesetzt werden und eventuell die Kosten zur Behandlung von niereninsuffizienten Patienten, deren Erythropoetinsynthese eingeschränkt ist, drastisch senken (Thomas et al. 2014). Allerdings stellt sich somit auch die Frage nach Toxizität durch Eisenakkumulation im Körper.

Zum Zeitpunkt der experimentellen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit war kein eisenbasierter Phosphatbinder in Deutschland zugelassen. PA21 hat als Velphoro® die Zulassung in den USA und seit August 2014 auch in Europa erhalten und Eisen-Citrat als Riona® in Japan.

C-PAM-11

Aus der chemischen Forschung ist bekannt, dass vor allem die kristallinen Eisenoxide Magnetit (Fe_3O_4) und die oxidierte Form Maghemit (Fe_2O_3) eine besonders hohe phosphatadsorbierende Kapazität haben (Daou et al. 2007). Beruhend auf dieser Eigenschaft der Kristalle wurde von der experimentellen Radiologie Charité - Universitätsmedizin Berlin ein auf Maghemit-basierender Wirkstoff entwickelt, der sich dadurch auszeichnet, dass die Kristalle besonders klein sind, um die adsorptive Oberfläche zu maximieren. Eine ausreichende Stabilität über den gesamten Verdauungstrakt wird durch Hilfsstoffe sicher gestellt.

3. Material und Methoden

3.1. Versuchsaufbau

In der vorliegenden Studie wurde die Wirksamkeit und Verträglichkeit der in der experimentellen Radiologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin hergestellten Maghemit-basierten Eisenoxidnanopartikel C-PAM-11 im Vergleich zu dem bereits auf dem Markt erhältlichen Goldstandard Sevelamercarbonat (Renvela®) im Tierversuch getestet. Die Durchführung der tierexperimentellen Studie wurde durch das Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin genehmigt (Tierversuchsanzeige A 0120/12). Der Versuchsaufbau wurde der Studie von Hsu et al. (1999) nachvollzogen.

Die Wirksamkeit der Phosphatbinder wurde anhand der Auswirkungen auf die Urinphosphatkonzentration, der Serumphosphatkonzentration und des Knochenbaus ermittelt. Zur Beurteilung der Verträglichkeit diente die Beobachtung des Allgemeinbefindens der Tiere über die vier Wochen der Behandlung und eine anschließende Blutuntersuchung sowie die histologische Untersuchung der Organe.

Im Versuch waren 24 gesunde Sprague Dawley Ratten, die in drei Gruppen à acht Tiere eingeteilt wurden. Die erste Gruppe wurde als Kontrollgruppe nur mit der Standarddiät gefüttert, die zweite Gruppe erhielt Renvela® und die dritte Gruppe den von der experimentellen Radiologie hergestellten Phosphatbinder C-PAM-11.

Die Ratten wurden über vier Wochen mit einem mit Phosphatbinder angereicherten Futter gefüttert. Einmal wöchentlich wurden sie gewogen und für 24 Stunden einzeln in Stoffwechselläufige verbracht, um die Futteraufnahme, die Menge des innerhalb der 24 Stunden abgesetzten Kots und Urins sowie den Phosphatgehalt des 24-Stunden-Sammelurins bestimmen zu können. Am Ende des Versuchs wurden die Tiere getötet und Blut, Organe und Knochen für weitere Untersuchungen entnommen.

Da die Phosphatbindungskapazität von C-PAM-11 aufgrund der vorangegangenen in vitro Versuche als relativ hoch eingeschätzt werden konnte, wurde die Hälfte der von Hsu et al. benutzten Dosis für den Versuch gewählt. Die Dosis betrug somit 0,5 Prozent Gewichtsanteil des Futters bezogen auf den Wirkstoff, also im Falle von C-PAM-11 elementarem Eisen und von Renvela® Sevelamercarbonat.

3.2. Tiere

Im Versuch wurden junge, circa 200 g schwere, männliche Sprague Dawley Ratten von der Firma Charles River (Charles River Laboratories, Research Models and Service, Germany

GmbH, Sulzfeld, Deutschland) verwendet. Da die Zahl, der zur Verfügung stehenden Stoffwechsellkäfige limitiert war, wurde der Versuch in drei aufeinanderfolgenden Durchgängen durchgeführt. In den ersten beiden Durchgängen befanden sich jeweils drei Tiere (also insgesamt neun), im dritten und letzten Durchgang zwei Tiere (insgesamt sechs) jeder Gruppe.

3.3. Tierhaltung

Die Tiere wurden in der Tierhaltung des Center for Cardiovascular Research der Charité - Universitätsmedizin Berlin in Standardrattenkäfigen zu zweit oder dritt unter gleichbleibenden Bedingungen gehalten. Einmal wöchentlich wurden sie für 24 Stunden einzeln in Stoffwechsellkäfige verbracht.

3.4. Futter

Um die Phosphatbinder besser unter das Futter mischen zu können, erhielten die Ratten statt des gewöhnlichen Pelletfutters eine Standardrattendiät in Form von Pulverfutter (Altromin 1321, Altromin Spezialfutter GmbH, Lage, Deutschland). Diese Diät wies einen Phosphorgehalt von 0,7 Prozent auf. Da die Fütterung ad libitum erfolgte und die Tiere in Gruppen gehalten wurden, war die Aufzeichnung der Futteraufnahme der einzelnen Ratten nur während des Aufenthalts im Stoffwechsellkäfig möglich.

3.5. Futterzusätze

3.5.1. Gelatine

Da nicht sicher war, ob die Tiere das Futter in Pulverform fressen würden, wurden Gelatine-Futter-Kugeln hergestellt, um eine dem normalen Pelletfutter ähnlichere Darreichungsform zu erhalten. Zur Herstellung dieser Kugeln wurde zunächst fünf prozentige Gelatine wie folgt angerührt: 25 g Gelatine wurden auf 500 ml mit deionisiertem Wasser aufgefüllt und zehn Minuten quellen gelassen. Anschließend wurde die fünf prozentige Gelatine in einer Mikrowelle bei 600 Watt zweimal jeweils eine Minute erhitzt und zwischendurch umgerührt. Zuletzt wurde die Lösung auf einem Magnetrührer bei 45 °C und 450 rpm für etwa zehn Minuten gerührt, bis sie klar war. Diese 500 ml fünf prozentige Gelatine wurden unmittelbar nach der Herstellung mit 500 g Futter vermengt, sodass eine gut formbare Masse entstand, aus der ca. 20 g schwere Kugeln hergestellt werden konnten.

Geräte:

- Feinwaage TE214S, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland
- Mikrowelle HMT 842 C, Robert Bosch Hausgeräte GmbH, München, Deutschland
- Magnetprüher MR Hei-Tec, Heidolph Instruments GmbH & Co.KG, Schwabach, Deutschland
- Waage EW 2200-2NM, KERN & SOHN GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland

Chemikalien:

- Gelatine Gelatin from porcine skin, gel strength 300, Type A, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland

3.5.2. Phosphatbinder

Die Phosphatbinder wurden zur möglichst homogenen Verteilung mithilfe des Magnetprühers in die frisch hergestellte fünf prozentige Gelatine eingemischt. Die Drehzahl wurde dabei kurzzeitig auf 750 rpm erhöht bis eine gleichmäßige Verteilung erreicht war.

3.5.2.1. C-PAM-11

Die im Versuch verwendeten phosphatadsorbierenden Maghemit-basierten Eisenoxidnanopartikel wurden in Anlehnung an Beispiel 7 des Patents WO 2013/034267 A1 von Frau Monika Ebert, Chemisch-technische Assistentin der experimentellen Radiologie, hergestellt. In einer nasschemischen Fällreaktion entsteht primär Magnetit. Dieses wird gezielt zu Maghemit aufoxidiert. Dabei verbleibt ein Restanteil von zweiwertigen Eisenionen (Fe^{2+}) von weniger als zwei Prozent. Daher wäre der Wirkstoff chemisch korrekt betrachtet ein Maghemit-Magnetit-Gemisch. Aufgrund des geringen Anteils von Fe^{2+} ist von einem Maghemitanteil von mehr als 95 Prozent auszugehen. So wird im Folgenden der Wirkstoff ausschließlich als Maghemit definiert. Inulin, Gummi arabicum und Mannitol dienen als Hilfsstoffe, um die Stabilität über den gesamten Verdauungstrakt sicher zu stellen.

Die für den vorliegenden Versuch verwendete Charge wies einen Eisengehalt von 205 mg/g C-PAM-11 auf.

C-PAM-11 steht für Charité - Phosphat adsorbierendes Maghemit - im Jahr 2011 (in dem die Patentanmeldung erfolgte).

Die der vorliegenden Arbeit vorangegangenen in vitro Versuche zur Phosphatbindungskapazität wurden in Anlehnung an die Prüfvorschriften des Europäischen Arzneibuchs zur Wirkstofffreisetzung aus festen Arzneiformen im pH-Bereich zwischen 1,2 - 7,5 durchgeführt (Europäisches Arzneibuch 2011). Diese Messungen wurden ebenfalls von Frau Monika Ebert

vorgenommen und wiesen im pH-Bereich zwischen 2,5 - 7,5 eine stabile Phosphatbindungskapazität des Eisenoxids von 1,4 - 1,5 g Phosphat/g elementarem Eisen auf.

3.5.2.2. Sevelamercarbonat

Sevelamercarbonat (Renvela® 2,4 g, 60 Beutel, Pulver zur Herstellung einer Suspension zum Einnehmen, jeder Beutel enthält 2,4 g Sevelamercarbonat, Genzyme Europe B.V., Naarden, Niederlande).

3.6. Zeitlicher Verlauf

Die ersten neun Tiere mit jeweils drei Tieren pro Behandlungsgruppe erhielten eine zweiwöchige Eingewöhnungszeit, da sie sich erst akklimatisieren sollten, bevor sie auf die Gelatine-Futter-Kugeln umgestellt wurden. Erst nach diesen zwei Wochen wurden sie das erste Mal einzeln in die Stoffwechselkäfige gesetzt (Stoffwechselkäfig für Ratten von 150 bis 300 g, Techniplast, Hohenpeißenberg, Deutschland). Da sich zeigte, dass die Tiere keine Schwierigkeiten mit der Futterumstellung hatten, wurden die restlichen 15 Tiere gleich nach Ankunft in der Tierhaltung auf die Gelatine-Futter-Kugeln umgestellt und bereits nach einer einwöchigen Eingewöhnungsphase einzeln in die Stoffwechselkäfige verbracht.

Der erste Aufenthalt im Stoffwechselkäfig, noch vor Beginn der Behandlung, diente der Erfassung der Ausgangswerte aller erhobenen Parameter. Anschließend erfolgte die Umstellung auf die mit Phosphatbindern angereicherten Gelatine-Futter-Kugeln bzw. erhielten die Kontrolltiere weiterhin die Standarddiät in Form der Kugeln.

Der Fütterungsversuch erstreckte sich über vier Wochen, in denen die Ratten einmal wöchentlich einzeln in die Stoffwechselkäfige verbracht wurden, um Urin und Kot zu gewinnen, die Futteraufnahme zu bestimmen und die Wirkung der Phosphatbinder auf den Phosphatgehalt im 24-Stunden-Sammelurin messen zu können. Am Ende der vierwöchigen Fütterungsperiode wurden die Tiere in Isoflurannarkose durch Blutentzug getötet und Blut, Organe sowie Knochen wurden entnommen.

3.7. Aufarbeitung der Proben

3.7.1. Aufarbeitung des Urins

Der 24-Stunden-Sammelurin, der während des ersten Aufenthalts im Stoffwechselkäfig der ersten neun Tiere gewonnen wurde, war stark mit den Gelatine-Futter-Kugeln verunreinigt. Daher wurde er über einen 3kD Cellulose Filter bei 12.000 rpm fünf Minuten lang in der Ep-

pendorf Zentrifuge 5415 D abzentrifugiert. Der Urin der restlichen vier Wochen des ersten Durchgangs mit neun Tieren wurde unbehandelt gemessen. Ab dem zweiten Durchgang, also dem vierten Tier jeder Gruppe, wurde der Urin bei 1000 rpm für zwei Minuten in einem 50 ml Falcon Tube in der Eppendorf Zentrifuge 5810 R abzentrifugiert, bevor er gemessen wurde.

3.7.2. Gewinnung des Serums

Das bei der Tötung für das Serum gewonnene Vollblut wurde für zehn Minuten bei 1.800 rpm in Serumröhrchen in der Eppendorf Zentrifuge 5810 R abzentrifugiert und das dabei gewonnene Serum unbehandelt an Synlab einem nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005 zertifizierten Labor versandt.

3.7.3. Proben für Synlab

Zusätzlich wurde Blut sowohl in Citrat- als auch in EDTA-Röhrchen an Synlab versandt. Außerdem wurden 4 ml des wie unter 3.7.1. beschrieben aufbereiteten Urins zur Bestimmung der Urinparameter an Synlab geschickt.

Geräte:

- 3kD Filter, centrifugal filter units, Millipore corporation, Billerica, MA, USA
- kleine Zentrifuge 5415 D, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- 50 ml Falcon tube, BD Biosciences, Bedford, MA, USA
- große Zentrifuge 5810 R, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- Synlab.vet GmbH, Labor Berlin, Berlin, Deutschland
- 4 ml Serumröhrchen Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
- 1,3 ml Citratröhrchen Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
- 3 ml EDTA-Röhrchen Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland

3.8. Analytik

3.8.1. Bestimmung der Phosphatkonzentration im Urin

Der Phosphatgehalt in organischen Lösungen kann mithilfe des Farbreagens Malachitgrün ermittelt werden. Bei der Reaktion von Phosphat mit Malachitgrün entsteht ein blau-grüner Komplex, dessen Farbintensität der Menge an enthaltenem Phosphat entspricht. Der genaue Phosphatgehalt kann mittels Extinktion berechnet werden.

Der Urinphosphatgehalt wurde mit dem Phosphat-Kit QuantiChrom™ nach Herstellerangaben im Plattenleser bei einer Wellenlänge von 620 nm ermittelt.

Geräte:

- Plattenleser Power Wave XS2, BioTek instruments, Winooski, VT, USA

Chemikalien:

- QuantiChrom™ Phosphate Assay Kit (DIPI-500) BioAssay Systems, Hayward, CA, USA

3.8.2. Berechnung der absoluten Phosphatexkretion im Urin

Um die absolute Menge des ausgeschiedenen Phosphats zu ermitteln, wurde die mithilfe des Phosphatkits bestimmte Menge Phosphat pro Milliliter mit der Menge des ausgeschiedenen Urins multipliziert.

3.8.3. Ermittlung des Phosphor/Kreatinin-Quotienten

Der von Synlab ermittelte Urin-Kreatiningehalt und die im Labor der experimentellen Radiologie ermittelte Urinphosphatkonzentration wurden genutzt, um den Phosphor/Kreatinin-Quotienten zu bestimmen. Dieser dient als Indikator für die Phosphatadsorption im Darm (Dominguez et al. 2013).

3.8.4. Bestimmung der Blut- und Urinparameter

Alle gängigen Parameter des großen sowie Differentialblutbildes, Leber- und Nierenprofils, Serumelektrolyte, Serumeisengehalt, Blutglukose und die Urinparameter wurden von Synlab bestimmt.

3.9. Histologie

3.9.1. Aufarbeitung der Organe

Zur histologischen Aufarbeitung wurden folgende Organe entnommen. Das Herz wurde koronar in vier etwa gleich große Scheiben geschnitten, um sowohl das rechte und linke Atrium, als auch den rechten und linken Ventrikel und die Herzspitze beurteilen zu können. Aus dem größten Lungenlappen und dem größten Leberlappen wurde koronar eine ca. 0,5 Zentimeter dicke Scheibe heraus geschnitten. Eine Niere wurde paramedian aufgeschnitten. Von der Milz

wurde ein Querschnitt entnommen. Der Magen wurde entlang der kleinen Krümmung eröffnet, umgestülpt und unter fließendem, lauwarmem Leitungswasser gesäubert. Die Mesenteriallymphknoten wurden möglichst median aufgeschnitten. Von den ersten neun Tieren wurden folgende ca. 0,5 Zentimeter große Stücke entnommen, um daraus Querschnitte anfertigen zu können: Vom Dünndarm wurde ca. ein Zentimeter nach dem Magen und ca. eine Handbreite vor dem Caecum und vom Dickdarm ca. zwei fingerbreit vor dem Anus ein Stück entnommen. Von den restlichen 15 Tieren wurden, um größere Teile des Darms in Längsschnitten beurteilen zu können, jeweils circa acht Zentimeter des Anfangs- und des Endstücks des Dünndarms und der komplette Dickdarm in Formalin verbracht. Da hier größere Stücke des Darms in Formalin fixiert wurden, musste dieser zunächst unter fließendem, lauwarmem Wasser gespült werden.

Die Organstücke wurden eine Woche lang in Formalin fixiert, anschließend in Standardhistologiekassetten umgelagert, eine Stunde unter fließendem deionisiertem Wasser gewässert und dann über 24 Stunden in einem Histokinett-Automaten nach dem Tauchprinzip entwässert und in Paraffin eingebettet. Die Entwässerung erfolgte in einer aufsteigenden Alkoholreihe über 18 Stunden, dem sich Xylol und abschließend reines 37 °C warmes Paraffin anschloss. Um die Organe schneiden zu können, wurden sie mittels Standardbettformen an einer Ausgießstation in Paraffinblöcke gegossen. Diese Blöcke wurden mittels Mikrotom in 5 µm dicke Schnitte geschnitten, in einem Paraffin-Streckbad gestreckt und auf Objektträger aufgetragen. Danach folgte eine mindestens eintägige Trocknung im 37 °C Wärmeschrank und abschließend die Färbung der Schnitte.

Geräte:

- Histokinette TP 1020, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland
- Ausgießstation EG 1150 H, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland
- Mikrotom RM 2125 RT, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland
- Mikrotom-Klinge S.35, stainless steel, feather safety razor Co., LTD, Osaka, Japan
- Paraffin-Streckbad HI 1210, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland
- Objektträger Menzel-Gläser superfrost plus, Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig, Deutschland
- Wärmeschrank Heraeus Typ UT 6 function line, Kendro Laboratory Products, Hanau, Deutschland

3.9.2. Färbungen

Alle entnommenen Organe wurden zur Übersicht mit der Standardfärbung Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Um eine übermäßige Aufnahme und Akkumulation von Eisen durch die Verabreichung von Eisenoxidnanopartikeln oder auch einen übermäßigen Blutabbau ausschließen zu

können, wurden Magen, Darm, Milz, Lymphknoten und Leber mit der Berliner-Blau-Färbung gefärbt. Beide Färbeprotokolle wurden aus "Romeis mikroskopische Techniken" entnommen (Mulisch et al. 2010). Der Magen-Darm-Trakt wurde zusätzlich mit der Movat-Färbung nach Verhöff der Firma Morphisto nach Herstellerangaben gefärbt.

Chemikalien:

- Formalin Solution 10 %, (v/v), 4 % (w/v) neutralized, J. T. Baker, Deventer, Niederlande
- Ethanol 100 Vol.-% (MEK) Herbeta Arzneimittel, Berlin, Deutschland
- Xylol, J. T. Baker, Deventer, Niederlande
- Paraffin Histoplast, Thermo Scientific anatomical pathology international, Cheshire, UK
- Mayers Hämalaunlösung, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
- Eosin G, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
- Kaliumhexacyanoferrat (II)-Tetrahydrat, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
- Kernechtrot-Aluminiumsulfat Lösung, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland
- Movat`s Pentachrom nach Verhöff, Morphisto GmbH, Frankfurt a. M., Deutschland

3.9.3. Histologische Auswertung

Die Auswertung der histologischen Schnitte erfolgte durch Herrn Professor Robert Klopffleisch im Institut für Tierpathologie des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin. Die vorliegenden Bilder wurden an einem Mikroskop der Firma Zeiss (Axio Observer Z1) mit der Software ZENpro 2012 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland) aufgenommen.

3.10. Untersuchung der Knochen

Um zu untersuchen, ob die Phosphatadsorption im Darm Auswirkungen auf den Knochenaufbau der jungen, noch wachsenden Tiere hatte, wurden beide Femora der Ratten entnommen, einer in Formalin fixiert und der andere bei -20 °C eingefroren. Die Vermessung der Knochen erfolgte durch Frau Dr. Ritter im Zentrum für Muskel- und Knochenforschung am Campus Benjamin Franklin der Charité - Universitätsmedizin Berlin mittels hochauflösender peripherer quantitativer Computer-Tomografie (HR-pQCT, XtremeCT, Scanco Medical AG, Brüttisellen, Schweiz). Dieses bildgebende Verfahren eignet sich, um die Dichte und mikrostrukturelle Parameter der Knochen zu bestimmen und somit Änderungen im Knochenbau zu detektieren (MacNeil et al. 2007).

3.11. Statistische Auswertung

Die Ergebnisse der Analysen wurden als arithmetischer Gruppenmittelwert $[X]$ und der dazugehörigen Standardabweichung $[s]$ als Maß für die Streuung der Einzelwerte um den Mittelwert angegeben.

Die Auswertung der Daten sowie die Erstellung der Grafiken erfolgte mithilfe des Statistikprogramms Prism (Version 5.0, GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA 92037 USA).

Die Untersuchung auf Unterschiede innerhalb der Gruppen während der fünf Wochen des Versuchs erfolgte mit Hilfe des Friedman-Test. Dabei steht p für die Irrtumswahrscheinlichkeit, d. h. wenn $p < 0,05$, liegt die Irrtumswahrscheinlichkeit unter fünf Prozent und es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Werten innerhalb einer Gruppe. War dies der Fall, wurde zusätzlich der Wilcoxon-Test durchgeführt, um festzustellen, zwischen welchen Behandlungswochen im Vergleich zu den Anfangswerten ein statistisch signifikanter Unterschied besteht. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit zwischen fünf und zehn Prozent ($0,1 \geq p > 0,05$) wird von einem tendenziellen Unterschied ausgegangen. Wird hierbei eine noch geringere Irrtumswahrscheinlichkeit aufgefunden, so wird der Unterschied als hoch signifikant bezeichnet und entsprechend mit $p < 0,01$ und $p < 0,001$ angegeben.

Die Untersuchung auf Unterschiede zwischen den drei Gruppen erfolgte mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Test. Wurde dabei ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt, wurde anhand des Mann-Whitney-U-Tests ermittelt, welche der beiden Gruppen sich statistisch signifikant unterscheiden. Für die Irrtumswahrscheinlichkeit p gelten ebenfalls die vorher genannten Regeln.

4. Ergebnisse

4.1. Versuchstierdaten

4.1.1. Allgemeinzustand

Alle Tiere bis auf eines zeigten über die vier Wochen des Versuchs ein gutes Allgemeinbefinden. Geringgradig reduziert war dieses jedoch während der Einzelhaltung im Stoffwechselkäfig.

In der Renvela®-Gruppe zeigte ein Tier ein mittelgradig reduziertes Allgemeinbefinden, konnte aber im Versuch belassen werden.

In der C-PAM-11-Gruppe hatten alle Tiere ab Behandlungsbeginn einen sehr dunklen und feuchten Kot, zeigten aber ansonsten keine unerwünschten Nebenwirkungen.

4.1.2. Entwicklung des Körpergewichts

Das Körpergewicht der Tiere wurde einmal wöchentlich vor dem Umsetzen in die Stoffwechselkäfige bestimmt. Das Gewicht der einzelnen Tiere sowie des Gruppendurchschnitts pro Messzeitpunkt sind in Tab. 3 dargestellt.

Wie in Abb. 2 zu erkennen zeigten die jungen, wachsenden Ratten alle eine stetige Gewichtszunahme, wobei diese bei den mit Renvela® behandelten Tieren am größten und bei den mit C-PAM-11 behandelten Tieren am geringsten ausfiel. Allerdings waren die Renvela®-Tiere mit $295 \pm 31,65$ g schon zu Beginn des Versuchs schwerer als die Kontrolltiere mit $285 \pm 24,65$ g und die C-PAM-11-Tiere mit $287 \pm 21,87$ g. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen lag zu diesem Zeitpunkt noch nicht vor. Dieser zeigte sich jedoch bereits nach der ersten Behandlungswoche. Hier betrug das durchschnittliche Körpergewicht der Renvela®-Tiere $349 \pm 18,26$ g und das der C-PAM-11-Tiere $325 \pm 14,14$ g. Dieser statistisch hoch signifikante Unterschied ($p < 0,01$) blieb über alle vier Behandlungswochen bestehen. Nach der ersten und zweiten Behandlungswoche zeigten die Renvela®-Tiere auch ein signifikant ($p < 0,05$) höheres Gewicht als die Kontrolltiere. Nach der dritten und vierten Behandlungswoche war nur noch eine Tendenz zur Signifikanz zu erkennen ($p = 0,0583$, $p = 0,0830$). Das Körpergewicht der C-PAM-11-Tiere unterschied sich hingegen zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikant von dem der Kontrolltiere.

Nach den vier Behandlungswochen betrug das durchschnittliche Körpergewicht der Kontrolltiere $438 \pm 28,97$ g, der Renvela®-Tiere $467 \pm 25,32$ g und der C-PAM-11-Tiere $420 \pm 23,88$ g. Somit liegen alle drei Gruppen mit ihrer Gewichtszunahme im Bereich des vom Züchter Charles River angegebenen und in Abb. 1 dargestellten Durchschnitts.

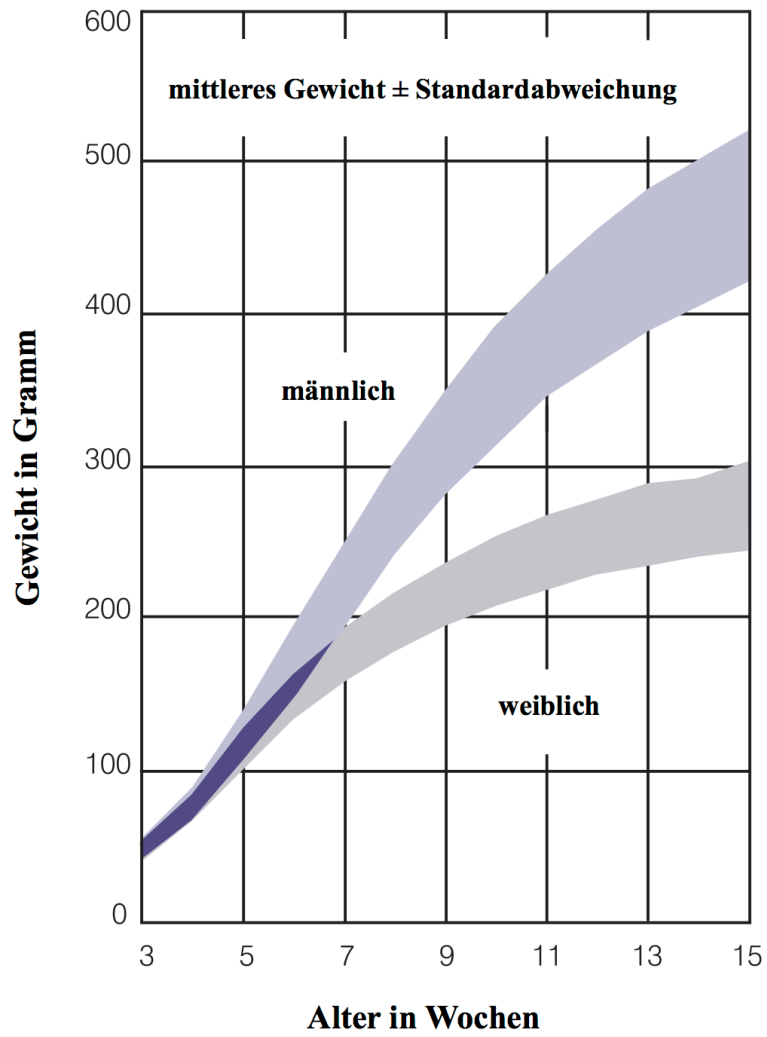


Abb. 1: Standardgewichtsverteilung der CD® IGS Sprague Dawley Ratten des Züchters Charles River, entnommen <http://www.criver.com>

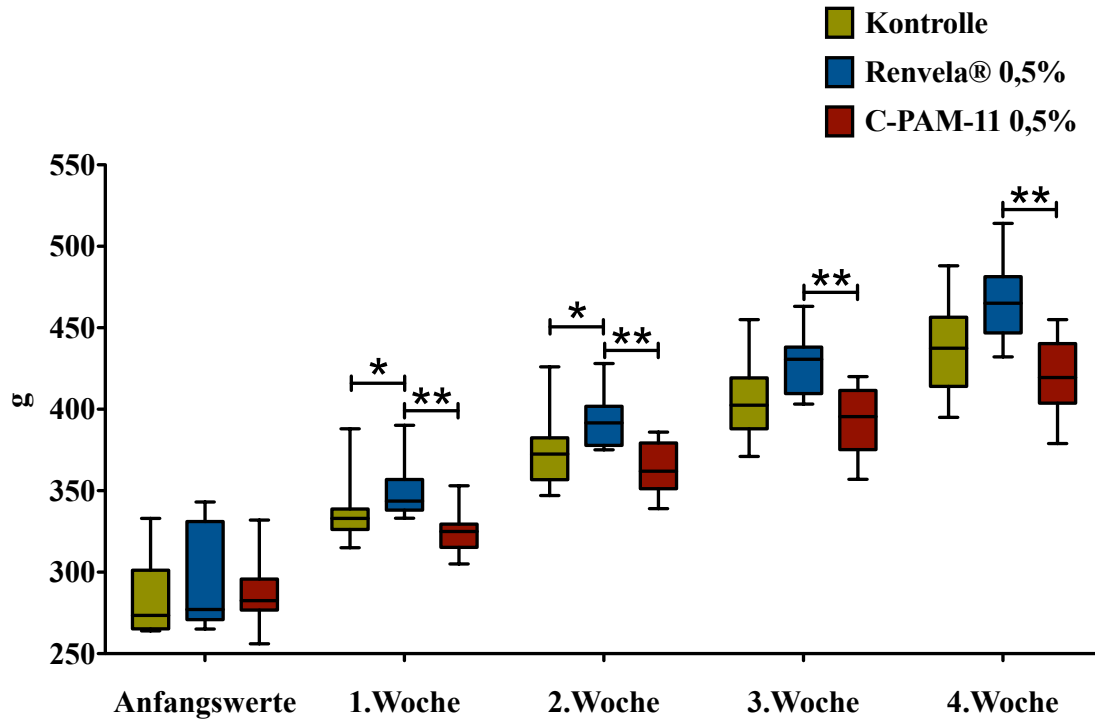


Abb. 2: Körpergewicht der Ratten in g der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8) ohne Behandlung und nach der 1., 2., 3. und 4. Behandlungswoche, * (p < 0,05), ** (p < 0,01)

Tab. 3: Körpergewicht der Ratten in g der einzelnen Tiere und als Durchschnitt ($\bar{X} \pm s$) der Kontrollgruppe (n=8), der Renvela®-Gruppe (n=8) und der C-PAM-11-Gruppe (n=8) während der 5 Wochen des Versuchs

Tier#	Körpergewicht (g)				
Kontrolle	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	333	388	426	455	488
2	302	335	362	397	435
3	299	331	347	371	395
4	273	335	378	399	438
5	266	330	375	421	461
6	265	315	355	385	407
7	274	340	384	414	443
8	264	325	370	406	437
$\bar{X} \pm s$	285 ± 24,65	337 ± 21,81	375 ± 24,11	406 ± 25,32	438 ± 28,97
Renvela®	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	336	360	404	438	473
2	316	345	375	403	432
3	343	390	428	463	514
4	265	333	375	406	444
5	269	337	393	438	484
6	277	347	390	430	460
7	276	341	386	420	455
8	277	342	395	431	470
$\bar{X} \pm s$	295 ± 31,65	349 ± 18,26	393 ± 17,14	429 ± 19,30	467 ± 25,32
C-PAM-11	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	297	330	358	388	415
2	332	353	384	416	445
3	292	315	339	357	379
4	279	328	386	420	455
5	256	305	349	371	400
6	276	316	364	395	426
7	280	324	365	398	419
8	285	326	360	396	420
$\bar{X} \pm s$	287 ± 21,87	325 ± 14,14	363 ± 15,95	393 ± 21,04	420 ± 23,88

4.1.3. Futtermaufnahme

Wie bereits erwähnt, wurden die Tiere einmal wöchentlich für 24 Stunden in Stoffwechselkäfigen gehalten. In diesem Zeitraum konnte die Futtermaufnahme jedes einzelnen Tieres aufgezeichnet werden. Die tägliche Futtermaufnahme während der fünf Aufenthalte lag zwischen 12,7 und 33,0 g und betrug durchschnittlich $22,8 \pm 3,71$ g in der Kontrollgruppe, $22,8 \pm 4,60$ g in der Renvela®-Gruppe und $25,7 \pm 4,00$ g in der C-PAM-11-Gruppe. Tab. 4 zeigt die aufgenommenen Futtermengen jedes einzelnen Tieres und der Gruppen im Durchschnitt.

Auswirkung der C-PAM-Behandlung auf die Futtermaufnahme

Die C-PAM-11-Tiere nahmen durchschnittlich bei allen Aufenthalten im Stoffwechselkäfig etwas mehr Futter auf als die Tiere der anderen beiden Gruppen. Allerdings war die Futtermaufnahme nur nach der ersten Behandlungswoche hoch signifikant höher als die der Kontrolltiere ($p < 0,01$) und nach der vierten Woche signifikant höher als die der Renvela®-Tiere ($p < 0,05$). Die Signifikanzen sind in Abb. 3 dargestellt

Vergleicht man die Futtermaufnahme der C-PAM-11-Tiere vor Behandlungsbeginn mit der Aufnahme nach den einzelnen Behandlungswochen, zeigt sich ein statistisch hoch signifikanter Unterschied zu den Werten nach der ersten Woche ($p < 0,01$). Allerdings liegt dieser hoch signifikante Unterschied ($p < 0,01$) auch bei den Kontrolltieren vor.

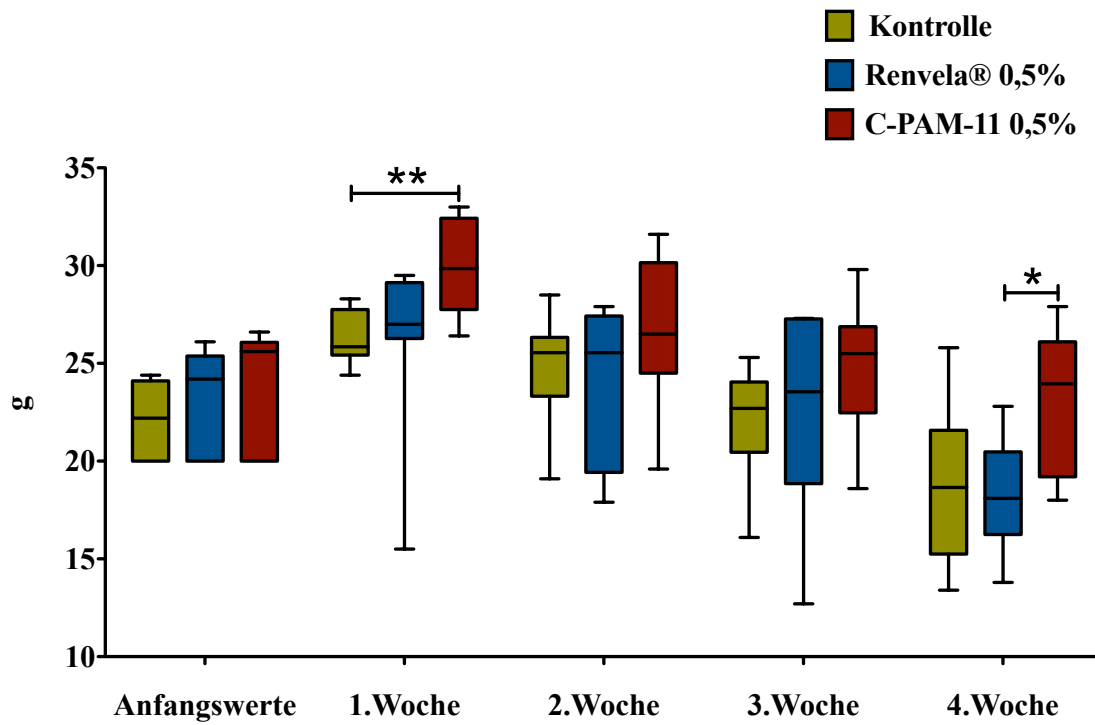


Abb. 3: Futtermittelaufnahme der Ratten in g der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8) ohne Behandlung und nach der 1., 2., 3. und 4. Behandlungswoche, * (p < 0,05), ** (p < 0,01)

Tab. 4: Futtermittelaufnahme der Ratten in g der einzelnen Tiere und als Durchschnitt ($\bar{X} \pm s$) der Kontrollgruppe (n=8), der Renvela®-Gruppe (n=8) und der C-PAM-11-Gruppe (n=8) während der 5 Wochen des Versuchs

Tier#	Futtermittelaufnahme (g)				
Kontrolle	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	20	25	23	23	15
2	20	28	27	24	13
3	20	24	26	21	19
4	24	26	19	24	26
5	22	28	23	20	21
6	23	26	25	16	16
7	24	26	29	23	19
8	24	27	26	25	22
$\bar{X} \pm s$	22,1 ± 1,97	26,3 ± 1,37	24,7 ± 2,82	22,0 ± 2,88	18,8 ± 4,02
Renvela®	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	20	16	18	20	17
2	20	29	27	27	23
3	20	27	22	27	14
4	26	26	25	13	16
5	25	30	28	26	20
6	26	27	19	19	19
7	25	29	28	27	21
8	24	27	26	21	18
$\bar{X} \pm s$	23,1 ± 2,68	26,2 ± 4,51	24,0 ± 4,03	22,5 ± 5,35	18,4 ± 2,85
C-PAM-11	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	20	29	20	19	23
2	20	26	26	25	18
3	20	28	25	25	25
4	26	33	32	30	28
5	27	32	28	27	26
6	26	33	27	27	19
7	26	31	24	22	21
8	26	29	31	26	26
$\bar{X} \pm s$	23,7 ± 3,11	29,9 ± 2,43	26,5 ± 3,84	25,0 ± 3,45	23,2 ± 3,65

4.1.4. Urinmenge

Während des 24-stündigen Aufenthalts im Stoffwechsellkäfig wurde der in dieser Zeit abgesetzte Urin von jedem Tier einzeln aufgefangen. Die erhaltenen Harnmengen sind in Tab. 5 dargestellt. Von Tier # 5 der C-PAM-11-Gruppe konnte nach dem zweiten Aufenthalt im Stoffwechsellkäfig keine genaue Urinmenge bestimmt werden, da das Sammelgefäß undicht war.

Die Menge des 24-Stunden-Sammelurins lag in einem Bereich von 12 – 45 ml, wobei von den Ratten der Kontrollgruppe durchschnittlich $22,3 \pm 4,29$ ml, von den Tieren der Renvela®-Gruppe durchschnittlich $22,6 \pm 7,25$ ml und von den Ratten der C-PAM-11-Gruppe $21,3 \pm 6,09$ ml Urin während eines Tages ausgeschieden wurden. Wie Abb. 4 zeigt, lagen zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede vor; auch innerhalb der Renvela®- und der C-PAM-11-Gruppe ließ sich keine bedeutende Auswirkung der Behandlung auf die Menge ausgeschiedenen Urins feststellen.

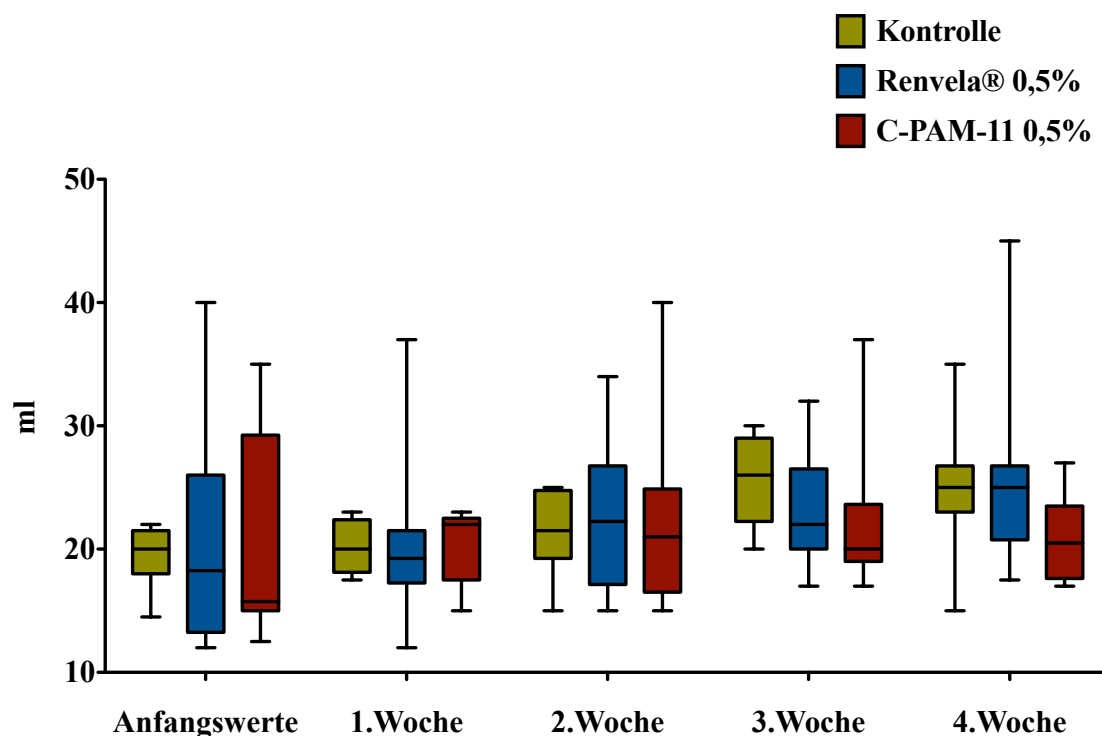


Abb. 4: Urinmenge der Ratten in ml der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8) ohne Behandlung und nach der 1., 2., 3. und 4. Behandlungswoche

Tab. 5: Urinmenge der Ratten in ml der einzelnen Tiere und als Durchschnitt ($\bar{X} \pm s$) der Kontrollgruppe (n=8), der Renvela®-Gruppe (n=8) und der C-PAM-11-Gruppe (n=8) während der 5 Wochen des Versuchs

Tier#	Urinmenge (ml)				
Kontrolle	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	20,0	22,5	20,0	30,0	23,0
2	22,0	17,5	19,0	22,0	25,0
3	22,0	18,5	15,0	23,0	15,0
4	14,5	18,5	24,0	20,0	23,0
5	19,5	21,5	25,0	27,0	26,0
6	17,5	18,0	21,0	25,0	27,0
7	20,0	23,0	22,0	29,0	25,0
8	20,0	22,0	25,0	29,0	35,0
$\bar{X} \pm s$	19,4 ± 2,46	20,2 ± 2,27	21,4 ± 3,42	25,6 ± 3,70	24,9 ± 5,52
Renvela®	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	28,0	17,0	17,5	21,0	24,0
2	19,0	12,0	15,0	17,0	17,5
3	40,0	37,0	34,0	32,0	45,0
4	20,0	22,0	26,0	27,0	27,0
5	12,0	20,0	22,0	23,0	23,0
6	17,5	19,5	27,0	25,0	26,0
7	17,0	19,0	22,5	20,0	26,0
8	12,0	18,0	17,0	20,0	20,0
$\bar{X} \pm s$	20,7 ± 9,29	20,6 ± 7,26	22,6 ± 6,28	23,1 ± 4,76	26,1 ± 8,31
C-PAM-11	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	35,0	22,5	40,0	37,0	27,0
2	21,0	15,0	16,0	19,0	17,0
3	32,0	22,5	25,0	20,0	17,5
4	15,5	22,0	24,5	24,0	22,0
5	12,5	-	15,0	19,0	21,0
6	15,0	17,5	18,0	17,0	20,0
7	16,0	22,0	22,0	22,5	24,0
8	15,0	23,0	20,0	20,0	18,0
$\bar{X} \pm s$	21,4 ± 8,60	20,6 ± 3,11	23,6 ± 7,92	22,8 ± 6,67	20,8 ± 3,74

4.1.5. Kotmenge

Der 24-stündige Aufenthalt im Stoffwechsellkäfig machte es zudem möglich, die von den Tieren abgesetzten Kotmengen zu bestimmen. Diese sind in Tab. 6 zusammengetragen. Bei drei verschiedenen Tieren konnte jeweils einmal die Kotmenge nicht bestimmt werden, da der Kot versehentlich vor dem Abwiegen verworfen wurde.

Das Gewicht des 24-Stunden-Sammelkots lag in einem Bereich zwischen 7,6 - 34,7 g, wobei durchschnittlich von den Tieren der Kontrollgruppe $14,2 \pm 2,70$ g, von den Tieren der Renvela®-Gruppe $15,8 \pm 3,26$ g und von den Tieren der C-PAM-11-Gruppe $24,4 \pm 6,87$ g Kot während eines Tages abgesetzt wurden.

Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die Kotmenge

Wie in Abb. 5 sehr gut zu erkennen ist, nahm die Menge des von den C-PAM-11-Tieren ausgeschiedenen Kots nach Beginn der Verabreichung des Wirkstoffes deutlich zu. Die Tiere haben zu jedem Zeitpunkt der Behandlung hoch signifikant ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,001$) mehr Kot ausgeschieden als die der beiden anderen Gruppen.

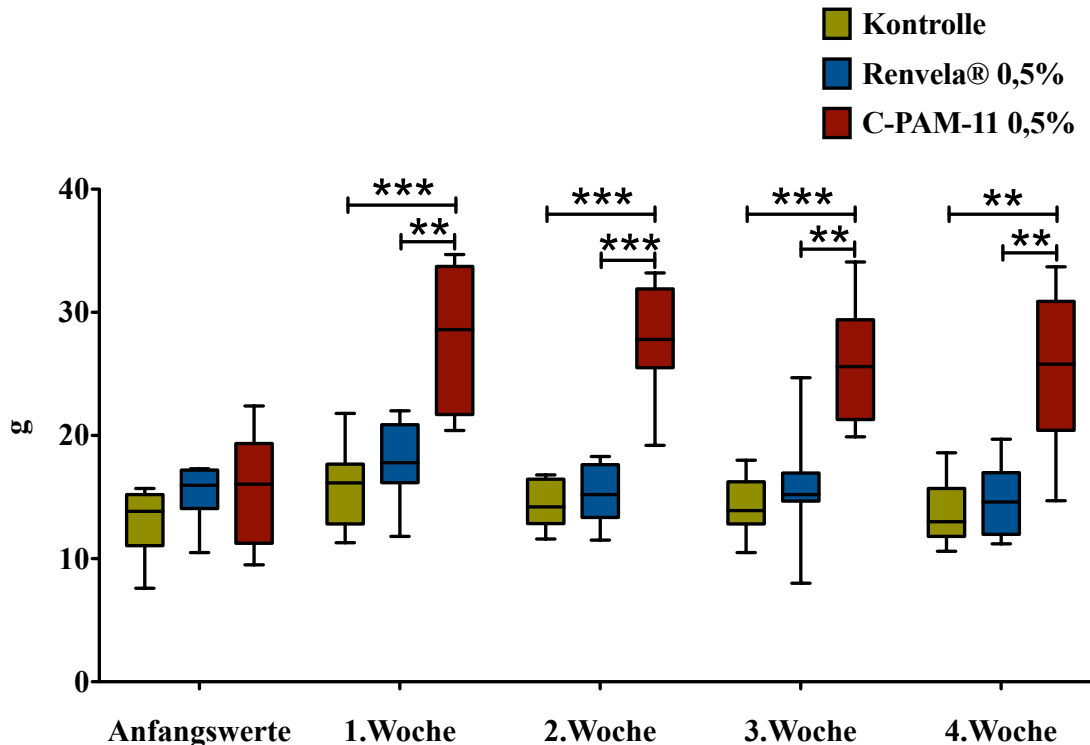


Abb. 5: Kotmenge der Ratten in g der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8) ohne Behandlung und nach der 1., 2., 3. und 4. Behandlungswoche, ** ($p < 0,01$), *** ($p < 0,001$)

Tab. 6: Kotmenge der Ratten in g der einzelnen Tiere und als Durchschnitt ($\bar{X} \pm s$) der Kontrollgruppe (n=8), der Renvelagruppe® (n=8) und der C-PAM-11-Gruppe (n=8) während der 5 Wochen des Versuchs

Tier#	Kotmenge (g)				
Kontrolle	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	13,6	12,4	11,6	18,0	11,8
2	15,7	17,0	14,9	13,2	18,6
3	12,7	11,3	13,5	14,5	15,7
4	14,6	16,2	16,8	16,8	-
5	7,6	17,9	12,7	14,6	13,0
6	10,5	21,8	16,6	10,5	10,6
7	14,1	16,1	13,3	13,3	13,1
8	15,4	14,1	16,0	12,7	11,9
X ± s	13,0 ± 2,74	15,9 ± 3,31	14,4 ± 1,93	14,2 ± 2,37	13,5 ± 2,74
Renvela®	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	13,5	11,8	11,5	15,2	16,2
2	15,8	16,7	15,3	16,5	13,0
3	16,9	18,2	13,1	15,2	11,2
4	15,9	21,0	17,7	8,0	17,2
5	10,5	16,0	14,1	24,7	19,7
6	16,0	22,0	17,4	17,1	11,9
7	17,3	20,5	15,1	14,5	12,2
8	17,3	17,4	18,3	15,2	16,3
X ± s	15,4 ± 2,33	18,0 ± 3,29	15,3 ± 2,39	15,8 ± 4,55	14,7 ± 3,05
C-PAM-11	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	20,0	26,0	25,5	23,5	19,3
2	10,2	20,4	19,2	21,3	14,7
3	9,5	22,0	26,4	19,9	23,8
4	15,3	34,7	33,2	34,1	33,7
5	22,4	21,6	28,3	25,6	31,0
6	14,4	32,9	31,9	-	26,4
7	16,8	34,0	27,8	29,0	25,2
8	17,4	31,2	-	29,4	30,6
X ± s	15,8 ± 4,44	27,9 ± 6,02	27,5 ± 4,59	26,1 ± 5,03	26,0 ± 6,35

4.2. Relative Urinphosphatkonzentration

Die relative (rel.) Urinphosphatkonzentration wurde einmal wöchentlich anhand des im Stoffwechsellkäfig gewonnenen 24-Stunden-Sammelurins bestimmt.

Eine Zusammenfassung der Auswirkungen der Wirkstoffe auf die Konzentrationen stellt Abb. 6 dar, die Werte jedes einzelnen Tieres sowie die Wochendurchschnitte zeigt Tab. 7.

4.2.1. Auswirkung der Renvela®-Behandlung auf die rel. Urinphosphatkonzentration

Renvela® konnte die Urinphosphatkonzentration deutlich senken. Die Ausgangswerte lagen durchschnittlich bei $22,43 \pm 23,94$ mg/dl, nach vierwöchiger Behandlung bei $1,95 \pm 2,32$ mg/dl. Somit ist durch die Behandlung mit Renvela® eine statistisch hoch signifikante ($p < 0,01$) Senkung der relativen renalen Phosphatexkretion möglich, die schon ab der zweiten Behandlungswoche eintritt. Im Wochenvergleich zu den Kontrolltieren ist nach der zweiten Behandlungswoche eine statistisch signifikante Senkung erfolgt.

4.2.2. Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die rel. Urinphosphatkonzentration

Durch die vierwöchige Behandlung mit C-PAM-11 wurde die rel. Urinphosphatkonzentration von $27,82 \pm 49,89$ mg/dl auf $0,43 \pm 0,32$ mg/dl gesenkt. Diese Senkung von 98,6 Prozent ist statistisch nicht signifikant. Vergleicht man jedoch den rel. Urinphosphatgehalt der C-PAM-11-Tiere der einzelnen Wochen mit denen der Renvela®-Tiere und der Kontrolltiere, ergibt sich eine zum Teil statistisch hohe Signifikanz. Die Signifikanzen sind in Abb. 6 dargestellt.

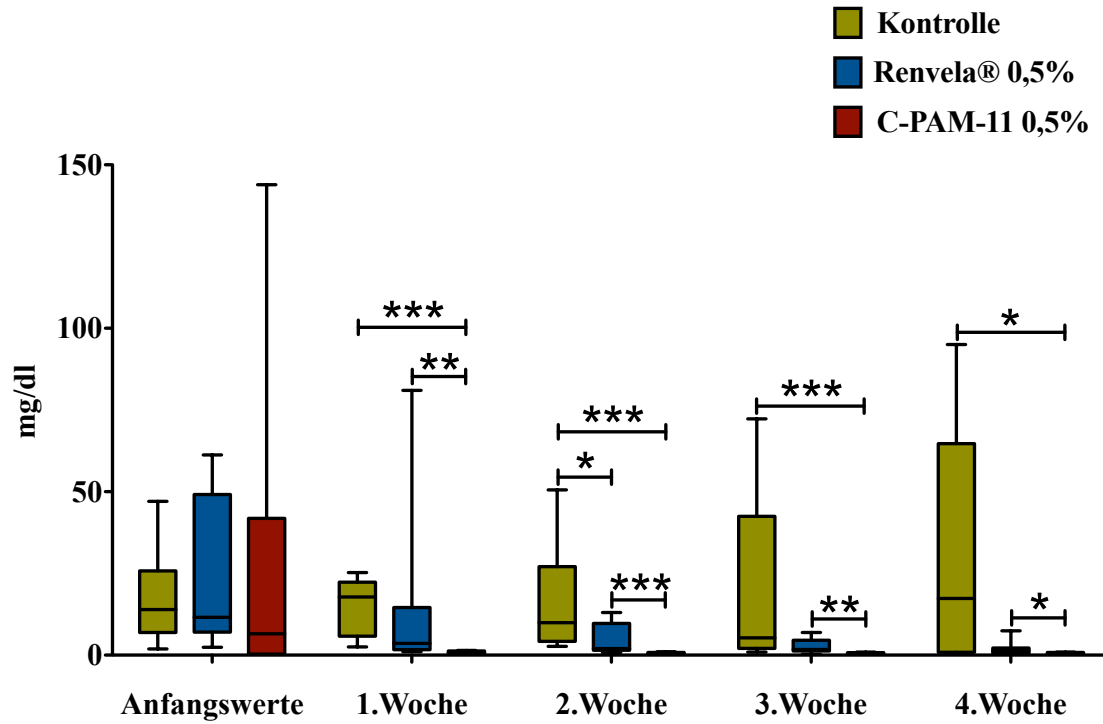


Abb.6: Rel. Urinphosphatkonzentration in mg/dl der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8) ohne Behandlung und nach der 1., 2., 3. und 4. Behandlungswoche, * (p < 0,05), ** (p < 0,01), *** (p < 0,001)

Tab. 7: Rel. Urinphosphatkonzentrationen in mg/dl der einzelnen Tiere während der 5 Wochen des Versuchs und als Durchschnitt ($\bar{X} + s$) pro Woche der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8)

Tier#	relative Urinphosphatkonzentration (mg/dl)				
Kontrolle	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	13,54	16,35	10,55	35,93	61,43
2	14,25	13,50	9,24	5,93	65,71
3	24,22	19,19	14,18	4,53	94,98
4	46,99	25,23	31,31	72,20	25,55
5	26,21	22,29	50,50	44,59	9,00
6	12,57	22,08	3,28	3,03	1,45
7	5,00	2,47	6,84	1,64	0,61
8	1,83	3,14	2,61	0,88	0,11
$\bar{X} \pm s$	18,08 ± 14,35	15,53 ± 8,66	16,06 ± 16,60	21,09 ± 26,73	32,35 ± 36,79
Renvela®	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	61,27	81,02	11,93	1,32	7,43
2	59,85	4,26	2,98	1,24	1,55
3	17,10	17,77	13,02	6,93	0,17
4	13,24	5,05	1,96	1,79	1,61
5	9,95	2,22	2,07	5,32	2,37
6	6,26	1,03	1,40	1,69	1,04
7	9,37	2,87	1,83	2,32	1,07
8	2,38	1,50	0,81	0,27	0,40
$\bar{X} \pm s$	22,43 ± 23,94	14,47 ± 27,43	4,50 ± 4,97	2,61 ± 2,29	1,95 ± 2,32
C-PAM-11	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	143,92	1,24	0,36	0,66	0,14
2	51,30	0,80	0,35	0,45	0,36
3	13,54	0,66	0,44	0,24	0,26
4	0,14	1,25	0,89	0,92	0,92
5	0,36	1,42	1,07	0,77	0,92
6	0,26	0,38	0,48	0,43	0,47
7	6,43	0,20	0,27	0,29	0,18
8	6,59	0,26	0,51	0,28	0,19
$\bar{X} \pm s$	27,82 ± 49,89	0,78 ± 0,48	0,55 ± 0,28	0,50 ± 0,25	0,43 ± 0,32

4.3. Absolute renale Phosphatexkretion

Die rechnerisch ermittelte absolute (abs.) renale Phosphatexkretion berücksichtigt im Gegensatz zur relativen auch die unterschiedlichen Mengen ausgeschiedenen Urins. Eine Zusammenfassung der absoluten Phosphatexkretion sowie der Signifikanzen stellt Abb. 7 dar, die Werte jedes einzelnen Tieres sowie die Wochendurchschnitte zeigt Tab. 8.

4.3.1. Auswirkung der Renvela® Behandlung auf die abs. Urinphosphatkonzentration

Auch die abs. Phosphatexkretion nimmt durch die Behandlung mit Renvela statistisch hoch signifikant ab ($p < 0,01$). Hier zeigt sich der Effekt schon nach der ersten Woche. Insgesamt hat sich die abs. Urinphosphatkonzentration von anfänglich $5,27 \pm 6,10$ mg auf $0,47 \pm 0,56$ mg nach vier Behandlungswochen senken lassen. Zu der Exkretion der Kontrolltiere besteht ebenfalls nur nach der zweiten Behandlungswoche ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$).

4.3.2. Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die abs. Urinphosphatkonzentration

Berücksichtigt man die ausgeschiedene Urinmenge, indem man die abs. Phosphatexkretion ermittelt, besteht auch bei den C-PAM-11-Tieren ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Ausgangswerten und den Werten aller vier Behandlungswochen. Dieser ist nach der ersten Woche zunächst nur statistisch signifikant ($p < 0,05$), ab der zweiten Woche bis zum Ende des Versuchs jedoch statistisch hoch signifikant ($p < 0,01$). Die abs. Urinphosphatkonzentration wurde von anfänglich $10,56 \pm 16,64$ mg auf $0,01 \pm 0,08$ mg nach vier Behandlungswochen gesenkt. Wie Abb. 7 zeigt, ist auch die abs. Phosphatexkretion der C-PAM-11-Tiere zum Teil hoch signifikant niedriger als die der Kontroll- sowie der Renvela®-tiere.

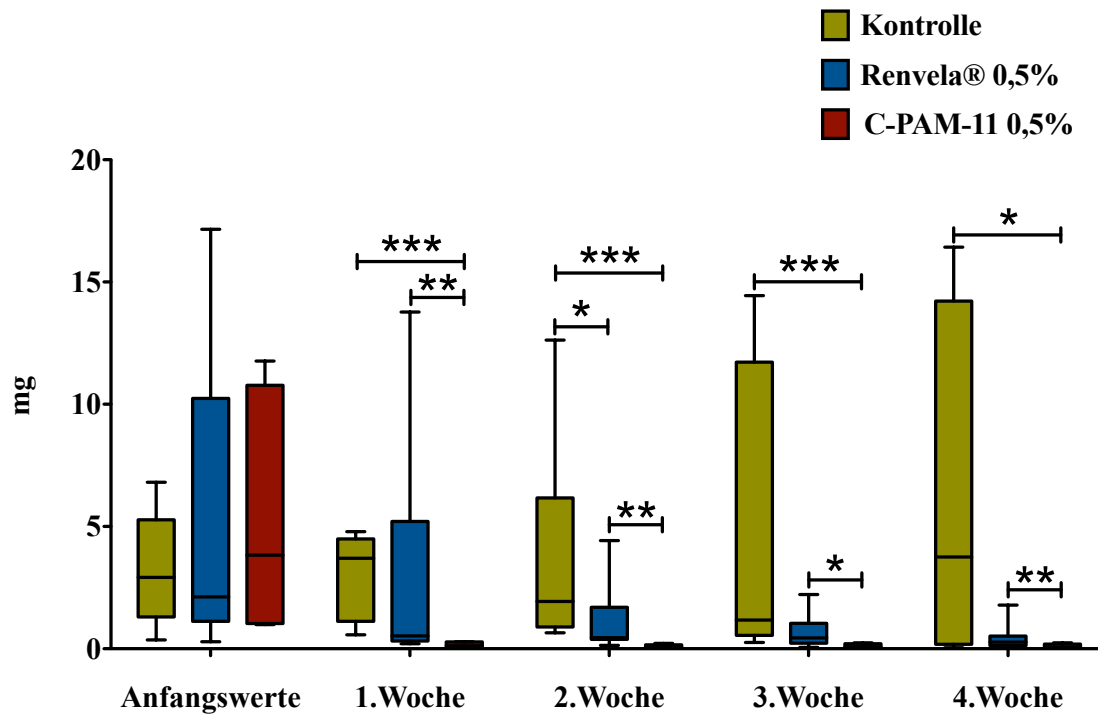


Abb. 7: Abs. renale Phosphatexkretion in mg der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8) ohne Behandlung und nach der 1., 2., 3. und 4. Behandlungswoche * (p < 0,05), ** (p < 0,01), *** (p < 0,001)

Tab. 8: Abs. Urinphosphatkonzentration in mg der einzelnen Tiere und als Durchschnitt ($X + s$) pro Woche der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8) während der 5 Wochen des Versuchs

Tier#	absolute Urinphosphatkonzentration (mg)				
Kontrolle	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	2,71	3,76	2,11	10,78	14,13
2	3,14	2,43	1,76	1,30	16,43
3	5,33	3,65	2,13	1,04	14,25
4	6,81	4,67	7,51	14,44	5,62
5	5,11	4,79	12,62	12,04	1,89
6	2,20	3,97	0,69	0,76	0,29
7	1,00	0,57	1,51	0,48	0,15
8	0,37	0,69	0,65	0,26	0,04
$X \pm s$	$3,33 \pm 2,24$	$3,07 \pm 1,67$	$3,62 \pm 4,24$	$5,14 \pm 6,12$	$6,60 \pm 7,17$
Renvela®	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	17,16	13,77	2,09	0,28	1,78
2	11,37	0,51	0,45	0,21	0,27
3	6,84	6,57	4,43	2,22	0,08
4	2,65	1,11	0,51	0,48	0,43
5	1,19	0,45	0,46	1,22	0,54
6	1,10	0,20	0,38	0,42	0,27
7	1,59	0,55	0,41	0,47	0,28
8	0,29	0,27	0,14	0,05	0,08
$X \pm s$	$5,27 \pm 6,10$	$2,93 \pm 4,88$	$1,11 \pm 1,47$	$0,67 \pm 0,72$	$0,47 \pm 0,56$
C-PAM-11	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	50,37	0,28	0,15	0,24	0,04
2	10,77	0,12	0,06	0,09	0,06
3	4,33	0,15	0,11	0,05	0,05
4	3,83	0,28	0,22	0,22	0,21
5	11,77	-	0,16	0,15	0,24
6	1,39	0,07	0,09	0,07	0,13
7	1,03	0,04	0,06	0,07	0,04
8	0,99	0,06	0,10	0,06	0,04
$X \pm s$	$10,56 \pm 16,64$	$0,14 \pm 0,10$	$0,12 \pm 0,06$	$0,12 \pm 0,08$	$0,10 \pm 0,08$

4.4. Phosphor/Kreatinin-Quotient

Der Phosphor/Kreatinin-Quotient wurde als Indikator für die Phosphatabsorption im Darm ermittelt. Da die Urinparameter bei den ersten drei Tieren jeder Gruppe vor Beginn der Behandlung mit Phosphatadsorbentien nicht von Synlab bestimmt wurden, konnten die Ausgangswerte für den Phosphor/Kreatinin-Quotienten für diese Tiere nicht ermittelt werden. Alle anderen Werte sind in Tab. 9 zusammengetragen und in Abb. 8 grafisch dargestellt.

4.4.1. Auswirkungen der Renvela®-Behandlung auf den Phosphor/Kreatinin-Quotient

Die Verabreichung von Renvela® hat ab der zweiten Behandlungswoche eine stetige Senkung des Phosphor/Kreatinin-Quotienten zur Folge. Dieser wird von anfangs durchschnittlich $0,045 \pm 0,029$ mg/mg auf $0,009 \pm 0,010$ mg/mg nach vier Behandlungswochen gesenkt. Diese Senkung zeigt allerdings nur eine Tendenz zur statistischen Signifikanz ($p = 0,0625$). Im Vergleich zur Kontrollgruppe ist auch hier nur nach der zweiten Behandlungswoche eine statistisch signifikante Senkung zu erkennen ($p < 0,05$).

4.4.2. Auswirkungen der C-PAM-11-Behandlung auf den Phosphor/Kreatinin-Quotienten

Der Phosphor/Kreatinin-Quotient wird durch die Behandlung mit C-PAM-11 von anfänglich durchschnittlich $0,139 \pm 0,184$ mg/mg auf $0,002 \pm 0,001$ mg/mg nach vier Behandlungswochen gesenkt. Dennoch zeigt sich nur eine Tendenz zur statistischen Signifikanz ($p = 0,0625$). Im Wochenvergleich zu den Kontroll- und den Renvela®-Tieren ähneln die Signifikanzen denen der abs. Phosphatexkretion.

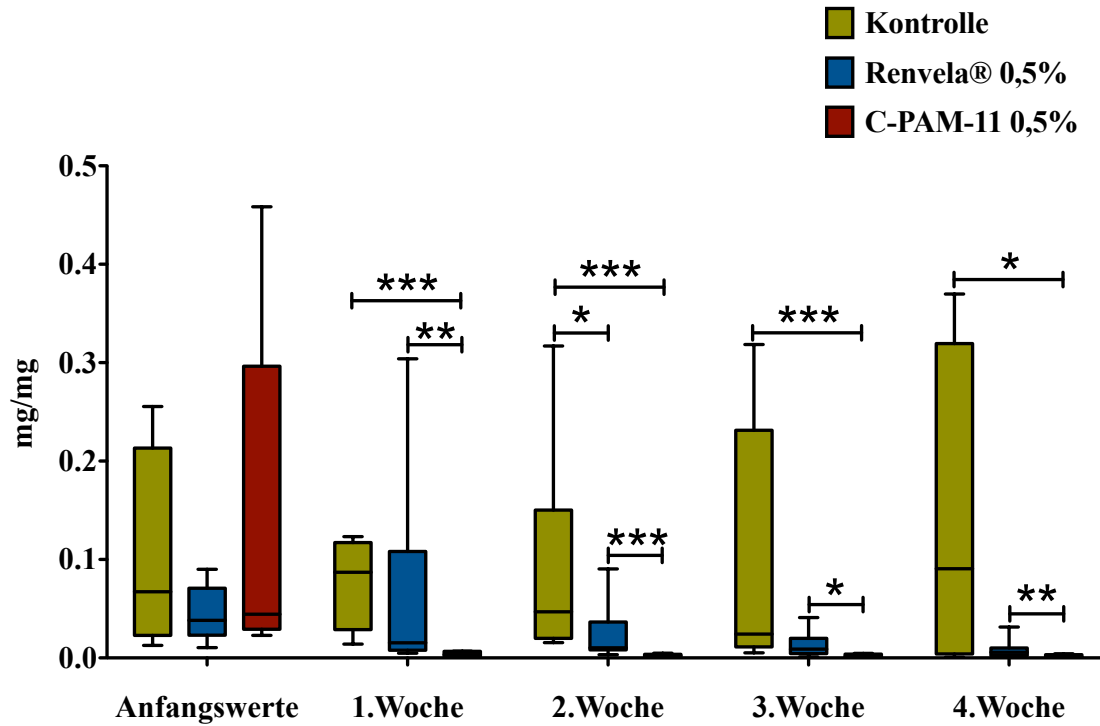


Abb. 8: Phosphor/Kreatinin-Quotient in mg/mg der Ratten in g der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8) ohne Behandlung und nach der 1., 2., 3. und 4. Behandlungswoche, * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$), *** ($p < 0,001$)

Tab. 9: Phosphor/Kreatinin-Quotient in mg/mg der einzelnen Tiere und als Durchschnitt (X+s) pro Woche der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8) während der 5 Wochen des Versuchs

Tier#	Phosphor/Kreatinin-Quotient (mg/mg)				
Kontrolle	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	-	0,085	0,054	0,209	0,299
2	-	0,062	0,042	0,027	0,37
3	-	0,089	0,052	0,021	0,326
4	0,256	0,121	0,182	0,318	0,137
5	0,171	0,123	0,317	0,239	0,044
6	0,067	0,106	0,016	0,017	0,007
7	0,033	0,014	0,032	0,009	0,003
8	0,013	0,018	0,016	0,005	0,001
X ± s	0,108 ± 0,103	0,077 ± 0,043	0,089 ± 0,107	0,106 ± 0,128	0,148 ± 0,159
Renvela®	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	-	0,304	0,045	0,005	0,031
2	-	0,016	0,011	0,004	0,006
3	-	0,135	0,09	0,041	0,001
4	0,09	0,028	0,012	0,011	0,009
5	0,038	0,011	0,01	0,023	0,01
6	0,036	0,005	0,008	0,008	0,005
7	0,052	0,015	0,009	0,01	0,005
8	0,011	0,007	0,003	0,001	0,002
X ± s	0,045 ± 0,103	0,065 ± 0,043	0,023 ± 0,107	0,013 ± 0,128	0,009 ± 0,159
C-PAM-11	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	-	0,007	0,003	0,005	0,001
2	-	0,003	0,001	0,002	0,001
3	-	0,004	0,002	0,001	0,001
4	0,134	0,007	0,005	0,004	0,004
5	0,458	0,007	0,004	0,003	0,004
6	0,044	0,002	0,002	0,002	0,002
7	0,036	0,001	0,001	0,001	0,001
8	0,023	0,002	0,002	0,001	0,001
X ± s	0,139 ± 0,184	0,004 ± 0,002	0,003 ± 0,001	0,002 ± 0,001	0,002 ± 0,001

4.5. Serumphosphatkonzentration

Der Serumphosphatgehalt wurde einmalig nach vierwöchiger Behandlung mit den Phosphatadsorbieren bestimmt. Die Werte zeigt Tab. 10. Der durchschnittliche Serumphosphatgehalt der Kontrolltiere lag bei $2,54 \pm 0,40$ mmol/l, der Renvela®-Tiere bei $2,39 \pm 0,41$ mmol/l und der C-PAM-11-Tiere bei $1,90 \pm 0,09$ mmol/l. Der Referenzbereich des Züchters Charles River ist für männliche Ratten im Alter von acht bis zwölf Wochen 7,3 - 10,00 mg/dl Phosphat, dies entspricht 2,36 - 3,23 mmol/l (Giknis et al. 2006).

4.5.1. Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die Serumphosphatkonzentration

Die Serumphosphatwerte der C-PAM-11-Tiere sind nicht nur statistisch hoch signifikant niedriger als die der Kontroll- und der Renvela®-Tiere, sie liegen außerdem unter dem vom Züchter angegebenen Referenzbereich. Der drastische Unterschied zwischen den Werten der C-PAM-11-Gruppe und der anderen beiden Gruppen wird in Abb. 9 deutlich.

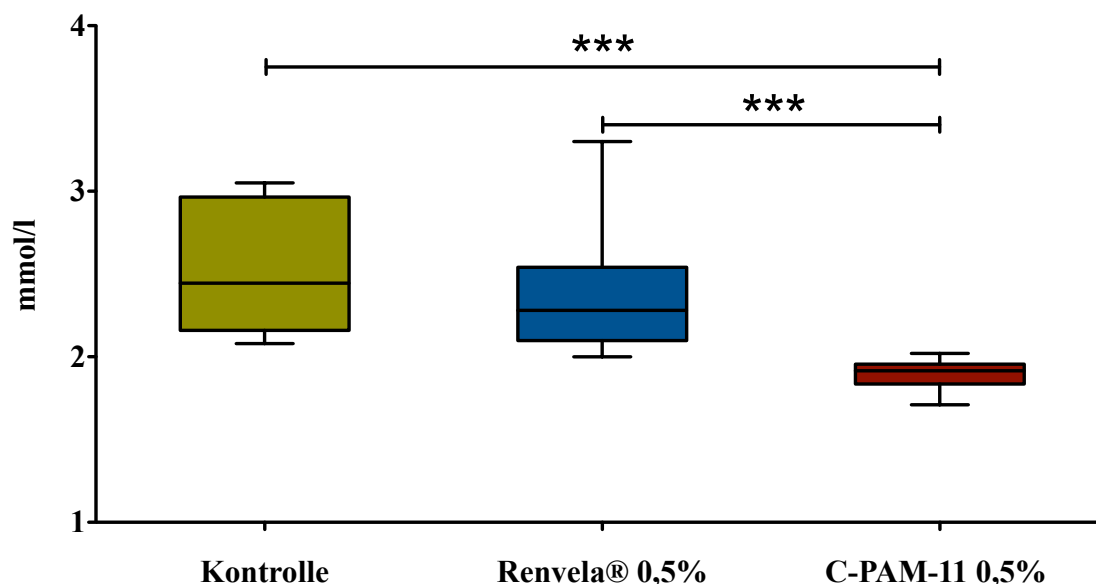


Abb. 9: Serumphosphatkonzentration in mmol/l der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11-Tiere (n=8) nach vierwöchiger Behandlung, *** ($p < 0,001$)

Tab. 10: Serumphosphatkonzentration in mmol/l der einzelnen Tiere und als Durchschnitt ($\bar{X} \pm s$) der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11-Tiere (n=8) nach vierwöchiger Behandlung

Tier#	Kontrolle	Renvela®	C-PAM-11
1	2,43	2,31	1,94
2	2,46	2,48	2,02
3	2,25	3,30	1,91
4	2,95	2,56	1,96
5	2,97	2,25	1,88
6	3,05	2,15	1,92
7	2,13	2,08	1,82
8	2,08	2,00	1,71
$\bar{X} \pm s$	2,54 \pm 0,40	2,39 \pm 0,41	1,90 \pm 0,09

4.6. Serumeisenkonzentration

Der Serumeisengehalt wurde bestimmt, um ausschließen zu können, dass die Eisenoxidnanopartikel in größeren Mengen in den Körper aufgenommen werden. Die Serumeisenkonzentration der Kontrolltiere liegt durchschnittlich bei $27,0 \pm 6,60 \mu\text{mol/l}$, der Renvela®-Tiere bei $27,0 \pm 3,22 \mu\text{mol/l}$ und der C-PAM-11-Tiere bei $30,3 \pm 11,38 \mu\text{mol/l}$. Im Einzelnen werden die Werte in Tab. 11 gezeigt und in Abb. 10 dargestellt.

4.6.1. Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die Serumeisenkonzentration

Der durchschnittliche Serumeisengehalt der mit Eisenoxid behandelten Tiere ist zwar etwas erhöht, dennoch liegt kein statisch signifikanter Unterschied zu den Kontrolltieren oder den mit Renvela® behandelten Tieren vor. Außerdem weisen die C-PAM-11 Tiere # 2 und # 6 die mitunter niedrigsten Serumeisenkonzentrationen aller 24 untersuchten Tiere auf.

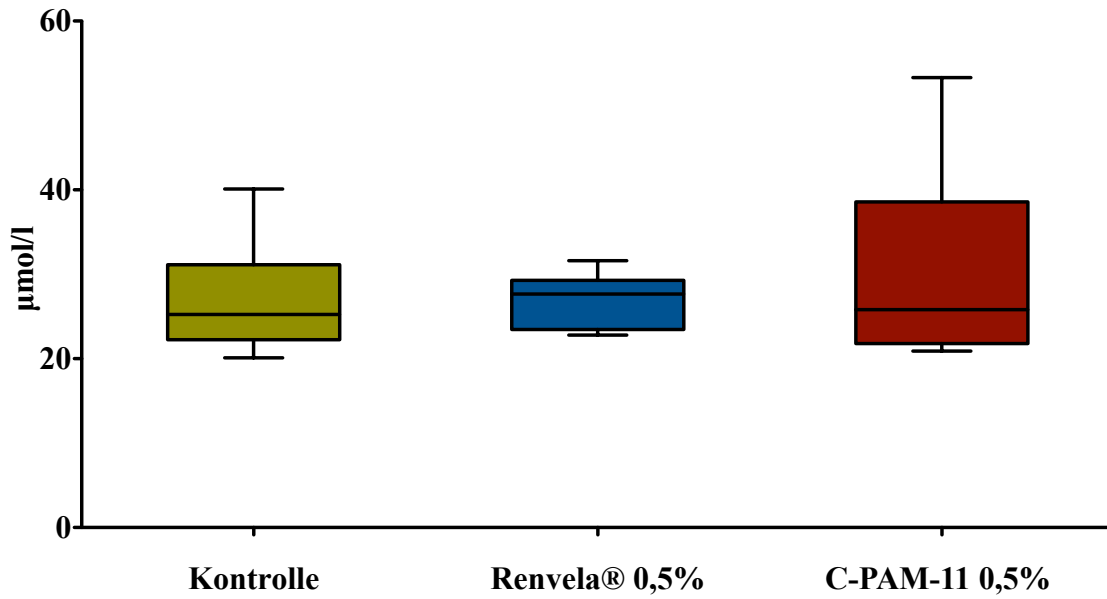


Abb. 10 : Serumeisenkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11-Tiere (n=8) nach vierwöchiger Behandlung

Tab. 11: Serumeisenwerte in $\mu\text{mol/l}$ der einzelnen Tiere und im Durchschnitt ($\bar{X} + s$) der Kontrollgruppe (n=8), der Renvela®-Gruppe (n=8) und der C-PAM-11-Gruppe (n=8) nach vierwöchiger Behandlung

Tier Nr.	Kontrolle	Renvela®	C-PAM-11
1	40,1	26,5	26,1
2	27,4	29,4	20,9
3	28,2	22,8	25,5
4	22,7	23,0	53,3
5	20,1	28,9	41,4
6	22,1	24,8	21,1
7	32,1	28,8	30,1
8	23,1	31,6	23,9
$\bar{X} \pm s$	$27,0 \pm 6,60$	$27,0 \pm 3,22$	$30,3 \pm 11,38$

4.7. Sonstige Blutparameter

Neben der Serumphosphat- und -eisenkonzentration wurden alle gängigen Parameter des großen und Differentialblutbildes sowie der Leber- und Nierenfunktion, Serumelektrolyte und Blutglukose von Synlab bestimmt. Als Referenzwerte dienten ebenfalls die Angaben des Züchters Charles River. Dieser bestimmte die Parameter von Tieren des gleichen Stamms, Alters und Geschlechts.

Da einige Parameter in allen drei Gruppen von den Referenzwerten abweichen ohne zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede zu zeigen, sind im Folgenden nur die Blutparameter aufgeführt, bei denen sich zumindest eine Tendenz zur statistischen Signifikanz zwischen den Gruppen erkennen lässt.

4.7.1. Leukozyten

Die Anzahl der Leukozyten wird vom Züchter Charles River mit durchschnittlich 10,09 bis 14,01 $10^3/\mu\text{l}$ angegeben. Alle drei Gruppen des Versuchs liegen unter diesem Referenzbereich. Die Kontrollgruppe mit durchschnittlich $9,44 \pm 2,41 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ nur geringfügig, die Renvela®-Gruppe mit $8,95 \pm 3,27 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ und die C-PAM-11-Gruppe mit $7,29 \pm 1,96 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ deutlich. Außerdem lässt sich eine Tendenz zur statistischen Signifikanz ($p = 0,0927$) zwischen der Kontroll- und der C-PAM-11-Gruppe erkennen.

4.7.2. Lymphozyten

Die Anzahl der Lymphozyten liegt mit durchschnittlich $7,93 \pm 2,07 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ bei den Kontrolltieren, $7,08 \pm 2,49 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ bei den Renvela®-Tieren und $5,77 \pm 1,92 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ bei den C-PAM-11-Tieren in allen drei Gruppen unter dem Referenzbereich von 8,50 bis 12,10 $10^3/\mu\text{l}$. Zwischen den drei Gruppen besteht kein statistisch signifikanter Unterschied, jedoch lässt sich zwischen der Kontroll- und der C-PAM-11-Gruppe eine Tendenz zur statistischen Signifikanz erkennen ($p = 0,0650$).

4.7.3. Serumkreatinin

Die Kreatininmenge im Serum ist mit $19,79 \pm 1,53 \mu\text{mol/l}$ bei den Kontrolltieren, $20,30 \pm 3,76 \mu\text{mol/l}$ bei den Renvela®-Tieren und $24,33 \pm 2,77 \mu\text{mol/l}$ bei den C-PAM-11-Tieren in allen drei Gruppen unter dem Referenzbereich von 44,20 bis 53,04 $\mu\text{mol/l}$. Die Kreatininwerte der C-PAM-11-Tiere liegen statistisch hoch signifikant höher als die der Kontrollgruppe ($p < 0,01$) und auch im Vergleich zur Renvela®-Gruppe lässt sich die Tendenz zu einer statistischen Signifikanz erkennen ($p = 0,0517$).

4.7.4. Serumharnstoff

Die Harnstoffmenge im Serum liegt mit $7,67 \pm 1,06$ mmol/l bei den Kontrolltieren, $8,46 \pm 0,66$ mmol/l bei den Renvela®-Tieren und $9,28 \pm 0,69$ mmol/l bei den C-PAM-11-Tieren in allen drei Gruppen über dem Referenzbereich von 4,63 bis 5,70 mmol/l. Die Harnstoffwerte der C-PAM-11-Tiere liegen statistisch hoch signifikant höher als die der Kontrollgruppe ($p < 0,01$) und auch im Vergleich zur Renvela®-Gruppe lässt sich die Tendenz zu einer statistischen Signifikanz erkennen ($p = 0,0829$).

4.7.5. Serumcalcium

Die Serumcalciumwerte liegen mit $2,37 \pm 0,02$ mmol/l bei den Kontrolltieren, $2,38 \pm 0,06$ mmol/l bei den Renvela®-Tieren und $2,57 \pm 0,04$ mmol/l bei den C-PAM-11-Tieren in allen drei Gruppen innerhalb des Referenzbereichs von 2,35 bis 2,74 mmol/l. Die Serumcalciumwerte der C-PAM-11-Tiere sind dabei allerdings statistisch hoch signifikant höher als die der Kontrollgruppe und der Renvela®-Gruppe ($p < 0,001$).

4.8. Urinparameter

Zu den Urinparametern sind keine Referenzwerte des Züchters vorhanden.

4.8.1. Urin-Kreatinin

Die Kreatininwerte im Urin liegen bei $0,66 \pm 0,13$ g/l in der Kontrollgruppe, $0,69 \pm 0,15$ g/l in der Renvela®-Gruppe und $0,77 \pm 0,09$ g/l in der C-PAM-11-Gruppe. Die Werte der C-PAM-11 Gruppe unterscheiden sich statistisch signifikant ($p < 0,05$) von den Werten der Kontrollgruppe.

4.8.2. 24-Stunden-Urin-Kreatinin

Um die Urinkonzentration zu berücksichtigen, wurde die 24-Stunden-Kreatininausscheidung rechnerisch ermittelt. Diese beträgt in der Kontrollgruppe $15,93 \pm 1,54$ mg, in der Renvela®-Gruppe bei $16,99 \pm 1,07$ mg und in der C-PAM-11-Gruppe $15,80 \pm 1,35$ mg. Somit unterscheidet sich die Kreatininausscheidung im Urin der Tiere über 24 Stunden betrachtet statistisch nicht signifikant zwischen den verschiedenen Gruppen.

4.8.3. Urin-Harnstoff

Die Harnstoffwerte im Urin liegen bei 47.061 ± 15.792 mg/l in der Kontrollgruppe, 46.183 ± 10.846 mg/l in der Renvela®-Gruppe und 55.369 ± 5.844 mg/l in der C-PAM-11-Gruppe. Die Werte der C-PAM-11-Gruppe weichen sowohl von der Kontroll- als auch von der Renvela®-Gruppe statistisch signifikant ab ($p < 0,05$).

4.8.4. 24-Stunden-Urin-Harnstoff

Auch hier wurden die 24-Stunden-Werte rechnerisch ermittelt, um die Urinkonzentration zu berücksichtigen. Der Harnstoffgehalt der Kontrollgruppe beträgt $1.106 \pm 108,00$ mg, der Renvela®-Gruppe $1.129 \pm 37,29$ mg und der C-PAM-Gruppe $1.139 \pm 121,4$ mg. Die Menge des über 24 Stunden im Urin ausgeschiedenen Harnstoffs unterscheidet sich nicht signifikant zwischen den einzelnen Gruppen.

4.8.5. Urin-Natriumexkretion

Die renale Natriumexkretion liegt bei $68,13 \pm 14,18$ mmol/l in der Kontrollgruppe, $70,38 \pm 15,48$ mmol/l in der Renvela®-Gruppe und $48,75 \pm 14,22$ mmol/l in der C-PAM-11-Gruppe. Die C-PAM-11-Tiere scheiden statistisch signifikant weniger Natrium über den Urin aus ($p < 0,05$) als die Tiere der anderen beiden Gruppen.

4.8.6. 24-Stunden-Urin-Natriumexkretion

Die 24 Stunden-Natriumexkretion beträgt bei den Kontrolltieren $1,64 \pm 0,19$ mmol, bei den Renvela®-Tieren $1,73 \pm 0,14$ mmol und bei den C-PAM-11-Tieren $1,00 \pm 0,28$ mmol. Somit ist die Natriumexkretion der C-PAM-11-Tiere auch über 24 Stunden betrachtet statistisch hoch signifikant niedriger als die der Kontrolltiere ($p < 0,01$) und die der Renvela®-Tiere ($p < 0,001$).

4.8.7. Urin-Gesamteiweiß

Die Menge des über die Nieren ausgeschiedenen Gesamteiweiß ist $1.060,0 \pm 365,9$ mg/l in der Kontrollgruppe, $711,4 \pm 202,5$ mg/l in der Renvela®-Gruppe und $949,0 \pm 282,8$ mg/l in der C-PAM-11-Gruppe. Die Werte der Renvela®-Gruppe sind statistisch signifikant niedriger ($p < 0,05$) als die der Kontroll- und der C-PAM-11-Gruppe.

4.8.8. 24-Stunden-Urin-Gesamteiweiß

Die rechnerisch ermittelte Menge des über 24 Stunden im Urin ausgeschiedenen Gesamteiweiß beträgt $25,20 \pm 5,89$ mg in der Kontrollgruppe, $18,01 \pm 5,15$ mg in der Renvela®-Gruppe und $19,31 \pm 4,54$ mg in der C-PAM-11-Gruppe. Somit ist die Gesamteiweißexkretion der Renvela®-Tiere auch über 24 Stunden signifikant niedriger ($p < 0,05$) als die der Kontrolltiere. Über 24 Stunden betrachtet liegt auch eine Tendenz zur statistischen Signifikanz zwischen den Kontroll- und den C-PAM-11-Tieren vor ($p = 0,0830$).

4.9. Histologische Auswertung

Die Auswertung der histologischen Schnitte offenbart pathologische Auffälligkeiten in allen drei Versuchsgruppen.

Insgesamt sechs Tiere aus allen drei Gruppen haben fokale lymphozytäre Infiltrate in der Niere. Ein Tier aus der C-PAM-11-Gruppe zeigt einen geringgradigen fokalen chronischen Infarkt der Niere.

Die Lungen von insgesamt vier Tieren, jeweils zwei aus der Renvela®- und zwei aus der C-PAM-11-Gruppe, weisen eine Hyperplasie der Typ-2-Pneumozyten auf. Diese vier Tiere durchliefen alle zur gleichen Zeit den Versuch.

Zwei Tiere, die ebenfalls gleichzeitig den Versuch durchliefen, jeweils eines aus der Renvela®- und eines aus der C-PAM-11-Gruppe, zeigen eine geringgradige, chronisch-lymphozytäre fokale bzw. multifokale Myokarditis.

Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die Histologie

Auf die Behandlung mit Eisenoxid zurückzuführen sind die Eisenablagerungen im Colon aller mit C-PAM-11 behandelter Tiere. Diese Ablagerungen befinden sich, wie die Längsschnitte in Abb. 11 zeigen, nicht nur entlang des Bürstensaums sondern auch in den tieferen Schichten des Colons. Allerdings lässt sich nicht eindeutig feststellen, ob sich das Eisen auch intra- oder ausschließlich extrazellulär befindet. Vergleicht man die Befunde der Längsschnitte in Abb. 11 mit den Befunden der Querschnitte in Abb. 12 wird deutlich, dass zur Beurteilung pathologischer Veränderungen im Darm Längsschnitte empfehlenswert sind, da Veränderungen nicht immer homogen über den gesamten Darm vorliegen, und so größere Flächen ausgewertet werden können. Ein weiterer auf die Behandlung zurückzuführender Befund sind die sehr geringen Eisenansammlungen in den Mesenteriallymphknoten, wie in Abb. 13 zu sehen. Diese sind bei allen C-PAM-11-Tieren vorhanden. In den typischen Organen der Eisenspeicherung, wie Leber und Milz, lässt sich jedoch anhand der Berliner-Blau-Färbung kein Eisen nachweisen.

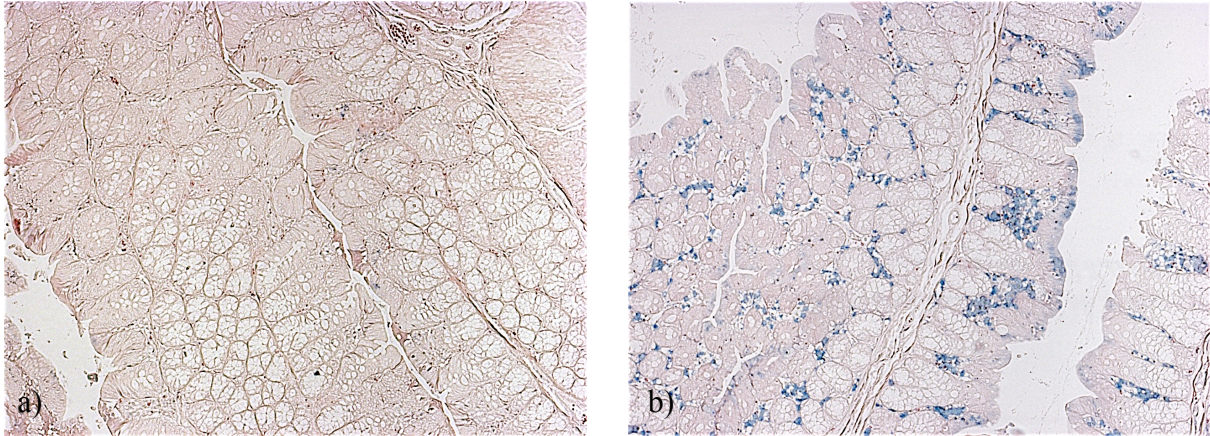


Abb. 11 a) und b): Längsschnitt des Colons, Berliner-Blau-Färbung: a) Kontrolle Tier # 5 b) C-PAM-11 Tier # 4

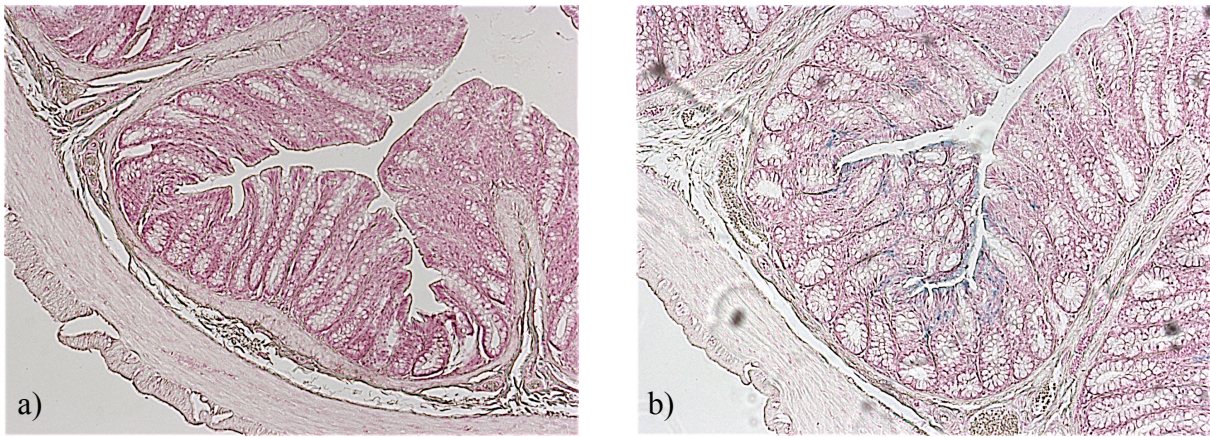


Abb. 12 a) und b): Querschnitt des Colons, Berliner-Blau-Färbung: a) Kontrolle Tier # 3 b) C-PAM-11 Tier # 2

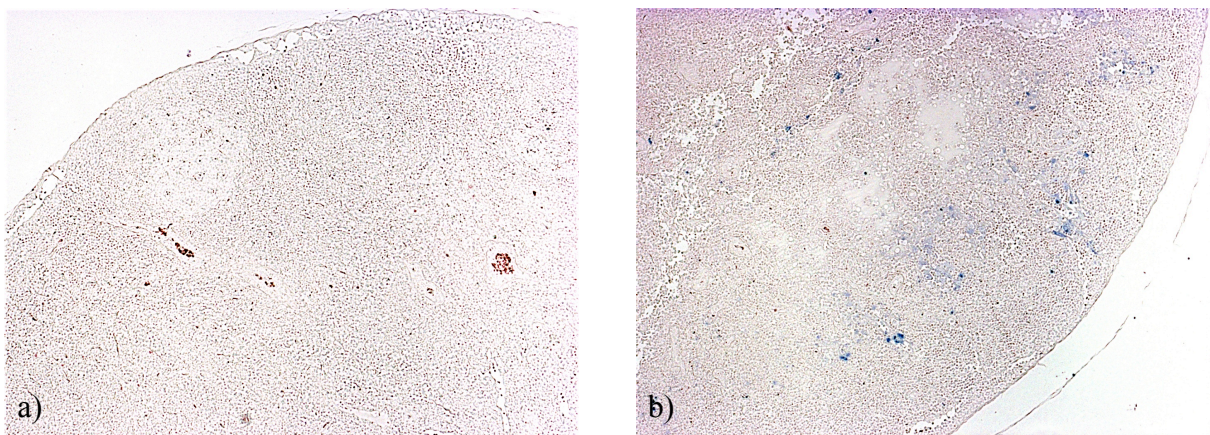


Abb. 13 a) und b): Mesenteriallymphknoten, Berliner-Blau-Färbung: a) Kontrolle Tier # 8 b) C-PAM-11 Tier # 5

4.10. Messung der Knochen im HRpQCT

Es wurden bevorzugt die bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefrorenen Femora vermessen. Nur falls diese zu stark beschädigt waren, wurden die in Formalin fixierten Knochen untersucht. Lediglich ein Femur eines jeden Tieres wurde im HRpQCT gemessen, allerdings nicht einheitlich der rechte oder linke. Die Femora des Tieres # 1 der Kontrollgruppe wurden bei der Extraktion so stark beschädigt, dass sie nicht untersucht werden konnten.

Auswirkung der C-PAM-11-Behandlung auf die Knochenstruktur

Bei der Auswertung der im HRpQCT gemessenen Parameter zeigt sich, dass es statistisch signifikante Unterschiede im Aufbau der Kortikalis der C-PAM-11-Tiere im Vergleich zu sowohl der Kontroll- als auch der Renvela®-Tiere gibt. Zum einen ist, wie in Abb. 14 zu sehen, die Dichte des kortikalen Knochens bei den C-PAM-11-Tieren mit $733,1 \pm 24,14\text{ mg HA/cm}^3$ signifikant geringer ($p < 0,05$) als bei den Kontrolltieren mit $761,9 \pm 28,68\text{ mg HA/cm}^3$ und den Renvela®-Tieren mit $774,6 \pm 29,35\text{ mg HA/cm}^3$. Zum anderen weicht die Dicke der Kortikalis, wie Abb. 15 darstellt, mit $0,35 \pm 0,04\text{ mm}$ sogar statistisch hoch signifikant ($p < 0,01$) von der Kontrollgruppe mit $0,43 \pm 0,05\text{ mm}$ und der Renvela®-Gruppe mit $0,43 \pm 0,03\text{ mm}$ ab. Die Werte zu der Dichte und der Dicke der Kortikalis sind in den Tab. 12 und 13 dargestellt.

Die trabekuläre Struktur wie Dicke, Dichte oder Anzahl der Trabekel weist keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf.

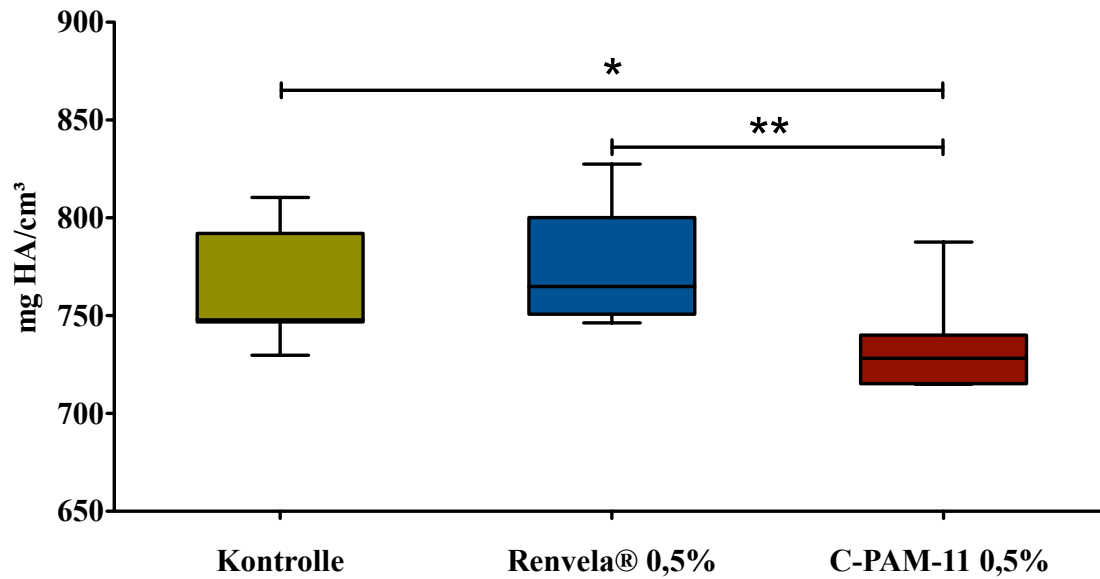


Abb. 14: ex vivo Kortikalisdichte in mg HA/cm³ der Kontrolltiere (n=7), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11-Tiere (n=8) nach vierwöchiger Behandlung, * (p < 0,05), ** (p < 0,01)

Tab. 12: ex vivo Kortikalisdichte in mg HA/cm³ der einzelnen Tiere und im Durchschnitt ($\bar{X} \pm s$) der Kontrollgruppe (n=7), der Renvela®-Gruppe (n=8) und der C-PAM-11-Gruppe (n=8)

Tier Nr.	Kontrolle	Renvela®	C-PAM-11
1	-	804,8	742,6
2	792,0	772,0	730,0
3	810,4	827,5	787,6
4	746,8	750,3	726,5
5	758,9	757,7	715,5
6	747,3	786,2	714,9
7	747,9	752,2	715,1
8	729,8	746,3	732,6
$\bar{X} \pm s$	761,9 ± 28,68	774,6 ± 29,35	733,1 ± 24,14

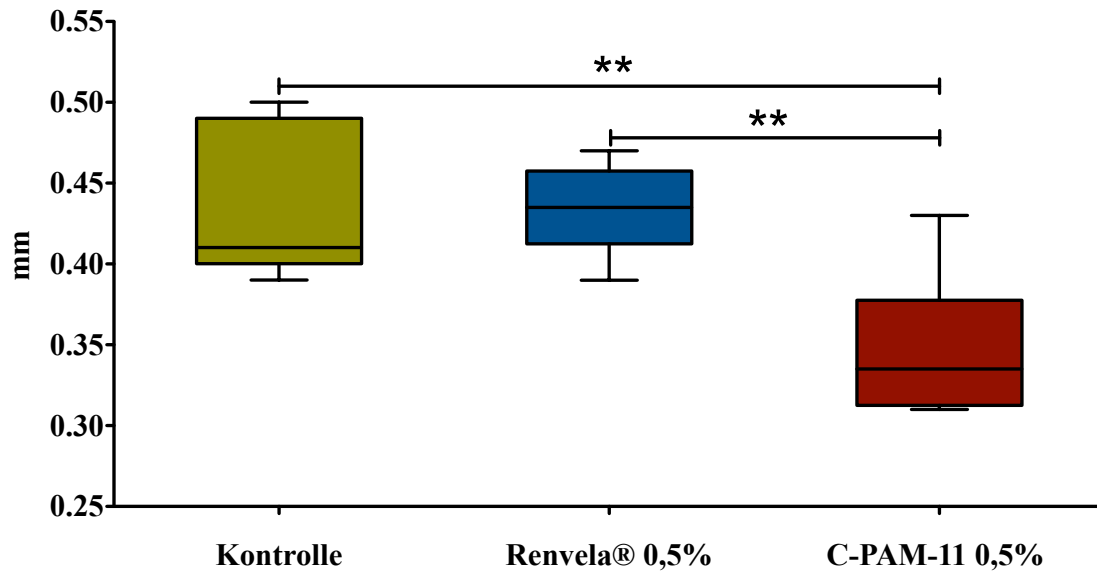


Abb. 15: ex vivo Kortikalisdicke in mm der Kontrolltiere (n=7), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11-Tiere (n=8) nach vierwöchiger Behandlung, ** (p < 0,01)

Tab. 13: ex vivo Kortikalisdicke in mm der einzelnen Tiere und im Durchschnitt (X + s) der Kontrollgruppe (n=7), der Renvela®-Gruppe (n=8) und der C-PAM-11-Gruppe (n=8)

Tier Nr.	Kontrolle	Renvela®	C-PAM-11
1	-	0,41	0,32
2	0,49	0,47	0,35
3	0,50	0,46	0,43
4	0,41	0,44	0,38
5	0,39	0,45	0,37
6	0,40	0,39	0,32
7	0,41	0,42	0,31
8	0,40	0,43	0,31
X ± s	0,43 ± 0,05	0,43 ± 0,03	0,35 ± 0,04

5. Diskussion

5.1. Versuchsaufbau

5.1.1. Fütterung

Die Fütterung der Tiere erfolgte in Form von Gelatine-Futter-Kugeln, da nicht davon ausgegangen werden konnte, dass die Tiere das pulverförmige Futter gut annehmen würden und mithilfe der Gelatine eine den üblichen Futterpellets ähnlichere Darreichungsform hergestellt werden konnte. Allerdings stellte sich heraus, dass die Kugeln für die Fütterung im Stoffwechselkäfig ungeeignet sind, da die Tiere sie vom Futtertunnel in den Käfig trugen und dadurch eine Verunreinigung des Käfigs und vor allem der Fäzes durch Futterreste entstand. Daher wurden die ersten neun Tiere, jeweils drei aus jeder Gruppe, erst ab dem zweiten Aufenthalt, alle anderen Tiere von Beginn an im Stoffwechselkäfig mit Pulverfutter gefüttert. Entgegen der anfänglichen Bedenken wurde das Pulverfutter gut akzeptiert. Daher sollte in weiterführenden Versuchen die Fütterung ausschließlich mit Pulverfutter erfolgen.

Zur besseren Durchmischung wurde darauf geachtet, Futter in kleinen Rationen herzustellen. Fraglich ist, ob eine homogene Verteilung der Wirkstoffe im Futter per Hand möglich ist, oder mit der Zeit eine Entmischung stattfindet.

Da die Fütterung ad libitum erfolgte, ist keine genaue Dosierung der Wirkstoffe möglich. Eine verringerte oder vermehrte Futteraufnahme führt zu unterschiedlich hohen Dosen. Zur exakten Dosierung müssten die Tiere einzeln mit einer definierten Wirkstoffmenge gefüttert werden. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass die Tiere im Durchschnitt ähnliche Dosierungen zu sich genommen haben, da sich die aufgenommenen Futtermengen der Renvela®- und der C-PAM-11-Tiere während den Aufenthalten im Stoffwechselkäfig nur nach der vierten Behandlungswoche statistisch signifikant ($p < 0,05$) unterschieden.

5.1.2. Stoffwechselkäfige

Auch bei der Verfütterung von Pulverfutter im Stoffwechselkäfig wird der Urin durch herabfallende Futterreste verunreinigt. Außerdem ist das Wohlbefinden der Tiere durch die Einzelhaltung herabgesetzt, wodurch es zur Harnverhaltung oder anderen Verfälschungen der Ergebnisse kommen kann. Vor weiteren Versuchen sollten Überlegungen angestellt werden, wie der Einsatz der Stoffwechselkäfige verbessert werden könnte. Zum Beispiel könnten „Häuschen“ zum Wohlbefinden der Tiere beitragen und Vorrichtungen wie Filter in die Urinauffangbehälter eingebaut werden, um die Verunreinigung des Urins durch herabfallendes Futter

zu dezimieren. Eine andere Möglichkeit wäre, gar keine Stoffwechselkäfige mehr einzusetzen und die Wirksamkeit nur anhand der Serumphosphatkonzentration nachzuweisen.

5.1.3. Urin

Bei der Betrachtung der Urinphosphatkonzentrationen fällt auf, dass die Ausgangswerte aller drei Gruppen und die Werte der Kontrollgruppe im Allgemeinen hohe Standardabweichungen zeigen. Zudem sind sie im Durchschnitt sehr viel niedriger als Referenzwerte aus der Literatur, die die Urinphosphatkonzentration mit 25 mmol/l, d.h. 77,425 mg/dl angibt (Krinke 2000). Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass durch herabfallendes Futter Phosphat in den Urin gelangt und zur Verfälschung der Werte führte. Dies würde jedoch nur die hohen Standardabweichungen und nicht die im Allgemeinen niedrigen Werte erklären. Da Synlab ebenfalls sehr niedrige Werte erhalten hat, ist ein Messfehler eher unwahrscheinlich.

Es könnte in zukünftigen Versuchen sinnvoll sein, eine weitere Vorbehandlung des Urins vorzunehmen, um genauere, und damit vergleichbarere Werte zu erhalten. Ähnliche Tierversuche beschreiben dies zwar nicht, aber Ng et al. (1984) empfehlen zur Bestimmung des Urinphosphats im menschlichen Urin die vorherige Ansäuerung des Urins, um die Bildung von Phosphatkristallen zu vermeiden und genauere Werte zu erhalten. Die fehlende Ansäuerung könnte somit der Grund für die im Allgemeinen niedrigen Werte sein. So ließe sich auch die Diskrepanz zwischen den von Synlab und den in der experimentellen Radiologie bestimmten Urinphosphatwerten erklären, da Synlab die Urinproben zeitlich verzögert gemessen hat und sich so größere Phosphatkristalle bilden konnten.

5.1.4. Tiere

Da es sich bei diesem Versuch um einen ersten Wirksamkeits- und Verträglichkeitsnachweis des von der experimentellen Radiologie entwickelten Phosphatadsorbers C-PAM-11 handelt, ist nur die Verwendung von gesunden Ratten gerechtfertigt. In weiteren Versuchen zur Wirksamkeit sollten jedoch niereninsuffiziente Ratten verwendet werden, um tatsächlich nachweisen zu können, dass der Wirkstoff auch bei einem entgleisten Phosphatmetabolismus Wirksamkeit zeigt.

5.1.5. Hilfsstoffe

Dem von der experimentellen Radiologie entwickelten Phosphatadsorber C-PAM-11 sind Mannitol, Inulin und Gummi arabicum als Hilfsstoffe beigefügt, um die gewünschte Darreichungsform zu erhalten. Um ausschließen zu können, dass diese Hilfsstoffe einen entscheidenden phosphatsenkenden Effekt haben, sollte ein weiterer Versuch mit einer Kontrollgruppe, die nur die Hilfsstoffe von C-PAM-11 verabreicht bekäme, durchgeführt werden. In Län-

dem des Nahen Ostens wird Gummi arabicum bereits zur Behandlung von Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz eingesetzt und mehrere Studien belegen, dass es das Fortschreiten einer Niereninsuffizienz verlangsamt (Al-Majed et al. 2002; Ali et al. 2013). Nasir et al. (2012) konnten sogar einen Serumphosphat- und Urinphosphatsenkenden Effekt von Gummi arabicum an diabetischen Mäusen nachweisen. Die in der vorliegenden Untersuchung demonstrierte hoch signifikante Senkung der Serumphosphatkonzentration durch C-PAM-11 kann jedoch keinesfalls ausschließlich durch die Hilfsstoffe erreicht worden sein.

5.2. Laborparameter

Da einige Laborparameter in allen drei Gruppen, d.h. inklusive der Kontrollgruppe, erheblich von den Referenzwerten des Züchters Charles River abweichen, kann davon ausgegangen werden, dass diese Unterschiede nicht auf die Behandlung mit den Phosphatadsorbentien zurückzuführen sind. Eine mögliche Erklärung sind die unterschiedlichen Messmethoden, die in verschiedenen Laboren weltweit zur Bestimmung der Parameter angewendet werden. Daher ist der Abweichung von den Referenzwerten des Züchters nicht so viel Bedeutung beizumessen, wie dem Vorliegen von statistisch signifikanten Unterschieden zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen.

5.3. Effekte von Renvela®

5.3.1. Allgemeinbefinden

Das Tier # 3 der Renvela®-Gruppe zeigte während des Versuchs ein vermindertes Allgemeinbefinden. Die Blutuntersuchung ergab eine Leukozytopenie und erhöhte Leberwerte. Außerdem zeigte sich in der histologischen Untersuchung eine geringgradige multifokale Myokarditis. Ob diese Pathologien auf die Behandlung mit Sevelamercarbonat zurückzuführen sind, lässt sich nicht abschließend klären.

5.3.2. Gewichtsentwicklung

Die Tiere der Renvela®-Gruppe zeigten ein statistisch signifikant höheres Körpergewicht als die der C-PAM-11-Gruppe und zeitweise auch der Kontrollgruppe. Es ist davon auszugehen, dass dies an dem höheren Ausgangsgewicht der Tiere lag und nicht auf die Behandlung mit Sevelamercarbonat zurückzuführen ist.

5.3.3. Phosphatexkretion im Urin

Durch die vierwöchige Verabreichung des Sevelamercarbonats Renvela® konnte die Menge des im Urin ausgeschiedenen Phosphats deutlich gesenkt werden. Dies zeigen sowohl die relative und absolute Phosphatexkretion als auch der Phosphor/Kreatinin-Quotient. Wie Tröhler et al. (1976) und Mizgala et al. (1985) beschreiben, beruht die Senkung auf der Fähigkeit der Niere die Kapazität der Phosphatreabsorption der Phosphataufnahme im Darm anzupassen und somit bei Phosphatrestriktion die Ausscheidung zu vermindern. Dies beweist also, dass Renvela® das diätetische Phosphat effektiv bindet und somit weniger Phosphat renal filtriert werden muss, um die Phosphathomöostase aufrecht zu erhalten.

Die starken Schwankungen und die im Vergleich zu Referenzwerten geringen Konzentrationen des Phosphats im Urin der Kontrolltiere mindern jedoch die Aussagekraft dieser Ergebnisse. Um zuverlässigere Werte zu erhalten, sollte, wie unter 5.1.3. bereits erwähnt, in zukünftigen Versuchen auf eine verbesserte Uringewinnung und -aufarbeitung geachtet werden bzw. der Wirksamkeitsnachweis auf den Serumphosphatgehalt beschränkt werden.

5.3.4. Serumphosphatkonzentration

Durch die vierwöchige Behandlung mit Renvela® konnte keine statistisch signifikante Senkung des Serumphosphatspiegels im Vergleich zu den Kontrolltieren erreicht werden. Dies könnte daran liegen, dass die gewählte Dosis zu gering war, die Anwendungsdauer zu kurz, oder dass es sich um nierengesunde Ratten handelte, bei denen keine Hyperphosphatämie zum Beginn der Behandlung bestand. Der Organismus sollte durch die Regulation der Phosphatabsorption aus dem Darm und der Exkretion über die Nieren in der Lage sein, den Serumphosphatspiegel konstant in physiologischen Grenzen zu halten, bis die GFR unter 25 ml/min sinkt (Finn 2005).

5.3.5. Ausscheidung des Gesamteiweiß

Die verminderte Gesamteiweißausscheidung der Renvela®-Tiere lässt sich durch die Wirkung von Sevelamercarbonat nicht erklären. Auch in der Fachliteratur findet sich bislang kein Hinweis auf eine solche Nebenwirkung. Der Grund dafür ist folglich unbekannt.

5.4. Effekte von C-PAM-11

5.4.1. Gewichtsentwicklung

Die Tiere der C-PAM-11-Gruppe zeigten die geringste Gewichtszunahme und hatten bereits nach der ersten Behandlungswoche bis zum Ende des Versuchs ein statistisch hoch signifikant geringeres Körpergewicht als die Tiere der Renvela®-Gruppe. Da sie tendenziell mehr Futter fraßen, kann dies nicht auf eine niedrigere Nährstoffaufnahme zurückgeführt werden. Allerdings ist nur nach der ersten Behandlungswoche eine deutlich geringere Wochenzunahme der C-PAM-11-Tiere im Vergleich zu den Tieren der anderen beiden Gruppen festzustellen. Und das, obwohl sie zu diesem Zeitpunkt, wie Tab. 4 zeigt, die größte Futtermenge aufgenommen haben. Allerdings wurde die Futterraufnahme nur einmal wöchentlich bestimmt. Somit könnte es sein, dass die Tiere in den ersten Tagen nach der Futterumstellung zunächst weniger fraßen, da sie sich erst an den veränderten Geschmack des Futters gewöhnen mussten und dadurch kaum Gewicht zulegten. Es könnte aber auch sein, dass die Wachstumsretardierung eine Folge der Phosphatverarmung ist. Rehm et al. (1940) konnten zeigen, dass die Verabreichung von Eisenchlorid an wachsende Ratten zu einem verringerten Körpergewicht im Vergleich zu Kontrolltieren bei gleicher Futterraufnahme führt. Phosphat wird im Darm gebunden, gelangt nicht in den Organismus und fehlt beim Aufbau von Knochen und anderen Geweben. Dafür spricht auch, dass, die mit C-PAM-11 behandelten Tiere eine Osteomalazie entwickelt haben, was im Folgenden noch genauer erläutert wird.

5.4.2. Futterraufnahme

Die erhöhte Futterraufnahme der C-PAM-11-Tiere könnte an den Hilfsstoffen Inulin, Gummi arabicum und Mannitol liegen die eventuell dem Futter einen süßlichen Geschmack verleihen und somit die Präferenz der Ratten für das Futter steigern. Eine andere Möglichkeit ist, dass die Phosphatverarmung die Tiere veranlasst, mehr Futter aufzunehmen. Dies ist jedoch eher unwahrscheinlich, da in der Studie von Baxter et al. (2000) eine verringerte Futterraufnahme bei Tieren mit einer mittels Phosphatbindern induzierten Hypophosphatämie beobachtet wurde. Allerdings könnte diese auch durch eine schlechte Akzeptanz des Futters verursacht worden sein.

5.4.3. Kotmenge

Die C-PAM-11-Tiere schieden ca. 70 Prozent mehr Kot aus als die der anderen beiden Gruppen. Dieser große Mengenunterschied lässt sich nicht mit der geringfügig höheren Futterraufnahme erklären. Da der Kot insgesamt sehr feucht war, kann davon ausgegangen werden, dass das erhöhte Kotgewicht auf einen höheren Feuchtigkeitsgehalt zurückzuführen ist. Dieser

wird möglicherweise verursacht durch das bei der Herstellung von C-PAM-11 als Hilfsstoff dienenden Mannitol. Aufgrund seiner osmotischen Wirkung bindet es Wasser im Chymus und wird daher auch als mildes Laxans angewendet (Lüllmann 2010). Auch der Hilfsstoff Inulin könnte, als im Dünndarm unverdauliches Polysaccharid, zu einer osmotischen Wirkung von C-PAM-11 beitragen. Eine Beteiligung des Gummi arabicum an diesem Effekt ist eher unwahrscheinlich, da ihm eine proabsorptive Wirkung nachgewiesen wurde (Rehman et al. 2001; Ibrahim et al. 2004).

Diese Nebenwirkung sollte sich jedoch mittels Dosisreduktion vermeiden lassen.

5.4.4. Phosphatexkretion im Urin

Nach vierwöchiger Behandlung mit C-PAM-11 wurde die Phosphatausscheidung im Urin, wie mittels Senkung der relativen und absoluten Phosphatexkretion und des Phosphor/Kreatinin-Quotienten nachgewiesen, deutlich reduziert. Das trotz der erheblichen Senkung der relativen Urinphosphatkonzentration von 99 Prozent keine statistisch signifikante Senkung vorliegt, kann an der geringen Fallzahl, der hohen Standardabweichung oder der Effektgröße liegen. Berechnet man die absolute Phosphatexkretion, liegt eine statistisch hoch signifikante Senkung zwischen den Ausgangswerten und den Werten nach vier Behandlungswochen vor.

Der Wochenvergleich zwischen den Behandlungsgruppen zeigt, dass mit Eisenoxid eine zum Teil statistisch hoch signifikant höhere Senkung der Phosphatexkretion im Urin erreicht werden konnte als mit Sevelamercarbonat. Dies beweist, dass bei gleicher Dosierung Eisenoxid das diätetische Phosphat effektiver bindet als der Goldstandard Sevelamercarbonat. Aber auch hier gelten die unter 5.1.3. gemachten Aussagen.

5.4.5. Serumphosphatkonzentration

Neben der Senkung der Phosphatexkretion im Urin, ist es durch die vierwöchige Verabreichung von C-PAM-11 gelungen, eine eindeutige Senkung des Serumphosphatspiegels bis unter den für Ratten üblichen Referenzbereich zu erreichen. Die resultierende Hypophosphatämie beweist die im Vergleich zu Renvela® deutlich höhere Wirksamkeit von C-PAM-11. Es stellt sich jedoch die Frage, warum der Körper nicht mit erhöhter Phosphatresorption aus dem Darm reagiert, um die Phosphathomöostase aufrecht zu erhalten. Radanovic et al. (2005) zeigten, dass ein verminderter Phosphatgehalt im Futter zu einer erhöhten Expression von Phosphattransportern im Darm von Mäusen führt, um eine ausreichende Phosphatresorption sicherzustellen. Daher sollten die Ratten in der Lage sein, auch nach Bindung eines Teils des Phosphats durch C-PAM-11 genügend Phosphat aufzunehmen. Den in vitro Versuchen zu Folge ist C-PAM-11 in der Lage, pro Gramm elementarem Eisen 1,4 Gramm Phosphat zu binden. Bei einem Phosphorgehalt des Futters von 0,7 Prozent, der einem Phosphatgehalt von ca. zwei Prozent entspricht, sollte bei einer C-PAM-11 Dosis von 0,5 Prozent trotz der hohen

Bindungskapazität ausreichend Phosphat zur Verfügung stehen, um den Bedarf der Tiere zu decken. Es sei denn, nur ein geringer Teil des im Futter enthaltenen Phosphors kann resorbiert werden. In zukünftigen Versuchen sollte die Bioverfügbarkeit des im Futtermittel enthaltenen Phosphors bestimmt werden, um zu klären, wie viel Phosphat zur Aufnahme in den Körper zur Verfügung steht. Außerdem sollten die Hormone der Phosphathomöostase wie FGF-23 und PTH bestimmt werden, um die durch C-PAM-11 hervorgerufene Entgleisung des Phosphatmetabolismus besser verstehen zu können.

5.4.6. Serumeisenkonzentration

Die Serumeisenkonzentration der C-PAM-11-Tiere ist zwar leicht erhöht, aber da kein statistisch signifikanter Unterschied zu den anderen beiden Gruppen besteht und die Tiere teilweise auch eine sehr niedrige Konzentration aufweisen, ist davon auszugehen, dass keine nennenswerte Resorption des Eisens stattfindet. Die Eisenaufnahme im vorliegenden Versuch liegt zwischen 462 mg/kg/d nach der ersten und 276 mg/kg/d nach der vierten Behandlungswoche. Im Vergleich dazu haben erheblich geringere Dosen Eisenersatztherapeutika, 25 mg/kg/d Eisensulfat und 280 mg/kg/d Eisen Aminosäurechelate, in der Studie von Toblli et al. (2008) zu einer statistisch signifikanten Erhöhung der Serumeisenkonzentration und deutlich histologisch nachweisbaren Eisenanreicherungen in der Leber geführt.

5.4.7. Leuko- und Lymphozytenzahl

Für die geringe Leuko- und Lymphozytenzahl der C-PAM-11-Tiere findet sich auch in der Literatur keine Erklärung. Beschrieben wird, dass eine mögliche Folge der Hypophosphatämie eine Funktionseinschränkung der Leukozyten aufgrund des ATP-Mangels ist (Knochel 1977; Craddock et al. 1974). Dies hat jedoch keine Auswirkung auf ihre Anzahl.

5.4.8. Serumkreatinin- und Serumharnstoffgehalt

Die statistisch signifikant abweichenden Serumkreatinin- und Serumharnstoffwerte könnten durch eine Entgleisung des Stoffwechsels hervorgerufen werden. Phosphat wird in Form von Nucleosid-Phosphaten, wie z.B. ATP, für viele Stoffwechselforgänge im Körper als Energielieferant benötigt. Somit könnte ein Mangel dazu führen, dass diese nicht mehr in ausreichendem Maß ablaufen können.

Wird die C-PAM-11-Dosis so angepasst, dass keine Hypophosphatämie entsteht, sollten auch diese Nebenwirkungen nicht mehr auftreten.

5.4.9. Serumcalciumkonzentration

Die C-PAM-11-Tiere zeigen eine statistisch hoch signifikant höhere Serumcalciumkonzentration als die Tiere der anderen beiden Gruppen, die aber trotzdem noch innerhalb der Referenzwerte liegt. Calcium und Phosphat liegen unter physiologischen Umständen im Gleichgewicht vor. Dies könnte der Grund dafür sein, dass die entstandene Hypophosphatämie zu der leicht erhöhten Serumcalciumkonzentration führte. Zum einen könnte durch das fehlende Phosphat weniger Calcium zum Calcium/Phosphat-Produkt gebunden worden sein und somit frei vorliegen. Zum anderen ist wie noch diskutiert wird, der Knochenaufbau der C-PAM-11-Tiere gestört. Möglicherweise konnte dadurch weniger Calcium in den Knochen eingebaut werden und liegt nun vermehrt im Serum vor. Durch die Regelmechanismen der Calciumhomöostase folgt einem Anstieg der Serumcalciumkonzentration eine verminderte Calciumresorption aus dem Darm und verhindert so die Entstehung einer Hypercalcämie.

5.4.10. Urinkreatinin und -harnstoffgehalt

Die Urinkreatinin- und -harnstoffwerte der C-PAM-11-Tiere weichen statistisch signifikant von denen der anderen beiden Gruppen ab. Vergleicht man jedoch die 24-Stunden-Ausscheidung ergibt sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Die Gesamtausscheidung von Kreatinin und Harnstoff über den Urin wird also durch die Behandlung mit C-PAM-11 nicht beeinflusst.

5.4.11. Natriumexkretion im Urin

Die Natriumexkretion der C-PAM-11-Tiere liegt auch über 24 Stunden hinweg betrachtet statistisch signifikant niedriger als die der anderen beiden Gruppen. Labonté et al. (2014) zeigten, dass durch Tenapanor, einem Natriumtransportinhibitor, über bislang noch ungeklärte Mechanismen die Phosphataufnahme im Darm vermindert wird. Dies lässt die Vermutung zu, dass der Transport von Natrium und Phosphat gekoppelt ist und daher die durch C-PAM-11 hervorgerufene Reduktion der Phosphataufnahme aus dem Darm auch eine Reduktion der Natriumaufnahme nach sich zieht.

5.4.12. Histologie

Die pathologischen Auffälligkeiten, die in allen drei Gruppen auftraten, sind nicht auf die Behandlung mit den Wirkstoffen zurückzuführen. Es kann angenommen werden, dass diese aus den Haltungsbedingungen der Tiere resultieren.

Da die Mengen des in den Lymphknoten nachgewiesenen Eisens vernachlässigbar gering sind und keine Eisenanreicherungen in den Lebern oder Milzen der Tiere nachweisbar waren,

kann, wie schon aufgrund der statistisch nicht signifikant erhöhten Serumeisenkonzentration, davon ausgegangen werden, dass keine nennenswerte Eisenresorption stattfindet. Auch fehlen jegliche Anzeichen für eine gastrointestinale Toxizität die Toblli et al. (2008) sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch bei einer vierwöchigen Behandlung mit Eisenersatztherapeutika feststellten.

Aufgrund der bereits erwähnten Erfahrung mit aluminium- und lanthanhaltigen Phosphatbindern, dass ihre Resorption aus dem Darm bei Niereninsuffizienz steigt, sollten Langzeitversuche an niereninsuffizienten Tieren durchgeführt werden, um eine Akkumulation des Eisens sowie eine daraus resultierende Toxizität ausschließen zu können.

Ansonsten zeigen die untersuchten Organe keinerlei Hinweise auf eine Toxizität von C-PAM-11.

5.4.13. Knochen

Phosphor ist nach Calcium zweithäufigster Bestandteil der Knochen und somit essentiell für einen adäquaten Knochenaufbau. Daher ist es nicht verwunderlich, dass die durch C-PAM-11 verursachte Phosphatverarmung zu einer Osteomalazie bei den jungen noch heranwachsenden Tieren geführt hat. Wie anfangs beschrieben, entwickelten sich die eisenbasierten Phosphatadsorber aus alten Beobachtungen heraus. Demnach führt Eisenverabreichung zu Hypophosphatämie und Rachitis (Brock et al. 1934). Rehm et al. (1940) zeigten, dass die Verabreichung von Eisenchlorid, trotz im Vergleich zur Kontrollgruppe identischer Mengen aufgenommenen Futters, zu einer Abnahme der gesamten Körpermasse und des Calcium- und Phosphatgehalts des Körpers führt. Die verringerten Kortikalisdichten und -dicken, die anhand der HRpQCT-Messungen festgestellt wurden, sind somit ein weiterer Nachweis für die hohe Wirksamkeit von C-PAM-11. Sie sollten nach der Ermittlung einer klinisch anwendbaren Dosis nicht mehr auftreten. Außerdem muss bedacht werden, dass C-PAM-11 als Phosphatbinder bei Patienten eingesetzt werden soll, die bereits an einer Hyperphosphatämie leiden. Bei ihnen ist Phosphat im Überschuss vorhanden und die Niere nicht mehr in der Lage, es adäquat auszuscheiden. Daher ist die Ausbildung einer Hypophosphatämie durch zu hohe Phosphatbindung der Phosphatadsorber bei diesen Patienten eher unwahrscheinlich.

5.5. Zu der Verwendung von Phosphatbindern im Allgemeinen

Eines der größten Probleme bei der Therapie mit Phosphatadsorbieren ist die fehlende Compliance („Therapietreue“) der Patienten, zum einen erzeugt durch die unerwünschten Nebenwirkungen der zur Verfügung stehenden Arzneimittel, zum anderen durch die hohe benötigte tägliche Medikamenteneinnahme. Die terminale Niereninsuffizienz geht mit einer Vielzahl von Komorbiditäten einher, die die tägliche Einnahme einer hohen Anzahl an Medikamenten not-

wendig macht. Die Studie von Chiu et al. ergab, dass knapp die Hälfte aller Dialysepatienten eine mittlere Medikamentenmenge von 19 Tabletten pro Tag einnehmen muss. Circa die Hälfte dieser Medikamente sind Phosphatadsorber; Mit einer steigenden täglichen Medikamenteneinnahme sinkt die Adhärenz der Patienten zu ihren Arzneimitteln. Wie Chiu et al. (2009) darstellten, nehmen im Falle der Phosphatadsorber ca. 62 Prozent der Patienten ihre Medikamente nicht ein.

Im direkten Vergleich mit dem derzeitigen Goldstandard Renvela® ist eine geringere Dosis C-PAM-11 notwendig, um den Serumphosphatgehalt zu senken bzw. zu kontrollieren. Dies lässt die Vermutung zu, dass eine geringe Anzahl an Tabletten notwendig sein wird, um Hyperphosphatämiepatienten mit C-PAM-11 zu behandeln. Neben der nachgewiesenen hohen Wirksamkeit könnte das ein weiterer Vorteil des neuen, von der experimentellen Radiologie entwickelten Phosphatadsorbers sein. Der effizienteste Phosphatadsorber, der je erfunden wurde, wird derjenige sein, den der Patient auch einnimmt (Hutchison 2014).

6. Zusammenfassung

Die Hyperphosphatämie als Folgeerkrankung der Niereninsuffizienz ist aufgrund ihrer negativen Auswirkungen auf das kardiovaskuläre System eine bedeutende Erkrankung. Leider sind derzeit keine zufriedenstellenden Therapieerfolge mittels der zur Verfügung stehenden Therapeutika zu verzeichnen. Daher besteht ein hoher Bedarf an neuen Arzneimitteln.

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals das von der experimentellen Radiologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin entwickelte Maghemit-basierte Phosphatadsorbens C-PAM-11 auf seine Wirksamkeit und Verträglichkeit hin untersucht. Dazu wurde ein vierwöchiger Fütterungsversuch durchgeführt.

Gesunde Sprague Dawley Ratten erhielten über vier Wochen hinweg ein mit Phosphatbinder angereichertes Futter und wurden einmal wöchentlich für 24 Stunden in Stoffwechsellkäfige gesetzt, um Urin und Kot zu gewinnen und die Futteraufnahme der einzelnen Tiere zu bestimmen. Anschließend wurden sie getötet um Blut, Knochen und Organe zu entnehmen. Als Vergleich dienten unbehandelte Kontrolltiere sowie mit dem derzeitigen Goldstandard Renvela® behandelte Tiere.

Der Wirksamkeitsnachweis sollte anhand der Veränderungen der Phosphatexkretion im Urin, der Phosphatkonzentration im Serum und des Knochenbaus erfolgen. Die Verträglichkeit wurde mittels Beobachtung des Allgemeinbefindens und Untersuchungen des Bluts und histologischer Schnitte der Organe beurteilt.

Durch die vierwöchige Anwendung von C-PAM-11 konnte die Phosphatexkretion über die Nieren drastisch gesenkt werden. Zudem wurde die Serumphosphatkonzentration so stark reduziert, dass die Tiere eine Hypophosphatämie entwickelten. Der Vergleichswirkstoff Renvela® (Sevelamercarbonat) hingegen konnte keine Senkung des Serumphosphatspiegels erreichen. Auch anhand der Knochen konnte eine hohe Effektivität des neu entwickelten Phosphatadsorbens nachgewiesen werden, da ihre Untersuchung mittels HRpQCT die Entwicklung einer Osteomalazie offenbarte.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch die beeindruckenden Ergebnisse der C-PAM-11 Behandlung ein Wirksamkeitsnachweis erbracht wurde. Weitere Studien werden zukünftig durchgeführt, um die Wirksamkeit bei nierenkranken Tieren nachzuweisen, sowie eine klinisch anwendbare Dosis zu finden.

Die Ergebnisse der vorliegende Arbeit zeigen außerdem eine gute Verträglichkeit des C-PAM-11. Langzeitstudien werden folgen, um eine Akkumulation und Toxizität des Eisens ausschließen zu können.

7. Summary

First preclinical in vivo study of the efficacy of a maghemite-based agent for the treatment of hyperphosphatemia

Hyperphosphatemia secondary to chronic kidney disease is a very serious condition, causing cardiovascular morbidity and mortality. Unfortunately, currently available drugs have limited therapeutic effects. Hence, there is an urgent need for more effective medications.

The aim of this study was to investigate the efficacy and safety of a new maghemite-based phosphate adsorbent, known as C-PAM-11, which was developed by the Experimental Radiology Section of Charité - Universitätsmedizin Berlin. The investigation was conducted as a four-week feeding trial was carried out.

Healthy Sprague Dawley rats were fed a standard rat diet supplemented with the phosphate adsorbent over a period of four weeks. Once a week, they were housed in individual metabolic cages for 24 hours to collect urine and feces and measure food uptake. At the end of the study, the rats were sacrificed and blood, bones and organs were collected. Untreated control animals as well as animals treated with the current gold standard, Renvela® (Sevelamer carbonate), served as reference.

Efficacy parameters were changes in urinary phosphate excretion, serum phosphate concentration and bone structure. Safety was assessed by observation of animals' general condition, blood tests, and histologic examination of organ sections.

After four weeks of treatment, renal phosphate excretion was drastically decreased. In addition, the serum phosphate concentration was diminished to such an extent that the C-PAM-11 treated animals developed hypophosphatemia. In contrast, the reference drug Renvela® did not lower the serum phosphate concentration. HRpQCT analysis of the bones also revealed the high efficacy of C-PAM-11. The different parameters measured showed that the animals developed osteomalacia.

In summary, the striking effects observed in our study demonstrate the high efficacy of C-PAM-11 treatment. More studies will follow to prove the effectiveness in animals with renal insufficiency and to identify a clinically applicable dose.

The present study also shows good safety features of the new phosphate adsorbent. Long-term experiments will follow to rule out toxicity through iron accumulation.

8. Literaturverzeichnis

- Ali, Badreldin H, Isehaq Al-Husseni, Sumyia Beegam, Ahmed Al-Shukaili, Abderrahim Nemmar, Simone Schierling, Nina Queisser, and Nicole Schupp. 2013. Effect of gum arabic on oxidative stress and inflammation in adenine-induced chronic renal failure in rats. *PLoS One* 8 (2): e55242.
- Al-Majed, Abdhakeem A, Adel M Mostafa, Ammar C Al-Rikabi, and Othman A Al-Shabana. 2002. Protective effects of oral arabic gum administration on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 46 (5): 445-51.
- Baenkler, Hanns-Wolf. 2001. *Innere Medizin: 299 Synopsen, 611 Tabellen*. Georg Thieme Verlag.
- Baxter, J, F Shimizu, Y Takiguchi, M Wada, and T Yamaguchi. 2000. Effect of iron(III) chitosan intake on the reduction of serum phosphorus in rats. *J Pharm Pharmacol* 52 (7): 863-74.
- Behets, Geert J, Steven C Verberckmoes, Patrick D'Haese and Marc E De Broe. 2004. Lanthanum carbonate: a new phosphate binder. *Current opinion in Nephrology and Hypertension* 13: 403-409.
- Berndt, Theresa and Rajiv Kumar. 2009. Novel mechanisms in the regulation of phosphorus homeostasis. *Physiology (Bethesda)* 24:17-25.
- Bleyer, A J, S K Burke, M Dillon, B Garrett, K S Kant, D Lynch, S N Rahman, et al. 1999. A comparison of the calcium-free phosphate binder sevelamer hydrochloride with calcium acetate in the treatment of hyperphosphatemia in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 33 (4): 694-701.

- Block, G A, T E Hulbert-Shearon, N W Levin, and F K Port. 1998. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: A national study. *Am J Kidney Dis* 31 (4): 607-17.
- Brambilla, Simona, Serenella Valaperta, Giorgio Graziani, and Alessandro Montanelli. 2008. Gadolinium and lanthanum: A iatrogenic transmetallation? *Clin Biochem* 41 (13): 1029-33.
- Brezina, Barton, Wajeh Y Qunibi, and Charles R Nolan. 2004. Acid loading during treatment with sevelamer hydrochloride: Mechanisms and clinical implications. *Kidney Int Suppl*, no. 90:S39-45.
- Brock, J F and L K Diamond. 1934. Rickets in rats by iron feeding. *Journal of Pediatrics* 4 (4): 442-453.
- Camarero-Temino, V. 2012. Lanthanum carbonate constipation and intestinal pseudo-obstruction: Case report. *Reactions* 1413:4.
- Cheng, Steven C, Daniel O Young, Yihung Huang, James A Delmez, and Daniel W Coyne. 2008. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of niacinamide for reduction of phosphorus in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 3 (4): 1131-8.
- Chertow, Glenn M, Steven K Burke, Paolo Raggi, and Treat to Goal Working Group. 2002. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int* 62 (1): 245-52.
- Chertow, G M, S K Burke, M A Dillon, and E Slatopolsky. 1999. Long-term effects of sevelamer hydrochloride on the calcium x phosphate product and lipid profile of haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 14 (12): 2907-14.

- Chiu, Yi-Wen, Isaac Teitelbaum, Madhukar Misra, Essel Marie de Leon, Tochi Adzize, and Rajnish Mehrotra. 2009. Pill burden, adherence, hyperphosphatemia, and quality of life in maintenance dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 4 (6): 1089-96.
- Coresh, Josef, Danita Byrd-Holt, Brad C Astor, Josephine P Briggs, Paul W Eggers, David A Lacher, and Thomas H Hostetter. 2005. Chronic kidney disease awareness, prevalence, and trends among U.S. Adults, 1999 to 2000. *J Am Soc Nephrol* 16 (1): 180-8.
- Cowper, Shawn E, Howard S Robin, Steven M Steinberg, Lyndon D Su, Samardeep Gupta, and Philip E LeBoit. 2000. Scleromyxoedema-like cutaneous diseases in renal-dialysis patients. *The Lancet* 356 (9234): 1000-1001.
- Craddock, P R, Y Yawata, L VanSanten, S Gilberstadt, S Silvis, and H S Jacob. 1974. Acquired phagocyte dysfunction. A complication of the hypophosphatemia of parenteral hyperalimentation. *N Engl J Med* 290 (25): 1403-7.
- Damment, Stephen J P. 2011. Pharmacology of the phosphate binder, lanthanum carbonate. *Ren Fail* 33 (2): 217-24.
- Daou, T J, S Begin-Colin, J M Greneche, F Thomas, A Derory, P Bernhardt, P Legaré, and G Pourroy. 2007. Phosphate adsorption properties of magnetite-based nanoparticles. *Chemistry of Materials* 19 (18): 4494-4505.
- Delanaye, Pierre, Laurent Weekers, and Jean-Marie Krzesinski. 2006. Diarrhea induced by high doses of nicotinamide in dialysis patients. *Kidney Int* 69 (10): 1914.
- Dominguez, Julie R, Bryan Kestenbaum, Michel Chonchol, Geoffrey Block, Gail A Laughlin, Cora E Lewis, Ronit Katz, et al. 2013. Relationships between serum and urine phosphorus with all-cause and cardiovascular mortality: The osteoporotic fractures in men (mros) study. *Am J Kidney Dis* 61 (4): 555-63.

- Drüeke, Tilman B. 2007. Lanthanum carbonate as a first-line phosphate binder: The "cons". *Semin Dial* 20 (4): 329-32.
- Dwyer, Jamie P, Mohammed Sika, Gerald Schulman, Ingrid J Chang, Michael Anger, Mark Smith, Mark Kaplan, et al. 2013. Dose-response and efficacy of ferric citrate to treat hyperphosphatemia in hemodialysis patients: A short-term randomized trial. *Am J Kidney Dis* 61 (5): 759-66.
- Europäisches Arzneibuch: amtliche deutsche Ausgabe. 2011. 7. Ausgabe Stuttgart: Dt. Apotheker-Verl.
- Finn, William F. 2005. Phosphorus management in end-stage renal disease. *Semin Dial* 18 (1): 8-12.
- Floege, Jürgen, Adrian C Covic, Markus Ketteler, Anjay Rastogi, Edward M F Chong, Sylvain Gaillard, Laura J Lisk, and Stuart M Sprague. 2014. A phase III study of the efficacy and safety of a novel iron-based phosphate binder in dialysis patients. *Kidney Int* 86 (3): 638-47.
- Fukagawa, Masafumi, Hirotake Kasuga, Devanand Joseph, Hiroshi Sawata, Guido Junge, Alan Moore, and Takashi Akiba. 2014. Efficacy and safety of SBR759, a novel calcium-free, iron (III)-based phosphate binder, versus placebo in chronic kidney disease stage V japanese patients on maintenance renal replacement therapy. *Clin Exp Nephrol* 18 (1): 135-43.
- Geberth, Steffen and Rainer Nowack. 2014. *Praxis der Dialyse*. Springer-Verlag
- Geisser, P and E Philipp. 2010. PA21: A novel phosphate binder for the treatment of hyperphosphatemia in chronic kidney disease. *Clin Nephrol* 74 (1): 4-11.
- Giknis, M L A and C B Clifford. 2006. Clinical laboratory parameters for crl: CD (SD) rats. *Charles River Laboratories* 1-14.

- Goodman, W G, J Goldin, B D Kuizon, C Yoon, B Gales, D Sider, Y Wang, et al. 2000. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med* 342 (20): 1478-83.
- Gschwind, Hans-Peter, Dietmar G Schmid, Friedhelm von Blanckenburg, Marcus Oelze, Kirsten van Zuilen, Alan J Slade, Sylvie Stitah, Daniel Kaufmann, and Piet Swart. 2014. Iron uptake and ferrokinesics in healthy male subjects of an iron-based oral phosphate binder (SBR759) labeled with the stable isotope (58)fe. *Metallomics* 6(11):2062-71.
- Hruska, Keith, Suresh Mathew, Richard Lund, Yifu Fang, and Toshifumi Sugatani. 2011. Cardiovascular risk factors in chronic kidney disease: Does phosphate qualify? *Kidney Int Suppl*, no. 121:S9-13.
- Hruska, Keith A, Eric T Choi, Imran Memon, T Keefe Davis, and Suresh Mathew. 2010. Cardiovascular risk in chronic kidney disease (CKD): The ckd-mineral bone disorder (CKD-MBD). *Pediatr Nephrol* 25 (4): 769-78.
- Hruska, Keith A, Suresh Mathew, Richard Lund, Ping Qiu, and Raymond Pratt. 2008. Hyperphosphatemia of chronic kidney disease. *Kidney Int* 74 (2): 148-57.
- Hsu, C H, S R Patel, and E W Young. 1999. New phosphate binding agents: Ferric compounds. *J Am Soc Nephrol* 10 (6): 1274-80.
- Hutchison, Alastair J. 2014. Novel phosphate binders: Plus ça change, plus c'est la même chose. *Kidney Int* 86 (3): 471-4.
- Hutchison, Alastair J, Craig P Smith, and Paul E C Brenchley. 2011. Pharmacology, efficacy and safety of oral phosphate binders. *Nat Rev Nephrol* 7 (10): 578-89.
- Ibrahim, Mahmoud A, Nina Kohn, and Raul A Wapnir. 2004. Proabsorptive effect of gum arabic in isotonic solutions orally administered to rats: Effect on zinc and other solutes. *J Nutr Biochem* 15 (3): 185-9.

- Ittel, T H, B Buddington, N L Miller, and A C Alfrey. 1987. Enhanced gastrointestinal absorption of aluminium in uremic rats. *Kidney Int* 32 (6): 821-6.
- Jono, S, M D McKee, C E Murry, A Shioi, Y Nishizawa, K Mori, H Morii, and C M Giachelli. 2000. Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circulation Research* 87 (7): e10-e17.
- Kaewlai, Rathachai and Hani Abujudeh. 2012. Nephrogenic systemic fibrosis. *AJR Am J Roentgenol* 199 (1): W17-23.
- Katsumata, Kyoko, Kenichiro Kusano, Michinori Hirata, Kunihiko Tsunemi, Nobuo Nagano, Steven K Burke, and Naoshi Fukushima. 2003. Sevelamer hydrochloride prevents ectopic calcification and renal osteodystrophy in chronic renal failure rats. *Kidney Int* 64 (2): 441-50.
- KDIGO. 2013. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int* 3:1.
- Kestenbaum, Bryan, Joshua N Sampson, Kyle D Rudser, Donald J Patterson, Stephen L Seliger, Bessie Young, Donald J Sherrard, and Dennis L Andress. 2005. Serum phosphate levels and mortality risk among people with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 16 (2): 520-8.
- Ketteler, Markus, Marianne Rix, Stanley Fan, Nicholas Pritchard, Ove Oestergaard, Scott Chasan-Taber, Jeremy Heaton, Ajay Duggal, and Philip A Kalra. 2008. Efficacy and tolerability of sevelamer carbonate in hyperphosphatemic patients who have chronic kidney disease and are not on dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 3 (4): 1125-30.
- Knochel, J P. 1977. The pathophysiology and clinical characteristics of severe hypophosphatemia. *Arch Intern Med* 137 (2): 203-20.
- Kooienga, Laura. 2007. Phosphorus balance with daily dialysis. *Semin Dial* 20 (4): 342-5.

Krinke, G. 2000. *The Laboratory Rat*. San Diego, Calif.: Academic Press.

Labonté, Eric D, Christopher W Carreras, Michael R Leadbetter, Kenji Kozuka, Jill Kohler, Samantha Koo-McCoy, Limin He, et al. 2014. Gastrointestinal inhibition of sodium-hydrogen exchanger 3 reduces phosphorus absorption and protects against vascular calcification in CKD. *J Am Soc Nephrol* doi:10.1681/ASN.2014030317.

Lacour, Bernard, Anthony Lucas, Daniel Auchère, Nadya Ruellan, Natalie Mariaud de Serre Patey, and Tilman B Drüeke. 2005. Chronic renal failure is associated with increased tissue deposition of lanthanum after 28-day oral administration. *Kidney Int* 67 (3): 1062-9.

Liu, S H and H I Chu. 1943. Studies of calcium and phosphorus metabolism with special reference to pathogenesis and effects of dihydrotachysterol (AT 10) and iron. *Medicine* 22 (2): 103-162.

Lüllmann, Klaus Mohr Heinz. 2010. *Pharmakologie und Toxikologie: Arzneimittelwirkungen Verstehen - Medikamente gezielt Einsetzen*. Georg Thieme Verlag.

MacNeil, Joshua A and Steven K Boyd. 2007. Accuracy of high-resolution peripheral quantitative computed tomography for measurement of bone quality. *Med Eng Phys* 29 (10): 1096-105.

Marks, J, L J Churchill, S K Srail, J Biber, H Murer, P Jaeger, E S Debnam, R J Unwin, and Epithelial Transport and Cell Biology Group. 2007. Intestinal phosphate absorption in a model of chronic renal failure. *Kidney Int* 72 (2): 166-73.

Mathew, Suresh, Kimberly S Tustison, Toshifumi Sugatani, Lala R Chaudhary, Leonard Rifas, and Keith A Hruska. 2008. The mechanism of phosphorus as a cardiovascular risk factor in CKD. *J Am Soc Nephrol* 19 (6): 1092-105.

- Mizgala, Cynthia L and Gary A Quamme. 1985. Renal handling of phosphate. *Physiol Rev* 65 (2): 431-466.
- Mulisch, Maria and Ulrich Welsch. 2010. *Romeis Mikroskopische Technik*. Springer-Verlag.
- Nasir, Omaima, Anja T Umbach, Rexhep Rexhepaj, Teresa F Ackermann, Madhuri Bhandaru, Ammar Ebrahim, Ferruh Artunc, et al. 2012. Effects of gum arabic (acacia senegal) on renal function in diabetic mice. *Kidney Blood Press Res* 35 (5): 365-72.
- National Kidney Foundation. 2003. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 42 (4 Suppl 3): S1-201.
- Ng, R H, M Menon, and J H Ladenson. 1984. Collection and handling of 24-hour urine specimens for measurement of analytes related to renal calculi. *Clin Chem* 30 (3): 467-71.
- Palmer, Suetonia C, Andrew Hayen, Petra Macaskill, Fabio Pellegrini, Jonathan C Craig, Grahame J Elder, and Giovanni F M Strippoli. 2011. Serum levels of phosphorus, parathyroid hormone, and calcium and risks of death and cardiovascular disease in individuals with chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *JAMA* 305 (11): 1119-27.
- Phan, Olivier, Marc Maillard, Christine Peregaux, David Mordasini, Jean-Christophe Stehle, Felix Funk, and Michel Burnier. 2013. PA21, a new iron-based noncalcium phosphate binder, prevents vascular calcification in chronic renal failure rats. *J Pharmacol Exp Ther* 346 (2): 281-9.
- Radanovic, Tamara, Carsten A Wagner, Heini Murer, and Jürg Biber. 2005. Regulation of intestinal phosphate transport. I. Segmental expression and adaptation to low-p(i) diet of the type IIb Na(+)-P(i) cotransporter in mouse small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288 (3): G496-500.

- Rehm, Peggy and Jet C Winters. 1940. The effect of ferric chloride on the utilization of calcium and phosphorus in the animal body. *Journal of Nutrition* 19:213-222.
- Rehman, K, M A Wingertzahn, R G Harper, and R A Wapnir. 2001. Proabsorptive action of gum arabic: Regulation of nitric oxide metabolism in the basolateral potassium channel of the small intestine. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 32 (5): 529-33.
- Ritz, Eberhard, Kai Hahn, Markus Ketteler, Martin K Kuhlmann, and Johannes Mann. 2012. Gesundheitsrisiko durch Phosphatzusätze in Nahrungsmitteln. *Dtsch Arztebl Int* 109 (4): 49-55.
- Rottembourg, Jacques B, Vincent Launay-Vacher, and Julien Massard. 2005. Thrombocytopenia induced by nicotinamide in hemodialysis patients. *Kidney Int* 68 (6): 2911-2912.
- Sabbagh, Yves, Hector Giral, Yupanqui Caldas, Moshe Levi, and Susan C Schiavi. 2011. Intestinal phosphate transport. *Adv Chronic Kidney Dis* 18 (2): 85-90.
- Sabbagh, Yves, Stephen P O'Brien, Wenping Song, Joseph H Boulanger, Adam Stockmann, Cynthia Arbeeny, and Susan C Schiavi. 2009. Intestinal npt2b plays a major role in phosphate absorption and homeostasis. *J Am Soc Nephrol* 20 (11): 2348-58.
- Schiavi, Susan C, Wen Tang, Christina Bracken, Stephen P O'Brien, Wenping Song, Joseph Boulanger, Susan Ryan, et al. 2012. Npt2b deletion attenuates hyperphosphatemia associated with CKD. *J Am Soc Nephrol* 23 (10): 1691-700.
- Shinaberger, Christian S, Sander Greenland, Joel D Kopple, David Van Wyck, Rajnish Mehrotra, Csaba P Kovesdy, and Kamyar Kalantar-Zadeh. 2008. Is controlling phosphorus by decreasing dietary protein intake beneficial or harmful in persons with chronic kidney disease? *Am J Clin Nutr* 88 (6): 1511-8.
- Siegenthaler, Walter. 2013. *Klinische Pathophysiologie*. Georg Thieme Verlag.

- Sigrist, Mhairi, Peter Bungay, Maarter W Taal, and Christopher W McIntyre. 2006. Vascular calcification and cardiovascular function in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 21 (3): 707-14.
- Sinsakul, Marvin, Mohammed Sika, Mark Koury, Warren Shapiro, Tom Greene, Jamie Dwyer, Mark Smith, Stephen Korbet, Julia Lewis, and Collaborative Study Group. 2012. The safety and tolerability of ferric citrate as a phosphate binder in dialysis patients. *Nephron Clin Pract* 121 (1-2): c25-9.
- Slatopolsky, Eduardo, Helen Liapis, and Jane Finch. 2005. Progressive accumulation of lanthanum in the liver of normal and uremic rats. *Kidney Int* 68 (6): 2809-13.
- Spasovski, Goce B, Aleksandar Sikole, Saso Gelev, Jelka Masin-Spasovska, Tony Freemont, Isabel Webster, Maggie Gill, Chris Jones, Marc E De Broe, and Patrick C D'Haese. 2006. Evolution of bone and plasma concentration of lanthanum in dialysis patients before, during 1 year of treatment with lanthanum carbonate and after 2 years of follow-up. *Nephrol Dial Transplant* 21 (8): 2217-24.
- Sprague, Stuart M. 2007. A comparative review of the efficacy and safety of established phosphate binders: Calcium, sevelamer, and lanthanum carbonate. *Curr Med Res Opin* 23 (12): 3167-75.
- Takahashi, Yutaka, Araki Tanaka, Tsukasa Nakamura, Tsutomu Fukuwatari, Katsumi Shibata, Noriaki Shimada, Isao Ebihara, and Hikaru Koide. 2004. Nicotinamide suppresses hyperphosphatemia in hemodialysis patients. *Kidney Int* 65 (3): 1099-104.
- Tenenhouse, Harriet S. 2005. Regulation of phosphorus homeostasis by the type IIa Na/phosphate cotransporter. *Annu Rev Nutr* 25:197-214.
- Thomas, Anila and Leif E Peterson. 2014. Reduction of costs for anemia-management drugs associated with the use of ferric citrate. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 7:191-201.

- Toblli, Jorge E, Gabriel Cao, Leda Olivieri, and Margarita Angerosa. 2008. Comparative study of gastrointestinal tract and liver toxicity of ferrous sulfate, iron amino chelate and iron polymaltose complex in normal rats. *Pharmacology* 82 (2): 127-37.
- Tonelli, Marcello, Neesh Pannu, and Braden Manns. 2010. Oral phosphate binders in patients with kidney failure. *N Engl J Med* 362 (14): 1312-24.
- Tröhler, U, J P Bonjour, and H Fleisch. 1976. Inorganic phosphate homeostasis. Renal adaptation to the dietary intake in intact and thyroparathyroidectomized rats. *J Clin Invest* 57 (2): 264-73.
- Uribarri, Jaime. 2007. Phosphorus homeostasis in normal health and in chronic kidney disease patients with special emphasis on dietary phosphorus intake. *Semin Dial* 20 (4): 295-301.
- USRDS, U S. 1999. Renal data system 1999 annual data report. *The National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases: Bethesda, MD.*
- Wills, M R and J Savory. 1983. Aluminium poisoning: Dialysis encephalopathy, osteomalacia, and anaemia. *Lancet* 2 (8340): 29-34.
- Young, Eric W, Justin M Albert, Suttida Satayathum, David A Goodkin, Ronald L Pisoni, Takashi Akiba, Tadao Akizawa, et al. 2005. Predictors and consequences of altered mineral metabolism: The dialysis outcomes and practice patterns study. *Kidney Int* 67 (3): 1179-87.

9. Anhang

9.1. Blut- und Urinwerte

Abkürzungen

/μl	pro Mikroliter
fl	Femtoliter
G/l	Giga pro Liter
k.A.	keine Angaben
l/l	Liter pro Liter
pg	Pikogramm
sec	Sekunden
T/l	Tera pro Liter
U/l	Einheiten pro Liter

Tab. Blut- und Urinwerte der Kontrolltiere (n=8)

Parameter	Einheit	# 1	# 2	# 3	# 4	# 5
Leukozyten	G/l	10,0	8,9	9,0	14,6	9,8
Erythrozyten	T/l	7,44	8,21	7,96	7,55	8,09
Hämoglobin	g/l	152	145	147	140	154
Hamatokrit	l/l	0,44	0,42	0,43	0,41	0,44
MCV	fl	59,4	50,8	53,6	54,3	54,1
HBE (MCH)	pg	20,4	17,7	18,5	18,5	19,0
MCHC	g/dl	34,4	34,8	34,4	34,1	35,2
Thrombozyten	G/l	969	1048	1123	1130	1089
Neutrophile	%	11	14	6	10	8
Stabkernige	%	0	0	0	0	0
Lymphozyten	%	85	81	89	83	86
Monozyten	%	3	4	3	6	6
Eosinophile	%	1	1	2	1	1
Basophile	%	0	0	0	0	0
Sonst. Zellen	%	0	0	0	0	0
Neutrophile abs.	/µl	1100	1246	540	1460	784
Stabkernige abs.	/µl	0	0	0	0	0
Lymphozyten abs.	/µl	8500	7209	8010	12118	8428
Monozyten abs.	/µl	300	356	270	876	588
Eosinophile abs.	/µl	100	89	180	146	98
Basophile abs.	/µl	0	0	0	0	0
Sonst. Zellen abs.	/µl	0	0	0	0	0
Quick/TPZ	sec	24	21	22	18	19
PTT	sec	21,6	19,6	21,3	18,2	17,9
Thrombinzeit	sec	25,0	19,1	30,8	35,3	33,8
Alk. Phosphatase	U/l	183	176	182	240	282
AST (GOT)	U/l	160	153	133	129	104
ALT (GPT)	U/l	34	39	35	51	44
γ-GT	U/l	<5	<5	<5	<1	<1
GLDH	U/l	7,70	10,30	7,00	6,30	5,60
Bilirubin gesamt	mmol/l	2,30	<1,70	2,00	2,10	2,10
Bilirubin direkt	mmol/l	<1,70	<1,70	<1,70	0,50	0,50
Bilirubin indirekt	mmol/l	>0,60	k.A.	>0,30	1,60	1,60
Kreatinin	mmol/l	19,8	21,5	16,9	19,5	19,5
Harnstoff	mmol/l	6,89	9,17	8,41	7,57	6,20
Natrium	mmol/l	142	141	141	140	142
Kalium	mmol/l	4,7	5,0	4,8	4,4	4,5
Calcium	mmol/l	2,40	2,36	2,37	2,37	2,37
Phosphat	mmol/l	2,43	2,46	2,25	2,95	2,97
Eisen	mmol/l	40,1	27,4	28,2	22,7	20,1
Glukose	mmol/l	7,72	10,99	9,95	15,40	10,05
Albumin	g/l	31,7	29,4	32,5	28,7	29,0
Gesamteiweiß	g/l	58	54	59	53	55
Kreatinin (Urin)	g/l	0,67	0,58	0,95	0,61	0,66
Harnstoff (Urin)	mg/l	40260	42985	84600	45177	47018
Natrium (Urin)	mmol/l	57,00	69,00	99,00	67,00	72,00
Kalium (Urin)	mmol/l	203,0	212,0	334,0	206,0	212,0
Chlorid (Urin)	mmol/l	87,00	94,00	143,00	106,00	128,00
Phosphat (Urin)	mmol/l	10,77	12,11	6,70	3,27	1,08
Ges.eiweiß (Urin)	mg/l	697	1211	1709	1432	968

Tab. Blut- und Urinwerte der Kontrolltiere (n=8)

Parameter	Einheit	# 6	# 7	# 8	X	±s
Leukozyten	G/l	7,2	6,6	9,4	9,4	2,41
Erythrozyten	T/l	7,70	7,23	7,53	7,7	0,34
Hämoglobin	g/l	148	138	143	145,9	5,54
Hamatokrit	l/l	0,42	0,42	0,42	0,4	0,01
MCV	fl	53,9	57,7	55,6	54,9	2,65
HBE (MCH)	pg	19,2	19,1	19,0	18,9	0,77
MCHC	g/dl	35,7	33,1	34,1	34,5	0,79
Thrombozyten	G/l	949	1070	832	1026,3	102,42
Neutrophile	%	7	20	11	10,9	4,49
Stabkernige	%	0	0	0	0,0	0,00
Lymphozyten	%	89	75	83	83,9	4,58
Monozyten	%	4	3	5	4,3	1,28
Eosinophile	%	1	2	2	1,4	0,52
Basophile	%	0	0	0	0,0	0,00
Sonst. Zellen	%	0	0	0	0,0	0,00
Neutrophile abs.	/µl	504	1320	1034	998,5	356,56
Stabkernige abs.	/µl	0	0	0	0,0	0,00
Lymphozyten abs.	/µl	6408	4950	7802	7928,1	2065,07
Monozyten abs.	/µl	288	198	470	418,3	222,43
Eosinophile abs.	/µl	72	132	188	125,6	42,99
Basophile abs.	/µl	0	0	0	0,0	0,00
Sonst. Zellen abs.	/µl	0	0	0	0,0	0,00
Quick/TPZ	sec	18	k.A.	k.A.	20,3	2,42
PTT	sec	17,5	k.A.	k.A.	19,4	1,78
Thrombinzeit	sec	35,5	k.A.	k.A.	29,9	6,59
Alk. Phosphatase	U/l	209	198	231	212,6	36,42
AST (GOT)	U/l	106	175	146	138,3	25,15
ALT (GPT)	U/l	50	43	47	42,9	6,45
γ-GT	U/l	<1	<5	<5	k.A.	k.A.
GLDH	U/l	8,80	7,80	8,30	7,7	1,47
Bilirubin gesamt	mmol/l	1,80	<0,39	<0,39	2,1	0,18
Bilirubin direkt	mmol/l	0,50	0,30	<0,24	k.A.	k.A.
Bilirubin indirekt	mmol/l	1,30	<0,09	k.A.	k.A.	k.A.
Kreatinin	mmol/l	18,8	20,8	21,5	19,8	1,53
Harnstoff	mmol/l	8,61	6,52	7,98	7,7	1,06
Natrium	mmol/l	142	138	140	140,8	1,39
Kalium	mmol/l	4,4	5,7	5,6	4,9	0,51
Calcium	mmol/l	2,36	2,38	2,33	2,4	0,02
Phosphat	mmol/l	3,05	2,13	2,08	2,5	0,40
Eisen	mmol/l	22,1	32,1	23,1	27,0	6,60
Glukose	mmol/l	15,01	9,69	8,11	10,9	2,88
Albumin	g/l	29,7	32,3	30,9	30,5	1,52
Gesamteiweiß	g/l	54	59	55	55,9	2,42
Kreatinin (Urin)	g/l	0,65	0,68	0,50	0,7	0,13
Harnstoff (Urin)	mg/l	39350	44279	32818	47060,9	15791,76
Natrium (Urin)	mmol/l	59,00	69,00	53,00	68,1	14,18
Kalium (Urin)	mmol/l	188,0	202,0	168,0	215,6	50,01
Chlorid (Urin)	mmol/l	107,00	98,00	80,00	105,4	21,03
Phosphat (Urin)	mmol/l	0,39	<0,10	0,17	4,9	4,99
Ges.eiweiß (Urin)	mg/l	982	688	795	1060,3	365,93

Tab. Blut- und Urinwerte der Renvela®-Tiere (n=8)

Parameter	Einheit	# 1	# 2	# 3	# 4	# 5
Leukozyten	G/l	5,6	11,1	3,7	11,5	10,3
Erythrozyten	T/l	7,40	7,62	7,36	8,00	7,49
Hämoglobin	g/l	142	145	145	154	149
Hamatokrit	l/l	0,42	0,42	0,41	0,44	0,43
MCV	fl	56,9	55,1	56,0	55,4	57,7
HBE (MCH)	pg	19,2	19,0	19,7	19,3	19,9
MCHC	g/dl	33,7	34,5	35,2	34,8	34,5
Thrombozyten	G/l	909	939	1069	893	911
Neutrophile	%	13	11	12	20	15
Stabkernige	%	0	0	0	0	0
Lymphozyten	%	83	83	83	74	81
Monozyten	%	4	4	4	5	4
Eosinophile	%	1	1	1	1	1
Basophile	%	0	0	0	0	0
Sonst. Zellen	%	0	0	0	0	0
Neutrophile abs.	/µl	728	1221	444	2300	1545
Stabkernige abs.	/µl	0	0	0	0	0
Lymphozyten abs.	/µl	4648	9213	3071	8510	8343
Monozyten abs.	/µl	224	444	148	575	412
Eosinophile abs.	/µl	56	111	37	115	103
Basophile abs.	/µl	0	0	0	0	0
Sonst. Zellen abs.	/µl	0	0	0	0	0
Quick/TPZ	sec	23	24	21	18	20
PTT	sec	20,1	22,2	20,0	18,8	18,3
Thrombinzeit	sec	20,9	21,2	22,1	32,4	36,2
Alk. Phosphatase	U/l	285	185	211	177	236
AST (GOT)	U/l	152	144	188	111	<1
ALT (GPT)	U/l	38	10	59	46	<1
γ-GT	U/l	<5	<5	<5	<1	<1
GLDH	U/l	7,80	6,60	10,70	7,90	6,60
Bilirubin gesamt	mmol/l	<1,70	<1,70	1,80	1,50	0,90
Bilirubin direkt	mmol/l	<1,70	<1,70	<1,70	0,30	0,50
Bilirubin indirekt	mmol/l	k.A.	k.A.	>0,10	1,20	0,40
Kreatinin	mmol/l	18,0	14,0	21,5	21,3	16,9
Harnstoff	mmol/l	8,05	7,77	8,74	7,86	7,86
Natrium	mmol/l	144	145	144	140	143
Kalium	mmol/l	4,1	4,0	4,8	4,8	4,7
Calcium	mmol/l	2,36	2,40	2,49	2,33	2,33
Phosphat	mmol/l	2,31	2,48	3,30	2,56	2,25
Eisen	mmol/l	26,5	29,4	22,8	23,0	28,9
Glukose	mmol/l	8,62	7,31	12,63	15,71	7,87
Albumin	g/l	31,9	30,8	32,2	27,4	30,5
Gesamteiweiß	g/l	62	57	59	49	54
Kreatinin (Urin)	g/l	0,77	0,86	0,39	0,60	0,74
Harnstoff (Urin)	mg/l	49421	63068	26171	41918	48145
Natrium (Urin)	mmol/l	67,00	92,00	41,00	71,00	66,00
Kalium (Urin)	mmol/l	241,0	266,0	124,0	226,0	270,0
Chlorid (Urin)	mmol/l	104,00	157,00	61,00	95,00	118,00
Phosphat (Urin)	mmol/l	1,47	0,40	0,21	0,48	0,21
Ges.eiweiß (Urin)	mg/l	544	595	558	836	778

Tab. Blut- und Urinwerte der Renvela®-Tiere (n=8)

Parameter	Einheit	# 6	# 7	# 8	X	±s
Leukozyten	G/l	12,9	9,3	6,7	9,0	3,27
Erythrozyten	T/l	7,79	6,72	7,83	7,53	0,39
Hämoglobin	g/l	143	138	147	145	4,81
Hamatokrit	l/l	0,40	0,40	0,44	0,42	0,02
MCV	fl	51,9	60,1	55,6	56,1	2,35
HBE (MCH)	pg	18,4	20,5	18,8	19,4	0,67
MCHC	g/dl	35,4	34,2	33,8	34,5	0,61
Thrombozyten	G/l	1083	868	872	943	85,22
Neutrophile	%	17	13	19	15	3,34
Stabkernige	%	0	0	0	0	0,00
Lymphozyten	%	77	85	75	80	4,19
Monozyten	%	5	2	4	4	0,93
Eosinophile	%	1	1	2	1	0,35
Basophile	%	0	0	0	0	0,00
Sonst. Zellen	%	0	0	0	0	0,00
Neutrophile abs.	/µl	2193	1209	1273	1364	643,62
Stabkernige abs.	/µl	0	0	0	0	0,00
Lymphozyten abs.	/µl	9933	7905	5025	7081	2484,80
Monozyten abs.	/µl	645	186	268	363	184,91
Eosinophile abs.	/µl	129	93	134	97	34,32
Basophile abs.	/µl	0	0	0	0	0,00
Sonst. Zellen abs.	/µl	0	0	0	0	0,00
Quick/TPZ	sec	19	22	k.A.	21	2,16
PTT	sec	17,4	16,4	k.A.	19,0	1,93
Thrombinzeit	sec	43,0	36,6	k.A.	30,3	8,93
Alk. Phosphatase	U/l	212	150	270	216	46,22
AST (GOT)	U/l	135	151	174	151	25,18
ALT (GPT)	U/l	42	39	46	40	14,96
γ-GT	U/l	<1	<5	<5	k.A.	k.A.
GLDH	U/l	7,50	6,80	8,00	7,74	1,33
Bilirubin gesamt	mmol/l	1,70	<0,39	<0,39	k.A.	k.A.
Bilirubin direkt	mmol/l	0,60	0,30	0,30	0,40	0,14
Bilirubin indirekt	mmol/l	1,10	<0,09	<0,09	k.A.	k.A.
Kreatinin	mmol/l	21,3	24,7	24,7	20,3	3,75
Harnstoff	mmol/l	9,20	9,43	8,79	8,46	0,66
Natrium	mmol/l	141	141	139	142	2,17
Kalium	mmol/l	4,7	5,2	5,2	4,7	0,44
Calcium	mmol/l	2,32	2,36	2,42	2,38	0,06
Phosphat	mmol/l	2,15	2,08	2,00	2,39	0,41
Eisen	mmol/l	24,8	28,8	31,6	27,0	3,22
Glukose	mmol/l	10,81	8,86	9,61	10,18	2,80
Albumin	g/l	28,6	31,3	32,4	30,6	1,78
Gesamteiweiß	g/l	53	56	59	56	4,09
Kreatinin (Urin)	g/l	0,69	0,64	0,85	0,69	0,15
Harnstoff (Urin)	mg/l	41663	43952	55125	46183	10846,16
Natrium (Urin)	mmol/l	70,00	68,00	88,00	70,38	15,48
Kalium (Urin)	mmol/l	178,0	214,0	223,0	217,8	47,92
Chlorid (Urin)	mmol/l	102,00	107,00	117,00	107,63	26,76
Phosphat (Urin)	mmol/l	0,24	0,33	<0,10	0,48	0,45
Ges.eiweiß (Urin)	mg/l	670	573	1137	711	202,51

Tab. Blut- und Urinwerte der C-PAM-11-Tiere (n=8)

Parameter	Einheit	# 1	# 2	# 3	# 4	# 5
Leukozyten	G/l	6,3	5,2	9,1	10,3	8,7
Erythrozyten	T/l	7,49	7,73	7,46	7,77	7,92
Hämoglobin	g/l	141	145	146	155	156
Hamatokrit	l/l	0,42	0,42	0,44	0,46	0,45
MCV	fl	55,7	53,8	58,4	58,6	56,7
HBE (MCH)	pg	18,8	18,8	19,6	19,9	19,7
MCHC	g/dl	33,8	34,9	33,5	34,1	34,7
Thrombozyten	G/l	750	1060	949	757	909
Neutrophile	%	20	16	8	13	12
Stabkernige	%	0	0	0	0	0
Lymphozyten	%	77	80	90	80	85
Monozyten	%	2	3	2	5	3
Eosinophile	%	1	1	1	2	1
Basophile	%	0	0	0	0	0
Sonst. Zellen	%	0	0	0	0	0
Neutrophile abs.	/µl	1260	832	728	1339	1044
Stabkernige abs.	/µl	0	0	0	0	0
Lymphozyten abs.	/µl	4851	4160	8190	8240	7395
Monozyten abs.	/µl	126	156	182	515	261
Eosinophile abs.	/µl	63	52	91	206	87
Basophile abs.	/µl	0	0	0	0	0
Sonst. Zellen abs.	/µl	0	0	0	0	0
Quick/TPZ	sec	23	22	22	19	17
PTT	sec	21,7	17,4	20,5	18,9	13,7
Thrombinzeit	sec	27,7	25,5	26,9	34,7	24,0
Alk. Phosphatase	U/l	218	194	217	214	207
AST (GOT)	U/l	381	195	156	157	95
ALT (GPT)	U/l	300	38	28	57	51
γ-GT	U/l	<5	<5	<5	<1	<1
GLDH	U/l	10,30	13,50	6,60	7,70	6,00
Bilirubin gesamt	mmol/l	1,80	<1,70	<1,70	2,40	2,00
Bilirubin direkt	mmol/l	<1,70	<1,70	<1,70	0,50	0,40
Bilirubin indirekt	mmol/l	>0,1	k.A	k.A	1,90	1,60
Kreatinin	mmol/l	26,1	24,3	23,2	23,9	24,5
Harnstoff	mmol/l	9,71	10,55	9,68	9,03	8,53
Natrium	mmol/l	140	142	142	139	143
Kalium	mmol/l	4,8	4,6	4,7	5	4,1
Calcium	mmol/l	2,52	2,59	2,62	2,55	2,58
Phosphat	mmol/l	1,94	2,02	1,91	1,96	1,88
Eisen	mmol/l	26,1	20,9	25,5	53,3	41,4
Glukose	mmol/l	12,11	9,75	8,90	12,23	10,89
Albumin	g/l	29,0	31,3	31,9	29,4	30,5
Gesamteiweiß	g/l	54	58	59	53	57
Kreatinin (Urin)	g/l	0,65	0,9	0,76	0,77	0,71
Harnstoff (Urin)	mg/l	48652	58296	60783	59694	51991
Natrium (Urin)	mmol/l	54,00	67,00	70,00	35,00	30,00
Kalium (Urin)	mmol/l	193,00	211,00	281,00	266,00	196,00
Chlorid (Urin)	mmol/l	87,00	114,00	114,00	120,00	124,00
Phosphat (Urin)	mmol/l	0,35	0,29	0,23	0,32	0,20
Ges.eiweiß (Urin)	mg/l	852	940	1042	825	944

Tab. Blut- und Urinwerte der C-PAM-11-Tiere (n=8)

Parameter	Einheit	# 6	# 7	# 8	X	±s
Leukozyten	G/l	7,4	6,3	4,7	7,3	1,96
Erythrozyten	T/l	7,91	7,49	7,28	7,63	0,23
Hämoglobin	g/l	156	147	138	148	6,97
Hamatokrit	l/l	0,45	0,44	0,41	0,44	0,02
MCV	fl	56,8	58,6	55,8	56,8	1,70
HBE (MCH)	pg	19,7	19,6	19,0	19,4	0,45
MCHC	g/dl	34,7	33,5	34,0	34,2	0,56
Thrombozyten	G/l	966	855	859	888	105,54
Neutrophile	%	18	28	23	17	6,43
Stabkernige	%	0	0	0	0	0,00
Lymphozyten	%	77	67	73	79	7,03
Monozyten	%	3	4	3	3	0,99
Eosinophile	%	2	2	2	2	0,53
Basophile	%	0	0	0	0	0,00
Sonst. Zellen	%	0	0	0	0	0,00
Neutrophile abs.	/µl	1332	1764	1081	1173	327,13
Stabkernige abs.	/µl	0	0	0	0	0,00
Lymphozyten abs.	/µl	5698	4221	3431	5773	1923,91
Monozyten abs.	/µl	222	252	141	232	124,91
Eosinophile abs.	/µl	148	126	94	108	50,16
Basophile abs.	/µl	0	0	0	0	0,00
Sonst. Zellen abs.	/µl	0	0	0	0	0,00
Quick/TPZ	sec	18	20	21	20	2,12
PTT	sec	20,9	17,3	17,8	18,5	2,57
Thrombinzeit	sec	35,2	37,2	38,9	31,3	5,84
Alk. Phosphatase	U/l	239	225	266	223	21,86
AST (GOT)	U/l	121	255	197	195	89,95
ALT (GPT)	U/l	40	50	40	76	91,16
γ-GT	U/l	<1	<5	<5	k.A.	k.A.
GLDH	U/l	7,10	9,10	7,30	8,45	2,46
Bilirubin gesamt	mmol/l	2,10	<0,39	<0,39	k.A.	k.A.
Bilirubin direkt	mmol/l	0,50	0,30	0,30	0,40	0,10
Bilirubin indirekt	mmol/l	1,60	<0,09	<0,09	k.A.	k.A.
Kreatinin	mmol/l	18,8	28,5	25,3	24,3	2,77
Harnstoff	mmol/l	8,71	8,66	9,37	9,28	0,69
Natrium	mmol/l	142	139	139	141	1,67
Kalium	mmol/l	4,6	5,6	5,9	4,9	0,58
Calcium	mmol/l	2,50	2,54	2,61	2,56	0,04
Phosphat	mmol/l	1,92	1,82	1,71	1,90	0,09
Eisen	mmol/l	21,1	30,1	23,9	30,3	11,38
Glukose	mmol/l	10,29	7,82	10,10	10,26	1,50
Albumin	g/l	32	33,1	31,9	31,1	1,40
Gesamteiweiß	g/l	58	59	56	57	2,25
Kreatinin (Urin)	g/l	0,83	0,68	0,86	0,77	0,09
Harnstoff (Urin)	mg/l	51532	48574	63433	55369	5843,63
Natrium (Urin)	mmol/l	45,00	47,00	42,00	48,75	14,22
Kalium (Urin)	mmol/l	246,00	226,00	266,00	235,63	34,01
Chlorid (Urin)	mmol/l	113,00	106,00	143,00	115	15,86
Phosphat (Urin)	mmol/l	0,44	0,43	0,35	0,33	0,09
Ges.eiweiß (Urin)	mg/l	730	675	1584	949	282,79

Tab.: Von Synlab bestimmte rel. Urinphosphatkonzentrationen in mmol/l der einzelnen Tiere während der 5 Wochen des Versuchs und als Durchschnitt (X + s) pro Woche der Kontrolltiere (n=8), Renvela®-Tiere (n=8) und C-PAM-11 Tiere (n=8)

Tier#	relative Urinphosphatkonzentration (mmol/l)				
Kontrolle	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	1,58	2,13	1,57	4,24	10,77
2	1,95	1,64	1,19	0,60	12,11
3	2,22	2,04	1,62	0,79	6,70
4	4,21	2,91	3,01	7,20	3,27
5	2,20	1,60	4,89	4,28	1,08
6	1,44	2,03	0,87	0,55	0,39
7	0,53	0,47	0,16	<0,10	<0,10
8	0,22	0,35	<0,10	<0,10	0,17
X ± s	1,79 ± 1,22	1,65 ± 0,86	1,90 ± 1,58	2,94 ± 2,74	4,93 ± 4,99
Renvela®	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	6,94	10,74	1,99	<0,10	1,47
2	6,94	0,66	0,66	<0,10	0,40
3	2,14	3,49	1,65	0,36	0,21
4	1,40	0,74	0,31	0,72	0,48
5	1,32	<0,10	0,50	0,61	0,21
6	0,97	0,61	0,38	0,42	0,24
7	1,23	0,43	0,22	0,13	0,33
8	0,70	0,41	<0,10	<0,10	<0,10
X ± s	2,71 ± 2,65	2,44 ± 3,82	0,82 ± 0,71	0,45 ± 0,23	0,48 ± 0,45
C-PAM-11	Anfangswerte	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
1	21,24	0,28	0,38	<0,10	0,35
2	5,76	0,47	0,46	<0,10	0,29
3	1,41	0,28	0,56	0,20	0,23
4	2,46	<0,10	0,93	0,38	0,32
5	10,60	0,68	0,70	0,18	0,20
6	1,06	<0,10	0,68	0,39	0,44
7	0,59	<0,10	<0,10	<0,10	0,43
8	0,94	0,13	<0,10	<0,10	0,35
X ± s	5,51 ± 7,22	0,37 ± 0,21	0,62 ± 0,20	0,29 ± 0,11	0,33 ± 0,09

9.2. Publikationsverzeichnis

Vortrag:

J Gläser, T M-H Nguyen, I Gemeinhardt, M Ebert, R Klopffleisch, J Schnorr, S Wagner and M Taupitz. Beyond Contrast Media: Magnetic Iron Oxide Nanoparticles as an Efficient New Oral Phosphate Adsorber - First Experimental in vivo Results. CMR Symposium. Peking. 2013

Poster:

J Gläser, I Gemeinhardt, T M-H Nguyen, M Ebert, R Klopffleisch, J Schnorr, S Wagner, M Taupitz. Maghemite-Based Nanoparticles as an Efficient New Oral Phosphate Adsorber: Preclinical in-vivo Results. AAPS Annual Meeting and Exposition. San Antonio. 2013

Susanne Wagner, Jörg Schnorr, Janna Gläser, Ines Gemeinhardt, Monika Ebert, Robert Klopffleisch, Matthias Taupitz. 2014. Maghemite iron oxide nanoparticles as efficient oral phosphate adsorber. 51st ERA-EDTA Congress. Amsterdam. 2014

Patent:

Susanne Wagner, Matthias Taupitz, Eyk Schellenberger, Jörg Schnorr, Monika Ebert, Gesche Genter, Harald Kratz. Charité - Universitätsmedizin Berlin. Nanoparticulate phosphate adsorbent on the basis of maghemite or maghemite/magnetite, production and uses thereof. WO 2013/034267 A1. 14 March 2013

9.3. Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt allen, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben! An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dipl.-Phys. Matthias Taupitz für die Überlassung des Themas und die schnelle und unkomplizierte Aufnahme in die Arbeitsgruppe bedanken.

Ein besonderer Dank gilt auch meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Robert Klopffleisch für seinen fachlichen Rat, seine große Hilfsbereitschaft und vor allem für die Motivation und Zuversicht, die er mir immer wieder aufs Neue schenkte.

Frau Dr. Susanne Wagner und Herrn Dr. Jörg Schnorr möchte ich für Ihre intensive Betreuung, Ihre unermüdliche Unterstützung, Ihr Vertrauen in mich und nicht zuletzt für Ihr motivierendes Lob danken.

Frau Dr. Ines Gemeinhardt und Frau Janni Breinl gilt ein großes Dankeschön für die geduldige Einarbeitung in die histologische Aufarbeitung der Organe und all die weiteren Hilfestellungen, die sie mir in den beiden Jahren gaben.

Dr. Constantin Scharlach möchte ich für die Hilfe in allen möglichen Belangen, das stets offene Ohr, die Entkräftung meiner Sorgen und nicht zuletzt für die witzige Zeit danken.

Frau Monika Ebert gilt mein großer Dank für die aufwendige Synthese des in der vorliegenden Arbeit verwendeten Wirkstoffes, aber auch für die wichtigen Hilfestellungen und Erklärungen bei der Laborarbeit.

Dr. Ralf Hauptmann möchte ich dafür danken, dass er mir in allen chemischen Bereichen mit Rat und Tat zur Seite stand.

Allen Mitarbeitern der experimentellen Radiologie möchte ich für die familiäre Arbeitsatmosphäre, die anregenden Diskussionen und die schöne Zeit in den letzten Jahren danken.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie und meinen Freunden danken, ohne deren Unterstützung die Anfertigung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

9.4. Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, Janna Luisa Gläser, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel „*Erste präklinische in vivo Studie zur Wirksamkeit eines Maghemit-basierten Wirkstoffes zur Behandlung der Hyperphosphatämie*“ selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 13.03.2015

Janna Gläser