

4 Diskussion

4.1 Pharmakokinetik der Markersubstanz Kreatinin nach oraler oder subcutaner Applikation

In den durchgeführten Untersuchungen konnte das intestinale Absorptions- und subcutane Resorptionsverhalten für die Markersubstanz Kreatinin bei Hunden ermittelt werden. Kreatinin erreichte in der Dosierung von 4 g/m^2 nach oraler Applikation im nüchternen Zustand der Probanden eine Maximalkonzentration im Serum von $c_{\max} \leq 1519,5 \text{ } \mu\text{mol/l}$. Auffallend war die größere Spannweite der Serum-[Kreatinin] bei den Feldtieren. Bei den untersuchten Probanden aus dieser Gruppe ($n=9$) erreichte Kreatinin eine $c_{\max} = 574,3\text{-}1470,8 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ($947 \pm 292,86 \text{ } \mu\text{mol/l}$). In der Gruppe der Versuchstiere ($n=17$) betrug die Variationsbreite für $c_{\max, \text{Krea}} = 988,5\text{-}1519,7 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ($1282,3 \pm 174,14 \text{ } \mu\text{mol/l}$). Eine mögliche Ursache für die größere Streuung in der Gruppe der Feldtiere könnte das Vorliegen von Probanden mit höherem Lebensalter ($5,5 \pm 2,9$ Jahre) und die abweichende Rasseverteilung sein. Nicht aufgenommenes Kreatinin wird über die Faeces ausgeschieden. Nach Messung des im Kot vorhandenen Kreatinins könnte in weiterführenden Untersuchungen die Bioverfügbarkeit des oral aufgenommenen Kreatinins exakter bestimmt werden.

Nach oraler Verabreichung von Kreatinin im gefütterten Zustand der Probanden konnten ähnliche Verhältnisse des Absorptionsverhaltens beobachtet werden. Die $c_{\max, \text{Krea}}$ betrug nach oraler Verabreichung im gefütterten Zustand $\leq 1500,9 \text{ } \mu\text{mol/l}$. Bei den Versuchstieren betrug die Spannweite von $c_{\max, \text{Krea}} = 546,9\text{-}1500,9 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ($943,6 \pm 201,3 \text{ } \mu\text{mol/l}$), bei den Feldtieren $656,6\text{-}736,3 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ($689,4 \pm 41,5 \text{ } \mu\text{mol/l}$).

Nach subcutaner Injektion des Markers Kreatinin konnten sowohl bei ungefütterten ($n=7$) als auch gefütterten Tieren ($n=17$) ähnliche Maximalkonzentrationen ermittelt werden. Im Nüchtern-Zustand betrug der Wert $c_{\max, \text{Krea}} \leq 910,6 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ($670 \pm 105,98 \text{ } \mu\text{mol/l}$) und nach Fütterung $\leq 920,35 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ($699,4 \pm 74,51 \text{ } \mu\text{mol/l}$). Der Einfluss der Nahrung bleibt in den Fällen der subcutanen Applikation des Markers ohne Auswirkung auf die Maximalkonzentration des Serum-Kreatinins. Der insgesamt niedrigere Wert ergibt sich u.a. aus der geringeren verabreichten Kreatinin-Dosis ($2 \text{ g pro m}^2 \text{ KOF}$) im Vergleich zur oralen Dosis mit $4 \text{ g/m}^2 \text{ KOF}$. Außerdem dürfte die intestinale Absorption von Kreatinin relativ zu stärkeren „Verlusten“ auf dem Weg des Markers ins Blut führen als vergleichsweise die subcutane Resorption. Nachdem die Maximalkonzentration des Markers Kreatinin im Serum erreicht ist, fallen die Werte in einem bestimmten Zeitfenster nahezu kontinuierlich wieder ab. Der monoexponentielle Teil der Ausscheidungskurve beginnt in der logarithmischen Darstellung dann, wenn diese Ausscheidungskurve eine Gerade bildet. Anhand der Punkte auf dieser Linie kann die

Ausscheidungsgleichung berechnet werden. Wenn sich der Wert des Exponenten β nicht mehr ändert, ist die monoexponentielle Phase erreicht. Um diesen Zeitabschnitt bei den Applikationsarten oral und subcutan im Nüchtern-Zustand bzw. Zustand nach Fütterung zu ermitteln, wurden die Berechnungen und Vergleiche mit den Exponenten angestellt.

Nach oraler Verabreichung der Markersubstanz Kreatinin im Nüchtern-Zustand bestand die Phase der monoexponentiellen Ausscheidung, in der sich die Exponenten β nicht oder nur unwesentlich änderten, in der Gruppe der Versuchstiere zwischen 2,5 und 12 h sowie in der Gruppe der Feldtiere zwischen 3,5 und 19,5 h nach Markerzuführung. Nach oraler Applikation des Kreatinins im gefütterten Zustand konnte die monoexponentielle Phase im Bereich zwischen 3 und 12 h bei den Versuchstieren und zwischen 4 und 19,5 h bei den Feldtieren ermittelt werden.

Nach subcutaner Verabfolgung von Kreatinin an die Versuchstiere im Nüchtern-Zustand bestand die monoexponentielle Ausscheidungsphase zwischen 3 und 9 h und im gefütterten Zustand zwischen 1,5 und 12 h.

4.2 Intestinale Absorption von Xylose und Kreatinin nach oraler Gabe der Testsubstanzen

Anhand der vorliegenden Ergebnisse konnte die Absorptions- und Ausscheidungssituation der Markersubstanz Kreatinin mit Xylose an Hunden verglichen werden. Die intestinale Absorption von Xylose wurde an n=17 Hunden der Rasse Beagle ermittelt. Vergleichend dazu standen die gleichen Versuchstiere zur Verfügung, um die Absorptions- und Eliminationsprozesse der Markersubstanz Kreatinin nach oraler Gabe zu beschreiben. Ergänzt wurden diese Versuchsreihen durch orale Gabe von Kreatinin an n=12 Feldtiere verschiedener Hunderassen.

Die Markersubstanz Kreatinin wird nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit im Darm absorbiert. Um auf die Absorptionsmechanismen von Kreatinin an der Darmwand schließen zu können, wurden die pharmakokinetischen Parameter der Absorption von Kreatinin mit denen der Absorptionskurve von Xylose verglichen. Dabei stellten sich Unterschiede zwischen beiden Substanzen heraus.

Der Gipfel der Absorptionskurve von Kreatinin im Serum wird nach oraler Applikation im Nüchtern-Zustand 30 bis 130 min und im gefütterten Zustand 30 bis 180 min später im Vergleich zu Xylose erreicht. Dies könnte auf einem unterschiedlichen Absorptionsmechanismus beider Substanzen beruhen. Die Aufnahme von Xylose entspricht einem Passivtransport im Duodenum und oberen Jejunum. Daneben existiert ein Aktivtransport, gewährleistet durch ein

enterales Transportsystem für Zuckermoleküle (Fordtran et al., 1962, Fowler und Cooke, 1960).

Das enterale Absorptionsverhalten von Kreatinin ist noch nicht genau bekannt. Die vorliegenden Ergebnisse lassen auf einen Transport durch die Mukosa in einem distal gelegenen Darmabschnitt schließen. Da das natriumabhängige Transportsystem im Darm für Kreatin durch Kreatinin hemmbar ist (Wyss und Kaddurah-Daouk, 2000), kann vermutet werden, dass Kreatinin selbiges System zur Aufnahme in die Enterozyten nutzt. Weitere Untersuchungen zum Absorptionsverhalten von Kreatinin mit Zugabe verschiedener Nahrungskomponenten sind nötig, um einen solchen Einfluss zu beweisen.

Zu vermuten ist weiterhin, dass neben aktivem Transport Kreatinin auch passiv absorbiert wird.

Unterstützt wird diese Annahme durch die Tatsache, dass Kreatinin die Muskelzelle als Stoffwechselprodukt durch einfache Diffusion verlassen kann. Ein passiver Transport erscheint deshalb auch im Darm möglich.

Die orale Applikation der Marker im nüchternen und gefütterten Zustand der Probanden führte zu unterschiedlichen Serum- Zeitkonzentrationen der Substanzen. Die Maximalkonzentrationen c_{\max} im Serum der Versuchstiere wurden bei Kreatinin ($t_{\max} = 60$ bis 150 min) als auch Xylose ($t_{\max} = 30$ bis 120 min) im gefütterten Zustand über einen längeren Zeitraum erreicht, als nach Applikationen im nüchternen Zustand ($t_{\max, \text{Krea}} = 60$ bis 120 min; $t_{\max, \text{Xyl}} = 30$ bis 90 min). Die Maximalkonzentrationen von Xylose im Serum erreichten Werte von $\leq 5,27$ mmol/l im nüchternen Zustand und $\leq 3,28$ mmol/l bei den gefütterten Hunden. Dies deckt sich nur teilweise mit den Untersuchungen von Hill (1970), der Maximalkonzentrationen von ca. 3 mmol/l 60-90 min nach oraler Verabreichung mit gleicher Markerdosierung ermitteln konnte.

Bei oraler Applikation von Xylose und Kreatinin spielt die Fütterung eine wesentliche Rolle. Fütterung bewirkt eine erhöhte Magenentleerungsfrequenz und eine verstärkte Darmmotilität. Für die Messung der GFR mittels Kreatinin-Clearance nach oraler Gabe der Markersubstanz hat das wichtige Konsequenzen. Soll der Einfluss von Nahrung auf die Messung ausgeschlossen werden, muss die Ermittlung der P-CL im nüchternen Zustand erfolgen. In den durchgeführten Versuchsreihen bedeutete nüchtern eine zwölfstündige Fastenzeit. Wasser stand stets ad libitum zur Verfügung und scheint auf das Absorptionsverhalten beider Substanzen keinen entscheidenden Einfluss zu haben.

Die endogenen Ausgangswerte von Kreatinin im Serum wurden 24 Stunden nach oraler Markerapplikation wieder erreicht. Xylose zeigte bereits nach 6 Stunden Serum-Werte, die nahe den Ausgangswerten lagen.

Es war weiterhin auffällig, dass Kreatinin in den terminalen Abschnitten der Ausscheidungskurve bei einigen Probanden keinen regelmäßigen Abfall der Serumkonzentrationskurve zeigte. So war erkennbar, dass in Zeitabschnitten ab 12 Stunden sowohl im gefütterten Zustand als auch im Nüchtern-Zustand bei den Versuchstieren keine brauchbare Messung der Serum-[Kreatinin] möglich war. Nach einem Abfall der Serum-[Kreatinin] stiegen die Werte nach diesen Zeiten teilweise geringfügig wieder an. Bei den Feldtieren waren brauchbare Messungen bis zu einem Zeitpunkt von 19,5 Stunden möglich. Die Messung der Serum-[Kreatinin] nach subcutaner Applikation im gefütterten bzw. nüchternen Zustand war bis zu einem Zeitpunkt von 12 bzw. 9 Stunden möglich.

Die gefundenen Ergebnisse deuten auf einen Zustand in terminalen Ausscheidungsabschnitten hin, der mit einer veränderten Ausscheidungskapazität der Nieren für Kreatinin oder mit einer verstärkten Zufuhr von exogenem Kreatinin in diesen Zeitabschnitten verbunden ist.

Zu dem ermittelten Phänomen des Kreatininanstiegs in terminalen Ausscheidungsabschnitten kam es vor allen Dingen bei den Messungen, die in den Nachtstunden vorgenommen wurden. Es ist bekannt, dass die GFR in der Nacht bis zu 30 % unter der Tagesnorm liegen kann (Greger, 1994). Eine verstärkte Absorption in diesen Zeitabschnitten kann hingegen abgelehnt werden, zumal es auch bei den nüchternen Patienten beobachtet werden kann. Annehmbar ist allerdings die Vermutung, dass Kreatinin auch in den terminalen Zeitabschnitten aus dem Darm absorbiert wird. Sinkt die GFR in diesen Zeiträumen ab, steigt die Serum-[Kreatinin] bei verminderter GFR und unveränderter Absorption von Kreatinin aus dem Darm an. Das verstärkte Vorhandensein eines tubulären Reabsorptionsmechanismus in dieser Zeit erscheint unwahrscheinlich.

Das Absorptions- und Ausscheidungsverhalten der Hunde nach Applikation von Xylose unterscheidet sich in diesem Punkt von Kreatinin. In den terminalen Abschnitten der Xyloseausscheidung erfolgte im Bereich von 4-6 Stunden ein gleichmäßiger Abfall der Serum-[Xylose]. Ein Anstieg der Serum-[Xylose] war nur bei einigen Probanden im gefütterten Zustand erkennbar. Da Xylose aktiv gegen einen transmembranösen Konzentrationsgradienten in die Enterozyten aufgenommen wird und dieser Transporter auch von Glucose genutzt wird, ist vom Einfluss der Nahrung bei den gefütterten Hunden auszugehen. Xylose und in der Nahrung befindliche Glucose konkurrieren um das gleiche Transportsystem. Deshalb kommt es

insbesondere in den Fällen mit Fütterung vor Testdurchführung zu einer verminderten Absorption von Xylose.

4.3 Werte für die Plasma-Clearance Kreatinin, exogen nach oraler und subcutaner Verabreichung von Kreatinin

Bei der Ermittlung der $P\text{-CL}_{\text{Kreatinin, exogen}}$ konnten ähnliche Werte, wie in der Literatur beschrieben, ermittelt werden. Die Befunde bei den Versuchstieren lagen durchweg höher als bei den zur Verfügung stehenden Feldtieren. Im nüchternen Zustand nach oraler Applikation konnten Werte von $99,8 \pm 19,53$ und $102,9 \pm 20,17 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ ermittelt werden. Diese Daten decken sich in etwa mit den von Ewald (1967) gefundenen Ergebnissen beim Hund. Auch die von Houck (1948) ermittelten Befunde zeigten ähnliche Ausmaße bei der gleichen Spezies ($84,4 \pm 19,1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$).

Im gefütterten Zustand sind die GFR- Werte deutlich höher. Sie erreichten Werte bis $131,6 \pm 27,78 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. Da die in der Literatur erwähnten Untersuchungen zur GFR- Bestimmung im Regelfall unter nüchternen Bedingungen durchgeführt wurden, fehlen entsprechende Vergleichswerte in der Kategorie gefütterter Probanden. Die deutliche Erhöhung der GFR beim Hund nach einer Mahlzeit zeigten auch Lee et al. (1983) in ihren Untersuchungen.

Eine gleiche Situation konnte auch nach subcutaner Applikation ermittelt werden. Die GFR war auch dort im gefütterten Zustand höher als im nüchternen Zustand. Doch die Werte differierten weniger stark als bei den oralen Applikationen ($113,7 \pm 11,50 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ und $117,5 \pm 14,03 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$).

Die gefundenen Abhängigkeiten konnten durch die statistische Auswertung unterstrichen werden.

Keine signifikanten Unterschiede bestanden zwischen den Clearancewerten nach subcutaner und oraler Applikation im Nüchtern-Zustand. Alle anderen Vergleichspaare der Applikationsarten waren im Wilcoxon-Test signifikant verschieden.

Auch der Bezug der GFR-Werte auf die Körpermasse lieferte Werte, die den in der Literatur beschriebenen Werten ähnelten. Im nüchternen Zustand nach oraler Applikation wurden Ergebnisse zwischen $3,6 \pm 0,45$ und $4,6 \pm 0,98 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ermittelt.

Die Clearancewerte für exogen zugeführtes Kreatinin bezogen auf die Körpermasse variieren nach verschiedenen Untersuchern im Bereich zwischen $4,08 \pm 0,5$ und $4,35 \pm 0,26 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Houck, 1948, Ewald, 1967, Finco et al., 1981).

Die im Rahmen dieser Untersuchungen ermittelten $P\text{-}CL_{\text{Kreatinin,exogen}}$ erhöhten sich nach oraler Applikation der Markersubstanz Kreatinin im gefütterten Zustand auf Werte bis zu $6,1 \pm 1,35 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$.

4.4 Praktischer Ausblick auf die Ermittlung der Nierenfunktion mittels P-CL nach Zufuhr von exogenem Kreatinin in der tierärztlichen Praxis

Anhand der vorliegenden Ergebnisse lässt sich die Möglichkeit der Bestimmung der GFR mittels der modifizierten exogenen Kreatinin-Clearance herleiten. Das in dieser Arbeit genutzte Verfahren ist zur Ermittlung der Kreatinin-Clearance als Parameter zur Bestimmung der GFR geeignet. Anhand des Vergleiches des terminalen Ausscheidungsverhaltens von Hunden nach Applikation der Markersubstanz Kreatinin unter Beeinflussung der Fütterungszeitpunkte (12h nüchtern, Fütterung) konnte gezeigt werden, dass für die Messung der Serum-[Kreatinin] der Fütterungszustand eine wichtige Rolle spielt. Brauchbare Befunde zur Ermittlung der GFR mit Hilfe der Clearance nach oraler und subcutaner Applikation von Kreatinin konnten bei allen Probanden nur unter Nüchternbedingungen erzielt werden.

Die erste Blutabnahme muss vor Verabreichung des Markers Kreatinin zur Bestimmung des endogenen Kreatininspiegels durchgeführt werden. Eine zweite Blutprobe kann frühestens 2,5 Stunden nach Gabe exogenen Kreatinins genommen werden. Bis zum Zeitpunkt 9 Stunden nach Markerapplikation ist die dritte Blutprobenentnahme möglich.

Da zwei Punkte auf der halblogarithmischen Serumkonzentrations-Zeit-Kurve per definitionem immer auf einer Geraden liegen, sollte immer eine dritte Blutprobe im Zeitfenster von 2,5 bis 9 h bestimmt werden. Über drei Messpunkte kann die Qualität der Messergebnisse festgestellt werden (s. auch Finnah, 2003). Die Anpassung der drei Punkte an die Regressionsgerade ist ermittelbar. Erreicht dieses Bestimmungsmaß Werte unter $R^2 = 0,994$ liegen die gemessenen Werte der Serum-[Kreatinin] nur ungenügend auf einer Geraden. Der Funktionstest ist zu wiederholen.

Das in den Versuchen festgestellte Zeitfenster zur Blutprobenentnahme von 2,5 bis 9 h nach Applikation exogenen Kreatinins erlaubt die Durchführung des Funktionstest in der tierärztlichen Praxis. Beginnt der Untersucher mit der Applikation des Markers am Vormittag, kann der Test innerhalb eines Tages abgeschlossen werden. Dadurch wird auch die Blutabnahme in den Nachtstunden verhindert, in denen die GFR um etwa ein Drittel der Tagesnorm abfallen kann (s. Finnah, 2003).

Die Wahl der Applikationsart übt einen wesentlichen Einfluss auf die Genauigkeit der GFR-Messung aus. So ist den Applikationsarten oral und subcutan im Nüchtern-Zustand gegenüber

beiden Applikationsformen im gefütterten Zustand der Probanden der Vorzug zu geben. Mit diesen Testbedingungen kann der Einfluss von Fütterung auf die Absorption bzw. Resorption des Kreatinins und damit auf die zu ermittelnden Werte der GFR minimiert werden.

Zwischen den ermittelten Clearancewerten nach subcutaner und oraler Applikation des Markers Kreatinin im nüchternen Zustand bestanden keine statistisch nachweisbaren Unterschiede. Die subcutane und orale Applikation hat gegenüber der i.v.- Verabreichung der Markersubstanz Kreatinin den Vorteil, dass im Fall der oralen Gabe nur eine Tablettenformulierung eingegeben werden muss und bei subcutaner Applikation nur eine Injektion erfolgen muss. Die i.v.- Applikation erfordert zeitlich mehr Aufwand und ist unter den Bedingungen der tierärztlichen Praxis oftmals nur mit Hilfspersonal durchführbar.