

Aus der Abteilung Forschung - Röntgenkontrastmittel  
der Schering AG, Berlin  
Betreuer: Apl.-Prof. Dr. W. Krause

Eingereicht über das Institut für Veterinärpharmakologie  
und -toxikologie der Justus-Liebig-Universität Gießen  
im Fachbereich vertreten durch: Prof. Dr. E. Petzinger

Einfluß von iso- und hyperosmolaren Röntgenkontrastmitteln  
auf die glomeruläre Filtrationsrate beim Hund  
- Etablierung eines neuen Tiermodells -

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades beim  
Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von  
**Thomas Gilles**  
Tierarzt aus Bensberg

Gießen 2001

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. M. Reinacher

---

1. Berichterstatter: Apl.-Prof. Dr. W. Krause

2. Berichterstatter: Prof. Dr. E. Petzinger

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Januar 2001

meinem Vater



# Inhaltsverzeichnis

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. Einleitung .....</b>   | <b>11</b> |
| 1.1. Zielsetzung und Problemstellung   |           |
| 1.1.1. Zielsetzung .....   | 11        |
| 1.1.2. Problemstellung .....   | 11        |
| 1.2. Literaturübersicht  |           |
| 1.2.1. Überblick über Röntgenkontrastmittel .....  | 15        |
| <b>2. Material und Methoden .....</b>  | <b>17</b> |
| 2.1. Verlauf der Serumkreatininkonzentration nach einmaliger intravenöser Applikation<br>eines Kreatininbolus (Vorversuch A) |           |
| 2.1.1. Beschreibung der Versuchsanordnung .....  | 17        |
| 2.1.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen .....   | 18        |
| 2.1.3. Behandlungsschema .....   | 18        |
| 2.1.4. Meßmethoden.....  | 18        |
| 2.2. Einfluß eines ionischen, hochosmolaren Röntgenkontrastmittels auf die Ausscheidung<br>eines Kreatininbolus (Versuch 1)  |           |
| 2.2.1. Beschreibung der Versuchsanordnung .....  | 19        |
| 2.2.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen .....   | 19        |
| 2.2.3. Behandlungsschema .....   | 20        |
| 2.2.4. Meßmethoden.....  | 20        |
| 2.3. Einfluß der Osmolalität auf die Kreatininbolusausscheidung (Versuch 2)  |           |
| 2.3.1. Beschreibung der Versuchsanordnung .....  | 20        |
| 2.3.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen .....   | 21        |
| 2.3.3. Behandlungsschema .....   | 21        |
| 2.3.4. Meßmethoden.....  | 22        |

|  |    |
|--|----|
| 2.4. Vergleich der Einflüsse eines hochosmolaren bzw. eines isoosmolaren Röntgenkontrastmittels auf die Kreatininbolusausscheidung (Versuch 3)                                       |    |
| 2.4.1. Beschreibung der Versuchsanordnung .....  | 23 |
| 2.4.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen .....   | 23 |
| 2.4.3. Behandlungsschema .....   | 24 |
| 2.4.4. Meßmethoden.....  | 25 |
| 2.5. Untersuchung der Pharmakokinetik von Inulin und Paraaminohippursäure (Vorversuch B; Teil 1);<br>Überprüfung der berechneten Initial- und Erhaltungsdosis (Vorversuch B; Teil 2) |    |
| 2.5.1. Beschreibung der Versuchsanordnung .....  | 25 |
| 2.5.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen .....   | 29 |
| 2.5.3. Behandlungsschema .....   | 29 |
| 2.5.4. Meßmethoden.....  | 30 |
| 2.6. Untersuchung des Wirkmechanismus der Röntgenkontrastmittel auf die Kreatininbolusausscheidung (Versuch 4)   |    |
| 2.6.1. Beschreibung der Versuchsanordnung .....  | 31 |
| 2.6.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen .....   | 34 |
| 2.6.3. Behandlungsschema .....   | 35 |
| 2.6.4. Meßmethoden.....  | 35 |
| 2.7. Verwendete Materialien  |    |
| 2.7.1. Eingesetzte Röntgenkontrastmittel .....   | 38 |
| 2.7.2. Lösungen.....   | 39 |
| 2.8. Pharmakokinetische Auswertung   |    |
| 2.8.1. TOPFIT-Auswertung.....  | 39 |
| 2.8.2. Clearanceberechnung mit EXCEL .....   | 40 |
| 2.9. Statistische Auswertung .....   | 41 |

|  |            |
|--|------------|
| <b>3. Ergebnisse .....</b>   | <b>42</b>  |
| 3.1. Ergebnisse Vorversuch A   |            |
| 3.1.1. Serumkreatininkonzentrationen nach Gabe eines i.v.-Bolus .....  | 42         |
| 3.2. Ergebnisse Versuch 1  |            |
| 3.2.1. Einfluß eines hochosmolaren Röntgenkontrastmittels auf die Ausscheidung eines<br>Kreatininbolus.....  | 45         |
| 3.3. Ergebnisse Versuch 2  |            |
| 3.3.1. Herstellung einer dem Angiografin® gleichosmolalen Mannitollösung .....   | 49         |
| 3.3.2. Anteil der Osmolalität an dem Einfluß des Röntgenkontrastmittels auf die<br>Ausscheidung eines Kreatininbolus .....                         | 51         |
| 3.4. Ergebnisse Versuch 3  |            |
| 3.4.1. Vergleich der Einflüsse eines hochosmolaren bzw. eines isoosmolaren<br>Röntgenkontrastmittels auf die Kreatininbolusausscheidung .....      | 57         |
| 3.5. Ergebnisse Vorversuch B   |            |
| 3.5.1. Untersuchung der Pharmakokinetik von Inulin und Paraaminohippursäure<br>(Vorversuch B; Teil 1) .....  | 69         |
| 3.5.2. Ergebnisse der Überprüfung der berechneten Initial- und Erhaltungsdosis für<br>Inulin und Paraaminohippursäure (Vorversuch B; Teil 2) ..... | 72         |
| 3.6. Ergebnisse Versuch 4  |            |
| 3.6.1. Einfluß der Röntgenkontrastmittel auf die Inulinclearance .....   | 77         |
| 3.6.2. Einfluß der Röntgenkontrastmittel auf die PAH-Clearance.....  | 100        |
| 3.6.3. Veränderungen des Harnflusses und des Hämatokrits im Versuchsverlauf .....  | 112        |
| 3.6.4. Ergebnisse der Endothelin-1-Bestimmungen .....  | 120        |
| <b>4. Diskussion .....</b>   | <b>129</b> |
| <b>5. Zusammenfassung .....</b>  | <b>152</b> |
| <b>6. Summary .....</b>  | <b>154</b> |
| <b>7. Literaturverzeichnis.....</b>  | <b>156</b> |

## Abkürzungsverzeichnis

|                 |  |
|-----------------|--|
| Abb.            | Abbildung  |
| ANOVA           | engl. analysis of variance (Varianzanalyse)  |
| Appl.           | Applikation  |
| °C              | Grad Celsius   |
| Ch.             | franz. Charrière (Größenangabe für Katheter)   |
| CMN             | engl. contrast media induced nephropathy<br>(kontrastmittelinduzierte Nephrotoxizität) |
| d% / $\Delta$ % | delta Prozent bzw. Differenz zu einer Bezugsgröße in Prozent                           |
| dT / $\Delta$ T | Temperaturdifferenz  |
| EDTA            | Ethylendiamin-Tetraacetat  |
| ELISA           | engl. enzyme-linked immunosorbent assay (Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest)        |
| ET              | Endothelin   |
| Fa.             | Firma  |
| G               | engl. Gauge (Größenangabe für Metallkanülen)   |
| GFR             | glomeruläre Filtrationsrate  |
| h               | engl. hour (Stunde)  |
| Hkt.            | Hämatokrit   |
| HOCM            | engl. high-osmolar contrast media (hochosmolare RKM)                                   |
| IOCM            | engl. iso-osmolar contrast media (isoosmolare RKM)                                     |
| i.v.            | intravenös   |
| KGW             | Körpergewicht  |
| LOCM            | engl. low-osmolar contrast media (niedrigosmolare RKM)                                 |
| M               | Molarität (mol/ l)   |
| min             | Minute   |
| mol             | relative Molmasse  |
| MW              | Mittelwert   |
| NaCl            | Natriumchlorid, Kochsalz   |
| n.s.            | nicht signifikant  |
| osmol           | Osmolalität/ Osmolarität   |
| pA              | lat. pro analysi (zur Analyse verwendbar)  |
| p.o.            | lat. per os  |
| ®               | engl. Registered (eingetragenes Warenzeichen)  |
| RBF/ RPF        | renaler Blutfluß bzw. renaler Plasmafluß   |
| RKM             | Röntgenkontrastmittel  |
| s.              | siehe  |
| SD              | engl. standard deviation (Standardabweichung)  |
| SNGFR           | engl. single nephron glomerular filtration rate<br>(GFR des einzelnen Nephrons)        |

|      |   |
|------|---|
| Tab. | Tabelle                                       |
| ™    | engl. trademark (Warenzeichen)                |
| TNR  | Tiernummer                                    |
| V.   | Vena  |
| vs.  | lat. versus (gegen)                           |
| V.v. | Venae   |
| v/ v | engl. volume per volume (Volumen pro Volumen) |
| vgl. | vergleiche                                    |
| w/ v | engl. weight per volume (Gewicht pro Volumen) |



# 1. Einleitung

## 1.1. Zielsetzung und Problemstellung

### 1.1.1. Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es, ein neues Versuchsmodell am Hund zu entwickeln, mit dem es möglich ist, ohne großen versuchstechnischen Aufwand eine Aussage über die Nierenverträglichkeit von Röntgenkontrastmitteln zu treffen.

Nachfolgend sollen an diesem Tiermodell Erfahrungen mit dem ionischen, hochosmolaren Röntgenkontrastmittel Meglumin-Amidotrizoat und mit Iotrolan, einem nicht-ionischen, blutisotonen Dimer, gewonnen werden.

Als Vergleich wurden zwei Kontrollbehandlungen durchgeführt: Dabei wurde isotone NaCl-Lösung oder eine Mannitollösung mit einer dem Meglumin-Amidotrizoat äquivalenten Osmolalität verwendet.

Die Überprüfung des neuen Tiermodells erforderte umfangreiche Messungen der renalen Clearance, die Aufschluß über den Wirkungsmechanismus von Röntgenkontrastmittel-Nebenwirkungen an der Niere ergeben sollten.

Im Rahmen dieser Clearanceversuche galt es, durch Endothelinmessungen in Plasma- und Harnproben zusätzlich abzuklären, inwiefern sich Hinweise für die Beteiligung dieses vasokonstriktiven Peptids an der Entstehung von Kontrastmittelinduzierten Nephropathien finden lassen.

### 1.1.2. Problemstellung

Schon seit den frühen Anfängen des routinemäßigen Einsatzes von jodierten Röntgenkontrastmitteln (RKM) in der Urographie und Angiographie war die Möglichkeit, daß es nach der Applikation von Kontrastmitteln zu einem akuten Nierenversagen kommen kann, bekannt. Daher wurde vor dem Einsatz diodierter Röntgenkontrastmittel bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion bereits in den 50er Jahren gewarnt (DORPH 1995). Seitdem haben die jodierten Röntgenkontrastmittel über mehrere Generationen eine stetige Entwicklung mit immer geringer werdender Osmolalität und systemischer Toxizität bis hin zu den isoosmotischen, blutisotonen Röntgenkontrastmitteln durchlaufen.

Trotz dieser Verbesserungen der allgemeinen Verträglichkeit bleibt die potentiell vorhandene nierenschädigende Wirkung (Nephrotoxizität) von Röntgenkontrastmitteln für den Kliniker ein Anlaß zu besonderer Aufmerksamkeit. Denn es gibt bis heute immer wieder Meldungen von renalen Dysfunktionen nach dem Einsatz von Röntgenkontrastmitteln. DAWSON und TREWHELLA (1990) sprechen sogar davon, daß solche Beobachtungen mit den Jahren häufiger wurden und benennen, neben den immer vielfältigeren Anwendungen für Röntgenkontrastmittel, als Gründe dafür die stetig gewachsene Sensibilität der Anwender bezüglich der potentiellen Nebenwirkungen und vor allem die häufig hohen Kontrastmitteldosen, die heutzutage bei den unterschiedlichen Untersuchungsmethoden eingesetzt werden.

Auch CIGARROA et al. (1989) haben sich mit der Dosisabhängigkeit der Kontrastmittelinduzierten Niereninsuffizienz beschäftigt. Die Autoren verweisen auf Berichte, wonach bis zu 10 % aller im Krankenhaus aufgetretenen Fälle akuten Nierenversagens auf Röntgenkontrastmittel zurückzuführen sind. Wurde bei den Patienten zum Zeitpunkt der Kontrastmitteluntersuchung eine Acetonämie festgestellt, beträgt die Wahrscheinlichkeit eines Nierenversagens 15 bis 42 %. Durch Kopplung der Dosis des applizierten hochosmolaren Röntgenkontrastmittels an den Serumkreatininspiegel von Patienten mit Niereninsuffizienz, definiert als Serumkreatininspiegel  $\geq 1,8$  mg/ 100 ml, konnte die Inzidenz eines akuten Nierenversagens (Anstieg des Serumkreatininspiegels um mehr als 1 mg/ 100 ml Serum innerhalb von fünf Tagen nach der Kontrastmittelapplikation) auf 2 % der untersuchten Patienten gesenkt werden (im Vergleich zu 21 % in der Patientengruppe, bei denen auf die Limitierung der Dosis in Abhängigkeit vom Serumkreatininspiegel verzichtet wurde).

Diese Arbeit von Cigarroa gab durch die Einbeziehung des Kreatininspiegels im Serum den Anstoß im Rahmen der vorliegenden Dissertation ein neues Tiermodell zu entwickeln, mit dem versucht werden sollte, den Einfluß von Röntgenkontrastmitteln auf die Kreatininausscheidung zu nutzen. Durch die Gabe eines exogenen Kreatininbolus zusammen mit dem Röntgenkontrastmittel wird zum einen ein Einfluß von Schwankungen des niedrigen endogenen Kreatininspiegels auf die tierexperimentellen Ergebnisse ausgeschlossen, zum anderen sollen relativ hohe Kreatininwerte im Serum als ein Art „Seismograph“ die Einflüsse einer Röntgenkontrastmittelapplikation auf das Modell verstärken und damit besser detektierbar machen.

Das ionische, hochosmolare Röntgenkontrastmittel Meglumin-Amidotrizoat (Angiografin®) wurde, im Vergleich mit einer 0,9 %igen (w/v) NaCl-Lösung, als erste Testsubstanz zur Überprüfung des Modells auf seine Brauchbarkeit eingesetzt.

Die Spezies Hund wurde gewählt, weil beim Hund Kreatinin nur durch glomeruläre Filtration über die Niere ausgeschieden wird und nicht, wie z.B. beim Menschen, auch tubulär sezerniert wird (SMITH 1951). Des weiteren ist das Gewinnen von Blutproben beim Hund relativ einfach und vor allen Dingen schnell zu handhaben, wodurch die genaue Einhaltung der Blutentnahmezeitpunkte erleichtert wird. Außerdem ist es aufgrund des beim Hund vorhandenen Blutvolumens möglich, die ausreichende Anzahl von 10-12 Blutproben (auch bei einem Volumen von 3 bis 5 ml) zu entnehmen, die für die spätere pharmakokinetische Auswertung mit einem Drei-Kompartiment-Modell benötigt werden, um die schnelle Verteilungsphase und die anschließende Ausscheidungsphase gut beschreiben zu können (FRENNBY 1996b). Auch ist der Hund bei Experimenten, in denen ähnliche Fragestellungen untersucht wurden, in der Vergangenheit schon oft als Versuchstier verwendet worden.

Kontrastmittelinduzierte Nephrotoxizität wird definiert als akute Beeinträchtigung der Nierenfunktion nach RKM-Applikation, für die andere Ätiologien ausgeschlossen werden können (THOMSEN et al. 1993). In der Vergangenheit ist in unzähligen klinischen Studien versucht worden, die besonderen Risikofaktoren für die Entwicklung von kontrastmittelinduzierter Nephropathie zu ermitteln. Dabei ist gezeigt worden, daß eine schon bestehende Niereninsuffizienz zu den Hauptrisikofaktoren für die kontrastmittelinduzierte Nephrotoxizität zählt und ein zusätzlicher Diabetes mellitus die Wahrscheinlichkeit nach einer Kontrastmitteluntersuchung ein akutes Nierenversagen zu entwickeln noch erhöht (PARFREY et al. 1989, KATZBERG 1988).

Neben bestehenden Vorerkrankungen liegt das Hauptinteresse in der Fragestellung, welche Vorteile die Entwicklung der niedrigosmolaren Röntgenkontrastmittel bzw. später der blutisotonen Röntgenkontrastmittel gegenüber den klassischen hochosmolaren Röntgenkontrastmitteln bezüglich der Nephrotoxizität gebracht haben.

Daher wurde zunächst, um zu klären wie groß der Anteil der Osmolalität des Angiografins<sup>®</sup> an dem speziell mit diesem Tiermodell darstellbaren Effekt auf die glomeruläre Filtrationsrate ist, ein Versuch durchgeführt, bei dem das Angiografins<sup>®</sup> (in bezug auf die veränderte Ausscheidungskinetik des Kreatininbolus) mit einer Mannitollösung verglichen wurde, die eine dem Angiografins<sup>®</sup> identische Osmolalität besaß.

Anschließend sollte untersucht werden, ob es einen unterschiedlichen Einfluß von hochosmolaren und niedrigosmolaren bzw. isotonen Röntgenkontrastmitteln auf die Ausscheidung des Kreatininbolus gibt. Dazu wurde dann, neben dem ionischen, hochosmolaren Röntgenkontrastmittel Meglumins-Amidotrizoat (Angiografins<sup>®</sup>) und der physiologischen Kochsalzlösung mit dem Iotrolan (Isovist<sup>®</sup>-300) der erste Vertreter der isotonen Röntgenkontrastmittel in die Untersuchungen mit eingeschlossen. Dabei war auch die Überlegung von Bedeutung, daß sich bei der Verwendung des blutisotonen Isovist<sup>®</sup>-300 ein größtmöglicher Unterschied zum Angiografins<sup>®</sup> zeigen müßte, sollte der Osmolalität der Kontrastmittel eine entscheidende Rolle für die Nephrotoxizität der Röntgenkontrastmittel zukommen.

Das Iotrolan ist in Konzentrationen von 240, 280 sowie 300 mg Jod/ ml erhältlich. Obwohl das Isovist<sup>®</sup>-280 für die intravaskuläre Verwendung zugelassen wurde, sollte für die Versuche in der hier präsentierten Arbeit das für die Myelographie vorgesehene Isovist<sup>®</sup>-300 verwendet werden, damit mit 306 bzw. 300 mg/ml die Jodkonzentrationen der beiden eingesetzten Röntgenkontrastmittel möglichst ähnlich sind.

Im Zuge der Entwicklung dieses neuen und einfach zu handhabenden Tiermodells zur Abschätzung der Nierenverträglichkeit von Röntgenkontrastmitteln wurde weiterhin der Versuch unternommen, den Einfluß der Röntgenkontrastmittel auf die renale Hämodynamik, der von einigen Autoren für die Nephrotoxizität hauptsächlich verantwortlich gemacht wird (KATZBERG 1997; DORPH et al. 1995; THOMSEN et al. 1993), direkt durch die Bestimmung der renalen Clearance nachzuweisen.

Dazu sollten dann klassische, nicht-invasive Clearancemessungen unter Verwendung der Indikatoren Inulin (für die glomeruläre Filtrationsrate - GFR) und Paraaminohippursäure (PAH; für den renalen Plasmafluß - RPF) benutzt werden.

Da bei diesen Clearancemessungen das gleiche Applikationsschema wie bei dem neuen Tiermodell (Kreatininbolus und gleichzeitige Gabe der Röntgenkontrastmittel) mit integriert wurde, konnte dadurch auch überprüft werden, ob eine Korrelation zwischen den Ergebnissen der Kreatininboluselimination (der Plasmaclearance des Kreatinins) und den Ergebnissen der renalen Inulin-clearance besteht.

Für die bisher am Hund in der Literatur beschriebenen Studien, bei denen der Einfluß von Röntgenkontrastmitteln auf die renale Hämodynamik untersucht worden war, wurden für die Versuche fast ausschließlich Modelle verwendet, bei denen die Hunde für die Dauer des ganzen Versuchs unter Vollnarkose gesetzt und über einen Tracheotubus beatmet wurden.

Außerdem wurde meistens, durch einen operativen Eingriff über die Flanke, die Niere zugänglich gemacht, um die Nierenarterie, die Nierenvene oder den Harnleiter zu erreichen und mit Kanülen, Kathetern oder einem elektromagnetischem Flußmesser zu versehen (KARLSEN et al. 1993; MARGULIES et al. 1991; AREND et al. 1987; KATZBERG et al. 1986b u. 1983b; BAKRIS et al. 1985; DIBONA 1978). Bedingt durch diese starke Instrumentalisierung der Versuchshunde, wurden diese Tiere meistens nur einmal für einen Versuch verwendet und am Versuchsende getötet (z.B. KATZBERG et al. 1983c).

Bei Durchführung der Clearancemessungen wie in der vorliegenden Arbeit beschrieben, bei denen die Hunde unter Einhaltung angemessener Zeitabstände mehrfach verwendet werden können, kann damit ein Beitrag zur Verringerung der für solche Versuche eingesetzten Tierzahlen geleistet werden. Außerdem werden durch die Cross-Over-Anordnung die interindividuellen Unterschiede der Versuchsergebnisse minimiert. Desweiteren entfällt auch ein eventueller Narkoseeinfluß auf die Versuchsergebnisse.

Für den Einfluß der Röntgenkontrastmittel auf die Hämodynamik der Niere wird hauptsächlich eine kontrastmittelinduzierte renale Vasokonstriktion verantwortlich gemacht. Diese Vasokonstriktion ist zum einen auf die hohe Osmolalität des nichtisotonen Röntgenkontrastmittel zurückzuführen, zum anderen wird endogenen Vasokonstriktoren, die intrarenal als Mediatoren die Kontrastmittelwirkung vermitteln, die entscheidende Bedeutung für diese Vasokonstriktion zugemessen (KATZBERG 1997; DORPH 1995). Viele potentielle endogene Vasokonstriktoren sind in experimentellen Ansätzen auf ihre Beteiligung an der kontrastmittelinduzierten renalen Vasokonstriktion als Mediator überprüft und wieder verworfen worden. Zur Zeit werden noch zwei endogene Mediatoren in der Literatur diskutiert, das Adenosin und das Endothelin (Katzberg 1997). Dabei weisen viele Anhaltspunkte in bisher durchgeführten tierexperimentellen Arbeiten und klinischen Untersuchungen auf das erst 1988 von Yanagisawa entdeckte Endothelin (YANAGISAWA et al. 1988) als den wichtigsten Mediator hin.

Als ein weiteres Ziel dieser Dissertation sollte daher durch Endothelinmessungen in Plasma- und Harnproben, die während der Clearancebestimmung gewonnen wurden, versucht werden, Anhaltspunkte für die Beteiligung des Endothelins an den hämodynamischen Veränderungen an der Niere nach Röntgenkontrastmittelapplikation zu finden.

Die Endothelinbestimmungen wurden mit einem Enzym-gekoppeltem Immunadsorptionstest (enzyme-linked immunosorbent assay - ELISA) durchgeführt, mit dem das in der Probe vorhandene Endothelin direkt gemessen werden kann.

Als Ergebnis der vorliegenden Arbeit sollte daher ein neues Tiermodell zur Verfügung stehen, das es erlaubt, ohne großen technischen Aufwand und bei nur geringgradiger Beeinflussung normaler Körperfunktionen, den Effekt eines Röntgenkontrastmittels auf die Nierenfunktion einzuschätzen.

## 1.2. Literaturübersicht

### 1.2.1. Überblick über Röntgenkontrastmittel

Die ersten Jod enthaltenden organischen Verbindungen wurden 1925 von Binz und Raeth in Berlin synthetisiert. Im Mai 1927 wurde dann für die Firma Schering das erste Patent auf eine solche Verbindung angemeldet und Swick führte Ende der zwanziger Jahre erfolgreich die ersten intravenösen Urographien mit einem als Uroselectan<sup>®</sup> bezeichnetem Kontrastmittel durch (DAWSON 1987). Die Monojodide wurden dann recht schnell (1931/32) zu diiodierten Kontrastmitteln weiterentwickelt (Uroselectan B<sup>®</sup>/ Diodone<sup>®</sup>), die dann für über 20 Jahre in der urographischen und angiographischen Praxis verwendet wurden (MAURER 1991). Diese Kontrastmittel waren um den Faktor 2-3 toxischer (gemessen an der Lethaldosis LD<sub>50</sub> bei der Maus) als das im Jahre 1952 von Wallingford entwickelte Azetrizolat, bei dem er eine Amidseitenkette an dem Benzolring einführte. Außerdem wurde durch ein drittes Jodatome der Kontrast entscheidend verbessert; der trijodierte Benzolring ist bis heute Grundlage aller wasserlöslichen Röntgenkontrastmittel (SPECK 1983). Durch Hinzufügen einer zweiten Amidkette kam es zur Entwicklung der Amidotrizoate (oft auch als Diatrizoate bezeichnet) mit einer weiter verminderten Toxizität (MAURER 1991). Das Megluminsalz des Amidotrizoats (Angiografin<sup>®</sup>) stellt auch heute noch aufgrund seiner ausgezeichneten kardiovaskulären Toleranz den Hauptvertreter der **ionischen, monomeren Röntgenkontrastmittel** dar (HOFMEISTER 1988).

Schon von den bis in die frühen 50er Jahre verwendeten diiodierten Kontrastmitteln war allgemein bekannt, daß sie akutes Nierenversagen auszulösen imstande waren. Von ihrer Anwendung bei Patienten mit einer schon bestehenden Nierenfunktionseinschränkung wurde daher abgeraten (DORPH 1995). Die trijodierten Röntgenkontrastmittel stellten sich als sehr viel sicherer heraus und wurden fortan auch bei niereninsuffizienten Patienten eingesetzt. Allerdings häuften sich mit der Zeit auch bei der Verwendung dieser Kontrastmittel Meldungen und Berichten sowohl über reversible wie auch über irreversible Nierenschäden (DORPH 1995). Im Laufe der 60er Jahre wurde immer deutlicher, daß ein großer Teil dieser Kontrastmittelnebenwirkungen, insbesondere in der Angiographie, weniger chemotoxisch als vielmehr durch den osmotischen Druck der konzentrierten, „hochosmolalen“ Kontrastmittellösungen bedingt war (SPECK 1991).

Die Reduzierung des osmotischen Drucks der Röntgenkontrastmittel führte zu der Entwicklung der niedrigosmolaren RKM mit einer Osmolalität in der Größenordnung von 600 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O und konnte sowohl mit ionischen als auch mit nicht-ionischen Molekülen realisiert werden. Zum einen entstanden **ionische Dimere** (die am stärksten verminderte Osmolalität wurde durch die Verbindung eines Benzolrings mit einer Carboxylgruppe und einem zweiten ohne Carboxylgruppe erreicht - umgesetzt beim Monocarboxy-Dimer Ioxaglate) und zum anderen **nicht-ionische Monomere** ohne Carboxylgruppe, bei denen drei hydrophile Seitenketten gleichmäßig um den Benzolring verteilt angeordnet sind. Diese nicht-ionischen Monomere (Iopromid, Iohexol und Iopamidol) sind noch besser neuronal verträglich und besitzen auch eine verbesserte Allgemeinverträglichkeit.

Die Entwicklung der **nicht-ionischen Dimere**, Iotrolan und Iodixanol, in den 80er und 90er Jahren hat erneut zu einer quantitativen und qualitativen Verringerung der Reaktionen auf die Röntgenkontrastmittel geführt (MAURER 1991). Diese Röntgenkontrastmittel sind das Ergebnis der konsequenten Anwendung der Prinzipien:

- Elimination der Ionizität,
- Erreichen einer gesteigerten Hydrophilie und der damit verbundenen verringerten Osmotoxizität

und - Erhöhung der Anzahl der Jodatome pro Kontrastmittelmolekül (Katzberg 1997).

Bei diesen nicht-ionischen, hexajodierten Dimeren, die eine Osmolalität aufweisen, die dem des Blutes isoton ist, handelt es sich eigentlich um die Kombination zweier nicht-ionischer Monomere.

Das Iotrolan hat aufgrund seiner wesentlich besseren neuronalen Verträglichkeit die ionischen Kontrastmittel in kurzer Zeit aus der Myelographie verdrängt (SPECK 1991).

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Verlauf der Serumkreatininkonzentration nach einmaliger intravenöser Applikation eines Kreatininbolus (Vorversuch A)

#### 2.1.1. Beschreibung der Versuchsanordnung

Die für den Versuch verwendeten Hunde wurden am Vortag des Versuchs noch gefüttert und ihnen wurde am Nachmittag (14 bis 19 Stunden vor Behandlungsbeginn) das Trinkwasser entzogen. Am Versuchstag bekam jeder Hund, nachdem er gewogen worden war, eine Stunde vor der vorgesehenen Applikation der Kreatininlösung 20 ml Leitungswasser pro Kilogramm Körpergewicht mit einer Magensonde (Ch.: 9, Fa. Rüschi) verabreicht. Durch die so durchgeführte Standardisierung der Versuchsbedingungen sollte für alle im Versuch verwendeten Tiere sichergestellt sein, daß sie nüchtern sind und eine identische Hydratation aufweisen.

Das Haarkleid der Hunde wurden an beiden Vordergliedmaßen im Bereich der V. cephalica antebrachii sowie am Hals im Bereich der Vv. jugulares geschoren.

Die durchzuführenden Blutentnahmen aus der V. jugularis wurden an dem auf dem Rücken liegenden Hund entnommen. Dazu müssen sich Laborant und Tierpfleger gegenüber sitzen. Der Hund wird von dem Tierpfleger so auf dem Rücken liegend in seinem Schoß fixiert, daß der Kopf des Hundes bei gestrecktem Nacken auf den Oberschenkeln des Laboranten zu liegen kommt. Dieser kann nun, den Kopf des Tieres mit der linken Hand in gerader Lage fixierend, mit der rechten Hand die Blutentnahme aus der durch den Tierpfleger gestauten Jugularvene durchführen. Für die Blutentnahmen wurden 5 ml Spritzen (Fa. Becton-Dickinson) mit aufgesteckten Einmalkanülen G 20 (Fa. B. Braun) verwendet. Es wurden jeweils ca. 2,5 ml Vollblut entnommen, um nach Zentrifugation mindestens 1 ml Serum für die Kreatininbestimmung zu erhalten.

Nachdem die Blutproben mit der Spritze entnommen worden waren, wurde das Blut unverzüglich in ein Zentrifugenröhrchen überführt. Dabei wurde der Spritzenstempel nach oben aus der Spritze herausgezogen, damit das Blut aus der Spritze herauslaufen und vorsichtig an der Wandung des schräg gehaltenen Zentrifugenröhrchens herunterlaufen konnte. So wurden die Erythrocyten so wenig wie möglich geschädigt.

Nach dem Scheren wurde eine erste Blutentnahme als Vorwert durchgeführt. Anschließend wurde eine Braunüle<sup>®</sup> G 20 (Fa. B. Braun) in eine der Vorderbeinvenen geschoben und mit einem Braunülenpflaster (Fa. Lohmann) sowie mit Leukoplast<sup>®</sup>-Streifen (Fa. Beiersdorf) fixiert.

Die Applikation der Kreatininlösung mit einer Konzentration von 20 mg/ml erfolgte mit einer Injektionsgeschwindigkeit von 1 ml/sec über die Braunüle<sup>®</sup> in der V. cephalica antebrachii. Bei der Kreatininapplikation wurden 10 ml Luer-Lock<sup>®</sup> Spritzen (für Tiere bis zu einem Körpergewicht von 10 kg) bzw. 20 ml Luer-Lock<sup>®</sup> Spritzen (Fa. Becton-Dickinson) für schwerere Hunde benutzt. Sobald die Injektion beendet war, wurde eine mechanische Stoppuhr (Fa. Junghans) gestartet.

Weitere Blutentnahmen wurden zu den Zeitpunkten 1, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 sowie 270 Minuten wie oben beschrieben durchgeführt. Jede Blutprobe wurde bei Raumtemperatur für ca. 30 Minuten stehengelassen, bevor sie für 15 Minuten bei 1500g und einer Temperatur von 20°C in einer Rotanta®/ TCR Zentrifuge (Fa. Hettich) zentrifugiert wurde. Anschließend wurde das gewonnene Blutserum abpipettiert und bis zur Durchführung der Kreatininbestimmung in Reaktionsgefäßen (Fa. Eppendorf) bei -20°C eingefroren.

### 2.1.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Dieser Vorversuch A wurde an zwei männlichen sowie einem weiblichen Beagle-Hund, gezüchtet von der Fa. Winkelmann aus Paderborn, durchgeführt. Die Akklimatisierungszeit betrug mehr als 28 Tage. Das Gewicht der Tiere an den Versuchstagen lag zwischen 9,8 und 13,8 kg. Die Hunde wurden in Einzelboxen auf konventionelle Art bei einer Stalltemperatur von 21 bis 22 °C, einer relativen Feuchte von 48 bis 64 % und einem Lichtprogramm mit einem 12 -stündigen Hell/ Dunkel-Rhythmus gehalten. Pelletiertes Altromin®-H Alleinfutter (Fa. Altromin) wurde täglich für einen Zeitraum von zwei Stunden (werktags zwischen 11<sup>00</sup> und 13<sup>00</sup> Uhr; an Wochenenden und Feiertagen zwischen 8<sup>00</sup> und 10<sup>00</sup> Uhr) angeboten und ein Eimer mit Leitungswasser stand ad libitum zur Verfügung.

### 2.1.3. Behandlungsschema

In diesem Vorversuch A wurde jeder der drei Beagle-Hunde zweimal verwendet. Zuerst erhielten die Tiere die Kreatininlösung mit der Konzentration von 20 mg/ ml in einer Dosis von 20 mg/ kg und bei der zweiten Applikation in einer Dosis von 10 mg/ kg (siehe auch *Behandlungsschema 1*). Dabei wurde ein zeitlicher Abstand zwischen der ersten und der zweiten Applikation von mindestens 8 Tagen eingehalten.

| Gruppe | Tierzahl | Substanz/ Dosierung           |                               | Applikations-<br>geschwindigkeit |
|--------|----------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
|        |          | 1. Applikation                | 2. Applikation                |                                  |
| 2      | 2M/ 1F   | Kreatininlösung/<br>20 mg/ kg | Kreatininlösung/<br>10 mg/ kg | 1 ml/ sec                        |

**Behandlungsschema 1: Vorversuch A**

### 2.1.4. Meßmethoden

#### 2.1.4.1. Bestimmung der Kreatininkonzentration im Serum

Die Serumkreatininbestimmungen wurden automatisiert mit dem Analysesystem Hitachi 705 durchgeführt. Dazu wurden die Testpackungen für Kreatinin der Fa. Boehringer, Mannheim, verwendet. Diese Analysetechnik basiert auf der nach BARTELS et al. (1972) modifizierten Jaffé-Methode ohne Enteiweißung.

Daß Kreatinin in alkalischer Lösung (in diesem Testkit wird Natronlauge mit einer Konzentration von 0,2 mol/l verwendet) mit Pikrinsäure (hier in einer Konzentration von 25 mmol/l eingesetzt) einen orangefarbenen Farbkomplex bildet, wird als Testprinzip verwendet. Die Geschwindigkeit der Farbstoffentwicklung (Reaktionskinetik) wird dann von dem Analysesystem bei einer Wellenlänge von 570 nm gemessen und die Kreatinin-konzentration in mg Kreatinin/ 100ml Serum ausgedruckt.

Das in dem Hitachi 705 eingesetzte Probevolumen beträgt 20 µl, wobei die obere Nachweisgrenze bei diesem Verfahren mit 18 mg Kreatinin/ 100 ml Serum angegeben wird. Bei höheren Kreatininkonzentrationen als 18 mg Kreatinin/ 100 ml Serum muß die Serumprobe vor der Bestimmung 1:1 mit 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung verdünnt werden.

## **2.2. Einfluß eines ionischen, hochosmolaren Röntgenkontrastmittels auf die Ausscheidung eines Kreatininbolus (Versuch 1)**

### **2.2.1. Beschreibung der Versuchsanordnung**

Die Versuchsvorbereitungen für die Applikationen waren identisch mit denen aus dem Vorversuch A. D.h. die Hunde bekamen am Vortag letztmals Futter und gegen 16<sup>00</sup> Uhr wurde das Trinkwasser entzogen. Am Versuchstag wurden die Tiere im Anschluß an die standardisierte Hydratation geschoren sowie eine Braunüle<sup>®</sup> G 20 (Fa. B.Braun) in eine der Vorderbeinvenen gelegt.

Vor der Applikation wurde die zu applizierende Substanz (0,9 % (w/v) NaCl-Lösung oder Angiografin<sup>®</sup>) in 50 ml Luer-Lock<sup>®</sup> Spritzen (Fa. Becton-Dickinson) aufgezogen. Diese wurden dann in eine Infusionspumpe vom Typ Perfusor<sup>®</sup> (Fa. B.Braun) eingelegt. Die Spritze wurde über eine Perfusor<sup>®</sup>-Leitung mit der Braunüle<sup>®</sup> verbunden.

Die i.v. Applikation der 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung bzw. des Angiografin<sup>®</sup> erfolgte mittels der Infusionspumpe mit einer Injektionsgeschwindigkeit von 10 ml/ min. Unmittelbar nach Beendigung der Applikation wurde die Kreatininlösung als Bolus über das Injektionsventil der Braunüle<sup>®</sup> verabreicht, wobei unabhängig vom Bolusvolumen eine Injektionsdauer von 10 sec eingehalten wurde. Am Ende der Kreatinininjektion wurde die Stoppuhr gestartet. Neben der während der Versuchsvorbereitung durchgeführten Vorwert-Blutentnahme wurden Blutentnahmen zu den Meßzeitpunkten 1, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 und 270 Minuten sowie ein 24-Stunden-Wert von je 2,5 ml entnommen.

Auch von diesen Blutproben wurde nach fünfzehnminütiger Zentrifugation bei 20°C das Serum abpipettiert und bis zur Kreatininbestimmung bei -20°C eingelagert.

### **2.2.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen**

Für diesen Versuch wurden zwei weibliche und vier männliche Beagle-Hunde vom Züchter Winkelmann aus Paderborn verwendet. Die Akklimatisierungszeit betrug mehr als 28 Tage. Das Gewicht der Tiere an den Versuchstagen lag zwischen 7,9 und 15,6 kg. Die Hunde wurden in Einzelboxen auf konventionelle Art bei einer Stalltemperatur von 20 bis 21 °C und einer relativen Feuchte von 46 bis 58 % gehalten. Lichtprogramm, Futter- und Tränkebedingungen entsprachen den Verhältnissen des Vorversuchs A (siehe auch 2.1.2).

### 2.2.3. Behandlungsschema

Von den sechs in diesem Versuch verwendeten Tieren bekamen drei (2M/ 1F) 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung und die anderen drei (2M/ 1F) Angiografin<sup>®</sup>, jeweils in einem Volumen von 4 ml/ kg, appliziert (siehe auch *Behandlungsschema 2*). Die im direkten Anschluß an die Substanzapplikation injizierte Kreatininlösung (1 ml/ kg) hatte eine Konzentration von 20 mg/ ml.

| Gruppe | Tierzahl | Substanz                 | Applikationsvolumen |
|--------|----------|--------------------------|---------------------|
| 1      | 2M/ 1F   | NaCl-Lösung              | 4 ml/ kg            |
| 2      | 2M/ 1F   | Angiografin <sup>®</sup> | 4 ml/ kg            |

**Behandlungsschema 2: Versuch 1**

### 2.2.4. Meßmethoden

#### 2.2.4.1. Bestimmung der Kreatininkonzentration im Serum

Die Serumkreatininbestimmungen wurden mittels der nach BARTELS et al. (1972) modifizierten Jaffé-Methode ohne Enteiweißung (Testpackungen der Fa. Boehringer, Mannheim, für das Analysesystem Hitachi 705) durchgeführt (siehe auch unter 2.1.4.1).

## **2.3. Einfluß der Osmolalität auf die Kreatininbolusausscheidung (Versuch 2)**

### 2.3.1. Beschreibung der Versuchsanordnung

Bei den Versuchsvorbereitungen zu diesem Versuch wurde dem Versuch 1 entsprechend vorgegangen. Die nüchternen Hunde erhielten die standardisierte Hydratation und bekamen einen venösen Zugang gelegt.

Als weitere Substanz sollte in diesem Versuch neben dem Angiografin<sup>®</sup> eine dem Angiografin<sup>®</sup> gleichosmolale Mannitollösung mit 1530 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O verwendet werden. Bei der Herstellung einer solchen Mannitollösung mit 1530 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O stellte sich aber heraus, daß eine Mannitollösung mit dieser Osmolalität nicht herzustellen war, ohne die Sättigungsgrenze des Mannitols zu überschreiten. Daher wurden Versuche durchgeführt, bei denen einer Lösung mit 18 % (w/v) Mannitol Sorbit hinzugegeben wurde, um die geforderten 1530 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O zu erreichen. Diese Osmolalität konnte mit einer Mannitol-/ Sorbitlösung von 18 % (w/v) Mannitol und 5,6 % (w/v) Sorbit erreicht werden, die in der weiteren Beschreibung als Mannitollösung bezeichnet wird.

Sofort im Anschluß an die Applikation des Angiografin<sup>®</sup> bzw. der Mannitollösung mit der Injektionsgeschwindigkeit von 10 ml/ min erfolgte die Injektion der Kreatininlösung über 10 sec. Mit Beendigung dieser Bolusgabe begann die Zeitmessung (dabei verwendete Materialien und Geräte siehe 2.2.1).

Blutentnahmen wurden wieder zu den Zeitpunkten 0 h (Vorwert), 1 min, 5 min, 10 min, 15 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min, 150 min, 180 min, 210 min und 270 min sowie 24 h nach Applikation durchgeführt. Außerdem wurden am Tag 3 (72 h) und am Tag 5 (120 h) nach Applikation Blutproben entnommen.

Mit diesen Blutproben wurde wie im Vorversuch 1 verfahren (siehe unter 2.1.1.).

### 2.3.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Für diesen Versuch standen vier männliche und vier weibliche Beagle-Hunde vom gleichen Züchter zur Verfügung. Die Akklimatisierungszeit von mehr als 28 Tagen wurde eingehalten. Von diesen acht Tieren wurden jeweils drei (3M/ 3F) durch eine Randomisierung per Losverfahren einer der beiden möglichen Behandlungsreihenfolgen zugeordnet (siehe Applikationsschema 1). Die restlichen zwei Hunde (1M/ 1F) dienten als Ersatz- / Reservetiere.

| Tiere   | Tierzahl | Substanz:      |                |
|---------|----------|----------------|----------------|
|         |          | 1. Applikation | 2. Applikation |
| 1, 3, 4 | 2M/ 1F   | Angiografin®   | Mannitollösung |
| 2, 5, 8 | 1M/ 2F   | Mannitollösung | Angiografin®   |

#### **Applikationsschema 1: Versuch 2**

Das Gewicht der in diesem Versuch verwendeten Hunde lag an den Versuchstagen zwischen 11,1 und 13,6 kg. Die Hunde wurden in Einzelboxen auf konventionelle Art bei einer Stalltemperatur von 20 bis 22 °C und einer relativen Feuchte von 48 bis 60 % gehalten. Lichtprogramm, Futter- und Tränkebedingungen entsprachen den Verhältnissen des Vorversuchs A (siehe auch 2.1.2).

### 2.3.3. Behandlungsschema

Die sechs in diesem Versuch verwendeten Tiere wurden in einem 2-fachen Cross-Over-Verfahren jeder der zwei Behandlungsgruppen einmal zugeordnet (siehe auch Behandlungsschema 3), so daß es sich bei den im Behandlungsschema 3 aufgeführten 3M/ 3F jedesmal um dieselben Tiere handelte. Die Hunde der Gruppe 2 (2M/ 1F) erhielten zuerst Angiografin® und als zweite Applikation Mannitollösung in einem Volumen von 4 ml/ kg, während bei der Gruppe 3 (1M/ 2F) die Reihenfolge umgekehrt wurde. Der zeitliche Abstand zwischen den Applikationen von mindestens 8 Tagen wurde auch hierbei beachtet. Die unmittelbar nach der Substanzapplikation injizierte Kreatininlösung (1 ml/ kg) hatte wiederum eine Konzentration von 20 mg/ ml.

| Gruppe | Tierzahl | Substanz       | Applikationsvolumen |
|--------|----------|----------------|---------------------|
| 2      | 3M/ 3F   | Angiografin®   | 4 ml/ kg            |
| 3      | 3M/ 3F   | Mannitollösung | 4 ml/ kg            |

**Behandlungsschema 3: Versuch 2**

Ein weibliches Tier der Gruppe 3 (Tier 6) gebärdete sich während der 1. Substanzapplikation so wild, daß nach ca. der Hälfte der Injektion der Mannitollösung der Versuch abgebrochen werden mußte. Statt dessen wurde dann das weibliche Reservetier (Tier 8) verwendet, das dann natürlich auch für die 2. Applikation benutzt wurde.

**2.3.4. Meßmethoden**

2.3.4.1. Messung der Osmolalität der Mannitollösungen

Für die Osmolalitätsmessungen der Mannitollösungen wurde ein Dampfdruck-Osmometer VPO 73111 der Fa. Knauer benutzt. Das Gerät besteht im wesentlichen aus zwei gepaarten Thermistoren die, als Bestandteil einer Wheatstoneschen Meßbrücke, in eine mit Wasserdampf gesättigten Zelle hineinragen. Diese Zelle ist auf genau 37 °C temperiert. Mittels Spritzen, die exakt an die Thermistoren justiert sind, können Wassertropfen und Tropfen mit der zu untersuchenden Flüssigkeit an die Thermistoren gebracht werden. Wenn an beiden Thermistoren Wassertropfen hängen, stellt sich ein Temperaturgleichgewicht ( $dT = 0$ ) ein. Zu diesem Zeitpunkt erfolgt auch die Nullabgleichung der Wheatstoneschen Meßbrücke.

Als Meßprinzip wird hier die Eigenschaft verdünnter Elektrolytlösungen, daß sich ihr Dampfdruck parallel mit dem osmotischen Druck verändert, benutzt.

Wird nun ein Wassertropfen an einem der Thermistoren durch einen Tropfen der zu untersuchenden Mannitollösung ausgetauscht, so kondensiert Wasserdampf aufgrund des geringeren Dampfdrucks der Mannitollösung auf der Oberfläche des Tropfens. Die durch Kondensationsenthalpie freiwerdende Wärme erhöht die Temperatur des Lösungstropfens, wodurch der Dampfdruck des Lösungstropfens ansteigt. Sobald der Dampfdruck des Lösungstropfen mit dem Wasserdampfdruck innerhalb der Zelle im Gleichgewicht steht, ergibt sich daraus eine Temperaturdifferenz zwischen den beiden Thermistoren, die über die Wheatstonesche Meßbrücke gemessen wird, und die proportional zur osmolalen Konzentration der Probe ist.

Über eine vorher durchgeführte osmolale Eichung mit NaCl-Lösung definierter Osmolalität läßt sich dann die Osmolalität der gemessenen Mannitollösung mittels linearer Regression exakt bestimmen.

2.3.4.2. Bestimmung der Kreatininkonzentration im Serum

Die Serumkreatininbestimmungen wurden mittels der nach BARTELS et al. (1972) modifizierten Jaffé-Methode ohne Enteiweißung (Testpackungen der Fa. Boehringer, Mannheim, für das Analysesystem Hitachi 705) durchgeführt (siehe auch unter 2.1.4.1).

## **2.4. Vergleich der Einflüsse eines hochosmolaren bzw. eines isoosmolaren Röntgenkontrastmittels auf die Kreatininbolusausscheidung (Versuch 3)**

### **2.4.1. Beschreibung der Versuchsanordnung**

Alle Maßnahmen in der Vorbereitung der Substanzapplikationen wurden genauso, wie sie sich in der bisherigen Etablierung der Methode bewährt hatten, durchgeführt: am Vortag des Versuches letzte Fütterung und gegen 16<sup>00</sup> Uhr Entzug des Trinkwassers; am Versuchstag selbst die standardisierte Hydratation, Scheren des Haarkleides, Legen einer Braunüle<sup>®</sup> sowie die Vorwert-Blutentnahme.

Für die Substanzapplikation wurde bei diesem Versuch eine Kontrastmittel-Injektionspumpe ENVISION CT™-Injektor (Fa. Medrad) verwendet, mit der die i.v. Applikation der 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung, des Angiografin<sup>®</sup> oder des Isovist<sup>®</sup>-300 durchgeführt wurde. Die Substanzen wurden in speziell zu der Injektionspumpe passenden 125 ml QWIK-FIT™-Spritzen (Fa. Medrad) aufgezogen und durch die Wärmemanschette der Kontrastmittel-Injektionspumpe auf 37°C erwärmt. Über einen der Spritze beiliegenden Infusionsschlauch und einen Discofix<sup>®</sup>-3-Dreiwegehahn (Fa. B.Braun) wurde die Spritze dann mit der Braunüle verbunden. Die Injektionsgeschwindigkeit betrug 1 ml/ sec. Aufgrund dieser relativ hohen Injektionsgeschwindigkeit und dem damit verbundenen hohen Druck bei der Injektion in die Vene wurde hier eine Braunüle<sup>®</sup> G 14 (Fa. B.Braun) mit einem Außendurchmesser von 2,2 mm verwendet, um mit der Braunüle<sup>®</sup> das Lumen der Vene möglichst auszufüllen und damit der Gefahr einer Endothelschädigung zu begegnen. Direkt im Anschluß an die Substanzgabe wurde der Dreiwegehahn umgelegt und die Gabe des Kreatininbolus erfolgte über den zweiten Anschluß. Die Injektionsdauer des gesamten Kreatininbolus (unabhängig vom Bolusvolumen 10 sec) wurde unverändert beibehalten. Sofort nachdem die Injektion des Kreatininbolus beendet war, begann die Zeitnahme.

Blutproben mit einem Volumen von ca. 2,5 ml wurden zu den gleichen Zeitpunkten wie in Versuch 2 (vgl. auch 2.3.1) entnommen: 0 h (Vorwert), 1, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 270 min sowie 24 h, 72 h (Tag 3 nach Appl.) und 120 h (Tag 5 nach Appl.).

Die Blutproben wurden sofort nach ihrer Entnahme in ein Eis/ Wassergemisch gestellt, um dann ca. 30 Minuten später in einer auf + 4 °C gekühlten Cryofuge<sup>®</sup>-5000 Zentrifuge (Fa. Heraeus) für 15 Minuten mit 1750 g zentrifugiert zu werden. Das gewonnene Serum wurde anschließend unverzüglich bei - 20 °C eingefroren.

### **2.4.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen**

Für diesen Versuch wurden drei weibliche und drei männliche Beagle-Hunde, gezüchtet von Winkelmann, Paderborn, verwendet. Die Akklimatisierungszeit betrug mehr als 28 Tage. Die Zuordnung jeder der sechs Hunde zu einer der sechs möglichen Aufeinanderfolgen der Substanzapplikationen erfolgte per Losverfahren (siehe auch Applikationsschema 2).

| Tier | Geschlecht | Substanz:           |                     |                     |
|------|------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|      |            | 1. Applikation      | 2. Applikation      | 3. Applikation      |
| 1    | M          | Angiografin®        | 0,9%ige NaCl-Lösung | Isovist®-300        |
| 2    | F          | Isovist®-300        | Angiografin®        | 0,9%ige NaCl-Lösung |
| 3    | M          | 0,9%ige NaCl-Lösung | Isovist®-300        | Angiografin®        |
| 4    | F          | Angiografin®        | Isovist®-300        | 0,9%ige NaCl-Lösung |
| 5    | M          | Isovist®-300        | 0,9%ige NaCl-Lösung | Angiografin®        |
| 6    | F          | 0,9%ige NaCl-Lösung | Angiografin®        | Isovist®-300        |

**Applikationsschema 2: Versuch 3**

Das Gewicht der Tiere an den Versuchstagen lag zwischen 11,7 und 16,1 kg. Die Hunde wurden in Einzelboxen auf konventionelle Art bei einer Stalltemperatur von 19 bis 22 °C und einer relativen Feuchte von 52 bis 70 % gehalten. Lichtprogramm, Futter- und Tränkebedingungen entsprachen den im Vorversuch A beschriebenen Verhältnissen (siehe auch 2.1.2.).

**2.4.3. Behandlungsschema**

Die in diesem Versuch verwendeten sechs Beagle-Hunde (3M/ 3F) wurden in einem 3-fachen Cross-Over-Verfahren jeder der drei Behandlungsgruppen (0,9 % (w/v) NaCl-Lösung, Isovist®-300, Angiografin®; jeweils + Kreatinin) einmal zugeordnet (siehe auch Behandlungsschema 4), so daß es sich bei den in diesem Behandlungsschema aufgeführten 3M/ 3F jedesmal um dieselben Tiere handelte. Die Substanzapplikationen umfaßten alle das gleiche Volumen von 4 ml/ kg, und die unmittelbar im Anschluß daran als Bolus injizierte Kreatininlösung (Konzentration: 20 mg/ ml) hatte ein Volumen von 1 ml/ kg.

| Gruppe | Tierzahl | Substanz     | Applikationsvolumen |
|--------|----------|--------------|---------------------|
| 1      | 3M/ 3F   | NaCl-Lösung  | 4 ml/ kg            |
| 2      | 3M/ 3F   | Isovist®-300 | 4 ml/ kg            |
| 3      | 3M/ 3F   | Angiografin® | 4 ml/ kg            |

**Behandlungsschema 4: Versuch 3**

## 2.4.4. Meßmethoden

### 2.4.4.1. Bestimmung der Kreatininkonzentration im Serum

Die Serumkreatininbestimmungen wurden mittels der nach BARTELS et al. (1972) modifizierten Jaffé-Methode ohne Enteiweißung (Testpackungen der Fa. Boehringer, Mannheim, für das Analysesystem Hitachi 705) durchgeführt (siehe auch unter 2.1.4.1).

## **2.5. Untersuchung der Pharmakokinetik von Inulin und Paraaminohippursäure**

### **(Vorversuch B; Teil 1);**

### **Überprüfung der berechneten Initial- und Erhaltungsdosis (Vorversuch B; Teil 2)**

## 2.5.1. Beschreibung der Versuchsanordnung

### 2.5.1.1. Vorversuch B; Teil 1

Die verwendeten Hunde wurden am Vortag des Versuchs gewogen und erhielten anschließend letztmalig Futter. Das dabei ermittelte Körpergewicht wurde bei der Herstellung der Injektionslösung zugrundegelegt.

Am Versuchstag wurde das Haarkleid der Hunde an beiden Vordergliedmaßen im Bereich der V. cephalica antebrachii geschoren, in eine der Vorderbeinvenen eine Braunüle® G 14 (Fa. B.Braun) geschoben und diese mit einem Braunülenpflaster und zusätzlich Silkafix®-Band sicher befestigt. Die Braunüle® wurde dann nach der Entnahme einer Leerwert-Blutprobe mittels eines Luer-Lock® Mandrin G 14 (Fa. B.Braun) verschlossen.

Anschließend wurde eine Absaug/ Ernährungssonde ERU® (Fa. Rüschi), die zur Schleimhautanaesthetisierung mit Meaverin®-Gel (Woelm Pharma) bestrichen war, über die Harnröhre in die Harnblase vorgeschoben. Dieser Harnblasenkatheter wurde mit Silkafix®-Band am Unterbauch sowie zusätzlich mit einer Transelastbinde® (Fa. Lohmann), die um den Bauch herumgeführt und hinter der Schwanzwurzel zusammengebunden wurde, fixiert. Die Harnblase wurde zu diesem Zeitpunkt schon einmal manuell entleert und eine Leerwert-Harnprobe (ca. 20 ml) genommen.

Die Injektionslösung hatte ein Volumen von 1 ml/ kg und enthielt „kaltes“ (d.h. nicht-radioaktives) und „heißes“ (d.h. radioaktives) Inulin sowie „kalte“ und „heiße“ Paraaminohippursäure (PAH). Für die Bolus-i.v. Applikation (Gesamtvolumen in 10 sec) der Injektionslösung in die zweite Vorderbeinvene wurde eine 20 ml Luer-Lock® Spritze mit einem Venofix®-Venenpunktionsbesteck G 21 (Fa. B.Braun) benutzt.

Unmittelbar vor der Injektion wurde zur Unterstützung der restlosen Blasenentleerung die Blase mit 20 ml 0,9% (w/v) NaCl-Lösung gespült, nach dem Entleeren der Spüllösung die Blase noch mit 20 ml Luft gefüllt und durch leichten Druck auf die Blasenregion vollständig entleert. Somit war am Applikationsende die Harnblase leerkatheterisiert. Sofort wurde dann die Stoppuhr gestartet und der Harnkatheter verschlossen.

Die Blutproben (ca. 2,5 ml) wurden mit 3 ml Spritzen aus der Braunüle® entnommen, und zwar zu den Entnahmekzeitpunkten 0 h (Vorwert), 1 min, 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 45 min, 60 min, 90 min, 120 min, 180 min, 240 min, 300 min und 360 min.

Der während des Versuchs produzierte Harn wurde vollständig gesammelt. Die sechs Stunden bis zur letzten Blutentnahme waren in vier quantitative Harnsammelperioden (0-1 h, 1-2 h, 2-4 h und 4-6 h) unterteilt, von denen jede mit einer Blasenspülung und anschließender Leerkatheterisierung (wie schon weiter oben beschrieben) abgeschlossen wurde.

Nach Beendigung des Versuchs wurde die Braunüle<sup>®</sup> entfernt und an dieser Stelle für ca 30 Minuten ein Druckverband angelegt sowie prophylaktisch 20 ml Bykomycin<sup>®</sup> oral (Byk Gulden Pharma) vor dem Herausziehen des Katheters in die Harnblase installiert.

Die Gewinnung des Serums wurde in einer Varifuge<sup>®</sup> 3.2 RS-Zentrifuge (Fa. Heraeus Sepattech) (für 15 min, bei 1580 g und 20 °C) durchgeführt, nachdem die Blutproben für ca. 30 Minuten stehengelassen worden waren. Anschließend wurde die Radioaktivität der Proben mit einem  $\beta$ -Counter (Fa. Pharmacia) gemessen.

#### 2.5.1.2. Vorversuch B; Teil 2

Die beiden Hunde wurden am Morgen des Vortages des Versuchs gewogen und erhielten anschließend letztmalig Futter. Das dabei ermittelte Körpergewicht wurde für die Berechnung der Initial- sowie der Erhaltungsdosis und die Herstellung der Injektionslösungen zugrundegelegt. Am Nachmittag wurde den Tieren das Trinkwasser entzogen.

Am Versuchstag wurde das Haarkleid der Hunde an beiden Vordergliedmaßen im Bereich der V. cephalica antebrachii, lateral an beiden Hintergliedmaßen im Bereich der V. saphena lateralis (Ramus cranialis) sowie am Hals im Bereich der Vv. jugulares geschoren. Danach wurde ein Venenkatheter mittels der Seldinger-Technik (SELDINGER 1952) in eine der Hinterbeinvenen geschoben.

Dazu wurde der Hund in Seitenlage auf den Tisch gelegt und mit einer Seldingerkanüle die V. saphena lateralis punktiert. Durch das Lumen dieser Seldingerkanüle wurde eine Führungssonde ca. 25 cm körperwärts in der Vene vorgeschoben. Nun konnte nach Entfernung der Seldingerkanüle ein steriler Certofix<sup>®</sup>-Venenkatheter (Fa. B.Braun), mit einem Außendurchmesser von 1,4 mm und einem Lumen von 0,8 mm, auf die Führungssonde aufgeschoben und ca. 25-30 cm in der Vene vorgeführt werden. Anschließend wurde nach Herausziehen der Führungssonde und Füllen des Venenkatheters mit 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung der Katheter verschlossen und mit einer Transelastbinde<sup>®</sup>, Silkafix<sup>®</sup>-Band und kohäsiver Coban<sup>TM</sup>-Binde (Fa. 3M) am Hinterbein fixiert.

Daraufhin wurde genauso wie schon im Teil 1 dieses Vorversuchs beschrieben, eine Ernährungssonde als Katheter in die Harnblase eingeführt und eine Leerwert-Harnprobe genommen.

Anschließend wurden zur standardisierten Hydratation 20 ml Leitungswasser/ kg mit einer Magensonde verabreicht und in eine der Vorderbeinvenen eine Braunüle<sup>®</sup> G 14 (Fa. B.Braun) gelegt. Nach der Leerwert-Blutentnahme wurde die Braunüle<sup>®</sup> mit einem passendem Mandrin verschlossen.

Zur Veranschaulichung sind die für diese Versuchsvorbereitungen verwendeten Hilfsmittel und Materialien in Abbildung 2.5.1-1 abgebildet.



**Abbildung 2.5.1-1:** Die im Rahmen der Versuchsvorbereitungen benötigten Materialien;

- links das Beißholz und die Schlundsonde für die Leitungswassergabe
  - in der Mitte die Ernährungssonde für die Blasenkatheterisierung
  - rechts hinten der Venenkatheter nach Seldinger für die Dauerinfusion
  - rechts vorne die Braunülen für die Vorderbeinvenen
- außerdem Befestigungsmaterial und das Lokalanästhetikum

Die Infusionslösung zum Erreichen und Aufrechterhalten einer konstanten Plasmakonzentration der Clearance-Marker wurde in 100 ml Ivac<sup>®</sup>-Spritzen aufgezogen. Um eine kontinuierliche Dauerinfusion zu gewährleisten, wurde mit zwei Spritzenpumpen P 4000-Anaesthesia (Fa. Ivac) gearbeitet, die parallel angeordnet waren und zwischen denen mittels eines Dreiwegehahns umgeschaltet werden konnte.

Somit konnte bei jeder der Pumpen ein Spritzenwechsel erfolgen, ohne daß die Infusion der Erhaltungsdosis unterbrochen werden mußte. Die Infusionsgeschwindigkeit der Dauerinfusion betrug 9 ml/ h/ kg (0,15 ml/ min/ kg). Als Verbindung der Spritzenpumpen mit dem Dreiwegehahn und weiter zum Venenkatheter wurden Perfusor<sup>®</sup>-Leitungen verwendet.

Die Anordnung der beiden für die Dauerinfusion der radioaktiven Marker verwendeten Ivac<sup>®</sup>-Spritzenpumpen ist aus Abbildung 2.5.1-2 ersichtlich. Ebenso sind, neben der Spritze mit der Initialdosis, alle für die Blutentnahmen und die Harnentnahmen benötigten Materialien abgebildet.

Die Zeitnahme begann mit der i.g. Gabe des Leitungswassers. 15 Minuten später wurde die Initialdosis der Clearance-Marker über den i.v.-Katheter in der Hinterbeinvene appliziert. Diese Initiallösung hatte ein Volumen von 1 ml/ kg. Sofort nach der Bolusgabe der Initialdosis wurde die von den Ivac-Pumpen kommende Perfusor<sup>®</sup>-Leitung mit dem Venenkatheter verbunden und die Infusion gestartet.

Nach der Injektion der Initialdosis folgte eine vierzigminütige Equilibrierungsphase, an deren Ende die Blase leukatheterisiert wurde. Es schlossen sich drei jeweils 10 Minuten lange Clearanceperioden an. Da die Verhältnisse bei diesem Vorversuch dem darauffolgend geplanten Versuch mit Clearancebestimmung (Versuch 4) möglichst identisch sein sollten, wurden den drei Clearanceperioden die Bezeichnungen -35 bis -25 min; -25 bis -15 min, -15 bis -5 min und den Mittelpunkts-Blutentnahmen die Zeitpunkte -30, -20 sowie -10 min zugeordnet. Außerdem wurde nach weiteren fünf Minuten die Harnblase nochmals leukatheterisiert und die Zeitnahme von neuem gestartet.



**Abbildung 2.5.1-2:** Anordnung der Ivac-Spritzenpumpen für die Dauerinfusion der Clearance-Marker  
 - links vorne verschlossene Spritzenkörper und Tupfer für die Blutentnahmen  
 - dahinter Spritze, Kochsalzlösung und Plastikschalen f. die Harnentnahme  
 - rechts vorne Initiallösung der radioaktiven Clearance-Marker

Jede Clearanceperiode beinhaltete eine zugehörige Blutentnahme genau am Mittelpunkt der Clearanceperiode und wurde durch die Leukatheterisierung (Blasenspülung und Luftinjektion) beendet (siehe auch 2.5.1.1).

Nach dem Neustart der Uhr wurden sechs jeweils 10 Minuten lange Clearanceperioden (bis zum Zeitpunkt 60 min) und darauf folgend vier jeweils 15 Minuten lange Clearanceperioden (bis zum Zeitpunkt 120 min) durchgeführt.

Somit wurden bei diesem Teil 2 des Vorversuch B neben der Leerwert-Harnentnahme und Leerwert-Blutentnahme dreizehn Harnsammelperioden durchgeführt (bis -25 min, bis -15 min, bis -5 min, bis 10 min, bis 20 min, bis 30 min, bis 40 min, bis 50 min, bis 60 min, bis 75 min, bis 90 min, bis 105 min, bis 120 min) und ebenso viele Blutentnahmen (-30 min, -20 min, -10 min, 5 min, 15 min, 25 min, 35 min, 45 min, 55 min, 65 min, 67,5 min, 82,5 min, 97,5 min, 112,5 min).

Die Blutentnahmen wurden bei diesem Teil des Vorversuchs jedoch nicht mit einer Spritze aus der Braunüle<sup>®</sup> in der Vorderbeinvene gezogen, sondern nach Entfernung des Mandrin wurde das Blut in einem an der Spitze mit einem Verschlusskonus (Fa. B.Braun) versehenen 3 ml-Spritzenkörper, aus dem vorher der Kolben entfernt worden war, aufgefangen. Aus diesem unten verschlossenen Spritzenkörper wurde das Blut dann direkt in ein Zentrifugenröhrchen vorsichtig überführt.

Nach Beendigung des Versuchs wurde die Braunüle<sup>®</sup> wie auch der Venenkatheter entfernt und auf den Punktionsstellen für ca. 30 Minuten ein Druckverband angelegt sowie prophylaktisch 20 ml Bykomycin<sup>®</sup> vor dem Herausziehen des Katheters in die Harnblase installiert.

Nachdem die Blutproben für ca. 30 Minuten stehengelassen worden waren, erfolgte die Gewinnung des Serums mit der Varifuge<sup>®</sup> 3.2 RS in 15 min bei 1580 g und 20 °C. Anschließend wurde die Radioaktivität der Proben mit dem Wallac  $\beta$ -Counter (Fa. Pharmacia) gemessen.

### **2.5.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen**

Dieser Vorversuch B wurde an zwei männlichen Beagle-Hunden (Züchter Fa. Winkelmann, Paderborn) durchgeführt. Das Gewicht der Tiere lag zwischen 11,4 und 14,3 kg.

Ab dem Vortag des Versuchs, am Versuchstag selbst und anschließend für eine Dauer von ca. vier bis fünf Tagen (solange bis die injizierte Radioaktivität fast vollständig ausgeschieden war) wurden die Hunde innerhalb eines Kontrollbereichs in Einzel-Stoffwechselkäfigen (Fa. Becker) gehalten. Die Aktivität im Harn wurde täglich gemessen.

In der restlichen Zeit wurden die Tiere auf konventionelle Art in Einzelboxen untergebracht.

Die weiteren Haltungsbedingungen waren: eine Stalltemperatur von 21 bis 23 °C, eine relative Luftfeuchtigkeit von 50 bis 62 % und ein Lichtprogramm mit einem 12-Stunden Hell/ Dunkel-Rhythmus. Als Futter erhielten die Hunde frisch zubereitetes Weichfutter, das ihnen den ganzen Tag über angeboten wurde. Außerdem stand ihnen Trinkwasser ad libitum zur Verfügung.

### **2.5.3. Behandlungsschema**

Beide Beagle-Hunde wurden sowohl in Teil 1 wie im Teil 2 dieses Vorversuch B je einmal eingesetzt. Zwischen Teil 1 und Teil 2 wurde ein zeitlicher Abstand von mindestens 8 Tagen eingehalten.

#### **2.5.3.1. Vorversuch B; Teil 1**

Bei diesem Versuch zur Ermittlung der pharmakokinetischen Parameter von Inulin und PAH nach einmaliger Bolusgabe erhielten die Tiere 1 mg/ kg Inulin und 1  $\mu$ Ci/ kg <sup>14</sup>C-Inulin sowie 0,2 mg/ kg PAH und 1  $\mu$ Ci/ kg <sup>3</sup>H-PAH enthalten in 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung mit einem Volumen von 1 ml/ kg als Doppelapplikation beider Substanzen intravenös injiziert.



## **2.6. Untersuchung des Wirkmechanismus der Röntgenkontrastmittel auf die Kreatininbolusausscheidung (Versuch 4)**

### **2.6.1. Beschreibung der Versuchsanordnung**

Vor Versuchsbeginn mußten die Beagle-Hunde an Halsbänder gewöhnt werden, da sie für den Zeitraum der i.v.-Dauerinfusion auf dem Untersuchungstisch angeleint wurden. Durch den hohen Aufwand bei der Versuchsdurchführung konnte der Versuch jeweils nur an einem Tier pro Tag durchgeführt werden.

Um genügend Zeit für die Herstellung der Initiallösung und der Dauerinfusionslösung zu haben, wurde das Körpergewicht, das der Berechnung der Initial- und Erhaltungsdosen zugrundegelegt wurde, schon am Vortag (gegen 10<sup>30</sup> Uhr) vor der anschließenden Fütterung ermittelt. Zu diesem Zeitpunkt waren die Tiere genauso wie dann am Versuchstag selbst ca. 22 Stunden nüchtern. Nachmittags (zwischen 16<sup>00</sup> und 18<sup>00</sup> Uhr) wurde der Hund, der für den Versuch am nächsten Tag vorgesehen war, in den Kontrollbereich gebracht und in einen der Einzel-Stoffwechsellkäfige gesetzt. Zu diesem Zeitpunkt begann auch der Trinkwasserentzug.

Die Versuchsvorbereitungen am Versuchstag selbst stimmen in großen Teilen mit den schon im Teil 2 des Vorversuch B durchgeführten Manipulationen überein (vgl. 2.5.1.2). Nach dem Scheren des Haarkleids an allen vier Gliedmaßen und am Hals im Bereich der genannten Venen wurde ein steriler Certofix<sup>®</sup>-Venenkatheter mittels der schon im Vorversuch B beschriebenen Seldinger-Technik in die linke V. saphena lateralis körperwärts vorgeschoben und gut fixiert.

Als nächstes wurde die Harnblase katheterisiert. Dazu wurde bei männlichen Tieren wiederum eine Ernährungssonde der Größe 4 benutzt und auf die schon beschriebene Weise befestigt (vgl.2.5.1.1). Bei den Hündinnen fand ein Verweilkatheter nach Malécot (Ch.: 10, Fa. Rüschi) Verwendung. Für die Einführung des Katheters in die Harnblase unter visueller Kontrolle über die äußere Harnröhrenöffnung wurde ein Scheidenspekulum (Fa. Aeskulap) in cranio-dorsaler Richtung in die Scheide eingeführt. Wenn durch Anheben des Spekulum in eine mehr caudo-craniale Position und Öffnen des Spekulum die Harnröhrenöffnung auf dem Boden des Scheidenvorhofs am Übergang zur Scheide sichtbar wird, kann der Katheter mit Hilfe einer Führungssonde dort hineingeführt werden. Durch die zweiflügelige Spitze des Malécot-Katheters bleibt diese nach dem Herausziehen der Führungssonde gut in der Harnblase verankert. Der Sitz des Katheters wurde durch das Gewinnen einer Leerwert-Harnprobe überprüft. Der Verweilkatheter wurde dann mit einem Katheterstopfen (Fa. Rüschi) verschlossen und das Katheterende mit einer Transelastbinde<sup>®</sup>, die an der Schwanzwurzel festgebunden wurde, am Tier fixiert.

Danach erhielt der Hund ca. 90 Minuten vor der Substanzapplikation 20 ml Leitungswasser/ kg per os, damit eine standardisierte Hydratation gewährleistet war. In die rechte und die linke Vorderbeinvene wurde je eine Braunüle<sup>®</sup> G 14 gelegt und dort fixiert. Über eine der Braunülen<sup>®</sup> erfolgten die Blutentnahmen, die andere wurde später für die Substanzapplikation zum Zeitpunkt 0 min verwendet. Nach einer Leerwert-Blutentnahme wurden die Braunülen<sup>®</sup> mit passenden Mandrins verschlossen.

Bei fünf der 18 Versuche gelang es nur in eine der Vorderbeinvenen eine Braunüle<sup>®</sup> zu schieben, dann mußte diese sowohl für die Substanzapplikation wie auch für die Blutentnahmen verwendet werden. In diesen Fällen wurde im Anschluß an die Substanzapplikation die Braunüle<sup>®</sup> zusätzlich mit 5 ml NaCl-Lösung gespült. In weiteren vier Fällen mußten im Verlauf des Versuchs einige Blutentnahmen aus der für die Substanzapplikation verwendeten Braunüle<sup>®</sup> entnommen werden.

Für die Dauerinfusion von Inulin und PAH wurde die schon unter 2.5.1.2 beschriebene Anordnung der zwei Ivac Spritzenpumpen verwendet und eine Infusionsgeschwindigkeit von 9 ml/ h/ kg (0,15 ml/ min/ kg) vorgewählt. Durch diese permanente Flüssigkeitszufuhr während des Versuchs wurde eine ausreichende und kontinuierliche Diurese sichergestellt.

Mit der Injektion der Initialdosis in den Venenkatheter zum Zeitpunkt 75 min vor Substanzapplikation wurde die Uhr gestartet und anschließend die Dauerinfusion mit dem Katheter in der Hinterbeinvene verbunden und eingeschaltet.

Die Dosierungen der zur Clearancebestimmung verwendeten Marker Inulin und Paraaminohippursäure betragen: Als Initialdosis 45,5 mg/ kg Inulin und 207 nCi/ kg <sup>14</sup>C-Inulin sowie 18,5 mg/ kg PAH und 555 nCi/ kg <sup>3</sup>H-PAH (in 20 ml 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung) und als Erhaltungsdosis 4,5 nCi/ min/ kg <sup>14</sup>C-Inulin und 12 nCi/ min/ kg <sup>3</sup>H-PAH (Vehikel: 0,8 % (w/v) NaCl-Lösung mit zusätzlichen 0,7 % Inulin und 0,3 % PAH).

Zum Ende der Equilibrierungsphase zum Zeitpunkt 35 min vor Applikation wurde die Blase leukatheterisiert, und es folgten drei zehnmündige Clearanceperioden. Am Ende jeder Clearanceperiode wurde die Harnblase nach Spülung mit 20 ml 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung und Luftinjektion vollständig entleert (vgl. 2.5.1.1). Die dritte dieser Clearanceperioden endete zum Zeitpunkt 5 min vor Substanzapplikation.

Die i.v.-Applikation der 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung, des Angiografin<sup>®</sup> oder des Isovist<sup>®</sup>-300 wurde wie schon im Versuch 3 (siehe 2.4.1) mit einer Kontrastmittel-Injektionspumpe (entweder der schon im Versuch 3 eingesetzte EnVision<sup>™</sup> CT-Injektor oder ein Mark V Plus; beide von der Fa. Medrad) und einer Injektionsgeschwindigkeit von 1 ml/ sec durchgeführt. Nach Beendigung der sich der Substanzgabe direkt anschließenden Kreatininbolusinjektion (1 ml/ kg in 10 sec) wurde die Uhr neu gestartet. Parallel zu der Applikation der Substanz und des Kreatinins wurde eine weitere Blasenspülung durchgeführt, so daß die Harnblase zeitgleich mit der Rückstellung der Uhr leukatheterisiert war.

In der ersten Stunde nach der Substanzapplikation wurden sechs Clearanceperioden mit einer Dauer von je 10 Minuten (0-10 min, 10-20 min, 20-30 min, 30-40 min, 40-50 min und 50-60 min) und in der zweiten Stunde vier Clearanceperioden mit einer Dauer von je 15 Minuten (60-75 min, 75-90 min, 90-105 min und 105-120 min) durchgeführt.

Die den Clearanceperioden entsprechenden Mittelpunkt-Blutentnahmen (-30 min, -20 min, -10 min, 5 min, 15 min, 25 min, 35 min, 45 min, 55 min, 67,5 min, 82,5 min, 97,5 min, und 112,5 min) wurden auf die schon im Vorversuch B, Teil 2 erläuterte Art und Weise vorgenommen, indem das Blut aus der Braunüle mit dem Spritzenkörper aufgefangen wurde.



**Abbildung 2.6.1-1:** Einer der verwendeten Beagle-Hunde in der „Clearance-Box“, in der die Versuche durchgeführt wurden:

*links* sitzt der Hund auf einer dicken Neoprenmatte (sichtbar sind die Braunülen in den Vorderbeinvenen), die Marker-Infusion liegt in der rechten Hinterbeinvene; *rechts davon*, durch eine Trennwand abgeteilt, befinden sich die Spritzenpumpen

Nach Beendigung des Versuchs wurden die beiden Braunülen<sup>®</sup> sowie der Venenkatheter entfernt und an diesen Stellen für ca. 30 Minuten ein Druckverband angelegt. Außerdem wurden prophylaktisch 20 ml Bykomycin<sup>®</sup> vor dem Herausziehen des Katheters in die Harnblase installiert.

Bei diesem Versuch wurde zu jedem Entnahmezeitpunkt ein Volumen von gut 5 ml Vollblut entnommen. Von diesen 5 ml wurden dann zuerst ca. 2,5 ml in ein Kalium-EDTA-Röhrchen (Fa. Sarstedt) gefüllt, dieses verschlossen und vorsichtig geschwenkt. Aus dem im Spritzenkörper verbliebenen Blut wurde dann ein Mikro-Hämatokritröhrchen gefüllt, bevor die restliche Blutprobe vorsichtig in ein Zentrifugenröhrchen überführt wurde. Das Kalium-EDTA-Röhrchen und das Zentrifugenröhrchen wurden danach sofort in ein Eis/ Wassergemisch gestellt, um nach einer Standzeit von ca. 30 Minuten in der auf + 4 °C gekühlten Varifuge<sup>®</sup> 3.2 RS für 15 Minuten bei 1500 g zentrifugiert zu werden. Das nach der Zentrifugation gewonnene EDTA-Plasma wurde in zwei Portionen von mindesten 500 µl Volumen aufgeteilt, in Reaktionsgefäße abpipettiert und bei - 20 °C eingefroren. Von dem durch Zentrifugation erhaltenen Serum wurden genau 500 µl in vorbereitete Packard-Gefäße, in denen schon 10 ml Scintillationscocktail vorgelegt waren, einpipettiert, während das restliche Serum von gut 500 µl ebenfalls in einem Reaktionsgefäß eingefroren wurde.

### 2.6.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen

In diesem Clearanceversuch wurden sechs Beagle-Hunde (3M/ 3F), gezüchtet von der Fa. Winkelmann aus Paderborn, eingesetzt. Die Akklimatisierungszeit betrug mehr als 28 Tage.

Die Zuordnung jeder der sechs Hunde zu einer der sechs möglichen Kombinationen der drei Substanzapplikationen wurde per Losverfahren durchgeführt (siehe Applikationsschema 3). Dieses Applikationsschema ist identisch mit dem des Versuchs 3 (vgl. 2.4.2)

| Tier | Geschlecht | Substanz:           |                     |                     |
|------|------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|      |            | 1. Applikation      | 2. Applikation      | 3. Applikation      |
| 1    | M          | Angiografin®        | 0,9%ige NaCl-Lösung | Isovist®-300        |
| 2    | F          | Isovist®-300        | Angiografin®        | 0,9%ige NaCl-Lösung |
| 3    | M          | 0,9%ige NaCl-Lösung | Isovist®-300        | Angiografin®        |
| 4    | F          | Angiografin®        | Isovist®-300        | 0,9%ige NaCl-Lösung |
| 5    | M          | Isovist®-300        | 0,9%ige NaCl-Lösung | Angiografin®        |
| 6    | F          | 0,9%ige NaCl-Lösung | Angiografin®        | Isovist®-300        |

#### **Applikationsschema 3: Versuch 4**

Das Gewicht der Tiere an den Vortagen des Versuchs lag zwischen 10,9 und 15,8 kg.

Ab dem Vortag des Versuchs, am Versuchstag selbst und anschließend für eine Dauer von im Durchschnitt vier bis fünf Tage (solange bis die Tiere die injizierte Radioaktivität fast vollständig ausgeschieden hatten) wurden die Hunde innerhalb eines Kontrollbereichs in Einzel-Stoffwechsellkäfigen (Fa. Becker) gehalten. Die Aktivität im Harn wurde täglich gemessen.

Während ihres Aufenthalts im Kontrollbereich erhielten die Hunde frisch zubereitetes Weichfutter, das ihnen den ganzen Tag über angeboten wurde, und Trinkwasser stand ihnen dort ad libitum zur Verfügung. Die weiteren Haltungsbedingungen waren: eine Stalltemperatur von 21 bis 23 °C, eine relative Luftfeuchtigkeit von 50 bis 62 % und ein Lichtprogramm mit einem 12-Stunden Hell/ Dunkel-Rhythmus.

In der restlichen Zeit wurden die Tiere auf konventionelle Art in Einzelboxen bei den schon im Vorversuch A beschriebenen Haltungsbedingungen untergebracht (siehe 2.1.2). Die Werte für die Stalltemperatur und die relative Feuchte dort waren: 21 bis 24 °C und 42 bis 76 %.

### 2.6.3. Behandlungsschema

Bei diesem Versuch wurden, wie schon im Teil 2 des Vorversuchs, als Initialdosis 45,4 mg/ kg Inulin und 206,6 nCi/ kg  $^{14}\text{C}$ -Inulin sowie 18,3 mg/ kg PAH und 555,1 nCi/ kg  $^3\text{H}$ -PAH, enthalten in 20 ml 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung, verwendet.

Die Dauerinfusionslösung wurde auf 4,5 nCi/ min/ kg  $^{14}\text{C}$ -Inulin und 12 nCi/ min/ kg  $^3\text{H}$ -PAH korrigiert. Als Vehikel der radioaktiven Clearance-Marker diente wiederum eine 0,8 % (w/v) NaCl-Lösung, in der zusätzlich 0,7 % Inulin sowie 0,3 % PAH enthalten war.

Der Versuchsaufbau des Versuchs 3 mit einem 3-fachen Cross-Over-Verfahren wurde hier wieder verwendet. Die verwendeten sechs Beagle-Hunde (3M/ 3F) wurden jeder der drei Behandlungsgruppen dieses Versuchs (0,9 % (w/v) NaCl-Lösung, Isovist<sup>®</sup>-300, Angiografin<sup>®</sup>; jeweils + Kreatinin) einmal zugeordnet (siehe auch Behandlungsschema 5), so daß es sich bei den in diesem Behandlungsschema aufgeführten 3M/ 3F jedesmal um dieselben Tiere handelte. Die Substanzapplikationen umfaßten ein Volumen von 4 ml/ kg und die unmittelbar im Anschluß daran als Bolus injizierte Kreatininlösung (mit einer Konzentration von 20 mg/ ml) ein Volumen von 1 ml/ kg.

| Gruppe | Tierzahl | Substanz                  | Applikationsvolumen |
|--------|----------|---------------------------|---------------------|
| 1      | 3M/ 3F   | NaCl-Lösung               | 4 ml/ kg            |
| 2      | 3M/ 3F   | Isovist <sup>®</sup> -300 | 4 ml/ kg            |
| 3      | 3M/ 3F   | Angiografin <sup>®</sup>  | 4 ml/ kg            |

**Behandlungsschema 5:** Versuch 4

### 2.6.4. Meßmethoden

#### 2.6.4.1. Messung des Harnvolumens und des Hämatokrits

Das Harnvolumen jeder Clearanceperiode wurde sofort im Anschluß an die Harngewinnung gemessen. Dazu wurden je nach Harnmenge Glas-Meßzylinder von 25 bis 250 ml Volumen (Fa. Schott) verwendet.

Die Bestimmung des Hämatokritwerts jeder Blutprobe erfolgte ebenfalls direkt im Anschluß an die Blutentnahme (siehe auch 2.6.1). Dazu wurde ein Mikro-Hämatokritröhrchen zu ca. 80% mit Blut gefüllt und dann an einem Ende mit einer Kitmasse dicht verschlossen. In einer speziellen Mikrohämatokritzentrifuge (Fa. Heraeus) wurden die Röhrchen anschließend für ca. 5 min bei über 10000 g zentrifugiert und danach konnte mit Hilfe einer zugehörigen Schablone der Hämatokritwert abgelesen werden.

#### 2.6.4.2. Messung der Aktivität von $^3\text{H}$ und $^{14}\text{C}$ in Serum- und Harnproben

Die Messung der Radioaktivität in den gewonnenen Serum- und Harnproben erfolgte mit einem Wallac System 1410<sup>TM</sup> Liquid Scintillation Counter (Fa. Pharmacia) (siehe auch 2.5.4.1). Ein Probenvolumen von jeweils 400 µl Serum bzw. 1000 µl Harn wurde dazu in

10 ml Pico-Fluor™ 15-Scintillationscocktail (Fa. Packard) einpipettiert. Jede Probe wurde für die Dauer von 10 Minuten gemessen und die in ihr enthaltene Aktivität differenziert nach <sup>14</sup>C- und <sup>3</sup>H-Strahlung ermittelt. Die Messergebnisse wurden über einen Drucker ausgegeben.

#### 2.6.4.3. Messung der Endothelin-1-Konzentration in Plasma und Harn

Die Messung von Endothelin-1 (ET-1) im Plasma und im Harn wurde mit dem Enzymimmunoassay (ENZYMELINKEDIMMUNOSORBENDASSAY - ELISA) der Fa. Biomedica, Wien durchgeführt.

Bei diesem ELISA wird das in den Proben enthaltene ET-1 (Aminosäuresequenz 1-21) direkt bestimmt. Das Assay zeigt Kreuzreaktionen mit den anderen Endothelin-Isoformen ET-2 zu 100 % und ET-3 < 5 % bzw. mit dem ET-Propeptid Big-ET von < 1 %. Die Mikrotiterplatten sind mit einem gereinigten polyklonalen Kaninchen anti-Endothelin Erstantikörper beschichtet. Ein für Endothelin hochspezifischer monoklonaler Detektionsantikörper, der gleichzeitig mit der Probe zugegeben wird, bildet mit dem in der Probe vorhandenen Endothelin und dem gebundenen Erstantikörper einen Sandwich. Nach einem Waschschrift, bei dem alle nicht spezifisch gebundenen Substanzen entfernt werden, wird die Menge an gebundenem monoklonalen Antikörper bestimmt, die der Menge an in der Probe enthaltenem Endothelin entspricht. Dazu wird ein mit Peroxidase konjugierter anti-Maus IgG Antikörper (Konjugat) verwendet, dem nach abermaligem Waschen Tetramethylbenzidin als Substrat zugegeben wird. Die dann in einem ELISA-Photometer meßbare Farbentwicklung ist direkt proportional der Konzentration an Endothelin in der Probe.

##### 2.6.4.3.1. Vorbereitung der Plasmaproben zur ET-1-Bestimmung

Dieser ELISA wurde für die Messung von Endothelin in humanem EDTA-Plasma entwickelt, ist aber auch validiert für die Verwendung von Hunde-EDTA-Plasma. Allerdings mußte dazu vorher eine Fällung der Proben durchgeführt werden, um einen verfälschenden Einfluß von Hundematrixeffekten auszuschließen.

In ein 2 ml Polypropylen (PP)-Röhrchen wurden 500 µl EDTA-Plasma vorgelegt, dann 750 µl eines Fällungsreagenz (12 ml 0,2 M Salzsäure + 80 ml Aceton pA) zugefügt und mit einem Vortex®-Mischer (Vortex®-Genie2, Scientific Industries) gut durchmischt. Dann wurden die Proben in ein Eis/ Wassergemisch gestellt und anschließend für 20 min bei 3000 g in der auf + 4 °C gekühlten Varifuge® 3.2 RS zentrifugiert. Der Überstand wurde nach der Zentrifugation in ein Reaktionsgefäß transferiert und in ca. 4-6 Stunden in einer Speedvac (Fa. Bachofer) vollständig eingedampft. Die eingedampften Proben wurden dann bis zur Durchführung des Endothelin-ELISA bei - 20 °C gelagert.

##### 2.6.4.3.2. Vorbereitung der Harnproben zur ET-1-Bestimmung

Um das physiologisch in nur sehr niedrigen Konzentrationen im Harn vorliegende Endothelin, bei z.T. auch recht großen Harnvolumina der Clearanceperioden, auf meßbare Mengen anzureichern, mußte das Endothelin zunächst aus der Urinprobe mittels Festphasenextraktion extrahiert werden. Außerdem wurden so gleichzeitig Störeinflüsse von anderen Urinkomponenten ausgeschlossen.

Für die Endothelin-Anreicherung wurden 1500 µl Harn (mit 10 % einer 1 molaren HCl angesäuert) verwendet, zu dem in einem Reaktionsgefäß 120 µl einer 1:1 (v/v)-Mischung aus Acetonitril und Wasser (H<sub>2</sub>O pA) gegeben wurde. Dann wurde die Probe auf einem Vortex<sup>®</sup>-Mischer gut gemischt. Durch den Zusatz der Acetonitril/ Wasser-Mischung sollte die Trennschärfe der Festphasenextraktion deutlich gesteigert werden.

Die für die Festphasenextraktion verwendeten Clean-Up<sup>®</sup> C18-Kartuschen (Fa. Worldwide Monitoring<sup>TM</sup>) wurden nach folgendem Schema vorkonditioniert:

- 1.) 2 ml 100 % Methanol pA
- 2.) 2 ml Methanol/ Wasser 10/ 90 (v/v)
- 3.) 2 ml Methanol/ Wasser 20/ 80 (v/v)
- 4.) 2 ml Methanol/ Wasser 85/ 15 (v/v)
- 5.) 2 x 2 ml Methanol/ Wasser 10/ 90 (v/v)

Zur eigentlichen Extraktion wurde die Probe dann auf die konditionierte Kartusche aufgebracht, viermal mit 1 ml Methanol/ Wasser 10/ 90 (v/v) gewaschen und anschließend viermal mit 1 ml Methanol/ Wasser 85/ 15 (v/v) langsam eluiert. Das Eluat wurde in 10 ml Tablettenröhrchen aufgefangen und über Nacht bei 37 °C im Stickstoffstrom getrocknet. Auch diese Proben wurden dann bis zur Durchführung des Endothelin-ELISA bei -20 °C gelagert.

#### 2.6.4.3.3. Durchführung des ELISA

Zur Durchführung des Endothelin-ELISA wurden die eingedampften bzw. getrockneten Proben in 500 µl Assaypuffer aufgelöst und gut gemischt (Vortex<sup>®</sup>-Mischer). Aus einem Endothelinstandard wurde eine Standard-Verdünnungsreihe von 5 Standards mit Konzentrationen von 9,6/ 4,8/ 2,4/ 1,2 und 0,6 fmol/ ml sowie einem nur aus Verdünnungspuffer bestehenden Nullstandard hergestellt. In die Vertiefungen der Mikrotiterplatten wurden 200 µl der Proben bzw. der Standards einpipettiert, wobei jeweils eine Doppelbestimmung gemacht wurde. Nachdem der Detektionsantikörper in jede Vertiefung pipettiert war, wurden die Mikrotiterplatten 16-24 Stunden (über Nacht) in Dunkelheit bei Raumtemperatur inkubiert. Am nächsten Tag wurde der Inhalt der Vertiefungen verworfen und die Mikrotiterplatten viermal mit Waschpuffer gewaschen. Anschließend an die Zugabe des Konjugats wurde erneut inkubiert, diesmal in einem Heto Cell House 200-Brutschrank (Heto/ Holten AS, Allerød, DK) für 3 Stunden ohne Schütteln bei 37 °C. Nach nochmaligem Verwerfen des Inhalts und erneutem mehrmaligem Waschen mit Waschpuffer wurde dann das Substrat in alle Vertiefungen pipettiert und im Dunkeln bei Raumtemperatur ein letztes Mal inkubiert. Genau nach 30 min wurde die Stopplösung zugegeben und sofort die Farbentwicklung mit einem ELISA-Photometer bei 450 nm gegen 690 nm als Referenz gemessen.

Das für die Berechnung der Endothelinkonzentration verwendete Biolinx-Programm zieht den Absorptionswert des Leerwerts von allen anderen Meßwerten ab und erstellt danach aus den Werten der sechs Standards mit einem Akima-Algorithmus die Eichkurve. Die Endothelinkonzentrationen der Proben werden dann mittels dieser Eichkurve errechnet und die Ergebnisse ausgedruckt.

Die untere Nachweisgrenze dieses Endothelin-ELISAs liegt bei 0,05 fmol/ ml und die Wiederfindung bei mit Endothelin-1 versehenen Plasmen nach einer Fällung wird mit 96 % angegeben.

## 2.7. Verwendete Materialien

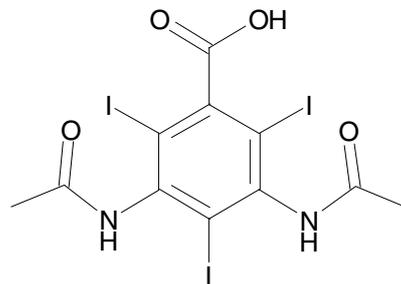
### 2.7.1. Eingesetzte Röntgenkontrastmittel

#### 2.7.1.1. Meglumin-Amidotrizoat

Handelspräparat der Fa. Schering AG, Berlin

Handelsname: Angiograf<sup>®</sup>

Chemische Bezeichnung: Megluminsalz der 3,5-Diacetamido-2,4,6-triiodbenzoesäure



Jodkonzentration: 306 mg/ ml

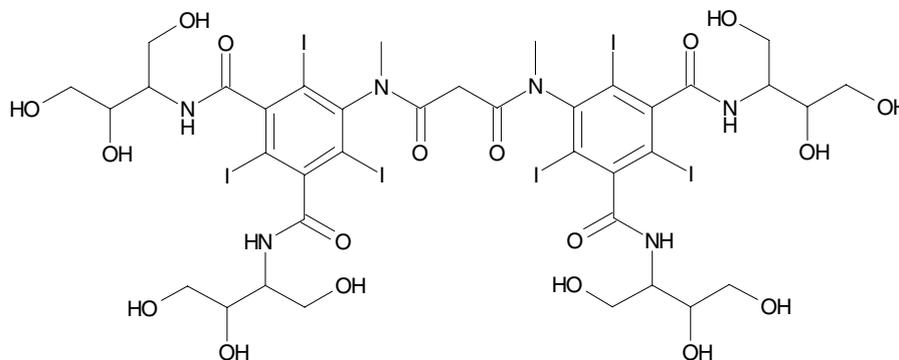
Osmolalität bei 37 °C: 1530 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O

#### 2.7.1.2. Iotrolan

Handelspräparat der Fa. Schering AG, Berlin

Handelsname: Isovist<sup>®</sup>-300

Chemische Bezeichnung: 5,5'-(N,N'-Dimethylmalonyldiimino)-bis{2,4,6-triiodisophthalsäure-bis[(1RS,2SR)-2,3-dihydroxy-1-hydroxymethylpropyl]-diamid}



Jodkonzentration: 300 mg/ ml

Osmolalität bei 37 °C: 320 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O

## 2.7.2. Lösungen

### Isotone Kochsalzlösung:

0,9 %ige gebrauchsfertige Lösung der Fa. B. Braun, Melsungen

### Kreatininlösung:

Kreatinin 20 g/ l

NaCl 9 g/ l

- Die Lösung wurde nach Herstellung sterilfiltriert.

### Mannitollösung:

Mannitol 180 g/ l

Sorbit 56 g/ l

- Die Lösung wurde nach Herstellung sterilfiltriert.

## 2.8. Pharmakokinetische Auswertung

### 2.8.1. TOPFIT-Auswertung

Der größte Teil der pharmakokinetischen Auswertungen in der vorliegenden Arbeit wurde mit dem TOPFIT-Programm (Heinzel et al. 1993) durchgeführt.

Mit diesem Programm lassen sich lineare pharmakokinetische Modelle auf der Basis von Kompartimenten erzeugen (bei denen alle Modellparameter im Anschluß an die Optimierung einer Anpassungskurve berechnet werden) - „compartmental analysis“. Alternativ ist auch die Bestimmung von pharmakokinetischen Parametern in einer kompartimentfreien Analyse unter Zuhilfenahme der halblogarithmischen Abbildung und nachfolgender linearer Regressionsberechnung möglich - „noncompartmental analysis“.

Im Vorversuch A und in den Versuchen 1, 2 und 3 wurde für die Berechnung der pharmakokinetischen Parameter Halbwertszeit ( $t_{1/2}$  (1),  $t_{1/2}$  (2) und  $t_{1/2}$  (3)), Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht ( $V_{ss}$ ), Clearance sowie der AUC des Modells ein 3-Kompartimenten-Modell verwendet, mit dem die beste Anpassung der für das Modell errechneten Kreatininwerte an die tatsächlich gemessenen Serumkreatininwerte zu erreichen war. Dabei beziehen sich die für das Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht ( $V_{ss}$ ) und für die Clearance errechneten Werte auf kg KGW, da in den für die Berechnung dieser beiden Parameter verwendeten Formeln die applizierte Dosis (mg/ kg) mit enthalten ist.

Bei dem Teil 1 des Vorversuchs B dagegen wurde eine kompartimentfreie Analyse verwendet um die terminale Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ), die totale Clearance, das Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht ( $V_{ss}$ ) sowie die renale Clearance/ Tier zu berechnen.

### 2.8.2. Clearanceberechnung mit EXCEL

Die renale Clearance ist eine Kenngröße der Nierenfunktion. Sie wird entweder als endogene Clearance über die Ausscheidung körpereigener Stoffwechselprodukte (v.a. Kreatinin) oder als exogene Clearance über die Elimination einer zuvor injizierten körperfremden Substanz ermittelt. Wird eine Substanz ausschließlich über die Nieren ausgeschieden, so entspricht die renale Clearance der Plasmaclearance dieses Stoffes.

Die Einheit der Clearance ist ml/ min und der Betrag der Clearance einer Substanz x gibt an, welches Plasmavolumen pro Minute durch die Nieren von dieser Substanz vollständig befreit wird. Diese Beschreibung ist jedoch fiktiv, da in Wirklichkeit nicht ein Teil des renalen Plasmaflusses vollständig, sondern vielmehr der Gesamtstrom teilweise von der betreffenden Substanz befreit wird.

Für die Berechnung der renalen Inulinclearance und PAH-Clearance im Teil 2 von Vorversuch B und für alle Clearanceberechnungen in Versuch 4 wurde die klassische Clearance-Formel

$$Clearance\ x = \frac{U_x * V}{P_x} \quad (ml/min) \quad \text{verwendet.}$$

Dabei ist  $U_x$  bzw.  $P_x$  die Konzentration eines Stoffes x im Urin bzw. Plasma und V das Harnminutenvolumen.

Die Berechnung der Initialdosen von Inulin und Paraaminohippursäure für die Clearanceversuche wurde nach der Formel

$$Initialdosis = C_{ss} * V_{ss}$$

mit  $C_{ss}$  als angestrebter Konzentration im Fließgleichgewicht (bei „heißem“ Inulin und PAH jeweils 0,91 nCi/ ml Serum bzw. bei „kaltem“ Inulin (PAH) 0,2 (0,03) mg/ ml Serum) und  $V_{ss}$  als Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht (0,227 (0,61) l/ kg für Inulin (PAH) aus Teil 1 des Vorversuch B) durchgeführt.

Die Erhaltungsdosen für die i.v.-Infusion von „heißem“ und „kaltem“ Inulin bzw. PAH für die Clearanceversuche wurden über die Formel

$$Erhaltungsdosis = C_{ss} * GFR$$

mit der schon weiter oben erläuterten  $C_{ss}$  als angestrebte Konzentration im Fließgleichgewicht und der glomerulären Filtrationsrate (GFR; im Vorversuch B für beide Substanzen ermittelt) berechnet.

## **2.9. Statistische Auswertung**

Für die statistische Auswertung der Daten, die im Zusammenhang mit der Anfertigung dieser Arbeit erhoben wurden, sind zwei Programme verwendet worden:

- Das Programm EXCEL der Firma Microsoft in der Version 7.0, und
- das Programm SIGMASTAT der Firma Jandel Scientific in der Version 2.0.

Das Programm Excel wurde benutzt, um die Mittelwerte (MW) und die Standardabweichungen (SD), ausgehend von einer Grundgesamtheit (Funktion STABWN), der Daten zu berechnen.

Für die benötigten Varianzanalysen wurde das SIGMASTAT-Programm verwendet, wobei mit Hilfe des Programms immer die für den entsprechenden Versuch passende Analyse ausgewählt wurde.

Beim Versuch 1 wurde eine normale one-way Analysis Of Variance (ANOVA) eingesetzt, während für die Versuche 2, 3 und 4 eine one-way Repeated Measures (RM) ANOVA verwendet wurde, eine Varianzanalyse, die bei dem wiederholten Einsatz derselben Individuen benutzt wird.

Wurden bei der Durchführung der Varianzanalyse Signifikanzen von  $p < 0,05$  festgestellt, schließt sich im Rahmen der Varianzanalyse dann noch ein Bonferroni-t-Test an, bei dem die beiden RKM-Gruppen jeweils mit der Kontrollgruppe verglichen werden. Die beiden Kontrastmittelgruppen wurden in diesem Fall miteinander mittels einem gepaarten t-Test auf signifikante Unterschiede untersucht.

Bei der Ausführung der Varianzanalysen wurde für alle Datensätze die Normalverteilung der Daten automatisch mit dem Kologomov-Smirnov-Test überprüft („normality-test“) sowie sichergestellt, daß alle Daten gleiche Varianzen aufweisen („equal variance-test“).

Auch bei der Ermittlung des Korrelations-Koeffizienten  $R = 0,732$  zwischen den Kreatininclearancewerten des Versuch 3 und den Inulin-Clearancewerten aus Versuch 4 wurde mit dem SIGMASTAT-Programm gearbeitet wobei hierfür die „Pearson-Product-Moment-Correlation“ verwendet wurde.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Ergebnisse Vorversuch A

##### 3.1.1. Serumkreatininkonzentrationen nach Gabe eines i.v.-Bolus

Ausgehend von einem endogenen Kreatininspiegel von  $0,7 \pm 0,07$  mg/ 100ml Serum wurde nach i.v.-Applikation eines Kreatininbolus mit einer Dosis von 20 mg/ kg zum Zeitpunkt 1 min nach Appl. eine maximale Kreatininkonzentration von  $11,89 \pm 1,34$  mg/ 100 ml Serum gemessen (s. Tabelle 3.1.1-1). Von diesem Maximum aus fällt die Kreatininkonzentration in den ersten 10 min nach Applikation sehr schnell ab (pro min um  $\varnothing$  0,75 mg/ 100ml Serum) und zeigt ab dem Meßzeitpunkt 15 min dann eine deutlich geringere Serumeliminationsgeschwindigkeit. Der Ausgangswert des endogenen Kreatininspiegels wird bis zum letzten Blutentnahmezeitpunkt bei 270 min nicht wieder erreicht ( $1,12 \pm 0,1$  mg/ 100ml Serum).

**Tabelle 3.1.1-1:** Zusammenfassung der Serumkreatininwerte nach i.v.-Bolus von 20 mg Kreatinin/ kg KGW (n=3), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

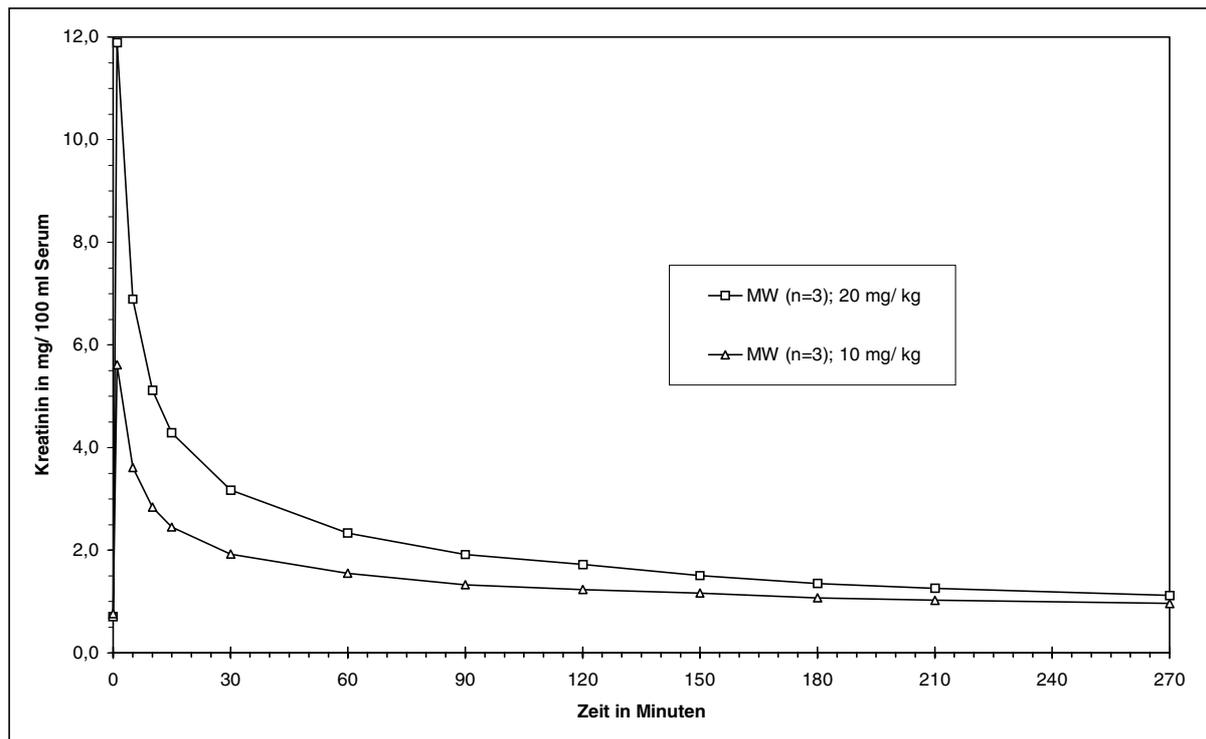
| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        | MW (n=3) | SD (n=3) |
|------------------------|------------|--------|--------|----------|----------|
|                        | 614 F      | 8986 M | 8823 M |          |          |
| 0                      | 0,73       | 0,63   | 0,76   | 0,71     | 0,07     |
| 1                      | 12,68      | 10,35  | 12,65  | 11,89    | 1,34     |
| 5                      | 7,22       | 6,42   | 7,04   | 6,89     | 0,42     |
| 10                     | 5,09       | 4,97   | 5,30   | 5,12     | 0,17     |
| 15                     | 4,27       | 4,21   | 4,37   | 4,28     | 0,08     |
| 30                     | 3,13       | 3,15   | 3,24   | 3,17     | 0,06     |
| 60                     | 2,27       | 2,31   | 2,42   | 2,33     | 0,08     |
| 90                     | 1,77       | 1,89   | 2,09   | 1,92     | 0,16     |
| 120                    | 1,66       | 1,63   | 1,87   | 1,72     | 0,13     |
| 150                    | 1,44       | 1,45   | 1,63   | 1,51     | 0,11     |
| 180                    | 1,27       | 1,30   | 1,47   | 1,35     | 0,11     |
| 210                    | 1,16       | 1,21   | 1,39   | 1,25     | 0,12     |
| 270                    | 1,03       | 1,10   | 1,22   | 1,12     | 0,10     |

Der Ausgangskreatininwert vor Gabe eines Kreatininbolus von 10 mg/ kg betrug  $0,76 \pm 0,07$  mg/ 100ml Serum und die zum Zeitpunkt 1 min gemessene max. Konzentration von  $5,61 \pm 0,71$  mg Kreatinin/ 100ml Serum liegt knapp unter dem halbierten Serumkreatininwert der 20 mg/ kg-Dosis (s. Tabelle 3.1.1-2). Der Abfall des Serumkreatininspiegels bis zum Zeitpunkt 10 min nach Appl. beträgt pro min im Durchschnitt 0,31 mg/ 100ml Serum und die Serumeliminationsgeschwindigkeit verringert sich anschließend so deutlich, daß auch bei dieser Dosis nach 270 min der Vorwert noch nicht wieder erreicht ist.

Auch in der grafischen Darstellung der Serumkreatininwerte ist die ähnliche Eliminationskinetik nach den Dosierungen 20 bzw. 10 mg/ kg gut zu erkennen (s. Abbildung 3.1.1-1).

**Tabelle 3.1.1-2:** Zusammenfassung der Serumkreatininwerte nach i.v.-Bolus von 10 mg Kreatinin/ kg KGW (n=3), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        | MW (n=3) | SD (n=3) |
|------------------------|------------|--------|--------|----------|----------|
|                        | 614 F      | 8986 M | 8823 M |          |          |
| 0                      | 0,78       | 0,68   | 0,81   | 0,76     | 0,07     |
| 1                      | 5,48       | 4,98   | 6,38   | 5,61     | 0,71     |
| 5                      | 3,61       | 3,33   | 3,89   | 3,61     | 0,28     |
| 10                     | 2,79       | 2,71   | 3,01   | 2,84     | 0,16     |
| 15                     | 2,43       | 2,30   | 2,61   | 2,45     | 0,16     |
| 30                     | 1,97       | 1,73   | 2,06   | 1,92     | 0,17     |
| 60                     | 1,57       | 1,43   | 1,66   | 1,55     | 0,12     |
| 90                     | 1,37       | 1,22   | 1,38   | 1,32     | 0,09     |
| 120                    | 1,27       | 1,16   | 1,27   | 1,23     | 0,06     |
| 150                    | 1,22       | 1,04   | 1,22   | 1,16     | 0,10     |
| 180                    | 1,11       | 1,00   | 1,11   | 1,07     | 0,06     |
| 210                    | 1,05       | 0,92   | 1,11   | 1,03     | 0,10     |
| 270                    | 0,90       | 0,93   | 1,05   | 0,96     | 0,08     |



**Abbildung 3.1.1-1:** Serumkreatininwerte nach i.v.-Bolusgabe von 20 bzw. 10 mg Kreatinin/ kg KGW (jeweils n=3)

Die Ergebnisse der TOPFIT-Auswertung der Serumkreatininwerte zeigen Tabelle 3.1.1-3 (Dosis: 20 mg/ kg) bzw. Tabelle 3.1.1-4 (Dosis: 10 mg/ kg). Dabei unterscheiden sich die mit TOPFIT ermittelten Halbwertszeiten  $t_{1/2}$  (1,2,3) und das Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht ( $V_{ss}$ ) der beiden verwendeten Dosierungen nicht signifikant voneinander. Die gemittelten Clearancewerte der beiden Dosierungen sind identisch. Die für das Modell berechnete Fläche unter der Kurve (AUC des Modells) der Dosierung 20 mg/ kg ist knapp doppelt so groß wie die der Dosis 10 mg/ kg.

**Tabelle 3.1.1-3:** TOPFIT-Auswertung der Serumkreatininwerte nach Gabe von 20 mg Kreatinin/ kg

|               | Einheit                  | 614 F | 8986 M | 8823 M | MW (n=3) | SD (n=3) |
|---------------|--------------------------|-------|--------|--------|----------|----------|
| $t_{1/2}$ (1) | min                      | 0,16  | 0,08   | 1,46   | 0,56     | 0,78     |
| $t_{1/2}$ (2) | min                      | 5,04  | 7,16   | 9,16   | 7,12     | 2,06     |
| $t_{1/2}$ (3) | min                      | 71,1  | 91,1   | 107,0  | 89,7     | 18,0     |
| $V_{ss}$      | l/kg                     | 0,49  | 0,55   | 0,60   | 0,55     | 0,05     |
| Clearance     | ml/min/kg                | 5,65  | 4,89   | 4,57   | 5,04     | 0,55     |
| AUC           | ( $\mu\text{g/ml}$ )*min | 3540  | 4090   | 4380   | 4003     | 427      |

**Tabelle 3.1.1-4:** TOPFIT-Auswertung der Serumkreatininwerte nach Gabe von 10 mg Kreatinin/ kg

|               | Einheit                  | 614 F | 8986 M | 8823 M | MW (n=3) | SD (n=3) |
|---------------|--------------------------|-------|--------|--------|----------|----------|
| $t_{1/2}$ (1) | min                      | 0,07  | 0,07   | 2,04   | 0,73     | 1,14     |
| $t_{1/2}$ (2) | min                      | 5,42  | 7,95   | 17,10  | 10,16    | 6,14     |
| $t_{1/2}$ (3) | min                      | 83,1  | 107,0  | 133,0  | 107,7    | 25,0     |
| $V_{ss}$      | l/kg                     | 0,54  | 0,67   | 0,69   | 0,64     | 0,08     |
| Clearance     | ml/min/kg                | 5,23  | 5,20   | 4,59   | 5,01     | 0,36     |
| AUC           | ( $\mu\text{g/ml}$ )*min | 1910  | 1920   | 2180   | 2003     | 153      |

### 3.2. Ergebnisse Versuch 1

#### 3.2.1. Einfluß eines hochosmolaren Röntgenkontrastmittels auf die Ausscheidung eines Kreatininbolus

Der Verlauf der Serumkreatininwerte nach der Gabe eines Kreatininbolus in einer Dosis von 20 mg/ kg und vorhergehender Applikation von isotoner Kochsalzlösung zeigt Tabelle 3.2.1-1. Nach einer maximalen Kreatininkonzentration von  $10,98 \pm 1,15$  mg/ 100ml Serum bei 1 min fallen die Kreatininwerte bis zum Zeitpunkt 10 min nach Appl. mit einer Rate von  $\varnothing$  0,64 mg/ 100ml Serum ab. Danach nimmt die Serumeliminationsgeschwindigkeit stark ab. Die Ausscheidungskinetik ist der aus dem Vorversuch A mit der gleichen Kreatinindosis sehr ähnlich. Auch hierbei wird der vor Versuchsbeginn gemessene Wert der endogenen Kreatininkonzentration von  $0,70 \pm 0,09$  mg/ 100ml Serum nach 270 min zwar noch nicht wieder erreicht, jedoch bei der zusätzlich durchgeführten Blutentnahme 24 h nach Applikation.

**Tabelle 3.2.1-1:** Zusammenfassung der Serumkreatininwerte der NaCl-Gruppe (n=3), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |       |        | MW (n=3) | SD (n=3) |
|------------------------|------------|-------|--------|----------|----------|
|                        | 755 F      | 383 M | 8823 M |          |          |
| 0                      | 0,67       | 0,63  | 0,80   | 0,70     | 0,09     |
| 1                      | 11,19      | 9,74  | 12,00  | 10,98    | 1,15     |
| 5                      | 6,31       | 6,23  | 7,11   | 6,55     | 0,49     |
| 10                     | 4,95       | 4,91  | 5,53   | 5,13     | 0,35     |
| 15                     | 4,11       | 3,95  | 4,66   | 4,24     | 0,37     |
| 30                     | 3,32       | 3,14  | 3,45   | 3,30     | 0,16     |
| 60                     | 2,33       | 2,20  | 2,63   | 2,39     | 0,22     |
| 90                     | 1,91       | 1,78  | 2,18   | 1,96     | 0,20     |
| 120                    | 1,71       | 1,59  | 1,83   | 1,71     | 0,12     |
| 150                    | 1,57       | 1,45  | 1,74   | 1,59     | 0,15     |
| 180                    | 1,36       | 1,35  | 1,66   | 1,46     | 0,18     |
| 210                    | 1,31       | 1,16  | 1,50   | 1,32     | 0,17     |
| 270                    | 1,15       | 1,02  | 1,31   | 1,16     | 0,15     |
| 1440                   | 0,81       | 0,68  | 0,82   | 0,77     | 0,08     |

Wurde anstelle der 0,9 %igen NaCl-Lösung das ionische, hochosmolare Röntgenkontrastmittel Angiografín<sup>®</sup> unmittelbar vor dem Kreatininbolus intravenös appliziert, lag die max. Konzentration nach 1 min bei  $9,71 \pm 0,2$  mg/ 100ml Serum (s. Tabelle 3.2.1-2). Die Kreatininkonzentrationen aller weiteren Meßzeitpunkte (5 -270 min) lagen über denjenigen der NaCl-Gruppe, aber zum Meßzeitpunkt 24 h war auch hier wieder das Ausgangsniveau vor der Angiografín<sup>®</sup>-Applikation erreicht.

**Tabelle 3.2.1-2:** Zusammenfassung der Serumkreatininwerte der RKM-Gruppe (n=3), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |       |        | MW (n=3) | SD (n=3) |
|------------------------|------------|-------|--------|----------|----------|
|                        | 258 F      | 305 M | 1309 M |          |          |
| 0                      | 0,81       | 0,82  | 0,81   | 0,81     | 0,01     |
| 1                      | 9,94       | 9,63  | 9,56   | 9,71     | 0,20     |
| 5                      | 6,50       | 6,86  | 6,81   | 6,72     | 0,20     |
| 10                     | 5,30       | 5,53  | 5,48   | 5,44     | 0,12     |
| 15                     | 4,71       | 4,82  | 4,83   | 4,79     | 0,07     |
| 30                     | 3,56       | 3,70  | 3,84   | 3,70     | 0,14     |
| 60                     | 3,14       | 2,96  | 3,00   | 3,03     | 0,09     |
| 90                     | 2,81       | 2,55  | 2,60   | 2,65     | 0,14     |
| 120                    | 2,47       | 2,27  | 2,45   | 2,40     | 0,11     |
| 150                    | 2,30       | 2,18  | 2,26   | 2,25     | 0,06     |
| 180                    | 2,03       | 1,96  | 1,99   | 1,99     | 0,04     |
| 210                    | 1,91       | 1,82  | 1,90   | 1,88     | 0,05     |
| 270                    | 1,65       | 1,64  | 1,73   | 1,67     | 0,05     |
| 1440                   | 0,80       | 0,89  | 0,86   | 0,85     | 0,05     |

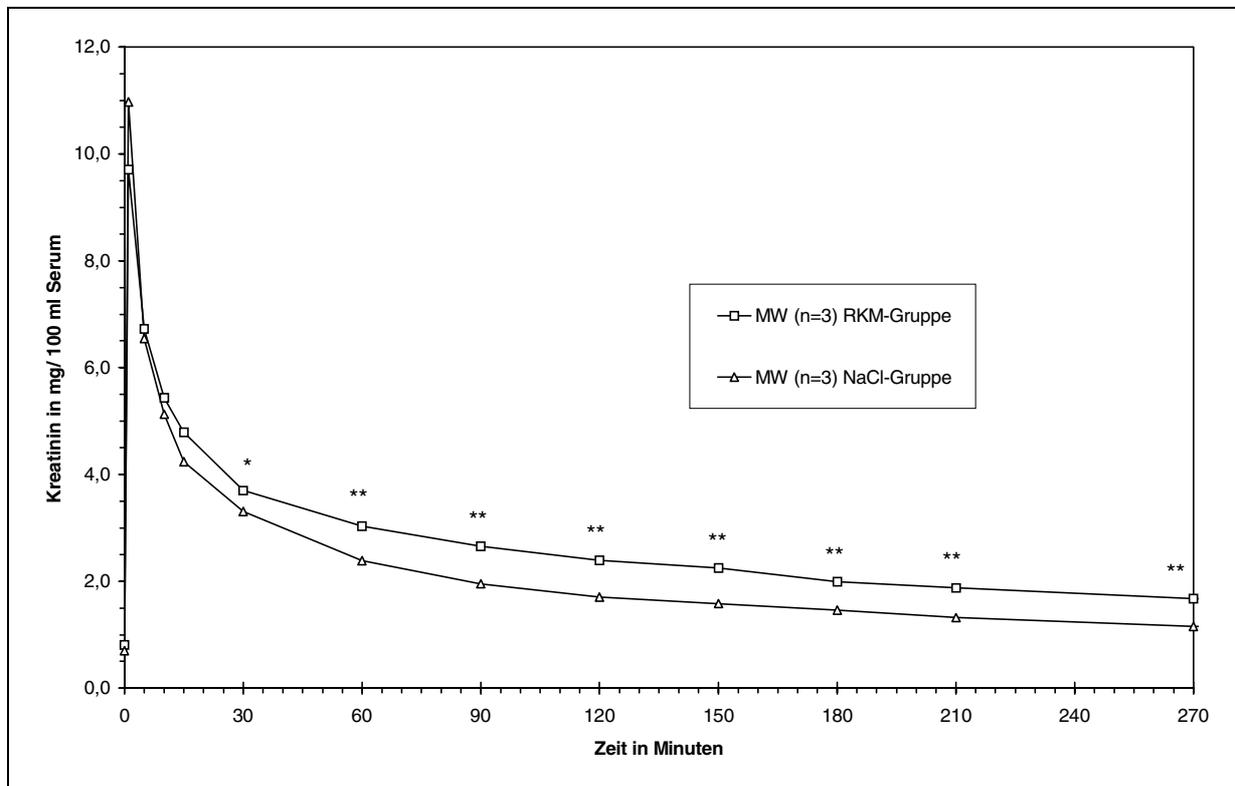
Die Ergebnisse der Varianzanalyse (one-way-ANOVA) der beiden Behandlungsgruppen ist in Tabelle 3.2.1-3 dargestellt. Es geht aus der Tabelle hervor, daß vom Zeitpunkt 30 min n. Appl. an die Serumkreatininwerte der beiden Behandlungsgruppen sich mit einer Wahrscheinlichkeit von 99 % (bzw. 30 min-Wert:  $P=95\%$ ) voneinander unterscheiden. Die 24 Stunden-Werte beider Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.

**Tabelle 3.2.1-3:** Ergebnisse der Varianzanalyse der NaCl-Gruppe gegen die RKM-Gruppe

| Meßzeitpunkt<br>(min) | NaCl vs. Angiografin |                     |
|-----------------------|----------------------|---------------------|
|                       | t-Wert               | Signifikanz         |
| 0                     | --                   | n.s.                |
| 1                     | --                   | n.s.                |
| 5                     | --                   | n.s.                |
| 10                    | --                   | n.s.                |
| 15                    | --                   | n.s.                |
| 30                    | 3,282                | <b>*/p&lt;0.05</b>  |
| 60                    | 4,668                | <b>**/p&lt;0.01</b> |
| 90                    | 4,899                | <b>**/p&lt;0.01</b> |
| 120                   | 7,301                | <b>**/p&lt;0.01</b> |
| 150                   | 7,235                | <b>**/p&lt;0.01</b> |
| 180                   | 5,175                | <b>**/p&lt;0.01</b> |
| 210                   | 5,403                | <b>**/p&lt;0.01</b> |
| 270                   | 5,796                | <b>**/p&lt;0.01</b> |
| 1440                  | --                   | n.s.                |

-- t-Werte werden bei n.s. von Sigma Stat nicht berechnet

In Abbildung 3.2.1-1 sind die Verläufe der Serumkreatininkurven nach Applikation von 4 ml Angiografin® / kg und nach 4 ml NaCl-Lösung/ kg gezeigt. Darin kann die nach der RKM-Gabe verzögerte Serumeliminationsgeschwindigkeit deutlich erkannt werden. Die Meßzeitpunkte, bei denen die durchgeführte Varianzanalyse (one-way-ANOVA) eine signifikante Differenz zwischen den Mittelwerten der beiden Behandlungsgruppen gezeigt hat, sind in der Abbildung mit \* ( $p < 0,05$ ) bzw. mit \*\* ( $p < 0,01$ ) gekennzeichnet.



**Abbildung 3.2.1-1:** Einfluß der Gabe von 4 ml Angiografin® bzw. NaCl-Lösung/ kg auf die Serumelimination eines Kreatininbolus von 20 mg/ kg

Die pharmakokinetische Auswertung der Serumkreatinineliminationskurven mit dem TOPFIT-Programm ist aus Tabelle 3.2.1-4 (NaCl-Gruppe) bzw. Tabelle 3.2.1-5 (RKM-Gruppe) zu entnehmen. Die für die mit 4 ml/ kg 0,9 %iger NaCl-Lösung behandelten Tiere berechneten Mittelwerte liegen bei 95,6 min für  $t_{1/2}$  (3), 0,56 l/ kg für das Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht, 4,74 l/ min/ kg für die Clearance und bei 4237 ( $\mu\text{g}/ \text{ml}$ )\*min für die AUC. Die Mittelwerte der mit 4 ml/ kg Angiografin® behandelten Tiere zeigen dagegen eine verlangsamte Ausscheidung des applizierten Kreatininbolus. Die terminale Halbwertszeit ( $t_{1/2}$  (3)) ist mit 147 min um 53,5 % länger als die der NaCl-Kontrollgruppe, während die Clearance nur 61 % des Clearancewertes der NaCl-Gruppe beträgt. Als Ergebnis der verringerten Serumkreatinineliminationsgeschwindigkeit ist auch die Fläche unter der Kurve für die RKM-Gruppe um gut 60 % größer als die der Kontrolle.

**Tabelle 3.2.1-4:** TOPFIT-Auswertung der NaCl-Gruppe

|               | Einheit                  | 755 F | 383 M | 8823 M | MW (n=3) | SD (n=3) |
|---------------|--------------------------|-------|-------|--------|----------|----------|
| $t_{1/2}$ (1) | min                      | 0,11  | 0,07  | 0,10   | 0,09     | 0,02     |
| $t_{1/2}$ (2) | min                      | 7,07  | 7,04  | 7,48   | 7,20     | 0,25     |
| $t_{1/2}$ (3) | min                      | 93,4  | 90,3  | 103    | 95,6     | 6,62     |
| Vss           | l/kg                     | 0,57  | 0,56  | 0,55   | 0,56     | 0,01     |
| Clearance     | ml/min/kg                | 4,82  | 5,08  | 4,33   | 4,74     | 0,38     |
| AUC           | ( $\mu\text{g/ml}$ )*min | 4150  | 3940  | 4620   | 4237     | 348      |

**Tabelle 3.2.1-5:** TOPFIT-Auswertung der RKM-Gruppe

|               | Einheit                  | 258 F | 305 M | 1309 M | MW (n=3) | SD (n=3) |
|---------------|--------------------------|-------|-------|--------|----------|----------|
| $t_{1/2}$ (1) | min                      | 0,05  | 0,05  | 0,05   | 0,05     | 0,00     |
| $t_{1/2}$ (2) | min                      | 6,91  | 8,23  | 8,29   | 7,81     | 0,78     |
| $t_{1/2}$ (3) | min                      | 148   | 142   | 150    | 147      | 4,16     |
| Vss           | l/kg                     | 0,54  | 0,54  | 0,54   | 0,54     | 0,00     |
| Clearance     | ml/min/kg                | 2,82  | 3,04  | 2,82   | 2,89     | 0,13     |
| AUC           | ( $\mu\text{g/ml}$ )*min | 7080  | 6580  | 7090   | 6917     | 292      |

Der Vergleich der TOPFIT-Ergebnisse mittels der Varianzanalyse ergibt die aus Tabelle 3.2.1-6 ersichtlichen Signifikanzen.

**Tabelle 3.2.1-6:** Varianzanalyse der TOPFIT-Ergebnisse (NaCl-Gruppe gegen die RKM-Gruppe)

| Meßzeitpunkt<br>(min) | NaCl vs. Angiografen |                      |
|-----------------------|----------------------|----------------------|
|                       | t-Wert               | Signifikanz          |
| $t_{1/2}$ (1)         | 3,064                | <b>*/p&lt;0,05</b>   |
| $t_{1/2}$ (2)         | --                   | n.s.                 |
| $t_{1/2}$ (3)         | 11,316               | <b>***p&lt;0,001</b> |
| Vss                   | 4,490                | <b>*/p&lt;0,05</b>   |
| Clearance             | 7,982                | <b>**p&lt;0,01</b>   |
| AUC                   | 10,221               | <b>***p&lt;0,001</b> |

### 3.3. Ergebnisse Versuch 2

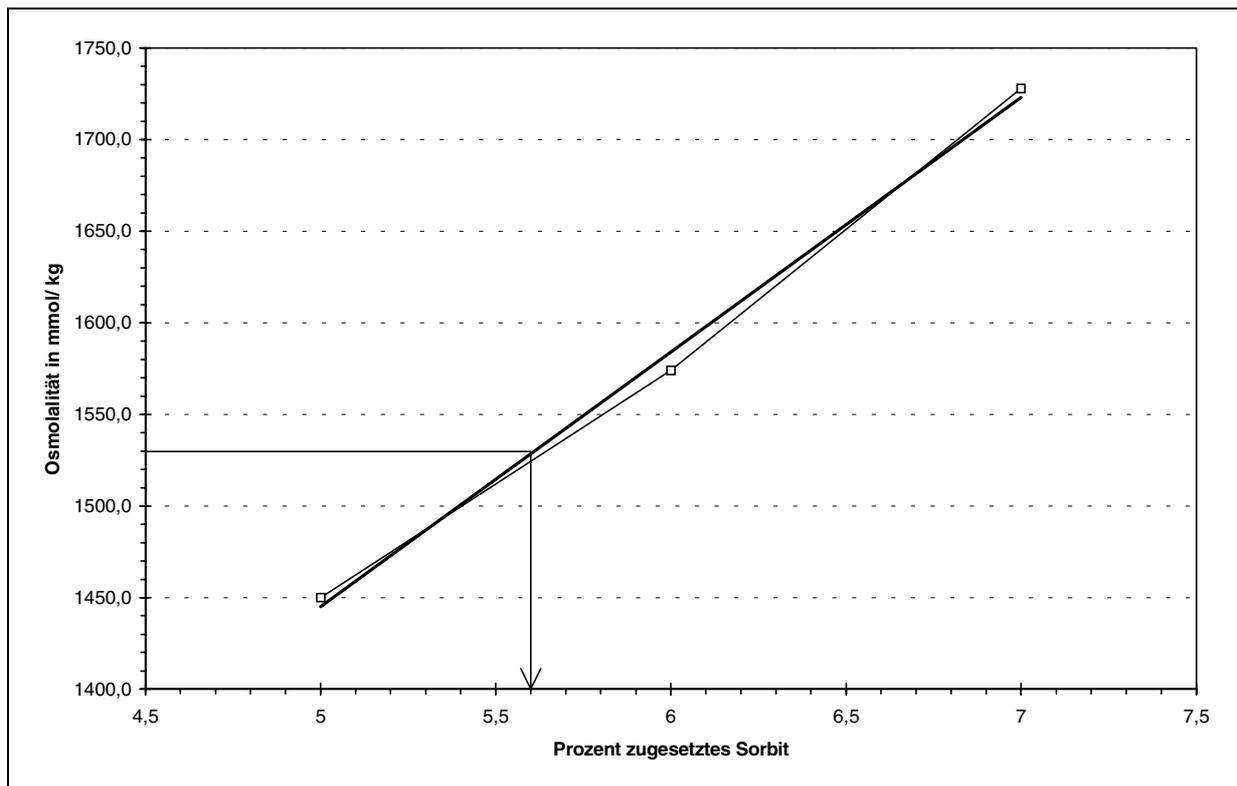
#### 3.3.1. Herstellung einer dem Angiografin<sup>®</sup> gleichosmolalen Mannitollösung

Da bei der Herstellung der für diesen Versuch notwendigen Mannitollösung mit einer Osmolalität von 1530 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O Probleme mit der Löslichkeitsgrenze des Mannitols auftraten, wurde eine Testreihe mit Zugabe von Sorbit zu 18%iger Mannitollösung durchgeführt (Tabelle 3.3.1-1).

**Tabelle 3.3.1-1:** gemessene Osmolalität der Mannitol-/Sorbitlösungen

| 18 % Mannitol + x % Sorbit (w/v) | Osmolalität (mmol/ kg) |
|----------------------------------|------------------------|
| 0                                | 1125                   |
| 5                                | 1450                   |
| 6                                | 1574                   |
| 7                                | 1728                   |

Durch Erstellung eines Diagramms, in dem der Prozentsatz des zugesetzten Sorbits gegen die gemessene Osmolalität aufgetragen wurde, und Einfügen einer Regressionsgeraden (Abbildung 3.3.1-1) ergab sich durch Interpolation für 1530 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O eine Zusammensetzung von 18 % Mannitol und 5,6 % Sorbit. Bei einer solchen, zur Kontrolle dieser Zusammensetzung hergestellten, Lösung wurde nach 3 Tagen Standzeit eine Osmolalität von 1535 mosmol / kg H<sub>2</sub>O gemessen.



**Abbildung 3.3.1-1:** Diagramm der Meßwerte aus Tabelle 3.3.1-1 mit Regressionsgraden

Auch die an den beiden Applikationsterminen dieses Versuchs verwendeten Mannitol-lösungen wurden gemessen (Tabelle 3.3.1-2) und erfüllten mit Abweichungen von 0,6 % bzw. 0,2 % von der geforderten Osmolalität die Anforderung des Versuchsplans.

**Tabelle 3.3.1-2:** gemessene Osmolalität der im Versuch verwendeten Mannitol-/ Sorbitlösung

| 18 % Mannitol + x % Sorbit (w/v) | Osmolalität (mmol/ kg) | Abweichung vom Soll in % |
|----------------------------------|------------------------|--------------------------|
| <u>1.Applikation:</u>            |                        |                          |
| 5,6                              | 1539                   | 0,6                      |
| <u>2.Applikation:</u>            |                        |                          |
| 5,6                              | 1533                   | 0,2                      |

### 3.3.2. Anteil der Osmolalität an dem Einfluß des Röntgenkontrastmittels auf die Ausscheidung eines Kreatininbolus

**Tabelle 3.3.2-1:** Serumkreatininwerte der Mannitolkontrolle (oberer Teil der Tabelle 1. Applikation/ unterer Teil 2. Applikation (jeweils n=3)), angegeben in mg Kreatinin/ 100 ml Serum

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        | MW (n=3) | SD (n=3) |
|------------------------|------------|--------|--------|----------|----------|
|                        | 4446 M     | 4603 F | 4568 F |          |          |
| 0                      | 0,78       | 0,89   | 0,66   | 0,78     | 0,12     |
| 1                      | 12,98      | 12,88  | 10,42  | 12,09    | 1,45     |
| 5                      | 6,97       | 7,16   | 6,93   | 7,02     | 0,12     |
| 10                     | 5,35       | 5,60   | 5,31   | 5,42     | 0,16     |
| 15                     | 4,62       | 4,74   | 4,57   | 4,64     | 0,09     |
| 30                     | 3,47       | 3,62   | 3,59   | 3,56     | 0,08     |
| 60                     | 2,73       | 2,78   | 2,81   | 2,77     | 0,04     |
| 90                     | 2,48       | 2,56   | 2,35   | 2,46     | 0,11     |
| 120                    | 2,21       | 2,26   | 2,12   | 2,20     | 0,07     |
| 180                    | 1,82       | 1,86   | 1,76   | 1,81     | 0,05     |
| 240                    | 1,57       | 1,59   | 1,49   | 1,55     | 0,05     |
| 360                    | 1,25       | 0,00   | 1,11   | 1,18     | 0,10     |
| 480                    | 0,96       | 1,21   | 1,06   | 1,08     | 0,13     |
| 24h                    | 0,95       | 0,99   | 0,78   | 0,91     | 0,11     |
| 72h                    | 0,87       | 0,97   | 0,74   | 0,86     | 0,12     |
| 120h                   | 0,90       | 0,90   | 0,84   | 0,88     | 0,03     |

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        | MW (n=3) | SD (n=3) |
|------------------------|------------|--------|--------|----------|----------|
|                        | 4465 M     | 4564 F | 4485 M |          |          |
| 0                      | 0,88       | 0,74   | 0,86   | 0,83     | 0,08     |
| 1                      | 11,25      | 7,91   | 9,49   | 9,55     | 1,67     |
| 5                      | 6,66       | 6,15   | 6,49   | 6,43     | 0,26     |
| 10                     | 5,15       | 4,93   | 4,92   | 5,00     | 0,13     |
| 15                     | 4,48       | 4,21   | 4,32   | 4,34     | 0,14     |
| 30                     | 3,49       | 3,18   | 3,28   | 3,32     | 0,16     |
| 60                     | 2,72       | 2,44   | 2,52   | 2,56     | 0,14     |
| 90                     | 2,41       | 2,09   | 2,30   | 2,27     | 0,16     |
| 120                    | 2,16       | 1,76   | 2,07   | 2,00     | 0,21     |
| 180                    | 1,90       | 1,57   | 1,78   | 1,75     | 0,17     |
| 240                    | 1,76       | 1,39   | 1,57   | 1,57     | 0,19     |
| 360                    | 1,43       | 1,20   | 1,29   | 1,31     | 0,12     |
| 480                    | 1,27       | 1,00   | 1,21   | 1,16     | 0,14     |
| 24h                    | 0,97       | 0,73   | 1,03   | 0,91     | 0,16     |
| 72h                    | 0,88       | 0,77   | 1,01   | 0,89     | 0,12     |
| 120h                   | 0,92       | 0,70   | 0,88   | 0,83     | 0,12     |

**Tabelle 3.3.2-2:** Serumkreatininwerte der RKM-Gruppe (oberer Teil der Tabelle 1. Applikation)/ unterer Teil 2. Applikation (jeweils n=3)), angegeben in mg Kreatinin/ 100 ml Serum

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        | MW (n=3) | SD (n=3) |
|------------------------|------------|--------|--------|----------|----------|
|                        | 4465 M     | 4564 F | 4485 M |          |          |
| 0                      | 0,95       | 0,68   | 0,87   | 0,83     | 0,14     |
| 1                      | 12,23      | 11,33  | 10,57  | 11,38    | 0,83     |
| 5                      | 7,15       | 6,24   | 6,68   | 6,69     | 0,46     |
| 10                     | 5,73       | 4,97   | 5,19   | 5,30     | 0,39     |
| 15                     | 4,81       | 4,14   | 4,45   | 4,47     | 0,34     |
| 30                     | 3,74       | 3,23   | 3,41   | 3,46     | 0,26     |
| 60                     | 3,00       | 2,52   | 2,62   | 2,71     | 0,25     |
| 90                     | 2,53       | 2,15   | 2,21   | 2,30     | 0,20     |
| 120                    | 2,29       | 1,89   | 2,10   | 2,09     | 0,20     |
| 180                    | 2,01       | 1,51   | 1,78   | 1,77     | 0,25     |
| 240                    | 1,79       | 1,23   | 1,59   | 1,54     | 0,28     |
| 360                    | 1,48       | 1,02   | 1,31   | 1,27     | 0,23     |
| 480                    | 1,27       | 0,92   | 1,17   | 1,12     | 0,18     |
| 24h                    | 1,11       | 0,71   | 1,02   | 0,95     | 0,21     |
| 72h                    | 0,94       | 0,73   | 0,96   | 0,88     | 0,13     |
| 120h                   | 0,95       | 0,73   | 1,00   | 0,89     | 0,14     |

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        | MW (n=3) | SD (n=3) |
|------------------------|------------|--------|--------|----------|----------|
|                        | 4446 M     | 4603 F | 4568 F |          |          |
| 0                      | 0,76       | 0,74   | 0,88   | 0,79     | 0,08     |
| 1                      | 8,29       | 9,28   | 9,49   | 9,02     | 0,64     |
| 5                      | 6,13       | 6,06   | 6,61   | 6,27     | 0,30     |
| 10                     | 4,72       | 4,72   | 5,28   | 4,91     | 0,32     |
| 15                     | 4,08       | 4,23   | 4,53   | 4,28     | 0,23     |
| 30                     | 3,16       | 3,12   | 3,41   | 3,23     | 0,16     |
| 60                     | 2,56       | 2,48   | 2,78   | 2,61     | 0,16     |
| 90                     | 2,32       | 2,07   | 2,37   | 2,25     | 0,16     |
| 120                    | 2,09       | 1,92   | 2,22   | 2,08     | 0,15     |
| 180                    | 1,66       | 1,40   | 1,94   | 1,67     | 0,27     |
| 240                    | 1,54       | 1,29   | 1,81   | 1,55     | 0,26     |
| 360                    | 1,24       | 1,00   | 1,36   | 1,20     | 0,18     |
| 480                    | 1,03       | 0,97   | 1,24   | 1,08     | 0,14     |
| 24h                    | 0,89       | 0,67   | 0,95   | 0,84     | 0,15     |
| 72h                    | 0,85       | 0,73   | 1,07   | 0,88     | 0,17     |
| 120h                   | 0,80       | 0,70   | 0,98   | 0,83     | 0,14     |

Die Tabelle 3.3.2-1 zeigt den Einfluß der Mannitollösung auf den Verlauf der Serumkreatininwerte nach i.v.-Bolusgabe von 20 mg Kreatinin/ kg. Nach einem 1 min-Wert von  $12,09 \pm 1,45$  bzw.  $9,55 \pm 1,67$  mg/ 100ml Serum (1. bzw. 2. Applikation) fällt die Serumkreatininkonzentration in den ersten 10 min sehr schnell ab. Ab dem Meßzeitpunkt 15 min nach Appl. verlangsamt sich die Serumeliminationsgeschwindigkeit dann wieder deutlich. Dabei liegen die Werte der 1. Applikation bis zum 240 min-Wert über denen der 2. Applikation. Bei beiden Applikationen wird das Ausgangsniveau des endogenen Kreatininspiegels erst nach 24 h wieder erreicht.

Auch nach der Behandlung mit Angiografín® zeigt sich zum Meßzeitpunkt 1 min nach Applikation eine größere Differenz ( $2,36$  mg/ 100ml Serum) zwischen den maximalen Kreatininwerten der 1. und der 2. Applikation ( $11,38 \pm 0,83$  gegen  $9,02 \pm 0,64$  mg/ 100ml Serum), wie aus Tabelle 3.3.2-2 ersichtlich. Ansonsten gilt für den Einfluß des Röntgenkontrastmittels auf die Ausscheidung des Kreatininbolus das gleiche wie für die Mannitolkontrolle.

In der Zusammenfassung der beiden Applikationen jeder Gruppe (n=6) ist zu erkennen, daß bis auf die ersten beiden Meßzeitpunkte (1 und 5 min), in denen die Serumkreatininwerte der Mannitolgruppe etwas höher liegen als die der RKM-Gruppe, die Mittelwerte der Serumkreatininkonzentrationen der beiden Behandlungsgruppen sehr nahe beieinander liegen (s. Tabelle 3.3.2-3).

**Tabelle 3.3.2-3:** Zusammenfassung der Serumkreatininwerte beider Applikationen (n=6) der Mannitolkontrolle und der RKM-Gruppe, angegeben in mg Kreatinin/ 100 ml Serum

Mannitolkontrolle:

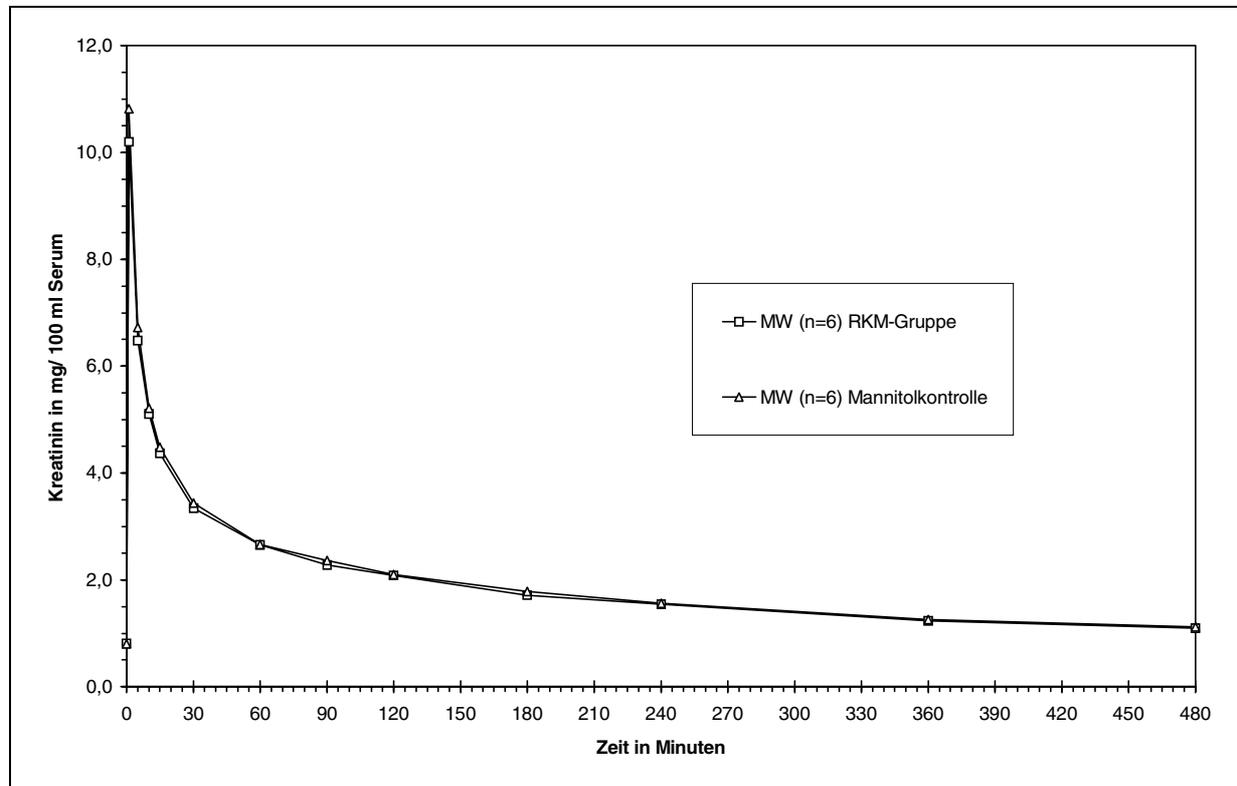
| Meßzeitpunkt<br>in min | MW (n=6) | SD (n=6) |
|------------------------|----------|----------|
| 0                      | 0,80     | 0,09     |
| 1                      | 10,82    | 1,97     |
| 5                      | 6,73     | 0,37     |
| 10                     | 5,21     | 0,26     |
| 15                     | 4,49     | 0,20     |
| 30                     | 3,44     | 0,17     |
| 60                     | 2,67     | 0,15     |
| 90                     | 2,37     | 0,16     |
| 120                    | 2,10     | 0,18     |
| 180                    | 1,78     | 0,12     |
| 240                    | 1,56     | 0,12     |
| 360                    | 1,05     | 0,52     |
| 480                    | 1,12     | 0,13     |
| 24h                    | 0,91     | 0,12     |
| 72h                    | 0,87     | 0,11     |
| 120h                   | 0,86     | 0,08     |

RKM-Gruppe:

| Meßzeitpunkt<br>in min | MW (n=6) | SD (n=6) |
|------------------------|----------|----------|
| 0                      | 0,81     | 0,10     |
| 1                      | 10,20    | 1,45     |
| 5                      | 6,48     | 0,42     |
| 10                     | 5,10     | 0,39     |
| 15                     | 4,37     | 0,28     |
| 30                     | 3,35     | 0,23     |
| 60                     | 2,66     | 0,20     |
| 90                     | 2,28     | 0,17     |
| 120                    | 2,09     | 0,16     |
| 180                    | 1,72     | 0,24     |
| 240                    | 1,54     | 0,24     |
| 360                    | 1,24     | 0,19     |
| 480                    | 1,10     | 0,15     |
| 24h                    | 0,89     | 0,17     |
| 72h                    | 0,88     | 0,14     |
| 120h                   | 0,86     | 0,13     |

Die durchgeführte Varianzanalyse (repeated measures one-way ANOVA) der Mannitolkontrolle gegen die Angiografin<sup>®</sup>-Behandlung ergab keinerlei statistisch signifikante Unterschiede.

In der Abbildung 3.3.2-1 ist der nahezu deckungsgleiche Kurvenverlauf der Kreatininbolus-ausscheidung nach Applikation von Mannitol bzw. Angiografin<sup>®</sup> dargestellt.



**Abbildung 3.3.2-1:** Vergleich der Eliminationskurven eines Kreatininbolus nach Gabe von Mannitol und nach Angiografin<sup>®</sup> Gabe (jeweils n=6)

Die TOPFIT-Ergebnisse der Ausscheidung eines Kreatininbolus nach Gabe der Mannitol-lösung sind in Tabelle 3.3.2-4, die nach Angiografin<sup>®</sup>-Applikation in Tabelle 3.3.2-5 enthalten.

**Tabelle 3.3.2-4:** TOPFIT-Ergebnisse der Mannitolgruppe; 1. & 2. Applikation (jeweils n=3)

1. Applikation : 4 ml Mannitollösung / kg KGW

|                      | Einheit     | 4446 / M | 4603 / M | 4568 / F | MW (n=3) | SD (n=3) |
|----------------------|-------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| t <sub>1/2</sub> (1) | min         | 1,29     | 0,12     | 0,05     | 0,49     | 0,70     |
| t <sub>1/2</sub> (2) | min         | 9,13     | 7,12     | 7,15     | 7,80     | 1,15     |
| t <sub>1/2</sub> (3) | min         | 139      | 125      | 148      | 137      | 11,6     |
| V <sub>ss</sub>      | l/kg        | 0,61     | 0,58     | 0,60     | 0,60     | 0,01     |
| Clearance            | ml/min/kg   | 3,42     | 3,62     | 3,06     | 3,37     | 0,28     |
| AUC                  | (µg/ml)*min | 5850     | 5530     | 6530     | 5970     | 511      |

2. Applikation : 4 ml Mannitollösung / kg KGW

|                      | Einheit     | 4465 / M | 4564 / F | 4485 / M | MW (n=3) | SD (n=3) |
|----------------------|-------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| t <sub>1/2</sub> (1) | min         | 0,10     | 0,05     | 0,06     | 0,07     | 0,03     |
| t <sub>1/2</sub> (2) | min         | 7,90     | 9,18     | 7,38     | 8,15     | 0,93     |
| t <sub>1/2</sub> (3) | min         | 164      | 140      | 146      | 150      | 12,5     |
| V <sub>ss</sub>      | l/kg        | 0,69     | 0,68     | 0,69     | 0,69     | 0,01     |
| Clearance            | ml/min/kg   | 3,26     | 3,94     | 3,71     | 3,64     | 0,35     |
| AUC                  | (µg/ml)*min | 6130     | 5080     | 5390     | 5533     | 539      |

**Tabelle 3.3.2-5:** TOPFIT-Ergebnisse der RKM-Gruppe; 1. & 2. Applikation (jeweils n=3)

1. Applikation : 4 ml Angiografin / kg KGW

|                      | Einheit     | 4465 / M | 4564 / F | 4485 / M | MW (n=3) | SD (n=3) |
|----------------------|-------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| t <sub>1/2</sub> (1) | min         | 0,10     | 0,11     | 0,07     | 0,10     | 0,02     |
| t <sub>1/2</sub> (2) | min         | 7,97     | 6,82     | 8,04     | 7,61     | 0,69     |
| t <sub>1/2</sub> (3) | min         | 144      | 108      | 142      | 131      | 20,2     |
| V <sub>ss</sub>      | l/kg        | 0,61     | 0,59     | 0,67     | 0,62     | 0,04     |
| Clearance            | ml/min/kg   | 3,29     | 4,24     | 3,73     | 3,75     | 0,48     |
| AUC                  | (µg/ml)*min | 6070     | 4720     | 5370     | 5387     | 675      |

2. Applikation : 4 ml Angiografin / kg KGW

|                      | Einheit     | 4446 / M | 4603 / M | 4568 / F | MW (n=3) | SD (n=3) |
|----------------------|-------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| t <sub>1/2</sub> (1) | min         | 0,05     | 0,06     | 0,06     | 0,06     | 0,01     |
| t <sub>1/2</sub> (2) | min         | 6,45     | 7,26     | 8,31     | 7,34     | 0,93     |
| t <sub>1/2</sub> (3) | min         | 140      | 103      | 167      | 137      | 32,1     |
| V <sub>ss</sub>      | l/kg        | 0,62     | 0,59     | 0,71     | 0,64     | 0,06     |
| Clearance            | ml/min/kg   | 3,52     | 4,56     | 3,26     | 3,78     | 0,69     |
| AUC                  | (µg/ml)*min | 5690     | 4390     | 6140     | 5407     | 909      |

Eine Zusammenfassung der TOPFIT-Auswertung für die beiden Applikationen (n=6) je Behandlungsgruppe liefert Tabelle 3.3.2-6. Dabei sind die Halbwertszeiten der Serumkreatininausscheidung  $t_{1/2}$  (1,2,3) der Mannitolgruppe etwas länger als die der RKM-Gruppe, während die pharmakokinetischen Parameter Clearance und Fläche unter der Kurve bei ihr kleinere Werte aufweisen als bei der RKM-Gruppe. Das Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht ist für beide Gruppen identisch.

**Tabelle 3.3.2-6:** Zusammenfassung der TOPFIT-Auswertung beider Applikationen (n=6)

Zusammenfassung beider Applikationen der Mannitolkontrolle

|               | Einheit                  | MW (n=6) | SD (n=6) |
|---------------|--------------------------|----------|----------|
| $t_{1/2}$ (1) | min                      | 0,28     | 0,45     |
| $t_{1/2}$ (2) | min                      | 7,98     | 0,87     |
| $t_{1/2}$ (3) | min                      | 144      | 11,7     |
| Vss           | l/kg                     | 0,64     | 0,05     |
| Clearance     | ml/min/kg                | 3,50     | 0,29     |
| AUC           | ( $\mu\text{g/ml}$ )*min | 5752     | 481      |

Zusammenfassung beider Applikationen der RKM-Gruppe

|               | Einheit                  | MW (n=6) | SD (n=6) |
|---------------|--------------------------|----------|----------|
| $t_{1/2}$ (1) | min                      | 0,08     | 0,02     |
| $t_{1/2}$ (2) | min                      | 7,48     | 0,68     |
| $t_{1/2}$ (3) | min                      | 134      | 22,1     |
| Vss           | l/kg                     | 0,63     | 0,04     |
| Clearance     | ml/min/kg                | 3,77     | 0,48     |
| AUC           | ( $\mu\text{g/ml}$ )*min | 5397     | 654      |

Diese Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen stellen sich bei Untersuchung mittels der Varianzanalyse als statistisch nicht signifikant heraus.

### **3.4. Ergebnisse Versuch 3**

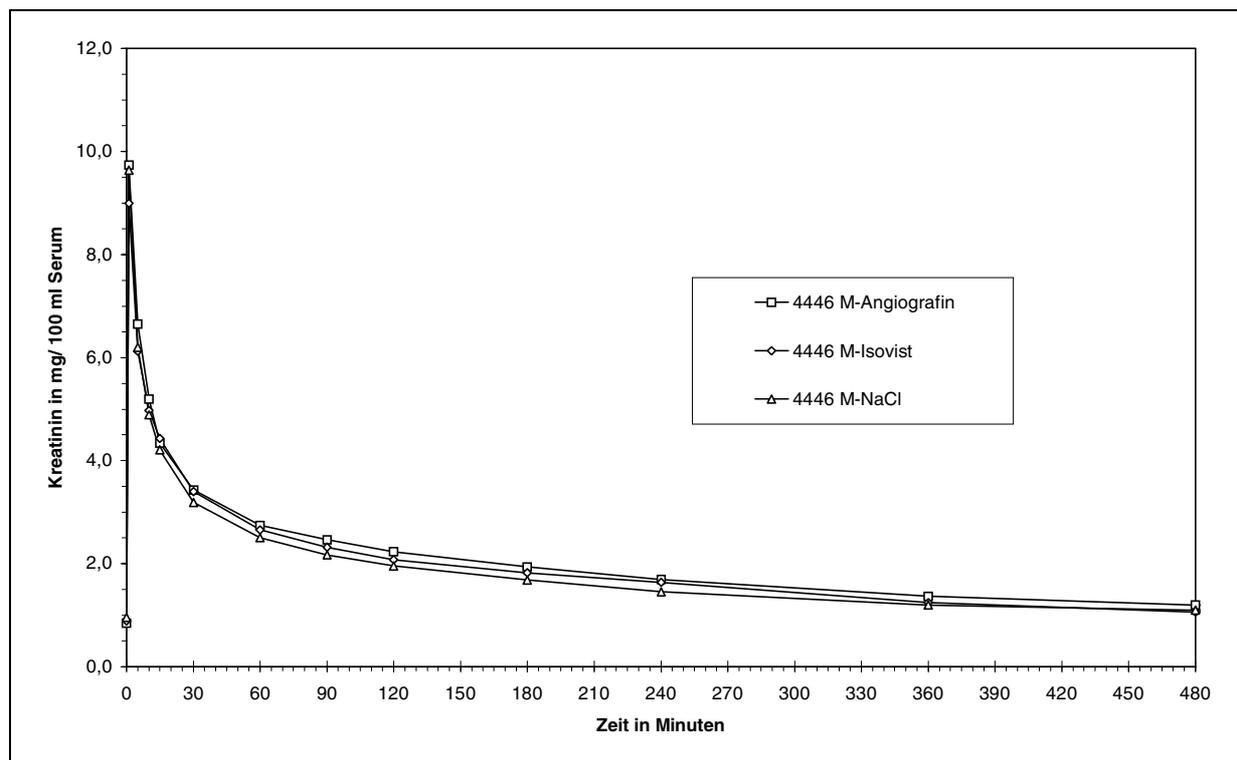
#### **3.4.1. Vergleich der Einflüsse eines hochosmolaren bzw. eines isoosmolaren Röntgenkontrastmittels auf die Kreatininbolusausscheidung**

Die Tabellen 3.4.1-1 bis 3.4.1-6 zeigen für die in diesem Versuch verwendeten sechs Hunde den Verlauf der Serumkreatininspiegel nach Gabe des Kreatininbolus abhängig von der Behandlung mit isotoner Kochsalzlösung, Isovist<sup>®</sup>-300 oder Angiografin<sup>®</sup>. Die Reihenfolge der Behandlungen bei den einzelnen Tieren ist aus dem Applikationsschema 2, Kapitel 2.4.2. ersichtlich und entspricht nicht der Reihenfolge der Tabellenspalten.

In den jeweils zu diesen Tabellen gehörigen Diagrammen (Abbildung 3.4.1-1 bis Abbildung 3.4.1-6) sind die Serumkreatininwerte gegen die Zeit aufgetragen und es ist zu erkennen, daß im Zeitraum von 10 min bis 480 min die Serumeliminationskurve nach der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlung stets oberhalb von derjenigen der Kochsalzkontrolle verläuft. Der Verlauf der Kreatininbolusausscheidung nach Isovist<sup>®</sup>-300-Applikation liegt zwischen den Verlaufskurven der Kontrolle und der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe.

**Tabelle 3.4.1-1:** Serumkreatininwerte der drei Behandlungen von Tier 1 (TNR 4446 M), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

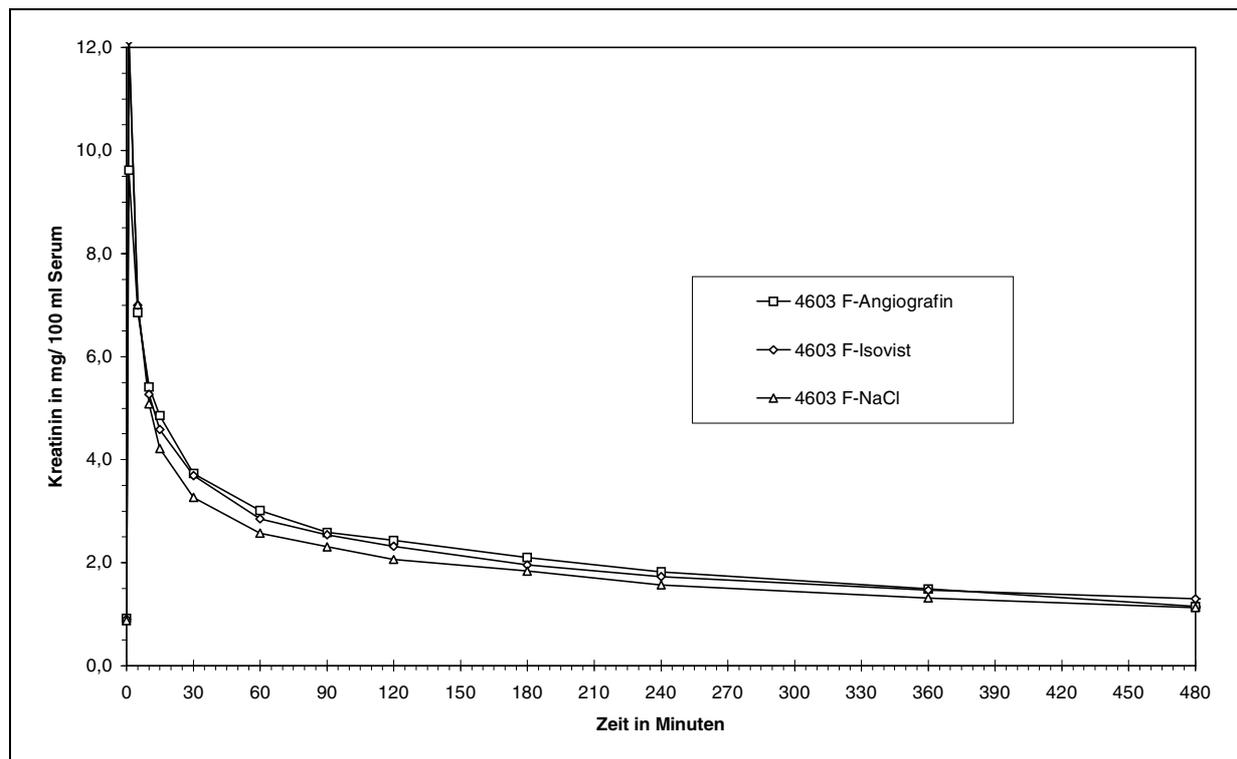
| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer 4446 M |         |             |
|------------------------|-------------------|---------|-------------|
|                        | NaCl-Lösung       | Isovist | Angiografin |
| 0                      | 0,96              | 0,89    | 0,84        |
| 1                      | 9,64              | 9,00    | 9,74        |
| 5                      | 6,20              | 6,12    | 6,65        |
| 10                     | 4,89              | 4,97    | 5,20        |
| 15                     | 4,21              | 4,43    | 4,34        |
| 30                     | 3,19              | 3,40    | 3,43        |
| 60                     | 2,50              | 2,66    | 2,74        |
| 90                     | 2,17              | 2,32    | 2,46        |
| 120                    | 1,95              | 2,08    | 2,23        |
| 180                    | 1,68              | 1,82    | 1,94        |
| 240                    | 1,45              | 1,64    | 1,69        |
| 360                    | 1,20              | 1,24    | 1,37        |
| 480                    | 1,10              | 1,06    | 1,20        |
| 24h                    | 0,87              | 0,85    | 0,86        |
| 72h                    | 1,01              | 0,87    | 0,96        |
| 120h                   | 1,01              | 1,01    | 0,94        |



**Abbildung 3.4.1-1:** vergleichende Darstellung der Eliminationskurven des Kreatininbolus (TNR 4446 M)

**Tabelle 3.4.1-2:** Serumkreatininwerte der drei Behandlungen von Tier 2 (TNR 4603 F), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

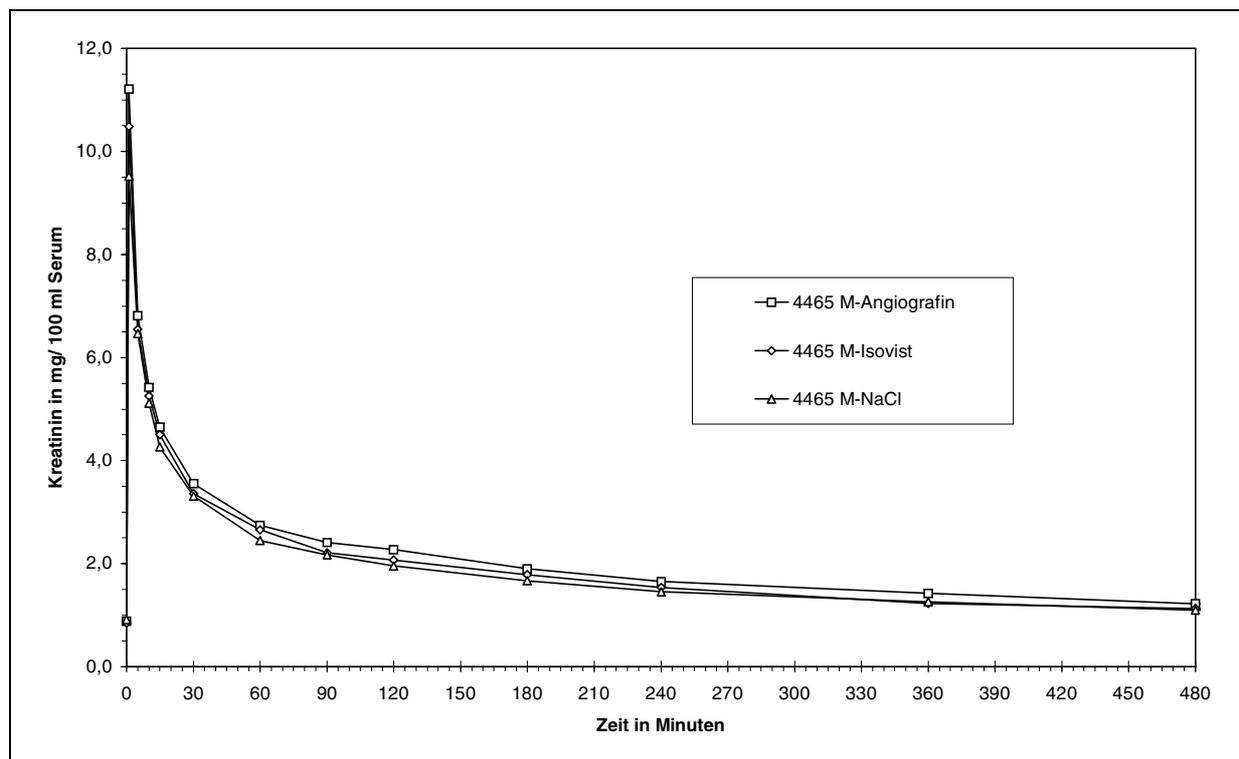
| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer 4603 F |         |             |
|------------------------|-------------------|---------|-------------|
|                        | NaCl-Lösung       | Isovist | Angiografín |
| 0                      | 0,87              | 0,90    | 0,92        |
| 1                      | 12,26             | 12,13   | 9,62        |
| 5                      | 7,01              | 7,00    | 6,86        |
| 10                     | 5,08              | 5,27    | 5,41        |
| 15                     | 4,22              | 4,59    | 4,86        |
| 30                     | 3,27              | 3,69    | 3,73        |
| 60                     | 2,57              | 2,85    | 3,01        |
| 90                     | 2,31              | 2,54    | 2,59        |
| 120                    | 2,06              | 2,32    | 2,43        |
| 180                    | 1,84              | 1,95    | 2,10        |
| 240                    | 1,57              | 1,73    | 1,82        |
| 360                    | 1,31              | 1,47    | 1,49        |
| 480                    | 1,13              | 1,30    | 1,15        |
| 24h                    | 0,94              | 1,01    | 0,87        |
| 72h                    | 0,93              | 0,91    | 0,93        |
| 120h                   | 0,82              | 0,98    | 0,96        |



**Abbildung 3.4.1-2:** vergleichende Darstellung der Eliminationskurven des Kreatininbolus (TNR 4603 F)

**Tabelle 3.4.1-3:** Serumkreatininwerte der drei Behandlungen von Tier 3 (TNR 4465 M), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

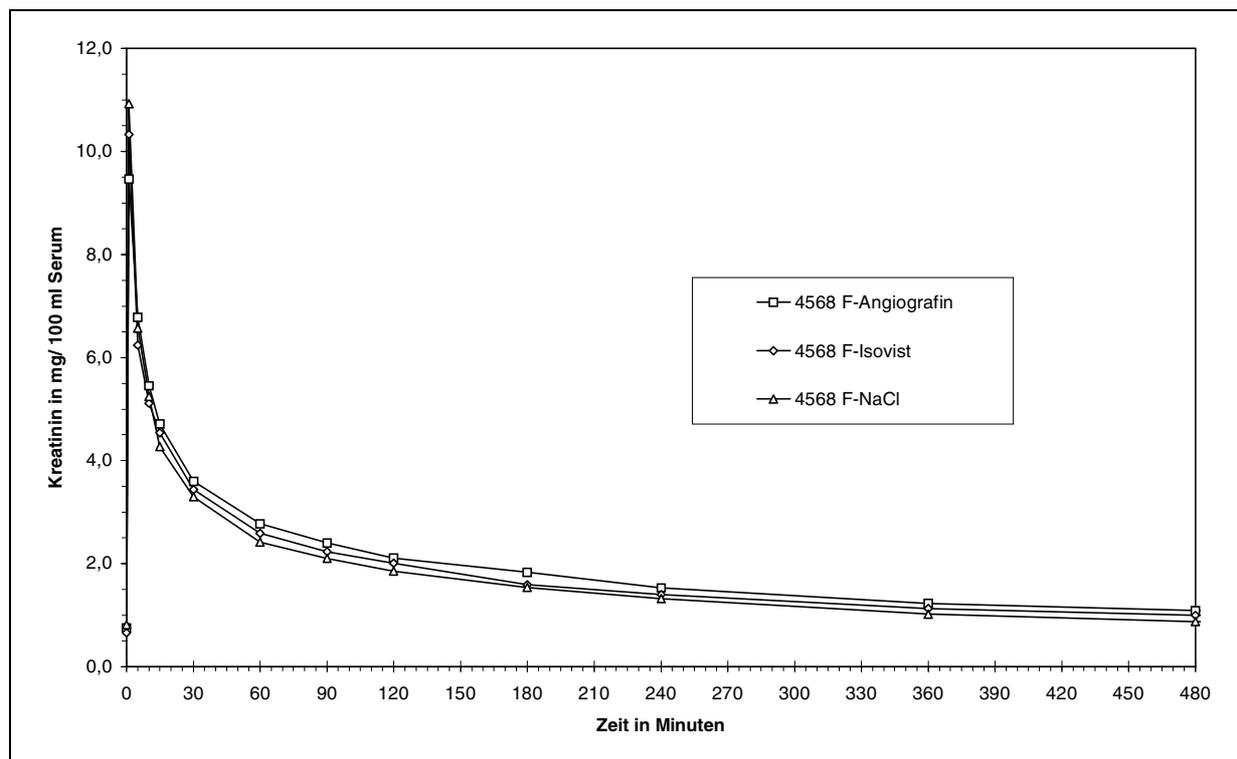
| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer 4465 M |         |             |
|------------------------|-------------------|---------|-------------|
|                        | NaCl-Lösung       | Isovist | Angiografin |
| 0                      | 0,91              | 0,85    | 0,88        |
| 1                      | 9,52              | 10,49   | 11,21       |
| 5                      | 6,46              | 6,55    | 6,81        |
| 10                     | 5,11              | 5,25    | 5,42        |
| 15                     | 4,26              | 4,50    | 4,65        |
| 30                     | 3,31              | 3,36    | 3,55        |
| 60                     | 2,45              | 2,66    | 2,74        |
| 90                     | 2,17              | 2,21    | 2,41        |
| 120                    | 1,95              | 2,07    | 2,27        |
| 180                    | 1,67              | 1,78    | 1,90        |
| 240                    | 1,45              | 1,54    | 1,65        |
| 360                    | 1,26              | 1,23    | 1,42        |
| 480                    | 1,10              | 1,13    | 1,22        |
| 24h                    | 0,93              | 1,01    | 0,94        |
| 72h                    | 0,91              | 0,87    | 0,93        |
| 120h                   | 0,84              | 0,87    | 0,91        |



**Abbildung 3.4.1-3:** vergleichende Darstellung der Eliminationskurven des Kreatininbolus (TNR 4465 M)

**Tabelle 3.4.1-4:** Serumkreatininwerte der drei Behandlungen von Tier 4 (TNR 4568 F), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

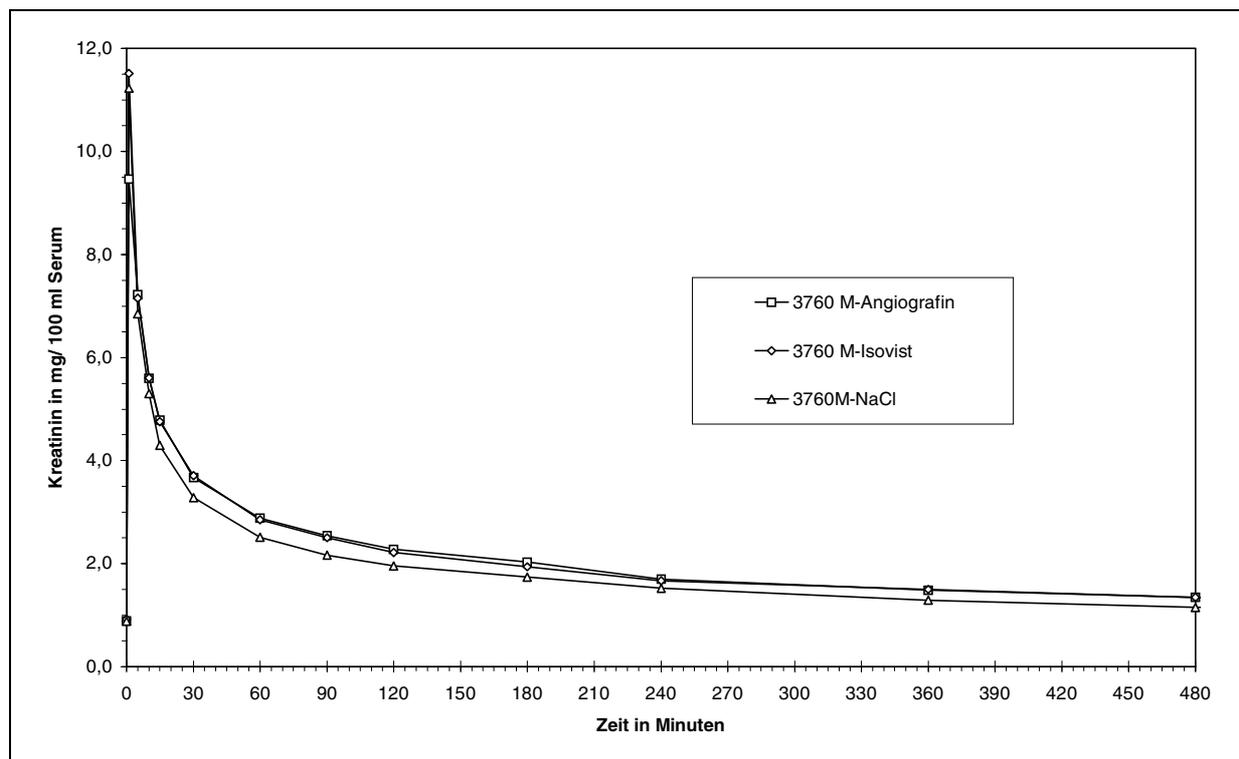
| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer 4568 M |         |             |
|------------------------|-------------------|---------|-------------|
|                        | NaCl-Lösung       | Isovist | Angiografin |
| 0                      | 0,81              | 0,66    | 0,75        |
| 1                      | 10,93             | 10,33   | 9,47        |
| 5                      | 6,57              | 6,24    | 6,78        |
| 10                     | 5,24              | 5,11    | 5,45        |
| 15                     | 4,27              | 4,54    | 4,71        |
| 30                     | 3,30              | 3,44    | 3,60        |
| 60                     | 2,42              | 2,59    | 2,77        |
| 90                     | 2,10              | 2,23    | 2,40        |
| 120                    | 1,85              | 2,01    | 2,11        |
| 180                    | 1,54              | 1,59    | 1,83        |
| 240                    | 1,32              | 1,40    | 1,53        |
| 360                    | 1,02              | 1,13    | 1,23        |
| 480                    | 0,87              | 1,00    | 1,09        |
| 24h                    | 0,74              | 0,77    | 0,78        |
| 72h                    | 0,75              | 0,73    | 0,75        |
| 120h                   | 0,71              | 0,76    | 0,71        |



**Abbildung 3.4.1-4:** vergleichende Darstellung der Eliminationskurven des Kreatininbolus (TNR 4568 F)

**Tabelle 3.4.1-5:** Serumkreatininwerte der drei Behandlungen von Tier 5 (TNR 4446 M), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

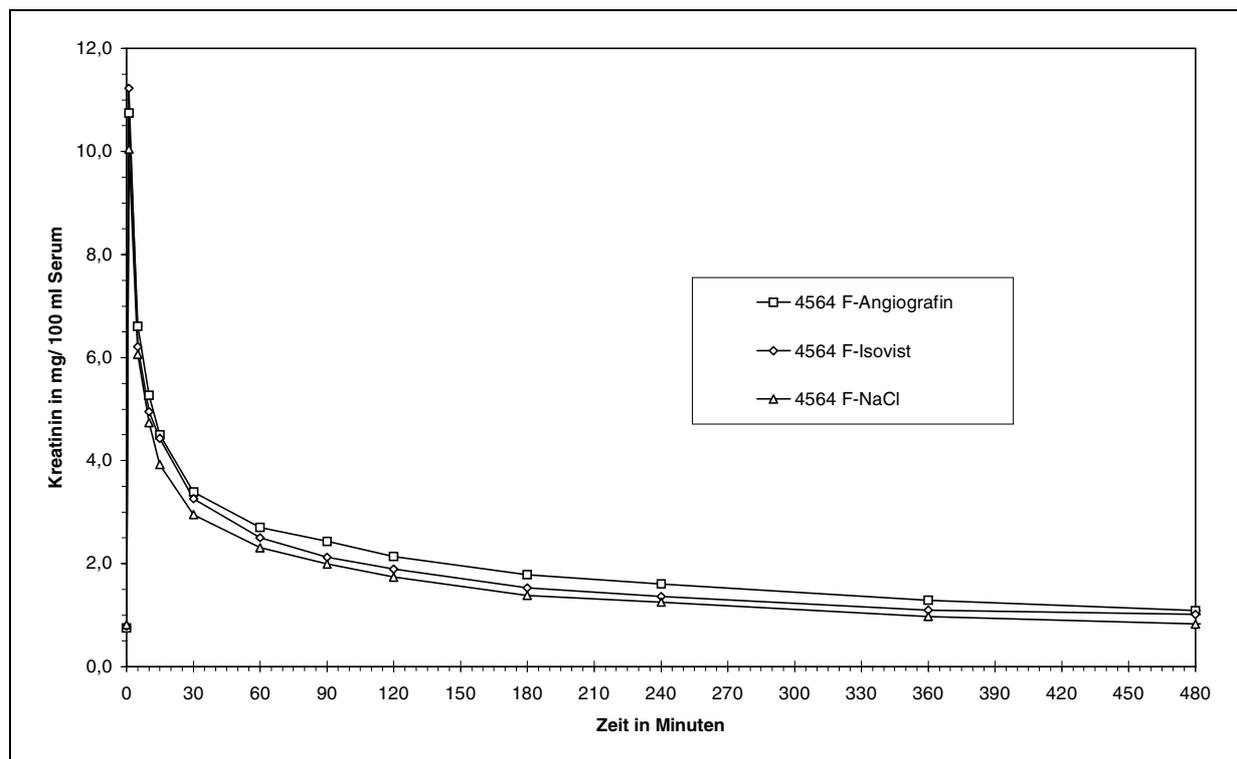
| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer 3760 M |         |             |
|------------------------|-------------------|---------|-------------|
|                        | NaCl-Lösung       | Isovist | Angiografín |
| 0                      | 0,88              | 0,92    | 0,89        |
| 1                      | 11,23             | 11,51   | 9,47        |
| 5                      | 6,85              | 7,15    | 7,22        |
| 10                     | 5,30              | 5,61    | 5,60        |
| 15                     | 4,29              | 4,76    | 4,79        |
| 30                     | 3,28              | 3,71    | 3,67        |
| 60                     | 2,51              | 2,85    | 2,88        |
| 90                     | 2,16              | 2,50    | 2,54        |
| 120                    | 1,95              | 2,22    | 2,28        |
| 180                    | 1,74              | 1,94    | 2,03        |
| 240                    | 1,52              | 1,67    | 1,70        |
| 360                    | 1,29              | 1,50    | 1,48        |
| 480                    | 1,15              | 1,34    | 1,34        |
| 24h                    | 0,96              | 1,00    | 0,96        |
| 72h                    | 0,85              | 0,91    | 0,91        |
| 120h                   | 0,84              | 0,96    | 0,82        |



**Abbildung 3.4.1-5:** vergleichende Darstellung der Eliminationskurven des Kreatininbolus (TNR 3760 F)

**Tabelle 3.4.1-6:** Serumkreatininwerte der drei Behandlungen von Tier 6 (TNR 4564 M), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer 4564 F |         |             |
|------------------------|-------------------|---------|-------------|
|                        | NaCl-Lösung       | Isovist | Angiografin |
| 0                      | 0,81              | 0,79    | 0,75        |
| 1                      | 10,05             | 11,23   | 10,75       |
| 5                      | 6,06              | 6,21    | 6,61        |
| 10                     | 4,73              | 4,95    | 5,27        |
| 15                     | 3,92              | 4,43    | 4,50        |
| 30                     | 2,95              | 3,26    | 3,39        |
| 60                     | 2,31              | 2,50    | 2,70        |
| 90                     | 1,99              | 2,12    | 2,43        |
| 120                    | 1,74              | 1,89    | 2,14        |
| 180                    | 1,38              | 1,53    | 1,78        |
| 240                    | 1,25              | 1,36    | 1,61        |
| 360                    | 0,97              | 1,10    | 1,29        |
| 480                    | 0,83              | 1,01    | 1,09        |
| 24h                    | 0,81              | 0,80    | 0,74        |
| 72h                    | 0,69              | 0,74    | 0,76        |
| 120h                   | 0,70              | 0,71    | 0,71        |



**Abbildung 3.4.1-6:** vergleichende Darstellung der Eliminationskurven des Kreatininbolus (TNR 4564 F)

Eine Zusammenfassung der pro Behandlungsgruppe durchgeführten sechs Applikationen ist in Tabelle 3.4.1-7 erfolgt. Nach einer maximalen Kreatininkonzentration zum Zeitpunkt 1 min von mehr als 10 mg/100ml Serum folgt ein anfangs sehr schneller Abfall der Serumkreatininwerte. Ab dem 15 min-Wert verlangsamt sich die Serumeliminationsgeschwindigkeit des Kreatinins dann wieder deutlich. Die Serumkreatininwerte zum Zeitpunkt 480 min liegen noch über dem Ausgangswert des endogenen Kreatininspiegels, der dann aber nach 24 Stunden wieder erreicht ist.

**Tabelle 3.4.1-7:** Zusammenfassung der Serumkreatininwerte der NaCl-Kontrolle und der beiden RKM-Gruppen (je n=6), angegeben in mg Kreatinin/ 100ml Serum

| Meßzeitpunkt<br>in min | NaCl-Lösung |          | Isovist  |          | Angiografin |          |
|------------------------|-------------|----------|----------|----------|-------------|----------|
|                        | MW (n=6)    | SD (n=6) | MW (n=6) | SD (n=6) | MW (n=6)    | SD (n=6) |
| 0                      | 0,87        | 0,06     | 0,84     | 0,10     | 0,84        | 0,07     |
| 1                      | 10,61       | 1,06     | 10,78    | 1,10     | 10,04       | 0,75     |
| 5                      | 6,53        | 0,37     | 6,55     | 0,44     | 6,82        | 0,22     |
| 10                     | 5,06        | 0,21     | 5,19     | 0,24     | 5,39        | 0,14     |
| 15                     | 4,20        | 0,14     | 4,54     | 0,12     | 4,64        | 0,19     |
| 30                     | 3,22        | 0,14     | 3,48     | 0,18     | 3,56        | 0,13     |
| 60                     | 2,46        | 0,09     | 2,69     | 0,14     | 2,81        | 0,12     |
| 90                     | 2,15        | 0,10     | 2,32     | 0,17     | 2,47        | 0,08     |
| 120                    | 1,92        | 0,11     | 2,10     | 0,15     | 2,24        | 0,11     |
| 180                    | 1,64        | 0,16     | 1,77     | 0,18     | 1,93        | 0,12     |
| 240                    | 1,43        | 0,12     | 1,56     | 0,15     | 1,67        | 0,10     |
| 360                    | 1,18        | 0,15     | 1,28     | 0,17     | 1,38        | 0,10     |
| 480                    | 1,03        | 0,14     | 1,14     | 0,15     | 1,18        | 0,09     |
| 24h                    | 0,88        | 0,09     | 0,91     | 0,11     | 0,86        | 0,09     |
| 72h                    | 0,86        | 0,12     | 0,84     | 0,08     | 0,87        | 0,09     |
| 120h                   | 0,82        | 0,11     | 0,88     | 0,12     | 0,84        | 0,11     |

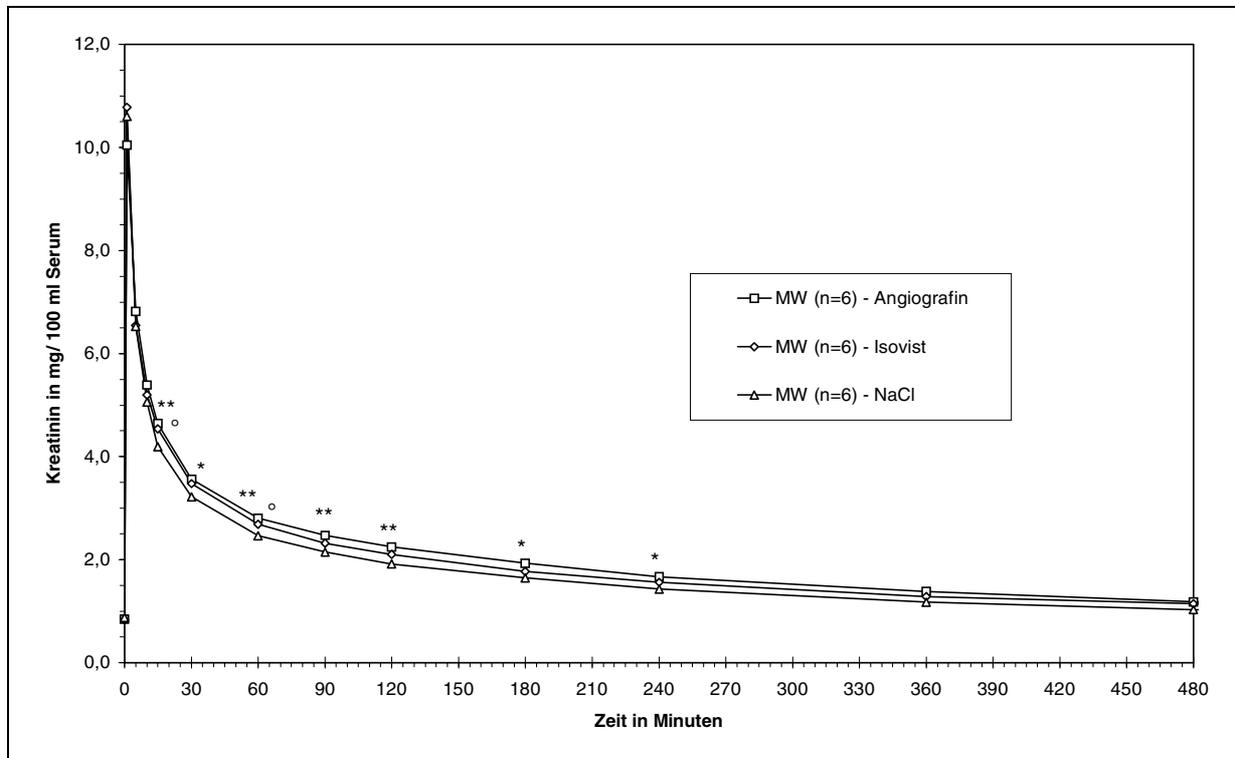
Die größten Differenzen zwischen den Serumkreatininwerten der RKM-Gruppen und der NaCl-Kontrolle liegen bei 0,44 mg Kreatinin (15 min) bzw. 0,34 mg Kreatinin (30 und 60 min)/ 100 ml Serum für Angiografin<sup>®</sup> und bei 0,34 mg Kreatinin (15 min), 0,26 mg Kreatinin (30 min) bzw. 0,23 mg Kreatinin (60 min)/ 100 ml Serum für Isovist<sup>®</sup>-300.

Für die statistische Auswertung der beiden Behandlungsgruppen Angiografin® und Isovist®-300 gegen die Kochsalzkontrolle wurde eine Varianzanalyse (repeated measures one-way ANOVA) kombiniert mit einem Bonferroni t-Test (multipler Vergleich gegen die Kontrollgruppe) durchgeführt, während die beiden RKM-Gruppen untereinander mit einem gepaarten t-Test auf signifikante Unterschiede untersucht wurden. Die Ergebnisse dieser Signifikanzanalysen enthält Tabelle 3.4.1-8. Dabei zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen der Angiografin®-Behandlung und der NaCl-Kontrolle in dem Zeitraum von 15 min bis 240 min nach Applikation. Auch die Isovist®-300-Behandlung weist zu den Zeitpunkten 15 min n. Appl. und 60 min n. Appl. mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % signifikante Abweichungen von der Kontrollbehandlung auf. Bei dem Vergleich der RKM-Behandlungsgruppen untereinander lassen sich allerdings keine Signifikanzen feststellen.

**Tabelle 3.4.1-8:** Ergebnisse der statistischen Auswertung der Serumkreatininwerte (Kontrolle vs. RKM-Gruppen mittels Varianzanalyse kombiniert mit dem Bonferroni t-Test; Isovist®-300 vs. Angiografin® mittels gepaartem t-Test)

| Meßzeitpunkt<br>(min) | NaCl vs. Angiografin |             | NaCl vs. Isovist |             | Isovist vs. Angiografin |             |
|-----------------------|----------------------|-------------|------------------|-------------|-------------------------|-------------|
|                       | t-Wert               | Signifikanz | t-Wert           | Signifikanz | t-Wert                  | Signifikanz |
| 0                     | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 0,053                   | n.s.        |
| 1                     | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 1,039                   | n.s.        |
| 5                     | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 1,168                   | n.s.        |
| 10                    | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 1,521                   | n.s.        |
| 15                    | 4,332                | **/p<0.01   | 3,362            | °/p<0.05    | 1,025                   | n.s.        |
| 30                    | 3,345                | */p<0.05    | 2,521            | n.s.        | 0,834                   | n.s.        |
| 60                    | 4,384                | **/p<0.01   | 2,845            | °/p<0.05    | 1,311                   | n.s.        |
| 90                    | 4,095                | **/p<0.01   | 2,164            | n.s.        | 1,693                   | n.s.        |
| 120                   | 4,284                | **/p<0.01   | 2,382            | n.s.        | 1,547                   | n.s.        |
| 180                   | 2,922                | */p<0.05    | 1,284            | n.s.        | 1,452                   | n.s.        |
| 240                   | 3,237                | */p<0.05    | 1,754            | n.s.        | 1,216                   | n.s.        |
| 360                   | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 0,968                   | n.s.        |
| 480                   | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 1,216                   | n.s.        |

Die in Tabelle 3.4.1-7 enthaltene Zusammenfassung der drei Behandlungsgruppen ist in Abbildung 3.4.1-7 als Diagramm dargestellt. Der nahezu parallele Verlauf der Serumkreatinineliminationskurven der drei Behandlungen ist gut zu erkennen, dabei verläuft die des Angiografin® oberhalb der Kontrollkurve. Die Serumeliminationskurve des Isovist®-300 befindet sich zwischen den beiden anderen.



**Abbildung 3.4.1-7:** Vergleich der Eliminationskurven des Kreatininbolus nach Behandlung mit Angiografin®, Isovist®-300 und NaCl (jeweils n=6)

\*/ $p < 0,05$  bzw. \*\*/ $p < 0,01$  NaCl vs. Angiografin; °/ $p < 0,05$  NaCl vs. Isovist

Die Ergebnisse der TOPFIT-Auswertung für die Behandlungen mit NaCl-Lösung sind aus Tabelle 3.4.1-9 zu entnehmen. Die TOPFIT-Daten der mit Röntgenkontrastmittel durchgeführten Behandlungen sind in Tabelle 3.4.1-10 (für Isovist®-300) und in Tabelle 3.4.1-11 (für Angiografin®) enthalten.

**Tabelle 3.4.1-9: TOPFIT-Auswertung der NaCl-Kontrollgruppe**

| 1. Applikation : |             |          |          | 2. Applikation : |          | 3. Applikation : |          |
|------------------|-------------|----------|----------|------------------|----------|------------------|----------|
|                  | Einheit     | 4465 / M | 4564 / F | 4446 / M         | 3760 / M | 4603 / F         | 4568 / F |
| t1/2 (1)         | min         | 0,06     | 0,10     | 0,07             | 0,09     | 2,04             | 0,09     |
| t1/2 (2)         | min         | 7,92     | 6,35     | 7,40             | 7,37     | 11,30            | 7,31     |
| t1/2 (3)         | min         | 119      | 89,1     | 106              | 136      | 157              | 97,4     |
| Vss              | l/kg        | 0,66     | 0,62     | 0,65             | 0,69     | 0,73             | 0,58     |
| Clearance        | ml/min/kg   | 4,48     | 5,58     | 4,92             | 4,07     | 3,67             | 4,82     |
| AUC              | (µg/ml)*min | 4460     | 3590     | 4060             | 4910     | 5450             | 4150     |

**Tabelle 3.4.1-10: TOPFIT-Auswertung der Isovist®-300-Behandlungsgruppe**

| 1. Applikation : |             |          |          | 2. Applikation : |          | 3. Applikation : |          |
|------------------|-------------|----------|----------|------------------|----------|------------------|----------|
|                  | Einheit     | 4603 / F | 3760 / M | 4568 / F         | 4465 / M | 4446 / M         | 4564 / F |
| t1/2 (1)         | min         | 0,10     | 0,08     | 0,07             | 0,07     | 0,05             | 0,12     |
| t1/2 (2)         | min         | 6,45     | 8,15     | 10,40            | 8,61     | 9,05             | 9,07     |
| t1/2 (3)         | min         | 143      | 151      | 143              | 137      | 133              | 115      |
| Vss              | l/kg        | 0,61     | 0,63     | 0,62             | 0,65     | 0,63             | 0,64     |
| Clearance        | ml/min/kg   | 3,28     | 3,27     | 3,45             | 3,79     | 3,82             | 4,43     |
| AUC              | (µg/ml)*min | 6100     | 6110     | 5800             | 5280     | 5230             | 4510     |

**Tabelle 3.4.1-11: TOPFIT-Auswertung der Angiografin®-Behandlungsgruppe**

| 1. Applikation : |             |          |          | 2. Applikation : |          | 3. Applikation : |          |
|------------------|-------------|----------|----------|------------------|----------|------------------|----------|
|                  | Einheit     | 4446 / M | 4568 / F | 4603 / F         | 4564 / F | 4465 / M         | 3760 / M |
| t1/2 (1)         | min         | 0,05     | 0,64     | 0,05             | 0,07     | 0,08             | 0,05     |
| t1/2 (2)         | min         | 6,84     | 8,75     | 7,89             | 7,94     | 8,49             | 7,73     |
| t1/2 (3)         | min         | 155      | 140      | 147              | 153      | 155              | 159      |
| Vss              | l/kg        | 0,67     | 0,56     | 0,56             | 0,63     | 0,65             | 0,59     |
| Clearance        | ml/min/kg   | 3,29     | 3,21     | 3,02             | 3,22     | 3,31             | 2,99     |
| AUC              | (µg/ml)*min | 6070     | 6220     | 6620             | 6210     | 6040             | 6690     |

Die in Tabelle 3.4.1-12 aufgelisteten Mittelwerte und Standardabweichungen der Behandlungsgruppen für die verschiedenen Parameter sind die Zusammenfassung der TOPFIT-Ergebnisse aus den drei vorhergehenden Tabellen 3.4.1-9 bis 3.4.1-11. Die dritte Halbwertszeit  $t_{1/2}$  (3) verlängert sich von der NaCl-Lösung über die Isovist<sup>®</sup>-Behandlung bis hin zur Angiografin<sup>®</sup>-Gruppe ebenso wie die Fläche unter der Kurve sich vergrößert. Bei fast gleichem Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht nimmt die Clearance in der gleichen Reihenfolge der Behandlungen von 4,59 ml/ min/ kg bei der NaCl-Kontrolle über 3,67 ml/ min/ kg bei Isovist<sup>®</sup>-300 (ein Minus von 20 % gegenüber der Kontrolle) hin zu 3,17 ml/ min/ kg bei der Angiografin<sup>®</sup>-Gruppe (-31 % gegenüber NaCl) ab.

**Tabelle 3.4.1-12:** Zusammenfassung der TOPFIT-Auswertung der NaCl-Kontrolle und der beiden RKM-Gruppen (n=6)

|                 | Einheit           | NaCl-Lösung |          | Isovist  |          | Angiografin |          |
|-----------------|-------------------|-------------|----------|----------|----------|-------------|----------|
|                 |                   | MW (n=6)    | SD (n=6) | MW (n=6) | SD (n=6) | MW (n=6)    | SD (n=6) |
| $t_{1/2}$ (1)   | min               | 0,41        | 0,80     | 0,08     | 0,02     | 0,16        | 0,24     |
| $t_{1/2}$ (2)   | min               | 7,94        | 1,72     | 8,62     | 1,30     | 7,94        | 0,67     |
| $t_{1/2}$ (3)   | min               | 117         | 25,5     | 137      | 12,4     | 152         | 6,86     |
| V <sub>ss</sub> | l/kg              | 0,65        | 0,05     | 0,63     | 0,01     | 0,61        | 0,05     |
| Clearance       | ml/min/kg         | 4,59        | 0,67     | 3,67     | 0,44     | 3,17        | 0,14     |
| AUC             | ( $\mu$ g/ml)*min | 4437        | 662      | 5505     | 620      | 6308        | 279      |

Zur statistischen Auswertung der TOPFIT-Ergebnisse wurde eine Varianzanalyse (repeated measures one-way ANOVA) für den Vergleich der Kontrollgruppe mit Isovist<sup>®</sup> bzw. Angiografin<sup>®</sup> durchgeführt (s. Tabelle 3.4.1-13). Diese Analyse ergab signifikante Unterschiede ( $p < 0,01$  bzw.  $< 0,05$ ) der berechneten Clearancewerte und der AUC zwischen den Röntgenkontrastmittelbehandlungen und der Kochsalzkontrolle. Außerdem differiert der  $t_{1/2}$  (3)-Mittelwert der Angiografin<sup>®</sup>-Gruppe von dem der Kontrolle mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 %. Für alle anderen Parameter ergaben sich keine Signifikanzen, genauso wie auch der für den Vergleich der RKM-Gruppen untereinander verwendete gepaarte t-Test keine signifikanten Differenzen der Behandlungen ergab.

**Tabelle 3.4.1-13:** Varianzanalyse der TOPFIT-Ergebnisse (RKM-Gruppen vs. Kontrolle); gepaarter t-Test der TOPFIT-Ergebnisse (Isovist<sup>®</sup>-300 vs. Angiografin<sup>®</sup>)

|                 | Einheit           | NaCl vs. Angiografin |                     | NaCl vs. Isovist |                     | Isovist vs. Angiografin |             |
|-----------------|-------------------|----------------------|---------------------|------------------|---------------------|-------------------------|-------------|
|                 |                   | t-Wert               | Signifikanz         | t-Wert           | Signifikanz         | t-Wert                  | Signifikanz |
| $t_{1/2}$ (1)   | min               | --                   | n.s.                | --               | n.s.                | --                      | n.s.        |
| $t_{1/2}$ (2)   | min               | --                   | n.s.                | --               | n.s.                | 1,455                   | n.s.        |
| $t_{1/2}$ (3)   | min               | 3,458                | <b>*/p&lt;0.05</b>  | 1,624            | n.s.                | 1,929                   | n.s.        |
| V <sub>ss</sub> | l/kg              | --                   | n.s.                | --               | n.s.                | 0,961                   | n.s.        |
| Clearance       | ml/min/kg         | 4,666                | <b>**/p&lt;0.01</b> | 3,019            | <b>*/p&lt;0.05</b>  | 2,359                   | n.s.        |
| AUC             | ( $\mu$ g/ml)*min | 5,093                | <b>**/p&lt;0.01</b> | 2,907            | <b>**/p&lt;0.01</b> | 2,504                   | n.s.        |

### 3.5. Ergebnisse Vorversuch B

#### 3.5.1. Untersuchung der Pharmakokinetik von Inulin und Paraaminohippursäure (Vorversuch B; Teil 1)

Die Radioaktivität ( $^{14}\text{C}$ -Aktivität) der Serumproben wird in Tabelle 3.5.1-1 unter Zuhilfenahme ihres prozentualen Anteils an der applizierten radioaktiven Gesamtdosis in die proportionale Serumkonzentration des kalten Inulins umgerechnet.

**Tabelle 3.5.1-1:** Inulinkonzentration im Serum nach einmaliger Gabe von 1 mg Inulin/ kg KGW

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer 3269 M |             |                               | Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer 9088 M |             |                               |
|------------------------|-------------------|-------------|-------------------------------|------------------------|-------------------|-------------|-------------------------------|
|                        | DPM in 1ml Serum  | % der Dosis | $\mu\text{g}$ Inulin/ml Serum |                        | DPM in 1ml Serum  | % der Dosis | $\mu\text{g}$ Inulin/ml Serum |
| 0                      | 25,8              |             |                               | 0                      | 26,2              |             |                               |
| 1                      | 21867,0           | 52,61       | 10,96                         | 1                      | 20263,4           | 40,13       | 8,36                          |
| 5                      | 12632,8           | 30,39       | 6,33                          | 5                      | 14248,2           | 28,22       | 5,88                          |
| 10                     | 8707,6            | 20,95       | 4,36                          | 10                     | 10393,6           | 20,58       | 4,29                          |
| 20                     | 6054,0            | 14,56       | 3,03                          | 20                     | 6577,2            | 13,03       | 2,71                          |
| 30                     | 4541,2            | 10,93       | 2,28                          | 30                     | 4731,0            | 9,37        | 1,95                          |
| 45                     | 3287,2            | 7,91        | 1,65                          | 45                     | 3331,4            | 6,60        | 1,37                          |
| 60                     | 2524,6            | 6,07        | 1,27                          | 60                     | 2410,8            | 4,77        | 0,99                          |
| 90                     | 1508,6            | 3,63        | 0,76                          | 90                     | 1370,6            | 2,71        | 0,57                          |
| 120                    | 960,0             | 2,31        | 0,48                          | 120                    | 841,0             | 1,67        | 0,35                          |
| 180                    | 362,8             | 0,87        | 0,18                          | 180                    | 370,0             | 0,73        | 0,15                          |
| 240                    | 178,0             | 0,43        | 0,09                          | 240                    | 183,6             | 0,36        | 0,08                          |
| 300                    | 95,8              | 0,23        | 0,05                          | 300                    | 109,4             | 0,22        | 0,05                          |
| 360                    | 71,2              | 0,17        | 0,04                          | 360                    | 62,0              | 0,12        | 0,03                          |

Ebenso läßt sich aus der Radioaktivität der Harnproben der beiden für diesen Versuch verwendeten männlichen Beagle-Hunden und dem Harnvolumen die in der jeweiligen Harnsammelperiode ausgeschiedene Menge Inulin ermitteln (s. Tabelle 3.5.1-2).

**Tabelle 3.5.1-2:** Inulinausscheidung aufgegliedert nach Harnsammelperioden

| Harnsammelperiode<br>in min | Tiernummer 3269 M |                      |                         |                   |                           |
|-----------------------------|-------------------|----------------------|-------------------------|-------------------|---------------------------|
|                             | DPM in 1ml Ham    | Volumen der Fraktion | Gesamt-DPM der Fraktion | % der Gesamtdosis | mg Inulin in der Fraktion |
| 0                           | 45,8              |                      |                         |                   |                           |
| 0-60                        | 625348,0          | 26,0                 | 16259048,0              | 68,48             | 8,15                      |
| 60-120                      | 121433,8          | 24,5                 | 2975128,1               | 12,53             | 1,49                      |
| 120-240                     | 57890,4           | 33,0                 | 1910383,2               | 8,05              | 0,96                      |
| 240-360                     | 10484,8           | 32,0                 | 335513,6                | 1,41              | 0,17                      |
| Summe:                      |                   |                      |                         | 90,47             | 10,77                     |

| Harnsammelperiode<br>in min | Tiernummer 9088 M |                      |                         |                   |                           |
|-----------------------------|-------------------|----------------------|-------------------------|-------------------|---------------------------|
|                             | DPM in 1ml Ham    | Volumen der Fraktion | Gesamt-DPM der Fraktion | % der Gesamtdosis | mg Inulin in der Fraktion |
| 0                           | 30,4              |                      |                         |                   |                           |
| 0-60                        | 719626,4          | 27,0                 | 19429912,8              | 68,10             | 9,74                      |
| 60-120                      | 155368,0          | 29,0                 | 4505672,0               | 15,79             | 2,26                      |
| 120-240                     | 54201,6           | 44,0                 | 2384870,4               | 8,36              | 1,20                      |
| 240-360                     | 9104,0            | 50,0                 | 455200,0                | 1,60              | 0,23                      |
| Summe:                      |                   |                      |                         | 93,85             | 13,42                     |

Analog dazu wurde für beide Hunde mittels der  $^3\text{H}$ -Aktivität der Serum- und Harnproben sowie der Harnvolumina der Fraktionen die Paraaminohippursäure-(PAH)-Konzentration im Serum sowie die pro Harnsammelperiode ausgeschiedene PAH-Menge bestimmt. Diese Ergebnisse sind in der Tabelle 3.5.1-3 und in der Tabelle 3.5.1-4 enthalten.

**Tabelle 3.5.1-3: PAH-Konzentration im Serum nach einmaliger Gabe von 0,2 mg PAH/ kg KGW**

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer 3269 M |             |                            | Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer 9088 M |             |                            |
|------------------------|-------------------|-------------|----------------------------|------------------------|-------------------|-------------|----------------------------|
|                        | DPM in 1ml Serum  | % der Dosis | $\mu\text{g}$ PAH/ml Serum |                        | DPM in 1ml Serum  | % der Dosis | $\mu\text{g}$ PAH/ml Serum |
| 0                      | 24,6              | 0,00        | 0,00                       | 0                      | 9,8               | 0,00        | 0,00                       |
| 1                      | 11781,2           | 27,06       | 1,13                       | 1                      | 10854,2           | 24,93       | 1,04                       |
| 5                      | 6533,2            | 15,01       | 0,63                       | 5                      | 6438,2            | 14,79       | 0,62                       |
| 10                     | 4209,0            | 9,67        | 0,40                       | 10                     | 4405,2            | 10,12       | 0,42                       |
| 20                     | 2787,0            | 6,40        | 0,27                       | 20                     | 2743,6            | 6,30        | 0,26                       |
| 30                     | 1978,2            | 4,54        | 0,19                       | 30                     | 1920,0            | 4,41        | 0,18                       |
| 45                     | 1315,0            | 3,02        | 0,13                       | 45                     | 1266,8            | 2,91        | 0,12                       |
| 60                     | 924,4             | 2,12        | 0,09                       | 60                     | 909,4             | 2,09        | 0,09                       |
| 90                     | 609,2             | 1,40        | 0,06                       | 90                     | 554,0             | 1,27        | 0,05                       |
| 120                    | 437,6             | 1,01        | 0,04                       | 120                    | 451,2             | 1,04        | 0,04                       |
| 180                    | 223,2             | 0,51        | 0,02                       | 180                    | 270,8             | 0,62        | 0,03                       |
| 240                    | 173,0             | 0,40        | 0,02                       | 240                    | 208,6             | 0,48        | 0,02                       |
| 300                    | 171,8             | 0,39        | 0,02                       | 300                    | 169,4             | 0,39        | 0,02                       |
| 360                    | 139,8             | 0,32        | 0,01                       | 360                    | 160,4             | 0,37        | 0,02                       |

**Tabelle 3.5.1-4: PAH-Ausscheidung aufgedgliedert nach Harnsammelperioden**

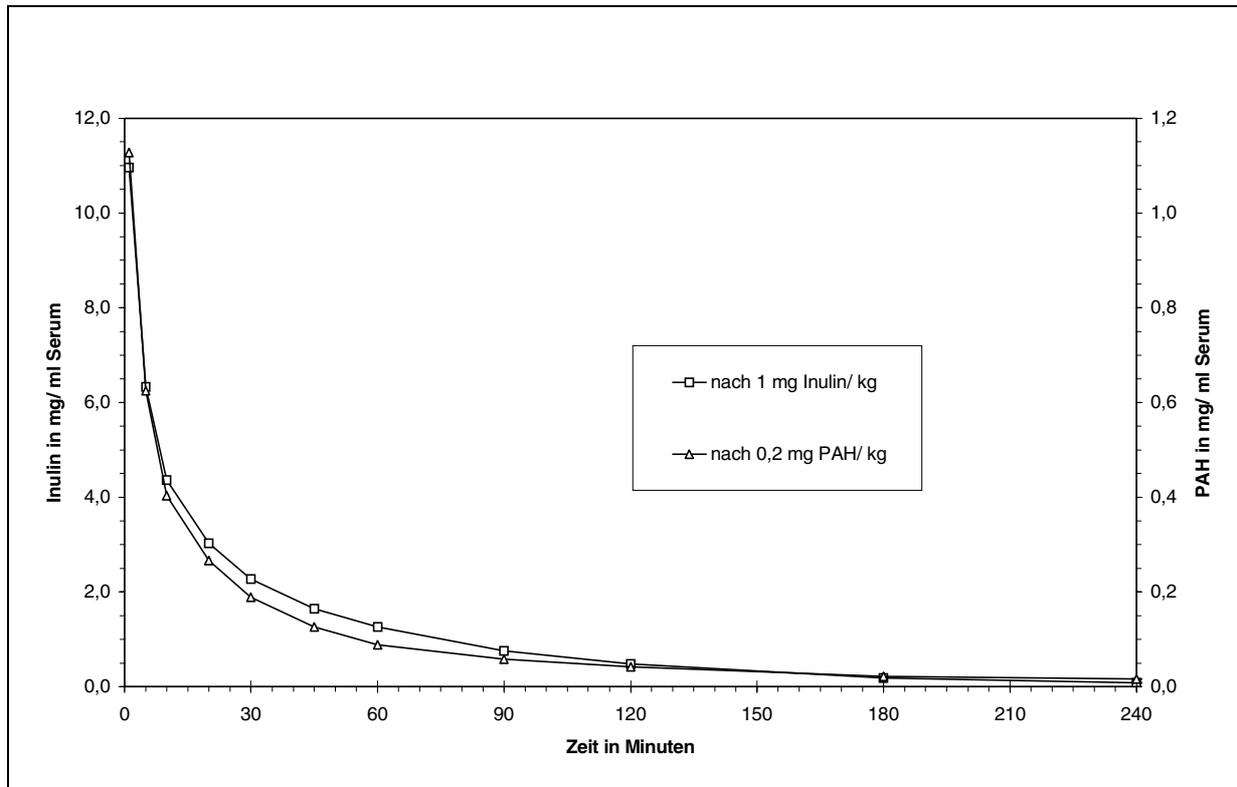
| Harnsammelperiode<br>in min | Tiernummer 3269 M |                      |                         |                   |                        |
|-----------------------------|-------------------|----------------------|-------------------------|-------------------|------------------------|
|                             | DPM in 1ml Ham    | Volumen der Fraktion | Gesamt-DPM der Fraktion | % der Gesamtdosis | mg PAH in der Fraktion |
| 0                           | 13,4              |                      |                         |                   |                        |
| 0-60                        | 761326,4          | 26,0                 | 19794486,4              | 79,59             | 1,89                   |
| 60-120                      | 74863,6           | 24,5                 | 1834158,2               | 7,38              | 0,18                   |
| 120-240                     | 26651,8           | 33,0                 | 879509,4                | 3,54              | 0,08                   |
| 240-360                     | 5046,2            | 32,0                 | 161478,4                | 0,65              | 0,02                   |
| Summe:                      |                   |                      |                         | 91,16             | 2,17                   |

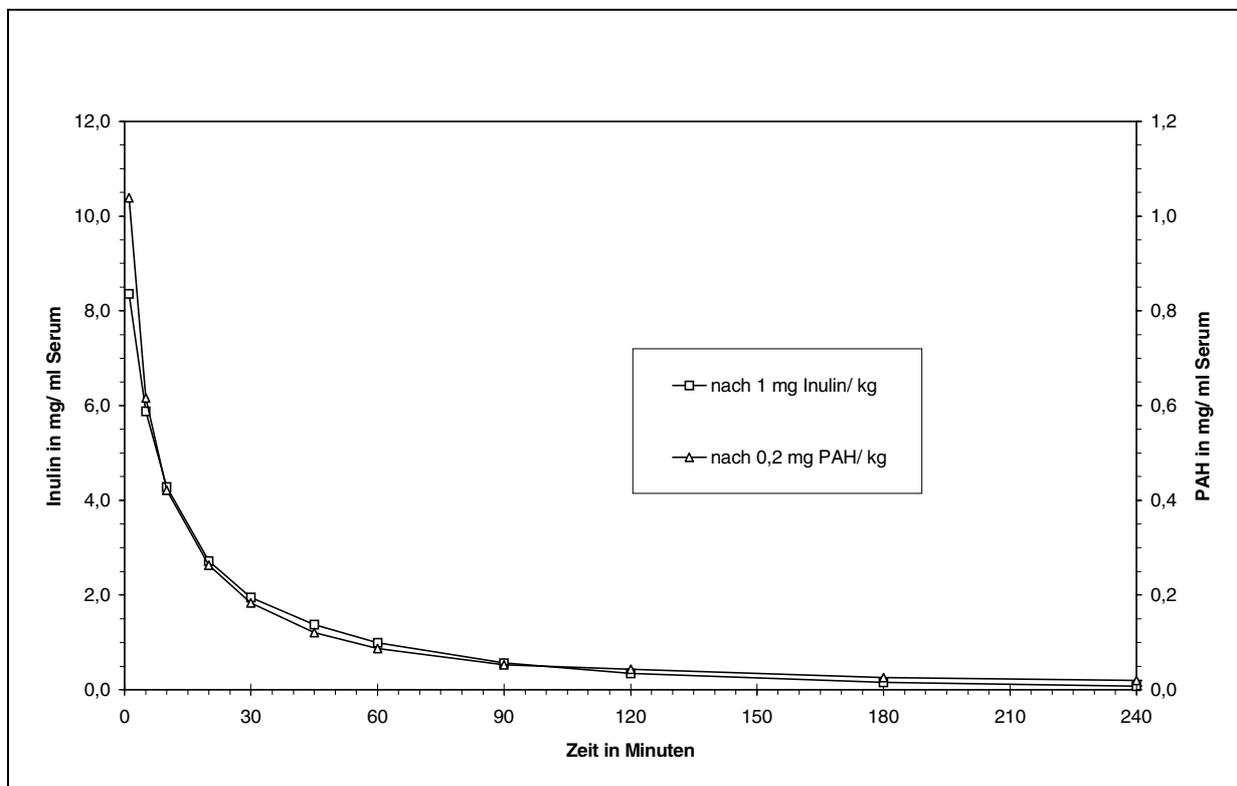
| Harnsammelperiode<br>in min | Tiernummer 9088 M |                      |                         |                   |                        |
|-----------------------------|-------------------|----------------------|-------------------------|-------------------|------------------------|
|                             | DPM in 1ml Ham    | Volumen der Fraktion | Gesamt-DPM der Fraktion | % der Gesamtdosis | mg PAH in der Fraktion |
| 0                           | 14,0              |                      |                         |                   |                        |
| 0-60                        | 888407,0          | 27,0                 | 23986989,0              | 80,26             | 2,30                   |
| 60-120                      | 93177,6           | 29,0                 | 2702150,4               | 9,04              | 0,26                   |
| 120-240                     | 23598,0           | 44,0                 | 1038312,0               | 3,47              | 0,10                   |
| 240-360                     | 3634,2            | 50,0                 | 181710,0                | 0,61              | 0,02                   |
| Summe:                      |                   |                      |                         | 93,39             | 2,67                   |

Demnach sind bei beiden Hunden zum Zeitpunkt 6 Stunden nach Applikation schon über 90 % der applizierten Radioaktivität ausgeschieden worden.

Der Verlauf der Eliminationskurven von Inulin und PAH für Tier 3296 M ist in Abbildung 3.5.1-1 und für Tier 9088 M in Abbildung 3.5.1-2 dargestellt.



**Abbildung 3.5.1-1:** 3296 M - Inulin & PAH-Ausscheidung nach Bolusgabe



**Abbildung 3.5.1-2:** 9088 M - Inulin & PAH-Ausscheidung nach Bolusgabe

Die Auswertung der so gewonnenen Serum- und Harnwerte durch eine modellunabhängige Analyse mit dem TOPFIT-Programm ergibt für Inulin (PAH) die in Tabelle 3.5.1-5 (Tabelle 3.5.1-6) enthaltenen Werte für die pharmakokinetischen Parameter Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ), Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht ( $V_{ss}$ ) sowie die totale und die renale Clearance pro Tier. Durch Berücksichtigung des Körpergewichts ergibt sich dann die renale Clearance/ kg.

**Tabelle 3.5.1-5: Parameter der Inulinausscheidungskinetik**

| TNR      | t 1/2<br>(min) | totale Clearance<br>(ml/ min/ kg) | $V_{ss}$<br>(l) | ren. Clearance/Tier<br>(ml/ min) | ren. Clearance/kg<br>(ml/ min/kg) |
|----------|----------------|-----------------------------------|-----------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| 3269 M   | 53,2           | 3,73                              | 0,216           | 40,6                             | 3,41                              |
| 9088 M   | 53,4           | 4,43                              | 0,237           | 60,0                             | 4,20                              |
| MW (n=2) | 53,3           | 4,08                              | 0,227           | 50,3                             | 3,80                              |

**Tabelle 3.5.1-6: Parameter der PAH-Ausscheidungskinetik**

| TNR      | t 1/2<br>(min) | totale Clearance<br>(ml/ min/ kg) | $V_{ss}$<br>(l) | ren. Clearance/Tier<br>(ml/ min) | ren. Clearance/kg<br>(ml/ min/kg) |
|----------|----------------|-----------------------------------|-----------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| 3269 M   | 34,6           | 7,85                              | 0,593           | 83,0                             | 6,97                              |
| 9088 M   | 34,2           | 7,79                              | 0,626           | 107,0                            | 7,48                              |
| MW (n=2) | 34,4           | 7,82                              | 0,610           | 95,0                             | 7,23                              |

Die Parameter Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht (für Inulin 227 ml/für PAH 610 ml) sowie renale Clearance (3,8 ml/ min/ kg für Inulin / 7,23 ml/ min/ kg für PAH) werden dann zusammen mit den angestrebten „heißen“ bzw. „kalten“ Inulin- und Paraaminohippursäurekonzentrationen für die Berechnung der Initial- und Erhaltungsdosen zum Erreichen eines Fließgleichgewichts verwendet.

### 3.5.2. Ergebnisse der Überprüfung der berechneten Initial- und Erhaltungsdosis für Inulin und Paraaminohippursäure (Vorversuch B; Teil 2)

Die Ergebnisse erster Clearanceversuche mit der im Methodenteil genau beschriebenen Technik (s. Kapitel 2.5.1.2.) sind in den Tabellen 3.5.1-1 bis 3.5.1-4 dokumentiert. Von den auch schon im ersten Teil des Vorversuchs B verwendeten Hunden enthält je eine Tabelle die Clearancewerte für Inulin, während aus der anderen die PAH-Clearanceergebnisse zu entnehmen sind.

**Tabelle 3.5.2-1: Werte der Inulin-clearance, Tier 3296 M**

| Clearance-Periode<br>(min) | Aktivität im Harn<br>(DPM/ml) | Harnvolumen<br>(ml) | Aktivität im Plasma<br>(DPM/ml) | Clearance<br>(ml/min) | Clearance<br>(ml/min/kg) |
|----------------------------|-------------------------------|---------------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| -35 bis -25                | 34910,2                       | 22,0                | 1227,2                          | 62,58                 | 5,49                     |
| -25 bis -15                | 29749,2                       | 21,0                | 1031,6                          | 60,56                 | 5,31                     |
| -15 bis -5                 | 23013,4                       | 23,0                | 1122,0                          | 47,18                 | 4,14                     |
| 0 bis 10                   | 24199,8                       | 23,5                | 1176,2                          | 48,35                 | 4,24                     |
| 10 bis 20                  | 29814,0                       | 21,5                | 1282,8                          | 49,97                 | 4,38                     |
| 20 bis 30                  | 19172,2                       | 31,5                | 1297,0                          | 46,56                 | 4,08                     |
| 30 bis 40                  | 16431,8                       | 41,0                | 1398,4                          | 48,18                 | 4,23                     |
| 40 bis 50                  | 12800,6                       | 55,0                | 1323,6                          | 53,19                 | 4,67                     |
| 50 bis 60                  | 10946,2                       | 62,0                | 1370,4                          | 49,52                 | 4,34                     |
| 60 bis 75                  | 16143,6                       | 66,0                | 1311,8                          | 54,15                 | 4,75                     |
| 75 bis 90                  | 24694,2                       | 43,0                | 1267,8                          | 55,84                 | 4,90                     |
| 90 bis 105                 | 33775,4                       | 31,5                | 1254,4                          | 56,54                 | 4,96                     |
| 105 bis 120                | 36904,2                       | 28,5                | 1284,6                          | 54,58                 | 4,79                     |

MW (0 bis 120 min)

51,69

4,53

**Tabelle 3.5.2-2: Werte der PAH-Clearance, Tier 3296 M**

| Clearance-Periode<br>(min) | Aktivität im Harn<br>(DPM/ml) | Harnvolumen<br>(ml) | Aktivität im Plasma<br>(DPM/ml) | Clearance<br>(ml/min) | Clearance<br>(ml/min/kg) |
|----------------------------|-------------------------------|---------------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| -35 bis -25                | 85738,2                       | 22,0                | 1055,2                          | 178,76                | 15,68                    |
| -25 bis -15                | 64505,4                       | 21,0                | 942,4                           | 143,74                | 12,61                    |
| -15 bis -5                 | 49320,4                       | 23,0                | 910,6                           | 124,57                | 10,93                    |
| 0 bis 10                   | 53200,4                       | 23,5                | 1079,2                          | 115,85                | 10,16                    |
| 10 bis 20                  | 65274,0                       | 21,5                | 1108,4                          | 126,61                | 11,11                    |
| 20 bis 30                  | 42451,8                       | 31,5                | 1174,6                          | 113,85                | 9,99                     |
| 30 bis 40                  | 37147,0                       | 41,0                | 1174,8                          | 129,64                | 11,37                    |
| 40 bis 50                  | 28741,0                       | 59,0                | 1099,8                          | 154,18                | 13,52                    |
| 50 bis 60                  | 24182,2                       | 62,0                | 1090,0                          | 137,55                | 12,07                    |
| 60 bis 75                  | 34564,0                       | 66,0                | 1064,6                          | 142,85                | 12,53                    |
| 75 bis 90                  | 49908,6                       | 43,0                | 1070,6                          | 133,64                | 11,72                    |
| 90 bis 105                 | 66261,8                       | 31,5                | 1105,0                          | 125,93                | 11,05                    |
| 105 bis 120                | 71365,0                       | 28,5                | 1125,0                          | 120,53                | 10,57                    |

MW (0 bis 120 min)

130,06

11,65

**Tabelle 3.5.2-3: Werte der Inulin-clearance, Tier 9088 M**

| Clearance-Periode<br>(min) | Aktivität im Harn<br>(DPM/ml) | Harnvolumen<br>(ml) | Aktivität im Plasma<br>(DPM/ml) | Clearance<br>(ml/min) | Clearance<br>(ml/min/kg) |
|----------------------------|-------------------------------|---------------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| -35 bis -25                | 14052,4                       | 72,0                | 1431,6                          | 70,67                 | 5,08                     |
| -25 bis -15                | 15670,6                       | 62,0                | 1402,0                          | 69,30                 | 4,99                     |
| -15 bis -5                 | 19202,6                       | 49,0                | 1344,4                          | 69,99                 | 5,04                     |
| 0 bis 10                   | 26488,2                       | 38,5                | 1358,2                          | 75,08                 | 5,40                     |
| 10 bis 20                  | 30035,6                       | 31,5                | 1333,4                          | 70,96                 | 5,10                     |
| 20 bis 30                  | 30242,8                       | 30,5                | 1336,0                          | 69,04                 | 4,97                     |
| 30 bis 40                  | 28748,8                       | 30,5                | 1318,4                          | 66,51                 | 4,78                     |
| 40 bis 50                  | 32078,8                       | 27,5                | 1290,6                          | 68,35                 | 4,92                     |
| 50 bis 60                  | 35351,2                       | 27,0                | 1272,2                          | 75,03                 | 5,40                     |
| 60 bis 75                  | 44599,4                       | 30,5                | 1266,8                          | 71,59                 | 5,15                     |
| 75 bis 90                  | 45149,2                       | 30,0                | 1222,4                          | 73,87                 | 5,31                     |
| 90 bis 105                 | 40053,4                       | 33,0                | 1220,0                          | 72,23                 | 5,20                     |
| 105 bis 120                | 36497,0                       | 36,0                | 1024,6                          | 85,49                 | 6,15                     |

MW (0 bis 120 min)

72,81

5,24

**Tabelle 3.5.2-4: Werte der PAH-Clearance, Tier 9088 M**

| Clearance-Periode<br>(min) | Aktivität im Harn<br>(DPM/ml) | Harnvolumen<br>(ml) | Aktivität im Plasma<br>(DPM/ml) | Clearance<br>(ml/min) | Clearance<br>(ml/min/kg) |
|----------------------------|-------------------------------|---------------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| -35 bis -25                | 45100,8                       | 72,0                | 1840,2                          | 176,46                | 15,48                    |
| -25 bis -15                | 51403,4                       | 62,0                | 1804,0                          | 176,66                | 15,50                    |
| -15 bis -5                 | 64595,2                       | 49,0                | 1725,6                          | 183,42                | 16,09                    |
| 0 bis 10                   | 85652,0                       | 38,5                | 1801,4                          | 183,06                | 16,06                    |
| 10 bis 20                  | 97465,2                       | 31,5                | 1936,8                          | 158,52                | 13,90                    |
| 20 bis 30                  | 97585,2                       | 30,5                | 1769,8                          | 168,17                | 14,75                    |
| 30 bis 40                  | 89898,4                       | 30,5                | 1771,2                          | 154,80                | 13,58                    |
| 40 bis 50                  | 106703,4                      | 27,5                | 1748,2                          | 167,85                | 14,72                    |
| 50 bis 60                  | 113976,2                      | 27,0                | 1802,6                          | 170,72                | 14,98                    |
| 60 bis 75                  | 147620,8                      | 30,5                | 1796,8                          | 167,05                | 14,65                    |
| 75 bis 90                  | 155072,8                      | 30,0                | 1810,8                          | 171,28                | 15,02                    |
| 90 bis 105                 | 135768,8                      | 33,0                | 1933,2                          | 154,51                | 13,55                    |
| 105 bis 120                | 125497,4                      | 36,0                | 1803,6                          | 167,00                | 14,65                    |

MW (0 bis 120 min)

166,30

14,59

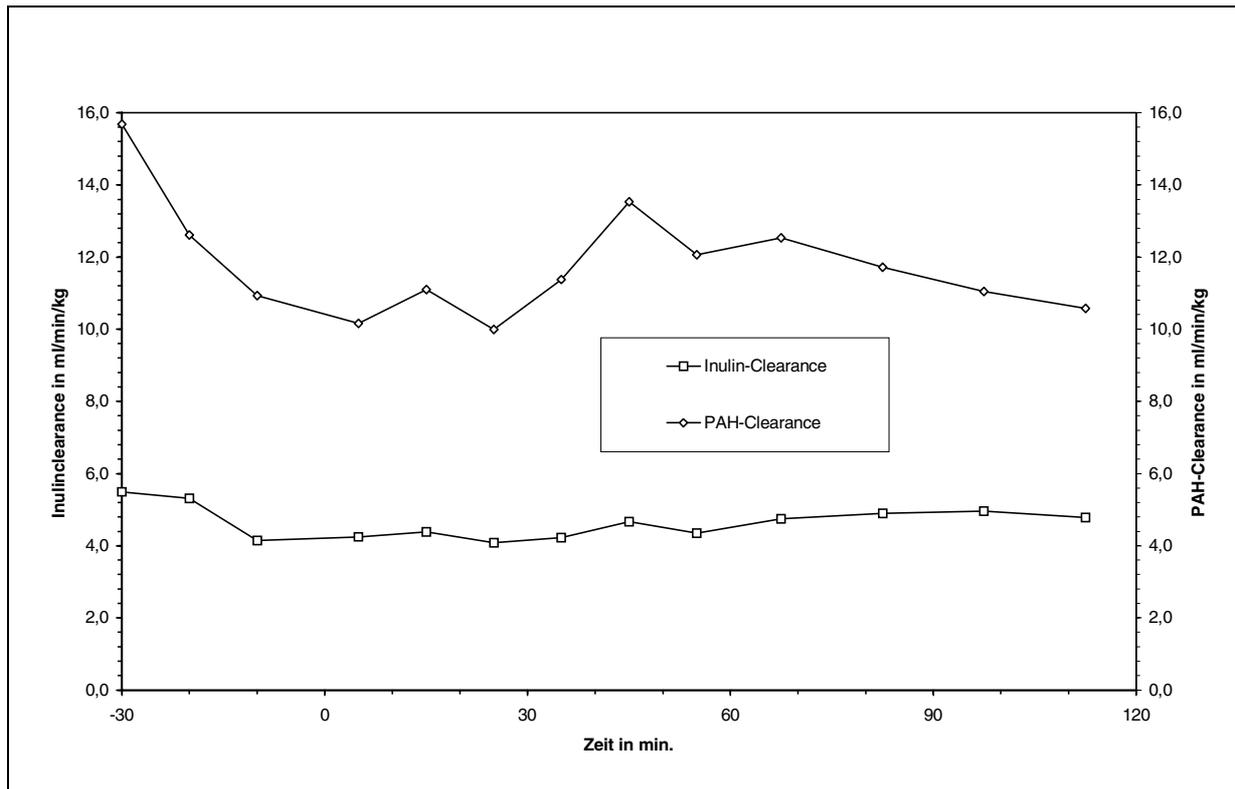


Abbildung 3.5.2-1: Verlauf der PAH- und Inulin-clearance von Tier 3296 M

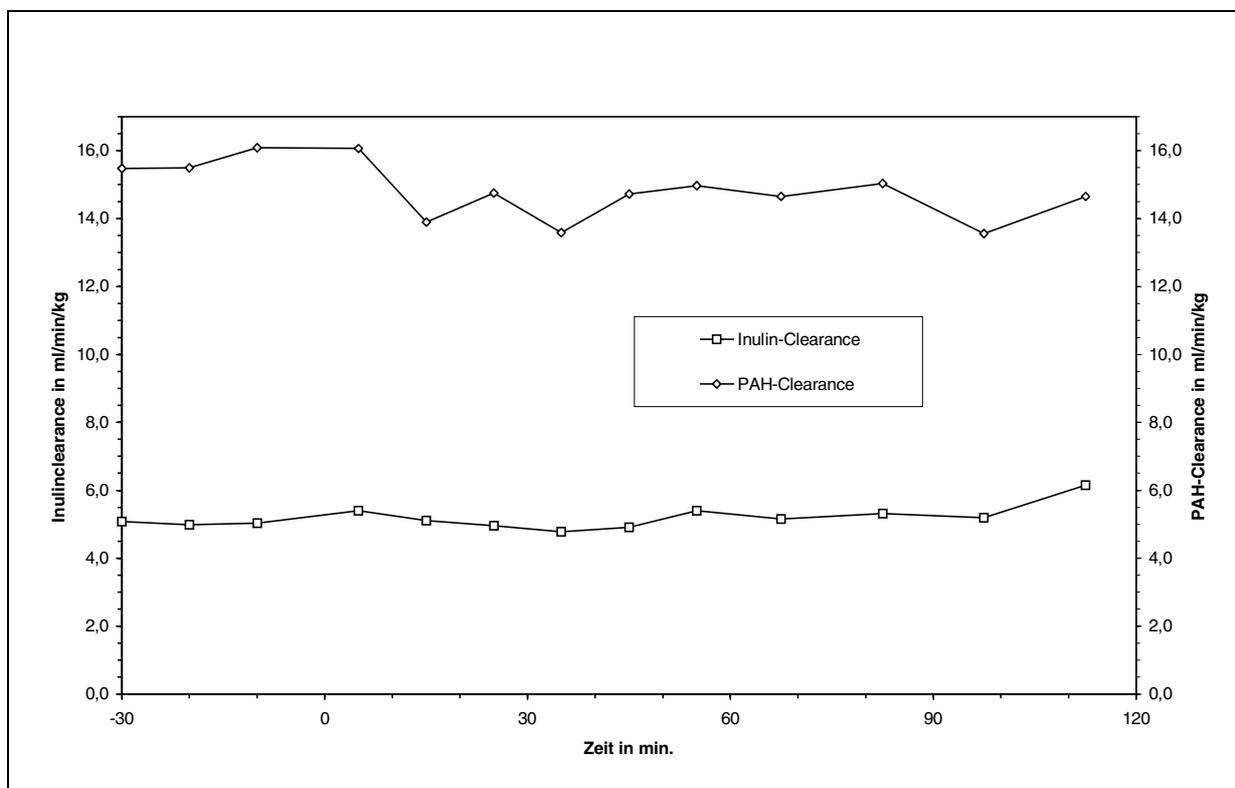


Abbildung 3.5.2-2: Verlauf der PAH- und Inulin-clearance von Tier 9088 M

Die PAH- und Inulinclearance im Verlauf des Versuchs zeigen die beiden Abbildungen Abbildung 3.5.2-1 und Abbildung 3.5.2-2. Bei beiden Tieren weisen die PAH-Clearancewerte eine gewisse Schwankungsbreite über die einzelnen Clearanceperioden auf: Der Clearance-Mittelwert über den Zeitraum von 0 bis 120 min von Tier 3296 M (9088 M) liegt bei  $11,65 \pm 1,04$  ml/ min/ kg. ( $14,59 \pm 0,72$  ml/ min/ kg). Der Verlauf der Inulinclearancekurven zeigt eine gute Konstanz, die auch an den Standardabweichungen der über den Zeitraum von 0 bis 120 min gebildeten Mittelwerten  $4,53 \pm 0,3$  ml/ min/ kg bzw.  $5,24 \pm 0,36$  ml/ min/ kg von Tier 3296 M bzw. 9088 M zu erkennen ist.

Eine Zusammenfassung der Clearanceergebnisse dieses zweiten Teils des Vorversuch B ergibt die gemittelte Inulin- und Paraaminohippursäureclearance aus Tabelle 3.5.2-5. Diese Clearancewerte wurden daraufhin im Versuch 4 als Berechnungsgrundlage für die Erhaltungsdosen von Inulin und Paraaminohippursäure verwendet.

**Tabelle 3.5.2-5:** Zusammenfassung der Ergebnisse der renalen Clearance für Inulin und PAH

| <b>14C-Inulin:</b> |                     |                        | <b>3H-PAH:</b> |                     |                        |
|--------------------|---------------------|------------------------|----------------|---------------------|------------------------|
| TNR                | Clearance in ml/min | Clearance in ml/min/kg | TNR            | Clearance in ml/min | Clearance in ml/min/kg |
| 3269 M             | 51,69               | 4,53                   | 3269 M         | 130,06              | 11,65                  |
| 9088 M             | 72,81               | 5,24                   | 9088 M         | 166,30              | 14,59                  |
| MW                 | 62,25               | 4,89                   | MW             | 148,18              | 13,12                  |

### 3.6. Ergebnisse Versuch 4

#### 3.6.1. Einfluß der Röntgenkontrastmittel auf die Inulinclearance

Die Inulin-Clearancewerte für Tier 1 (TNR 4465 M) zeigen die Tabellen 3.6.1-1 bis 3.6.1-3. Die zur Berechnung der Inulinclearance benötigten Daten, die  $^{14}\text{C}$ -Aktivität im Harn und im Plasma sowie das Harnvolumen der zugehörigen Clearanceperiode, sind in diesen Tabellen ebenfalls enthalten. Die drei Tabellen sind graphisch in Abbildung 3.6.1-1 zusammengefaßt, in der die Verläufe der Inulinclearance vor der Applikation der jeweiligen Substanz und über die ersten 120 min nach Applikation dargestellt sind.

**Tabelle 3.6.1-1:** Inulin-Clearancewerte von Tier 4465 M nach Applikation von NaCl-Lösung

##### I. NaCl-Lösung

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 31984,9                    | 24,0             | 1727,5                       | 44,44              | 3,67                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 27796,2                    | 23,5             | 1610,8                       | 40,55              | 3,35                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 32984,3                    | 22,0             | 1624,0                       | 44,68              | 3,69                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 30295,2                    | 23,5             | 1483,0                       | 48,01              | 3,97                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 29559,4                    | 22,0             | 1429,3                       | 45,50              | 3,76                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 31971,1                    | 22,0             | 1497,5                       | 46,97              | 3,88                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 32859,0                    | 22,5             | 1495,8                       | 47,07              | 3,89                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 30158,8                    | 24,5             | 1412,5                       | 55,06              | 4,55                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 27743,9                    | 30,0             | 1396,3                       | 59,61              | 4,93                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 32214,2                    | 43,0             | 1440,0                       | 62,06              | 5,13                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 21834,5                    | 46,0             | 1438,0                       | 48,17              | 3,98                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 16873,4                    | 64,0             | 1427,3                       | 50,44              | 4,17                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 17026,1                    | 61,0             | 1377,5                       | 50,26              | 4,15                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 15724,1                    | 103,5            | 962,0                        | 52,87              | 4,37                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 16368,0                    | 42,5             | 558,0                        | 42,99              | 3,55                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 20274,8                    | 25,5             | 343,3                        | 50,21              | 4,15                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 9142,6                     | 32,0             | 246,3                        | 40,97              | 3,39                  |

**Tabelle 3.6.1-2:** Inulin-Clearancewerte von Tier 4465 M nach Applikation von Isovist®-300

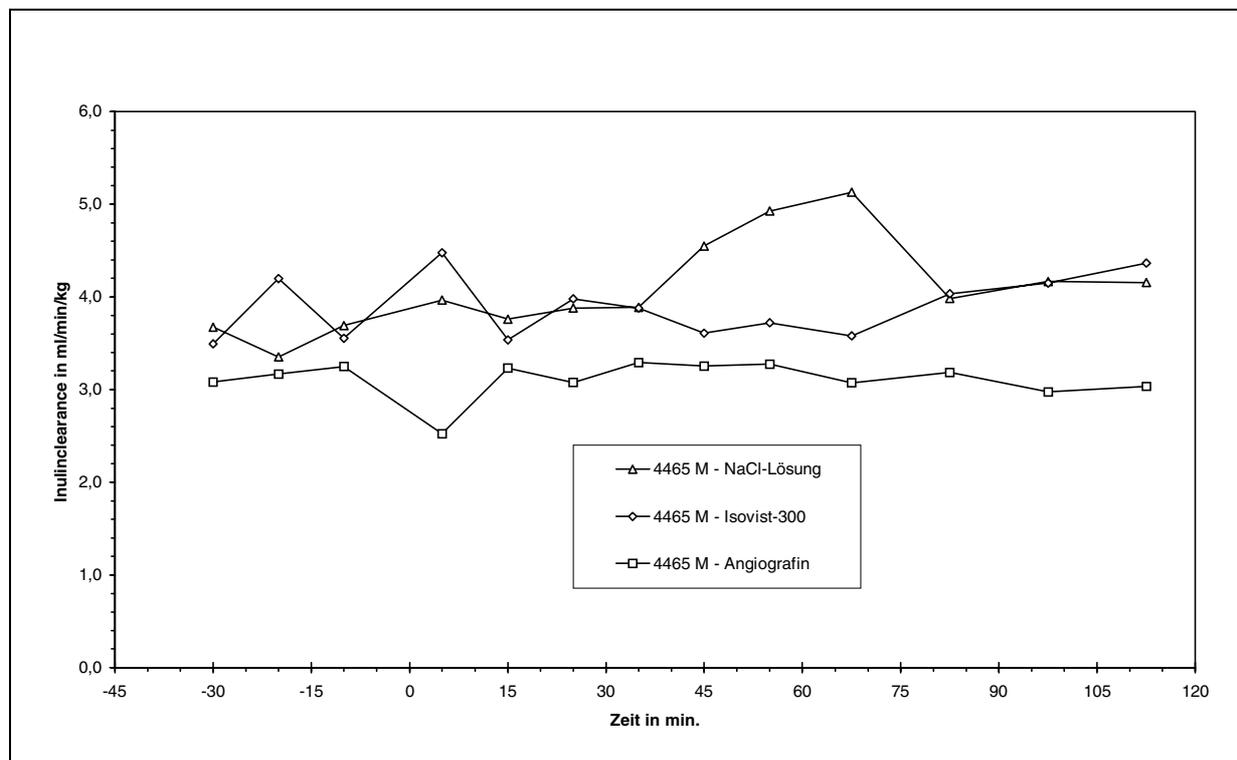
##### II. Isovist-300

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 25250,6                    | 25,0             | 1519,0                       | 41,56              | 3,49                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 20449,5                    | 34,5             | 1412,3                       | 49,96              | 4,20                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 14613,7                    | 44,0             | 1447,3                       | 42,31              | 3,56                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 6022,0                     | 126,0            | 1356,5                       | 53,27              | 4,48                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 8797,2                     | 72,0             | 1433,5                       | 42,08              | 3,54                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 14658,1                    | 43,0             | 1479,8                       | 47,33              | 3,98                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 18464,0                    | 37,0             | 1479,8                       | 46,17              | 3,88                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 21592,8                    | 30,0             | 1435,5                       | 42,98              | 3,61                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 24160,7                    | 27,0             | 1474,0                       | 44,26              | 3,72                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 33407,0                    | 29,0             | 1467,5                       | 42,59              | 3,58                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 33914,1                    | 30,0             | 1461,5                       | 48,01              | 4,03                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 38134,1                    | 29,0             | 1445,0                       | 49,38              | 4,15                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 35121,3                    | 30,5             | 1473,5                       | 51,93              | 4,36                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 43297,1                    | 38,0             | 936,8                        | 58,55              | 4,92                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 20359,7                    | 38,5             | 555,0                        | 47,08              | 3,96                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 14342,1                    | 35,0             | 346,0                        | 48,36              | 4,06                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 8874,3                     | 33,5             | 260,5                        | 38,04              | 3,20                  |

**Tabelle 3.6.1-3:** Inulin-Clearancewerte von Tier 4465 M nach Applikation von Angiografin®

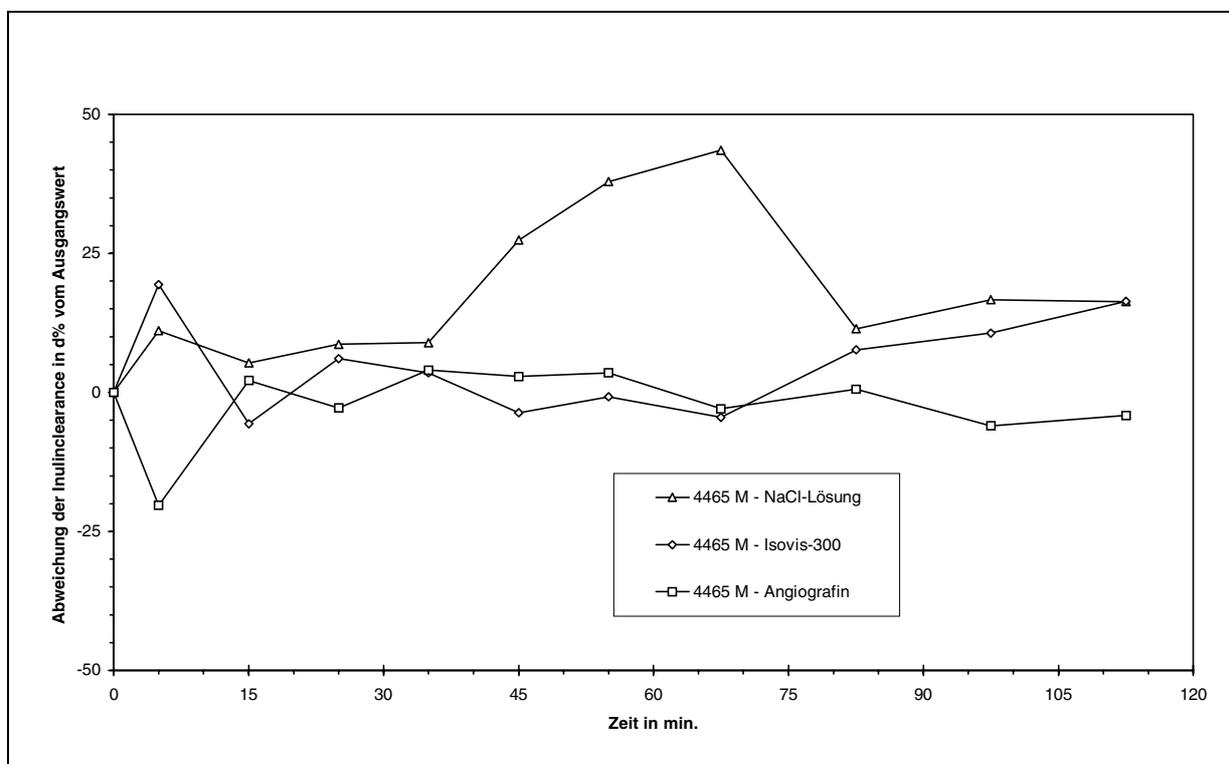
## III. Angiografin

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 31142,8                    | 26,5             | 2178,0                       | 37,89              | 3,08                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 32739,8                    | 26,0             | 2185,3                       | 38,95              | 3,17                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 35646,8                    | 24,5             | 2186,3                       | 39,95              | 3,25                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 7994,2                     | 84,0             | 2164,8                       | 31,02              | 2,52                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 14107,5                    | 64,0             | 2162,5                       | 39,76              | 3,23                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 17869,7                    | 44,0             | 2186,3                       | 37,86              | 3,08                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 23301,3                    | 43,0             | 2249,0                       | 40,50              | 3,29                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 22398,5                    | 35,5             | 2206,5                       | 40,04              | 3,26                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 25622,5                    | 34,0             | 2161,5                       | 40,30              | 3,28                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 33107,7                    | 36,5             | 2132,5                       | 37,78              | 3,07                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 26325,1                    | 55,0             | 2175,0                       | 39,16              | 3,18                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 35350,0                    | 31,5             | 2173,8                       | 36,59              | 2,97                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 36433,7                    | 31,0             | 2162,3                       | 37,31              | 3,03                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 48037,7                    | 42,0             | 1545,0                       | 43,53              | 3,54                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 32591,7                    | 38,0             | 985,5                        | 41,89              | 3,41                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 22411,8                    | 35,5             | 598,5                        | 44,31              | 3,60                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 15317,5                    | 30,0             | 386,3                        | 39,66              | 3,22                  |

**Abbildung 3.6.1-1:** Verlauf der Inulin-clearance (in ml/ min/ kg) bei den an Tier 4465 M durchgeführten Versuchen (Kochsalzkontrolle sowie zwei RKM-Behandlungen)

**Tabelle 3.6.1-4:** Abweichungen der Inulinclearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 4465 M

| Clearance-Midpoint (min) | I. NaCl-Lösung            | II. Isovist-300           | III. Angiografin          |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                          | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) |
| 0                        | 0                         | 0                         | 0                         |
| 5                        | 11,06                     | 19,42                     | -20,32                    |
| 15                       | 5,26                      | -5,67                     | 2,14                      |
| 25                       | 8,66                      | 6,09                      | -2,76                     |
| 35                       | 8,91                      | 3,49                      | 4,03                      |
| 45                       | 27,39                     | -3,66                     | 2,85                      |
| 55                       | 37,91                     | -0,79                     | 3,53                      |
| 67,5                     | 43,58                     | -4,52                     | -2,96                     |
| 82,5                     | 11,44                     | 7,62                      | 0,58                      |
| 97,5                     | 16,70                     | 10,68                     | -6,01                     |
| 112,5                    | 16,29                     | 16,40                     | -4,16                     |



**Abbildung 3.6.1-2:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der Inulinclearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 4465 M)

Wie aus der Abbildung 3.6.1-1 zu erkennen ist, besitzen die Clearancewerte vor einer Applikation (-30 min, -20 min, -10 min Wert), die dann zum Ausgangswert der Inulinclearance gemittelt werden, eine bestimmte Schwankungsbreite. Ebenso unterscheiden sich die Niveaus der Ausgangsclearancewerte der Behandlungen mit NaCl-Lösung, Isovist®-300 bzw. Angiografin® voneinander. Daher ist es, um die drei Behandlungen von Tier 1 miteinander vergleichen zu können, notwendig, die nach Applikation gemessenen Clearancewerte auf diesen gemittelten Ausgangswert zu beziehen. Das Ergebnis dieser Umwandlung der Clearancewerte in eine prozentuale Abweichung vom Ausgangswert ist in Tabelle 3.6.1-4 enthalten und in Abbildung 3.6.1-2 als Verlauf der  $\Delta$  %-Abweichung vom Ausgangswert für die NaCl-Kontrolle und die beiden Röntgenkontrastmittelapplikationen dargestellt.

Analog zu dieser Zusammenstellung der Inulinclearance-Ergebnisse für Tier 1 in vier Tabellen und zwei Abbildungen wurden die Ergebnisse für die anderen fünf Beagle-Hunde zusammengefaßt:

In den Tabellen 3.6.1-5 bis 3.6.1-7 und in Tabelle 3.6.1-8 sowie in Abbildung 3.6.1-3 und Abbildung 3.6.1-4 finden sich die Werte für Tier 2 (TNR 4482 F), während die Ergebnisse von Tier 3 (TNR 4446 M) neben den Tabellen 3.6.1-9 bis 3.6.1-12 der Abbildung 3.6.1-5 und der Abbildung 3.6.1-6 zu entnehmen sind. Für Tier 4 (TNR 4603 F) und Tier 5 (TNR 3760 M) sind die Einzeltierergebnisse in den Tabellen 3.6.1-13 bis 3.6.1-16 bzw. in den Tabellen 3.6.1-17 bis 3.6.1-20 und in den Abbildungen 3.6.1-7/ 3.6.1-8 bzw. den Abbildungen 3.6.1-9/ 3.6.1-10 enthalten. Zu Tier 6 (TNR 4568 F) schließlich gehören die Tabellen 3.6.1-21 bis 3.6.1-24 sowie die entsprechenden Abbildungen 3.6.1-11 und 3.6.1-12.

Die Aufeinanderfolge der Tabellen zeigt nicht die Reihenfolge der Behandlungen bei den einzelnen Tieren. Die Reihenfolge der Behandlungen in diesem Versuch 4 ist in dem Applikationsschema 3, Kapitel 2.6.2. zu finden.

**Tabelle 3.6.1-5: Inulin-Clearancewerte von Tier 4482 F nach Applikation von NaCl-Lösung**

## I. NaCl-Lösung

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 12505,7                    | 47,0             | 1477,0                       | 39,79              | 3,65                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 10880,9                    | 56,5             | 1471,0                       | 41,79              | 3,83                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 10937,3                    | 54,0             | 1455,3                       | 40,59              | 3,72                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 13095,6                    | 49,0             | 1337,0                       | 47,99              | 4,40                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 17810,6                    | 33,0             | 1425,0                       | 41,25              | 3,78                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 22487,7                    | 26,5             | 1443,3                       | 41,29              | 3,79                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 24362,0                    | 26,0             | 1431,3                       | 44,26              | 4,06                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 21379,9                    | 27,5             | 1459,8                       | 40,28              | 3,70                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 21529,6                    | 27,0             | 1450,8                       | 40,07              | 3,68                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 29567,4                    | 31,0             | 1458,5                       | 41,90              | 3,84                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 26759,2                    | 31,0             | 1378,8                       | 40,11              | 3,68                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 28478,4                    | 33,0             | 1401,5                       | 44,70              | 4,10                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 34268,5                    | 31,0             | 1373,0                       | 51,58              | 4,73                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 30113,7                    | 48,5             | 862,0                        | 56,48              | 5,18                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 14032,8                    | 52,5             | 489,5                        | 50,17              | 4,60                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 8032,4                     | 56,5             | 309,3                        | 47,34              | 4,34                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 4174,6                     | 57,0             | 210,5                        | 37,06              | 3,40                  |

**Tabelle 3.6.1-6: Inulin-Clearancewerte von Tier 4482 F nach Applikation von Isovist<sup>®</sup>-300**

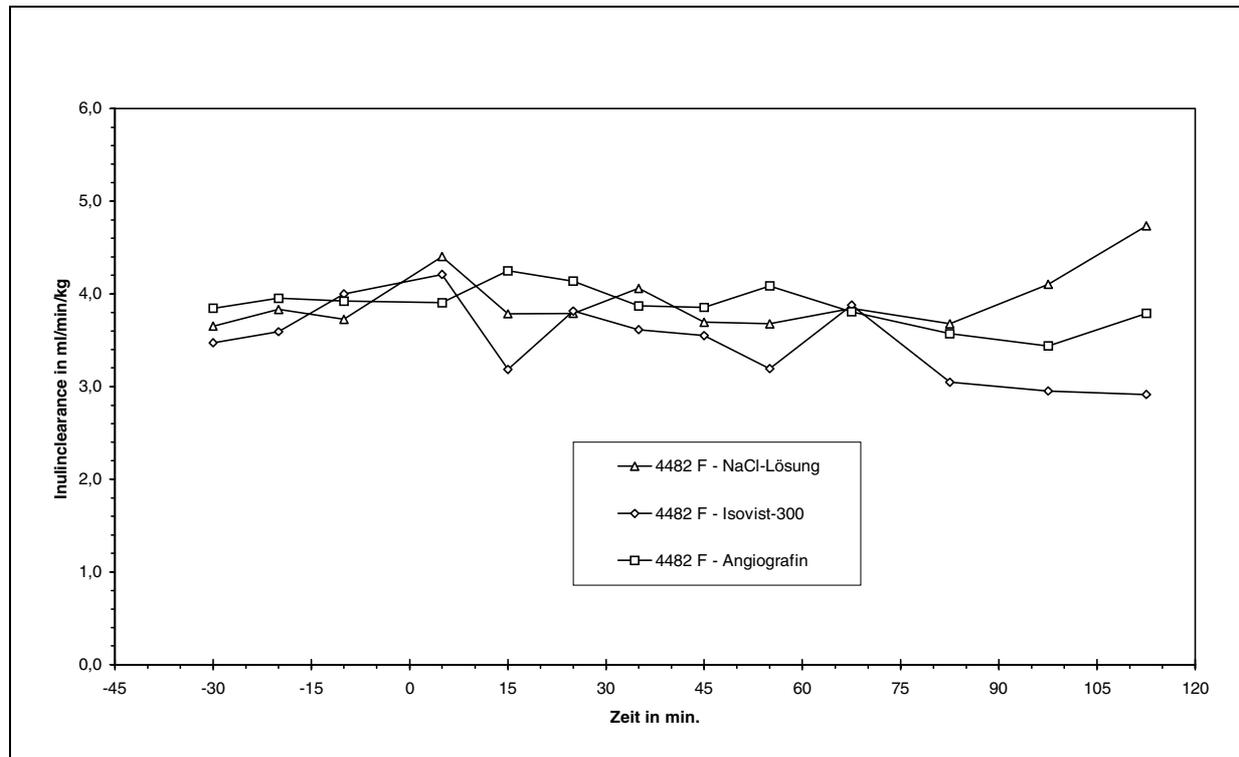
## II. Isovist-300

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 23779,9                    | 34,0             | 1894,0                       | 42,69              | 3,47                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 20416,2                    | 42,0             | 1941,5                       | 44,17              | 3,59                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 17703,5                    | 54,0             | 1943,8                       | 49,18              | 4,00                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 9862,5                     | 76,0             | 1808,5                       | 51,81              | 4,21                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 12526,1                    | 59,0             | 1886,0                       | 39,19              | 3,19                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 17723,0                    | 49,5             | 1870,0                       | 46,91              | 3,81                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 20730,6                    | 44,0             | 1865,3                       | 44,46              | 3,61                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 19946,5                    | 39,0             | 1978,8                       | 43,68              | 3,55                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 20087,6                    | 38,0             | 1942,3                       | 39,30              | 3,20                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 28274,4                    | 50,0             | 1975,0                       | 47,72              | 3,88                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 27112,9                    | 42,0             | 2026,5                       | 37,46              | 3,05                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 28688,8                    | 41,0             | 2159,3                       | 36,32              | 2,95                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 34152,7                    | 34,0             | 2160,0                       | 35,84              | 2,91                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 52658,2                    | 36,0             | 1237,5                       | 51,06              | 4,15                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 22097,2                    | 45,0             | 768,3                        | 43,14              | 3,51                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 15188,4                    | 43,0             | 537,8                        | 40,48              | 3,29                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 11156,2                    | 32,0             | 358,8                        | 33,17              | 2,70                  |

**Tabelle 3.6.1-7:** Inulin-Clearancewerte von Tier 4482 F nach Applikation von Angiografin®

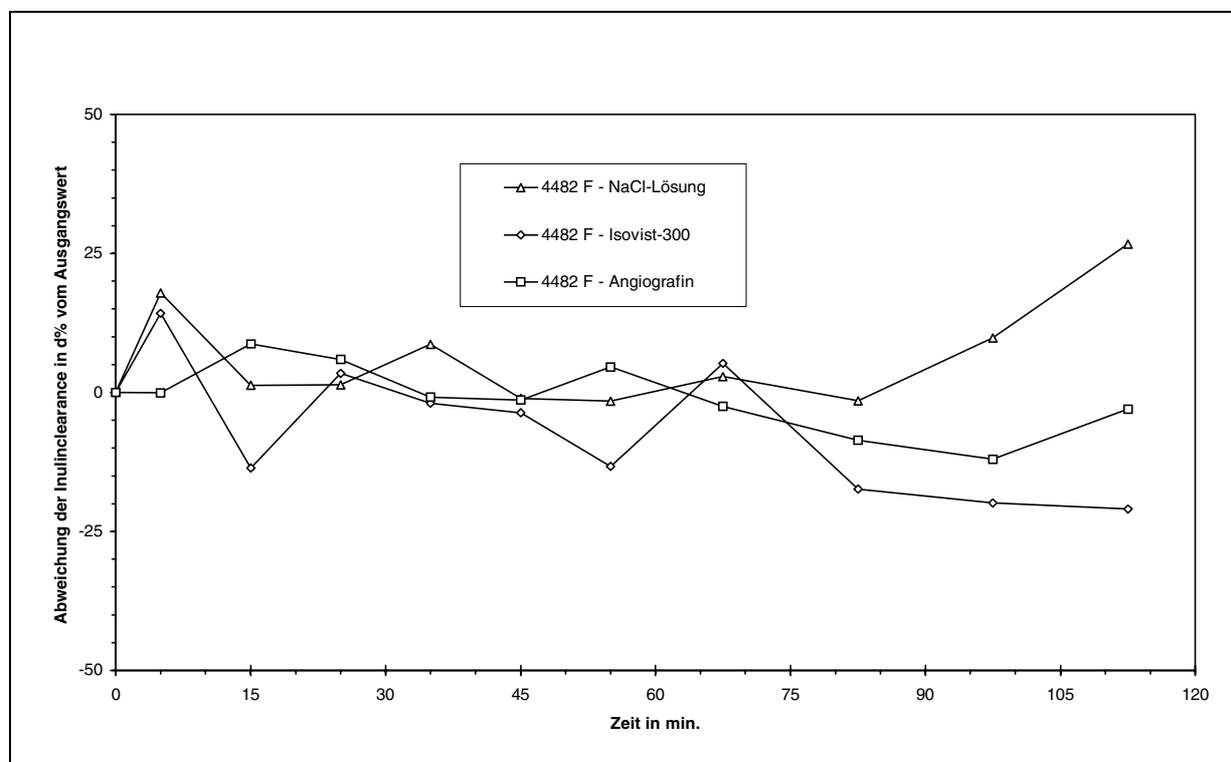
## III. Angiografin

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 22992,3                    | 29,0             | 1562,8                       | 42,67              | 3,84                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 23471,6                    | 29,0             | 1551,0                       | 43,89              | 3,95                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 22513,6                    | 31,0             | 1526,3                       | 43,55              | 3,92                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 4813,5                     | 135,0            | 1427,8                       | 43,35              | 3,91                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 9293,2                     | 75,0             | 1407,8                       | 47,15              | 4,25                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 11509,6                    | 55,0             | 1531,3                       | 45,93              | 4,14                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 14336,4                    | 45,0             | 1501,0                       | 42,98              | 3,87                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 16217,8                    | 41,0             | 1480,3                       | 42,78              | 3,85                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 18937,8                    | 35,5             | 1482,8                       | 45,34              | 4,08                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 23971,2                    | 40,0             | 1463,5                       | 42,27              | 3,81                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 24220,3                    | 38,0             | 1601,2                       | 39,64              | 3,57                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 28882,4                    | 35,0             | 1709,0                       | 38,16              | 3,44                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 28132,4                    | 33,0             | 1577,0                       | 42,05              | 3,79                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 31167,0                    | 44,0             | 1174,3                       | 38,93              | 3,51                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 23950,4                    | 33,5             | 606,0                        | 44,13              | 3,98                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 14784,4                    | 33,5             | 369,5                        | 44,68              | 4,03                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 8781,5                     | 31,0             | 269,5                        | 33,67              | 3,03                  |

**Abbildung 3.6.1-3:** Verlauf der Inulin-clearance (in ml/ min/ kg) bei den an Tier 4482 F durchgeführten Versuchen (Kochsalzkontrolle sowie zwei RKM-Behandlungen)

**Tabelle 3.6.1-8:** Abweichungen der Inulinclearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 4482 F

|                          | I. NaCl-Lösung            | II. Isovist-300           | III. Angiografín          |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Clearance-Midpoint (min) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) |
| 0                        | 0                         | 0                         | 0                         |
| 5                        | 17,85                     | 14,25                     | -0,05                     |
| 15                       | 1,28                      | -13,58                    | 8,73                      |
| 25                       | 1,39                      | 3,46                      | 5,92                      |
| 35                       | 8,67                      | -1,96                     | -0,89                     |
| 45                       | -1,10                     | -3,67                     | -1,35                     |
| 55                       | -1,61                     | -13,33                    | 4,55                      |
| 67,5                     | 2,88                      | 5,24                      | -2,53                     |
| 82,5                     | -1,51                     | -17,39                    | -8,59                     |
| 97,5                     | 9,77                      | -19,91                    | -12,00                    |
| 112,5                    | 26,66                     | -20,96                    | -3,04                     |



**Abbildung 3.6.1-4:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der Inulinclearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 4482 F)

**Tabelle 3.6.1-9: Inulin-Clearancewerte von Tier 4446 M nach Applikation von NaCl-Lösung**

## I. NaCl-Lösung

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 37928,2                    | 25,5             | 1646,5                       | 53,40              | 4,05                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 33176,6                    | 28,5             | 1663,0                       | 63,17              | 4,79                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 29848,3                    | 28,5             | 1713,8                       | 49,64              | 3,76                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 17424,0                    | 59,5             | 1595,0                       | 65,00              | 4,92                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 14025,5                    | 68,5             | 1573,5                       | 61,06              | 4,63                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 12291,8                    | 79,0             | 1631,5                       | 59,52              | 4,51                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 14834,7                    | 67,0             | 1586,3                       | 62,66              | 4,75                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 17040,9                    | 49,0             | 1538,3                       | 60,31              | 4,57                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 20032,0                    | 56,0             | 1516,0                       | 61,66              | 4,67                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 24227,6                    | 48,5             | 1556,5                       | 58,07              | 4,40                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 28621,1                    | 50,5             | 1489,0                       | 60,67              | 4,60                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 34011,2                    | 42,5             | 1531,8                       | 62,91              | 4,77                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 38124,1                    | 40,0             | 1477,0                       | 68,83              | 5,21                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 44671,0                    | 43,5             | 1112,0                       | 58,25              | 4,41                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 25580,0                    | 44,0             | 623,0                        | 58,28              | 4,41                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 15850,9                    | 38,0             | 358,0                        | 56,08              | 4,25                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 11595,6                    | 29,5             | 279,0                        | 42,28              | 3,20                  |

**Tabelle 3.6.1-10: Inulin-Clearancewerte von Tier 4446 M nach Applikation von Isovist®-300**

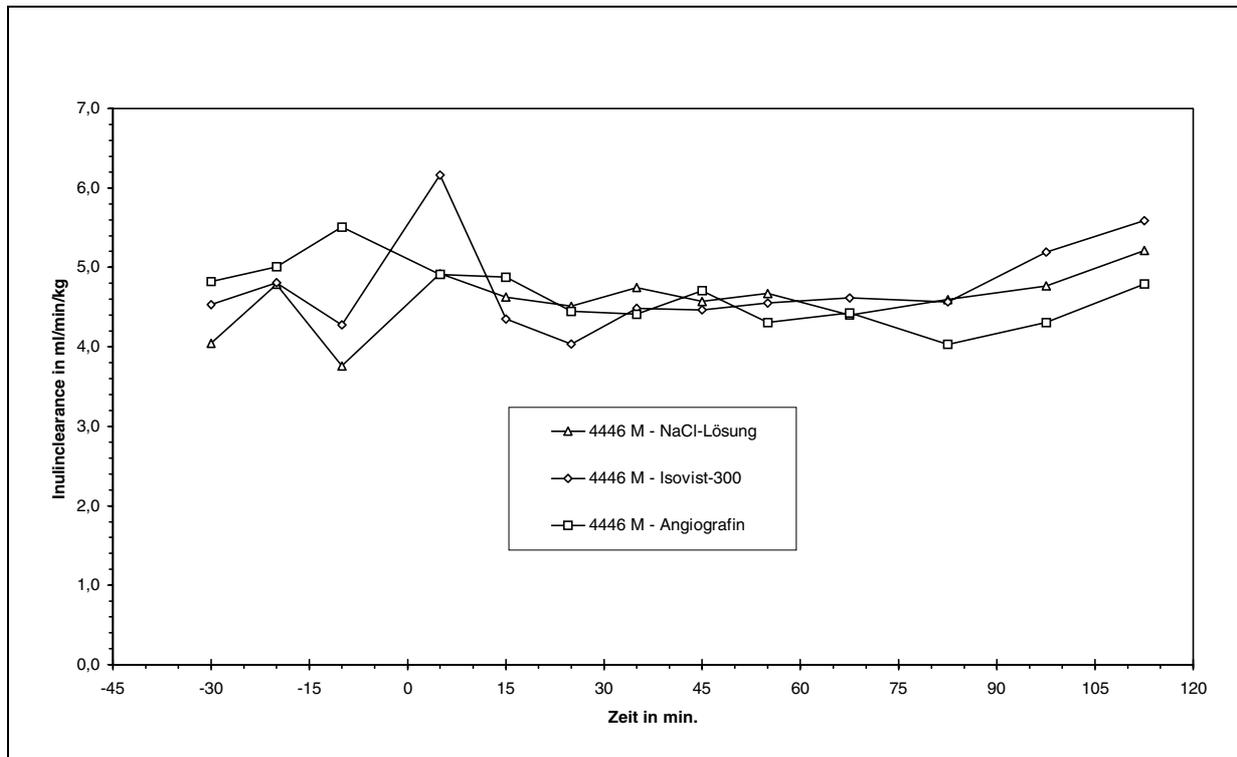
## II. Isovist-300

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 14111,9                    | 50,0             | 1180,0                       | 59,80              | 4,53                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 10048,6                    | 79,0             | 1191,0                       | 63,48              | 4,81                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 8162,3                     | 88,0             | 1157,3                       | 56,43              | 4,27                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 5770,3                     | 186,0            | 1147,3                       | 81,35              | 6,16                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 10152,0                    | 57,0             | 1185,8                       | 57,41              | 4,35                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 15489,3                    | 42,0             | 1220,8                       | 53,29              | 4,04                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 21667,6                    | 32,5             | 1189,0                       | 59,23              | 4,49                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 26128,1                    | 30,0             | 1155,8                       | 58,97              | 4,47                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 22250,2                    | 26,0             | 1133,0                       | 60,07              | 4,55                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 32742,0                    | 34,0             | 1218,5                       | 60,91              | 4,61                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 32042,1                    | 35,0             | 1200,0                       | 60,29              | 4,57                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 34125,5                    | 34,0             | 1167,0                       | 68,57              | 5,19                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 38324,5                    | 32,0             | 1108,0                       | 73,79              | 5,59                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 26153,9                    | 45,0             | 832,5                        | 47,12              | 3,57                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 19541,9                    | 35,0             | 539,8                        | 42,24              | 3,20                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 13426,0                    | 30,5             | 351,3                        | 38,86              | 2,94                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 29205,1                    | 30,0             | 499,5                        | 56,58              | 4,29                  |

**Tabelle 3.6.1-11: Inulin-Clearancewerte von Tier 4446 M nach Applikation von Angiografin®**

III. Angiografin

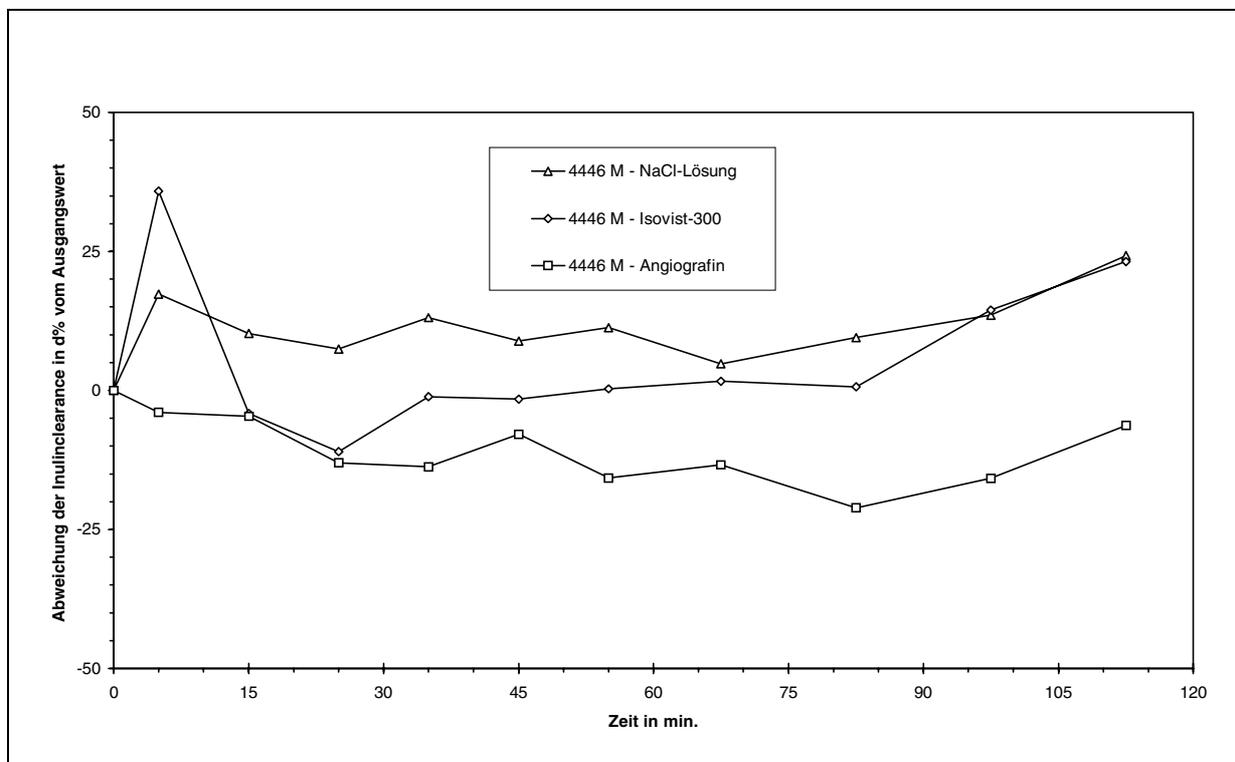
| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 10928,7                    | 79,5             | 1269,5                       | 62,22              | 4,82                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 8086,0                     | 89,0             | 1238,3                       | 64,58              | 5,01                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 7931,8                     | 103,5            | 1155,8                       | 71,03              | 5,51                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 3798,5                     | 195,0            | 1169,3                       | 63,35              | 4,91                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 8565,9                     | 92,5             | 1199,8                       | 62,90              | 4,88                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 11504,2                    | 59,0             | 1245,5                       | 57,36              | 4,45                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 14310,4                    | 50,0             | 1257,8                       | 56,89              | 4,41                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 17532,4                    | 44,0             | 1209,8                       | 60,73              | 4,71                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 19652,8                    | 33,0             | 1229,0                       | 55,55              | 4,31                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 27541,3                    | 38,0             | 1221,8                       | 57,11              | 4,43                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 30710,2                    | 32,0             | 1259,5                       | 52,02              | 4,03                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 33599,5                    | 33,0             | 1288,0                       | 55,54              | 4,31                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 35794,8                    | 32,0             | 1278,3                       | 61,80              | 4,79                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 27979,8                    | 57,5             | 768,0                        | 69,83              | 5,41                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 26581,3                    | 29,0             | 493,0                        | 52,12              | 4,04                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 16219,1                    | 27,5             | 303,0                        | 49,07              | 3,80                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 10952,9                    | 26,0             | 198,3                        | 47,88              | 3,71                  |



**Abbildung 3.6.1-5: Verlauf der Inulin-clearance (in ml/ min/ kg) bei den an Tier 4446 M durchgeführten Versuchen (Kochsalzkontrolle sowie zwei RKM-Behandlungen)**

**Tabelle 3.6.1-12:** Abweichungen der Inulinclearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 4446 M

| Clearance-Midpoint<br>(min) | I. NaCl-Lösung               | II. Isovist-300              | III. Angiografin             |
|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                             | Clearanceabweichung<br>(d %) | Clearanceabweichung<br>(d %) | Clearanceabweichung<br>(d %) |
| 0                           | 0                            | 0                            | 0                            |
| 5                           | 17,32                        | 35,81                        | -3,93                        |
| 15                          | 10,20                        | -4,15                        | -4,62                        |
| 25                          | 7,43                         | -11,03                       | -13,01                       |
| 35                          | 13,09                        | -1,13                        | -13,73                       |
| 45                          | 8,86                         | -1,54                        | -7,90                        |
| 55                          | 11,30                        | 0,28                         | -15,76                       |
| 67,5                        | 4,81                         | 1,68                         | -13,40                       |
| 82,5                        | 9,50                         | 0,66                         | -21,12                       |
| 97,5                        | 13,55                        | 14,47                        | -15,78                       |
| 112,5                       | 24,23                        | 23,19                        | -6,28                        |



**Abbildung 3.6.1-6:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der Inulinclearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 4446 M)

**Tabelle 3.6.1-13: Inulin-Clearancewerte von Tier 4603 F nach Applikation von NaCl-Lösung**

## I. NaCl-Lösung

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 24554,8                    | 22,0             | 1136,8                       | 50,02              | 4,03                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 26098,8                    | 22,5             | 1019,3                       | 54,87              | 4,42                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 24907,5                    | 23,5             | 1172,5                       | 49,92              | 4,03                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 24021,8                    | 29,0             | 1156,0                       | 60,26              | 4,86                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 18384,4                    | 36,0             | 1216,8                       | 54,39              | 4,39                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 16558,3                    | 41,0             | 1251,3                       | 54,26              | 4,38                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 17175,1                    | 45,0             | 1300,5                       | 59,43              | 4,79                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 17024,6                    | 43,0             | 1305,0                       | 56,10              | 4,52                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 16560,0                    | 50,0             | 1369,3                       | 54,97              | 4,43                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 17897,1                    | 56,0             | 1332,3                       | 53,73              | 4,33                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 21894,7                    | 51,0             | 1335,3                       | 55,75              | 4,50                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 22051,9                    | 52,5             | 1317,3                       | 58,59              | 4,73                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 27834,2                    | 42,5             | 1364,0                       | 57,82              | 4,66                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 31608,5                    | 47,0             | 893,3                        | 55,44              | 4,47                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 14847,3                    | 54,0             | 513,5                        | 52,05              | 4,20                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 7107,1                     | 64,0             | 325,3                        | 46,62              | 3,76                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 5743,1                     | 50,0             | 238,0                        | 40,22              | 3,24                  |

**Tabelle 3.6.1-14: Inulin-Clearancewerte von Tier 4603 F nach Applikation von Isovist®-300**

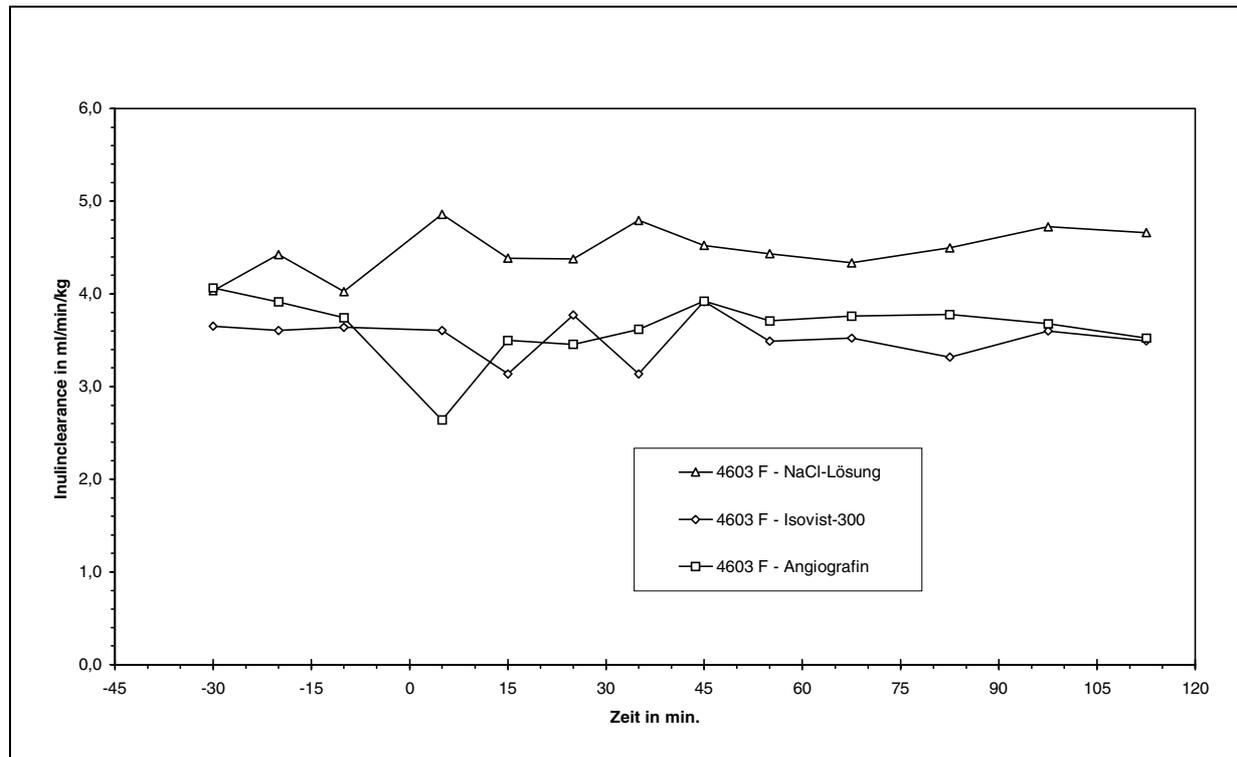
## II. Isovist-300

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 28421,3                    | 24,0             | 1482,5                       | 46,01              | 3,65                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 28107,8                    | 24,0             | 1485,0                       | 45,43              | 3,61                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 26859,1                    | 25,0             | 1463,5                       | 45,88              | 3,64                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 12820,4                    | 54,5             | 1464,3                       | 45,45              | 3,61                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 10864,3                    | 53,0             | 1533,3                       | 39,53              | 3,14                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 14762,5                    | 49,0             | 1522,3                       | 47,52              | 3,77                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 16389,1                    | 39,0             | 1540,3                       | 39,52              | 3,14                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 18542,5                    | 37,0             | 1389,0                       | 49,39              | 3,92                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 20053,2                    | 30,5             | 1464,0                       | 43,98              | 3,49                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 27124,7                    | 37,0             | 1507,3                       | 44,39              | 3,52                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 26780,5                    | 35,5             | 1515,8                       | 41,81              | 3,32                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 29920,8                    | 36,0             | 1531,5                       | 45,38              | 3,60                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 30301,2                    | 31,0             | 1471,3                       | 44,03              | 3,49                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 41601,2                    | 36,0             | 1077,3                       | 51,49              | 4,09                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 35602,3                    | 27,0             | 825,8                        | 40,14              | 3,19                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 23294,4                    | 29,0             | 575,3                        | 40,49              | 3,21                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 17224,9                    | 30,0             | 397,3                        | 43,36              | 3,44                  |

**Tabelle 3.6.1-15:** Inulin-Clearancewerte von Tier 4603 F nach Applikation von Angiografin®

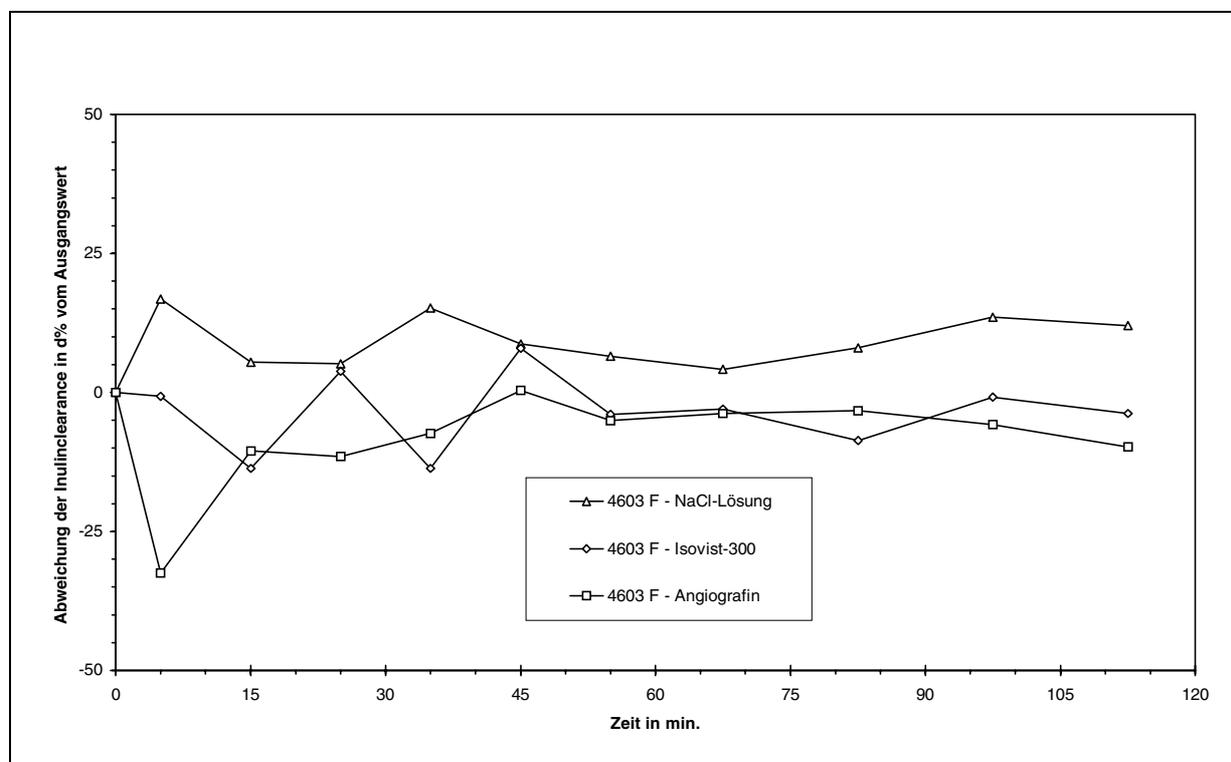
## III. Angiografin

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 39225,4                    | 23,5             | 1624,0                       | 51,60              | 4,06                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 29760,6                    | 23,5             | 1563,3                       | 49,71              | 3,91                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 29574,4                    | 24,5             | 1524,3                       | 47,54              | 3,74                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 7266,7                     | 60,0             | 1445,8                       | 33,51              | 2,64                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 9570,1                     | 72,0             | 1551,8                       | 44,40              | 3,50                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 11235,5                    | 55,0             | 1564,3                       | 43,89              | 3,46                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 15047,4                    | 48,0             | 1571,0                       | 45,98              | 3,62                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 17472,9                    | 44,0             | 1543,5                       | 49,81              | 3,92                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 18200,8                    | 39,5             | 1526,5                       | 47,10              | 3,71                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 20500,7                    | 53,0             | 1517,5                       | 47,73              | 3,76                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 24026,6                    | 48,0             | 1602,8                       | 47,97              | 3,78                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 27413,9                    | 40,0             | 1564,5                       | 46,73              | 3,68                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 27991,7                    | 39,0             | 1626,8                       | 44,74              | 3,52                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 31616,8                    | 53,0             | 1180,3                       | 47,33              | 3,73                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 22128,0                    | 43,0             | 753,3                        | 42,11              | 3,32                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 21003,8                    | 31,0             | 503,5                        | 43,11              | 3,39                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 14134,5                    | 29,0             | 346,8                        | 39,40              | 3,10                  |

**Abbildung 3.6.1-7:** Verlauf der Inulin-clearance (in ml/ min/ kg) bei den an Tier 4603 F durchgeführten Versuchen (Kochsalzkontrolle sowie zwei RKM-Behandlungen)

**Tabelle 3.6.1-16:** Abweichungen der Inulin-clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 4603 F

| Clearance-Midpoint (min) | I. NaCl-Lösung            | II. Isovist-300           | III. Angiografín          |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                          | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) |
| 0                        | 0                         | 0                         | 0                         |
| 5                        | 16,78                     | -0,72                     | -32,46                    |
| 15                       | 5,41                      | -13,64                    | -10,50                    |
| 25                       | 5,14                      | 3,81                      | -11,53                    |
| 35                       | 15,16                     | -13,66                    | -7,34                     |
| 45                       | 8,71                      | 7,91                      | 0,39                      |
| 55                       | 6,53                      | -3,93                     | -5,08                     |
| 67,5                     | 4,13                      | -3,02                     | -3,79                     |
| 82,5                     | 8,04                      | -8,65                     | -3,32                     |
| 97,5                     | 13,54                     | -0,87                     | -5,82                     |
| 112,5                    | 12,04                     | -3,80                     | -9,83                     |



**Abbildung 3.6.1-8 :** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der Inulin-clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 4603 F)

**Tabelle 3.6.1-17: Inulin-Clearancewerte von Tier 3760 M nach Applikation von NaCl-Lösung**

## I. NaCl-Lösung

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 39415,4                    | 26,0             | 1679,5                       | 64,23              | 4,28                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 39261,8                    | 24,0             | 1619,3                       | 58,19              | 3,88                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 40587,6                    | 26,0             | 1537,0                       | 68,66              | 4,58                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 26712,4                    | 35,5             | 1447,5                       | 65,51              | 4,37                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 20321,8                    | 47,0             | 1436,5                       | 63,32              | 4,22                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 17878,2                    | 50,0             | 1516,5                       | 62,05              | 4,14                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 16889,9                    | 50,0             | 1335,8                       | 63,22              | 4,21                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 18898,6                    | 51,0             | 1407,5                       | 62,25              | 4,15                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 19479,3                    | 46,0             | 1448,8                       | 68,72              | 4,58                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 26360,4                    | 54,0             | 1406,0                       | 63,28              | 4,22                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 27634,7                    | 47,0             | 1451,8                       | 61,70              | 4,11                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 41422,2                    | 29,0             | 1525,0                       | 54,32              | 3,62                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 49546,3                    | 25,0             | 1531,0                       | 53,94              | 3,60                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 65213,9                    | 30,5             | 1003,0                       | 62,95              | 4,20                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 36664,9                    | 28,0             | 591,3                        | 60,92              | 4,06                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 21429,1                    | 30,0             | 380,0                        | 56,39              | 3,76                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 14739,1                    | 27,0             | 264,8                        | 50,10              | 3,34                  |

**Tabelle 3.6.1-18: Inulin-Clearancewerte von Tier 3760 M nach Applikation von Isovist<sup>®</sup>-300**

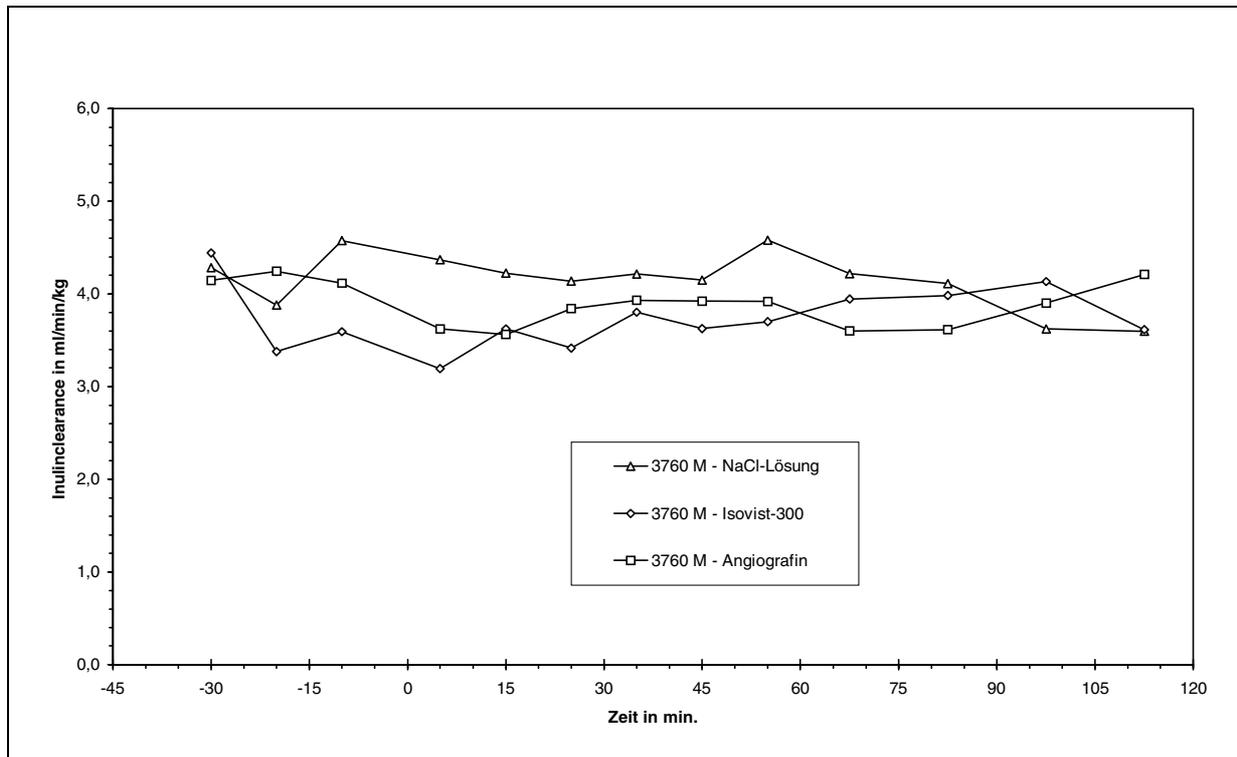
## II. Isovist-300

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 61573,5                    | 24,0             | 2105,3                       | 70,19              | 4,44                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 46424,9                    | 23,5             | 2044,8                       | 53,36              | 3,38                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 46759,3                    | 24,0             | 1977,3                       | 56,76              | 3,59                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 18982,0                    | 56,5             | 1932,5                       | 50,45              | 3,19                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 22511,9                    | 43,0             | 1880,3                       | 57,20              | 3,62                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 26985,2                    | 41,0             | 1862,8                       | 54,00              | 3,42                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 24844,0                    | 39,5             | 1815,8                       | 60,05              | 3,80                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 26724,3                    | 38,5             | 1795,5                       | 57,30              | 3,63                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 30108,6                    | 33,5             | 1726,5                       | 58,42              | 3,70                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 39884,7                    | 38,5             | 1642,0                       | 62,35              | 3,95                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 38005,9                    | 39,5             | 1590,5                       | 62,92              | 3,98                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 36630,7                    | 40,5             | 1515,3                       | 65,27              | 4,13                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 34785,2                    | 38,0             | 1543,0                       | 57,11              | 3,61                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 32582,3                    | 64,0             | 1062,8                       | 65,40              | 4,14                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 20032,1                    | 66,0             | 616,5                        | 71,49              | 4,52                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 11573,1                    | 61,5             | 402,8                        | 58,91              | 3,73                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 9391,4                     | 49,0             | 272,3                        | 56,34              | 3,57                  |

**Tabelle 3.6.1-19: Inulin-Clearancewerte von Tier 3760 M nach Applikation von Angiografin®**

III. Angiografin

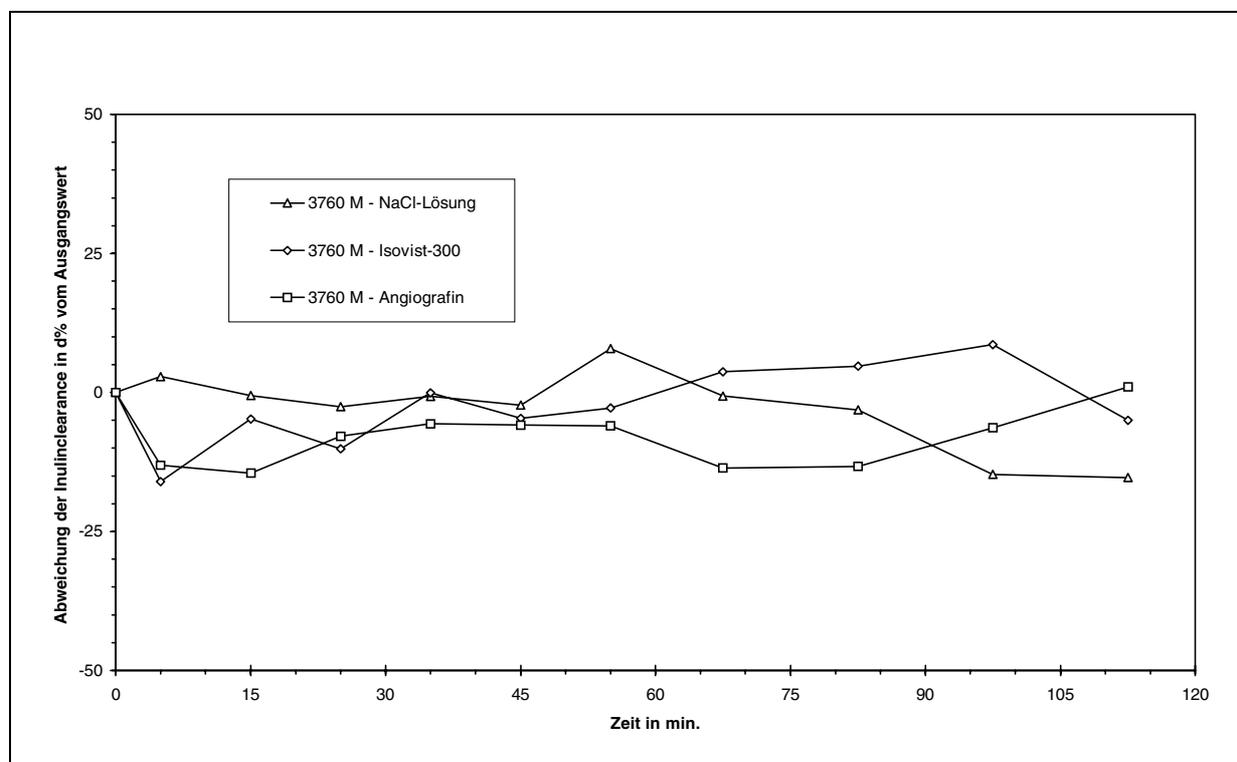
| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 33537,9                    | 28,0             | 1562,5                       | 60,10              | 4,14                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 33128,9                    | 28,0             | 1507,8                       | 61,52              | 4,24                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 31028,0                    | 28,0             | 1456,0                       | 59,67              | 4,12                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 7036,0                     | 101,0            | 1353,0                       | 52,52              | 3,62                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 8683,0                     | 87,0             | 1462,0                       | 51,67              | 3,56                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 10714,9                    | 77,0             | 1482,0                       | 55,67              | 3,84                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 13220,1                    | 63,0             | 1460,8                       | 57,02              | 3,93                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 14441,5                    | 58,0             | 1472,3                       | 56,89              | 3,92                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 17287,3                    | 48,0             | 1460,8                       | 56,81              | 3,92                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 22752,8                    | 54,0             | 1568,8                       | 52,21              | 3,60                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 24611,4                    | 49,5             | 1549,8                       | 52,41              | 3,61                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 31855,2                    | 40,0             | 1501,3                       | 56,58              | 3,90                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 37233,8                    | 37,0             | 1504,3                       | 61,06              | 4,21                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 45873,2                    | 41,0             | 1040,0                       | 60,28              | 4,16                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 38810,8                    | 28,0             | 668,0                        | 54,23              | 3,74                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 24189,6                    | 29,5             | 464,8                        | 50,34              | 3,47                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 15233,5                    | 27,0             | 312,0                        | 44,69              | 3,08                  |



**Abbildung 3.6.1-9: Verlauf der Inulin-clearance (in ml/ min/ kg) bei den an Tier 3760 M durchgeführten Versuchen (Kochsalzkontrolle sowie zwei RKM-Behandlungen)**

**Tabelle 3.6.1-20:** Abweichungen der Inulin-clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 3760 M

| Clearance-Midpoint<br>(min) | I. NaCl-Lösung               | II. Isovist-300              | III. Angiografín             |
|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                             | Clearanceabweichung<br>(d %) | Clearanceabweichung<br>(d %) | Clearanceabweichung<br>(d %) |
| 0                           | 0                            | 0                            | 0                            |
| 5                           | 2,86                         | -16,06                       | -13,09                       |
| 15                          | -0,58                        | -4,82                        | -14,50                       |
| 25                          | -2,58                        | -10,16                       | -7,88                        |
| 35                          | -0,74                        | -0,09                        | -5,65                        |
| 45                          | -2,26                        | -4,66                        | -5,85                        |
| 55                          | 7,89                         | -2,80                        | -6,00                        |
| 67,5                        | -0,66                        | 3,73                         | -13,60                       |
| 82,5                        | -3,13                        | 4,70                         | -13,28                       |
| 97,5                        | -14,71                       | 8,60                         | -6,36                        |
| 112,5                       | -15,32                       | -4,98                        | 1,03                         |



**Abbildung 3.6.1-10:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der Inulin-clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 3760 M)

**Tabelle 3.6.1-21: Inulin-Clearancewerte von Tier 4568 F nach Applikation von NaCl-Lösung**

## I. NaCl-Lösung

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 19736,6                    | 35,0             | 1350,8                       | 51,14              | 4,12                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 20251,7                    | 36,0             | 1368,8                       | 53,26              | 4,30                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 20621,6                    | 32,0             | 1417,0                       | 46,57              | 3,76                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 16676,5                    | 44,0             | 1358,7                       | 54,01              | 4,36                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 18993,4                    | 36,0             | 1352,0                       | 50,57              | 4,08                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 21408,1                    | 32,0             | 1338,5                       | 51,18              | 4,13                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 23985,1                    | 28,0             | 1375,0                       | 48,84              | 3,94                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 25141,7                    | 28,0             | 1364,8                       | 51,58              | 4,16                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 25238,6                    | 25,0             | 1260,3                       | 50,07              | 4,04                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 35016,7                    | 28,0             | 1224,0                       | 53,40              | 4,31                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 38484,9                    | 26,0             | 1156,0                       | 57,71              | 4,65                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 36069,0                    | 31,0             | 1230,5                       | 56,79              | 4,58                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 24577,9                    | 42,0             | 1198,0                       | 57,44              | 4,63                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 24681,6                    | 61,5             | 893,8                        | 58,56              | 4,72                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 24246,6                    | 34,5             | 557,3                        | 50,04              | 4,04                  |
| 180 bis 210             | 195                      |                            |                  |                              |                    |                       |
| 210 bis 240             | 225                      |                            |                  |                              |                    |                       |

**Tabelle 3.6.1-22: Inulin-Clearancewerte von Tier 4568 F nach Applikation von Isovist®-300**

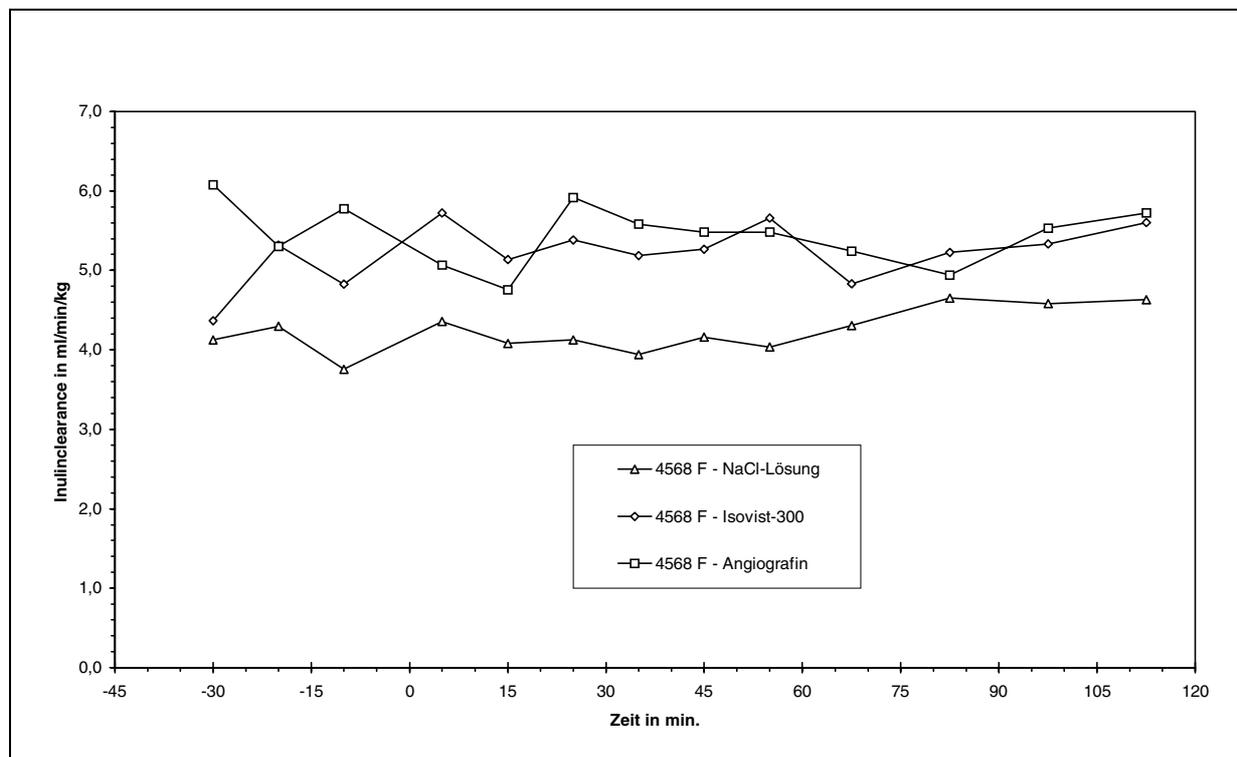
## II. Isovist-300

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 25667,7                    | 24,0             | 1156,8                       | 53,25              | 4,37                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 28130,4                    | 25,5             | 1105,3                       | 64,90              | 5,32                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 25463,6                    | 24,5             | 1059,5                       | 58,88              | 4,83                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 12195,8                    | 60,5             | 1056,8                       | 69,82              | 5,72                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 15850,5                    | 44,5             | 1125,0                       | 62,70              | 5,14                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 20069,6                    | 36,0             | 1100,5                       | 65,65              | 5,38                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 22638,1                    | 29,5             | 1054,8                       | 63,32              | 5,19                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 21347,5                    | 32,0             | 1062,5                       | 64,29              | 5,27                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 22611,9                    | 30,0             | 982,5                        | 69,04              | 5,66                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 28625,6                    | 34,0             | 1101,0                       | 58,93              | 4,83                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 30025,1                    | 35,0             | 1098,0                       | 63,81              | 5,23                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 27883,8                    | 39,5             | 1057,8                       | 65,08              | 5,33                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 24614,7                    | 42,0             | 1080,0                       | 68,37              | 5,60                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 20135,8                    | 67,0             | 638,3                        | 70,46              | 5,78                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 9262,9                     | 78,5             | 333,8                        | 72,62              | 5,95                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 5643,4                     | 64,5             | 199,5                        | 60,82              | 4,99                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 4105,0                     | 49,5             | 129,3                        | 51,55              | 4,23                  |

**Tabelle 3.6.1-23:** Inulin-Clearancewerte von Tier 4568 F nach Applikation von Angiografin®

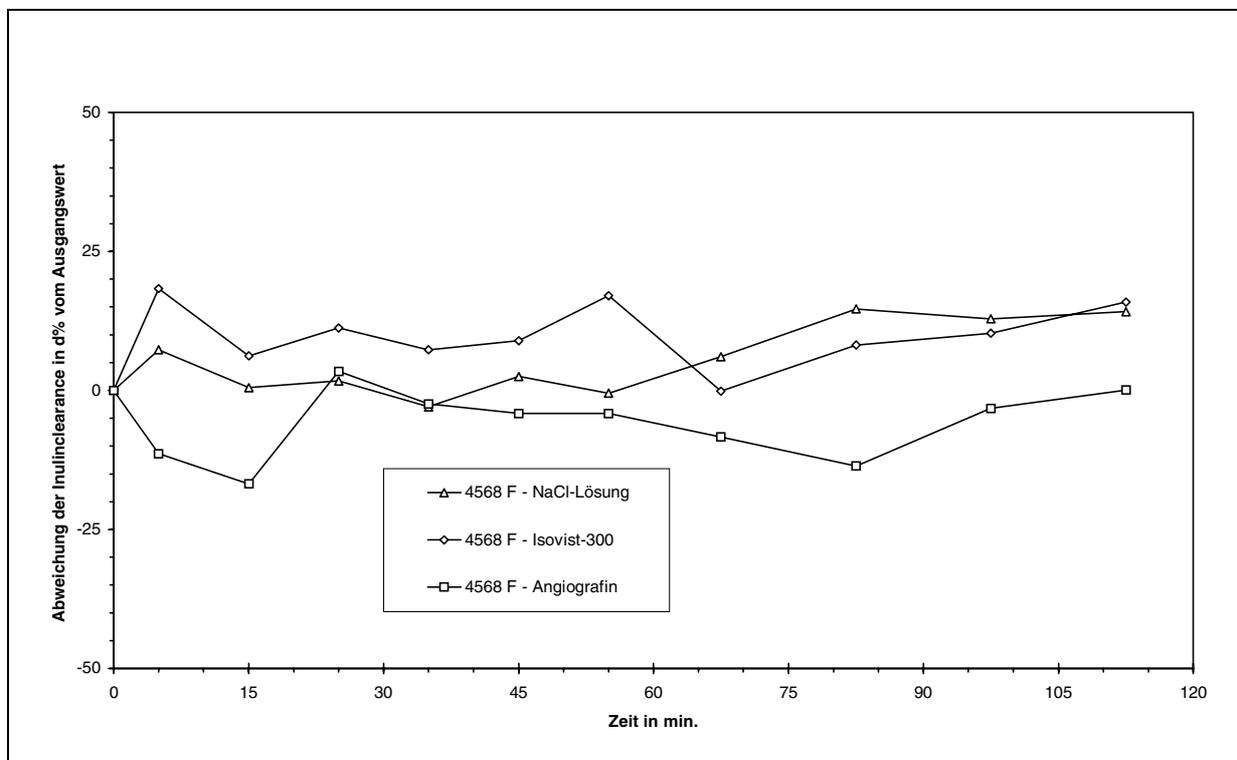
## III. Angiografin

| Clearance-Periode (min) | Clearance-Midpoint (min) | Aktivität im Harn (DPM/ml) | Harnvolumen (ml) | Aktivität im Plasma (DPM/ml) | Clearance (ml/min) | Clearance (ml/min/kg) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|
| -35 bis -25             | -30                      | 22886,7                    | 43,0             | 1327,0                       | 74,16              | 6,08                  |
| -25 bis -15             | -20                      | 17369,6                    | 52,0             | 1268,8                       | 64,72              | 5,30                  |
| -15 bis -5              | -10                      | 15757,8                    | 47,0             | 1167,5                       | 70,48              | 5,78                  |
| 0 bis 10                | 5                        | 4297,6                     | 166,5            | 1157,3                       | 61,83              | 5,07                  |
| 10 bis 20               | 15                       | 8786,0                     | 79,0             | 1195,8                       | 58,05              | 4,76                  |
| 20 bis 30               | 25                       | 12745,5                    | 71,0             | 1193,8                       | 72,20              | 5,92                  |
| 30 bis 40               | 35                       | 17476,4                    | 46,5             | 1193,5                       | 68,09              | 5,58                  |
| 40 bis 50               | 45                       | 20301,0                    | 37,0             | 1181,8                       | 66,91              | 5,48                  |
| 50 bis 60               | 55                       | 23963,2                    | 34,0             | 1160,0                       | 66,89              | 5,48                  |
| 60 bis 75               | 67,5                     | 28113,1                    | 39,0             | 1182,0                       | 63,97              | 5,24                  |
| 75 bis 90               | 82,5                     | 31579,9                    | 36,0             | 1216,3                       | 60,31              | 4,94                  |
| 90 bis 105              | 97,5                     | 27840,0                    | 31,5             | 895,8                        | 67,52              | 5,53                  |
| 105 bis 120             | 112,5                    | 21839,9                    | 30,0             | 625,5                        | 69,83              | 5,72                  |
| 120 bis 150             | 135                      | 19119,7                    | 34,0             | 396,3                        | 54,69              | 4,48                  |
| 150 bis 180             | 165                      | 10823,1                    | 34,0             | 252,3                        | 48,63              | 3,99                  |
| 180 bis 210             | 195                      | 6938,6                     | 30,5             | 179,8                        | 39,24              | 3,22                  |
| 210 bis 240             | 225                      | 5230,2                     | 28,0             | 116,8                        | 40,46              | 3,32                  |

**Abbildung 3.6.1-11:** Verlauf der Inulin-clearance (in ml/ min/ kg) bei den an Tier 4568 F durchgeführten Versuchen (Kochsalzkontrolle sowie zwei RKM-Behandlungen)

**Tabelle 3.6.1-24:** Abweichungen der Inulinclearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 4568 F

| Clearance-Midpoint (min) | I. NaCl-Lösung            | II. Isovist-300           | III. Angiografin          |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                          | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) |
| 0                        | 0                         | 0                         | 0                         |
| 5                        | 7,32                      | 18,32                     | -11,40                    |
| 15                       | 0,50                      | 6,24                      | -16,82                    |
| 25                       | 1,70                      | 11,25                     | 3,45                      |
| 35                       | -2,95                     | 7,29                      | -2,43                     |
| 45                       | 2,50                      | 8,95                      | -4,13                     |
| 55                       | -0,51                     | 17,00                     | -4,15                     |
| 67,5                     | 6,12                      | -0,14                     | -8,33                     |
| 82,5                     | 14,67                     | 8,12                      | -13,59                    |
| 97,5                     | 12,85                     | 10,28                     | -3,25                     |
| 112,5                    | 14,15                     | 15,86                     | 0,06                      |



**Abbildung 3.6.1-12:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der Inulinclearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 4568 F)

Die gemessenen  $^{14}\text{C}$ -Aktivitäten im Plasma der 18 Teilversuche dieses 3-fachen Cross-Over-Versuchs sind über den Zeitraum 0 bis 120 min nach Appl. als konstant zu bezeichnen. Sie weisen in diesen zwei Stunden nach Substanzgabe im Durchschnitt eine Standardabweichung in Höhe von 3,71 % des Mittelwerts auf.

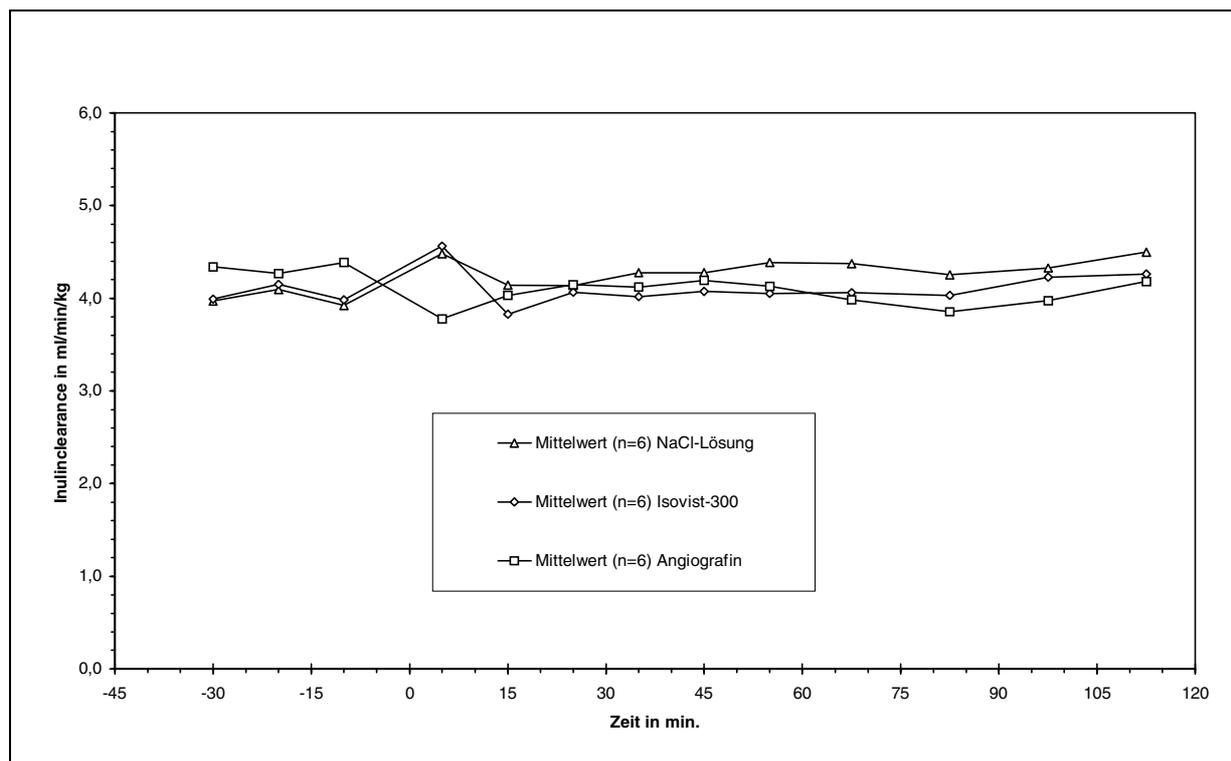
Der Clearance-Mittelwert aller in diesem Versuch 4 durchgeführten Inulin-Clearanceperioden vor Substanzapplikation (-30 min, -20 min, -10 min Werte) beträgt **4,12±0,22 ml/ min/ kg**. Die Standardabweichung dieser Clearancewerte, aus denen der Ausgangswert der Inulinclearance gemittelt wird, beträgt im Durchschnitt 5,16 % (von 0,55 % bis maximal 12,1 %) des Mittelwertes.

Bei der Betrachtung der prozentualen Abweichung vom Ausgangswert für die Einzeltiere fällt auf, daß bis auf wenige Ausnahmen die Inulin-Clearancewerte nach den Behandlungen mit isotoner Kochsalzlösung höher liegen als die nach Angiografin<sup>®</sup>-Behandlung. Nach Applikation mit NaCl-Lösung liegen die  $\Delta$  %-Abweichungen der Inulinclearance bei allen Tieren (bis auf einige Werte bei TNR 3760 M) im positiven Bereich, wobei der 5 min-Wert bei vier Hunden sogar um über 10 % im Vergleich zum Ausgangswert ansteigt. Zum gleichen Zeitpunkt 5 min nach Applikation fällt dagegen bei vier von sechs Tieren der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe die Inulinclearance um mehr als 10 % ab. Bei der Isovist<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe fällt auf, daß in drei Fällen die Inulinclearance in der ersten Clearanceperiode nach Applikation sogar noch höher ist als bei der Kontrollbehandlung mit NaCl-Lösung.

Die Zusammenfassung der für jede Behandlungsgruppe durchgeführten sechs Applikationen liefert Tabelle 3.6.1-25 und die aus den Mittelwerten (n=6) erstellte Abbildung 3.6.1-13.

**Tabelle 3.6.1-25:** Zusammenfassung der Inulin-Clearancewerte der NaCl-Kontrollgruppe und der beiden RKM-Gruppen (jeweils n=6); angegeben in ml/ min/ kg

| Clearance-Midpoint<br>(min) | I. NaCl-Lösung |             | II. Isovist-300 |             | III. Angiografin |             |
|-----------------------------|----------------|-------------|-----------------|-------------|------------------|-------------|
|                             | MW<br>(n=6)    | SD<br>(n=6) | MW<br>(n=6)     | SD<br>(n=6) | MW<br>(n=6)      | SD<br>(n=6) |
| -30                         | 3,97           | 0,25        | 3,99            | 0,50        | 4,34             | 1,02        |
| -20                         | 4,10           | 0,51        | 4,15            | 0,78        | 4,26             | 0,78        |
| -10                         | 3,92           | 0,34        | 3,98            | 0,50        | 4,39             | 1,02        |
| 5                           | 4,48           | 0,36        | 4,56            | 1,07        | 3,78             | 1,08        |
| 15                          | 4,14           | 0,34        | 3,83            | 0,78        | 4,03             | 0,70        |
| 25                          | 4,14           | 0,28        | 4,07            | 0,68        | 4,15             | 0,99        |
| 35                          | 4,27           | 0,40        | 4,02            | 0,72        | 4,12             | 0,81        |
| 45                          | 4,27           | 0,34        | 4,07            | 0,68        | 4,19             | 0,78        |
| 55                          | 4,39           | 0,46        | 4,05            | 0,91        | 4,13             | 0,75        |
| 67,5                        | 4,37           | 0,42        | 4,06            | 0,54        | 3,98             | 0,75        |
| 82,5                        | 4,25           | 0,39        | 4,03            | 0,80        | 3,85             | 0,56        |
| 97,5                        | 4,33           | 0,44        | 4,23            | 0,92        | 3,97             | 0,89        |
| 112,5                       | 4,50           | 0,56        | 4,26            | 1,13        | 4,18             | 0,97        |
| 135                         | 4,56           | 0,35        | 4,44            | 0,78        | 4,14             | 0,73        |
| 165                         | 4,14           | 0,36        | 4,05            | 1,06        | 3,74             | 0,32        |
| 195                         | 4,05           | 0,28        | 3,70            | 0,74        | 3,59             | 0,29        |
| 225                         | 3,31           | 0,09        | 3,57            | 0,61        | 3,25             | 0,25        |



**Abbildung 3.6.1-13:** Vergleich der Mittelwerte (je n=6) der Inulin-clearance der NaCl-Kontrolle, der Isovist<sup>®</sup>- und der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe (in ml/ min/ kg)

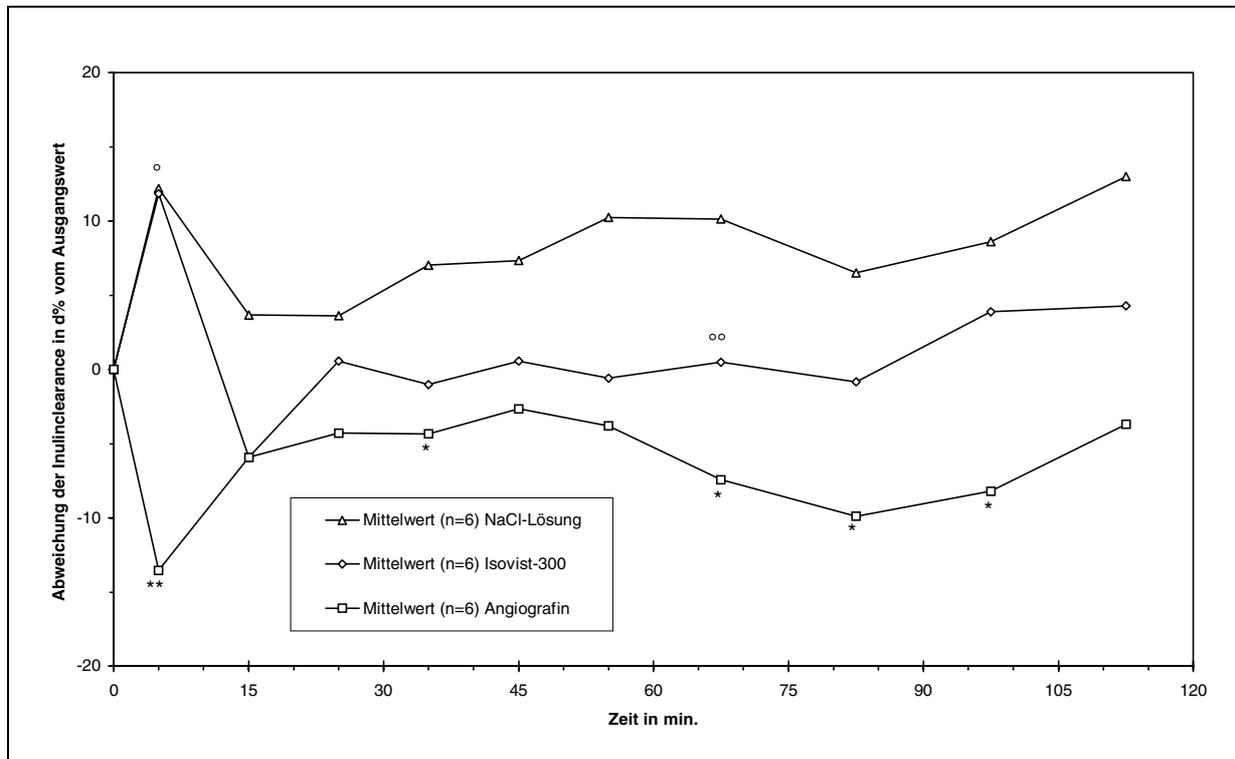
Da aufgrund der unterschiedlichen Ausgangswerte ein direkter Vergleich der Behandlungsgruppen untereinander nicht möglich ist, sind in Tabelle 3.6.1-26 auch die prozentualen Abweichungen der Inulin-clearance vom Ausgangswert für die drei Behandlungsgruppen zusammengefaßt. Hier bestätigen sich die weiter oben gemachten Bemerkungen über die Inulin-Clearancewerte der Einzeltiere.

**Tabelle 3.6.1-26:** Zusammenfassung der  $\Delta$  %-Abweichung vom Ausgangswert der Inulin-clearance der NaCl-Gruppe und der beiden RKM-Gruppen (jeweils n=6)

| Clearance-Midpoint (min) | I. NaCl-Lösung |          | II. Isovist-300 |          | III. Angiografin |          |
|--------------------------|----------------|----------|-----------------|----------|------------------|----------|
|                          | MW (n=6)       | SD (n=6) | MW (n=6)        | SD (n=6) | MW (n=6)         | SD (n=6) |
| 0                        | 0,00           | 0,00     | 0,00            | 0,00     | 0,00             | 0,00     |
| 5                        | 12,20          | 6,19     | 11,84           | 13,06    | -13,54           | 11,69    |
| 15                       | 3,68           | 4,05     | -5,94           | 7,36     | -5,93            | 9,95     |
| 25                       | 3,62           | 4,23     | 0,57            | 9,09     | -4,30            | 7,85     |
| 35                       | 7,03           | 7,34     | -1,01           | 7,08     | -4,33            | 6,07     |
| 45                       | 7,35           | 10,89    | 0,55            | 6,19     | -2,67            | 4,03     |
| 55                       | 10,25          | 14,44    | -0,59           | 9,88     | -3,82            | 7,39     |
| 67,5                     | 10,14          | 16,54    | 0,50            | 3,80     | -7,44            | 5,13     |
| 82,5                     | 6,50           | 7,20     | -0,82           | 10,19    | -9,88            | 6,60     |
| 97,5                     | 8,62           | 11,64    | 3,88            | 12,73    | -8,21            | 4,69     |
| 112,5                    | 13,01          | 15,02    | 4,28            | 16,89    | -3,70            | 4,04     |

Die gemittelten Abweichungen der Clearancewerte vom Ausgangswert nach Applikation von NaCl-Lösung liegen allesamt über dem Ausgangswert mit einem ersten maximalen Wert von plus 12,2 % zum Zeitpunkt 5 min nach Applikation. Auch die Isovist®-Behandlungsgruppe zeigt einen hohen maximalen positiven Abweichungsmittelwert nach 5 Minuten von 11,84 %, allerdings mit einer hohen Standardabweichung von 13,06 %. Dahingegen liegen sämtliche Mittelwerte der Abweichung bei der Angiografin®-Gruppe im negativen Bereich mit einer Maximalabweichung von -13,54 % nach 5 Minuten.

Die graphische Darstellung der Inhalte von Tabelle 3.6.1-26 zeigt Abbildung 3.6.1-14. Darin ist gut zu erkennen, daß der Verlauf der Inulin-Clearancewerte nach der Applikation von 4 ml/ kg 0,9 %iger NaCl-Lösung, außer dem Maximalwert in der ersten Clearanceperiode nach Applikation, einen über zwei Stunden langsam ansteigenden Trend besitzt. Ein gegensätzlicher Effekt läßt sich nach der gleichen Dosis Angiografin® feststellen: Nach einem Abfall der Inulin-clearance um über 10 % in der Clearanceperiode 0 bis 10 min nach Applikation bleibt der Mittelwert der Inulin-clearance in der nächsten Stunde (bis zum Zeitpunkt 55 min nach Appl.) im Vergleich zum Ausgangswert um etwa 5 % reduziert, um dann sogar noch weiter abzufallen.



**Abbildung 3.6.1-14:** Vergleich der Mittelwerte der  $\Delta$  %-Abweichungen der Inulin-clearance für die Behandlungsgruppen NaCl-Lösung, Isovist®-300 und Angiografin® (jeweils n=6)

\* $p < 0,05$  bzw. \*\* $p < 0,01$  Angiografin vs. NaCl;  $\circ$ / $\circ$  $p < 0,05$  bzw.  $\circ\circ$ / $\circ\circ$  $p < 0,01$  Isovist vs. Angiografin

Der Abfall im Verlauf der Inulin-Clearancewerte nach Isovist<sup>®</sup>-Gabe ist im Gegensatz zu dem nach Angiografin<sup>®</sup>-Applikation verzögert (erst in der zweiten Clearanceperiode 10 bis 20 min n. Appl. auf fast minus 6 % im Vergleich zum Ausgangswert) und folgt einem Anstieg der Abweichung zum Zeitpunkt 5 min n. Appl. der mit 11.84 % nahezu den Wert der Kontrollgruppe erreicht. Ab dem 25 min-Wert liegt die Inulin-clearance dann im Niveau-bereich des Ausgangswertes.

Die statistische Auswertung erfolgte, wie schon in Versuch 3, indem für die beiden Behandlungsgruppen Angiografin<sup>®</sup> und Isovist<sup>®</sup>-300 eine Varianzanalyse (one-way repeated measures ANOVA) gegen die Kochsalzkontrolle kombiniert mit einem Bonferroni t-Test (multipler Vergleich gegen die Kontrollgruppe) durchgeführt wurde. Die beiden RKM-Gruppen untereinander wurden hingegen mit einem gepaarten t-Test auf signifikante Unterschiede untersucht. Die Ergebnisse dieser Signifikanzanalysen enthält Tabelle 3.6.1-27.

**Tabelle 3.6.1-27:** Ergebnisse der statistischen Auswertung der  $\Delta$  %-Abweichungen vom Ausgangswert (Kontrolle vs. RKM-Gruppen mittels Varianzanalyse kombiniert mit dem Bonferroni t-Test; Isovist<sup>®</sup>-300 vs. Angiografin<sup>®</sup> mittels gepaartem t-Test)

| Meßzeitpunkt (min) | NaCl vs. Angiografin |             | NaCl vs. Isovist |             | Isovist vs. Angiografin |             |
|--------------------|----------------------|-------------|------------------|-------------|-------------------------|-------------|
|                    | t-Wert               | Signifikanz | t-Wert           | Signifikanz | t-Wert                  | Signifikanz |
| 5                  | 4,144                | **/p<0.01   | 1,000            | n.s.        | 3,768                   | °/p<0.05    |
| 15                 | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 0,001                   | n.s.        |
| 25                 | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 0,919                   | n.s.        |
| 35                 | 2,880                | */p<0.05    | 2,037            | n.s.        | 0,714                   | n.s.        |
| 45                 | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 1,047                   | n.s.        |
| 55                 | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 0,539                   | n.s.        |
| 67,5               | 3,054                | */p<0.05    | 1,676            | n.s.        | 4,200                   | °°/p<0.01   |
| 82,5               | 3,074                | */p<0.05    | 1,374            | n.s.        | 1,336                   | n.s.        |
| 97,5               | 3,067                | */p<0.05    | 0,865            | n.s.        | 2,157                   | n.s.        |
| 112,5              | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 1,267                   | n.s.        |
| 135                | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 3,070                   | °/p<0.05    |
| 165                | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 1,233                   | n.s.        |
| 195                | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 0,647                   | n.s.        |
| 225                | --                   | n.s.        | --               | n.s.        | 1,247                   | n.s.        |

Das Ergebnis der statistischen Analyse zeigt signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der Angiografin<sup>®</sup>-Gruppe zu den Meßzeitpunkten 5 min und 35 min sowie nach 67,5 min, 82,5 min und nach 97,5 min. Ebenso ergibt die Durchführung eines gepaarten t-Test zwischen den RKM-Gruppen Signifikanzen 5 min, 67,5 min und 135 min nach Applikation. Keine einzige statistisch ausreichende Differenz läßt sich dagegen beim Vergleich der Isovist<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe mit der Kontrolle finden.

### 3.6.2. Einfluß der Röntgenkontrastmittel auf die PAH-Clearance

Die Berechnung der Paraaminohippursäureclearance erfolgt analog der für Inulin in Kapitel 3.6.1. beschriebenen Art und Weise, da die Aktivität der Paraaminohippursäure gleichzeitig mit der Inulinaktivität aus den gleichen Plasma- und Harnproben gemessen wurde.

Die Harnvolumina der einzelnen Clearanceperioden sind identisch mit denen der Inulinclearanceberechnung. Auch die im Plasma gemessenen <sup>3</sup>H-Aktivitäten der 18 Applikationen dieses Versuchs sind ebenso wie die des radioaktiv markierten Inulins vom Zeitpunkt der Substanzapplikation (0 min) bis zum Ende der Infusion der Clearance-Marker (120 min) konstant: Die Standardabweichung der Mittelwerte der 3H-Aktivität in diesem Zeitraum beträgt im Durchschnitt 4,51 % des Mittelwertes.

Somit kann hier auf die drei Einzeltabellen der PAH-Clearancewerte für jeden der sechs im Versuch verwendeten Beagle-Hunde verzichtet werden. Statt dessen sind die PAH-Clearancewerte (in ml/ min/ kg) der sechs Tiere jeder Behandlungsgruppe in Tabelle 3.6.2-1 (für die NaCl-Kontrolle), in Tabelle 3.6.2-2 (für Isovist<sup>®</sup>-300) und in Tabelle 3.6.2-3 (für Angiograf<sup>®</sup>) nebeneinander aufgeführt.

**Tabelle 3.6.2-1:** PAH-Clearancewerte der mit NaCl-Lösung behandelten Tiere; angegeben in ml/ min/ kg

| Clearance-Midpoint<br>(min) | Tiernummer |        | Tiernummer |        | Tiernummer |        |
|-----------------------------|------------|--------|------------|--------|------------|--------|
|                             | 4465 M     | 4482 F | 4446 M     | 4603 F | 3760 M     | 4568 F |
| -30                         | 10,26      | 9,20   | 12,01      | 8,80   | 11,82      | 9,82   |
| -20                         | 9,99       | 9,98   | 14,53      | 8,86   | 10,18      | 10,25  |
| -10                         | 9,09       | 8,99   | 10,99      | 9,01   | 12,83      | 9,39   |
| 5                           | 9,56       | 10,17  | 13,80      | 10,96  | 11,24      | 10,25  |
| 15                          | 9,66       | 9,06   | 13,08      | 10,20  | 11,69      | 9,34   |
| 25                          | 9,81       | 9,08   | 13,34      | 9,17   | 10,98      | 9,23   |
| 35                          | 9,60       | 9,90   | 12,73      | 10,92  | 11,33      | 8,90   |
| 45                          | 11,36      | 9,61   | 13,14      | 10,15  | 10,77      | 9,68   |
| 55                          | 12,88      | 9,06   | 12,77      | 10,25  | 11,39      | 9,48   |
| 67,5                        | 13,92      | 9,11   | 14,62      | 9,50   | 9,88       | 10,38  |
| 82,5                        | 10,30      | 8,97   | 14,84      | 9,18   | 9,87       | 9,65   |
| 97,5                        | 11,11      | 11,11  | 14,91      | 9,19   | 10,76      | 10,08  |
| 112,5                       | 9,47       | 10,58  | 13,18      | 9,00   | 10,06      | 10,46  |
| 135                         | 7,53       | 8,76   | 11,17      | 7,54   | 8,66       | 9,58   |
| 165                         | 3,91       | 4,29   | 5,36       | 4,70   | 5,46       | 5,20   |
| 195                         | 2,91       | 2,58   | 3,31       | 2,74   | 4,09       |        |
| 225                         | 1,86       | 1,54   | 2,74       | 2,06   | 2,27       |        |

**Tabelle 3.6.2-2:** PAH-Clearancewerte der mit Isovist®-300 behandelten Tiere; angegeben in ml/ min/ kg

| Clearance-Midpoint<br>(min) | Tiernummer |        | Tiernummer |        | Tiernummer |        |
|-----------------------------|------------|--------|------------|--------|------------|--------|
|                             | 4465 M     | 4482 F | 4446 M     | 4603 F | 3760 M     | 4568 F |
| -30                         | 10,92      | 9,30   | 11,00      | 8,83   | 12,95      | 9,87   |
| -20                         | 12,16      | 9,31   | 11,70      | 9,31   | 11,72      | 11,45  |
| -10                         | 9,12       | 10,92  | 11,15      | 9,05   | 10,97      | 11,13  |
| 5                           | 10,53      | 10,54  | 13,61      | 8,56   | 10,59      | 11,32  |
| 15                          | 8,01       | 7,85   | 9,35       | 7,06   | 9,47       | 9,90   |
| 25                          | 9,98       | 9,26   | 9,13       | 8,31   | 9,41       | 9,93   |
| 35                          | 9,69       | 8,71   | 10,53      | 7,42   | 9,83       | 11,06  |
| 45                          | 8,86       | 9,59   | 10,34      | 9,20   | 10,13      | 10,68  |
| 55                          | 9,40       | 8,75   | 9,65       | 7,62   | 10,31      | 10,90  |
| 67,5                        | 8,48       | 10,88  | 10,93      | 8,26   | 11,04      | 10,98  |
| 82,5                        | 11,13      | 8,54   | 11,27      | 7,98   | 10,43      | 12,63  |
| 97,5                        | 9,95       | 7,92   | 11,36      | 7,86   | 10,03      | 10,18  |
| 112,5                       | 10,92      | 7,56   | 8,73       | 7,21   | 8,93       | 11,71  |
| 135                         | 9,50       | 8,18   | 3,72       | 8,09   | 8,58       | 7,84   |
| 165                         | 4,38       | 4,11   | 2,45       | 4,93   | 5,97       | 4,53   |
| 195                         | 2,85       | 2,92   | 1,83       | 3,62   | 3,75       | 2,52   |
| 225                         | 1,80       | 1,72   | 8,50       | 2,46   | 2,57       | 1,31   |

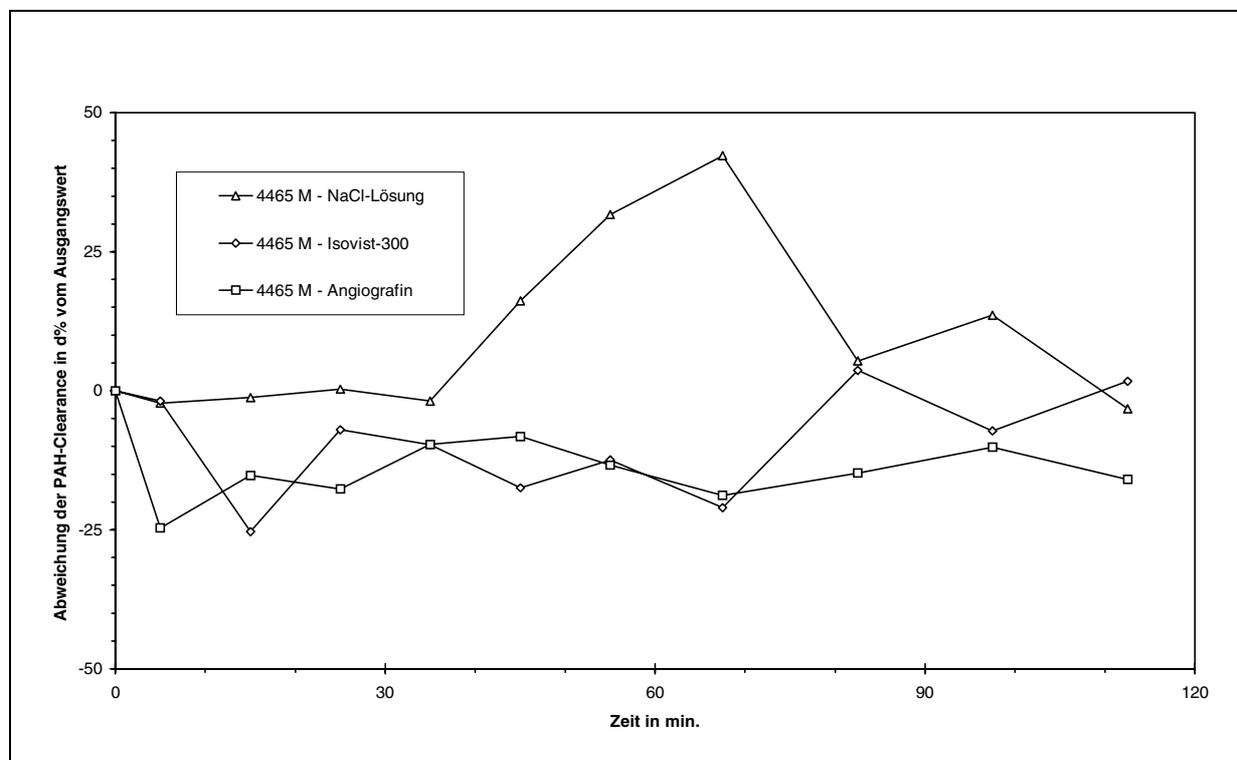
**Tabelle 3.6.2-3:** PAH-Clearancewerte der mit Angiografin® behandelten Tiere; angegeben in ml/ min/ kg

| Clearance-Midpoint<br>(min) | Tiernummer |        | Tiernummer |        | Tiernummer |        |
|-----------------------------|------------|--------|------------|--------|------------|--------|
|                             | 4465 M     | 4482 F | 4446 M     | 4603 F | 3760 M     | 4568 M |
| -30                         | 9,96       | 9,92   | 12,50      | 10,90  | 10,18      | 14,14  |
| -20                         | 8,48       | 11,10  | 14,09      | 10,55  | 10,95      | 11,75  |
| -10                         | 9,55       | 10,29  | 14,11      | 10,12  | 9,68       | 12,08  |
| 5                           | 7,03       | 8,84   | 11,58      | 7,74   | 8,90       | 10,39  |
| 15                          | 7,91       | 9,60   | 10,93      | 7,76   | 9,10       | 9,78   |
| 25                          | 7,68       | 9,43   | 10,81      | 7,22   | 8,91       | 11,58  |
| 35                          | 8,43       | 8,68   | 10,85      | 8,08   | 9,28       | 10,64  |
| 45                          | 8,56       | 8,68   | 12,11      | 8,20   | 8,77       | 10,82  |
| 55                          | 8,08       | 9,31   | 11,22      | 7,79   | 8,41       | 11,30  |
| 67,5                        | 7,57       | 8,71   | 12,98      | 7,97   | 8,39       | 11,74  |
| 82,5                        | 7,95       | 9,99   | 12,15      | 8,14   | 7,84       | 11,51  |
| 97,5                        | 8,38       | 9,07   | 11,76      | 8,20   | 7,61       | 10,62  |
| 112,5                       | 7,84       | 9,28   | 10,87      | 7,75   | 8,31       | 7,52   |
| 135                         | 8,19       | 7,37   | 10,50      | 8,42   | 6,76       | 4,50   |
| 165                         | 5,82       | 5,14   | 4,64       | 5,45   | 4,05       | 2,91   |
| 195                         | 3,98       | 3,52   | 2,81       | 4,81   | 3,48       | 2,03   |
| 225                         | 2,64       | 2,12   | 2,07       | 3,22   | 1,98       | 1,14   |

Um auch bezüglich der PAH-Clearance die drei Applikationen bei jedem Tier vergleichen zu können, sind für jeden Hund die prozentualen Abweichungen der PAH-Clearance vom Ausgangswert berechnet worden (Tabelle 3.6.2-4 bis Tabelle 3.6.2-9) und daraus für jedes Tier das äquivalente Diagramm erstellt worden (Abbildung 3.6.2-1 bis Abbildung 3.6.2-6).

**Tabelle 3.6.2-4:** Abweichungen der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 4465 M

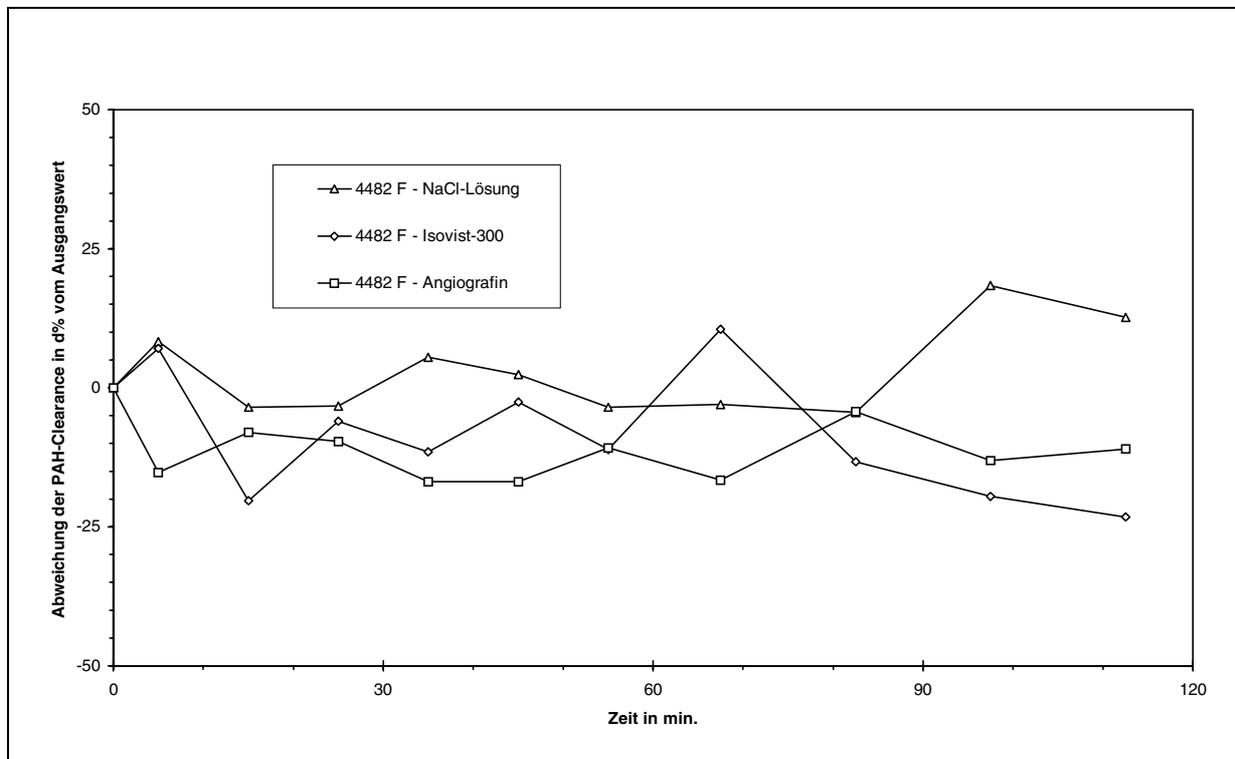
|                          | I. NaCl-Lösung            | II. Isovist-300           | III. Angiografin          |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Clearance-Midpoint (min) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) |
| 0                        | 0                         | 0                         | 0                         |
| 5                        | -2,21                     | -1,87                     | -24,66                    |
| 15                       | -1,19                     | -25,34                    | -15,21                    |
| 25                       | 0,28                      | -7,02                     | -17,69                    |
| 35                       | -1,86                     | -9,75                     | -9,63                     |
| 45                       | 16,14                     | -17,46                    | -8,22                     |
| 55                       | 31,68                     | -12,42                    | -13,35                    |
| 67,5                     | 42,31                     | -21,03                    | -18,84                    |
| 82,5                     | 5,37                      | 3,65                      | -14,79                    |
| 97,5                     | 13,62                     | -7,26                     | -10,13                    |
| 112,5                    | -3,21                     | 1,73                      | -15,97                    |



**Abbildung 3.6.2-1:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 4465 M)

**Tabelle 3.6.2-5:** Abweichungen der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 4482 F

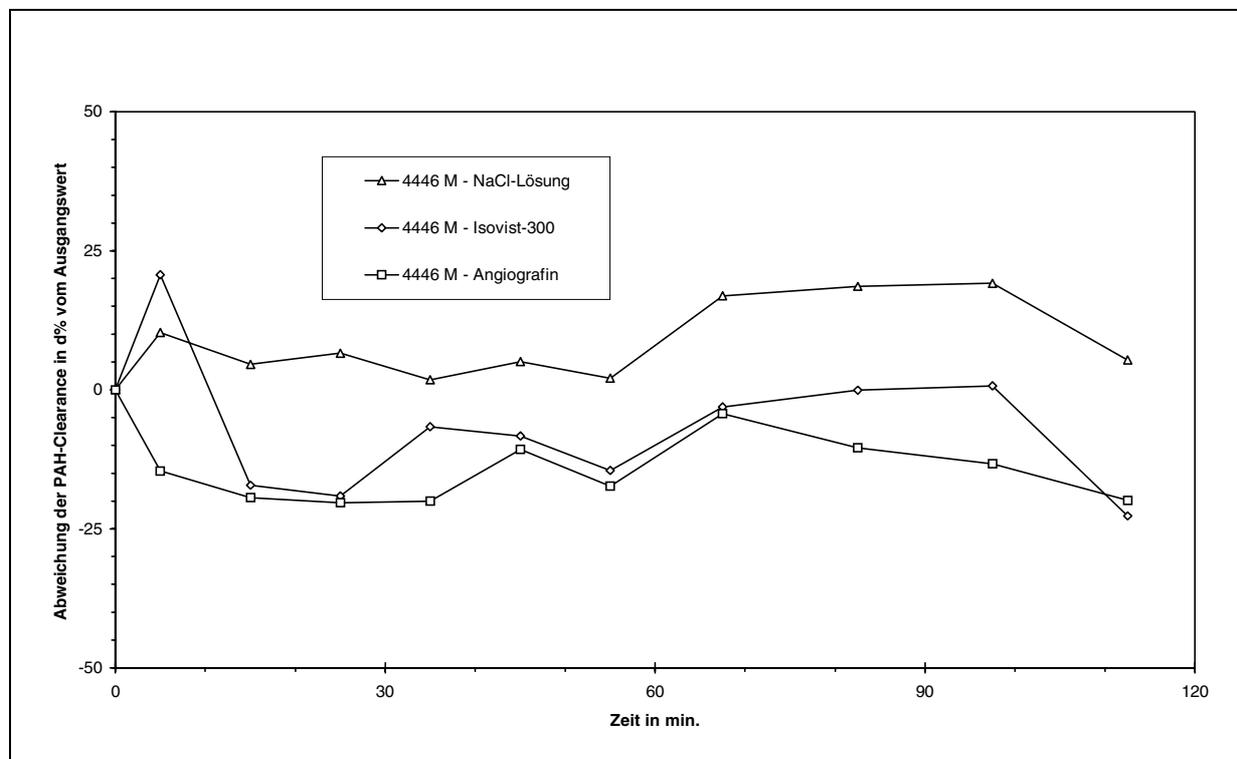
|                          | I. NaCl-Lösung            | II. Isovist-300           | III. Angiografin          |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Clearance-Midpoint (min) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) |
| 0                        | 0                         | 0                         | 0                         |
| 5                        | 8,32                      | 7,08                      | -15,26                    |
| 15                       | -3,51                     | -20,30                    | -7,99                     |
| 25                       | -3,30                     | -5,99                     | -9,63                     |
| 35                       | 5,48                      | -11,49                    | -16,86                    |
| 45                       | 2,39                      | -2,60                     | -16,88                    |
| 55                       | -3,47                     | -11,10                    | -10,79                    |
| 67,5                     | -3,00                     | 10,48                     | -16,58                    |
| 82,5                     | -4,46                     | -13,28                    | -4,30                     |
| 97,5                     | 18,39                     | -19,55                    | -13,08                    |
| 112,5                    | 12,69                     | -23,25                    | -11,05                    |



**Abbildung 3.6.2-2:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 4482 F)

**Tabelle 3.6.2-6:** Abweichungen der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 4446 M

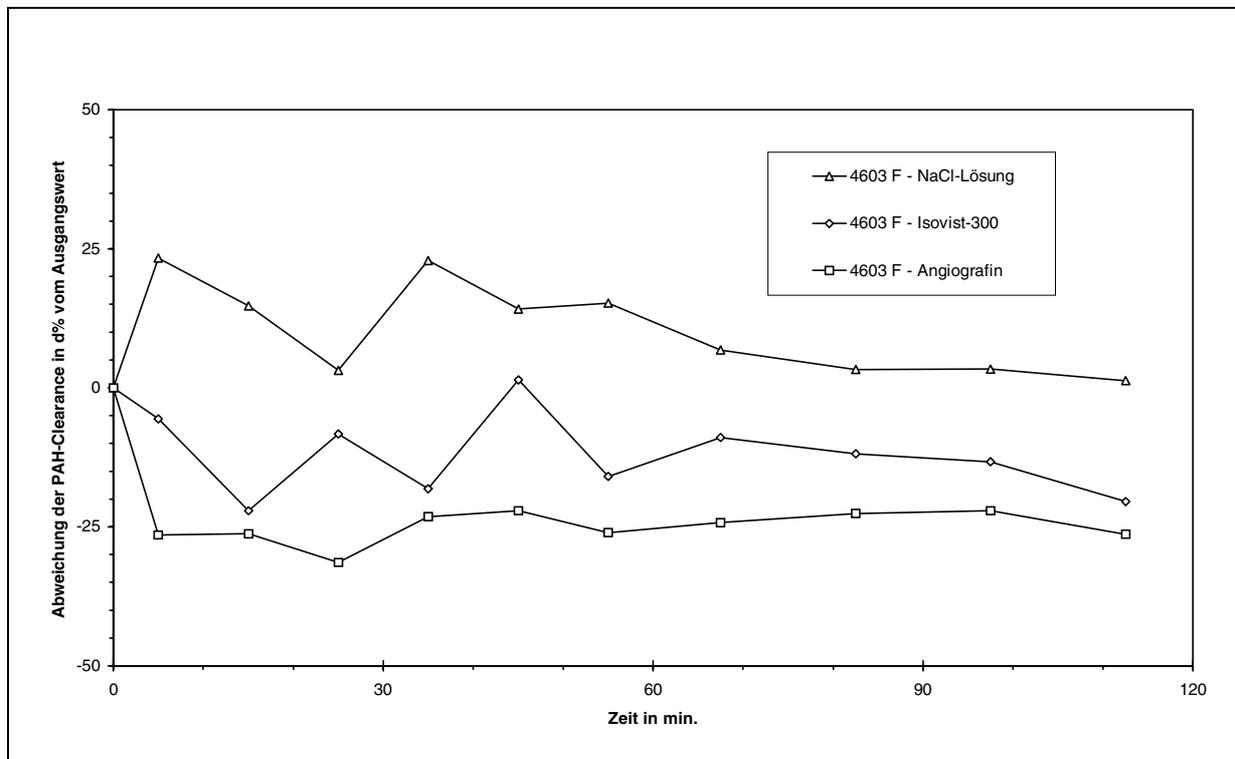
| Clearance-Midpoint<br>(min) | I. NaCl-Lösung               | II. Isovist-300              | III. Angiografín             |
|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                             | Clearanceabweichung<br>(d %) | Clearanceabweichung<br>(d %) | Clearanceabweichung<br>(d %) |
| 0                           | 0                            | 0                            | 0                            |
| 5                           | 10,31                        | 20,68                        | -14,62                       |
| 15                          | 4,57                         | -17,13                       | -19,39                       |
| 25                          | 6,61                         | -19,09                       | -20,32                       |
| 35                          | 1,79                         | -6,68                        | -19,99                       |
| 45                          | 5,06                         | -8,32                        | -10,75                       |
| 55                          | 2,05                         | -14,49                       | -17,29                       |
| 67,5                        | 16,86                        | -3,10                        | -4,28                        |
| 82,5                        | 18,60                        | -0,07                        | -10,42                       |
| 97,5                        | 19,19                        | 0,72                         | -13,33                       |
| 112,5                       | 5,34                         | -22,65                       | -19,88                       |



**Abbildung 3.6.2-3:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 4446 M)

**Tabelle 3.6.2-7:** Abweichungen der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 4603 F

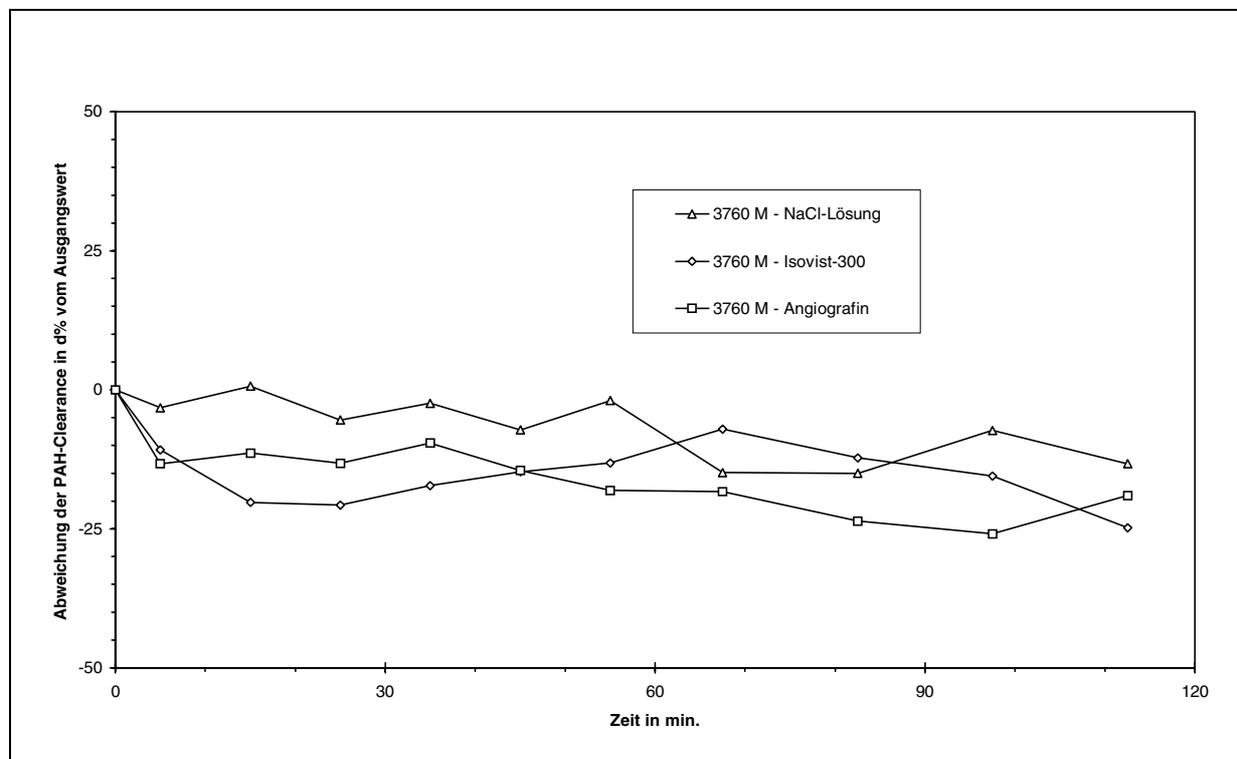
| Clearance-Midpoint<br>(min) | I. NaCl-Lösung               | II. Isovist-300              | III. Angiografin             |
|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                             | Clearanceabweichung<br>(d %) | Clearanceabweichung<br>(d %) | Clearanceabweichung<br>(d %) |
| 0                           | 0                            | 0                            | 0                            |
| 5                           | 23,29                        | -5,59                        | -26,44                       |
| 15                          | 14,73                        | -22,07                       | -26,25                       |
| 25                          | 3,14                         | -8,31                        | -31,42                       |
| 35                          | 22,86                        | -18,16                       | -23,21                       |
| 45                          | 14,14                        | 1,45                         | -22,11                       |
| 55                          | 15,26                        | -15,97                       | -26,01                       |
| 67,5                        | 6,82                         | -8,91                        | -24,24                       |
| 82,5                        | 3,29                         | -11,91                       | -22,63                       |
| 97,5                        | 3,39                         | -13,33                       | -22,12                       |
| 112,5                       | 1,28                         | -20,44                       | -26,33                       |



**Abbildung 3.6.2-4:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 4603 F)

**Tabelle 3.6.2-8:** Abweichungen der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 3760 M

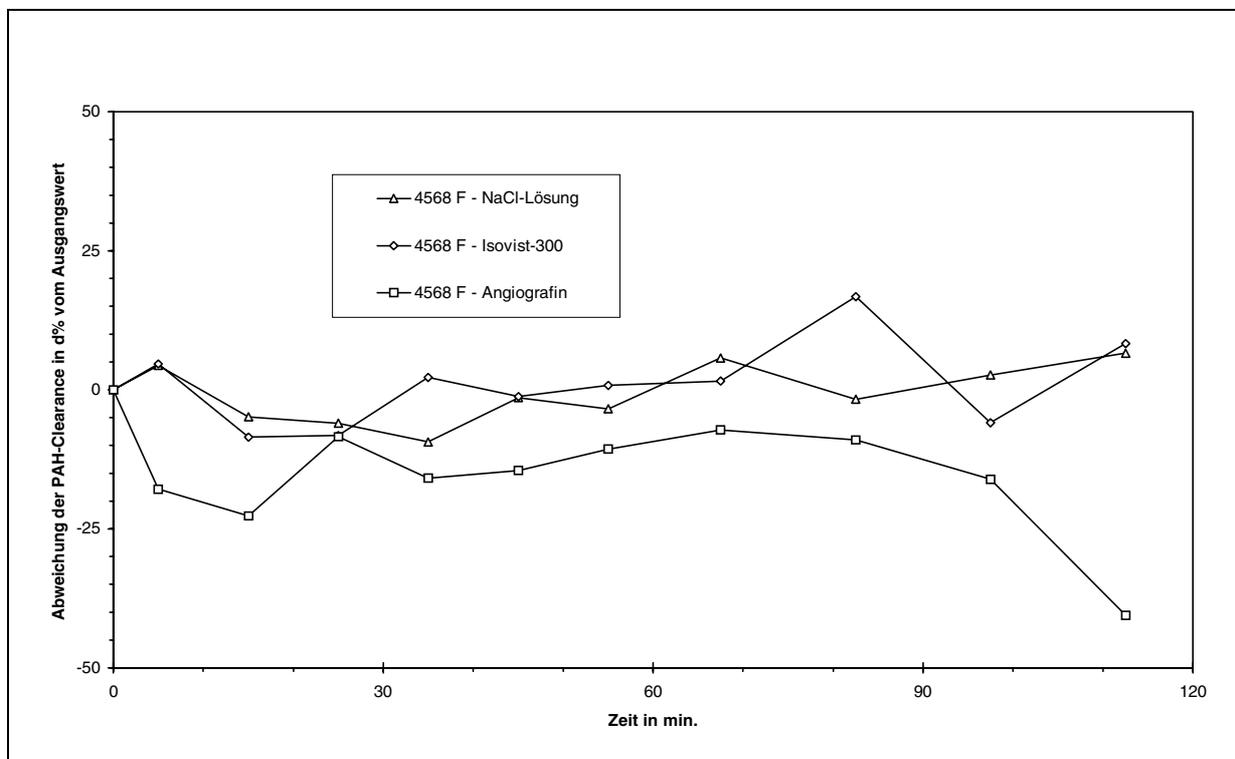
|                          | I. NaCl-Lösung            | II. Isovist-300           | III. Angiografín          |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Clearance-Midpoint (min) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) |
| 0                        | 0                         | 0                         | 0                         |
| 5                        | -3,21                     | -10,83                    | -13,34                    |
| 15                       | 0,67                      | -20,25                    | -11,34                    |
| 25                       | -5,46                     | -20,76                    | -13,22                    |
| 35                       | -2,43                     | -17,21                    | -9,59                     |
| 45                       | -7,21                     | -14,74                    | -14,54                    |
| 55                       | -1,95                     | -13,19                    | -18,08                    |
| 67,5                     | -14,90                    | -7,07                     | -18,30                    |
| 82,5                     | -15,00                    | -12,23                    | -23,63                    |
| 97,5                     | -7,31                     | -15,54                    | -25,93                    |
| 112,5                    | -13,33                    | -24,83                    | -19,04                    |



**Abbildung 3.6.2-5:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 3760 M)

**Tabelle 3.6.2-9:** Abweichungen der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert: Vergleich der drei Behandlungen von Tier 4568 F

| Clearance-Midpoint (min) | I. NaCl-Lösung            | II. Isovist-300           | III. Angiografin          |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                          | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) | Clearanceabweichung (d %) |
| 0                        | 0                         | 0                         | 0                         |
| 5                        | 4,40                      | 4,65                      | -17,89                    |
| 15                       | -4,88                     | -8,51                     | -22,68                    |
| 25                       | -5,98                     | -8,23                     | -8,45                     |
| 35                       | -9,38                     | 2,23                      | -15,91                    |
| 45                       | -1,42                     | -1,22                     | -14,50                    |
| 55                       | -3,45                     | 0,77                      | -10,67                    |
| 67,5                     | 5,69                      | 1,55                      | -7,25                     |
| 82,5                     | -1,73                     | 16,75                     | -9,03                     |
| 97,5                     | 2,67                      | -5,92                     | -16,06                    |
| 112,5                    | 6,55                      | 8,26                      | -40,55                    |



**Abbildung 3.6.2-6:** Einfluß der Kontrollbehandlung und der Röntgenkontrastmittelapplikationen auf die Abweichung der PAH-Clearance in  $\Delta$  % vom Ausgangswert (TNR 4568 F)

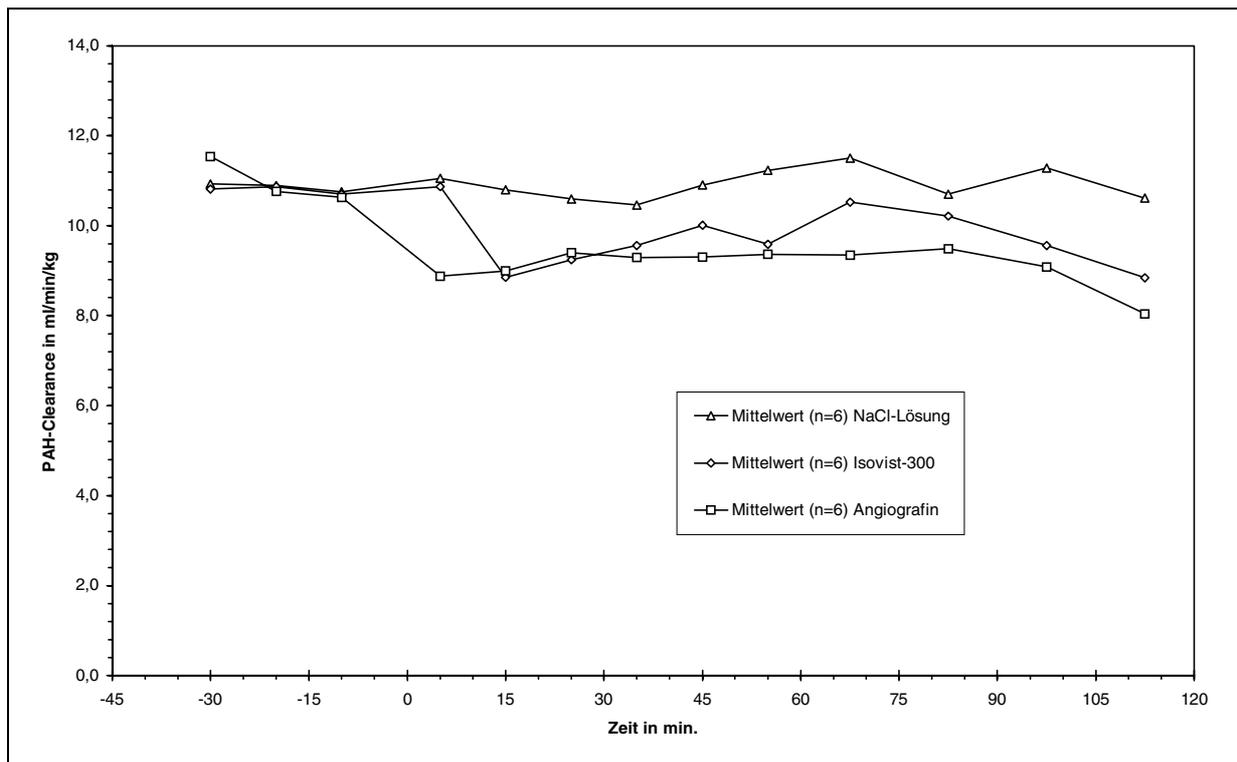
Der Clearance-Mittelwert aller in diesem Versuch 4 durchgeführten Paraaminohippursäure-Clearanceperioden vor Substanzapplikation beträgt **10,69±0,65 ml/ min/ kg**. Die Standardabweichung dieser Clearancewerte, aus denen der Ausgangswert der PAH-Clearance gemittelt wird beträgt im Durchschnitt 5,91 % (von 1,01 % bis maximal 11,88 %) des Mittelwertes.

Die  $\Delta$  %-Abweichungen der PAH-Clearance vom Ausgangswert liegen für die Kochsalzkontrolle in der Regel über den Werten für die beiden RKM-Behandlungsgruppen. Bei diesen fällt der bei allen Tieren vorhandene starke Abfall (um mindestens 13,34 % nach Angiografin<sup>®</sup>/ mind. 8,51 % nach Isovist<sup>®</sup>-300) der Clearance gegenüber dem Ausgangswert schon in der ersten Clearanceperiode (Angiografin<sup>®</sup>-Applikation) bzw. spätestens in der zweiten Clearanceperiode (Isovist<sup>®</sup>-Applikation) auf.

Die Zusammenfassung der Paraaminohippursäure-Clearancewerte der für jede Behandlungsgruppe durchgeführten sechs Applikationen liefert Tabelle 3.6.2-10 und die aus den Mittelwerten (n=6) erstellte Abbildung 3.6.2-7.

**Tabelle 3.6.2-10:** Zusammenfassung der PAH-Clearancewerte der NaCl-Kontrollgruppe und der beiden RKM-Gruppen (jeweils n=6); angegeben in ml/ min/ kg

| Clearance-Midpoint (min) | I. NaCl-Lösung |          | II. Isovist-300 |          | III. Angiografin |          |
|--------------------------|----------------|----------|-----------------|----------|------------------|----------|
|                          | MW (n=6)       | SD (n=6) | MW (n=6)        | SD (n=6) | MW (n=6)         | SD (n=6) |
| -30                      | 10,93          | 1,06     | 10,82           | 1,80     | 11,54            | 2,04     |
| -20                      | 10,90          | 1,78     | 10,87           | 1,21     | 10,76            | 1,21     |
| -10                      | 10,76          | 1,74     | 10,70           | 0,81     | 10,63            | 1,15     |
| 5                        | 11,06          | 1,49     | 10,87           | 1,82     | 8,88             | 1,36     |
| 15                       | 10,80          | 1,57     | 8,85            | 1,12     | 8,99             | 0,93     |
| 25                       | 10,59          | 1,56     | 9,24            | 0,53     | 9,40             | 1,87     |
| 35                       | 10,47          | 1,57     | 9,56            | 1,31     | 9,29             | 1,12     |
| 45                       | 10,90          | 1,28     | 10,01           | 0,54     | 9,31             | 1,19     |
| 55                       | 11,23          | 1,50     | 9,59            | 1,21     | 9,37             | 1,59     |
| 67,5                     | 11,51          | 2,16     | 10,52           | 1,11     | 9,35             | 1,89     |
| 82,5                     | 10,70          | 2,04     | 10,21           | 1,72     | 9,49             | 1,77     |
| 97,5                     | 11,29          | 1,82     | 9,56            | 1,39     | 9,08             | 1,28     |
| 112,5                    | 10,62          | 1,31     | 8,84            | 1,59     | 8,04             | 0,68     |
| 135                      | 9,20           | 1,23     | 7,50            | 1,87     | 6,62             | 1,75     |
| 165                      | 5,10           | 0,59     | 4,66            | 1,32     | 4,38             | 1,28     |
| 195                      | 3,60           | 0,59     | 3,06            | 0,79     | 3,31             | 1,10     |
| 225                      | 2,28           | 0,36     | 3,19            | 2,65     | 2,04             | 0,82     |

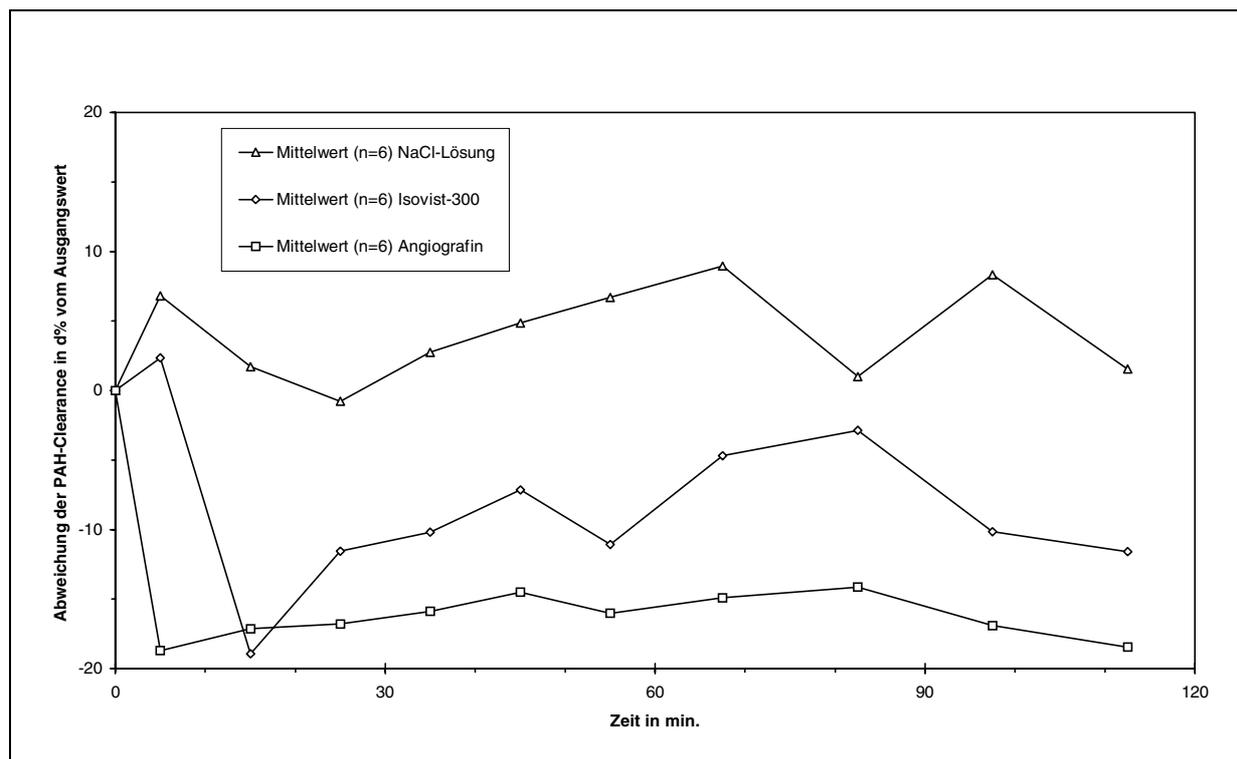


**Abbildung 3.6.2-7:** Vergleich der Mittelwerte (je n=6) der PAH-Clearance der NaCl-Kontrolle, der Isovist®- und der Angiografin®-Behandlungsgruppe (in ml/ min/ kg)

Ein direkter Vergleich der Behandlungsgruppen untereinander ist auch bei der PAH-Clearance wegen unterschiedlicher Ausgangswerte nicht gut möglich. Die Zusammenfassung der  $\Delta$  %-Abweichungen vom Ausgangswert für jede Behandlungsgruppe in Tabelle 3.6.2-11 und die zugehörige Abbildung 3.6.2-8 mit den PAH-Clearanceverläufen nach NaCl- bzw. RKM-Applikation ermöglichen allerdings einen besseren Vergleich.

**Tabelle 3.6.2-11:** Zusammenfassung der  $\Delta$  %-Abweichung vom Ausgangswert der PAH-Clearance der NaCl-Gruppe und der beiden RKM-Gruppen (jeweils n=6)

| Clearance-Midpoint (min) | I. NaCl-Lösung |          | II. Isovist-300 |          | III. Angiografin |          |
|--------------------------|----------------|----------|-----------------|----------|------------------|----------|
|                          | MW (n=6)       | SD (n=6) | MW (n=6)        | SD (n=6) | MW (n=6)         | SD (n=6) |
| 0                        | 0,00           | 0,00     | 0,00            | 0,00     | 0,00             | 0,00     |
| 5                        | 6,82           | 9,73     | 2,35            | 10,12    | -18,70           | 5,54     |
| 15                       | 1,73           | 7,18     | -18,93          | 5,77     | -17,14           | 6,92     |
| 25                       | -0,78          | 5,03     | -11,57          | 6,55     | -16,79           | 8,50     |
| 35                       | 2,74           | 11,03    | -10,18          | 7,50     | -15,87           | 5,48     |
| 45                       | 4,85           | 9,00     | -7,15           | 7,68     | -14,50           | 4,84     |
| 55                       | 6,69           | 14,14    | -11,07          | 6,04     | -16,03           | 5,81     |
| 67,5                     | 8,96           | 19,50    | -4,68           | 10,60    | -14,91           | 7,59     |
| 82,5                     | 1,01           | 11,20    | -2,85           | 11,94    | -14,13           | 8,64     |
| 97,5                     | 8,32           | 10,47    | -10,15          | 7,38     | -16,92           | 6,74     |
| 112,5                    | 1,55           | 9,03     | -11,59          | 15,39    | -18,45           | 5,60     |



**Abbildung 3.6.2-8:** Vergleich der Mittelwerte der  $\Delta$  %-Abweichung der PAH-Clearance für die Behandlungsgruppen NaCl-Lösung, Isovist<sup>®</sup>-300 und Angiografin<sup>®</sup> (jeweils n=6)

In Abbildung 3.6.2-8 ist der Verlauf der PAH-Clearancewerte in Abhängigkeit zum Ausgangswert zu beurteilen. Es ist, wie schon bei der Inulin-clearance, bei der Kochsalzkontrolle ein steter Anstieg der PAH-Clearance über die zwei Stunden nach Applikation (nach einem ersten Maximalwert von nahezu 10 % über dem Ausgangswert) zu erkennen. Der starke Abfall nach Kontrastmittelgabe manifestiert sich in der Mittelwertbildung: nach Angiografin<sup>®</sup> fällt der PAH-Clearancewert im Mittel sofort um  $18,7 \pm 5,54$  % im Vergleich zum Ausgangswert und nach Isovist<sup>®</sup>-300 in der 10 bis 20 min-Clearanceperiode um knapp 19 % ( $18,93 \pm 5,77$  %). Während der Isovist<sup>®</sup>-Verlauf sich anschließend wieder leicht in Richtung auf den Ausgangswert bewegt, bleibt die Clearance nach Angiografin<sup>®</sup>-Gabe über die ganzen zwei Stunden weiterhin so deutlich vermindert.

Eine statistische Analyse der beiden RKM-Behandlungsgruppen gegen die NaCl-Kontrollgruppe ist aus Gründen, auf die im Rahmen der Diskussion noch detailliert eingegangen wird, nicht zweckmäßig. Die Untersuchung auf signifikante Unterschiede zwischen der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlung und der Isovist<sup>®</sup>-Behandlung mit einem gepaarten t-Test ergab nur eine einzige Signifikanz von \*\*/  $p < 0,01$  für die erste Clearanceperiode nach Applikation mit dem Mittelpunkt 5 min ( $t=4,494$ ).

### **3.6.3. Veränderungen des Harnflusses und des Hämatokrits im Versuchsverlauf**

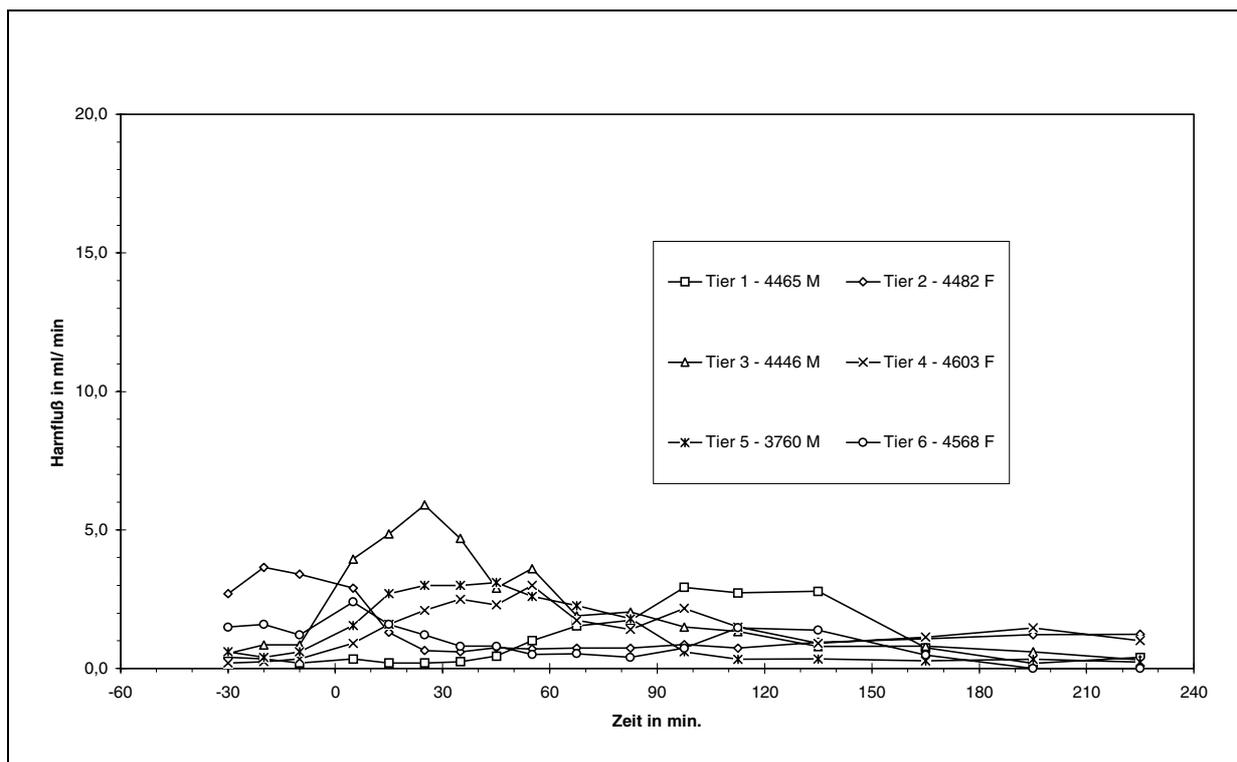
#### **3.6.3.1. Einfluß der Röntgenkontrastmittel auf den Harnfluß**

Aus den in diesem Versuch 4 in jeder Clearanceperiode ausgeschiedenen Harnvolumina läßt sich unter Berücksichtigung der Dauer der Clearanceperioden der Harnfluß pro Minute bestimmen. Tabelle 3.6.3-1 enthält die Werte der NaCl-Behandlungsgruppe und Abbildung 3.6.3-1 zeigt die entsprechenden Graphen. Ebenso enthalten für die Röntgenkontrastmittel-Gruppen je eine Tabelle (Tabelle 3.6.3-2 für Isovist<sup>®</sup>/ Tabelle 3.6.3-3 für Angiografin<sup>®</sup>) und eine Abbildung (Abbildung 3.6.3-2 für Isovist<sup>®</sup>/ Abbildung 3.6.3-3 für Angiografin<sup>®</sup>) die gleichen Informationen.

Besonders in den Abbildungen wird die nach Röntgenkontrastmittelgabe stark einsetzende Diurese deutlich, wobei die pro Zeiteinheit ausgeschiedene Harnmenge nach Isovist<sup>®</sup>-300 nicht so groß ist wie nach Angiografin<sup>®</sup> und auch schneller wieder abfällt als nach Angiografin<sup>®</sup>. Der Harnfluß nach Gabe der NaCl-Lösung weist bei den sechs in diesem Versuch verwendeten Beagle-Hunden im Versuchsverlauf deutlich niedrige Maximalwerte auf und besitzt ein im ganzen uneinheitlicheres Bild als bei den beiden RKM-Behandlungsgruppen.

**Tabelle 3.6.3-1:** Harnfluß der NaCl-Kontrolltiere in den einzelnen Clearanceperioden; angegeben in ml/ min

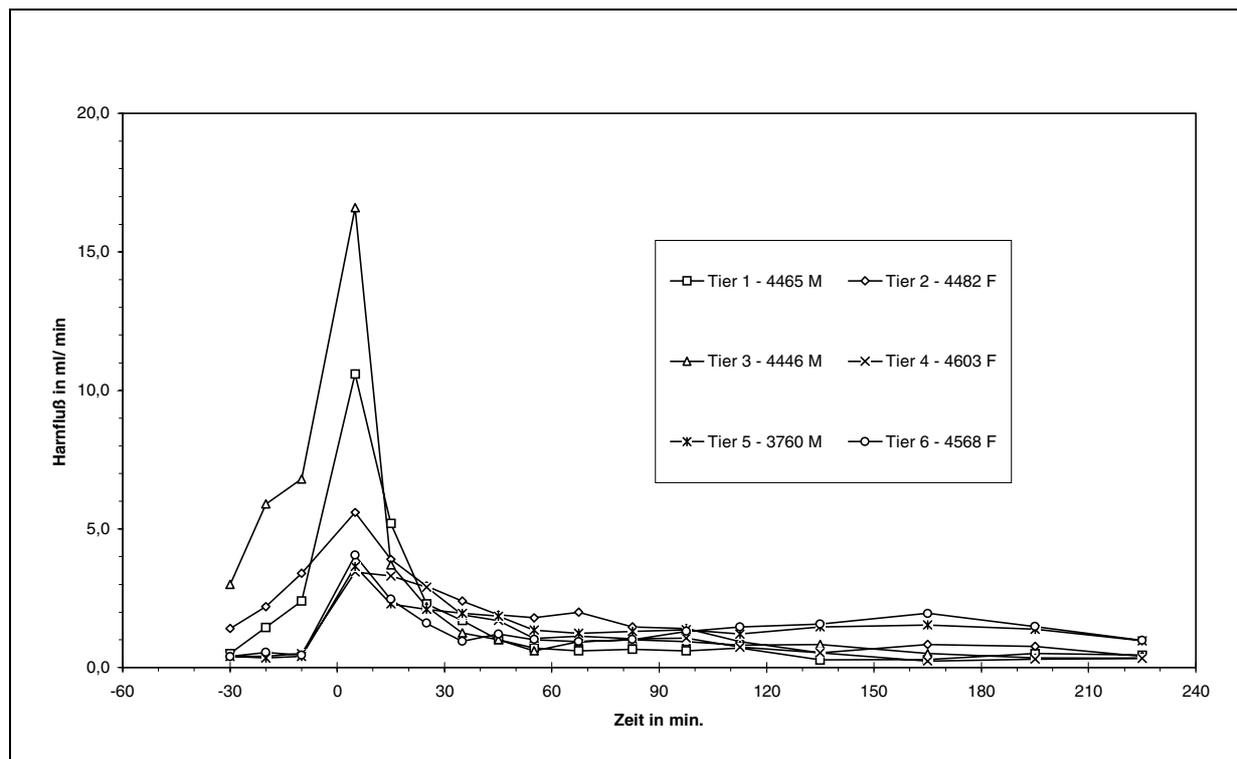
| Clearance-Periode | 4465 M | 4482 F | 4446 M | 4603 F | 3760 M | 4568 F |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| -35 bis -25       | 0,40   | 2,70   | 0,55   | 0,20   | 0,60   | 1,50   |
| -25 bis -15       | 0,35   | 3,65   | 0,85   | 0,25   | 0,40   | 1,60   |
| -15 bis -5        | 0,20   | 3,40   | 0,85   | 0,35   | 0,60   | 1,20   |
| 0 bis 10          | 0,35   | 2,90   | 3,95   | 0,90   | 1,55   | 2,40   |
| 10 bis 20         | 0,20   | 1,30   | 4,85   | 1,60   | 2,70   | 1,60   |
| 20 bis 30         | 0,20   | 0,65   | 5,90   | 2,10   | 3,00   | 1,20   |
| 30 bis 40         | 0,25   | 0,60   | 4,70   | 2,50   | 3,00   | 0,80   |
| 40 bis 50         | 0,45   | 0,75   | 2,90   | 2,30   | 3,10   | 0,80   |
| 50 bis 60         | 1,00   | 0,70   | 3,60   | 3,00   | 2,60   | 0,50   |
| 60 bis 75         | 1,53   | 0,73   | 1,90   | 1,73   | 2,27   | 0,53   |
| 75 bis 90         | 1,73   | 0,73   | 2,03   | 1,40   | 1,80   | 0,40   |
| 90 bis 105        | 2,93   | 0,87   | 1,50   | 2,17   | 0,60   | 0,73   |
| 105 bis 120       | 2,73   | 0,73   | 1,33   | 1,50   | 0,33   | 1,47   |
| 120 bis 150       | 2,78   | 0,95   | 0,78   | 0,90   | 0,35   | 1,38   |
| 150 bis 180       | 0,75   | 1,08   | 0,80   | 1,13   | 0,27   | 0,48   |
| 180 bis 210       | 0,18   | 1,22   | 0,60   | 1,47   | 0,33   | 0,00   |
| 210 bis 240       | 0,40   | 1,23   | 0,32   | 1,00   | 0,23   | 0,00   |



**Abbildung 3.6.3-1:** Graphischer Vergleich der pro Minute im Versuchsverlauf produzierten Harnmenge (NaCl-Kontrolle)

**Tabelle 3.6.3-2:** Harnfluß der mit Isovist® behandelten Tiere in den einzelnen Clearanceperioden; angegeben in ml/ min

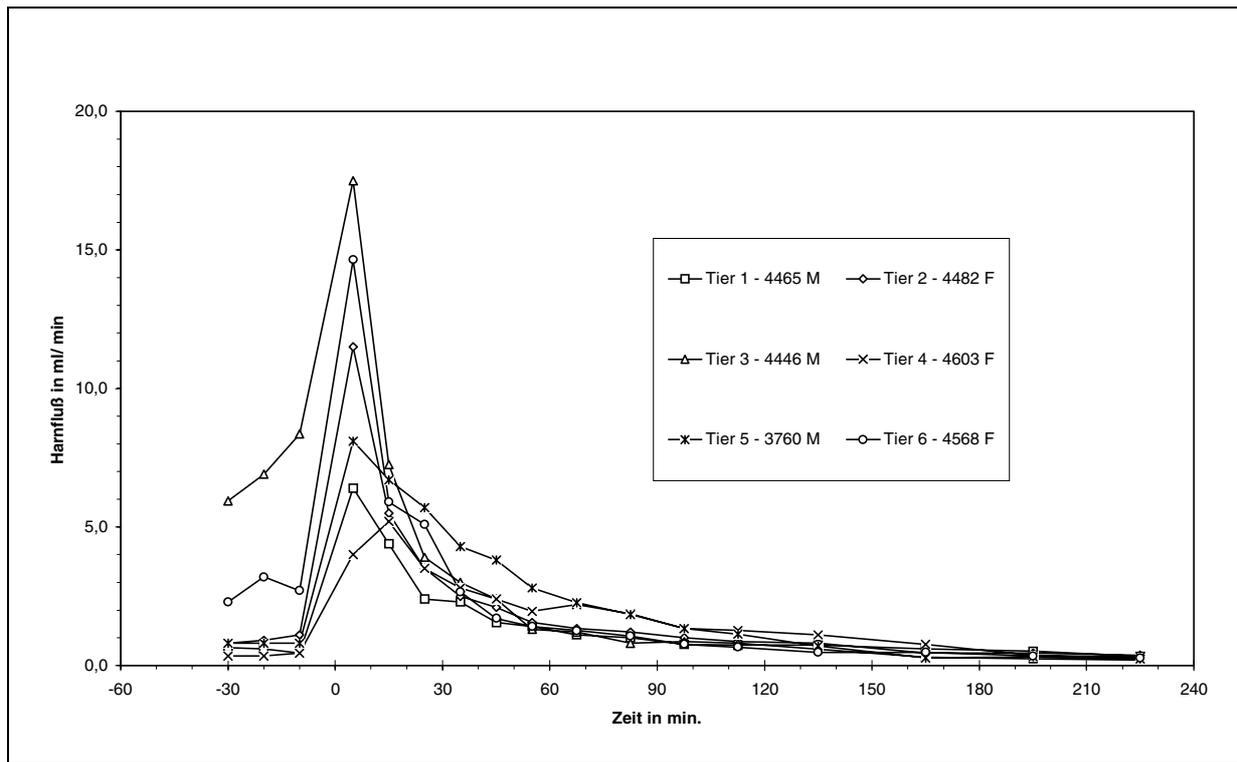
| Clearance-Periode | 4465 M | 4482 F | 4446 M | 4603 F | 3760 M | 4568 F |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| -35 bis -25       | 0,50   | 1,40   | 3,00   | 0,40   | 0,40   | 0,40   |
| -25 bis -15       | 1,45   | 2,20   | 5,90   | 0,40   | 0,35   | 0,55   |
| -15 bis -5        | 2,40   | 3,40   | 6,80   | 0,50   | 0,40   | 0,45   |
| 0 bis 10          | 10,60  | 5,60   | 16,60  | 3,45   | 3,65   | 4,05   |
| 10 bis 20         | 5,20   | 3,90   | 3,70   | 3,30   | 2,30   | 2,45   |
| 20 bis 30         | 2,30   | 2,95   | 2,20   | 2,90   | 2,10   | 1,60   |
| 30 bis 40         | 1,70   | 2,40   | 1,25   | 1,90   | 1,95   | 0,95   |
| 40 bis 50         | 1,00   | 1,90   | 1,00   | 1,70   | 1,85   | 1,20   |
| 50 bis 60         | 0,70   | 1,80   | 0,60   | 1,05   | 1,35   | 1,00   |
| 60 bis 75         | 0,60   | 2,00   | 0,93   | 1,13   | 1,23   | 0,93   |
| 75 bis 90         | 0,67   | 1,47   | 1,00   | 1,03   | 1,30   | 1,00   |
| 90 bis 105        | 0,60   | 1,40   | 0,93   | 1,07   | 1,37   | 1,30   |
| 105 bis 120       | 0,70   | 0,93   | 0,80   | 0,73   | 1,20   | 1,47   |
| 120 bis 150       | 0,27   | 0,53   | 0,83   | 0,53   | 1,47   | 1,57   |
| 150 bis 180       | 0,28   | 0,83   | 0,50   | 0,23   | 1,53   | 1,95   |
| 180 bis 210       | 0,50   | 0,77   | 0,35   | 0,30   | 1,38   | 1,48   |
| 210 bis 240       | 0,45   | 0,40   | 0,33   | 0,33   | 0,97   | 0,98   |



**Abbildung 3.6.3-2:** Graphischer Vergleich der pro Minute im Versuchsverlauf produzierten Harnmenge (Isovist®-Behandlungsgruppe)

**Tabelle 3.6.3-3:** Harnfluß der mit Angiografin® behandelten Tiere in den einzelnen Clearanceperioden; angegeben in ml/ min

| Clearance-Periode | 4465 M | 4482 F | 4446 M | 4603 F | 3760 M | 4568 F |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| -35 bis -25       | 0,65   | 0,80   | 5,95   | 0,35   | 0,80   | 2,30   |
| -25 bis -15       | 0,60   | 0,90   | 6,90   | 0,35   | 0,80   | 3,20   |
| -15 bis -5        | 0,45   | 1,10   | 8,35   | 0,45   | 0,80   | 2,70   |
| 0 bis 10          | 6,40   | 11,50  | 17,50  | 4,00   | 8,10   | 14,65  |
| 10 bis 20         | 4,40   | 5,50   | 7,25   | 5,20   | 6,70   | 5,90   |
| 20 bis 30         | 2,40   | 3,50   | 3,90   | 3,50   | 5,70   | 5,10   |
| 30 bis 40         | 2,30   | 2,50   | 3,00   | 2,80   | 4,30   | 2,65   |
| 40 bis 50         | 1,55   | 2,10   | 2,40   | 2,40   | 3,80   | 1,70   |
| 50 bis 60         | 1,40   | 1,55   | 1,30   | 1,95   | 2,80   | 1,40   |
| 60 bis 75         | 1,10   | 1,33   | 1,20   | 2,20   | 2,27   | 1,27   |
| 75 bis 90         | 1,00   | 1,20   | 0,80   | 1,87   | 1,83   | 1,07   |
| 90 bis 105        | 0,77   | 1,00   | 0,87   | 1,33   | 1,33   | 0,77   |
| 105 bis 120       | 0,73   | 0,87   | 0,80   | 1,27   | 1,13   | 0,67   |
| 120 bis 150       | 0,73   | 0,80   | 0,58   | 1,10   | 0,70   | 0,47   |
| 150 bis 180       | 0,60   | 0,45   | 0,30   | 0,77   | 0,27   | 0,47   |
| 180 bis 210       | 0,52   | 0,45   | 0,25   | 0,37   | 0,32   | 0,35   |
| 210 bis 240       | 0,33   | 0,37   | 0,20   | 0,30   | 0,23   | 0,27   |

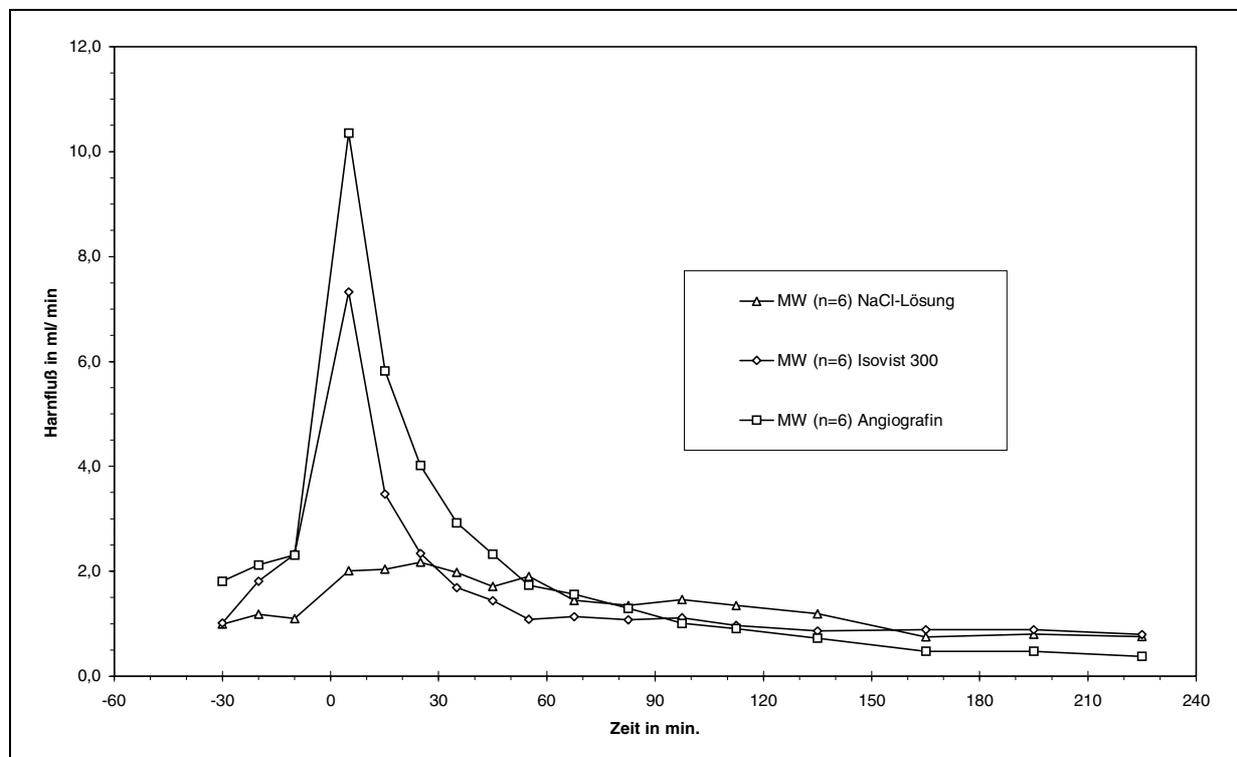


**Abbildung 3.6.3-3:** Graphischer Vergleich der pro Minute im Versuchsverlauf produzierten Harnmenge (Angiografin®-Behandlungsgruppe)

In Tabelle 3.6.3-4 ist für die drei Behandlungsgruppen der Harnfluß zu Mittelwerten zusammengefaßt und Abbildung 3.6.3-4 zeigt den Verlauf der Mittelwertskurven (n=6) für NaCl-Kontrolle, Isovist®-300- sowie Angiografín®-Gruppe.

**Tabelle 3.6.3-4:** Zusammenfassung des Harnfluß der einzelnen Clearanceperioden für die NaCl-Kontrolle und die RKM-Gruppen (jeweils n=6); angegeben in ml/ min

| Clearance-Periode (min) | I. NaCl-Lösung |          | II. Isovist-300 |          | III. Angiografín |          |
|-------------------------|----------------|----------|-----------------|----------|------------------|----------|
|                         | MW (n=6)       | SD (n=6) | MW (n=6)        | SD (n=6) | MW (n=6)         | SD (n=6) |
| -35 bis -25             | 0,99           | 0,87     | 1,02            | 0,96     | 1,81             | 1,95     |
| -25 bis -15             | 1,18           | 1,19     | 1,81            | 1,95     | 2,13             | 2,33     |
| -15 bis -5              | 1,10           | 1,08     | 2,33            | 2,30     | 2,31             | 2,81     |
| 0 bis 10                | 2,01           | 1,22     | 7,33            | 4,81     | 10,36            | 4,69     |
| 10 bis 20               | 2,04           | 1,45     | 3,48            | 0,97     | 5,83             | 0,94     |
| 20 bis 30               | 2,18           | 1,90     | 2,34            | 0,47     | 4,02             | 1,09     |
| 30 bis 40               | 1,98           | 1,58     | 1,69            | 0,48     | 2,93             | 0,65     |
| 40 bis 50               | 1,72           | 1,08     | 1,44            | 0,39     | 2,33             | 0,73     |
| 50 bis 60               | 1,90           | 1,21     | 1,08            | 0,40     | 1,73             | 0,52     |
| 60 bis 75               | 1,45           | 0,62     | 1,14            | 0,43     | 1,56             | 0,48     |
| 75 bis 90               | 1,35           | 0,59     | 1,08            | 0,25     | 1,29             | 0,41     |
| 90 bis 105              | 1,47           | 0,85     | 1,11            | 0,28     | 1,01             | 0,24     |
| 105 bis 120             | 1,35           | 0,75     | 0,97            | 0,28     | 0,91             | 0,22     |
| 120 bis 150             | 1,19           | 0,77     | 0,87            | 0,49     | 0,73             | 0,20     |
| 150 bis 180             | 0,75           | 0,31     | 0,89            | 0,64     | 0,48             | 0,17     |
| 180 bis 210             | 0,81           | 0,50     | 0,89            | 0,47     | 0,48             | 0,09     |
| 210 bis 240             | 0,76           | 0,40     | 0,80            | 0,28     | 0,38             | 0,06     |



**Abbildung 3.6.3-4:** Vergleich der Mittelwerte (je n=6) der Harnvolumina; in ml/ min

Das schon für die Harnausscheidung der Einzeltiere festgestellte bestätigt sich hier. Während der Harnfluß nach der NaCl-Bolusinjektion nur einmal kurz über 2 ml/ min ansteigt und danach bis zum Ende der Dauerinfusion zum Zeitpunkt 120 min zwischen 1 - 2 ml/ min liegt, steigt er sofort nach Angiografin®-Applikation im Mittel auf über 10 ml/ min in der ersten Clearanceperiode an und fällt auch erst nach 50 min auf ein Harnvolumen von unter 2 ml/ min wieder ab. Nach Isovist®-Bolusgabe liegt der maximale Harnfluß in der ersten Clearanceperiode mit 7,33 ml/ min knapp 30 % unter dem Angiografin®-Maximum und schon nach 30 min ist der Harnfluß auf unter 2 ml/ min abgefallen.

### 3.6.3.2. Einfluß der Röntgenkontrastmittel auf den Hämatokritwert

Der Anteil der Blutzellen am Blutvolumen wird Hämatokrit genannt. Bei diesem Versuch ist der Hämatokritwert aller Blutproben bestimmt worden. Der Vorwert-Hämatokrit (VW-Hkt.) ist vor Beginn der Dauerinfusion entnommen worden, während der für die Hämatokritwerte nach Substanzapplikation als Bezugsgröße dienende Hämatokrit-Ausgangsmittelwert aus den Hämatokritwerten der drei Clearanceperioden vor Applikation gebildet ist. Durch die zu diesem Zeitpunkt schon seit über 40 min laufende Dauerinfusion (mit 0,15 ml/ min/ kg) liegt der Ausgangswert bei diesem Versuch schon zwischen 12,81 und 18,71 % unter dem Vorwert-Hämatokrit (s. auch Tabelle 3.6.3-6).

In Tabelle 3.6.3-5 sind die Hämatokritwerte der drei Behandlungsgruppen zusammengefaßt.

**Tabelle 3.6.3-5:** Zusammenfassung der Hämatokritwerte der Kochsalzkontrolle, der Isovist®- und der Angiografin®-Behandlungsgruppe (Anteil der Blutzellen am Blutvolumen in %)

| Clearance-Midpoint<br>(min) | I. NaCl-Lösung |             | II. Isovist-300 |             | III. Angiografin |             |
|-----------------------------|----------------|-------------|-----------------|-------------|------------------|-------------|
|                             | MW<br>(n=6)    | SD<br>(n=6) | MW<br>(n=6)     | SD<br>(n=6) | MW<br>(n=6)      | SD<br>(n=6) |
| VW                          | 48,5           | 3,89        | 50,67           | 2,94        | 50,17            | 3,37        |
| -30                         | 40,50          | 4,81        | 42,00           | 3,22        | 44,17            | 4,40        |
| -20                         | 40,50          | 4,85        | 40,67           | 3,20        | 44,17            | 4,45        |
| -10                         | 41,17          | 5,38        | 40,83           | 3,60        | 43,00            | 2,37        |
| 5                           | 39,40          | 5,46        | 36,50           | 3,45        | 38,00            | 5,25        |
| 15                          | 39,00          | 5,66        | 38,50           | 3,78        | 38,33            | 4,08        |
| 25                          | 39,40          | 5,98        | 38,50           | 3,89        | 40,00            | 4,60        |
| 35                          | 39,80          | 6,10        | 39,17           | 2,40        | 39,17            | 4,12        |
| 45                          | 38,60          | 5,27        | 39,50           | 3,67        | 40,67            | 3,98        |
| 55                          | 38,20          | 5,07        | 39,17           | 4,12        | 40,67            | 3,44        |
| 67,5                        | 38,80          | 4,82        | 38,83           | 3,71        | 40,83            | 2,86        |
| 82,5                        | 37,80          | 4,82        | 38,33           | 4,23        | 40,00            | 2,76        |
| 97,5                        | 37,00          | 4,95        | 39,33           | 4,59        | 40,50            | 3,45        |
| 112,5                       | 37,40          | 5,81        | 37,67           | 3,93        | 41,00            | 2,97        |
| 120                         | 37,60          | 4,83        | 39,00           | 3,69        | 39,67            | 3,01        |
| 135                         | 38,20          | 4,02        | 38,33           | 3,27        | 40,17            | 2,93        |
| 165                         | 37,80          | 4,32        | 38,33           | 3,93        | 41,00            | 2,83        |
| 195                         | 40,00          | 3,65        | 39,00           | 3,22        | 42,00            | 2,10        |
| 225                         | 39,75          | 3,77        | 37,83           | 2,86        | 40,33            | 2,34        |

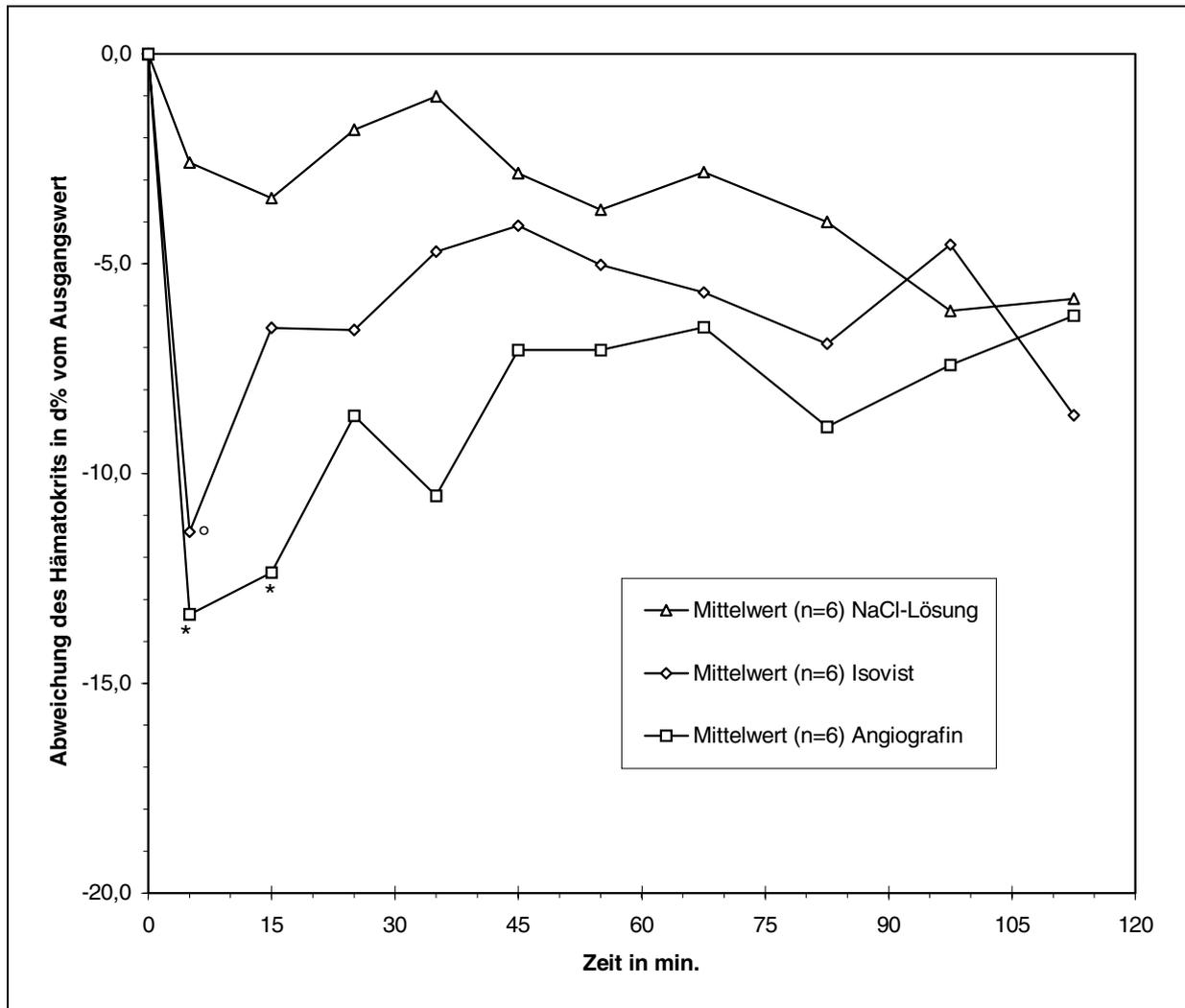
Um die Röntgenkontrastmittel-Gruppen mit der NaCl-Behandlung vergleichen zu können, sind wieder die  $\Delta$  %-Abweichungen der Hämatokritwerte von dem Ausgangswert gebildet und gemittelt worden (Tabelle 3.6.3-6).

**Tabelle 3.6.3-6:** Zusammenfassung der  $\Delta$  %-Abweichungen der Hämatokritwerte vom Ausgangswert, aufgegliedert nach Behandlungsgruppen; Angabe von Vorwert und Ausgangswert

| Clearance-Midpoint<br>(min) | I. NaCl-Lösung |             | II. Isovist-300 |             | III. Angiografin |             |
|-----------------------------|----------------|-------------|-----------------|-------------|------------------|-------------|
|                             | MW<br>(n=6)    | SD<br>(n=6) | MW<br>(n=6)     | SD<br>(n=6) | MW<br>(n=6)      | SD<br>(n=6) |
| VW-Hkt. (= 100%)            | 48,50          | 3,55        | 50,67           | 2,69        | 50,17            | 3,08        |
| MW vor Appl.                | 40,72          | 4,53        | 41,17           | 2,93        | 43,78            | 3,32        |
| MW in % vom VW              | 83,77          | 3,76        | 81,29           | 4,59        | 87,19            | 1,28        |
| 0                           | 0,00           | 0,00        | 0,00            | 0,00        | 0,00             | 0,00        |
| 5                           | -2,59          | 2,40        | -11,39          | 2,96        | -13,36           | 7,33        |
| 15                          | -3,44          | 3,27        | -6,53           | 3,69        | -12,36           | 6,68        |
| 25                          | -1,81          | 5,95        | -6,58           | 2,93        | -8,62            | 7,26        |
| 35                          | -1,01          | 5,93        | -4,70           | 3,32        | -10,53           | 5,81        |
| 45                          | -2,84          | 7,77        | -4,09           | 3,36        | -7,06            | 5,71        |
| 55                          | -3,71          | 7,12        | -5,03           | 4,63        | -7,06            | 3,72        |
| 67,5                        | -2,81          | 6,23        | -5,68           | 4,15        | -6,51            | 5,16        |
| 82,5                        | -4,00          | 8,84        | -6,91           | 6,01        | -8,89            | 4,76        |
| 97,5                        | -6,13          | 8,34        | -4,55           | 5,98        | -7,41            | 4,40        |
| 112,5                       | -5,83          | 8,37        | -8,61           | 3,61        | -6,24            | 3,27        |
| 120                         | -4,76          | 9,00        | -5,37           | 1,63        | -9,18            | 5,62        |
| 135                         | -3,94          | 5,99        | -6,91           | 1,71        | -8,08            | 4,83        |
| 165                         | -4,82          | 9,10        | -6,99           | 3,46        | -6,23            | 2,48        |
| 195                         | -1,55          | 10,60       | -5,09           | 6,16        | -3,69            | 6,08        |
| 225                         | -1,96          | 11,40       | -8,05           | 2,26        | -7,64            | 4,33        |

Diese prozentualen Abweichungen vom Ausgangswert sind in Abbildung 3.6.3-5, zusammengefaßt für die drei applizierten Substanzen, graphisch dargestellt. Der Hämatokrit der NaCl-Kontrolle zeigt über die 2 Stunden nach Applikation bis zum Ende der Dauerinfusion einen abwärts gerichteten Trend, bei dem der Hämatokritwert schließlich um ca. 6 % im Vergleich zum Ausgangswert reduziert ist. Die Isovist®-Behandlungsgruppe zeigt einen maximalen Abfall von 11,4 % nach 5 min und steigt dann bis zum Zeitpunkt 45 min nach Appl. wieder an. Der Abfall in der Angiografin®-Gruppe ist mit -13,4 % nach 5 min und immer noch -12,4 % nach 15 min ausgeprägter, steigt aber anschließend auch wieder bis auf -6,5 % zum Zeitpunkt 67,5 min an. Zum Ende der Dauerinfusion hin liegen die gemittelten Hämatokritwerte der drei Behandlungsgruppen immer dichter beieinander (112,5 min-Werte: -5,83, -8,61 und -6,24).

Bei der statistischen Auswertung dieser  $\Delta$  %-Abweichungen der Hämatokritwerte zeigen sich nur Signifikanzen zwischen der Angiografin®-Gruppe und der NaCl-Gruppe zu den Zeitpunkten 5 und 15 min nach Applikation und zwischen der Isovist®-Behandlung und der Kochsalzkontrolle Gruppe zu dem Zeitpunkt 5 min nach Applikation (Tabelle 3.6.3-7). Beim Vergleich der beiden RKM-Gruppen untereinander ergeben sich keine signifikanten Unterschiede.



**Abbildung 3.6.3-5:** Vergleich der Mittelwerte (n=6) der Hämatokritabweichung nach NaCl-, Isovist<sup>®</sup>- bzw. Angiografin<sup>®</sup>-Gabe; in  $\Delta$  % vom Ausgangswert

\* $p < 0,05$  Angiografin vs. NaCl;  $p < 0,05$  Isovist vs. NaCl

**Tabelle 3.6.3-7:** Ergebnisse der statistischen Auswertung der  $\Delta$  %-Abweichungen vom Ausgangswert (NaCl-Kontrolle vs. RKM-Gruppen mittels Varianzanalyse kombiniert mit einem Bonferroni t-Test; Isovist<sup>®</sup>-300 vs. Angiografin<sup>®</sup> mittels gepaartem t-Test)

| Meßzeitpunkt<br>(min) | NaCl vs. Angiografin |              | NaCl vs. Isovist |              | Isovist vs. Angiografin |             |
|-----------------------|----------------------|--------------|------------------|--------------|-------------------------|-------------|
|                       | t-Wert               | Signifikanz  | t-Wert           | Signifikanz  | t-Wert                  | Signifikanz |
| 5                     | 3,806                | * $p < 0,05$ | 3,106            | * $p < 0,05$ | 0,677                   | n.s.        |
| 15                    | 3,427                | * $p < 0,05$ | 1,183            | n.s.         | 2,269                   | n.s.        |
| 25                    | --                   | n.s.         | --               | n.s.         | 0,784                   | n.s.        |
| 35                    | --                   | n.s.         | --               | n.s.         | 2,430                   | n.s.        |
| 45                    | --                   | n.s.         | --               | n.s.         | 1,046                   | n.s.        |
| 55                    | --                   | n.s.         | --               | n.s.         | 1,611                   | n.s.        |
| 67,5                  | --                   | n.s.         | --               | n.s.         | 0,525                   | n.s.        |
| 82,5                  | --                   | n.s.         | --               | n.s.         | 1,059                   | n.s.        |
| 97,5                  | --                   | n.s.         | --               | n.s.         | 1,354                   | n.s.        |
| 112,5                 | --                   | n.s.         | --               | n.s.         | 1,399                   | n.s.        |

### 3.6.4. Ergebnisse der Endothelin-1-Bestimmungen

#### 3.6.4.1. Ergebnisse der Endothelin-1-Messungen im Plasma

Von jedem der insgesamt 18 Versuche, die an den sechs Beagle-Hunden durchgeführt wurden, sind die Plasmaproben des Vorwerts sowie der Entnahmezeitpunkte 15 min und 45 min nach Applikation für die Endothelinbestimmung mit dem ELISA verwendet worden. In Tabelle 3.6.4-1 sind für die Kochsalzkontrolle die in diesen Proben gemessenen ET-Konzentrationen aufgeführt und Tabelle 3.6.4-2 enthält die Angaben über die prozentuale Abweichung der ET-Konzentrationen vom Vorwert nach der NaCl-Applikation.

**Tabelle 3.6.4-1:** Mit dem ELISA gemessene ET-Konzentrationen der NaCl-Kontrolltiere; angegeben in fmol/ ml Plasma

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        |        |        |        |
|------------------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                        | 4446 M     | 4568 F | 4465 M | 3760 M | 4603 F | 4482 F |
| Vorwert                | 0,924      | 0,995  | 0,751  | 0,808  | 0,759  | 0,687  |
| 15                     | 1,055      | 0,953  | 0,916  | 0,838  | 0,881  | 0,739  |
| 45                     | 1,237      | 1,192  | 0,919  | 0,893  | 0,709  | 0,586  |

**Tabelle 3.6.4-2:** Abweichungen der ET-Konzentrationen der NaCl-Kontrolltiere vom Vorwert zu den Zeitpunkten 15 min und 45 min nach Appl.; angegeben in  $\Delta$  %

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        |        |        |        |
|------------------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                        | 4446 M     | 4568 F | 4465 M | 3760 M | 4603 F | 4482 F |
| Vorwert                | 0          | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 15                     | 14,12      | -4,24  | 21,97  | 3,67   | 16,09  | 7,57   |
| 45                     | 33,81      | 19,80  | 22,37  | 10,47  | -6,57  | -14,70 |

Ebenso geben Tabelle 3.6.4-3 und Tabelle 3.6.4-4 die absoluten ET-Konzentrationen bzw. die  $\Delta$  %-Werte nach Bolusgabe von Isovist<sup>®</sup>-300 an. Für die andere RKM-Behandlungsgruppe finden sich die gemessenen ET-Werte in Tabelle 3.6.4-5 und die prozentualen Abweichungen nach Angiografin<sup>®</sup>-Gabe in Tabelle 3.6.4-6.

**Tabelle 3.6.4-3:** Mit dem ELISA gemessene ET-Konzentrationen der Isovist<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe; angegeben in fmol/ ml Plasma

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        |        |        |        |
|------------------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                        | 4446 M     | 4568 F | 4465 M | 3760 M | 4603 F | 4482 F |
| Vorwert                | 0,674      | 0,650  | 0,716  | 0,842  | 0,680  | 0,634  |
| 15                     | 0,943      | 0,978  | 0,687  | 1,322  | 0,577  | 0,580  |
| 45                     | 1,046      | 1,132  | 0,975  | 0,922  | 0,878  | 0,698  |

**Tabelle 3.6.4-4:** Abweichungen der ET-Konzentrationen der Isovist<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe vom Vorwert zu den Zeitpunkten 15 und 45 min nach Appl; angegeben in  $\Delta$  %

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        |        |        |        |
|------------------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                        | 4446 M     | 4568 F | 4465 M | 3760 M | 4603 F | 4482 F |
| Vorwert                | 0          | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 15                     | 39,91      | 50,46  | -3,99  | 56,99  | -15,20 | -8,48  |
| 45                     | 55,19      | 74,15  | 36,26  | 9,49   | 29,12  | 10,14  |

**Tabelle 3.6.4-5:** Mit dem ELISA gemessene ET-Konzentrationen der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe; angegeben in fmol/ ml Plasma

| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        |        |        |        |
|------------------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                        | 4446 M     | 4568 F | 4465 M | 3760 M | 4603 F | 4482 F |
| Vorwert                | 0,801      | 0,798  | 0,859  | 0,897  | 0,651  | 0,529  |
| 15                     | 0,978      | 0,881  | 1,308  | 1,102  | 0,833  | 0,742  |
| 45                     | 1,314      | 1,046  | 1,542  | 1,208  | 0,878  | 0,852  |

**Tabelle 3.6.4-6:** Abweichungen der ET-Konzentrationen der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe vom Vorwert zu den Zeitpunkten 15 min und 45 min nach Appl; angegeben in  $\Delta$  %

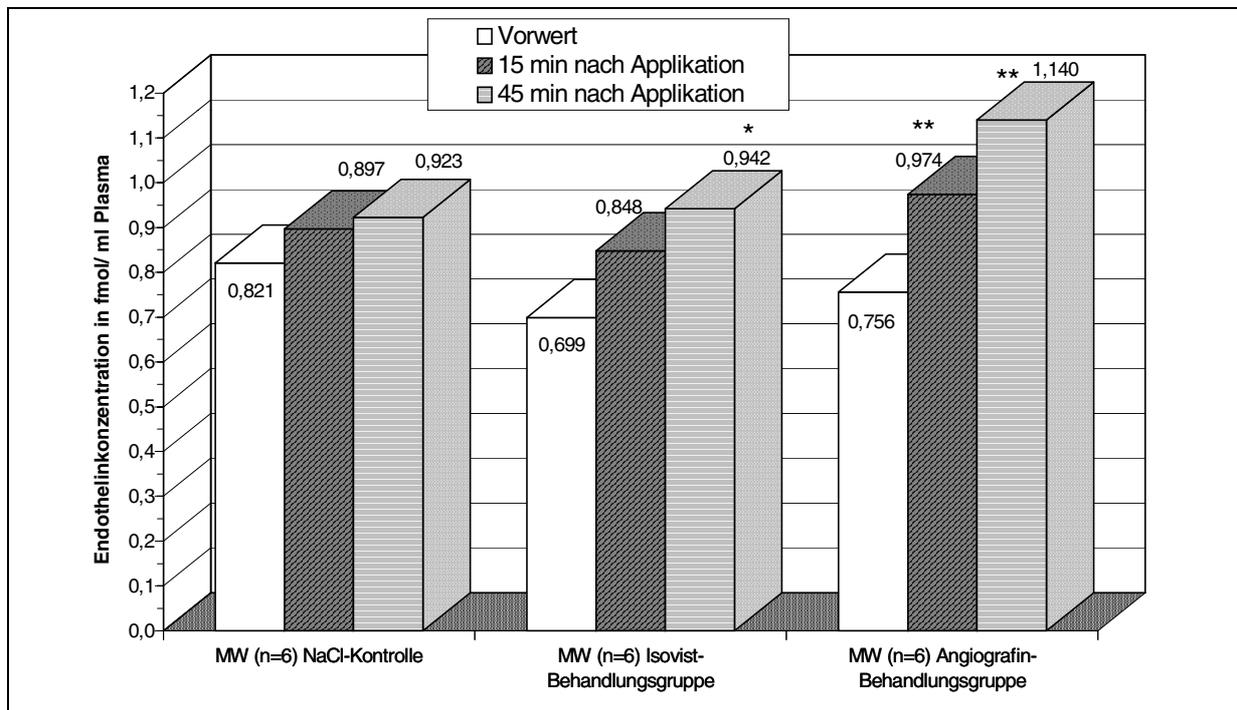
| Meßzeitpunkt<br>in min | Tiernummer |        |        |        |        |        |
|------------------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                        | 4446 M     | 4568 F | 4465 M | 3760 M | 4603 F | 4482 F |
| Vorwert                | 0          | 0      | 0      | 0      | 0      | 0      |
| 15                     | 22,05      | 10,40  | 52,33  | 22,82  | 27,94  | 40,38  |
| 45                     | 64,04      | 31,08  | 79,56  | 34,57  | 34,87  | 61,19  |

Eine Zusammenfassung (je n=6) der Endothelinbestimmungen für alle drei Behandlungsgruppen enthält Tabelle 3.6.4-7 und Abbildung 3.6.4-1 stellt die Mittelwerte der drei Blutentnahmezeitpunkte für NaCl, Isovist® und Angiografin® gegeneinander.

**Tabelle 3.6.4-7:** Zusammenfassung der Endothelin-1-Konzentrationen der drei Behandlungsgruppen; angegeben in fmol/ ml

| Meßzeitpunkt<br>in min | NaCl-Lösung |          | Isovist  |          | Angiografin |          |
|------------------------|-------------|----------|----------|----------|-------------|----------|
|                        | MW (n=6)    | SD (n=6) | MW (n=6) | SD (n=6) | MW (n=6)    | SD (n=6) |
| Vorwert                | 0,821       | 0,1063   | 0,699    | 0,0688   | 0,756       | 0,1272   |
| 15                     | 0,897       | 0,0976   | 0,848    | 0,2652   | 0,974       | 0,1873   |
| 45                     | 0,923       | 0,2350   | 0,942    | 0,1366   | 1,140       | 0,2439   |

Bei allen drei Behandlungsgruppen steigt die ET-Konzentration nach Applikation an. Bei der NaCl-Kontrolle von im Durchschnitt 0,821 fmol/ ml auf knapp 0,9 fmol/ ml nach 15 min. Der 45 min-Wert liegt dann nur noch wenig höher. Bei den beiden Röntgenkontrastmittel-Gruppen sind die ET-Konzentrationsanstiege gegenüber dem Vorwert nach 15 min deutlicher (um fast 0,15 fmol/ ml bei Isovist® und um über 0,2 fmol/ ml beim Angiografin®) und die Endothelinwerte steigen auch zum 45 min-Wert um nochmals fast 0,1 bzw. über 0,15 fmol/ ml an. Ein deutlicher Anstieg nach RKM-Gabe, der auch in der Abbildung 3.6.4-1 gut zu erkennen ist.



**Abbildung 3.6.4-1:** Anstieg der Endothelin-1-Konzentration in fmol/ ml nach NaCl-Gabe und nach RKM-Applikation

\* $p < 0,05$  bzw. \*\* $p < 0,01$  Vorwert vs. Wert nach Applikation

Bei der statistischen Auswertung der absoluten Endothelinwerte in diesem Versuch ist für jede der Substanzen der Vorwert gegen die beiden Werte nach Applikation mit einem gepaartem t-Test auf Signifikanz untersucht worden (Tabelle 3.6.4-10). Das Ergebnis zeigt bei dem 15 min-Wert der Angiografin®-Behandlung eine Signifikanz zu ihrem Vorwert. Bei dem Vergleich der 45 min-Werte mit ihrem Vorwert besitzen beide RKM-Gruppen einen signifikanten Unterschied von  $**/p<0,01$ .

**Tabelle 3.6.4-8:** Statistische Auswertung der ET-1-Werte nach NaCl-, Isovist®-300 bzw. Angiografin®-Applikation im Vergleich mit dem Vorwert (Vergleich mittels gepaartem t-Test)

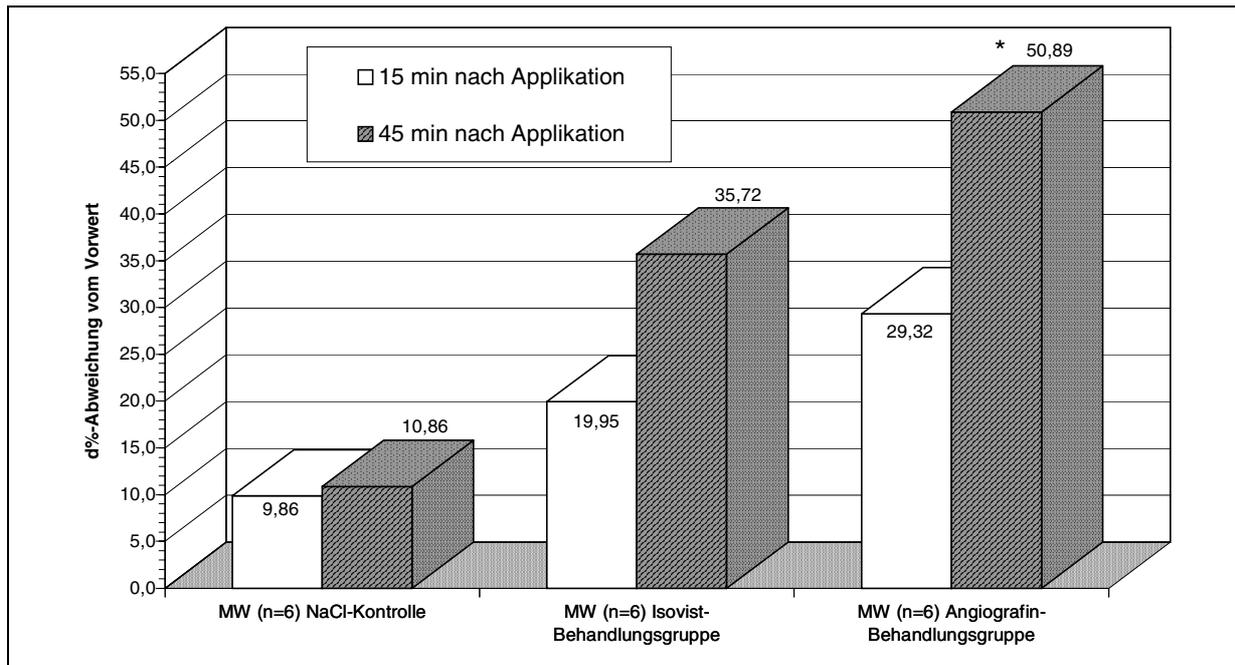
| Meßzeitpunkt (min) | 15 min-Wert vs. Vorwert |                     | 45 min-Wert vs. Vorwert |                     |
|--------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|
|                    | t-Wert                  | Signifikanz         | t-Wert                  | Signifikanz         |
| NaCl-Lösung        | 2,185                   | n.s.                | 1,596                   | n.s.                |
| Isovist            | 1,504                   | n.s.                | 3,620                   | <b>*/p&lt;0.05</b>  |
| Angiografin        | 4,370                   | <b>**/p&lt;0.01</b> | 5,290                   | <b>**/p&lt;0.01</b> |

Um auch wieder die drei Behandlungsgruppen untereinander vergleichen zu können, sind in Tabelle 3.6.4-9 die  $\Delta$  %-Abweichungen vom Vorwert zusammengefaßt und der Anstieg der ET-Konzentration nach Substanzapplikation in Abbildung 3.6.4-2 veranschaulicht.

**Tabelle 3.6.4-9:** Zusammenfassung der  $\Delta$  %-Abweichungen der ET-1-Konzentrationen vom Vorwert zu den Zeitpunkten 15 min und 45 min nach Appl.

| Meßzeitpunkt in min | NaCl-Lösung |          | Isovist  |          | Angiografin |          |
|---------------------|-------------|----------|----------|----------|-------------|----------|
|                     | MW (n=6)    | SD (n=6) | MW (n=6) | SD (n=6) | MW (n=6)    | SD (n=6) |
| Vorwert             | 0           | 0        | 0        | 0        | 0           | 0        |
| 15                  | 9,86        | 8,62     | 19,95    | 29,77    | 29,32       | 13,58    |
| 45                  | 10,86       | 16,82    | 35,72    | 23,25    | 50,89       | 18,33    |

Die zu den absoluten ET-Konzentrationen gemachten Aussagen zeigten sich hier in einem 50 %igem (35 %igem) Anstieg des Endothelins nach Angiografin® (Isovist®-300)-Applikation bis zum Zeitpunkt 45 min nach Applikation im Gegensatz zu dem nur 10 %igen Anstieg bei der NaCl-Kontrolle.



**Abbildung 3.6.4-2:** Prozentualer Anstieg der Endothelin-1-Konzentration in  $\Delta$  % zum Vorwert; statistischer Vergleich der RKM-Gruppen mit der NaCl-Kontrolle zu den entsprechenden Zeitpunkten

\* $p < 0,05$  RKM-Gruppe vs. NaCl-Kontrolle

Da bei der statistischen Auswertung der  $\Delta$  %-Abweichungen die beiden 15 min-Werte bzw. die beiden 45 min-Werte mit der NaCl-Kontrolle verglichen werden, muß dafür dann wieder eine Varianzanalyse (repeated measures one-way ANOVA) durchgeführt werden. Deren Ergebnisse in Tabelle 3.6.4-10 lassen nur einen signifikanten Unterschied ( $p > 0,05$ ), und zwar zwischen dem 45 min-Wert der Angiografin®-Gruppe und dem 45 min-Wert der NaCl-Kontrolle, erkennen.

**Tabelle 3.6.4-10:** Ergebnisse der Varianzanalyse der  $\Delta$  %-Abweichungen vom Vorwert (RKM-Gruppen vs. Kontrolle mittels Varianzanalyse kombiniert mit einem Bonferroni t-Test)

| Meßzeitpunkt (min) | 15 min-Wert vs. NaCl |             | 45 min-Wert vs. NaCl |              |
|--------------------|----------------------|-------------|----------------------|--------------|
|                    | t-Wert               | Signifikanz | t-Wert               | Signifikanz  |
| Isovist            | --                   | n.s.        | --                   | n.s.         |
| Angiografin        | --                   | n.s.        | 3,751                | * $p < 0,05$ |

## 3.6.4.2. Ergebnisse der ET-1-Messungen im Harn

In Tabelle 3.6.4-11 bis Tabelle 3.6.4-16 sind die für jedes Tier mit dem ELISA im Harn gemessenen ET-1-Werte nach NaCl-, Isovist®- bzw. Angiografin®-Applikation aufgelistet. Die außerdem für die Berechnung der Endothelinausscheidungsrate (in fmol/ min) nötigen Daten Probenvolumen, Harnvolumen und Dauer der zugehörigen Clearanceperiode sind auch in den Tabellen enthalten.

**Tabelle 3.6.4-11:** Im Harn gemessene ET-1-Konzentrationen für Tier 1 (TNR 4465 M) und Berechnung der Endothelin-Exkretionsrate für diese Clearanceperioden

| TNR/ Applikation & Substanz | Clearance-Periode (min) | ET-Konz. (fmol/ ml) | Probenvolumen (µl) | Harnvolumen (ml) | t (min) | ET im Harn (fmol/ min) |
|-----------------------------|-------------------------|---------------------|--------------------|------------------|---------|------------------------|
| 4465/ 2<br>NaCl-Lösung      | bis -15                 | 0,913               | 1500               | 23,5             | 10      | 1,43                   |
|                             | 10-20                   | 1,119               | 1500               | 22               | 10      | 1,64                   |
|                             | 40-50                   | 1,039               | 1500               | 24,5             | 9,5     | 1,79                   |
| 4465/ 3<br>Isovist          | bis -15                 | ##                  | 1500               | 34,5             | 10,5    | --                     |
|                             | 10-20                   | ##                  | 1500               | 72               | 9       | --                     |
|                             | 40-50                   | 0,616               | 1500               | 30               | 10      | 1,23                   |
| 4465/ 1<br>Angiografin      | bis -15                 | 0,496               | 1400               | 23               | 10      | 0,81                   |
|                             | 10-20                   | 0,314               | 1400               | 64               | 10,5    | 1,37                   |
|                             | 40-50                   | ##                  | 1400               | 35,5             | 9       | --                     |

**Tabelle 3.6.4-12:** Im Harn gemessene ET-1-Konzentrationen für Tier 2 (TNR 4482 F) und Berechnung der Endothelin-Exkretionsrate für diese Clearanceperioden

| TNR/ Applikation & Substanz | Clearance-Periode (min) | ET-Konz. (fmol/ ml) | Probenvolumen (µl) | Harnvolumen (ml) | t (min) | ET im Harn (fmol/ min) |
|-----------------------------|-------------------------|---------------------|--------------------|------------------|---------|------------------------|
| 4482/ 3<br>NaCl-Lösung      | bis -15                 | 0,895               | 1500               | 56,5             | 10      | 3,37                   |
|                             | 10-20                   | 1,391               | 1500               | 33               | 10      | 3,06                   |
|                             | 40-50                   | 1,428               | 1500               | 27,5             | 10      | 2,62                   |
| 4482/ 1<br>Isovist          | bis -15                 | 0,919               | 1400               | 42               | 10      | 2,76                   |
|                             | 10-20                   | 1,108               | 1400               | 59               | 10      | 4,67                   |
|                             | 40-50                   | 0,842               | 1400               | 39               | 9       | 2,61                   |
| 4482/ 2<br>Angiografin      | bis -15                 | 0,999               | 1400               | 29               | 10      | 2,07                   |
|                             | 10-20                   | ##                  | 1400               | 75               | 10,5    | --                     |
|                             | 40-50                   | ##                  | 1400               | 41               | 10,5    | --                     |

**Tabelle 3.6.4-13:** Im Harn gemessene ET-1-Konzentrationen für Tier 3 (TNR 4446 M) und Berechnung der Endothelin-Exkretionsrate für diese Clearanceperioden

| TNR/ Applikation & Substanz | Clearance-Periode (min) | ET-Konz. (fmol/ ml) | Probenvolumen (µl) | Harnvolumen (ml) | t (min) | ET im Harn (fmol/ min) |
|-----------------------------|-------------------------|---------------------|--------------------|------------------|---------|------------------------|
| 4446/ 1<br>NaCl-Lösung      | bis -15                 | 1,400               | 1600               | 23,5             | 9       | 2,28                   |
|                             | 10-20                   | ##                  | 1600               | 61,5             | 10      | --                     |
|                             | 40-50                   | ##                  | 1600               | 49               | 10      | --                     |
| 4446/ 2<br>Isovist          | bis -15                 | ##                  | 1400               | 10,5             | 10,5    | --                     |
|                             | 10-20                   | ##                  | 1500               | 8,5              | 8,5     | --                     |
|                             | 40-50                   | ##                  | 1500               | 11,5             | 11,5    | --                     |
| 4446/ 3<br>Angiografin      | bis -15                 | ##                  | 1500               | 9                | 9       | --                     |
|                             | 10-20                   | ##                  | 1500               | 10,5             | 10,5    | --                     |
|                             | 40-50                   | ##                  | 1500               | 10,5             | 10,5    | --                     |

**Tabelle 3.6.4-14:** Im Harn gemessene ET-1-Konzentrationen für Tier 4 (TNR 4603 F) und Berechnung der Endothelin-Exkretionsrate für diese Clearanceperioden

| TNR/ Applikation & Substanz | Clearance-Periode (min) | ET-Konz. (fmol/ ml) | Probenvolumen (µl) | Harnvolumen (ml) | t (min) | ET im Harn (fmol/ min) |
|-----------------------------|-------------------------|---------------------|--------------------|------------------|---------|------------------------|
| 4603/ 3<br>NaCl-Lösung      | bis -15                 | 0,580               | 1500               | 21               | 9,5     | 0,85                   |
|                             | 10-20                   | 0,492               | 1500               | 35               | 10      | 1,15                   |
|                             | 40-50                   | 0,944               | 1500               | 39               | 10      | 2,45                   |
| 4603/ 2<br>Isovist          | bis -15                 | 0,981               | 1500               | 21               | 10      | 1,37                   |
|                             | 10-20                   | 0,777               | 1500               | 53               | 9,5     | 2,89                   |
|                             | 40-50                   | 1,607               | 1500               | 37               | 10      | 3,96                   |
| 4603/ 1<br>Angiografin      | bis -15                 | 0,985               | 1400               | 20,5             | 9       | 1,60                   |
|                             | 10-20                   | ##                  | 1400               | 72               | 10      | --                     |
|                             | 40-50                   | ##                  | 1400               | 44               | 10      | --                     |

**Tabelle 3.6.4-15:** Im Harn gemessene ET-1-Konzentrationen für Tier 5 (TNR 3760 M) und Berechnung der Endothelin-Exkretionsrate für diese Clearanceperioden

| TNR/ Applikation & Substanz | Clearance-Periode (min) | ET-Konz. (fmol/ ml) | Probenvolumen (µl) | Harnvolumen (ml) | t (min) | ET im Harn (fmol/ min) |
|-----------------------------|-------------------------|---------------------|--------------------|------------------|---------|------------------------|
| 3760/ 2<br>NaCl-Lösung      | bis -15                 | 0,487               | 1500               | 24               | 10      | 0,78                   |
|                             | 10-20                   | ##                  | 1500               | 47               | 10,5    | --                     |
|                             | 40-50                   | ##                  | 1500               | 51               | 11      | --                     |
| 3760/ 1<br>Isovist          | bis -15                 | 1,060               | 1400               | 22,5             | 10      | 1,70                   |
|                             | 10-20                   | 0,515               | 1400               | 43               | 9       | 1,76                   |
|                             | 40-50                   | 0,422               | 1400               | 38,5             | 10      | 1,16                   |
| 3760/ 3<br>Angiografin      | bis -15                 | 0,789               | 1500               | 28               | 10      | 1,47                   |
|                             | 10-20                   | 0,356               | 1500               | 87               | 10      | 2,06                   |
|                             | 40-50                   | ##                  | 1500               | 58               | 10      | --                     |

**Tabelle 3.6.4-16:** Im Harn gemessene ET-1-Konzentrationen für Tier 6 (TNR 4568 F) und Berechnung der Endothelin-Exkretionsrate für diese Clearanceperioden

| TNR/ Applikation & Substanz | Clearance-Periode (min) | ET-Konz. (fmol/ ml) | Probenvolumen (µl) | Harnvolumen (ml) | t (min) | ET im Harn (fmol/ min) |
|-----------------------------|-------------------------|---------------------|--------------------|------------------|---------|------------------------|
| 4568/ 1<br>NaCl-Lösung      | bis -15                 | 0,284               | 1500               | 36               | 10      | 0,68                   |
|                             | 10-20                   | 0,580               | 1500               | 36               | 10      | 1,39                   |
|                             | 40-50                   | 0,687               | 1500               | 28               | 10      | 1,28                   |
| 4568/ 3<br>Isovist          | bis -15                 | 0,690               | 1500               | 25,5             | 10      | 1,17                   |
|                             | 10-20                   | 0,806               | 1500               | 44,5             | 10      | 2,39                   |
|                             | 40-50                   | 1,126               | 1500               | 32               | 10      | 2,40                   |
| 4568/ 2<br>Angiografin      | bis -15                 | 0,344               | 1500               | 52               | 11      | 1,08                   |
|                             | 10-20                   | ##                  | 1500               | 79               | 10      | --                     |
|                             | 40-50                   | ##                  | 1500               | 37               | 9,5     | --                     |

Mit ## gekennzeichnete Tabellenfelder bezeichnen Harnproben, in denen die mit dem ELISA-Photometer gemessenen Absorptionswerte unter dem Absorptionswert des in diesem Kit mitgeführten Nullstandards lagen. Somit konnte für diese Proben auch keine Endothelinausscheidungsrate (mit -- gekennzeichnete Tabellenfelder) berechnet werden.

Die ET-1-Ekretionsraten der NaCl-Kontrolle sind dann nochmals in Tabelle 3.6.4-17 zusammen aufgelistet, wobei die in Klammern ( ) gesetzten Ausscheidungsraten, ebenso wie in Tabelle 3.6.4-18 für die Isovist<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe und in Tabelle 3.6.4-19 für die Angiografin<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe, bedeuten, daß diese Raten nicht für die Mittelwertbildung herangezogen wurden.

**Tabelle 3.6.4-17:** ET-1-Ausscheidungsraten (in fmol/ min) für die Hunde der NaCl-Kontrolle

| Clearance-Periode<br>in min | Tiernummer |        |         |        |         |        |
|-----------------------------|------------|--------|---------|--------|---------|--------|
|                             | 4465 M     | 4482 F | 4446 M  | 4603 F | 3760 M  | 4568 F |
| -25 bis -15                 | 1,430      | 3,371  | (2,285) | 0,855  | (0,779) | 0,682  |
| 10-20                       | 1,641      | 3,060  | --      | 1,148  | --      | 1,392  |
| 40-50                       | 1,786      | 2,618  | --      | 2,454  | --      | 1,282  |

( ) = diese Werte sind nicht für die Mittelwertbildung verwendet worden

**Tabelle 3.6.4-18:** ET-1-Ausscheidungsraten (in fmol/ min) nach Isovist<sup>®</sup>-Behandlung

| Clearance-Periode<br>in min | Tiernummer |        |        |        |        |        |
|-----------------------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                             | 4465 M     | 4482 F | 4446 M | 4603 F | 3760 M | 4568 F |
| -25 bis -15                 | --         | 2,757  | --     | 1,373  | 1,704  | 1,173  |
| 10-20                       | --         | 4,669  | --     | 2,890  | 1,758  | 2,391  |
| 40-50                       | (1,232)    | 2,606  | --     | 3,964  | 1,161  | 2,402  |

( ) = diese Werte sind nicht für die Mittelwertbildung verwendet worden

**Tabelle 3.6.4-19:** ET-1-Ausscheidungsraten (in fmol/ min) nach Angiografin<sup>®</sup>-Behandlung

| Clearance-Periode<br>in min | Tiernummer |        |        |        |          |        |
|-----------------------------|------------|--------|--------|--------|----------|--------|
|                             | 4465 M     | 4482 F | 4446 M | 4603 F | 3760 M   | 4568 F |
| -25 bis -15                 | 0,815      | 2,069  | --     | 1,603  | 1,473    | 1,084  |
| 10-20                       | *(1,367)   | *--    | *--    | *--    | *(2,065) | *--    |
| 40-50                       | *--        | *--    | *--    | *--    | *--      | *--    |

\* = diese Harnproben sind durch die Zugabe von 10% einer 1molaren HCl bei der Festphasenextraktion ausgefallen

( ) = diese Werte sind nicht für die Mittelwertbildung verwendet worden

In Tabelle 3.6.4-19 sind außerdem noch alle Tabellenfelder der ET-Ausscheidungsraten der Clearanceperioden 10 bis 20 min und 40 bis 50 min mit einem Stern (\*) versehen. Diese Harnproben sind durch die Zugabe von 10% einer 1molaren Salzsäure bei der Aufbereitung der Proben für die ET-1-Messung (Festphasenextraktion) ausgefallen.

In Zusammenfassung der drei vorhergehenden Tabellen zeigt Tabelle 3.6.4-20 die Mittelwerte (jeweils nur n=4!) mit zugehörigen Standardabweichungen der Kontroll- und der beiden RKM-Gruppen.

**Tabelle 3.6.4-20:** Zusammenfassung der ET-1-Ausscheidungsraten (in fmol/ min) für die NaCl-Kontrollgruppe und die beiden RKM-Gruppen (jeweils n=4)

| Clearance-Periode<br>in min | NaCl-Lösung |          | Isovist  |          | Angiografin |          |
|-----------------------------|-------------|----------|----------|----------|-------------|----------|
|                             | MW (n=4)    | SD (n=4) | MW (n=4) | SD (n=4) | MW (n=4)    | SD (n=4) |
| -25 bis -15                 | 1,584       | 1,0681   | 1,752    | 0,6105   | 1,409       | 0,4327   |
| 10-20                       | 1,810       | 0,7424   | 2,927    | 1,0831   | --          | --       |
| 40-50                       | 2,035       | 0,5348   | 2,533    | 0,9942   | --          | --       |

Die Endothelinausscheidungsraten der drei Behandlungsgruppen vor Applikation liegen mit 1,584, 1,752 und 1,409 fmol/ min recht nah beieinander und die Isovist<sup>®</sup>-Gruppe zeigt mit 2,927 fmol/ min 10 bis 20 min nach Applikation einen deutlichen Anstieg im Vergleich zum Vorwert.

Die statistische Analyse der ET-1-Exkretionsraten jedoch ergab keinerlei statistisch signifikante Unterschiede: weder zwischen den drei Vorwerten untereinander, noch beim Vergleich der ET-Ausscheidungen nach Applikation mit dem jeweiligen Vorwert.

## 4. Diskussion

### Vorversuch A

Als erster Schritt auf dem Weg zur Etablierung des neuen Tiermodells, bei dem der Einfluß der Röntgenkontrastmittel auf die Kreatininausscheidung genutzt werden soll, mußte die Pharmakokinetik der Gabe eines Kreatininbolus beim Hund untersucht werden.

Der gefundene endogene Kreatininspiegel von 0,71 bzw. 0,76 mg/ 100 ml Serum liegt im Normalbereich des Hundes (0,5 bis 1,3 mg/ 100 ml Serum; TILLEY und SMITH 1997) und entsprechende Ausgangskreatininkonzentrationen wurden z.B. mit 0,82 mg/ 100 ml auch von BOVEÉ und JOYCE (1979) als Mittelwert in ihrer Studie an 36 normalen weiblichen Beagle-Hunden mit ähnlichem Körpergewicht (7-11 kg KGW) festgestellt.

Nach einem Kreatininbolus von 20 mg/ kg war nach einer maximalen Serumkreatininkonzentration von ca. 12 mg/ 100 ml Serum (1 min nach Appl.) auch nach 60 min noch eine Kreatininkonzentration im Serum vorhanden, die um den Faktor 3 höher lag als der endogene Kreatininspiegel. Diese Konzentration ist ausreichend, damit eventuelle Einflüsse eines schwankenden endogenen Kreatininspiegels bis zu diesem Zeitpunkt auf keinen Fall zum Tragen kommen können.

Nach Halbierung der injizierten Kreatinindosis und durch die daraufhin erhaltenen Serumkreatininwerte konnte bestätigt werden, daß es sich bei der Ausscheidung eines i.v.-Kreatininbolus um eine lineare Pharmakokinetik handelt, da sich die Serumkreatininkonzentrationen proportional zur applizierten Dosis verhalten (KLOTZ 1988): durch Halbierung der Dosis wurde eine Halbierung der Serumkonzentration zu den entsprechenden Zeitpunkten erzielt.

Die Varianz der Serumkreatininkonzentrationen der Einzeltiere (n=3) ist vernachlässigbar klein (< 1 % des Mittelwerts nach dem Zeitpunkt 10 min nach Applikation). Daher kann von einem konstanten Kreatininausscheidungsverhalten beim gesunden Beagle nach einem Kreatininbolus von 20 mg/ kg ausgegangen werden.

Bei der Auswertung der Serumeliminationskurven nach 20 bzw. 10 mg/ kg mit dem TOPFIT-Programm zeigte sich mit einem Drei-Kompartiment-Modell die bestmögliche Anpassung der errechneten Ausscheidungskurve an die tatsächlich gemessenen Serumkreatininwerte.

Schon HALL et al. (1977) sind in einer ausführlichen Arbeit, in der sie verschiedene Verfahren zur Berechnung der Plasmaclearance beim Hund verglichen haben, zu dem Schluß gekommen, daß das Drei-Kompartiment-Modell (im direkten Vergleich mit der renalen Inulin-clearance) die genauesten Ergebnisse liefert. Dabei wird zum einen die Entnahme einer ausreichenden Anzahl von Blutproben gefordert, um die frühe Phase der Ausscheidungskurve zu erfassen und zum anderen, daß die Probenahmen ausreichend lange weitergeführt werden, bis der Konzentrationsabfall im Plasma oder im Serum ausschließlich auf renale Elimination zurückzuführen ist. Beide Maßgaben sind bei diesem Tiermodell erfüllt. FRENBY (1996a) gibt die Anzahl der nötigen Blutproben mit 10 bis 12 an und bestätigt die gute Eignung des Drei-Kompartiment-Modells zur Berechnung der Plasmaclearance.

Liegt eine lineare Kinetik vor, so ist auch die, vom verwendeten Modell unabhängige, Fläche unter der Ausscheidungskurve (Area Under the Curve - AUC) proportional zur Dosis, was die TOPFIT-Auswertung mit der halben AUC nach 10 mg/ kg (2003 gegenüber 4003 µg/ ml/ min nach 20 mg/ kg) bestätigt.

Eine 1991 publizierte Arbeit (LABATO und ROSS), die die Elimination eines i.v.-Kreatininbolus aus dem Plasma als Nierenfunktionstest beim Hund (n=36; 10-28 kg KGW) beschreibt, kommt nach computergestützter Analyse auf eine Ausscheidungshalbwertzeit von 108 min und eine Plasmakreatininclearance von 7 ml/ kg/ min.

Die in diesem Vorversuch A mit TopFit berechneten Werte für  $t_{1/2}$  (3) sind mit 108 min nach 10 mg Kreatinin/ kg identisch mit dem Wert von Labato und Ross und mit 90 min nach 20 mg Kreatinin/ kg noch im Bereich von deren Standardabweichung. Der Kreatininclearancewert von 5,04 bzw. 5,01 ml/ min/ kg ist niedriger als der von Labato und Ross ermittelte Wert. Beim Vergleich dieser Ergebnisse muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß in diesem Vorversuch nur drei Hunde pro Kreatinindosis eingesetzt wurden.

Grundsätzlich ist aber kein entscheidender Unterschied der von Labato und Ross berechneten Werte zu denen aus diesem Vorversuch zu sehen.

REHLING et al. (1984) haben die Differenz zwischen der renalen Clearance und der Plasmaclearance von drei Referenzmarkern der GFR (Inulin, DTPA, EDTA) beim Menschen untersucht. Für alle drei fanden sie heraus, daß die Plasmaclearance die renale Clearance überschätzte. Jedoch nur um ca. 14 % (DTPA, EDTA) bzw. um ca. 23 % (Inulin). Somit steht die von Labato und Ross berechnete Plasmaclearance von Kreatinin, die um den Faktor 2,2 (115 %) höher liegt als die gleichzeitig bestimmte renale Kreatininclearance eventuell in Frage.

Die für den Hund in der Literatur angegebene umfangreichste Studie (n=75) für die renale Kreatininclearance bezogen auf ml/ min/ kg (HOUCK 1948) nennt 4,3 ml/ min/ kg (in einem Bereich von 2,2 bis 8,3 ml/ min/ kg) als Normalwert. Eine weitere mit n=17 (LOW 1956) 4,2 ml/ min/ kg (in einem Bereich von 3,2 bis 4,9 ml/ min/ kg) als Normalwert. Ausgehend von diesen Angaben liegt die Plasmaclearance in diesem Vorversuch ca. 18 % über der renalen Clearance, ein Prozentwert der im Bereich der Arbeit von REHLING et al. liegt.

Aufgrund der deutlich geringeren Serumeliminationsgeschwindigkeit ab dem Zeitpunkt 15 min nach Applikation kann davon ausgegangen werden, daß die Verteilungsphase des Kreatininbolus zu diesem Zeitpunkt abgeschlossen ist. Auch ist nach 15 min ein Vielfaches der ersten Halbwertzeit ( $t_{1/2}$  (1)) und das Doppelte der zweiten Halbwertzeit ( $t_{1/2}$  (2)) verstrichen, so daß statistische Berechnungen ab diesem Zeitpunkt von der Verteilungsphase nicht mehr beeinflusst werden. In den folgenden Versuchsreihen nach diesem Zeitpunkt auftretende Unterschiede sind daher auf die gleichzeitig mit dem Kreatininbolus injizierten Substanzen zurückzuführen.

## Versuch 1

In der Vergangenheit haben sich schon einige Arbeitsgruppen mit der Verwendung eines exogenen Kreatininbolus, mit dem Ziel die glomeruläre Filtrationsrate beim Hund zu bestimmen, beschäftigt (LABATO und ROSS 1991, LEE et al. 1983, FINCO et al. 1982).

Bisher ist in der Literatur jedoch keine Methode beschrieben worden, in der versucht wurde, über die Serumelimination eines solchen intravenösen Kreatininbolus den Einfluß von Röntgenkontrastmitteln auf die Niere zu charakterisieren.

Nach der i.v.-Applikation von hochosmolaren Röntgenkontrastmitteln (high-osmolar contrast media - HOCM) kommt es an der Niere zu einem akuten Abfall vor allem der glomerulären Filtrationsrate (GFR), auch schon bei Hunden mit normaler Nierenfunktion (KATZBERG et al. 1983c, WHITENECK et al. 1983, FORREST et al. 1981). Das Ausmaß des Absinkens der glomerulären Filtrationsrate ist aber außer von der applizierten Dosis des Röntgenkontrastmittels auch noch von anderen Faktoren abhängig.

Ein wichtiger Faktor ist die Osmolalität der eingesetzten RKM: durch die Verwendung niedrigosmolarer RKM (nicht-ionische Monomere) statt hochosmolarer RKM konnte an einem Hundemodell der Abfall der glomerulären Filtrationsrate nach Kontrastmittelapplikation minimiert werden (KATZBERG et al. 1986c und 1990).

Auch die Lokalisation der RKM-Applikation ist von Bedeutung: Nach Injektion in die Aorta kommt es nur zu einer 10-fachen Verdünnung des RKM bis in die Nierenarterie im Gegensatz zu einer 40-fachen Verdünnung nach Applikation in eine Vene der Vordergliedmaßen (MUDGE 1980) und damit zu einer höheren Kontrastmittelkonzentration in der Niere. Eine intrarenale Injektion direkt in die Nierenarterie hat sogar einen noch stärkeren Abfall der GFR zur Folge und außerdem ist dieser schon sehr schnell nach Applikation feststellbar (bei KATZBERG et al. 1983c tritt der maximale Abfall der GFR nach HOCM-Applikation schon nach 45 sec auf).

Der Flüssigkeitsstatus des Tieres spielt eine große Rolle: dehydrierte Hunde weisen im Vergleich mit ausreichend hydrierten Tieren einen signifikant reduzierten Ausgangswert für die glomeruläre Filtrationsrate auf (KATZBERG et al. 1983c). Mit diesem Dehydratationsmodell konnten nach i.v.-Applikation am Hund cardiogene Schockzustände provoziert werden, die in einem Fall sogar zum Tode eines Tieres führten.

Andererseits haben RAMSEY und COXON (1967) festgestellt, daß durch intravenöse Infusion isotoner Kochsalzlösung (1,7 ml/ min) die glomeruläre Filtrationsrate beim Hund angehoben wird.

Auch durch Vorschädigungen kann der Effekt eines Röntgenkontrastmittels auf die glomeruläre Filtrationsrate verstärkt werden: Ein klinisch relevantes Tiermodell an der Spezies Hund, das gut geeignet erscheint, einen pathophysiologischen Risikokomplex für die kontrastmittelinduzierte Nephropathie zu simulieren, ist von MARGULIES et al. (1990) entwickelt worden. Dabei wird durch einen vorher implantierten Herzschrittmacher und einer damit induzierten Herzfrequenz von 250 Schlägen pro Minute innerhalb einer Woche eine chronische Herzinsuffizienz erzeugt. Bei Tierexperimenten an so vorgeschädigten Hunden wurde der Effekt einer i.v.-Röntgenkontrastmittelgabe (7 ml/ kg über 10 min) auf die endogene Kreatininclearance über sechs Tage (chronische Auswirkungen) und auf die renale Inulinclearance über 120 min (akute Auswirkungen) untersucht.

Dabei zeigte sich in den chronischen Experimenten ein signifikanter Abfall der endogenen Kreatininclearance vom zweiten bis zum fünften auf die Kontrastmittelinjektion folgenden Tag und in den akuten Untersuchungen ein signifikanter Abfall der GFR noch während der Röntgenkontrastmittelapplikation und in der folgenden Clearanceperiode 0 bis 30 min nach Applikation (MARGULIES et al. 1990).

In vergleichenden Versuchen mit gesunden Hunden (ohne Herzschrittmacher-induzierte chronische Herzinsuffizienz) bezüglich der chronischen Auswirkungen der RKM-Gabe konnte diese Arbeitsgruppe keine Veränderung der endogenen Kreatininclearance innerhalb der beobachteten sechs Tage feststellen.

Die Auswirkungen einer i.v.-Injektion von 4 ml/kg Angiografín® (=1,2 g Jod/kg) auf die Elimination des Kreatininbolus wurden in Versuch 1 der vorliegenden Arbeit untersucht. Dabei lagen die Serumkreatininkonzentrationen insgesamt über denen der Kontrollgruppe, und die Varianzanalyse ergab signifikante Unterschiede ab dem Zeitpunkt 30 min nach Applikation. Die verzögerte Serumelimination des Kreatinins nach RKM-Gabe, die auch in der graphischen Darstellung gut zu erkennen ist, manifestiert sich im Vergleich der pharmakokinetischen Auswertung von Röntgenkontrastmittelgruppe und Kontrollgruppe. Für die Angiografín®-Behandlung ergibt sich im Vergleich mit der NaCl-Kontrolle eine um 39 % herabgesetzte Serumkreatininclearance, die mit einer um 53 % verlängerten Ausscheidungshalbwertszeit des Kreatinins korrespondiert.

Hochosmolare Röntgenkontrastmittel bewirken einen deutlichen Abfall der glomerulären Filtrationsrate beim Hund (KATZBERG et al. 1983a), und da Kreatinin beim Hund ausschließlich glomerulär filtriert wird, kann die hier beobachtete herabgesetzte Serumkreatininclearance auf die kontrastmittelinduzierte Reduktion der GFR zurückgeführt werden. Es kommt zu einer über die Zeit verzögerten Ausscheidung des Kreatininbolus, und die damit einhergehende Retention des Kreatinins zeigt sich im Vergleich zur Kontrolle in erhöhten Serumkreatininwerten.

Somit scheint sich die Vorstellung zu bestätigen, mit der Verwendung eines exogenen Kreatininbolus den Einfluß eines hochosmolaren Röntgenkontrastmittels auf die Niere beim nicht vorgeschädigten Hund zeigen zu können.

Im Vergleich mit anderen Modellen bei denen das Versuchstier Hund verwendet wurde, um den Effekt von Röntgenkontrastmitteln auf die glomeruläre Filtrationsrate zu untersuchen, verbindet dieses neue Tiermodell mehrere Vorteile miteinander:

- Die Experimente sind mit nicht allzu großem versuchstechnischem Aufwand durchzuführen.
- Das Versuchsdesign ist mit seinem Applikationsmodus (i.v.-Applikation und der max. diagnostischen Dosis von 1,2 g Jod/kg KGW) realistisch und praxisnah.
- Aufgrund der fehlenden Instrumentierung können die Hunde mehrmals verwendet werden und die Auswirkungen invasiver Maßnahmen auf die Versuchsergebnisse müssen nicht berücksichtigt werden.
- Dadurch, daß eine Narkose nicht nötig ist, fällt auch dieser nicht genau abschätzbare Einfluß auf das Versuchstier weg.
- Es werden Hunde mit normaler Nierenfunktion verwendet; auf eine Vorschädigung der Tiere kann verzichtet werden.

Die Betrachtung der über die gesamte Versuchsdauer durch das Röntgenkontrastmittel verursachten Änderung der glomerulären Filtrationsrate, zusammengenommen in einem Parameter, macht es möglich, den „Nettoeinfluß“ des Röntgenkontrastmittels auf die GFR zu quantifizieren. Allerdings ist es mit diesem Ansatz nicht möglich, den Verlauf der glomerulären Filtrationsrate über die Zeit nach einer Substanzgabe zu verfolgen. Somit kann auch keine Aussage z.B. über den maximalen Abfall der GFR im Verlauf eines Versuchs gemacht werden oder zu welchem Zeitpunkt nach Applikation ein solcher minimaler Wert für die glomeruläre Filtrationsrate erreicht wird.

Es wäre ja sogar denkbar, daß ein Anstieg der glomerulären Filtrationsrate gefolgt von einem ebenso großen Abfall der GFR sich gegenseitig kompensieren könnten und daraus ein Mittelwert für die glomeruläre Filtrationsrate über die Versuchsdauer berechnet wird, der sich nicht von der Kontrolle unterscheidet.

Diese Einschränkungen müssen bei der Interpretation der mit diesem Tiermodell ermittelten Werte beachtet werden.

Anzumerken bleibt für diesen Versuch nur noch, daß mit  $n=3$  eine relativ geringe Anzahl von Hunden pro Behandlungsgruppe verwendet wurde und auch interindividuelle Unterschiede durch die Verwendung verschiedener Tiere in den Vergleich beider Gruppen mit einfließen.

## Versuch 2

Es sind in der Vergangenheit viele Anstrengungen unternommen worden, den exakten Mechanismus für den schon weiter oben beschriebenen akuten Abfall der glomerulären Filtrationsrate als kennzeichnenden Vorgang des akuten, kontrastmittelinduzierten Nierenversagens aufzuklären. Der vollständige und präzise Mechanismus der kontrastmittelinduzierten Nephropathie konnte allerdings immer noch nicht aufgeklärt werden (DORPH 1995).

Von vielen Erklärungsversuchen und Theorien werden zwei Angriffspunkte der Röntgenkontrastmittel an der Niere als die durch bisherige Studien am besten gesicherten betrachtet: zum einen ein hämodynamischer (vaskulärer) Mechanismus und zum anderen eine direkte tubuläre Schädigung (KATZBERG 1997; DORPH 1995; IDÉE et al. 1994).

Schon 1969 wurde durch Versuche an Hunden gezeigt, daß es nach i.v.-Gabe ionischer, monomerer Röntgenkontrastmittel mit gestaffelten Osmolalitäten zu einer verringerten renalen Extraktion von Paraaminohippursäure (PAH) kommt und daß equiosmolale NaCl-Lösungen im Vergleich dazu nur geringe Auswirkungen auf die PAH-Extraktion haben (DANFORD et al. 1969). Auch DiBONA (1978) untersuchte die renale Extraktion von PAH nach Applikation sowohl hochosmolarer als auch blutisotoner Lösungen von Röntgenkontrastmitteln und NaCl mit dem Ergebnis, daß sowohl die hyperosmolaren wie auch die isotonen RKM-Lösungen die PAH-Extraktion herabsetzen, während die hyperosmolare NaCl-Lösung keinen Effekt zeigt.

Diese Ergebnisse werden auf direkte tubuläre Schäden durch den jodierten, organischen Teil des Röntgenkontrastmittelmoleküls (seine Chemotoxizität) zurückgeführt und nicht auf seine Osmolalität (durch die eingeschränkte Funktion der Tubuluszellen kommt es zu einer verringerten PAH-Sekretion und folglich zu der herabgesetzten Extraktion von PAH).

Von TALNER und DAVIDSON (1968b) konnte gezeigt werden, daß es nach Applikation einer 4,5 %igen NaCl-Lösung mit einer Osmolalität von 1460 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O zu einem vergleichbaren Abfall des renalen Blutflusses (RBF) wie nach hochosmolaren, ionischen RKM kommt. In einer anderen von KATZBERG et al. (1977) durchgeführten Untersuchung wurde eine direkte Proportionalität zwischen dem RBF-Abfall und der Osmolalität der applizierten Kochsalzlösung nachgewiesen.

Die Abhängigkeit der Auswirkungen einer RKM-Applikation auf die glomeruläre Filtrationsrate (und auch des renalen Blutflusses) von der Osmolalität wurde dann von FORREST et al. (1981) mit einem Hundemodell untersucht. In dieser Arbeit wird von dem fast identischen Abfall der GFR nach einem hochosmolaren RKM-Bolus (8 ml/ kg) und dem 8 ml/ kg-Bolus einer equimolaren Mannitollösung berichtet. Auch in einer weiteren Hundestudie, bei der unterschiedliche Clearance-Techniken zur Untersuchung der renalen Hämodynamik nach Applikation von Röntgenkontrastmitteln verglichen wurden, waren die Auswirkungen von Amidotrizoat auf die Niere ähnlich denen einer gleichosmolalen 25 %igen Mannitollösung (KATZBERG et al. 1986b).

Inwieweit das neue Hundemodell ebenfalls in der Lage ist, diese Abhängigkeit der reduzierten glomerulären Filtrationsrate von der Osmolalität des Röntgenkontrastmittels aufzuzeigen bzw., anders ausgedrückt, ob der mit diesem Modell aufgezeigte Einfluß des Angiografin<sup>®</sup> auf die GFR einzig durch die Osmolalität bedingt ist, sollte in Versuch 2 dieser Arbeit geklärt werden.

Dazu wurde, in Anlehnung an das Vorgehen von KATZBERG et al. (1986b) und FORREST et al. (1981), neben der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe eine Kontrollgruppe mit einer dem Angiografin<sup>®</sup> gleichosmolalen Mannitollösung behandelt.

Zur Herstellung einer Mannitollösung mit einer dem Angiografin<sup>®</sup> äquivalenten Osmolalität wäre eine ca. 24-25 %ige Lösung nötig. Aufgrund einer maximalen Löslichkeit des Mannit in Wasser von knapp 19 % (MERCK INDEX, 11<sup>th</sup> Ed., 1989) wurde eine stabile Lösung mit der gewünschten Osmolalität deshalb durch die zusätzliche Verwendung des Mannit-Isomers Sorbit erreicht. Eine Lösung mit 1530 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O konnte durch Zugabe von 5,6 % Sorbit zu einer 18 %igen Mannitollösung hergestellt werden.

Um die Aussagekraft der in diesem Versuch erzielten Ergebnisse zu erhöhen und eine breitere Datenbasis für die statistische Auswertung zu besitzen, wurden für die Behandlungsgruppe und die Mannitkontrolle jeweils sechs Hunde verwendet (n=6). Desweiteren wurde der Versuch als ein 2-facher Cross-Over-Versuch angelegt, d. h. die gleichen Tiere wurden für beide Applikationen verwendet. Damit konnte der Einfluß von interindividuellen Unterschieden auf die Ergebnisse beider Gruppen eliminiert werden. Einem denkbaren Einfluß der Reihenfolge der Applikationen aufeinander wurde mit diesem Verfahren dadurch entgegengetreten, daß drei der Hunde zuerst mit dem Röntgenkontrastmittel und die anderen drei zuerst mit der Mannitollösung behandelt wurden. Außerdem wurde ein zeitlicher Abstand von mindestens sieben Tagen zwischen der 1. und der 2. Applikation eingehalten.

Die bei diesem Versuch erzielten Mittelwerte der Serumkreatininwerte für beide Behandlungsgruppen sind fast identisch, und die Verläufe der Ausscheidungskurven sind deckungsgleich. Auch die pharmakokinetische Auswertung ergibt keinerlei signifikante Unterschiede zwischen der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlung und der Mannitkontrolle. Die bei der 1. Applikation sowohl bei den mit Angiografin<sup>®</sup> behandelten Hunden wie auch bei der

Mannitolkontrolle im Vergleich zur 2. Applikation höheren Serumkreatininwerte sind darauf zurückzuführen, daß die bei der 1. Applikation verwendete Kreatininlösung mit 21,58 mg/ ml versehentlich eine höhere Konzentration aufwies als die Kreatininlösung der 2. Applikation (20,35 mg/ ml). Durch die Zusammenfassung der beiden Applikationen zu einem Mittelwert kommt dieser Unterschied allerdings nicht zum Tragen.

Alle Ergebnisse weisen eindeutig darauf hin, daß der Einfluß der i.v.-Applikation des hoch-osmolaren Röntgenkontrastmittels auf die Ausscheidung des Kreatininbolus (und damit auf die glomeruläre Filtrationsrate), der mit diesem Tiermodell in Versuch 1 gezeigt werden konnte, ausschließlich auf die Hyperosmolalität des Angiografin<sup>®</sup> zurückzuführen ist. Die Frage nach einem eventuell vorhandenen chemotoxischen Potential des Angiografin<sup>®</sup> konnte nicht beantwortet werden.

### Versuch 3

In den 60er Jahren wurde deutlich, daß ein großer Teil der durch die hochosmolaren Röntgenkontrastmittel hervorgerufenen Nebenwirkungen vor allem auf den hohen osmotischen Druck der konzentrierten Kontrastmittellösungen zurückzuführen ist. Diese Einsicht gab den Anstoß zur Entwicklung von Röntgenkontrastmitteln mit niedrigerer Osmolalität (Speck 1991). Der Endpunkt dieser Bemühungen zur Senkung der Osmolalität stellen die nicht-ionischen, dimeren Röntgenkontrastmittel mit einer dem Blut entsprechenden Osmolalität dar.

Das Iotrolan, das erste nicht-ionische Dimer, weist bei der Jodkonzentration von 300 mg/ ml (Isovist<sup>®</sup>-300) eine Osmolalität von 291 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O auf (KRAUSE et al. 1994). Das Blutplasma besitzt eine Osmolalität von 290 mosmol/ kg H<sub>2</sub>O (SILBERNAGEL 1988).

Aufgrund ihrer physikochemischen Eigenschaften besitzen niedrigosmolare Röntgenkontrastmittel (low-osmolar contrast media - LOCM) theoretisch eine im Vergleich zu den hochosmolaren Röntgenkontrastmitteln bessere allgemeine und auch renale Verträglichkeit (SPECK 1991). Daher sind LOCM auch in der Vergangenheit immer häufiger bei radiologischen Untersuchungen eingesetzt worden (DERAY und JACOBS 1996).

Das geringere nephrotoxische Potential der niedrigosmolaren Röntgenkontrastmittel ist experimentell vielfach nachgewiesen worden: z.B. in in vitro-Versuchen an renalen proximalen Tubuluszellen (HUMES et al. 1987), mit Hilfe der isolierten, perfundierten Rattenniere (OLDROYD et al. 1994a) oder auch in vivo an einem Rattenmodell (DERAY et al. 1990) und an einem Hundemodell (KATZBERG et al. 1986c).

Klinische Studien, in denen die bessere Verträglichkeit von niedrigosmolaren Röntgenkontrastmitteln untersucht worden ist, kommen zu nicht ganz einheitlichen Ergebnissen. Aber KATHOLI et al. (1993) konnten in einer umfangreichen doppelblinden Studie einen größeren und länger anhaltenden Abfall der Kreatininclearance nach HOCM als nach LOCM zeigen. Noch deutlicher werden die Aussagen über den Vorteil der niedrigosmolaren Röntgenkontrastmittel in klinischen Studien die an Patienten mit schon bestehender Niereninsuffizienz durchgeführt wurden (BARRETT et al. 1993, BERNS und RUDNICK 1992, HARRIS et al. 1991).

Diese Erkenntnisse haben dazu geführt, daß die niedrigosmolaren Röntgenkontrastmittel heute für Risikopatienten unbedingt empfohlen werden (DERAY und JACOBS 1996,

BERNS und RUDNICK 1992) und die nicht-ionischen, monomeren Röntgenkontrastmittel Iopamidol, Iohexol und Iopromid als „Goldstandard“, an dem sich jedes neue Röntgenkontrastmittel messen lassen muß, betrachtet werden (CLAUB et al. 1995).

Durch das Design des hexajodierten Dimers beim Iotrolan sind im Vergleich zu den LOCM nur noch die halbe Anzahl von RKM-Molekülen nötig, um die gleiche Jodkonzentration zu erreichen. Somit halbiert sich auch die Osmolalität und entspricht damit der des Blutes. Außer durch die Tatsache, daß es sich hierbei auch um ein nicht-ionisches, und damit ungeladenes, Kontrastmittelmolekül handelt, wird eine noch niedrigere Molekültoxizität (Chemotoxizität) als bei den nicht-ionischen Monomeren durch mehrere hydrophile Seitenketten an dem Molekül erreicht, die den hydrophoben Kern teilweise abschirmen. Die iso-Osmolalität und die minimale Chemotoxizität verbinden sich zu einer äußerst geringen organspezifischen und systemischen Toxizität (DAWSON 95). Aufgrund seiner Molekülgröße weist das dimere Iotrolan allerdings eine deutlich höhere Viskosität als die monomeren Röntgenkontrastmittel auf und damit einen größeren Widerstand bei schneller Injektion durch i.v.-Katheter.

Das Fehlen elektrischer Ladungen und die Hydrophilie wirken sich in geringerer Proteinbindung und Enzymhemmung aus sowie in einer verminderten Beeinträchtigung der Funktion biologischer Membranen (SPECK 1991). Diese Zusammenhänge konnten für Iotrolan im Vergleich mit HOCM und LOCM auch experimentell anhand von in vitro-Versuchen gezeigt werden (SPECK 1995) und äußern sich in einem sogar noch weiter gefaßten Dosis-Sicherheitsbereich als er für die nicht-ionischen Monomere existiert (DAWSON 1995).

Daß Iotrolan auch in sehr hohen Dosen verträglich ist, zeigt die mit 28,3 g Jod/ kg KGW im Vergleich zu LOCM um den Faktor 10 höhere LD<sub>50</sub> bei der Ratte (MÜTZEL et al. 1989) .

Der osmolalitätsbedingte Einfluß des Angiografins<sup>®</sup> auf die Serumkreatininclearance, der mit dem neuen Hundemodell in den vorangegangenen Versuchen gezeigt werden konnte, sollte in einem weiteren Cross-Over-Versuch mit dem Einfluß des Isovist<sup>®</sup>-300 auf die Kreatininbolusausscheidung verglichen werden. Die Kontrollgruppe erhielt bei diesen Tierexperimenten isotone Kochsalzlösung verabreicht.

Wieder wurden durch das (hier jetzt 3-fache) Cross-Over-Verfahren interindividuelle Unterschiede eliminiert und der zeitliche Mindestabstand von einer Woche zwischen den einzelnen Behandlungen eingehalten. Mit den sechs Hunden, und bei insgesamt 18 Experimenten, wurde jede mögliche Aufeinanderfolge der drei Applikationen einmal durchgeführt, um somit auch einen Effekt der einen Behandlung auf die darauf folgende auszuschalten.

Desweiteren wurde eine Modifikation der Applikationsgeschwindigkeit der applizierten Substanzen auf 1 ml/ sec vorgenommen, um sich mit dem Versuchsdesign weiter einer realistischen Anwendung der Röntgenkontrastmittel anzunähern. Für die Injektion wurde ein in der Computertomographie gebräuchlicher CT-Injektor verwendet, der zudem die zu applizierenden Substanzen auf Körpertemperatur vorwärmt. Das Anwärmen der Röntgenkontrastmittel ist ein auch in der Praxis übliches Vorgehen und führt zu einer verringerten Viskosität des Isovist<sup>®</sup>-300, das dadurch mit einem geringeren Druck in die Vorderbeinvene appliziert werden kann. Das Anwärmen der zu applizierenden Kontrastmittellösungen wird vor allem bei der Verwendung von hoch-viskösen Röntgenkontrastmitteln und kleinelumigen Kathetern zur Erhöhung der möglichen Flußrate empfohlen (HALSELL 1987).

Durch das Temperieren auf 37°C wird der Unterschied bezüglich der Viskosität zwischen den beiden zu untersuchenden Röntgenkontrastmitteln verringert (Viskositätsdifferenz -  $\Delta$  mPas - zwischen Iotrolan und Amidotrizoat: 8,2 bei 20°C, 3,6 bei 37°C (Krause 1994)).

Durch die gesteigerte Applikationsgeschwindigkeit sollte außerdem die Kontrastmittelmenge, die pro Zeiteinheit in die Nierenarterie gelangt, erhöht und damit eine Verstärkung der kontrastmittelinduzierten Effekte erreicht werden.

DAWSON (1993) beschreibt eine Zunahme der Toxizität bei schneller Injektion hoher Kontrastmitteldosen und verweist auf BERNSTEIN et al. (1961), die eine LD<sub>50</sub> beim Hund von 2,7 g / kg nach schneller Injektion von Natriumamidotrizoat ermittelt haben (im Gegensatz zu einer LD<sub>50</sub> von 13,2 g/ kg nach langsamer Injektion).

Sollte die Beeinflussung der Ausscheidung des Kreatininbolus ausschließlich auf die Osmolalität des Röntgenkontrastmittels zurückzuführen sein, wäre erwartet worden, daß es nach Applikation des Isovist<sup>®</sup>-300 zu dem gleichen Verlauf der Serumkreatininkonzentrationen kommt wie nach Gabe von isotoner NaCl-Lösung.

Auch bei diesem Versuch ist die schon aus in den vorangegangenen Versuchen bekannte Ausscheidungskinetik des Kreatininbolus festzustellen: Auf den schnellen Abfall des Serumkreatininspiegels in der Verteilungsphase folgt eine Phase der reinen renalen Elimination, mit einer deutlich langsameren Serumkreatininausscheidung.

Die für die Kontrollgruppe gemittelten Serumkreatininwerte nach Applikation von isotoner Kochsalzlösung sind annähernd identisch mit den Mittelwerten der NaCl-Kontrolle in Versuch 1. Die Serumkreatininmittelwerte nach Angiografin<sup>®</sup>-Applikation liegen im Vergleich zu den Mittelwerten der RKM-Gruppe aus Versuch 2 allerdings etwas höher.

Die Eliminationskurve des Kreatininbolus nach Isovist<sup>®</sup>-Behandlung liegt bei diesem Versuch zwischen den beiden anderen Versuchsgruppen, ist aber nicht identisch mit der Eliminationskurve der Kontrollgruppe.

Die statistische Auswertung mit der Varianzanalyse zeigt, daß die Mittelwerte nach Angiografin<sup>®</sup>-Behandlung über einen Zeitraum von beinahe vier Stunden (Meßzeitpunkte 15 bis 240 min nach Applikation) signifikant über denen der NaCl-Kontrolle liegen, wohingegen sich nur zu zwei Zeitpunkten die Serumkreatininwerte der Isovist<sup>®</sup>-Gruppe signifikant von der Kontrolle unterscheiden. An diesem Punkt ist ein osmolalitäts-unabhängiger, molekültoxischer Effekt des Iotrolans noch nicht zweifelsfrei erkennbar.

Bei der Zusammenfassung der TOPFIT-Ergebnisse für die drei Behandlungsgruppen zeigen sich für die Isovist<sup>®</sup>-Behandlung jedoch, mit einer im Vergleich um 23 % vergrößerten AUC und einer um 20 % verminderten Serumkreatininclearance, signifikante Abweichungen von der Kontrollgruppe.

Die signifikanten Unterschiede zwischen der Angiografin<sup>®</sup>-Applikation und der Kochsalzkontrolle sind: eine um 29 % verlängerte terminale Halbwertszeit, die Vergrößerung der AUC um 42 % und eine um 31 % verringerte Serumkreatininclearance.

Für die im Vergleich zu den Ergebnissen des zweiten Versuchs noch stärkere Beeinflussung der pharmakokinetischen Parameter nach Angiografin<sup>®</sup>-Applikation muß die erhöhte Kontrastmittelapplikationsgeschwindigkeit verantwortlich gemacht werden.

Die Ergebnisse der Isovist<sup>®</sup>-Applikation lassen nur die Schlußfolgerung zu, daß das Iotrolanmolekül trotz Blutisotonie und Hydrophilie eine gewisse osmolalitätsunabhängige Chemotoxizität besitzt, die die Ursache für die hier mit diesem Modell nachgewiesene Beeinträchtigung der Nierenfunktion ist.

Diese auf einem in vivo Tiermodell, das von anderen Störeinflüssen wie Narkose oder starker Instrumentalisierung weitestgehend unbeeinflusst ist, gegründete These wird auch von anderen experimentellen Ergebnissen gestützt.

Oldroyd et al. (1994a) haben an der isolierten, perfundierten Rattenniere nach Iotrolan eine im Vergleich zu Amidotrizoat und dem niedrigosmolaren RKM Iopromid geringere Beeinträchtigung der Nierenfunktion festgestellt. Der maximale durch Iotrolan bedingte Abfall der GFR (gemessen als <sup>14</sup>C-Inulin-Clearance) war mit 24,7 % signifikant niedriger als der durch Amidotrizoat (-40,6 %) und auch niedriger als der durch Iopromid (-34,2 %). Gleichartige Einflüsse hatten die drei Röntgenkontrastmittel auf den renalen Durchfluß der Perfusionslösung.

Die Autoren kommen zu dem Schluß, daß die Beeinflussung der Nierenfunktion durch Iotrolan auf einen Effekt der Molekülstruktur zurückzuführen sein könnte und daß auch andere Röntgenkontrastmittel, in unterschiedlichen Ausprägungen, einen solchen molekularen Effekt (= Molekültoxizität bzw. Chemotoxizität) besitzen könnten. Weiter weisen sie auf die Möglichkeit hin, daß in diesem Fall die unterschiedliche Beeinflussung der Nierenfunktion durch hochosmolare und durch isotone Röntgenkontrastmittel (iso-osmolar contrast media - IOCM) dann auch, neben ihrer unterschiedlichen Osmolarität, auf ihre unterschiedliche Molekülstruktur zurückzuführen ist.

UEDA et al. (1992) haben mit der Technik der Mikropunktion bei der Ratte den Einfluß von Röntgenkontrastmitteln auf die glomeruläre Filtrationsrate einzelner Nephrone (single-nephron glomerular filtration rate - SNGFR) untersucht. Während sowohl HOCM wie auch LOCM keine Änderung der SNGFR bewirkten, zeigte sich nach Iotrolan ein anhaltender Abfall der SNGFR.

Bei gleicher Joddosis ist die Konzentration monomerer RKM im Primärharn doppelt so hoch wie die des dimeren Iotrolan. Auch kommt es durch das größere osmotische Potential der HOCM und der LOCM zu einer viel stärkeren osmotischen Diurese als durch das Iotrolan. Durch diese verringerte Beeinträchtigung der Wasserrückresorption aus dem Nierentubulus erhöht sich die intratubuläre Iotrolankonzentration noch weiter (UEDA et al. 1992).

Dimere Röntgenkontrastmittel sind stärker viskös als monomere und stärker konzentrierte Kontrastmittellösungen besitzen eine sogar noch größere Viskosität (SPECK et al. 1983). Die Viskosität des Iotrolan vergrößert sich außerdem bei steigender Konzentration exponentiell (SPECK et al. 1995).

Die so erreichte sehr hohe intratubuläre Viskosität nach Gabe von Iotrolan bewirkt einen Anstieg des intratubulären Drucks und damit den Abfall der SNGFR. Der geringe osmotische Effekt des Iotrolans und dieser Abfall der glomerulären Filtrationsrate führt zu einer verlangsamten Ausspülung der Kontrastmittelmoleküle aus dem Tubulus und somit zu einer verlängerten Ausscheidungsdauer für Iotrolan (UEDA et al. 1992).

Die Hypothese des viskositätsbedingten Anstiegs des intratubulären Drucks durch Iotrolan als Ursache für den Abfall der SNGFR wurde von Ueda und seinen Mitarbeitern in einer weiteren Rattenstudie überprüft und bestätigt (UEDA et al. 1993). Sie postulieren, daß aufgrund der bis zu den Sammelrohren immer weiter ansteigenden Konzentration des Primärharns der mit dem Iotrolan beladene Urin dort seine höchste Viskosität erreicht.

Damit wären die Sammelrohre der entscheidende Ort des Geschehens für den behinderten Urinfluß.

Zu diesen Ergebnissen kommentieren DERAY und JACOBS 1996, daß nicht-ionische Dimere die glomeruläre Filtrationsrate und den renalen Blutfluß mindestens im gleichen Ausmaß beeinflussen wie niedrigosmolare Röntgenkontrastmittel.

#### Vorversuch B:

Das im Rahmen der vorliegenden Dissertation entwickelte Tiermodell ist in der Lage, die Auswirkungen einer Röntgenkontrastmittelapplikation auf die Serumkreatininclearance beim nicht vorgeschädigten Hund aufzuzeigen. Dabei ergeben sich sowohl für das hochosmolare RKM Angiografín<sup>®</sup> wie auch für das blutisotone RKM Isovist<sup>®</sup>-300 signifikante Unterschiede bezüglich der Serumkreatininclearance im Vergleich zu einer Kochsalzkontrolle.

Um nachzuweisen, daß für diesen Abfall der Serumkreatininclearance die Reduzierung der glomerulären Filtrationsrate durch die Röntgenkontrastmittel verantwortlich ist, sollte in einer weiteren Reihe von Tierexperimenten (Versuch 4) die GFR mittels der renalen Clearance des Polyfruktosans Inulin bestimmt werden.

Die Inulin-clearance wird aufgrund ihrer Genauigkeit und Präzision auch als der „Goldstandard“ bzw. die Referenzmethode zur Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate betrachtet (LEVEY 1991, SMITH 1951). Die Clearance von radioaktiv markiertem Inulin entspricht vollkommen der von chemisch unverändertem, „kaltem“ Inulin und die einfache und bequeme Messung der Aktivität im Probenmaterial spricht zugunsten der Verwendung radioaktiver Clearance-Marker, soweit die notwendige analytische Ausrüstung zur Verfügung steht (LEVINSKY und LIEBERTHAL 1992).

Neben Inulin als Marker für die glomeruläre Filtrationsrate sollte außerdem die PAH-Clearance als Maß für den renalen Plasmafluß bestimmt werden.

Für die Durchführung eines klassischen Clearanceversuchs verwendet man eine Dauerinfusions-Technik, mit der eine konstante Markerkonzentration im Plasma aufrechterhalten wird. Bis zum Erreichen eines Fließgleichgewichts (steady-state - ss), bei dem die Infusionsrate der Marker ihrer Ausscheidungsrate entspricht, ist ein recht langer Zeitraum nötig (nach 4 bis 5 HWZ ist die angestrebte Plasmakonzentration zu 94 bis 97 % erreicht). Diese lange Phase der Equilibrierung kann durch die Gabe einer Initialdosis, die zur Auffüllung des Verteilungsvolumen der Marker dient, verkürzt werden.

Um die Initialdosis zu berechnen, wird neben der angestrebten Plasmakonzentration das Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht ( $V_{ss}$ ) der Marker benötigt.

Zur Ermittlung der Infusionsrate der beiden radioaktiven Clearance-Marker, die nötig ist, um anschließend die Plasmakonzentration über die Versuchsdauer aufrechtzuerhalten, muß die glomeruläre Filtrationsrate der Beagle-Hunde bestimmt werden.

Die für die Berechnung von Initial- und Erhaltungsdosis der radioaktiven Marker nötigen pharmakokinetischen Parameter zu bestimmen und zu überprüfen, war der Zweck von Vorversuch B.

Im Teil 1 dieses Vorversuchs wurden nach i.v.-Injektion von jeweils 1  $\mu\text{Ci}/\text{kg}$   $^{14}\text{C}$ -Inulin und  $^3\text{H}$ -PAH die Aktivität der über sechs Stunden gewonnenen Serum- und Harnproben gemessen. Daraufhin wurden die Parameter Halbwertszeit, Plasmaclearance, Verteilungsvolumen im Fließgleichgewicht und die renale Clearance für beide Marker bestimmt. Das Verteilungsvolumen für Inulin liegt mit 0,23 l/kg im Bereich eines  $V_{ss}$  von 22 % des KGW von dem z.B. auch WHITENECK et al. (1983) ausgehen. Der für die renale Inulinclearance erhaltene Wert von 3,8 ml/min/kg wird von den Ergebnissen einer Studie bei 32 Hunden (ASHEIM et al. 1961) gestützt, die zu einem Mittelwert von 3,77 ml/min/kg kommt.

In Teil 2 dieses Vorversuchs wurden dann probeweise zwei Clearanceversuche mit der Dauerinfusions-Technik durchgeführt, um alle einzelnen Schritte der später im Versuch 4 verwendeten Versuchsanordnung auf ihre Praktikabilität hin zu überprüfen. Außerdem sollten die Initial- und Erhaltungsdosen überprüft werden, die mit Hilfe der in Teil 1 erhaltenen Parameter berechnet worden waren.

Zusammen mit den „heißen“ Clearance-Markern war auch „kaltes“ Inulin und PAH in der Initial- und Erhaltungsdosis enthalten, die auf identische Art und Weise berechnet wurden. Die verwendete Inulindosis (PAH-Dosis) von initial 45,5 mg/kg (18,5 mg/kg) und 1 mg/min/kg (0,4 mg/min/kg) zur Erhaltung entspricht fast genau den auch in anderen Studien verwendeten Markermengen (KARLSEN et al. 1990, IZZAT und ROSEBOROUGH 1989, HALL et al. 1977).

Die Infusionsrate der Dauerinfusionslösung 0,15 ml/min/kg wurde gewählt, um zusammen mit der p.o.-Gabe des Leitungswassers eine ausreichende Harnausscheidung über die Versuchsdauer zu gewährleisten. RAMSEY und COXON (1967) konnten zeigen, daß es bei ihren Clearanceversuchen durch eine Infusionsrate von 1,7 ml isotoner NaCl-Lösung/min zu einer Auffüllung des extrazellulären Kompartiments und zu einem Anstieg der Clearancewerte kommt: Die Inulinclearance (PAH-Clearance) stieg von 3,3 (12,0) nach subkutaner Injektion der Marker auf 4,2 (14,6) ml/min/kg bei i.v.-Infusion.

Die gleiche Beobachtung konnte hier im Teil 2 des Vorversuch B auch gemacht werden: Die Inulinclearance stieg (im Gegensatz zu Teil 1 mit 3,8 ml/min/kg) auf 4,9 ml/min/kg an; ebenso die PAH-Clearance von 7,2 ml/min/kg in Teil 1 auf 13,1 ml/min/kg.

Ansonsten erkennt man an den konstanten Clearancewerten bzw. dem geraden Verlauf der Inulinclearancekurve (v.a. bei dem zweiten Hund TNR 9088 M, bei dem die Erhaltungsdosis schon etwas angehoben worden war), daß sich nach einer Equilibrierungsphase von 40 min ein Fließgleichgewicht eingestellt hat. Auch die in den Serumproben gemessene Aktivität ist als konstant zu bezeichnen.

Zum Thema Schwankungsbreite in Clearancemessungen führen LEVINSKY und LIEBERTHAL (1992) aus, daß es bei der Dauerinfusions-Technik, „selbst in den erfahrensten Händen“, aufgrund der Kumulation experimenteller Fehler der Analytik und der Harngewinnung zu relativ großen Abweichungen kommen kann. Sie berichten von Standardabweichungen bei einzelnen Inulin-Clearanceperioden in der Größenordnung von 5 bis 7 % und fahren fort, daß Änderungen der Clearance bis zu 5 %, selbst nach Bildung eines Mittelwertes über mehrere Clearanceperioden, als wirkliche Änderung der Nierenfunktion sehr skeptisch betrachtet werden müssen.

#### Versuch 4:

Aufgrund des Clearance-Mittelwerts, der in Teil 2 des Vorversuch B ermittelt wurde, mußte die in diesem Versuch 4 verwendete Erhaltungsdosis für Inulin und Paraaminohippursäure nach der Neuberechnung leicht angehoben werden. Die Initialdosen der Marker aus dem Vorversuch wurden beibehalten.

Da es der Zweck dieses Versuches war, den Abfall der Serumkreatininclearance, der in Versuch 3 durch die TOPFIT-Auswertung gezeigt werden konnte, mit der Reduzierung der GFR durch die beiden verwendeten Röntgenkontrastmittel in Verbindung zu bringen, wurden sämtliche Versuchsbedingungen aus dem vorhergehenden Versuch (wie Applikationsschema, Dosierungen, Injektionsgeschwindigkeit, 3-fach Cross-Over-Versuch) übernommen und dann um die für die Clearancebestimmungen nötigen Maßnahmen erweitert. Bei diesen Ergänzungen ist v.a. die Dauerinfusion der NaCl-Lösung mit den Clearance-Markern zu nennen. Da für die außerdem vorgesehenen Endothelinbestimmungen EDTA-Plasma benötigt wird, wurde die Entnahme eines größeren Blutvolumens notwendig.

Bei einem mittleren Körpergewicht der sechs Hunde in den 18 Tierexperimenten dieses Versuchs von 12,7 kg und einer Infusionsrate von 0,15 ml/ min/ kg ergibt sich eine durchschnittliche Infusionsrate von 1,9 ml/ min. Der Clearance-Mittelwert aller in diesem Versuch durchgeführten Inulin-Clearanceperioden vor Substanzapplikation (insgesamt 54 Normalwert-Clearanceperioden) beträgt 4,12 ml/ min/ kg. Diese Werte stimmen sehr gut mit den Ergebnissen der schon erwähnten Studie von RAMSEY und COXON (1967) überein, die bei Hunden nach einer Infusionsrate von 1,7 ml/ min eine mittlere Inulinclearance von 4,19 ml/ min/ kg erhalten haben.

Ein direkter Vergleich der drei Behandlungsgruppen miteinander wird durch die Berechnung der prozentualen Abweichungen der Clearancewerte vom Ausgangswert möglich.

Dabei zeigt die Inulinclearancekurve der Kochsalzkontrolle, nach dem Maximum in der ersten Clearanceperiode, einen über zwei Stunden langsam ansteigenden Verlauf. Dieser Trend der Kontrollgruppe (der ab dem Zeitpunkt 15 min nach Applikation auch bei der Isovist<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe zu erkennen ist) kann auf die Tatsache zurückzuführen sein, daß eine Dauerinfusion mit einer relativ hohen Infusionsrate zu einer Erhöhung der GFR führt, was hier über die Versuchsdauer zu beobachten ist. Einen weiteren Hinweis auf die Auswirkung dieser Dauerinfusion (die mit der Zeit zunehmende Auffüllung des intravasalen und des extrazellulären Kompartiments) gibt der über den gleichen Zeitraum von 120 min stetig abnehmende Hämatokritwert der NaCl-Gruppe.

Die Abweichungen vom Clearance-Ausgangswert nach der Isovist<sup>®</sup>-Applikation weisen in ihrem Verlauf den gleichen initialen GFR-Anstieg nach 5 min auf wie die Kontrolle. Daraus ist der Schluß zu ziehen, daß dieser initiale GFR-Anstieg von ca. 10 % durch die schnelle Injektion des applizierten Volumens bedingt sein muß und nicht auf der Osmolalität oder einem Moleküleffekt der verwendeten Röntgenkontrastmittel beruht - sonst dürfte die NaCl-Applikation keinen Effekt auf die Inulinclearance haben.

In der zweiten Clearanceperiode (15 min-Wert) ist dann aber bei der Isovist<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe ein Abfall der Inulinclearance im Vergleich zum Ausgangswert von fast 6 % festzustellen, bevor die Mittelwerte der  $\Delta$  %-Abweichungen anschließend alle im Bereich des Ausgangswerts liegen.

Bei der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe ist dieser injektionsbedingte initiale Anstieg der Inulinclearance, jedenfalls mit der hier verwendeten konventionellen Clearancetechnik, nicht zu sehen. Vielmehr hat das Angiografin<sup>®</sup> einen solch starken Effekt auf die Inulinclearance, daß die Applikation einen sofortigen Abfall der glomerulären Filtrationsrate um fast 14 % zum Ausgangswert bewirkt, der im Vergleich zu den anderen beiden Behandlungsgruppen signifikant ist. Auch während der restlichen Versuchsdauer bleibt die Inulinclearance nach der Angiografin<sup>®</sup>-Applikation im Bezug zum Ausgangswert deutlich herabgesetzt.

Obwohl die Kurvenverläufe der Mittelwerte der  $\Delta$  %-Abweichungen nach Applikation von Isovist<sup>®</sup>-300 und Angiografin<sup>®</sup> einen Abfall der GFR gegenüber dem Ausgangswert erkennen lassen, und der Unterschied zur NaCl-Kontrolle noch deutlicher ausfällt (Abbildung 3.6.1-14), zeigt die Varianzanalyse nicht über die gesamte Versuchsdauer signifikante Differenzen zwischen der Angiografin<sup>®</sup>-Gruppe und der Kontrolle.

Nur in der ersten Clearanceperiode unterscheiden sich diese zwei Behandlungsgruppen mit einer Wahrscheinlichkeit von  $p < 0,01$  voneinander; außerdem stellt die Analyse noch zu den Meßzeitpunkten 35 min, 67,5 min, 82,5 min und 97,5 min signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) fest.

Zu diesen Ergebnissen der Varianzanalyse, den Vergleich NaCl vs. Angiografin<sup>®</sup> betreffend, sei noch erwähnt, daß die t-Werte der restlichen Meßzeitpunkte bis zum Zeitpunkt 120 min allesamt über dem Wert 2,1 liegen. Damit sind sie nicht mehr allzuweit von der Schwelle zur Signifikanz, die für 5 Freiheitsgrade bei 2,57 liegt, entfernt.

Mit einer größeren Tierzahl nimmt der für die Signifikanzschwelle entscheidende Freiheitsgrad zu und die in die Berechnung des t-Wert mit eingehende Standardabweichung nimmt ab.

Daher liegt die Vermutung nahe, daß sich mit der Durchführung einiger weiterer Tierexperimente (bei  $n=10$  für jede Behandlungsgruppe, und somit 9 Freiheitsgraden, läge die Schwelle zur Signifikanz bei 2,26) signifikante Unterschiede zwischen der Angiografin<sup>®</sup>-Gruppe und der Kontrolle über die ganze Versuchsdauer ausbilden müßten.

Überhaupt keine Signifikanz läßt sich bei der statistischen Auswertung der Daten der Isovist<sup>®</sup>-Gruppe im Vergleich zu den Kontrolldaten feststellen.

Der Vergleich der in diesem Versuch erhaltenen Clearanceergebnisse mit den Ergebnissen aus anderen Studien ist nicht völlig unproblematisch, da die Auswirkungen der Röntgenkontrastmittel auf die GFR beim Hund in den verwendeten Tiermodellen von vielen unterschiedlichen Faktoren abhängt. Für den Untersucher stellen z.B. Lokalisation der RKM-Applikation, Osmolalität und Dosis der verwendeten RKM, Art und Dosis der Marker und v.a. die Wahl der Clearancetechnik Variablen dar, aus denen er die seiner Meinung nach beste Kombination für die von ihm zu beantwortende Fragestellung zusammenstellen muß. Daher ist in den im Rahmen dieser Dissertation durchgeführten Versuchen auch immer eine Kontrollgruppe mitgeführt worden, mit der die RKM-Gruppen direkt verglichen werden können.

Trotzdem lassen sich in früheren Untersuchungen Parallelen zu den hier gemachten Beobachtungen finden und die Ergebnisse dadurch stützen.

So haben KATZBERG et al. (1983c) mit der arteriovenösen (AV) Extraktionstechnik nach i.v.-Injektion von nur 2 ml Amidotrizoat schon nach 30 sec einen Abfall der GFR von 69 % festgestellt, der länger als 30 min anhielt. Die gleichen Dosis von isotoner NaCl-Lösung hatte keine signifikante Beeinträchtigung der GFR zur Folge.

Dieselben Autoren kommen in einer anderen Veröffentlichung (KATZBERG et al. 1986b), in der sie die arteriovenöse Extraktionstechnik (die ohne Harnsammlung auskommt) mit der Clearancetechnik mit Harnsammlung vergleichen, zu dem Schluß: die renale Clearancetechnik mit Harnsammlung ist nicht so gut geeignet, kurzzeitige Änderungen der Nierenfunktion nachzuweisen.

Allerdings wurde in dieser Studie auch versucht, nach der RKM-Applikation mit Blutentnahmen schon nach 2 min und dann nach 5 min sehr kurzzeitige Effekte zu untersuchen. Der von den Autoren beobachtete artifizielle GFR-Anstieg nach 2 min, der nur bei der konventionellen Clearancetechnik auftrat, nicht aber mit der AV-Technik festzustellen war, findet sich hier in Versuch 4 nicht. Er kommt durch den starken Abfall der glomerulären Filtrationsrate in der ersten Clearanceperiode nach Angiografin® nicht zum Tragen.

Grundsätzlich läßt sich dazu feststellen, daß die konventionelle Clearancetechnik eine sicherlich nicht ganz so exakte und empfindliche Methode darstellt wie die AV-Technik - schnelle, nur vorübergehende Änderungen der GFR können mit ihr nicht so genau, bzw. Auswirkungen von Röntgenkontrastmitteln auf die glomeruläre Filtrationsrate nicht so deutlich aufgezeigt werden wie mit der AV-Extraktionstechnik.

In einer experimentellen Arbeit über die Auswirkungen einer Injektion von HOcm (ca. 3 ml/ kg mit 1 ml/ sec in die Aorta) auf die Nierenfunktion bei Hunden haben WORKMAN et al. (1983) von einem Abfall der endogenen Kreatininclearance um 21 % über die 120 min Versuchsdauer berichtet.

Auch FORREST et al. (1981) haben unter Verwendung der konventionellen Clearancetechnik (mit <sup>14</sup>C-Inulin) einen signifikanten Abfall der glomerulären Filtrationsrate (um ca. 30 % vom Ausgangswert) beim Hund 5 und 15 min sowie 2 Stunden nach i.v.-Gabe von Amidotrizoat gefunden, jedoch erst bei einer Dosis von 8 ml/ kg.

Diese Ergebnisse zeigen qualitativ vergleichbare Auswirkungen von HOcm auf die glomeruläre Filtrationsrate beim nicht vorgeschädigten Hund, wie sie auch in diesem Versuch nach Angiografin®-Behandlung dokumentiert worden sind.

Der Grund dafür, daß bei diesem Versuch 4 der Abfall der Inulinclearance nach Applikation eines HOcm im Vergleich mit der Kontrollgruppe nicht deutlicher ausfällt, und daß auch nicht zu allen Zeitpunkten signifikante Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen bestehen, liegt im Aufbau dieser Clearanceversuche.

Auch bei diesem Clearanceversuch werden mit der i.v.-Applikation, der Applikationsgeschwindigkeit von 1 ml/ sec, dem auf Körpertemperatur angewärmten RKM und die max. diagnostischen Dosis von 1,2 g/ Jod/ kg KGW wieder sehr praxisnahe und schonende Applikationsbedingungen eingehalten. Außerdem wird eine ausreichende Hydratation durch eine Infusion von isotoner Kochsalzlösung sogar als Schutz der Nierenfunktion bei der Applikation von Kontrastmitteln angesehen (THOMSEN 1993, KARLSEN 1993).

Weiterhin muß auch auf die Harnentnahme bei diesem Clearanceversuch eingegangen werden: Die Gewinnung der teilweise geringen Mengen Harn, die in relativ kurzen Clearanceperioden produziert wurden, aus der Blase mittels Harnkatheter ist mit einem recht großem methodischen Fehler verbunden (LEVINSKY und LIEBERTHAL 1992), der wohl auch für die Schwankungen der Clearancewerte von Clearanceperiode zu Clearanceperiode innerhalb eines Tierexperiments verantwortlich ist. Das ist einer der Gründe dafür, daß die Ergebnisse dieses Clearanceversuchs nicht so deutlich ausfallen wie es vielleicht hätte erwartet werden können.

Nach der i.v.-Injektion eines hochosmolaren Röntgenkontrastmittels kommt es zu einem deutlichen Anstieg der Serum-Osmolalität (KATZBERG et al. 1988). Die Folge ist ein schneller Einstrom von Wasser aus dem Interstitium in die Gefäße, mit einer Zunahme des Blutvolumens und einem Abfall des Hämatokrits (MORRIS und FISCHER 1986). An der Niere kommt es infolgedessen kurzzeitig zu einer osmolalitätsabhängigen Vasodilatation und einem Anstieg des renalen Blutflusses (RBF).

Durch diesen RBF-Anstieg nach HOcm-Applikation gelangt eine große Menge osmotisch wirksamer Teile in die Nierentubuli und da Kontrastmittelmoleküle nicht reabsorbiert werden, entfalten sie in den Tubuli weiterhin einen osmotischen Effekt. Dieser osmotische Effekt führt zu einer starken Behinderung der Rückresorption von Wasser und Natrium-Ionen aus dem proximalen Tubulus, die auch die Ursache für die diuretische Wirkung der hochosmolaren Kontrastmittel ist (KATZBERG et al. 1986c). Durch den einsetzenden schnellen Harnfluß sind auch der distale Tubulus und die Sammelrohre nicht mehr in der Lage noch Natrium-Ionen und Wasser zurückzuhalten.

Der osmotische Effekt der filtrierten Röntgenkontrastmittel im Nierentubulus hält länger an als die osmotische Wirkung im Gefäßsystem (KATZBERG et al. 1983a) und es kommt zu einem Anstieg des Drucks im proximalen Tubulus sowie in der Baumanschen Kapsel. Dadurch kommt es zu einer Reduzierung der glomerulären Filtrationsrate auf zwei Wegen:

1. Durch die Reduzierung des aus der Glomeruluskapillare hinaus gerichteten hydrostatischen Drucks wird der für die glomeruläre Filtration entscheidende effektive Filtrationsdruck herabgesetzt.
2. Es kommt durch eine Kompression der Glomeruluskapillaren der Baumanschen Kapsel zu einer Reduzierung der für die Filtration zur Verfügung stehenden Oberfläche des glomerulären Filters, der von dem gefensterten Endothel der Kapillaren, einer Basalmembran sowie dem viszeralem Blatt der Baumanschen Kapsel gebildet wird.

Somit ist der Kontrastmittelinduzierte Abfall der glomerulären Filtrationsrate durch HOcm mit dem intratubulären Druckanstieg infolge der Osmolalität zu erklären (KATZBERG et al. 1986a). Dieser Effekt ist bei der Verwendung niedrigosmolarer, nicht-ionischer RKM deutlich reduziert (KATZBERG et al. 1985).

Daneben kommt es auch über den tubuloglomerulären Feedback-Mechanismus zu einer osmolalitätsbedingten Reduzierung der glomerulären Filtrationsrate. Dieser tubuloglomeruläre Feedback-Mechanismus wird aktiviert durch den diuresebedingten Anstieg der Perfusionsrate im distalen Teil der Henleschen Schleife und durch den Anstieg der Na<sup>+</sup>-Exkretionsrate, die von den Makula-densa-Zellen im geraden Teil des distalen Tubulus detektiert werden (IDÉE et al. 1994). Alle Hinweise sprechen dafür, daß Adenosin der für den tubuloglomerulären Feedback hauptverantwortliche Mediator ist, der den Anstieg der NaCl-Konzentration im Tubuluslumen in eine Vasokonstriktion der afferenten Arteriole umsetzt und so den GFR-Abfall bewirkt (OSSWALD et al. 1991).

AREND et al. (1987) konnten in einem Hundemodell durch Verwendung eines Adenosinrezeptor-Antagonisten die durch ein HOcm hervorgerufene Vasokonstriktion deutlich herabsetzen und durch einen Adenosin-Agonisten die Vasokonstriktion verstärken.

Der Verlauf der Inulin-Clearancewerte nach Isovist<sup>®</sup>-Applikation wird durch eine weitere Arbeit von Ueda und seinen Mitarbeitern gestützt.

Von ihnen liegt eine Studie an Hunden vor (UEDA et al. 1997), bei der u.a. die Kreatininclearance (Gabe eines Kreatininbolus und anschließende i.v.-Dauerinfusion) nach Applikation von lotrolan und dem nicht-ionischen Monomer Iomeprol, jeweils in einer Dosierung von 1600 mg Jod/ kg KGW, untersucht wurde. In dieser Untersuchung wurde auch die konventionelle Clearancetechnik mit Harnsammlung angewandt.

Im Gegensatz zu den von ihnen durchgeführten Experimenten an Ratten (UEDA et al. 1992 und 1993), bei denen ein langer signifikanter Abfall der SNGFR festgestellt worden war, konnte in dieser Studie nach lotrolan nur ein kurzzeitiger und auch nicht signifikanter Abfall der Kreatininclearance, und damit der glomerulären Filtrationsrate, gemessen werden.

Der Verlauf der glomerulären Filtrationsrate zeigte in der ersten Clearanceperiode (0 bis 10 min nach Applikation) einen deutlichen Anstieg der GFR und dann in der zweiten Clearanceperiode (10 bis 20 min) einen deutlichen Abfall der GFR unter den Ausgangswert, um anschließend für die restliche Versuchsdauer (bis 120 min) eine konstante glomeruläre Filtrationsrate im Bereich des Ausgangsniveau aufzuweisen.

Dieser Verlauf der exogenen Kreatininclearance zeigt sehr große Ähnlichkeit mit dem Inulin-clearanceverlauf nach Isovist<sup>®</sup>-300 in der vorliegenden Arbeit.

Die Aussagefähigkeit der in Versuch 3 durch die TOPFIT-Auswertung nachgewiesenen Reduktion der Serumkreatininclearance durch Angiografin<sup>®</sup> und Isovist<sup>®</sup>-300 sollte mit Hilfe der Ergebnisse aus dem Versuch 4 überprüft werden.

Indem die Korrelation zwischen den Werten für die Serumkreatininclearance aus Versuch 3 und den Werten für die Inulin-clearance aus Versuch 4 untersucht wird, kann überprüft werden, ob die Berechnung der Serumkreatininclearance mit Hilfe des TOP-FIT-Programms, wie sie im Versuch 3 durchgeführt wurde, als Maß für die glomeruläre Filtrationsrate verwendet werden kann.

Da die Inulin-Clearancewerte aus Versuch 4 nur für die einzelnen Clearanceperioden vorliegen, muß nun für jede Applikation aus den vielen Clearancewerten ein einziger Inulin-Clearancewert, der - ebenso wie beim Versuch 3 - die über die Versuchsdauer gemittelte glomeruläre Filtrationsrate repräsentiert, berechnet werden, bevor eine Korrelation vorgenommen werden kann.

Dazu wird wie folgt vorgegangen:

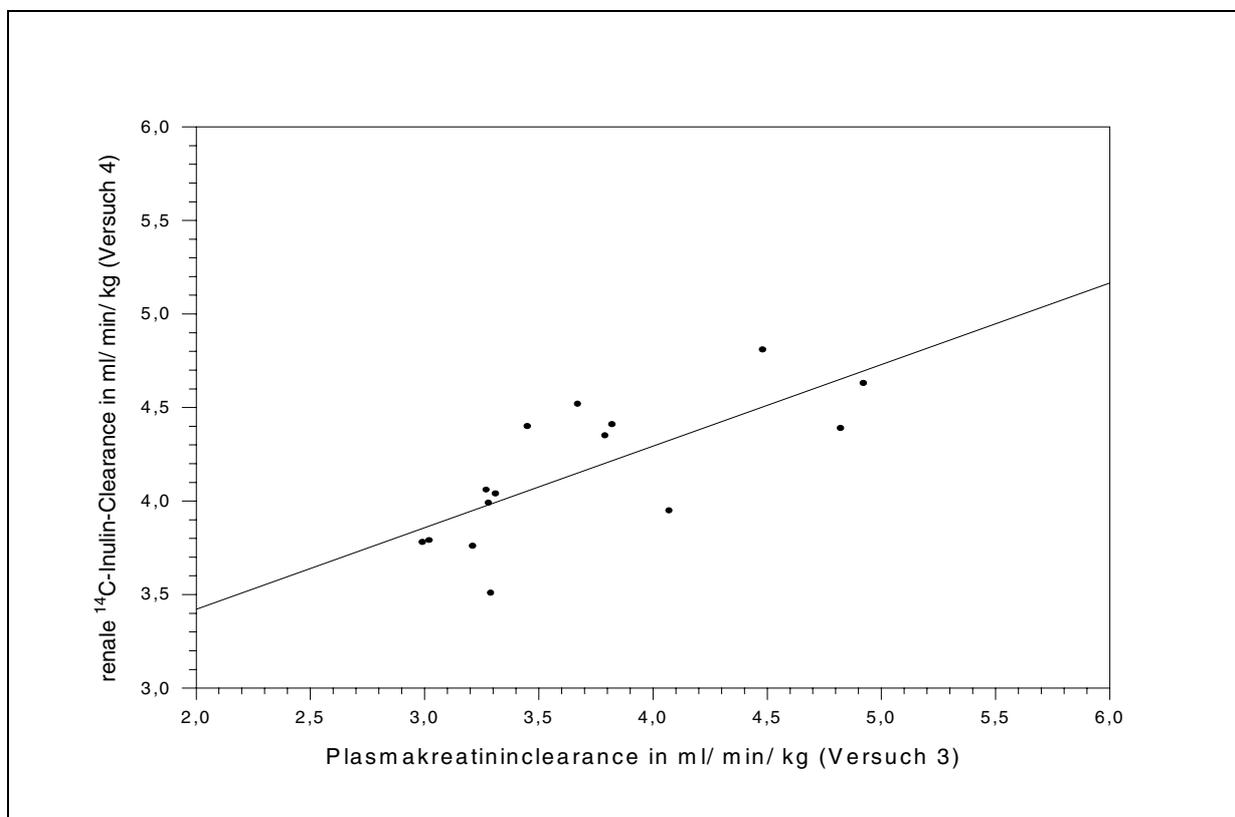
- Die einzelnen Inulin-Clearancewerte werden mit der Dauer ihrer Clearanceperiode multipliziert um die Inulin-clearance/ Clearanceperiode/ kg zu erhalten.
- Danach werden diese Clearancewerte der 10 Clearanceperioden addiert und so die Inulin-clearance/ kg über die gesamten 120 min ermittelt.
- Durch Division mit 120 schließlich kann die über die Versuchsdauer gemittelte glomeruläre Filtrationsrate in ml/ min/ kg für den Hund berechnet werden.

Um mit diesen Werten der gemittelten Inulin-clearance einen Vergleich mit den Werten für die Serumkreatininclearance aus Versuch 3 durchführen zu können, wurden diese gemittelten Inulin-Clearancewerte noch um die Abweichung ihres Ausgangsmittelwerts (Mittelwert der drei Inulin-Clearanceperioden vor Applikation der einzelnen Behandlung) von dem Clearancemittelwert von 4,12 ml/ min/ kg (Mittelwert aller Inulin-Clearancewerten vor Applikation von Versuch 4) korrigiert.

Eine Korrelation unter Verwendung der  $\Delta\%$ -Werte aus Versuch 4 wäre natürlich wünschenswerter, da jedoch -bedingt durch das Versuchsdesign- bei Versuch 3 keine Ausgangswerte für die glomeruläre Filtrationsrate ermittelt wurden, mußte auf die oben beschriebene Berechnung einer über die Versuchsdauer gemittelten glomerulären Filtrationsrate zurückgegriffen werden. Durch den Bezug der Ausgangsmittelwerte der einzelnen Behandlung auf den Clearancemittelwert von Versuch 4 kommt es zur Bildung einer Art von  $\Delta\%$ -Werten und nur dieser Ausweg ermöglicht die Berechnung einer Korrelation.

Da eines der Tiere, das in Versuch 3 verwendet wurde, im Versuch 4 nicht wieder eingesetzt worden ist, kann eine Korrelation zwischen den Ergebnissen dieser Versuche nur für die restlichen fünf Hunde, die in beiden Versuchen benutzt wurden, durchgeführt werden.

Die grafische Darstellung der Korrelation ist in der folgenden Abbildung enthalten.



Bei der Berechnung der Korrelation wurde ein Korrelations-Koeffizient (Pearson-Product-Correlation-Coefficient) von  $R = 0,732$  ( $p < 0,01$ ;  $n = 15$ ) ermittelt. Dieser Korrelations-Koeffizient beschreibt das Maß der Abhängigkeit der beiden Variablen voneinander.

Je näher der Wert des Korrelations-Koeffizient an 1 heranreicht, desto stärker stehen die Variablenpaar in Beziehung zueinander.

Der Korrelations-Koeffizient mit einem Wert von 0,732 zeigt, daß eine starke Tendenz des Variablenpaares besteht, sich auf vergleichbare Art und Weise zu verändern. Bei einem positiven Korrelations-Koeffizient verändern sich die Variablen gleichgerichtet, d.h. nimmt die eine Variable einen größeren Wert an, so vergrößert sich auch der Wert der anderen in ähnlicher Größenordnung.

Somit kann davon ausgegangen werden, daß das im Rahmen der vorliegenden Arbeit neu entwickelte Tiermodell für die Abschätzung des Einflusses der Röntgenkontrastmittel auf die glomeruläre Filtrationsrate am Hund geeignet ist.

Die PAH-Clearancekurve der Kochsalzkontrolle zeigt, wie auch die Inulin-clearancekurve, nach einem ersten Maximum zum Zeitpunkt 5 min nach Applikation, einen ansteigenden Trend über die Versuchsdauer von 120 min. Dieser Trend ist ebenfalls auf die Erhöhung der Clearancewerte durch die Dauerinfusion, die RAMSEY und COXON (1967) auch für die PAH-Clearance beschrieben haben, zurückzuführen. Der initiale Anstieg der PAH-Clearance um nahezu 7 % in der ersten Clearanceperiode dürfte, analog zu dem Verlauf der Inulin-clearance, durch die schnelle Injektion des applizierten Volumens bedingt sein.

TALNER und DAVIDSON (1968a) haben gezeigt, daß die Applikation eines HOcm zu einem Abfall der Extraktion der Paraaminohippursäure ( $E_{PAH}$ ) beim Hund führt, die nicht auf die Osmolalität zurückgeführt werden kann. Die Autoren vermuten eine direkte Schädigung der Tubuluszellen durch das Kontrastmittelmolekül.

In einer weiteren Untersuchung am Hund gelang es DANFORD et al. (1969) den Effekt des Röntgenkontrastmittel auf die PAH-Extraktion mit dem jodierten organischen Anteil des Kontrastmittels in Verbindung zu bringen und ihn für die vorübergehende Funktionseinschränkung der Tubuluszellen verantwortlich zu machen.

Wie schon erwähnt, wurde später dann gezeigt, daß auch bis zur Blutisotonie verdünnte Lösungen hochosmolarer Kontrastmittel einen Abfall der PAH-Extraktion bewirken, während hyperosmolare Kochsalzlösungen keinen vergleichbaren Einfluß auf die PAH-Ausscheidung haben (DIBONA 1978).

In diesen tierexperimentellen Arbeiten war der maximale Abfall der PAH-Extraktion schon nach 30 sec bis 1 min in Größenordnungen von je nach Studie 10 bis 37 % festzustellen. Anschließend verringerte sich dieser Abfall wieder, so daß zum Zeitpunkt 30 min nach Applikation nur noch eine Verringerung der Extraktion um ca. 5 % festzustellen war.

KATZBERG et al. (1986b) gibt für die Extraktion der Paraaminohippursäure beim Hund einen Wert von 0,64 an und LEVINSKY (1992) benennt eine Spanne von 70 bis 90 %. Schon aufgrund eines solchen Schwankungsbereichs, der durch eine erhebliche interindividuelle Variation zustande kommt, muß man beim Hund die mit der konventionellen Technik bestimmte PAH-Clearance als Maß für den renalen Plasmafluß (RPF) vorsichtig einschätzen. Der zusätzliche Einfluß der RKM auf die PAH-Extraktion, der nicht genau abzuschätzen ist, verhindert eine quantitative Interpretation der Ergebnisse der PAH-Clearance für die RKM-Gruppen, auf die deshalb hier für den Versuch 4 verzichtet wird.

Eine genaue Messung der PAH-Extraktion wäre nur mit der schon weiter vorn erwähnten arteriovenösen Extraktionstechnik (AV-Technik) möglich gewesen, die aufgrund der nötigen Instrumentierung und Eröffnung des Bauchraumes eine mehrfache Verwendung der Versuchstiere ausschließt.

Trotzdem scheint es möglich eine qualitative Aussage bei dem Vergleich der Angiografin®-Behandlungsgruppe mit der Isovist®-Behandlungsgruppe zu machen:

Der steile Abfall der PAH-Clearance nach Applikation der Röntgenkontrastmittel ist für das Angiografin® schon in der ersten Clearanceperiode festzustellen, bei der Isovist®-Gruppe

erst zum Zeitpunkt 15 min nach Applikation. Auch tendiert nach Isovist<sup>®</sup>-300 der Verlauf der PAH-Clearancekurve, im Gegensatz zu der Angiografin<sup>®</sup>-Kurve, nach dem deutlichen Abfall wieder in Richtung auf den Ausgangswert. Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß der Effekt des Isovist<sup>®</sup>-300 auf die Extraktion der Paraaminohippursäure im Maximum (Abfall der PAH-Clearance um 19 bzw. 17 %) zwar vergleichbar groß ausfällt, aber doch nicht so schnell einsetzt und v.a. nicht so lang anhält wie der Abfall der PAH-Extraktion nach der Applikation des Angiografin<sup>®</sup>. Da DiBONA (1978) zeigen konnte, daß die Osmolalität keinen Einfluß auf die PAH-Extraktion hat, kann als mögliche Erklärung die im Vergleich zum Amidotrizoat geringere Chemotoxizität des Iotrolan angeführt werden. Ob dafür die fehlende Ionizität des Iotrolan oder eher die bessere Abschirmung des organischen Jodanteils beim Iotrolan verantwortlich ist, kann nicht entschieden werden.

Nicht-ionische, dimere Kontrastmittel verursachen bei äquivalenter Joddosis eine geringere osmotische Diurese als HOcm oder auch LOcm und verringern somit in nicht so starkem Maße die Rückresorption von Wasser und Na<sup>+</sup>-Ionen wie andere Röntgenkontrastmittel (DERAY und JACOBS 1996). Analog zu den Verhältnissen bei HOcm fällt die Beeinträchtigung der glomerulären Filtrationsrate nach Iotrolan durch den geringeren intratubulären Druckanstieg daher auch geringer aus.

Das Iotrolan nur eine geringe osmotische Diurese verursacht stellen UEDA et al. (1997) und auch NAUERT und MÜTZEL (1989) fest, liefern aber keine Erklärung für diese Eigenschaft des Iotrolan, die sich nicht mit seiner Osmolalität erklären läßt.

Der diuretische Effekt des blutisotonen Iotrolan kann damit erklärt werden, daß es sich bei diesem Kontrastmittelmolekül um eine außerordentlich hydrophile Verbindung handelt (MÜTZEL et al. 1989), die sich mit einer großen Hydrathülle umgibt. Das durch die Hydrathülle an das Iotrolan gebundene Wasser kann im proximalen Tubulus nicht mehr rückresorbiert werden und trägt so zur osmotischen Diurese bei.

Das für Angiografin<sup>®</sup>, als Vertreter der hochosmolaren Röntgenkontrastmittel, und für Iotrolan beschriebene unterschiedliche diuretische Potential zeigen auch die im Versuch 4 festgestellten Veränderungen des Harnflusses nach der RKM-Gabe: Durch die RKM-Applikation kommt es nach Angiografin<sup>®</sup> zu einer stark einsetzenden Diurese, die erst in der Clearance-Periode 50 bis 60 min wieder die Größenordnung der NaCl-Gruppe erreicht. Der nach Isovist<sup>®</sup>-300 einsetzende Harnfluß ist mit gut 7 ml/ min in der ersten Clearance-Periode nicht so groß wie nach Angiografin<sup>®</sup> (10 ml/ min) und ist schon nach 30 min wieder auf das Niveau der Kontrolle abgesunken.

Auch auf den Hämatokritwert hat die Osmolalität des Angiografin<sup>®</sup> bzw. die Bindung von Wasser in seiner Hydrathülle durch das Isovist<sup>®</sup> Auswirkungen. Der starke Einstrom von Wasser aus dem Extrazellulärraum in die Gefäße sofort nach i.v.-Injektion führt zu einem maximalen Abfall des Hämatokrits um über 13 % nach Angiografin<sup>®</sup> und um ca. 11 % nach Isovist<sup>®</sup>-300. Anschließend streben die Hämatokritwerte der Isovist<sup>®</sup>-Gruppe schneller wieder auf den Ausgangswert zu, als die der Angiografin<sup>®</sup>-Gruppe.

Einen ähnlichen Verlauf der Hämatokritwerte nach Amidotrizoat und Iotrolan fanden auch NAUERT und MÜTZEL (1989), die allerdings nur eine Dosis von 1 ml/ kg verwendeten.

Selbst die Hämatokritwerte der NaCl-Kontrolle fallen über die Dauer des Versuchs bis auf 93 % des Ausgangswertes ab. Dafür ist die i.v.-Dauerinfusion aufgrund der Expansion des Plasmavolumens verantwortlich. Schon der aus den drei Hämatokritwerten vor Applikation

gebildete Mittelwert, der als Ausgangswert für die Hämatokrit-Veränderungen nach Applikation dient, ist als Folge der (ja schon 75 min vor Applikation einsetzenden) Dauerinfusion um 13 bis 19 % gegenüber dem Vorwert-Hämatokrit verringert (siehe Tabelle 3.6.3-6).

Für die kontrastmittelinduzierte renale Vasokonstriktion wird bei den hochosmolaren Röntgenkontrastmitteln zusätzlich der tubuloglomeruläre Feedback-Mechanismus mit dem Adenosin als Mediator verantwortlich gemacht.

Daneben wird aber noch einem anderen endogenen Vasokonstriktor eine entscheidende, weil osmolalitätsunabhängige, Bedeutung für den Einfluß der RKM auf die renale Hämodynamik beigemessen: dem Endothelin (MORCOS und EL NAHAS 1998).

Ein Anstieg der Endothelinkonzentration im Plasma nach Röntgenkontrastmittelapplikation ist bei Ratten (HEYMAN et al. 1992), bei herzinsuffizienten Hunden (MARGULIES et al. 1991) und auch beim Menschen (CLARK et al. 1997) beobachtet worden. Auch in Zellkulturen von porcinen und bovinen Endothelzellen konnte durch RKM die Freisetzung von Endothelin stimuliert werden (AKAGI et al. 1991, HEYMAN et al. 1992).

Durch Bestimmung der Endothelinkonzentration in Plasma- und Harnproben im Rahmen dieses Clearanceversuchs sollte überprüft werden, ob sich Hinweise auf die Beteiligung des Endothelins an dem Einfluß der RKM auf die Hämodynamik der Niere auch beim nicht-vorgeschädigten Hund finden lassen.

Endothelin-1 (ET-1), der potenteste endogene Vasokonstriktor (HOCHER et al. 1997), wurde 1988 von YANAGISAWA et al. erstmals aus einer Zellkultur von Endothelzellen isoliert und erhielt daher seinen Namen. Bisläng sind noch zwei weitere Isoformen des Endothelins, ET-2 und ET-3, die ebenfalls aus 21 Aminosäuren bestehen und zwei Disulfidbrücken aufweisen, identifiziert worden. Das biologisch wirksame Oligopeptid Endothelin wird über die zwei praktisch inaktiven Vorstufen Preproendothelin und Proendothelin (auch Big-Endothelin genannt) durch zwei Endopeptidasen gebildet, von denen das letztere Endothelin-Converting-Enzyme (ECE) heißt. Dieser Schritt ist der für die Bioaktivität entscheidende (VOLLMAR et al. 1997).

Man geht davon aus, daß Endothelin im Prinzip lokal auf eine parakrine Art und Weise seine Wirkung ausübt, und daß die in vielen Studien gemessenen ET-Konzentrationen im Plasma nicht ausreichen, um über die ET-Rezeptoren eine Wirkung zu erzielen; Somit stellt das Endothelin im Plasma ein „Überschwappen“ des örtlich ausgeschütteten Endothelins in die Blutbahn dar (SIMONSON 1993).

Das biologisch aktive Endothelin vermittelt seine Wirkung über Rezeptoren, von denen zwei bisher identifiziert wurden. Der Endothelinrezeptor Subtyp A (ETA-Rezeptor) ist auf glatten Muskelzellen der Gefäße gefunden worden und besitzt die höchste Affinität für ET-1 während der Endothelinrezeptor Subtyp B (ETB-Rezeptor) vor allem von Endothelzellen exprimiert wird und gegenüber allen drei Isoformen des Endothelins eine vergleichbare Affinität besitzt.

Durch unterschiedliche Verteilung der Rezeptoren in den verschiedenen Geweben können die unterschiedlichen Wirkungen des Endothelins auf die Organsysteme erklärt werden. Wobei über die ETA-Rezeptoren v. a. vasokonstriktorische Effekte vermittelt werden während über die ETB-Rezeptoren an Endothelzellen die Bildung von Stickoxyd (NO), dem potentesten Vasodilatator, stimuliert wird.

Da die ET-1 Synthese durch Stickoxyd inhibiert wird, bildet ET-1 zusammen mit dem Stickoxyd einen parakrinen/endokrinen Kontrollzyklus mit einem negativen Feedback-Mechanismus (HOCHER et al. 1997).

Die Nierendurchblutung reagiert besonders empfänglich auf Endothelin. PERNOW et al. (1988) haben festgestellt, daß die Gefäße in den Nieren um den Faktor 10 empfindlicher auf ET reagieren als andere Gefäße.

STACY et al. (1990) konnten durch die intrarenale Infusion von ET-1 in einer Dosis, die keinen Einfluß auf den systemischen Blutdruck hatte, beim Hund einen Abfall der GFR um 35 % herbeiführen.

Endothelin beeinflußt die renale Mikrozirkulation, wobei durch Versuche mit isolierten Kaninchen-Arteriolen (Edwards et al. 1990) und mit Mikropunktion an der Rattenniere (KON et al. 1989) gezeigt werden konnte, daß die afferente Arteriole auf Endothelin mit einer stärkeren Vasokonstriktion reagiert als die efferente Arteriole. In der Folge kommt es zwar zu einem Abfall sowohl der glomerulären Filtrationsrate wie auch des renalen Blutflusses, aber durch den ausgeprägteren Effekt an der afferenten Arteriole bietet sich eine mögliche Erklärung für die Tatsache, daß durch die Applikation von Röntgenkontrastmitteln die glomeruläre Filtrationsrate in stärkerem Maße reduziert wird als der renale Blutfluß.

Da die kontrastmittelinduzierte Reduktion der glomerulären Filtrationsrate stärker ausfällt als der Abfall des renalen Blutflusses, ist schon von KATZBERG et al. (1983a) postuliert worden, daß die Vasokonstriktion durch RKM an der afferenten Arteriole stärker ausgeprägt sein muß als an der efferenten Arteriole. Und genau diese Verhältnisse wurde bei der endothelininduzierten Vasokonstriktion an der Glomeruluskapillare festgestellt.

Der Mittelwert der hier in Versuch 4 gefundenen Ausgangskonzentrationen des Endothelins liegt mit  $0,76 \pm 0,11$  fmol/ ml Plasma im Bereich des auch von dem Hersteller des Endothelin-ELISAs angegebenen Normalwerts beim Hund von 0,6 fmol/ ml Plasma (persönliche Mitteilung von Dr. G. Barnert, Fa. Biomedica, Wien, 09.12.1997).

Nach der Applikation von Angiografin<sup>®</sup> läßt sich zu den Zeitpunkten 15 min und 45 min nach Applikation (Isovist<sup>®</sup>-300 zum Zeitpunkt 45 min nach Appl.) ein signifikanter Anstieg des Plasmaendothelinspiegels im Vergleich zum Vorwert feststellen, während die Behandlung mit NaCl-Lösung nur eine geringfügig höhere ET-Konzentration zu diesen Zeitpunkten zur Folge hat. In Prozenten ausgedrückt, bedeutet das einen maximalen Anstieg der Endothelinkonzentration im Plasma (45 min n. Appl.) von 35 % nach Isovist<sup>®</sup>-Applikation und von 50 % nach Angiografin<sup>®</sup>-Applikation.

Dabei ist jedoch im Vergleich der drei Behandlungsgruppen untereinander nur der 50 %ige Anstieg nach Angiografin<sup>®</sup> gegenüber dem 10 %igen Anstieg des Plasmaendothelinspiegels der Kontrolle signifikant.

Einen vergleichbaren 50 %igen Anstieg der Endothelinkonzentration 45 min nach einer i.v.-Infusion eines hochosmolaren Röntgenkontrastmittels bei herzinsuffizienten Hunden wurde auch von MARGULIES et al. (1991) beobachtet. Parallel dazu wurde in diesen Tierexperimenten auch ein signifikanter Abfall der glomerulären Filtrationsrate festgestellt. Die Autoren kommen zu dem Schluß, daß das RKM die ET-Freisetzung in der Niere direkt stimuliert und die erhöhten Endothelinkonzentrationen im Plasma, wie auch im Urin, Ausdruck dieser lokalen Endothelinausschüttung ist.

Der von Margulies und seinen Mitarbeitern festgestellte Anstieg der Endothelinausscheidung mit dem Harn um den Faktor 10 konnte jedoch durch die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten ET-Bestimmungen im Harn nicht gezeigt werden.

Bei ungefähr einem Drittel der ET-Messungen aus den Harnproben konnte keine Endothelinkonzentration gemessen werden, da die mit dem ELISA-Photometer gemessenen Absorptionswerte unter denen des mitgeführten Nullstandards lagen.

Wahrscheinlich wurde durch die Kontrastmittelinduzierte osmotischen Diurese und durch die hohen Harnflußraten infolge der Dauerinfusion der isotonen Kochsalzlösung teilweise das Endothelin im Urin so stark verdünnt, daß selbst durch die durchgeführte Festphasenextraktion eine ausreichende Anreicherung des Endothelins bei diesen Proben nicht erreicht werden konnte. Außerdem ist es bei der Aufarbeitung der Harnproben nach Zugabe von Salzsäure (zu den Angiografin<sup>®</sup>-enthaltenden Proben) zu einer Reaktion der Säure mit dem in der Probe enthaltenen Angiografin<sup>®</sup> gekommen. Beim Abzentrifugieren des ausgefallenen Materials ist vermutlich der größte Teil des enthaltenen Endothelins verloren gegangen, da nur in zwei der zwölf Harnproben der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe überhaupt eine geringe ET-Konzentration gemessen werden konnte.

Somit ist eine Auswertung nur für die Isovist<sup>®</sup>-Behandlungsgruppe im Vergleich mit der Kontrolle möglich. Die ET-Ausscheidungsrate der drei Behandlungsgruppen vor Applikation liegen auf einem Niveau und der Anstieg der Ausscheidungsrate nach Isovist<sup>®</sup>-300 fällt mit 44 % höher aus als bei der Kontrolle (+28 %). Bei der statistischen Analyse zeigt sich aber kein signifikanter Unterschied.

Der Einfluß von Amidotrizoat und Iotrolan auf die glomeruläre Filtrationsrate und die Beteiligung des ET-1 an dem GFR-Abfall wurde von OLDROYD et al. (1994b) in vitro an der isolierten, perfundierten Rattenniere untersucht. Dabei zeigte das Amidotrizoat mit einer Reduktion der Inulin-Clearance auf 64 % des Ausgangswertes ein im Vergleich zu dem Iotrolan (auf 75 % des Ausgangswerts) signifikant stärkeren Abfall der GFR.

Wurde vor dem Röntgenkontrastmittel dem Perfusat der isolierten Rattenniere BQ 123, ein potenter selektiver ETA-Rezeptor-Antagonist, hinzugefügt, konnte der Abfall der glomerulären Filtrationsrate, den sowohl das Amidotrizoat wie auch das Iotrolan hervorriefen, vollständig verhindert werden.

Daraus schlußfolgern die Autoren, daß es sich bei der Wirkung der Kontrastmittel auf die GFR um einen Effekt handelt der durch die Freisetzung des Endothelins erzielt wird, der aber von der Osmolalität des Röntgenkontrastmittels unabhängig ist.

Für die ET-Bestimmungen in der vorliegenden Arbeit wurden, im Gegensatz zu den anderen Arbeiten die sich mit der Beteiligung des Endothelins an der Kontrastmittelwirkung auf die Niere beschäftigen, ein ELISA, mit dem das in der Probe vorhandene ET direkt gemessen wird, anstelle eines RIA verwendet.

Durch die im Zusammenhang mit dem Clearanceversuch durchgeführten Endothelinbestimmungen konnte nach der Applikation von Angiografin<sup>®</sup> ein signifikanter Anstieg der ET-Konzentration im Plasma gezeigt werden. Daraus läßt sich ein klarer Hinweis auf die Beteiligung des Endothelins an den Auswirkungen des Angiografin<sup>®</sup> auf die Hämodynamik der Niere ableiten. Die ET-Konzentration steigt zwar infolge der Isovist<sup>®</sup>-Behandlung im Vergleich zum Vorwert auch signifikant an, da sich aber dieser 45 min-Wert nicht auch signifikant gegenüber dem 45 min-Wert der Kontrollgruppe zeigt, muß für das Iotrolan die Beteiligung des Endothelins an dem Kontrastmittelinduzierten GFR-Abfall vorsichtiger bewertet werden.

## 5. Zusammenfassung

Obwohl Röntgenkontrastmittel als Arzneimittel anzusehen sind, unterscheiden sie sich doch von anderen Medikamenten aufgrund der Tatsache, daß sie außer ihrem diagnostischen Zweck in der Radiologie keinerlei pharmakologische Aktivität besitzen sollen. Aufgrund dieses fehlenden pharmakologischen Potentials der RKM ist gewährleistet, daß sie auch in hohen Dosierungen eingesetzt werden können. Aber trotz der heutzutage sehr guten Allgemeinverträglichkeit von Kontrastmitteln bleibt die Niere unter bestimmten Voraussetzungen und Risikofaktoren ein „Restproblembereich“ der Röntgenkontrastmittel.

Nach der Applikation eines Kontrastmittels kommt es an der Niere zu einer Änderung der Hämodynamik, vor allem zu einem Abfall der glomerulären Filtrationsrate. Diese veränderte Hämodynamik ist die wesentliche Komponente, die für die Entwicklung einer kontrastmittelinduzierten Nephrotoxizität verantwortlich gemacht wird.

Im Verlauf der vorliegenden Promotion wurde ein neues Tiermodell entwickelt, das geeignet ist, den Einfluß eines Röntgenkontrastmittels auf die GFR aufzuzeigen und, durch Verwendung derselben Hunde in mehreren Versuchsserien, auch den direkten Vergleich verschiedener Kontrastmittel miteinander in Bezug auf ihre Nephrotoxizität zuläßt.

Zur Erprobung des neu entwickelten Modells wurden das ionische, hochosmolare Kontrastmittel Angiografin<sup>®</sup> sowie das nicht-ionische, isotone Dimer Isovist<sup>®</sup>-300 (jeweils in der maximal beim Menschen eingesetzten diagnostischen Dosis) verwendet. Als Kontrolle diente eine Applikation mit dem gleichen Volumen einer isotonen Kochsalzlösung.

Nachdem im **Vorversuch A** die zu verwendende Kreatinindosis und die interindividuelle Varianz der Bolusausscheidung untersucht worden waren, konnte im **Versuch 1** gezeigt werden, daß die Applikation des hochosmolaren RKM Angiografin<sup>®</sup> die Ausscheidung des Kreatininbolus von 20 mg/ kg verzögert und einen Abfall der glomerulären Filtrationsrate um fast 40 % im Vergleich zur mit NaCl-Lösung behandelten Kontrollgruppe bewirkt.

Der im **Versuch 2** durchgeführte Vergleich der Auswirkungen einer Angiografin<sup>®</sup>-Behandlung und der Behandlung mit einer gleichosmolalen Mannitollösung auf die Ausscheidung des Kreatininbolus ergab für beide Behandlungsgruppen identische Ausscheidungskurven. Damit läßt sich nachweisen, daß bei diesem Tiermodell der Einfluß des Angiografin<sup>®</sup> auf die glomeruläre Filtrationsrate auf seine Osmolalität zurückzuführen ist.

Im **Versuch 3** wurde dann in einem 3-fachen Cross-Over-Verfahren schließlich das nicht-ionische Dimer Isovist<sup>®</sup> in Hinblick auf seine Wirkung auf die Ausscheidung des Kreatininbolus mit dem Angiografin<sup>®</sup> und der NaCl-Kontrollgruppe verglichen. Dabei zeigt die pharmakokinetische Auswertung für Angiografin<sup>®</sup> eine um 30 % im Vergleich zu der Kontrolle verringerte Kreatininclearance und für das Isovist<sup>®</sup> einen Abfall der Kreatininclearance gegenüber der Kontrolle von 20 %.

Der **Vorversuch B** diente durch die Ermittlung von pharmakokinetischen Parametern der verwendeten Clearance-Marker zur Vorbereitung des folgenden Clearanceversuchs.

Mit Hilfe der Ergebnisse der Inulin-clearance aus **Versuch 4**, die einen deutlichen Abfall der GFR nach Angiografin<sup>®</sup>-Applikation (max. -13 %) und einen nicht ganz so starken GFR-Abfall nach der Applikation von Isovist<sup>®</sup>-300 (max. -6 %) zeigen, war es möglich die Ergebnisse von Versuch 3 auf ihre Aussagefähigkeit hin zu überprüfen.

Durch die Bestimmung des Korrelations-Koeffizienten von  $R = 0,732$  für die Korrelation zwischen der renalen <sup>14</sup>C-Inulin-clearance (Versuch 4) und der Plasmakreatinin-clearance (Versuch 3) konnte die Verwendung der mit dem TOPFIT-Programm berechneten Kreatinin-clearance als legitimes Maß für die glomeruläre Filtrationsrate bestätigt werden.

Die mit einem ELISA in Versuch 4 durchgeführten Endothelinbestimmungen nach RKM-Applikation ergaben einen klaren Hinweis für die Beteiligung dieses vasoaktiven Peptids an den Auswirkungen des Angiografin<sup>®</sup> auf die renale Hämodynamik. Auch das Isovist<sup>®</sup> bewirkt eine deutliche ET-Freisetzung in das Blut, wobei durch die fehlende Signifikanz dieses Wertes im Vergleich zur Kontrollgruppe die Beteiligung des ET an dem Effekt auf die Niere nicht so eindeutig festgestellt werden kann wie beim Angiografin<sup>®</sup>.

Im Ergebnis konnten durch diese Arbeit Belege für zwei verschiedene Effekte der Röntgenkontrastmittel an der Niere gefunden werden:

- Erstens für einen osmolalitätsabhängigen Abfall der glomerulären Filtrationsrate, nach heutigem Erkenntnisstand verursacht zum einen durch den diuresebedingten Anstieg des intratubulären Drucks und zum anderen durch die über den tubuloglomerulären Feedback-Mechanismus ausgelöste renale Vasokonstriktion.
- Zweitens für eine endothelinabhängige renale Vasokonstriktion, die höchstwahrscheinlich über die ETA-Rezeptoren an den glatten Muskelzellen der Nierengefäße vermittelt wird.

Da jedoch im Versuch 2 zwischen der Angiografin<sup>®</sup>-Behandlung und der Behandlung mit einer gleichosmolalen Mannitollösung keine unterschiedlichen Auswirkungen auf die glomeruläre Filtrationsrate festzustellen war, muß im Falle des Angiografins<sup>®</sup> ein absolut dominanter Effekt der Osmolalität auf die GFR postuliert werden, der den Effekt des freigesetzten Endothelins auf die renale Vasokonstriktion vollkommen kaschiert. Die Auswirkungen der Osmolalität und des Endothelins sind daher, zumindest bei so hochosmolaren Röntgenkontrastmitteln wie dem Angiografin<sup>®</sup>, nicht additiv.

Im Falle des Isovist<sup>®</sup>-300 hingegen können, bei einer dem Blut entsprechenden Osmolarität, die Auswirkungen auf die glomeruläre Filtrationsrate/ Kreatinin-clearance durch die Endothelin-Freisetzung erklärt werden. Außerdem trägt auch die geringgradige Diurese (durch den damit verbundenen intratubulären Druckanstieg) mit zum Abfall der glomeruläre Filtrationsrate bei.

Somit konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, daß das nicht-ionische, blutisotone Isovist<sup>®</sup> eine geringere Auswirkung auf den Abfall der glomerulären Filtrationsrate und die ET-Freisetzung an der Niere hat als das Angiografin<sup>®</sup>.

## 6. Summary

Iodinated contrast media (CM) differ from therapeutically employed drugs by the requirement of having no pharmacological properties besides their diagnostic use in radiology. This is particularly necessary since they have to be administered in extremely high dosages. Despite the very good general tolerance of present-day CM the kidney represents a „residual-problemfield“ of X-ray contrast agents.

Application of CM leads to a change in renal haemodynamics, above all to a decrease in the glomerular filtration rate (GFR). This change in the haemodynamics of the kidney is considered to be the main cause for the development of contrast media-induced nephropathy (CMN).

In the course of the submitted thesis a new animal-model has been developed that allows to show the effect of CM on the GFR and, by means of using the same dogs in a series of trials, enables a direct comparison of different contrast media concerning their nephrotoxicity.

The ionic, high osmolar CM, Angiografin<sup>®</sup>, and the non ionic, isotonic dimer, Isovist<sup>®</sup>-300, were used (at the maximum dose applied to humans) to test the newly developed animal model. An identical volume of isotonic saline was used as control.

In a **first pre-investigation** the optimal creatinine dose and the interindividual variability of the excretion of a creatinine bolus (single injection) were determined. In the **first part of the main trial** it could be shown that the application of the high osmolar CM Angiografin<sup>®</sup> resulted in a retardation of creatinine elimination (20 mg/kg BW) and in a decrease of the GFR of almost 40 % in comparison to the control group.

Comparing the effects of an Angiografin<sup>®</sup> application and a treatment with an equimolar mannitol solution on the excretion of the creatinine bolus in the **second part of the main trial** revealed identical creatinine elimination curves. This result leads to the conclusion, that in this animal model the effect of Angiografin<sup>®</sup> on the GFR is due to its high osmolality.

In the **third part of the main trial** a triple cross-over procedure was applied to compare the non ionic dimer Isovist<sup>®</sup> with Angiografin<sup>®</sup> and saline concerning their influence on the elimination of creatinine. The results from the pharmacokinetic analysis show a 30 %-decrease of the creatinine clearance following Angiografin<sup>®</sup> while the Isovist<sup>®</sup> application resulted in a creatinine clearance reduction of 20 % in comparison to the control.

The experiments of a **second pre-investigation** were conducted to obtain pharmacokinetic parameters of the clearance markers in preparation of the main clearance trial.

Using the results of the inulin clearance from the **clearance trial**, that show a significant GFR decrease (max. -13 %) after Angiografin<sup>®</sup>-application and only a slighter (max. -6 %) decrease in the glomerular filtration rate following the application of Isovist<sup>®</sup>-300, it was possible to verify the results from the third part of the main trial.

From a correlation coefficient of  $R = 0.732$  for the relationship between the renal <sup>14</sup>C-inulin clearance (clearance trial) and the plasma creatinine clearance (3<sup>rd</sup> part of the main trial) the correctness of the creatinine clearance, calculated by using results from a pharmacokinetic fitting model (TOPFIT) as an indicator of the GFR could be shown.

The results of the endothelin (ET) determinations made in the course of the clearance trial can be considered as a clear confirmation of the participation of this vasoactive peptide in the effects of the Angiografin<sup>®</sup> on renal haemodynamics. Isovist<sup>®</sup>-300 also provokes a profound raise in plasma ET. However the participation of ET is not so unequivocally clear, due to lack of significance in comparison to the control group.

In conclusion this thesis has found supporting evidence of two different effects of CM on the kidneys:

- first for an osmolality-dependent decrease of GFR, caused on the one hand by the increase of intra-tubular pressure through the diuretic action of the CM and on the other hand by the renal vasoconstriction triggered through the tubulo-glomerular feedback mechanism
- second for an endothelin-dependent renal vasoconstriction, most likely mediated through ETA receptors on the smooth muscle cells of the renal vessels

Since no difference between the administration of Angiografin<sup>®</sup> and an equiosmolar mannitol solution concerning the effect on the GFR was detected in the 2<sup>nd</sup> part of the main trial, an absolutely dominant effect of the osmolality on the GFR has to be postulated in the case of Angiografin<sup>®</sup> that completely overrides the effect of endothelin on the renal vasoconstriction. The effects of osmolality and ET were not additive, at least not when dealing with high osmolar CM like Angiografin<sup>®</sup>.

In the case of the iso-osmotic Isovist<sup>®</sup>-300 on the other hand, the effects on the glomerular filtration rate/ creatinine clearance can be explained by ET release. Additionally, the slight diuresis induced by Isovist<sup>®</sup> contributes (through a rise of intra tubular pressure) to the decrease of GFR.

In the course of this thesis it could be shown that the non-ionic, isotonic dimer Isovist<sup>®</sup>-300 has less effect on the GFR decrease and the ET release in the kidney than the ionic, high osmolar Angiografin<sup>®</sup>.

## 7. Literaturverzeichnis

Akagi, M., S. Masaki, K. Kitazumi, M. Mio und K. Tasaka (1991):  
Comparative study of the adverse effects of various radiographic contrast media, including ioversol, a new low-osmolality medium  
Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol. 13: 449-54

Arend, L.J., G.L. Bakris, J.C. Burnett Jr., C. Megerian und W.S. Spielman (1987):  
Role for intrarenal adenosin in the renal hemodynamic response to contrast media.  
J. Lab. Clin. Med. 110: 406-11

Asheim, A., F. Persson und S. Persson (1960):  
Renal clearance in dogs with regard to variations according to age and sex.  
Acta. Physiol. Scand. 51: 150-62

Bakris, G.L. und J.C. Burnett Jr.(1985):  
A role for calcium in radiocontrast-induced reductions in renal hemodynamics.  
Kid. Int. 27: 465-68

Barrett, B.J. und E.J. Carlisle (1993):  
Metaanalysis of the relative nephrotoxicity of high- and low-osmolality iodinated contrast media.  
Radiology 188: 171-78

Bartels, H. M. Böhmer und C. Heierli (1972):  
Serum Kreatininbestimmung ohne enteiuweisen.  
Clin. Chim. Acta 37: 189-92

Berns, J.S. und M.R. Rudnick (1992):  
Radiocontrast media associated nephrotoxicity.  
The Kidney 24: 1-5

Bernstein, E.F., J.D. Palmer, T.A. Aaberg und R.L. Davis (1961):  
Studies on the toxicology of Hypaque-90% following rapid venous injection.  
Radiology 76: 88-95

Bovee, K.C. and T. Joyce (1979):  
Clinical evaluation of glomerular function: 24-hour creatinin clearance in dogs.  
JAVMA 174: 488-91

Cigarroa, R.G., R.A. Lange, R.H. Williams und L.D. Hillis,(1989):  
Dosing of contrast material to prevent contrast nephropathy in patients with renal disease.  
Am. J. Med. 86: 649-52

Clark, B.A.,D. Kim und F.H. Epstein (1997):  
Endothelin and atrial natriuretic peptide levels following radiocontrast exposure in humans.  
Am. J. Kid. Dis. 30: 82-86

Clauß W., J. Dinger und C. Meißner (1995):  
Renal tolerance of iotrolan 280 - a meta-analysis of 14 double-blind studies.  
Eur. Radiol. 5: 79-84

Danford, R.O. L.B. Talner und A.J. Davidson (1969):  
Effect of graded osmolalities of saline solution and contrast media on renal extraction of PAH in the dog.  
Invest Radiol 4: 301-05

Dawson, P. (1987):  
Aspects of contrast agent nephrotoxicity.  
In: Felix, R., H.W. Fischer, M. Korman, S. Paulin, A. DeSchepper, I.O. Skalpe, U. Speck, K.-J. Wolf (Hrsg.): Contrast media from the past to the future.  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 137-48

Dawson, P. und M. Trewhella (1990):  
Opinion: Intravascular contrast agents and renal failure.  
Clin. Radiol. 41: 373-75

Dawson, P. (1993):  
Beeinflusst die Injektionsgeschwindigkeit die Verträglichkeit?  
In: Dawson, P. und W. Clauß (Hrsg.): KM in der Praxis.  
Springer Verlag, Berlin: 111

Dawson P. (1995):  
The non-ionic dimers - some theoretical and clinical considerations.  
Eur. Radiol. 5: 103-06

Deray, G., M. Dubois, F. Martinez, B. Baumelou, H. Beaufils, R. Bourbouze, A. Baumelou u. C. Jacobs (1990):  
Renal effects of radiocontrast agents in rats: A new model of acute renal failure.  
Am. J. Nephrol. 10: 507-13

Deray G. and C. Jacobs (1996):  
Renal tolerance of nonionic dimers.  
Invest. Radiol. 31: 372-77

DiBona, G.F. (1978):  
Effect of anionic and nonionic contrast media on renal extraction of paraaminohippurat in the dog.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 157: 453-55

Dorph, S. (1995):  
The effect of contrast agents on renal function.  
Eur Radiol 5: S74-78

Edwards, R.M., W. Trizna und E.H. Ohlstein (1990):  
renal microvascular effects of endothelin.  
Am. J. Physiol. 259: F217-21

Finco, D.R., D.B. Coulter und J.A. Barsanti (1982):  
Procedure for a simple method of measuring glomerular filtration rate in the dog.  
JAAHA 18: 804-06

Forrest, J.B., S.S. Howards und J.Y. Gillenwater (1981):  
Osmotic effects of intravenous contrast agents on renal function.  
J. Urol. 125: 147-50

Frennby, B. (1996a):

Use of iohexol clearance to determine the glomerular filtration rate: comparison between different techniques in man and animal.

Dissertation Malmö 1996

Frennby, B., G. Sterner, T. Almén, C.-M. Chai, B.A. Jönsson und S. Månsson (1996b):

Clearance of iohexol, chromium-51-ethylenediaminetetraacetic acid and creatinine for determining the glomerular filtration rate in pigs with normal renal function: comparison of different clearance techniques.

Acad. Radiol. 3: 651-59

Hall, J.E., A.C. Guyton und B.M. Farr (1977):

A single injection method for measuring glomerular filtration rate.

Am. J. Physiol. 232: 72-76

Halsell, R.D. (1987):

Heating contrast media: role in contemporary angiography.

Radiology 164: 276-78

Harris, K.G., T.P. Smith, A.H. Cragg und J. H. Lemke (1991):

Nephrotoxicity from contrast material in renal insufficiency: Ionic versus nonionic agents.

Radiology 179: 849-52

Heinzel, G., R. Woloszczac, P. Thomann (1993):

TopFit Version 2.0: Pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis system for the PC.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

Heyman, S.N., B.A. Clark, N. Kaiser, K. Stokes, S. Rosen, M. Brezis u. F.H. Epstein (1992):

Radiocontrast agents induce endothelin release in vivo and in vitro.

J. Am. Soc. Nephrol. 3: 58-65

Hoher, B., C. Thöne-Reineke, C. Bauer, M. Raschak und H.H. Neumayer (1997b):

The paracrine endothelin system: Pathophysiology and implications in clinical medicine.

Eur. J. Chem. Clin. Biochem. 35: 175-89

Hofmeister, R. (1988):

Untersuchungen zur Nephrotoxizität von ionischen und nichtionischen Röntgenkontrastmitteln bei Ratten mit vorgeschädigten und nichtvorgeschädigten Nieren unter besonderer Berücksichtigung der Harnenzymdiagnostik

Dissertation Berlin 1988

Houck, C.R. (1948)

Statistical analysis of filtration rate and renal plasma flow related to weight and surface area in dogs

Am. J. Phys. 153: 169-75

Humes H.D., D.A. Cieslinski und J.M. Messana (1987):

Pathogenesis of radiocontrast-induced acute renal failure.

Diagnostic Imaging 9 (suppl.): 12-18

Idée, J.M., H. Beaufils und B. Bonnemain (1994):

Iodinated contrast media-induced nephropathy: Pathophysiology, clinical aspects and prevention.

Fundam. Clin. Pharmacol. 8: 193-206

Izzat, N.N. und J.P. Roseborough (1989):

Renal function in conscious dogs: Potential effect of gender on measurement.

Res. Exp. Med. 189: 371-79

Karlsen, S.J., B. Smevik, J. Stenstrom und K. J. Berg (1990):

Acute physiological changes in canine kidneys following exposure to extracorporeal shock waves.

J. Urol. 143: 1280-83

Karlsen, S.J., B. Smevik, J. Stenstrom und K. J. Berg (1993):

Does the administration of systemic radiographic contrast media influence the acute changes in renal physiology following exposure to extracorporeal shock waves in dogs?

J. Urol. 150: 219-22

Katholi, R.E., G.J. Taylor, W.T. Woods, K.A. Womack, C.R. Katholi, W.P. McCann, H.W. Moses, J.T. Dove, F.L. Mikell, R.C. Woodruff, B.D. Miller und J.A. Schneider (1993):  
Nephrotoxicity of nonionic low-osmolality versus ionic high-osmolality contrast media: A prospective double-blind randomized comparison in human beings.

Radiology 186: 183-87

Katzberg, R.W., T.W. Morris, F.A. Burgener, D.E. Kamm und H. W. Fischer (1977):

Renal renin and hemodynamic responses to selective renal artery catheterization and angiography.

Invest. Radiol. 12: 381-88

Katzberg, R.W. G.Schulman, L.G. Meggs, W.J. H. Caldicott, M. M. Damiano und N.K. Hollenberg (1983a):

Mechanism of the renal response to contrast medium in the dog.

Invest. Radiol. 18: 74-80

Katzberg, R.W., T.W. Morris, G.S. Schulman, W.J.H. Caldicott, L.M.Boylan, M.J. Foley, R.F. Saparto und H.W. Fischer (1983b):

Reactions to intravenous contrast media; Part I: Severe and fatal cardiovascular reactions in a canine dehydration model 147: 327-30

Katzberg, R.W., T.W. Morris, G.S. Schulman, W.J.H. Caldicott, L.M.Boylan, M.J. Foley, R.F. Saparto und H.W. Fischer (1983c):

Reactions to intravenous contrast media; Part II: Acute renal response in euvolumic and dehydrated dogs

Radiology 147: 331-334

Katzberg, R.W., T.W. Morris, P.L. Di Marco, P.A. Merguerlian, J.A. Ventura, R.C. Pabico, B.A. McKenna und H.W. Fischer (1985):

Acute effects of ionic versus non-ionic contrast media on renal funktion in the euvolumic dog.

Invest. Radiol. 20: S47

Katzberg, R.W., R.C. Pabico, T.W. Morris, K.Hayakawa, B.A. McKenna, B.J. Panner, J.A. Ventura und H.W. Fischer (1986a):

Effects of contrast media on renal function and subcellular morphology in the dog.

Invest. Radiol. 21: 64-70

Katzberg, R.W., R.C. Pabico, T.W. Morris, K. Hayakawa, B.A. McKenna, J.A. Ventura, und H.W. Fischer (1986b):

A comparison of clearance and arteriovenous extraction technique for measurements of renal hemodynamic functions.

Invest. Radiol. 21: 910-16

Katzberg, R.W., T.W. Morris, E.C. Lasser, P.L. DiMarco, P.A. Merguerian, J.A. Ventura, R.C. Pabico und B.A. McKenna (1986c):  
Acute systemic and renal hemodynamic effects of meglumine/sodium diatrizoate 76% and iopamidol in euvolumic and dehydrated dogs  
Invest. Radiol. 21: 793-797

Katzberg, R.W. (1988):  
New and old contrast agents: Physiology and nephrotoxicity.  
Urol. Radiol. 10: 6-11

Katzberg, R.W., L.A. Donahue, T.W. Morris, J.A. Ventura, A.E. Krutchen, H.M. Proskin, M.Sovak und L.R. Cos (1990):  
Ioxilan, a third generation low osmolality nonionic contrast medium.  
Invest. Radiol. 25: 46-51

Katzberg, R.W. (1997):  
Urography into the 21<sup>st</sup> century: New imaging characteristics and nephrotoxicity.  
Radiology 204: 297-312

Klotz, U. (1988):  
Einführung in die Pharmakokinetik: Pharmakokinetische Grundkenntnisse, Prinzipien und ihre klinische Bedeutung.  
Govi-Verlag GmbH, Frankfurt am Main

Kon, V., T. Yoshioka, A. Fogo und I. Ichikawa (1989):  
Glomerular actions of endothelin in vivo.  
J. Clin. Invest. 83: 1762-67

Krause W., H. Miklautz, U. Kollenkirchen und G. Heimann (1994):  
Physicochemical parameters of x-ray contrast media.  
Invest. Radiol. 29: 72-80

Labato, M.A. and L.A. Ross (1991):  
Plasma disappearance of creatinine as a renal function test in the dog.  
Res. Vet. Sci. 50: 253-58

Lee, K.E., U. Behrend, G. Kaczmarczyk, R. Mohnhaupt und H.W. Reinhard (1983):  
Estimation of glomerular filtration rate in conscious dogs following a bolus of creatinine.  
Pflügers Arch. 396: 176-78

Levey, A.S., M.P. Madaio und R.D. Perrone (1991):  
Laboratory assessment of renal disease: Clearance, urinalysis and renal biopsy.  
In: Brenner, B. und F. Rector (Hrsg.): The Kidney.  
Saunders, Philadelphia: 921

Levinsky, N.G. und W. Lieberthal (1992):  
Clearance techniques.  
In: Windhager, E.E.: Handbook of physiology, Section 8: Renal physiology  
Oxford University Press, New York: 227-47

Low, D.G. (1956)  
Experimental canine Leptospirosis  
J. Inf. Dis. 98: 260-65

- Margulies, K.B., L.J. McKinley, P.G. Caverio und J.C. Burnett Jr. (1990):  
Induction and prevention of radiocontrast induced nephropathy in dogs with heart failure.  
Kid. Int. 38: 1101-08
- Margulies, K.B., F.L. Hildebrand, D.M. Heublein und J.C. Burnett (1991):  
Radiocontrast increases plasma and urinary endothelin.  
J. Am. Soc. Nephrol. 2: 1041-45
- Maurer, H.-J. (1991):  
Geschichtlicher Überblick über die Entwicklung jodierter Röntgenkontrastmittel.  
In: Peters, P.E. und E. Zeitler (Hrsg.): Röntgenkontrastmittel: Nebenwirkungen; Prophylaxe, Therapie.  
Springer-Verlag, Berlin: 1-5
- Morcos S.K. und A.M. El Nahas (1998):  
Advances in the understanding of the nephrotoxicity of radiocontrast media.  
Nephron 78: 249-52
- Morris, T.W. und H.W. Fischer (1986):  
The pharmacology of intravascular radiocontrast media.  
Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 26: 143-60
- Mudge, G.H. (1980):  
Nephrotoxicity of urographic radiocontrast drugs.  
Kid. Int. 18: 540-52
- Mützel, W., W.-R. Press und H.-J. Weinmann (1989):  
Physicochemical properties and general pharmacology of the nonionic dimer iotrolan.  
In: V. Tänzer und S. Wende (Hrsg.): Recent developments in nonionic contrast media.  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 28-32
- Nauert, C. und W. Mützel (1989):  
Experimental urography in dogs: Diagnostic quality and pharmacokinetic behavior of iotrolan in  
comparison to nonionic and ionic, monomeric contrast media.  
In: V. Tänzer und S. Wende (Hrsg.): Recent developments in nonionic contrast media.  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 82-87
- Oldroyd, S., J. Haylor, S.K. Morcos und A.M. El Nahas (1994a):  
Reduced depression of renal funktion by iotrolan in the isolated rat kidney.  
Eur. J. Radiol. 18: 64-69
- Oldroyd, S., S.-J. Slee, J. Haylor, S.K. Morcos und C. Wilson (1994b):  
Role for endothelin in the renal response to radiocontrast media in the rat.  
Clin. Sci. 87: 427-34
- Osswald, H., B. Mühlbauer und F. Schenk (1991):  
Adenosin mediates tubuloglomerular feedback response: An element of metabolic control of kidney  
funktion.  
Kid. Int. 39: 128-31
- Parfrey, P.S., S.M. Griffiths, B.J. Barrett, M.D. Paul, M. Genge, J. Withers, N. Farid und  
P.J. McManamon (1989):  
Contrast material-induced renal failure in patients with diabetes mellitus, renal insufficiency, or both.  
N. Engl. J. Med. 320: 143-49

Pernow, J., J.F. Boutier, A. Franco-Cereceda, J.S. Lacroix, R. Matran und J.M. Lundberg (1988)  
Potent selective vasokonstrictor effects of endothelin in the pig kidney in vivo.  
Acta Physiol. Scand. 134: 573-74

Ramsay, D.J. und R.V. Coxon (1967):  
The effect of intravenously infused saline on the renal clearances of inulin and paraaminohippurate in dogs.  
Quart. J. Exp. Physiol. 52: 145-49

Rehling, M., M.L.Möller, B. Thamdrup, J.O. Lund und J. Trap-Jensen (1984):  
Simultaneous measurement of renal clearance and plasma clearance of <sup>99m</sup>Tc-labelled diethylenetriaminepenta-acetate, <sup>51</sup>Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate and inulin in man.  
Clin. Sci. 66: 613-19

Seldinger, S.I. (1953):  
Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography.  
Acta. Radiol. 39: 368-76

Silbernagel, S. und A. Despopoulos (1988):  
Taschenatlas der Physiologie.  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 3. Auflage: 336

Simonson, M.S. (1993):  
Endothelins: multifunctional renal peptides.  
Physiol. Rev. 73: 375-411

Smith, H.W. (1951):  
The Kidney: Structure and function in health and disease.  
Oxford University Press, New York

Speck, U., W. Mützel und H.-J. Weimann (1983):  
Chemistry, physiochemistry and pharmacology of known and new contrast media for angiography, urography and CT-enhancement.  
In: Tänzer, V. und E. Zeitler (Hrsg.): Contrast media in angiography, urography and computerized tomography.  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 2-10

Speck, U. (1991):  
Röntgenkontrastmittel: Übersicht, Anwendung und pharmazeutische Aspekte.  
Springer Verlag, Heidelberg, 3. Auflage: 1-11

Speck, U. (1995):  
Preclinical findings with iotrolan: A short review.  
Eur. Radiol. 5: S8-13

Stacy, D.L., J.W. Scott und J.P. Granger (1990):  
Control of renal function during intrarenal infusion of endothelin.  
Am. J. Physiol. 258: F1232-36

Talner, L.B. and A.J. Davidson (1968a):  
Effect of contrast media on renal extraction of PAH.  
Invest. Radiol. 3: 301-09

- Talner, L.B. and A.J. Davidson (1968b):  
Renal hemodynamic effects of contrast media.  
Invest. Radiol. 3: 310-17
- Thomsen, H.S., K. Golman, L. Hemmingsen, s. Larsen, P. Skaarup und  
O. Svendsen (1993):  
Contrast medium induced nephropathy: Animal experiments.  
Frontiers in European Radiology 9: 83-108
- Tilley, L.P. und F.W.K. Smith (1997):  
Normal reference ranges for laboratory tests.  
in: Tilley, L.P. und F.W.K. Smith: The five minute veterinary consult canine and feline.  
Williams and Wilkens Verlag, Baltimore: 1167
- Ueda J., A. Nygren, P. Hansell und U. Erikson (1992):  
Influence of contrast media on single nephron glomerular filtration rate in rat kidney.  
Acta. Radiol. 33: 596-99
- Ueda J., A. Nygren, P. Hansell und H.R. Ulfendahl (1993):  
Effect of intravenous contrast media on proximal and distal tubular hydrostatic pressure in the rat  
kidney.  
Acta. Radiol. 34: 83-87
- Ueda, J., T. Furukawa, K. Higashino, S. Takahashi, Y. Araki, K.Kubo und  
T. Nakashima (1997):  
Urine viscosity after injection of iotrolan or iomeprol.  
Acta. Radiol. 38: 1079-82
- Vollmar, A.M., U. Preusser, A. L. Gerbes, W. Kraft und R. Schulz (1995):  
Endothelin concentration in plasma of healthy dogs and dogs with congestive heart failure, renal  
failure, diabetes mellitus and hyperadrenocorticism.  
J. Vet. Int. Med. 9: 105-11
- Whiteneck, J.M., C.S. Powell, N.N. Abumrad, L.L. Dunbar und R.H. Dean (1983):  
Acute changes in renal function: Validation of a simple isotopic technique for measurement of renal  
clearance.  
Curr. Surg. 22: 365-68
- Workman, R.J., M.I. Shaff, R.V. Jackson, J. Diggs, M.G. Frazer und C. Briscoe (1983):  
Relationship of renal hemodynamic and functional changes following intravascular contrast to the  
renin-angiotensin system and renal prostacyclin in the dog.  
Invest. Radiol. 18: 160-66
- Yanigasawa, M.,H. Kurihara, S. Kimura, Y. Tomobe, M. Kobayashi, Y. Yazaki, K. Goto und  
T. Masaki (1988):  
A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells.  
Nature 332: 411-15

