

Aus der Abteilung für Toxikologie  
(Leiter: Univ. Prof. Dr. med. T. Zilker)  
der II. Med. Klinik  
(Direktor: Univ. Prof. Dr. med. R. Schmid)  
und aus dem  
Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung  
der  
Technischen Universität München  
(Direktor: Univ. Prof. Dr. med. B. Gänsbacher)

Angefertigt unter der Leitung von  
Dr. med. F. Eyer  
PD. Dr. med. vet. J. Henke  
Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil W. Erhardt

Vorgelegt über  
Univ. Prof. Dr. med. vet. M. Stangassinger  
Lehrstuhl für Physiologie  
Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung,  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Zum Einfluss repetitiv duodenal applizierter Aktivkohlegaben  
auf die Elimination von intravenös verabreichtem  
Paracetamol (N-Acetyl-para-aminophenol)**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Nicole Jung  
aus Siegen  
München, 2008

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. vet. J. Braun  
Referent: Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. Stangassinger  
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Ammer

Tag der Promotion: 08.02.2008

Meiner Familie  
und  
meinen Freunden

# INHALTSVERZEICHNIS

---

1	<b>Einleitung</b> .....	1
2	<b>Schrifttum</b> .....	3
2.1	Paracetamol .....	3
2.1.1	Eigenschaften und Pharmakokinetik beim Menschen .....	3
2.1.2	Paracetamol Dosierungen beim Menschen .....	5
2.1.3	Klinik der Paracetamolüberdosierung beim Menschen.....	6
2.1.4	Paracetamolvergiftungen bei Haustieren .....	7
2.1.5	Alternativbehandlung einer Paracetamolvergiftung .....	8
2.2	Gastrointestinale Dialyse mit Aktivkohle .....	10
2.2.1	Geschichtlicher Hintergrund der Aktivkohle .....	10
2.2.2	Grundprinzipien der gastrointestinalen Dialyse mit Aktivkohle .....	11
2.2.3	Funktion und Anwendung der Aktivkohle.....	12
2.2.4	Unterbrechung des enterohepatischen Kreislaufs durch Aktivkohle .....	13
2.2.5	Die Einmalgabe von Aktivkohle .....	15
2.2.6	Die repetitive Aktivkohlegabe .....	16
2.2.7	Elimination verschiedener Pharmaka durch Gastrointestinale Dialyse .....	17
2.3	Die Ratte als Tiermodell.....	18
2.3.1	Die Single-Pass-Perfusions-Technik.....	18
2.3.2	Der Dünndarm des Menschen und der Ratte .....	19
3	<b>Eigene Untersuchungen</b> .....	20
3.1	Zielsetzung .....	20
3.2	Material und Methoden.....	21
3.2.1	Versuchstiere und Haltungsbedingungen.....	21
3.2.2	Gruppeneinteilung .....	21
3.2.3	Versuchssubstanz .....	22
3.2.4	Narkoseeinleitung und Vorbereitung.....	22
3.2.5	Tracheotomie und Beatmung .....	23
3.2.6	Kanülierung der Gefäße.....	24
3.2.7	Narkoseweiterführung und Überwachung .....	26
3.2.8	Laparotomie .....	27
3.3	Versuchsdurchführung .....	32

## INHALTSVERZEICHNIS

---

3.3.1	Probenmessungen .....	33
3.3.2	Radioaktivität .....	33
3.3.3	Statistische Methoden.....	34
3.4	Ergebnisse.....	34
3.4.1	Physiologische Parameter.....	34
3.4.2	Halbwertszeit und AUC von Paracetamol.....	38
3.4.3	Renale Exkretion von Paracetamol (P) und seinen Metaboliten (M).....	41
3.4.4	Exkretion von Paracetamol (P) und seinen Metaboliten (M) in den Darm .....	42
3.4.5	Exkretion von Paracetamol (P) und seinen Metaboliten (M) in die Galle .....	43
3.4.6	Speicherung von Paracetamol (P) und seinen Metaboliten (M) in den Organen....	44
4	<b>Diskussion</b> .....	45
4.1	Zur Eignung des Tiermodells .....	45
4.2	Die gastrointestinale Dialyse als Dekontaminationsmöglichkeit.....	46
4.3	Zur Pharmakokinetik von Paracetamol (P) und seiner Metaboliten (M) und zur fehlenden Effizienz der Aktivkohle .....	48
4.4	Zur Exkretion von Paracetamol (P) und seiner Metaboliten (M) in die Galleflüssigkeit, in die Darmspülproben und in den Urin.....	49
4.5	Zur klinischen Relevanz von Aktivkohle für die Erhöhung der Exsorption des Paracetamols (P) und seiner Metaboliten (M) in das Intestinallumen .....	52
4.6	Zur Relevanz der Aktivkohle in der klinischen Behandlung Vergifteter .....	53
5	<b>Zusammenfassung</b> .....	54
6	<b>Summary</b> .....	55
7	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	56
8	<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	65
9	<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	66
10	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	67
11	<b>Danksagung</b> .....	68
12	<b>Lebenslauf</b> .....	70

# 1 EINLEITUNG

Paracetamol (Acetaminophen), ist ein rezeptfrei erhältliches, weltweit verbreitetes schmerz- und fiebersenkendes Medikament. Die Substanz weist in den üblichen Dosierungen nur geringe unerwünschte Nebenwirkungen auf. Kommt es jedoch bei Überdosierung zu einer Erschöpfung der hepatischen Glutathionreserven, treten dosisabhängig reversible Störungen der Leberfunktion und Leberzellnekrosen bis hin zu einem irreversiblen Leberausfall auf. Dieser ist die häufigste Ursache für eine Lebertransplantation (DARGAN und JONES 2002).

Paracetamol gewann seine Popularität in den 60er Jahren und galt als weniger toxisch als Aspirin. Eine Überdosis Paracetamol zählt allerdings mittlerweile in den USA zu der zweithäufigsten Intoxikation (GYAMLANI und PARIKH 2002). In Großbritannien ist sie sogar die häufigste. Pro Jahr sterben hier 100 bis 200 Patienten an einer Paracetamolvergiftung (WALLACE et al. 2002). In München hilft seit 1963 der Giftnotruf Ärzten, Apothekern und Laien bei Fragen zu Vergiftungen. Er entstand im Rahmen der ersten klinisch-toxikologischen Spezialabteilung Deutschlands. Die Einnahme von Arzneimitteln war in den Jahren 2004 und 2005 die häufigste Vergiftungsursache in allen Altersgruppen. Am häufigsten waren dies Medikamente aus der Gruppe der Analgetika wie zum Beispiel Paracetamol. Im Jahr 2006 gingen 29701 telefonische Anfragen im Giftnotruf ein, dabei handelte es sich in 788 Fällen um Paracetamolvergiftungen. Von den Betroffenen zeigten sich 387 ohne Symptome, 343 wiesen leichte Vergiftungserscheinungen wie Übelkeit, Erbrechen, Schwitzen, Schwindel und Oberbauchschmerzen auf. In 29 Fällen wurden mittelschwere Verläufe registriert, gekennzeichnet durch Leberschädigung mit Anstieg der Transaminasen bis 1000 U/l, Oberbauchbeschwerden, Gerinnungsstörungen sowie Bilirubin- und Ammoniakanstieg im Blut. In 7 Fällen war der Verlauf schwer. Hier fand sich ein Schaden des Leberparenchyms mit einem Quickwert unter 30 %, ein Anstieg der Transaminasen über 1000 U/l, eine hepatische Enzephalopathie und Nierenschäden mit tubulären Nekrosen durch toxische Stoffwechselprodukte (GIFTNOTRUFZENTRALE MÜNCHEN 2007).

Die wichtigste Maßnahme für Patienten, die aus suizidalen oder unbeabsichtigten Gründen eine Überdosis eines Medikaments eingenommen haben, ist die Verhinderung der weiteren Absorption der Substanz im Körper und des Weiteren eine unterstützende Behandlung zur Elimination des Giftes. Aktivkohle ist allgemein anerkannt als effektives Adsorptionsmittel von zahlreichen

Medikamenten und anderen toxischen Substanzen aus dem Gastrointestinaltrakt. Aktivkohle steigert aber auch die Clearance von bereits im Blutkreislauf befindlicher Substanzen und ist so auch nach bereits erfolgter Resorption noch wirksam. So ist eine späte Applikation noch wirksam. Die Anwendung hat kaum Nebenwirkungen (LEVY 1982). Als Entgiftungsmethode wird die Holzkohle erstmals 1813 im Schrifttum genannt (HENSCHLER und KREUTZER 1968). Zahlreiche Studien beurteilen die Anwendung der Aktivkohle als sicher und auch als erfolgreich (LEVY und HOUSTON 1976; PALATNICK und TENENBEIN 1992; CHRISTOPHERSEN et al. 2004). Als Behandlungsmethode überzeugt sie durch das Fehlen von Eigentoxizität. Es existieren aber auch widersprüchliche Aussagen über die Aktivkohlebehandlung im Bezug auf eventuelle Schwierigkeiten bei der Applikation, die sogar als gefährlich eingeschätzt werden und deshalb diese Behandlung ablehnen (HARRIS und FILANDRINOS 1993).

Die widersprüchlichen Diskussionen der verschiedenen Arbeitsgruppen in Bezug auf die Wirksamkeit von Aktivkohle zur Steigerung der Effektivität der gastrointestinalen Dialyse sind Anlass zur experimentellen Überprüfung dieser Behandlungsmethode vor allem bei Paracetamolvergiftungen. Die Exsorption aus dem Kreislauf ist abhängig von der Chemie des zu eliminierenden Giftstoffes (ARIMORI et al. 1989; TOMIMARU et al. 1996). Ob die Exsorption von Paracetamol aus dem Blutkreislauf ins Intestinallumen durch oral verabreichte Aktivkohle tatsächlich verbessert wird, ist Untersuchungsziel der vorliegenden Studie. Die beim vorliegenden Versuch verwendete Technik der gastrointestinalen Dialyse soll mit Hilfe der Aktivkohle die Elimination der Pharmaka aus dem Körper durch Adsorption erhöhen. Der durch die Adsorption entstandene Konzentrationsgradient beeinflusst die Exsorptionsrate der Pharmaka aus dem Blut. Um den Effekt des enterohepatischen Kreislaufs differenzieren zu können, wurde bei einem Teil der Versuchstiere der Gallengang kanüliert.

## 2 SCHRIFTTUM

### 2.1 Paracetamol

Das Anilinderivat Paracetamol gehört zu den Paraminophenolen (PAP). Es ist ein weißes, kristallines, geruchloses Pulver mit bitterem Geschmack. Die wässrige gesättigte Lösung von Paracetamol hat einen pH-Wert von 5 bis 6 und weist eine stabile Halbwertszeit von 21,8 Jahren auf, bei 25C° beträgt der  $pK_a$  - Wert 9,5 (SUTTON und SOYKA 1973).

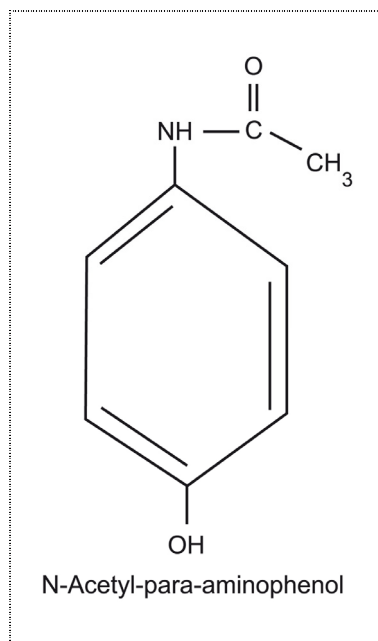


Abbildung 1: Strukturformel von Paracetamol (N-Acetyl-para-aminophenol)

#### 2.1.1 Eigenschaften und Pharmakokinetik beim Menschen

Paracetamol (Acetaminophen), abgeleitet von der chemischen Bezeichnung N-Acetyl-para-aminophenol, gehört in die Gruppe der Nichtopioid-Analgetika (ISBISTER et al. 2001). Es besitzt antipyretische und analgetische Eigenschaften, die erstmals von „von Mering“ 1893 beschrieben werden. Es wird diskutiert, dass Paracetamol bei einem Anstieg der Körpertemperatur im Zentralen Nervensystem (ZNS) an der Wärmeregulation angreift, um die Temperatur durch kutane Vasodilatation zu senken. Die Wirkungsweise der analgetischen Komponente ist



noch nicht vollständig geklärt, sie ist aber der der Salicylate ähnlich. Paracetamol kommt bei mittelstarken Schmerzen zum Einsatz. Oral eingenommen wird Paracetamol innerhalb von 15 bis 30 Minuten aus dem Gastrointestinaltrakt absorbiert. Die Wirkzeit beträgt 2 bis 3 Stunden. Die Substanz ist in den meisten Körperflüssigkeiten nachweisbar und zu 25 % an Plasmaproteine gebunden (SUTTON und SOYKA 1973).

Paracetamol hemmt reversibel die Cyclooxygenase, nicht-kompetitiv, im ZNS. Innerhalb des endoplasmatischen Reticulums werden vermutlich mit Hilfe eines reaktiven Metaboliten Sauerstoff- und Hydroxyperoxidradikale eingefangen, die für die Aktivierung der Cyclooxygenase erforderlich sind (ZHOU et al. 1996; BOUTAUD et al. 2002; ILLES und ALLGAIER 2005). Paracetamol wirkt im Gegensatz zu nicht-steroidalen Antiphlogistika (NSAIDs) und Prostaglandin-H-Synthese-Hemmern (PGHS-2) kaum antiphlogistisch (BOUTAUD et al. 2002). Im Gegensatz zu Aspirin ist kein antirheumatischer Effekt feststellbar, allerdings haben klinische Studien belegt, dass die antipyretische Wirkung beider Stoffe ähnlich ist (SUTTON und SOYKA 1973). Gerinnungsstörungen wie unter Aspirin treten nur nach Überdosierungen und Vergiftungen auf. Unter Paracetamol werden Nebenwirkungen wie Schläfrigkeit, Dermatitis, Hypoglykämie, Agranulozytose, Thrombozytopenie und Methämoglobinämie beschrieben (SUTTON und SOYKA 1973).

Paracetamol wird zu etwa 94 % (RUMACK 1983) fast vollständig in der Leber metabolisiert (JACKSON et al. 1984) und zwar hauptsächlich zu Glucuronsäure- und Schwefelsäurekonjugaten, die renal ausgeschieden werden (SUTTON und SOYKA 1973). In geringem Umfang, weniger als 4 % (RUMACK 1983), wird Paracetamol allerdings über Cytochrom-P<sub>450</sub>-Oxygenasen in N-Acetyl-p-benzochinonimin (NAPQI) umgewandelt. Dieser toxische Metabolit wird durch Glutathion inaktiviert und anschließend als Mercaptursäurekonjugat im Harn ausgeschieden. Eine Dosis von mehr als 15 g Paracetamol reduziert die Glutathionreserven der Leber (RUMACK 1983). Demzufolge findet keine hinreichende Entgiftung des N-Acetyl-p-benzochinonimin statt. Das vermehrt anfallende NAPQI bindet sich kovalent an Leberzellproteine. Diese Bindung blockiert eine nachfolgende Sekretion von Glutathion und Membranproteinen und führt so zu einer Zellschädigung bis hin zum Zelltod (ZHOU et al. 1996; KWAK et al. 1998). Die Anteile der Metaboliten bei Erwachsenen, die eine therapeutische Dosis eingenommen haben sind: 55 % Paracetamolglucuronid, 30 % Paracetamolsulfat, 4 % unverändertes Para-

cetamol und je 4 % Zystein- und Mercaptursäurekonjugate. Die letzten beiden sind Stoffwechselprodukte des Metabolismus mit Cytochrom-P<sub>450</sub>-Oxygenasen (JACKSON et al. 1984).

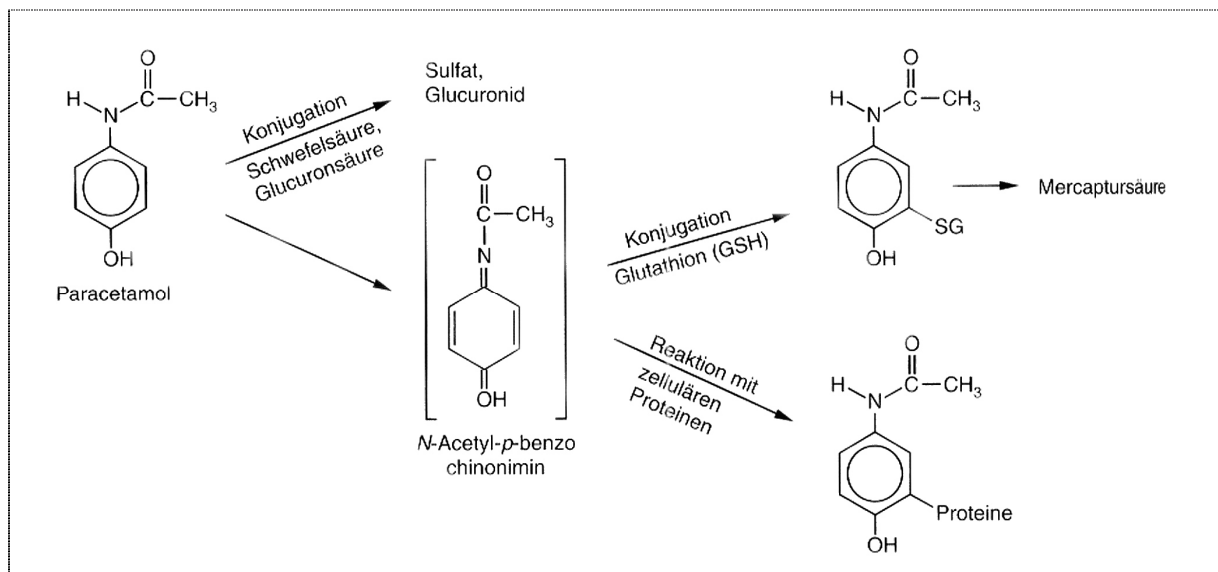


Abbildung 2: Stoffwechsel von Paracetamol (ILLES und ALLGAIER 2005)

### 2.1.2 Paracetamol Dosierungen beim Menschen

Die therapeutische Dosis für einen erwachsenen Menschen beträgt 0,5 bis 1 g alle vier Stunden. Die Höchstdosis pro Tag sollte 4 g nicht überschreiten. Die toxische Dosis für einen gesunden Erwachsenen beginnt bei 150 mg/kg Körpergewicht, bei einem chronischen Alkoholabusus oder unter Antiepileptikatherapie liegt eine Steigerung der Toxizität um 50 % durch Enzyminduktion vor (GIFTNOTRUFZENTRALE MÜNCHEN 2007).

Für Kinder sind Dosierungsstufen nach Alter üblich: alle vier bis sechs Stunden bekommen Einjährige eine Einzeldosis bis zu 60 mg, Ein- bis Vierjährige 60 bis 120 mg, Vier- bis Achtjährige 120 bis 240 mg und Acht- bis Zwölfjährige 250 mg Paracetamol (SUTTON und SOYKA 1973). Toxische Wirkungen treten bei Kleinkindern ab einer Dosis von 80 mg/kg KG auf (GIFTNOTRUFZENTRALE MÜNCHEN 2007).

### 2.1.3 Klinik der Paracetamolüberdosierung beim Menschen

Paracetamol wird in der Erwachsenen- und Kindermedizin verwendet, weil Nebenwirkungen nur selten auftreten, wenn es in üblichen Dosen eingenommen wird (SUTTON und SOYKA 1973; JACKSON et al. 1984). In der Pädiatrie ist Paracetamol ein häufig verwendetes Analgetikum und Antipyretikum und wird auch bei Neugeborenen angewandt (LEVY und HOUSTON 1976). Meist wird es oral verabreicht. Ist eine orale Verabreichung nicht möglich, z.B. bei Bewusstlosigkeit, mangelnder Kooperation oder Erbrechen des Patienten, ist die rektale Applikation angezeigt. Studien haben allerdings gezeigt, dass die rektale Paracetamolgabe eine unzuverlässige Absorption und Bioverfügbarkeit zur Folge haben kann (LIN et al. 1997).

Paracetamolvergiftungen sind die Folge einer akuten oder chronischen Überdosierung. Wenn die Überdosierung unbehandelt bleibt, zeigt sie sich klinisch in der Anfangsphase mit nichtspezifischen Symptomen wie Vomitus und Bauchschmerzen. In späteren Phasen fallen erhöhte Transaminasen auf. Drei bis fünf Tage nach der Einnahme zeigen die Patienten Anzeichen einer ernsten Leberdysfunktion (JACKSON et al. 1984).

PROUDFOOT und WRIGTH haben 1970 in einer Studie 41 Fälle von Paracetamolüberdosierungen (Tabelle 1) ausgewertet. Die Patienten nahmen 7 bis 20 g Paracetamol zu sich. Leberschäden traten erst bei einer Ingestion von 15 g auf. Dabei konnten sie eine zeitliche Abfolge von folgenden Symptomen feststellen:

**Tabelle 1: Symptome nach Paracetamolüberdosierung nach zeitlichem Verlauf (PROUDFOOT und WRIGTH 1970)**

Zeit nach Intoxikation	Symptome
0 bis 12 Stunden	Vomitus
bis 24 Stunden	Brechreiz, Bauchschmerzen
2 bis 4 Tagen	Lebensbedrohlicher Leberschaden; bemessen durch maximale Transaminasespiegel und Gerinnungsstörungen
2 bis 6 Tagen	Ikterus
bis 7 Tage	Tod

Der Grad einer Leberschädigung korreliert mit der Paracetamolmenge. Die paracetamolbedingte Mortalität der Patienten dieser Studie betrug 2 bis 4 % (PROUDFOOT und WRIGHT 1970). Die Toxizität für Neugeborene ist noch nicht ausreichend untersucht, erscheint aber gering, was auf die Kombination von langsamerer Produktion der toxischen Metaboliten in der fetalen Leber und eine schnellere Glutathionsynthese zurückzuführen ist. Paracetamolüberdosierungen bei Neugeborenen sind selten, aber die Möglichkeit einer maternalen Überdosis durch transplazentaren Transfer ist beschrieben (ISBISTER et al. 2001). Allerdings ist die rezeptfrei verkäufliche handelsübliche Packungsgröße von Tabletten und Sirup, accidentell auf einmal eingenommen, bereits potentiell letal für Kleinkinder (LEVY und HOUSTON 1976).

### 2.1.4 Paracetamolvergiftungen bei Haustieren

Bei den meisten Säugetieren wird Paracetamol hauptsächlich zu nicht-toxischen Stoffwechselprodukten in der Leber durch Konjugation mit Glukuronsäuren umgewandelt, ein kleiner Teil durch Sulfatierung abgebaut und renal ausgeschieden. In kleinerem Ausmaß wird Paracetamol durch P-450-Enzyme metabolisiert. Dabei entsteht das toxische N-Acetyl-p-benzochinonimin, welches durch Konjugation mit Glutathion entgiftet wird. Glutathion, das normalerweise in den Säugetierzellen vorkommt, dient dort zum Schutz der Zellen als Radikalfänger. Bei Säugetieren entsteht eine Paracetamolvergiftung meist, wenn der Glutathionvorrat aufgrund der Konjugation mit Paracetamol reduziert ist und die zellulären Glutathionreserven erschöpft sind. In diesen Fällen bindet N-Acetyl-p-benzochinonimin an Zellproteine und Zellmembrane, verursacht Störungen der Proteinfunktionen und zerstört Zellmembranen, führt so zu Zellschädigung und Zelltod, typischerweise bevorzugt in den Hepatozyten (ALLEN 2003).

Da Paracetamol rezeptfrei im Handel erhältlich ist, treten Vergiftungen mit dieser Substanz bei Haustieren meist nach fachkundigem Griff in die Hausapotheke durch den Tierbesitzer oder durch unkontrollierte Aufnahme durch die Tiere selbst auf, was besonders auf Hunde zutrifft (HEBEL et al. 1978). Katzen reagieren im Vergleich zu Hunden (MACNAUGHTON 2003) besonders empfindlich auf die toxischen Effekte des Paracetamols (ALLEN 2003). Subkutane Ödeme am Kopf und Methämoglobinurie sind Anzeichen einer Paracetamolintoxikation bei Katzen (ANVIK 1984).

Katzen können Glukuronid nur langsam oder gar nicht bilden, da sie einen Mangel an Glucuronyltransferasen aufweisen, die für die Konjugation von Paracetamol zuständig sind. Daraus resultiert eine vermehrte Sulfatierung des Paracetamols. Ist die Möglichkeit der Sulfatierung erschöpft, wird Paracetamol durch das Cytochrom-P-450-System zu toxischem N-Acetyl-p-benzochinonimin abgebaut. Die Glutathionsynthese wird unterdrückt durch den hohen Gehalt an Paracetamol und gleichzeitig werden durch das N-Acetyl-p-benzochinonimin die Glutathionvorräte erschöpft. Die Erythrozyten sind die anfälligsten Zellen für die toxische Wirkung des N-Acetyl-p-benzochinonimin bei der Katze. Es verursacht eine Oxidation des  $\text{Fe}^{2+}$  zu  $\text{Fe}^{3+}$ , wodurch Hämoglobin zu Methämoglobin oxidiert wird, sodass die Methämoglobinämie ein frühes und herausragendes Merkmal der Paracetamolvergiftung dieser Spezies ist. Der genaue Grund der Ödeme an Kopf und Pfoten ist ungeklärt. Die sichere therapeutische Dosis für Katzen ist umstritten. Die toxische Dosis wird in der Literatur mit 50 bis 100 mg/kg KG beschrieben, allerdings wird auch berichtet, dass schon geringere Dosen von unter 10 mg/kg KG Intoxikationen und Tod auslösen können (ALLEN 2003).

### 2.1.5 Alternativbehandlung einer Paracetamolvergiftung

Als Antidot bei einer Paracetamolvergiftung wird N-Acetylcystein (ACC) eingesetzt (RUMACK 1983). 1976 wurde zum ersten Mal eine Paracetamolüberdosierung mit ACC behandelt. Acht Stunden nach Einnahme von 15,6 g Paracetamol war bei einer Frau eine Behandlung mit ACC eingeleitet und erfolgreich beendet worden (PETERSON und RUMACK 1977). ACC ist gut verträglich. Bis zu 10 Stunden nach Paracetamoleinnahme, intravenös verabreicht, schützt es vor einer Leberschädigung, einer Niereninsuffizienz und der daraus eventuell resultierenden Todesfolge. Das Auftreten und die Schwere eines Leberschadens erhöhen sich mit steigender Zeitspanne zwischen Einnahme und Behandlungsbeginn und nehmen nach über 8 Stunden stark zu. Behandlungen mit N-Acetylcystein sind 15 Stunden nach Aufnahme einer Überdosis Paracetamol deutlich ineffektiv (PRESCOTT et al. 1979). Patienten mit organischen Vorschäden, wie z.B. Leberzirrhose sind besonders stark gefährdet (WALLACE et al. 2002).

Der Wirkmechanismus des ACC bei der Behandlung einer Paracetamolvergiftung ist noch nicht völlig geklärt. Man nimmt an, dass ACC die intrazellulären Glutathionvorräte regeneriert, die für die Entgiftung des toxischen Metaboliten NAPQI verantwortlich sind (JAMES et al. 2003).

RUMACK et al. entwickelte 1981 ein Nomogram, welches bis in die heutige Zeit bei Überdosen Verwendung findet. Es beruht auf einer Studie, die 1976 in den USA im Rocky Mountain Gift Center initiiert wurde. 6500 Patienten mit einer Paracetamolüberdosierung wurden auf die Effizienz von oral appliziertem ACC hin untersucht. Diese Werte wurden gesammelt und ausgewertet. Zeit- und dosisabhängig kann das Risiko einer Hepatotoxizität daran abgelesen werden (RUMACK et al. 1981).

Die Behandlung einer Schwangeren mit ACC nach einer Paracetamolüberdosis wirkt sich auch positiv auf das noch ungeborene Kind aus, da das ACC die Toxizität für die Mutter herabsetzt und nach Durchschreiten der Plazenta das N-Acetyl-p-benzochinonimin, das von der fetalen Leber gebildet wird, entgiften kann (ISBISTER et al. 2001).

Paracetamolvergiftungen bei Tieren werden ebenfalls mit ACC behandelt. In einem Fallbeispiel wurden einem 7 Monate alten Kater, drei Tage nach der Kastration, durch den Besitzer, zweimalig mit einem 12 Stunden Abstand jeweils 250 mg Paracetamol verabreicht. Der Kater wies Ödeme an Kopf und Pfoten auf und war bereits bei Einlieferung in die Klinik bewusstlos. Trotz einer Behandlung mit N-Acetylcystein verstarb der Kater (ANVIK 1984).

Eine Paracetamolvergiftung bei einem 11-jährigen Dalmatiner, der eine unbekannt Menge von Paracetamol aufgenommen hatte, konnte durch eine Behandlung mit ACC, fünf Stunden später durchgeführt, mit Erfolg behandelt werden (MACNAUGHTON 2003).

Auch beim Tier wird als Akutbehandlung bis zu 10 h nach der Aufnahme von Paracetamol oder anderer Paraaminophenolderivate (PAP) ACC in Dosierungen von 70 bis 140 mg/kg KG empfohlen (BOOTH 1988; ERHARDT et al. 2004).

## 2.2 Gastrointestinale Dialyse mit Aktivkohle

### 2.2.1 Geschichtlicher Hintergrund der Aktivkohle

Die absorbierenden Eigenschaften der Aktivkohle wurden schon vor 200 Jahren genutzt und bei der Behandlung von vergifteten Patienten eingesetzt (DERLET und ALBERTSON 1986). Eine Veröffentlichung zur Gabe von Aktivkohle von LOWITZ (1791) war im Jahr 1813 Anlass zu einer medizinischen Demonstration. BERTRAND, ein französischer Arzt, nahm 5g Arsenik gemischt mit Aktivkohle zu sich und überlebte. 1830 machte der französische Apotheker TOVERY vor der französischen Akademie der Medizin einen Selbstversuch mit vielfach tödlichen Dosen Strychnin gemischt mit 15 g Aktivkohle. Er überlebte ohne gesundheitliche Folgen. Dennoch war die Akademie nicht überzeugt (DERLET und ALBERTSON 1986). 1834 konnte der amerikanische Arzt HORT durch die Applikation von Holzkohlepulver und Haferschleim einen Mann retten, der einen halben Teelöffel Sublimat eingenommen hatte. GARROD zeigte 1846 an Tierversuchen mit Meerschweinchen, Hunden und Kaninchen, dass durch orale Applikation von Tierkohle die Giftwirkung von Strychnin, Belladonna, Aconitin, Schierling, Canthariden und Cyanowasserstoff aufgehoben werden kann. Doch trotz der Experimente und Selbstversuche geriet die Aktivkohle zunächst in Vergessenheit. Zwischenzeitlich, Mitte des 19. Jahrhunderts, erfreuten sich Gemische mit Bezeichnungen wie „Universalantidote“ oder „Antidotum universale“ großer Beliebtheit. Eine Mischung aus Schwefeleisen, Eisenoxidulhydrat und Magnesia wurde 1846 von DUFLOS vorgeschlagen. Sie sollte die metallischen Gifte, Cyanverbindungen und die meisten nichtflüchtigen Alkaloide inaktivieren. Erst 1910 wurde die Aktivkohle von dem Prager Pharmakologen WIECHOWSKI wieder entdeckt. Die bis dahin genutzte Holz-, Knochen- und Tierkohle wurde durch die neuen Herstellungsverfahren in ihrer Bindungsfähigkeit um ein Vielfaches verbessert. Mit diesen neuen Techniken konnten jetzt aus verschiedenen kohlenstoffhaltigen, pflanzlichen und tierischen Stoffen Adsorbentien mit großer Oberfläche erzeugt werden. Doch der Durchbruch zum modernen Antidot erfolgte erst gleichzeitig mit dem Fortschritt in den Erkenntnissen über die molekularen Mechanismen von Giften (HENSCHLER und KREUTZER 1968). Seit dieser Zeit wird Aktivkohle zunehmend auf der ganzen Welt in Krankenhäusern zur Behandlung von Vergiftungen genutzt (ISBISTER et al. 2003).

Die Adsorption von potentiell toxischen Substanzen durch Aktivkohle, die aus dem Blutkreislauf ins Gastrointestinallumen exsorbieren, wird häufig als „gastrointestinale Dialyse“ bezeichnet. In einem Leitartikel des New England Journal of Medicine wurde dieser Begriff 1982 von LEVY geprägt. Er entstand in Anlehnung an das Prinzip der peritonealen Dialyse. Andere häufig benutzte Synonyme sind enteroenterische Sekretion, gastrointestinaler Abfluss, seromukosaler Transport oder Exsorption (LEVY 1982). Der Nutzen der Gastrointestinalen Dialyse korreliert mit der Menge der zu entfernenden Substanzen, die in das Gastrointestinallumen exsorbieren. Dies ist abhängig vom Ausmaß der Bindungsaffinität zu den Proteinen, dem Verteilungsvolumen und der Lipophilie (TOMIMARU et al. 1996).

### 2.2.2 Grundprinzipien der gastrointestinalen Dialyse mit Aktivkohle

Die gastrointestinale Dialyse mit oral applizierter Aktivkohle kann als Option zur Entgiftung bei Intoxikationen angesehen werden (ARIMORI et al. 1989).

Aktivkohle ist generell als effektives Adsorptionsmittel für viele potentielle toxische Substanzen anerkannt. Sie verhindert Giftstoffabsorption aus dem Gastrointestinaltrakt in den Blutkreislauf und beschleunigt zugleich die Clearance der bereits im Blutkreislauf befindlichen Stoffe. Arzneimittel werden nicht nur aus dem Gastrointestinaltrakt absorbiert sondern entziehen auch Substanzen aus der Zirkulation zurück ins Gastrointestinallumen. Dieser Exsorptionsprozess kann nur stattfinden, wenn die Pharmaka eine kleine Molekulargröße haben, ausreichend lipophil sind, eine geringe Proteinbindungsaffinität und ein kleines Verteilungsvolumen haben. Erleichtert wird die Exsorption außerdem durch die große Oberfläche des Darms und der Aktivkohle sowie durch den Konzentrationsgradienten der zu exsorbierenden Substanzen und dem intestinalen Blutfluss (LEVY 1982; ANONYM 1999).

Bei den Pharmaka, die an Plasmaproteine binden, kann durch eine Sättigung eine dosisabhängige Änderung der Exsorptionsrate stattfinden, wenn eine hohe Dosis eines Arzneimittels eingenommen wurde. Eine Behandlung mit Aktivkohle kann daher trotzdem zu einer Erhöhung der Clearance führen (ARIMORI und NAKANO 1987). Die Diffusionsrate der Medikamente hängt vom Konzentrationsgradienten, der intestinalen Oberfläche, der Permeabilität und dem Blutfluss ab (ANONYM 1999).



Die Pharmaka diffundieren aus dem Blutkreislauf, dem Ort der höheren Konzentration, ins Darmlumen, dem Ort der niedrigeren Konzentration (ARIMORI et al. 1989). Eine relativ niedrige Konzentration im Plasma und in den Gewebsflüssigkeiten limitiert die Diffusion ins Gastrointestinallumen. Der Konzentrationsgradient kann sich durch eine erhöhte Arzneimittelkonzentration im Plasma und in den Gewebsflüssigkeiten als Resultat des Metabolismus und der renalen Exkretion umkehren, sodass das fragliche Pharmakon wieder aus der Gastrointestinalflüssigkeit zurück ins Plasma diffundieren kann. Aktivkohle verbessert die Rate der Medikamentendiffusion aus dem Blut in den Gastrointestinaltrakt durch effizientes Adsorbieren der Medikamente aus der gastrointestinalen Flüssigkeit. Dies reduziert die Konzentration der diffundierenden Substanzen in der gastrointestinalen Flüssigkeit, wodurch die Rückdiffusion verhindert und der Konzentrationsgradient maximiert wird. Die Folge sind weitere Diffusionen der Giftstoffe aus der Zirkulation ins Darmlumen. Um die Effizienz der Aktivkohle zu unterstützen und weiterhin eine deutliche Reduzierung der Medikamentenmenge zu erreichen, ist es nötig, Aktivkohle mehrmals zu verabreichen. Manche (toxischen) Substanzen werden teilweise über die Galle ausgeschieden, entweder unverändert oder in Form von Metaboliten, die pharmakologisch aktiv oder auch inaktiv sein können. Konjugierte glukuronidierte Arzneimittel können enzymatisch in der Darmwand hydrolysiert werden. Die unkonjugierten Substanzen werden wie andere bioaktive Produkte reabsorbiert. Durch die Fehlende Reabsorption von Medikamenten im Gastrointestinallumen und durch die eventuelle Ausscheidung mit den Faezes wird der enterohepatische Kreislauf unterbrochen und trägt dadurch zur beschleunigten Arzneimittelclearance bei (LEVY 1982). Die Gesamtclearance eines Medikaments während der Behandlung mit Aktivkohle ist die Summe der physiologischen endogenen Clearance und der Clearance durch die Gastrointestinale Dialyse (ARIMORI und NAKANO 1988a).

### 2.2.3 Funktion und Anwendung der Aktivkohle

Aktivkohle wird aus pflanzlichen Abfällen, im Allgemeinen Torf, Braun- oder Steinkohle, Holz, Kokosnussschalen, Kunststoffen oder Erdöl hergestellt. Die Kohle wird durch Erhitzen bei hohen Temperaturen mit Wasserdampf, Kohlendioxid oder Luft aktiviert. Angewandt werden auch aktivierende Herstellungsmethoden, die auf der Behandlung mit Phosphorsäure, Zinkchlorid, oder einer Mischung aus beidem beruhen. Durch diesen Prozess erreicht die Aktivkohle eine stark

ausgeprägte interne Porenstruktur und eine erweiterte Oberfläche von anfänglich 2 bis 4 m<sup>2</sup>/g bis hin zu 1500 m<sup>2</sup>/g. Medizinische Kohle (Carbo medicinalis) muss einige Standards erfüllen und mindestens eine Oberfläche von 900 m<sup>2</sup>/g aufweisen (ANONYM 1999).

Aktivkohle ist durch seine Porenstruktur und seine große Oberfläche bei vielen Arten von Intoxikationen ein sehr effektives Adsorptionsmittel (KARIM et al. 2001). Die Aktivkohlegabe für die gastrointestinale Dekontamination ist mindestens so wirksam wie induziertes Erbrechen durch ein Emetikum, z.B. die Gabe von Ipecac-Sirup®, wie die Magenspülung (CROCKETT et al. 1996) oder die Gabe von Abführmitteln und genießt einen hohen Stellenwert im Vergleich zu anderen Entgiftungsmethoden (KARIM et al. 2001; THAKORE und MURPHY 2002).

### 2.2.4 Unterbrechung des enterohepatischen Kreislaufs durch Aktivkohle

Aktivkohle verhindert primär die Absorption von Schadstoffen aus dem Gastrointestinaltrakt. Durch eine Erhöhung des Konzentrationsgradienten ist potentiell auch eine Rückdiffusion bereits resorbierter Medikamente von serosal nach mukosal möglich (LEVY 1982). Die repetitive Aktivkohlegabe zur Erhöhung der Elimination von Giftstoffen ist eine bewährte Behandlungsmethode, die in den letzten 20 Jahren eine Renaissance erfuhr. Die gesteigerte Clearance einer Substanz erklärt sich aus der Unterbrechung des enterohepatischen Kreislaufs und der Steigerung der Elimination aus dem Blutkreislauf durch eine geförderte Diffusion der Pharmaka ins Intestinum (enterokapillare Exsorption) (LEVY 1982; CHYKA 1995; ANONYM 1999). Eine systemische Reabsorption wird somit ebenfalls verhindert. In vorangegangenen Studien hat sich gezeigt, dass oral verabreichte Aktivkohle die Clearance intravenös verabreichter Medikamente steigern kann (LEVY 1982). Viele Pharmaka, wie auch Paracetamol (SIEGERS et al. 1983), werden in der Leber durch Glukuronid oder andere Substanzen konjugiert und mit der Gallenflüssigkeit in den Dünndarm ausgeschieden. Diese Konjugate können durch Hydrolyse ins portale Venensystem reabsorbieren (siehe Abbildung 3: Enterohepatischer Kreislauf). Die Aktivkohle unterbricht den enterohepatischen Kreislauf (CHYKA et al. 1995) durch Adsorption der freien konjugierten Pharmaka bevor eine Reabsorption stattfinden kann (siehe Abbildung 4) (LEVY 1982; DERLET und ALBERTSON 1986). Die passive Diffusion (Exsorption) von Substanzen aus der Blutzirkulation ins Darmlumen wird durch das Konzentrationsgefälle, das die Aktivkohle durch Adsorption der Pharmaka bewirkt, gefördert (siehe Abbildung 5) (CHYKA et al. 1995).

Die Unterbrechung des enterohepatischen Kreislaufs, die Steigerung der Exsorption von Pharmaka aus dem Blut ins Intestinum und die damit erhöhte Gesamtclearance durch die gleichzeitige repetitive Aktivkohlegabe wird als gastrointestinale Dialyse bezeichnet (LEVY 1982).

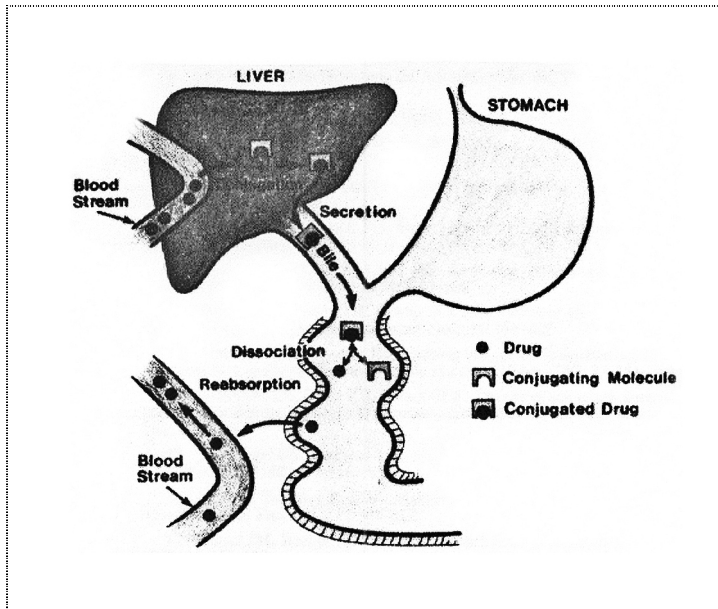


Abbildung 3: Enterohepatischer Kreislauf\*

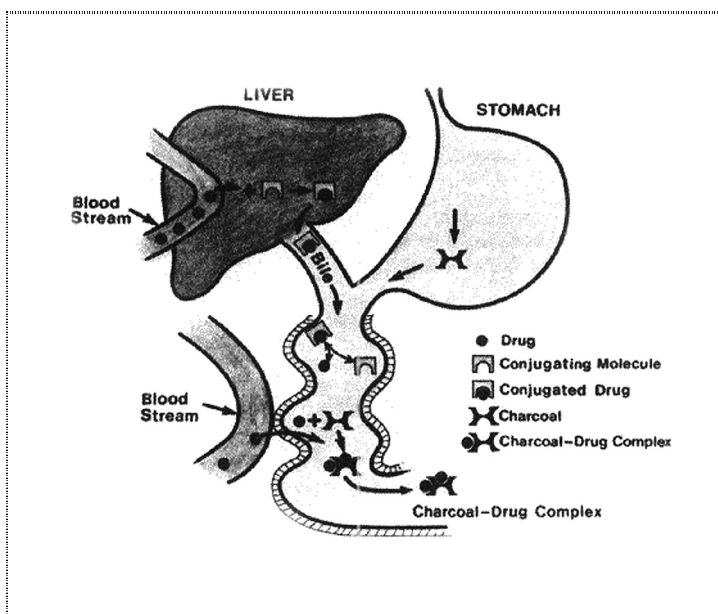


Abbildung 4: Effekt der Aktivkohle auf die enterohepatische Rezirkulation von Pharmaka\*\*

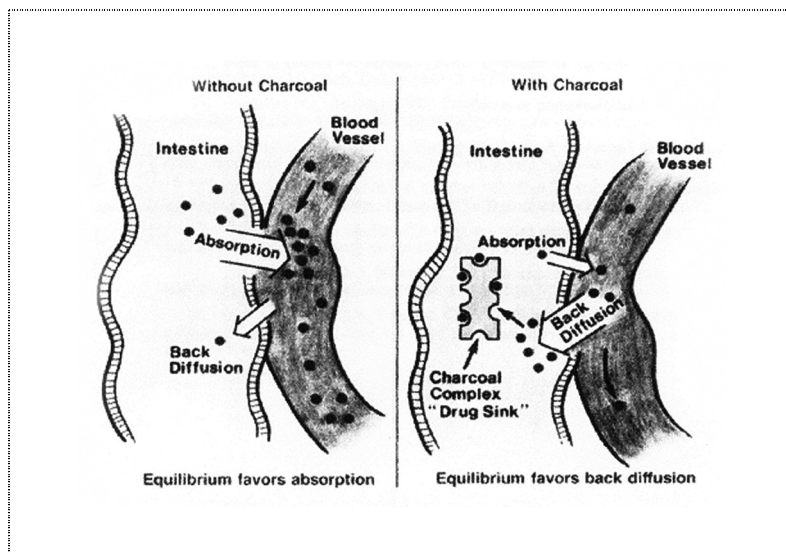


Abbildung 5: Diffusion von Pharmaka ohne (links) und mit (rechts) Aktivkohle\*\*

\*Aus (DERLET und ALBERTSON 1986) nach (MANDEL 1971).

\*\*Aus (DERLET und ALBERTSON 1986) nach (LEVY 1982).

### 2.2.5 Die Einmalgabe von Aktivkohle

Aktivkohlegabe ist die mittlerweile am häufigsten genutzte gastrointestinale Dekontaminationsmöglichkeit für Intoxikationen. Üblicherweise wird sie als Einmalgabe für Kinder und Erwachsene in Dosen von 1 bis 2 g/kg Körpergewicht verabreicht (LARSEN und CUMMINGS 1998).

Die Aktivkohle kann bereits als erste Hilfsmaßnahme im Haus des Patienten oder auch in kleineren Kliniken und Arztpraxen, die keine Möglichkeit einer erweiterten Giftelimination haben, durchgeführt werden (LEVY 1982). Die Behandlung ist nicht ohne gesundheitliche Risiken. HACK et al. berichten 2006 von einem Fall, bei dem ein Patient zwei Stunden nach einer orogastralen Lavage mit Aktivkohle verstarb. Postmortal wurde eine pulmonale Aspiration der Aktivkohle diagnostiziert (HACK et al. 2006).

Aktivkohle wird üblicherweise mit Wasser gemischt eingenommen. Um den Geschmack zu verbessern, kann Fruchtsaft oder Kakaopulver dazugegeben werden. In der Klinik wird Aktivkohle auch oft in Kombination mit der Magenspülung angewandt. In einigen Studien wurde die Relation zwischen Zeitpunkt der Giftaufnahme und der Applikation von Aktivkohle klinisch

untersucht. Dabei wurde herausgefunden, dass die Aktivkohlegabe umso wirkungsvoller ist, je schneller sie stattfindet. Sie sollte möglichst innerhalb einer Stunde nach der Einnahme der Pharmaka erfolgen. Kontraindikationen für die Anwendung der Aktivkohle sind mechanische Darmverschlüsse (ISBISTER et al. 2003).

Bei Bewusstlosigkeit des Patienten kann die Aktivkohle durch eine nasogastrale Sonde verabreicht werden (LEVY 1982). Die Atemwege sind in jedem Fall, z.B. durch Intubation, zu schützen (KARIM et al. 2001).

### 2.2.6 Die repetitive Aktivkohlegabe

Eine mehrmalige orale Aktivkohleapplikation soll eine erhöhte Elimination der in toxischen Dosen eingenommenen Substanzen bewirken. Substanzen, die eine längere Halbwertszeit und ein relativ kleines Verteilungsvolumen haben, sind der enterogastrischen Sekretion ausgesetzt. Die repetitive Aktivkohlegabe von 25 bis 50 g alle vier bis sechs Stunden führt durch Adsorption zu einer erhöhten Elimination und Reduzierung der Absorption. Eine reduzierte Reabsorption erniedrigt die Morbidität und Mortalität bei einer Intoxikation, allerdings gibt es trotz verstärkter Clearance keinen überzeugenden klinischen Beweis der Effektivität einer repetitiven Aktivkohlegabe (KRENZELOK 2002).

Die Einmalgabe mit Aktivkohle wird häufig zusammen mit Abführmitteln durchgeführt. Eine gleichzeitige Applikation von Abführmitteln und repetitiv gegebener Aktivkohle stört allerdings das Gleichgewicht des Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushaltes des Körpers und vermindert die Adsorptionszeit im Darmlumen (KRENZELOK 2002). Daher wird heute die simultane Gabe von AC und Laxantien nicht mehr empfohlen (LARSEN und CUMMINGS 1998).

Die europäisch-amerikanische Fachgesellschaft der klinischen Toxikologen und Giftnotrufzentren (AACT/EAPCCT) empfehlen anhand der Datenlage die repetitive Aktivkohlegabe uneingeschränkt nur bei einer lebensbedrohlichen Dosis von Carbamazepin, Dapson, Phenobarbital, Chinin oder Theophyllin (ANONYM 1999).

### 2.2.7 Elimination verschiedener Pharmaka durch Gastrointestinale Dialyse

ARIMORI und NAKANO (1986) zeigten in verschiedenen Studien an Tieren die Effizienz der Aktivkohle beim Prozess der Gastrointestinalen Dialyse durch eine In-situ-Single-Pass-Perfusionstechnik. Dabei stellte sich heraus, dass einige Pharmaka eher enterovaskulär in das Gastrointestinallumen transportiert werden als über die Exkretion der Galle. In einem Versuch an Ratten konnte nach intravenös verabreichtem Phenytoin und durch Gabe von Aktivkohle die Elimination erhöht werden (ARIMORI und NAKANO 1986).

1988 führten ARIMORI und NAKANO Versuche zu der Fragestellung durch, ob die intestinale Dialyse mit Aktivkohle den Transport von Procainamid und N-Acetalprocainamid bei Ratten mit akuter Niereninsuffizienz beschleunigen kann. Im Vergleich mit gesunden Ratten war die Exsorption von Procainamid und N-Acetalprocainamid vom Blut ins Intestinalumen bei den Ratten mit akuter Niereninsuffizienz erhöht. Die Aktivkohle reduzierte den N-Acetalprocainamidspiegel im Plasma bei beiden Gruppen und hatte außerdem einen geringen Effekt auf den Procainamidgehalt im Blut (ARIMORI und NAKANO 1988b).

Durch die orale Applikation von Aktivkohle konnte man in weiteren Studien die Steigerung der Clearance von Phenobarbital (ARIMORI und NAKANO 1986), Furosemid (ARIMORI und NAKANO 1988a) und Disopyramid zeigen (ARIMORI und NAKANO 1989). In anderen Versuchen zeigte man bei Ratten mit Leberstörungen bis hin zur Leberzirrhose, dass im Falle einer Theophyllinvergiftung Aktivkohle die Dauer der Vergiftungserscheinungen verkürzen kann. Infolge einer renalen Dysfunktion, welche aus der Medikamentenvergiftung selbst resultieren kann, ist die endogene Clearance generell vermindert. Somit spielt die gastrointestinale Dialyse durch orale Aktivkohlegabe eine wichtige Rolle auch bei Niereninsuffizienz. Durch die Galleausleitung, bei einigen Tieren, konnten sie nicht nur eine Unterbrechung des enterohepatischen Kreislaufs zeigen, sondern auch feststellen das das Theophyllin seromukosal und etwas geringer auch biliär exsorbiert wird (ARIMORI et al. 1989).

WAKABAYASHI et al. zeigten 1994 bei Kaninchen eine deutliche Effizienz der Aktivkohle als Adsorptionsmittel von Phenobarbital nach i.v.-Gabe. Die arterielle Phenobarbitalkonzentration verringerte sich signifikant in der Aktivkohlegruppe im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Ferner bewies er durch Kanülierung des Gallenganges die Unterbrechung des enterohepatischen Kreislauf durch AC (WAKABAYASHI et al. 1994). Bei Pestiziden und anderen organischen Phos-

phorverbindungen hat Aktivkohle keinen Einfluss auf die Elimination von bereits systemisch aufgenommen Verbindungen, da diese wegen ihrer hohen Proteinaffinität eine schlechte Exsorptionsrate aufweisen. Doch hilft sie aufgrund ihrer Adsorptionsfähigkeiten, die Reste dieser Substanzen, die sich noch im Magendarmtrakt befinden, zu entfernen (TOMIMARU et al. 1996).

### 2.3 Die Ratte als Tiermodell

Die Ratte als Tiermodell zu Absorptions- und Morphologiestudien am Intestinum ist etabliert und wird häufig eingesetzt. Die Single-Pass-Perfusion als Methode zur Untersuchung intestinaler Absorption von Pharmaka ist wohl die meist verwendete Technik (SUTTON et al. 2002). Sie hilft durch isolierte intestinale Perfusion in anästhesierten Ratten die Pharmaka- und Nährstoffabsorption im Intestinum unter physiologischen Konditionen abzuschätzen (LU et al. 1992).

#### 2.3.1 Die Single-Pass-Perfusions-Technik

Die Single-Pass-Perfusionstechnik wird als komplementärer Absorptionstest für neue chemische Verbindungen genutzt und hilft die Absorption und Exkretion verschiedener Medikamente besser zu verstehen und die Beteiligung von intestinalen Enzymen und Transportern bei der Absorption zu bestimmen (SALPHATI et al. 2001). Dafür wird bei anästhesierten Ratten nach Laparotomie der Dünndarm, am Anfang des Duodenums und an der Ileocaecalgrenze, mit je einem Polyethylenschlauch kanüliert. Anschließend wird der Darm mit einer körperwarmen (37°C) Kochsalzlösung oder Ringer-Lactat®-Lösung gespült. Die Spülproben werden über den Versuchszeitraum aufgefangen. Um den Gastrointestinaltrakt zuverlässig spülen zu können, müssen die Ratten über Nacht nüchtern gehalten werden. Die Applikation der zu untersuchenden Substanz erfolgt intravenös (ARIMORI und NAKANO 1985; 1986; 1987; 1988; 1988a; ARIMORI et al. 1992; ARIMORI et al. 2001).

Vor allem durch die Übereinstimmungen mit den Absorptionsmechanismen des Menschen wird diese Methode häufig eingesetzt (ISSA et al. 2003). Es wird immer wieder berichtet, dass sie nahezu der des Menschen entspricht (SALPHATI et al. 2001).

### 2.3.2 Der Dünndarm des Menschen und der Ratte

Der Dünndarm spielt eine große Rolle als selektive Permeabilitätsbarriere, zwischen systemischer Zirkulation und gastrointestinalem Inhalt. Er erlaubt die Absorption von Nährstoffen, wie Zucker, Aminosäuren, Peptiden, Lipiden und Vitaminen und limitiert die Absorption von Xenobiotika, Verdauungsenzymen und Bakterien. Die Absorption findet in der Darmschleimhaut statt. Generell kann man die Diffusionswege unterteilen in passiven parazellulären, passiven transzellulären, Carrier-vermittelten transzellulären Transport und vesikulären Transport. Die meisten Pharmaka passieren die Dünndarmmukosa mit Absorptionstransportern, die auch hauptsächlich für den Transport von Nährstoffen und Vitaminen verantwortlich sind. Die Pharmakaabsorption läuft bei Tieren auf ganz ähnliche Weise ab und stellt deshalb ein gutes Modell für Absorptionsuntersuchungen für den Menschen dar (HIDALGO 2001).



### 3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.1 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Studie ist es, zu klären, in welcher Quantität Paracetamol seromukosal nach intravenöser Applikation sezerniert wird. Ferner soll die Effektivität von Aktivkohle (AC) als Adsorptionsmittel untersucht werden, um die Exsorption des bereits im Blutkreislauf befindlichen Paracetamols in das Gastrointestinallumen zu erhöhen und eine Reabsorption sowie auch die Erstabsorption aus diesem zu verhindern. Es wird postuliert, dass auch die Veränderung des Konzentrationgradienten die Exsorption aus dem Blut in das Darmlumen erhöht. Zusätzlich wird vermutet, dass Aktivkohle den enterohepatischen Kreislauf unterbricht, was durch die Gallengangskanülierung bei Untergruppen geklärt werden soll.

Zur besseren Quantifizierung des Paracetamol wird eine <sup>14</sup>C-markierte Verbindung genutzt. Im Zuge der Präparation für die nachfolgende intestinale Dialyse, werden der Dünndarm, die Harnblase und bei der Hälfte der Tiere der Gallengang (GG+, bzw. GG-) kanüliert. Über den gesamten Versuchszeitraum von 210 Minuten erfolgt in 30-Minuten-Abständen die Entnahme von Proben aus dem Dünndarm, der Galle und dem Blut zur Untersuchung des Paracetamolgehaltes. Der Urin wird über 210 Minuten kumulativ gesammelt (Näheres siehe Tabelle 4).

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß §8 Abs. 1 des Deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern genehmigt.

## 3.2 Material und Methoden

### 3.2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Die Untersuchungen werden an 40 männlichen Sprague-Dawley Ratten (Charles River GmbH, Sulzfeld, Deutschland) durchgeführt. Das Gewicht der Tiere bei Einstallung liegt bei etwa 280 g. Sie sind ca. 8 Wochen alt. Bei Versuchsbeginn haben die Tiere ein Gewicht von  $450 \pm 53$ g (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung).

Damit sich die Tiere an die veränderten Umgebungsbedingungen gewöhnen können und um gleiche Voraussetzungen für alle Ratten zu schaffen, werden die Tiere 2 bis 3 Wochen vor dem Versuch geliefert und bleiben bis zum Versuch im Stallbereich.

Die Tiere werden bei einem 12-Stunden Hell-Dunkel-Zyklus in einem individuellen Rattenkäfig (Makrolonkäfig Typ IV) in Gruppen bis zu 4 Tieren gehalten und von ausgebildeten Tierpflegern versorgt. Sie haben freien Zugang zu einer pelletierten Standarddiät für Ratten (Altromin GmbH, Lage, Deutschland) sowie zu Wasser ad libitum.

Zur operativen Stomataimplantation müssen die Tiere 12 bis 18 Stunden vor dem Versuchsbeginn nüchtern gehalten werden, mit freiem Zugang zu Wasser. Zusätzlich wird ihnen, um eine Gewichtsreduzierung zu vermeiden, Glukoselösung angeboten.

### 3.2.2 Gruppeneinteilung

Die 40 Versuchstiere werden in vier gleich große Gruppen unterteilt. Die Durchführung der Versuche erfolgt nach einer Randomisierung

Um zu überprüfen, ob Aktivkohle die Elimination von Paracetamol aus dem Gastrointestinaltrakt und dem Blutkreislauf verbessern kann, wird der Dünndarm von zwei Gruppen mit in Polyethylenglykollösung (PEG) suspendierter Aktivkohle perfundiert (2 g/kg KG) (AC+) und zwei Gruppen nur mit PEG, ohne Zugabe von Aktivkohle, (AC-).

Um den Einfluss der Aktivkohle auf den enterohepatischen Kreislauf zu untersuchen, wird bei zwei der vier Gruppen der Gallengang kanüliert (GG+) und die so ausgeleitete Galle alle 30 Mi-

nuten zur späteren Untersuchung gesammelt. In den beiden anderen Gruppen wird in den physiologischen Gallefluss nicht eingegriffen (GG-).

Es entstehen so die vier Gruppen AC+GG+, AC+GG-, AC-GG+ und AC-GG-.

Tabelle 2: Gruppeneinteilung und Tierzahl

	mit Aktivkohle	ohne Aktivkohle
mit kanüliertem Gallengang	AC+GG+ (n=10)	AC-GG+ (n=10)
physiologischer Gallefluss	AC+GG- (n=10)	AC-GG- (n=10)

### 3.2.3 Versuchssubstanz

<sup>14</sup>C-markiertes Paracetamol (0,7 mg; 0,925 MBq) und Paracetamol (149,3 mg; kalt) (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland) werden in 2,5 ml Polyethylenglykol 400 bei 37°C gelöst. Um eine Konzentration von 60 mg Paracetamol/ml mit einer Radioaktivität von 0,37 MBq/ml zu erhalten, wird im Verhältnis 40:60 (v/v) Natriumchloridlösung (0,9%) hinzugefügt.

Die körperrgewichtbezogene Dosis der Aktivkohle (Kohle Pulvis®, Ahlsbach-Hähnlein, Deutschland) wird in einer ca. 37°C warmen Polyethylenglykolelektrolytlösung (Oralav®, B. Braun Melsungen, Deutschland) suspendiert. Um eine möglichst homogene Mischung zu erreichen befindet sich der Erlenmeyerkolben mit dem PEG auf einem Magnetrührer mit integriertem Thermostat (IKA-Combimag-RCT®, IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland).

### 3.2.4 Narkoseeinleitung und Vorbereitung

Die Narkoseeinleitung erfolgt durch Applikation von Medetomidin (Domitor®, Pfizer GmbH, Karlsruhe, Deutschland, 1 mg/ml, 150 µg/kg KG), Midazolam (Dormicum®, B. Braun, Melsungen AG, Deutschland, 5 mg/ml, 2 mg/kg KG) und Fentanyl (Fentanyl®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland, 0,05 mg/ml, 5 µg/kg KW) = MMF. Diese Mischung wird intramuskulär in die Oberschenkelmuskulatur verabreicht (siehe Tabelle 3).

Nachdem das Narkosestadium erreicht ist, wird die Ratte in Rückenlage auf einer saugfähigen Unterlage mit Leukoplastbändern fixiert. Um die physiologische Körpertemperatur von  $37,5 \pm 0,5^\circ \text{C}$  konstant zu halten, befindet sich die Ratte während des gesamten Versuchszeitraumes auf einer regulierbaren Wärmeplatte (Medax GmbH & Co Kg, Kiel, Deutschland), nach der Präparation wird zusätzlich eine Rotlichtlampe genutzt, die durch eine rektale Temperatursonde (Omega CN8202 T1R2®, Omega Newport Electronics, Deckenpfronn, Deutschland) induktiv gesteuert wird und die Körpertemperatur digital anzeigt.

Die Augen werden mit einer pflegenden Augensalbe (Bepanthen® Augen- und Nasensalbe) gegen Austrocknung geschützt. Mit Hilfe eines Scherapparates (Aesculap AG und Co KG, Tuttlingen, Aesculap GH 204, Deutschland) wird der Operationsbereich rasiert.

Das Pulsoximeter (8600V®, Nonin Medical, Inc. North Plymouth, Minnesota, USA) und das EKG werden schon in der Vorbereitungsphase angeschlossen und geben über einen Monitor (VICOM-SM® Vicom-SM Mod. SMU 611, Marquette Hellige GmbH, Medizintechnik, Freiburg, Deutschland) während des gesamten Versuchszeitraums Auskunft über die Vitalfunktionen des Tieres.

### 3.2.5 Tracheotomie und Beatmung

Die Ratte atmet bis zum Zeitpunkt der Tracheotomie selbständig und bekommt zusätzlich Sauerstoff über eine Maske. In Anästhesie erfolgt die Tracheotomie als Zugang für die volumenkontrollierte Beatmung mit einem Beatmungsgerät (Hellowell Engineering and Manufacturing Cooperation, Anaesthesia Work Station® Pittsfield, Massachusetts, USA).

Mit einer anatomischen Pinzette und einer Schere wird die Haut in der Regio trachealis, im oberen Drittel zwischen Kehlkopf und Brusteingang über der Trachea eröffnet und der M. sternohyoideus und der M. sternothyroideus mit der Präparierschere stumpf getrennt. Die Trachea tritt zwischen dem beidseits liegenden M. sternomastoideus hervor. Um den Tubus (Cavafix® Certo 375, B. Braun Melsungen, Deutschland) in die Trachea einzuführen und zu fixieren, wird unter der Trachea mit Hilfe zweier Augenpinzetten ein Faden untergelegt und mit der Mikroschere

zwischen drittem und viertem Trachealring eine Stichinzision gesetzt, die durch das saggitale Durchschneiden des kaudalen Rings erweitert wird. Den Tubus schiebt man bis zum Brusteingang in die Trachea vor und fixiert ihn mit dem Faden. Zusätzlich wird der Tubus mit einem Klebeband am Hals der Ratte befestigt. Das Beatmungsgerät wird angeschlossen und die Wunde mit einer fortlaufenden Naht geschlossen, um sie vor Austrocknung zu schützen. Bis zu diesem Zeitpunkt atmet die Ratte selbständig, nun erfolgt die künstliche Beatmung.

Je nach Kohlendioxidgehalt ( $p\text{aCO}_2$ ), der mit Hilfe eines Kapnometers (Capnomac®, Datex-Ohmeda, Helsinki, Finnland) ermittelt wird und zwischen 35 und 45 mmHg liegen sollte, wird das Atemzugvolumen oder die Atemfrequenz verändert. Die Atemfrequenz beträgt  $64 \pm 8$  (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) Züge pro Minute, das Atemzugvolumen  $8 \pm 1$  ml (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung). Der Sauerstoffgehalt ( $p\text{aO}_2$ ) sollte 100 mmHg betragen.

### 3.2.6 Kanülierung der Gefäße

#### V. jugularis externa dextra

Die Präparation der V. jugularis externa dextra ist für die kontinuierliche Gabe von Fentanyl, Cisatracurium und Ketamin-S sowie für spätere Applikation, zum Versuchszeitpunkt  $t = 0$ , des  $^{14}\text{C}$ -markierten Paracetamols erforderlich (siehe 3.2.7 Narkoseweiterführung und Überwachung). Zunächst wird die Haut knapp cranial der Mitte der rechten Claviculasehne, in der Regio colli ventralis, scharf mit der Schere getrennt. Die V. jugularis externa dextra liegt subkutan im Sulcus jugularis (Drosselrinne) zwischen dem M. sternocephalicus, der pars mastoidea und dem M. brachiocephalicus, der pars occipitalis. Diese werden stumpf mit der Präparierschere freigelegt. Eine Augenpinzette wird unter die Vene geschoben, um sie zu Stauen und das Einführen des Katheters (0,58 mm (Innendurchmesser), 0,97 mm (Außendurchmesser); Medipoint®, GmbH, Hamburg, Deutschland) zu erleichtern. Zwei Fäden werden unterlegt, einer zum Fixieren des Katheters und einer, um den Blutfluss zu verhindern. Mit Hilfe einer gebogenen kleinen Kanüle und einer Pinzette wird die Vene punktiert und der Katheter mit einer Pinzette eingeführt. Der kraniale Faden ligiert die Vene und verhindert so den Austritt von Blut. Zusätzlich dient er der Fixierung des Katheters an dieser Stelle. Der kaudal gelegene Faden fixiert den Katheter mit der Vene. Der Katheter wird an einen 5-Wegehahn, der mit dem Perfusor verbunden ist, angeschlos-

sen und mit einem Klebeband am Hals des Tieres fixiert. Die Wunde wird durch eine fortlaufende Naht verschlossen, um eine Austrocknung während des Versuches zu verhindern.

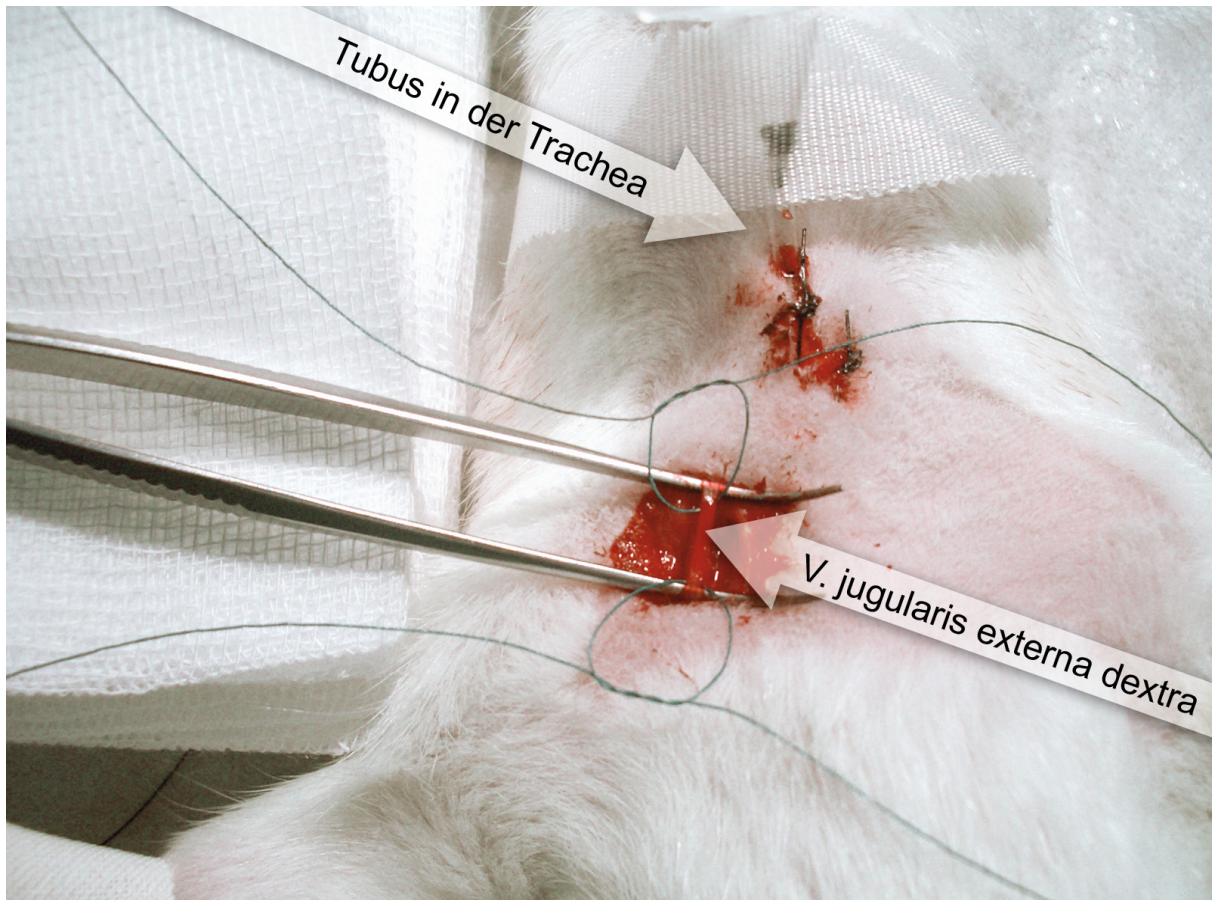


Abbildung 6: Kanülierung der V. jugularis dextra

### A. carotis communis sinistra

Zur invasiven Blutdrucküberwachung während der Narkose, wird die A. carotis communis sinistra mit gleicher Methode wie die Vene katheterisiert. Dafür erfolgt ein Hautschnitt in der Regio parotidis mit einer Schere. Die A. carotis communis sinistra liegt unter dem M. omohyoideus, der zwischen der V. jugularis externa und der A. carotis communis verläuft und ventral des M. longus colli liegt.

Nach der Kanülierung wird der Blutdruck über ein Schlauchsystem (Datex-Ohmeda GmbH, Freiburg, Deutschland) abgenommen und am Monitor numerisch und grafisch angezeigt. Zusätzlich wird über den Arterienkatheter Blut abgenommen um die Blutgaswerte mit einem Blutgasanalysegerät (Bayer Health Care Diagnostics, Bayer Vital GmbH, Bayer/Ciba-Corning 278°, Fernwald, Deutschland) zu bestimmen.

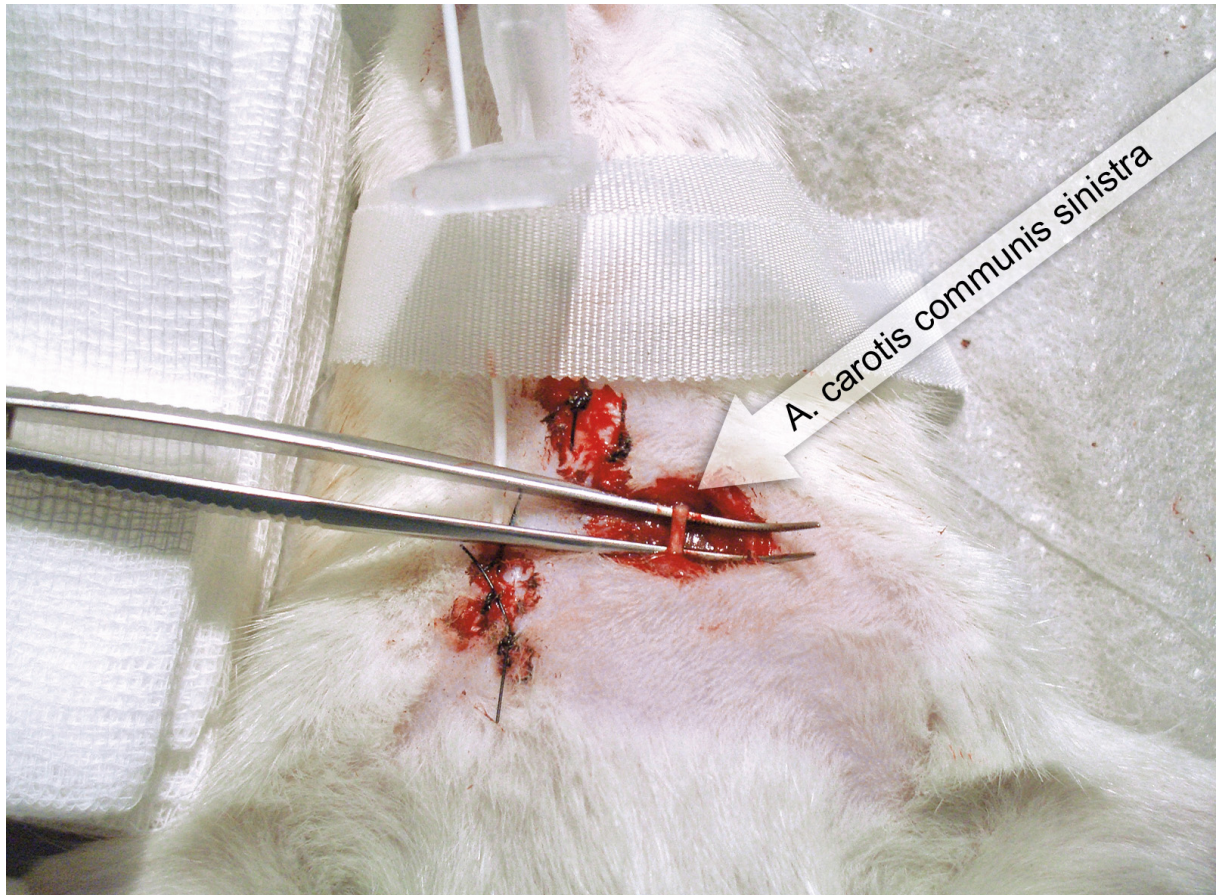


Abbildung 7: Kanülierung der A. carotis communis sinistra

### V. jugularis externa sinistra

Nun wird der Hautschnitt nach kaudal erweitert, um die V. jugularis externa sinistra zu katheterisieren. Sie wird wie die V. jugularis externa dextra präpariert. So kann der Ratte unabhängig von der Narkosemittelzufuhr und abhängig vom Blutdruck Norepinephrin (siehe 3.2.7 Narkoseweiterführung und Überwachung) verabreicht werden.

### 3.2.7 Narkoseweiterführung und Überwachung

Die Narkose wird anschließend mit Hilfe eines Perfusors (Secura FT®, B. Braun Melsungen, Deutschland) über den Venenkatheter in der V. jugularis externa dextra als totale intravenöse Anästhesie (TIVA) mit Ketamin-S (Ketanest® S, Pfizer GmbH, Karlsruhe, Deutschland) und Fentanyl fortgeführt (siehe Tabelle 3). Über den gleichen Zugang erfolgt auch die Gabe der Versuchssubstanz (Paracetamol) zum Zeitpunkt  $t = 0$  und bei Bedarf des Natriumbikarbonats 8,4 % (B. Braun Melsungen, Deutschland). Zur Gewährleistung einer konstanten Beatmung und zur

Vermeidung von unkontrollierten Spontanbewegungen während der Präparation an Dünndarm und Gallengang wird eine Muskelrelaxierung mit Cisatracurium (Nimbex®, GlaxoSmithKline GmbH & Co KG., München, Deutschland) durchgeführt. Zur Aufrechterhaltung eines mittleren Blutdrucks von >80mmHg wird bei Bedarf Norepinephrin (Arterenol®, Aventis Pharma GmbH, Bad Soden, Deutschland) verabreicht (siehe).

Tabelle 3: Narkoseerhaltung über den Versuchszeitraum

	Dosis*	Perfusor – Zubereitung	Konzentration/ml
Ketamin* (Ketanest-S®)	25 mg/kg/h	250 mg Ketanest-S ad 25 ml Glucose 5%	10 mg
Cisatracurium (Nimbex® und Fentanyl®)	4,1 mg/kg/h 10(-20) µg/kg/h	40 mg Cisatracurium + 100 µg Fentanyl ad 50ml Ringer-Laktat-Lsg.***	0,8 mg Cisatracurium/ 2 µg Fentanyl
Norepinephrin** (Arterenol®)	(60-)120 µg/kg/h	4 mg ad 50 ml Glucose 5%	80 µg

\*Br J Anaesth. 2002 Feb;88(2):255-63. Brookes et al.

\*\*Shock.2003 Mar;19(3):208-14.Liu et al

\*\*\*Ringer-Laktat-Lösung (Deltaselect GmbH, Dreieich, Deutschland)

Die Baseexzess-Werte werden über den gesamten Versuchszeitraum regelmäßig mit der Blutgasanalyse überprüft. Sie sollten zwischen -3 und +3 mmol/l betragen. Sinkt der Wert unter -4 mmol/l, wird Natriumbicarbonat nach der Formel  $BE \times kg \text{ KGW} \times 0,3 = ml$  verabreicht.

Um Volumenverluste, z.B. durch Blutentnahme, auszugleichen und den mittleren arteriellen Blutdruck (MAP), zu stabilisieren, wird Hydroxyethylstärke 6 % ig (Haes®-Steril 6%, Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg, Deutschland) in 0,3 ml Boli nach Bedarf gegeben.

### 3.2.8 Laparotomie

Um die Bauchhöhle zu eröffnen, wird nun mit einem Skalpell über der Linea alba knapp kaudal des Processus xiphoideus des Sternums bis zum Anfang der Beckenhöhle zuerst die Haut inziert, die Linea alba mit dem Skalpell eröffnet und vorsichtig, um keine Organe zu verletzen, mit der Pinzette angezogen und weiter mit der Schere aufgetrennt.



### Ductus choledochus

Nun folgt bei zwei der Gruppen (AC+GG+ und AC-GG+) die Kanülierung (Polyethylen-schlauch, 0,61 mm (Außendurchmesser), 0,28 mm (Innendurchmesser); Medipoint®, Hamburg, Deutschland) des Ductus choledochus communis. Dafür wird der erste Darmabschnitt mit dem dazugehörigen Gekröse auf einen feuchten Tupfer gelegt. Zum Fixieren führt man links und rechts vom Eintritt des Gallenganges ins Duodenum, durch das Gekröse, je einen kleinen Schlauch, der durch eine Klemme leicht unter Zug gehalten wird. Der Abschnitt liegt nun fest auf dem Tupfer, und der Gallengang kann kanüliert werden. Nach erfolgreicher Kanülierung werden der Schlauch und die Klemme entfernt und der Abschnitt zurück in die Bauchhöhle verlagert. Der Ductus choledochus communis wird mit einer gebogenen Kanüle, wie bereits bei der Präparation der Gefäße beschrieben, eröffnet und der leicht angespitzte Katheter eingeführt. Mit einem dünnen Faden fixiert man den Katheter im Gallengang.

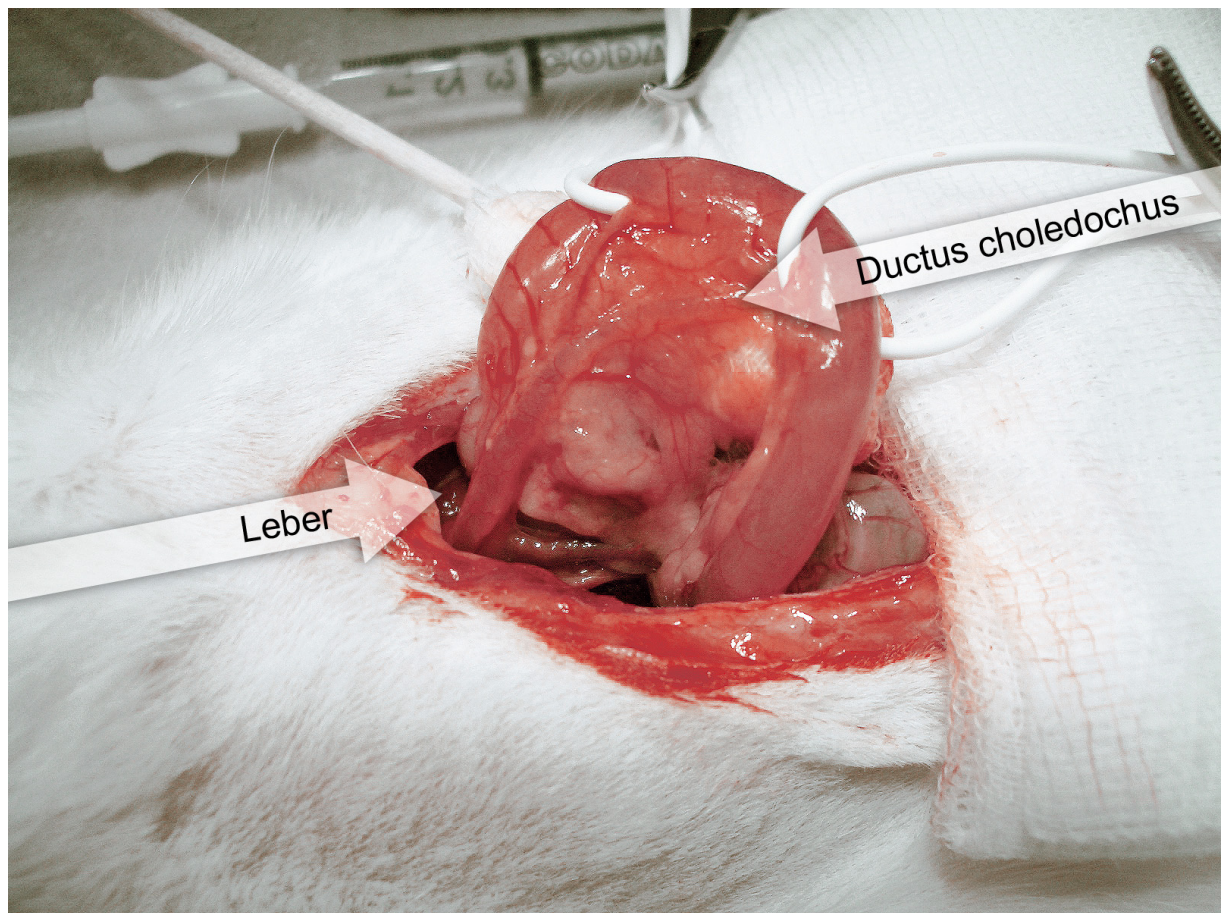


Abbildung 8: Ductus choledochus

### Duodenum

Der Dünndarm wird am proximalen Anfang des Duodenums und am distalen Ende des Ileums kanüliert. Dafür führt man zuerst einen Faden nahe des Pylorus unter dem Duodenum durchs Gekröse, um damit später den Katheter (ein Schlauchstück aus dem Infusionssystem) zu fixieren. Das Duodenum wird mit einer großen gebogenen Straußkanüle lochartig eröffnet und ein leicht angeschrägter Silikonschlauch (Rotalibo®-Silikonschlauch, Durchmesser 3mm, Stärke 1mm, Karlsruhe, Deutschland) wird eingeschoben und mit dem vorgelegten Faden fixiert.

### Ileum

Das Ileum wird kurz vor dem Eintritt ins Caecum kanüliert. Dafür wird das Gekröse und die Plica ileocaecalis durchstoßen und ein Faden durchgeführt. Den Darm schneidet man mit der Mikroschere an und führt einen leicht zugespitzten Silikonschlauch (Rotalibo®-Silikonschlauch, Durchmesser 3mm, Stärke 1mm, Karlsruhe, Deutschland) ein und fixiert ihn mit dem vorgelegten Faden.

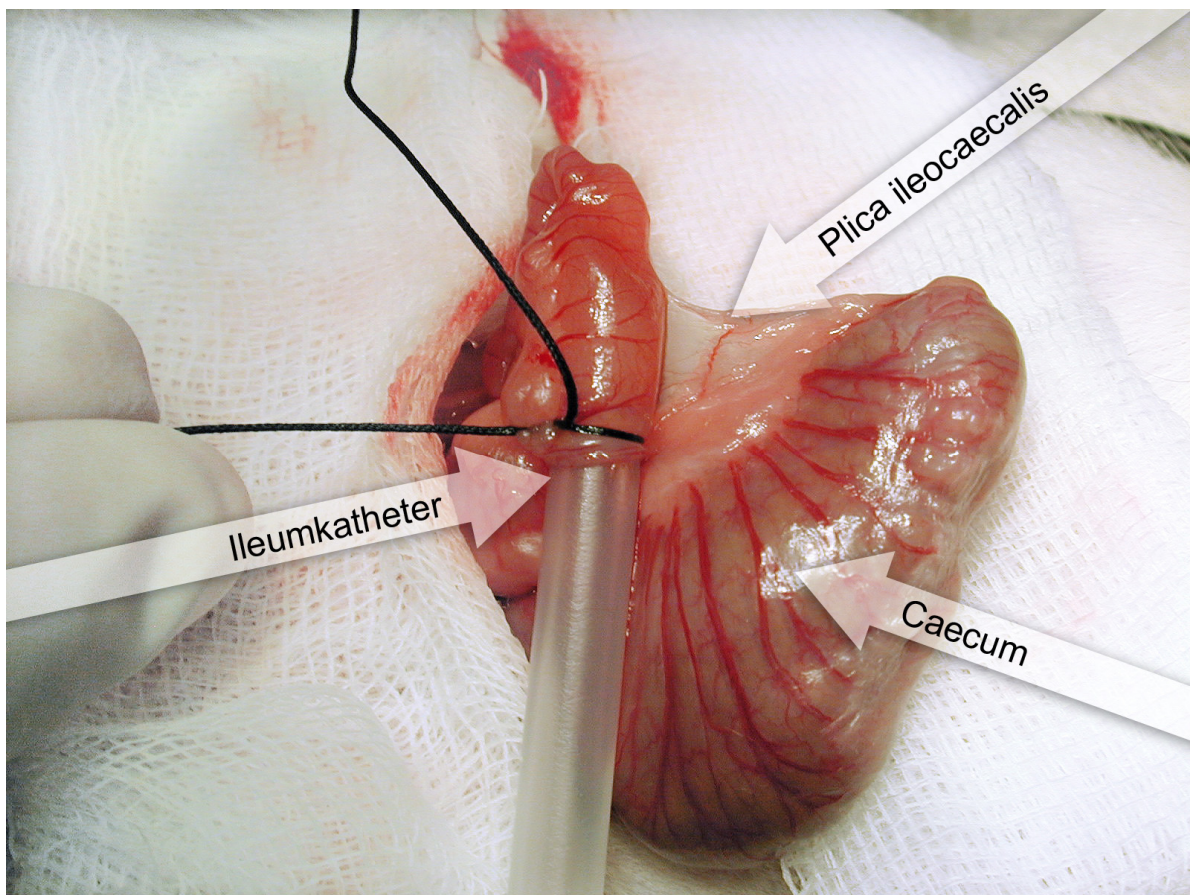


Abbildung 9: Kanülierung des Ileums

### Harnblase

Die Harnblase verlagert man leicht außerhalb der Bauchhöhle, umgibt sie mit einem feuchten Tupfer, und umlegt sie mit einer Fadenschlinge. Um ein mögliches Austreten von Urin in die Bauchhöhle während der Präparation zu vermeiden, wird die zu kanülierende Harnblase mit zwei Klemmen gehalten. Die Blasenwand wird mit einer Braunüle (Vasofix®, B.Braun, Melsungen, Deutschland) durchstochen und mit der vorgelegten Fadenschlinge fixiert.

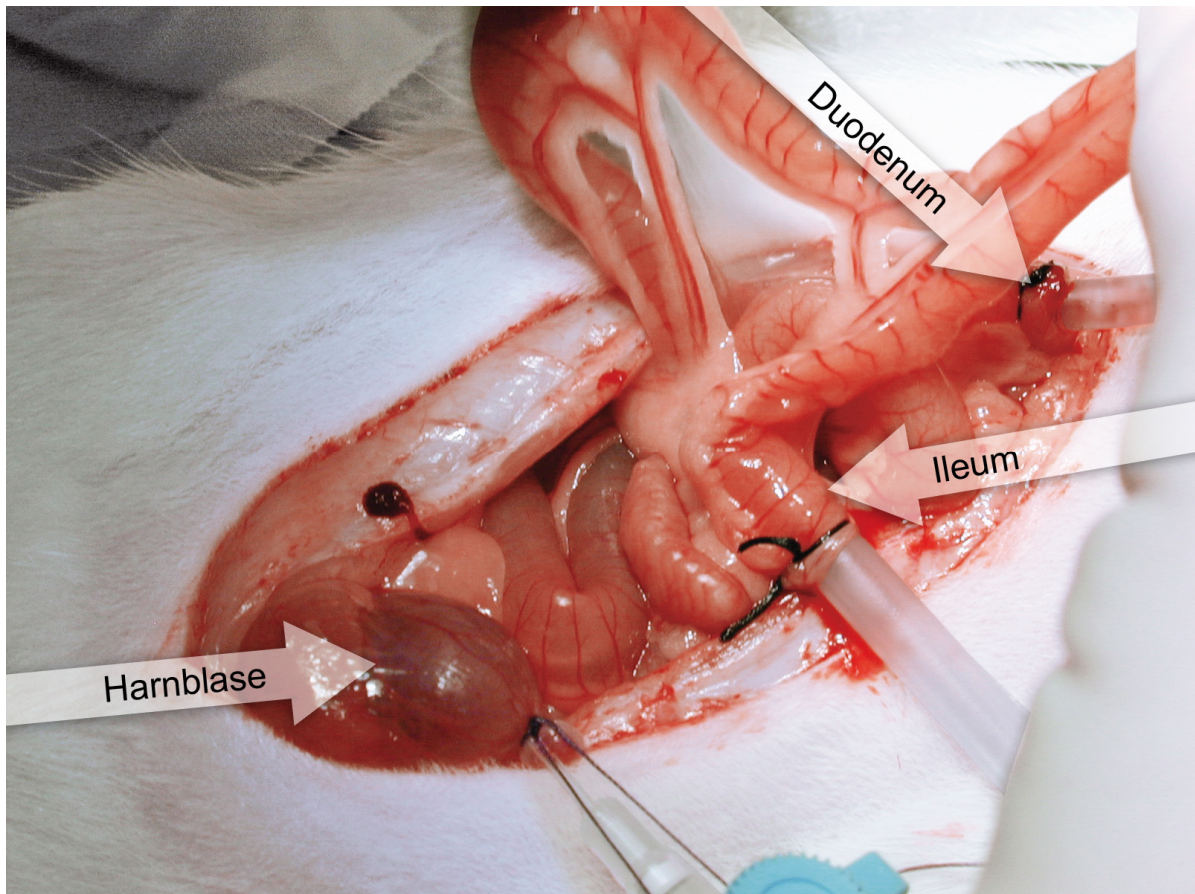


Abbildung 10: Katheter im Duodenum, Ileum und Harnblase

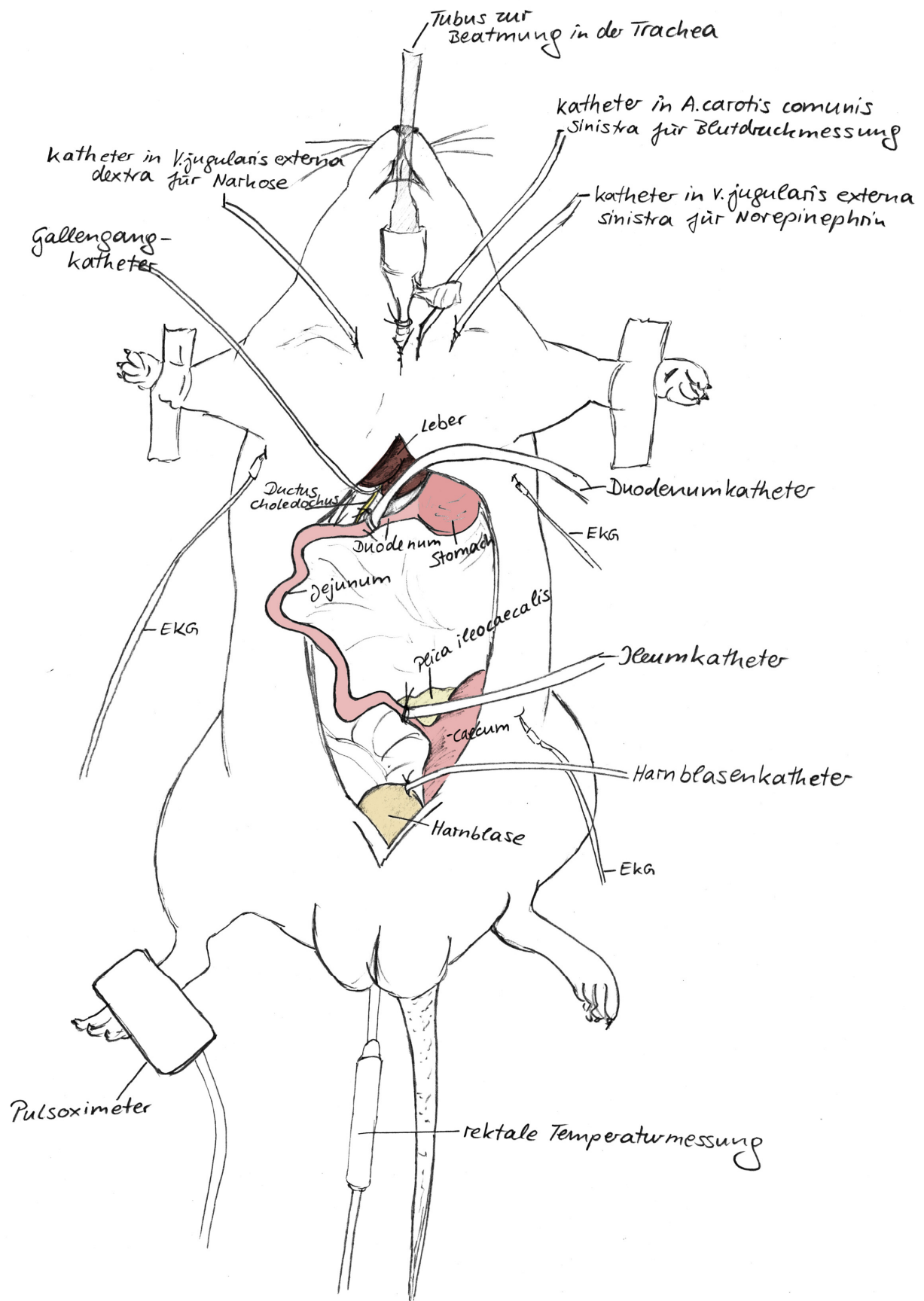


Abbildung 11: Übersicht der Katheter

### 3.3 Versuchsdurchführung

Der Versuch wird über einen Zeitraum von 3,5 Stunden durchgeführt. Die geöffnete Bauchhöhle wird zum Schutz vor Austrocknung mit einer Folie abgedeckt (Parafilm®, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland). Die Darmspülflüssigkeit (PEG) in der bei der Hälfte der Tiere die Aktivkohle gelöst wird, befindet sich in einem Erlenmeyerkolben mit Auslaufhahn (Erlenmeyerkolben, Schliff NS 29,2/32, Jenaerglas, Rasotherm 500ml; Auslaufhahn, Selbstanfertigung durch Glasbläser; Zwiesel Kristallglas AG, Zwiesel, Deutschland). Um eine konstante Temperatur und eine homogene Verteilung des Aktivkohle-Polyethylenglykol-Gemisches zu gewährleisten, steht der Erlenmeyerkolben auf einem Magnetrührer mit integriertem Thermostat.

Nachdem die Präparation durchgeführt ist, wird der Darm über 20 Minuten mit 37°C warmer Polyethylenglykol-400-Lösung mit einer Durchflussrate von 100 ml/h gespült. Dazu ist eine Ernährungspumpe (Sondomat plus®, Fresenius Kabi, Fresenius AG, Bad Homburg, Deutschland) zwischen Erlenmeyerkolben und Dünndarm geschaltet.

Bei zwei der Gruppen (AC+GG+ und AC+GG-) wird dann die Aktivkohle in einer Dosis von 2 g/kg KG zum Polyethylenglykol (PEG) zugemischt und der Darm mit 100 ml/h AC+PEG für 5 Minuten gespült. Bei den anderen beiden Gruppen (AC-GG+ und AC-GG-) wird 5 Minuten lang nur mit Polyethylenglykol (AC-PEG) gespült. Die Perfusionsrate wird für die restliche Zeit des Versuchs auf 25 ml/h reduziert.

Zum Zeitpunkt  $t = 0$  wird das  $^{14}\text{C}$ -markierte Paracetamol (75 mg/kg KG mit einer Radioaktivität von 6,17 kBq/ml) über den Zeitraum von einer Minute über den Katheter in der V. jugularis externa dextra verabreicht.

Das Darmperfusat und bei den Gruppen AC-GG+ und AC+GG+ auch die Gallenflüssigkeit wird jeweils über die Intervalle 0 - 15, 15 - 30, 30 - 60, 60 - 90, 90 - 120, 120 - 150, 150 - 180 und 180 - 210 Minuten aufgefangen und für die weiteren Analysen aufbewahrt.

Die Blutabnahmen (200  $\mu\text{l}$ ) erfolgen aus der A. carotis am Ende jedes oben genannten Intervalls. Zusätzlich werden Blutproben (200  $\mu\text{l}$ ) noch nach 5 und 45 Minuten entnommen.

Der Katheter in der A. carotis communis sinistra ist zu Monitoringzwecken zusätzlich an ein Blutdruckmesssystem (S&B medVET, GmbH MEMOPRINT, Babenhausen, Deutschland) angeschlossen, das den Blutdruck (systolischer, diastolischer und mittlerer Druck) online registriert.

Um Verdünnungen der Blutproben zu vermeiden und den Blutverlust zu minimieren werden vor jeder Blutabnahme 150 µl entnommen und nach der Blutabnahme wieder zurückgegeben. Zusätzlich wird mit ca. 0,3 ml heparinisierter NaCl 0,9% (B. Braun, Melsungen AG, Deutschland) (10 IU/ml; 200 µl) aus dem Druckbeutel des Blutdruckmesssystems gespült, um Koagulationen des Blutes im Katheter zu vermeiden.

Nach Durchführung des Versuches euthanasiert man die Ratte mit 300 mg Pentobarbital (Narkoren®, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) i.v. und entfernt bei einem Teil der Tiere Leber und Nieren, um eine Speicherung der Radioaktivität in Organen zu bestimmen.

### 3.3.1 Probenmessungen

#### Blutproben

Die Blutproben werden am gleichen Tag bei 3000 Umdrehungen pro Minute 5 Minuten zentrifugiert und jeweils 100 µl Plasma mit dem Fluoreszenzpolarisationsimmunoessay (FPIA) (TDx Assay; Therapeutic Drug Monitoring, Abbott Laboratories, Illinois, USA), auf Paracetamol quantitativ untersucht.

#### Darmperfusatproben

Den Darmperfusatproben wird jeweils eine Spatelspitze Carboxymethylcellulose als Stabilisator zugefügt. Sie werden mit den restlichen Proben bis zum Zeitpunkt der weiteren Untersuchungen bei -20°C eingefroren.

### 3.3.2 Radioaktivität

Die Radioaktivität des <sup>14</sup>C-markierten Paracetamols und seiner Metaboliten (P+M) in den Urin-, Darmspül-, Galleproben sowie in Leber und Nieren wird nach Veraschung durch einen Flüssigszintillationszähler (Packard 2500 TR® Downers Grove, Israel) gemessen.

Dafür wiegt man die Proben einzeln und mischt sie mit 15ml demineralisiertem Wasser und Carboxymethylcellulose (ca. 2 mg/g Probe; Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland). Anschlie-

ßend werden sie 5 Minuten mit Hilfe eines Dispergierers (Ultra Turrax® T25, T45N; Janke & Kunkel, Staufen, Deutschland) homogenisiert.

Jeweils 1 g der Spülproben und der Organe und 100 µl der Galle- und Urinproben werden mit 100 mg Filter Flakes (Merck Eurolab, München, Deutschland) gemischt und in Combusto Cones® (Canberra Packard, Dreieich, Deutschland) gegeben.

Komprimiert in einer Tabletten-Pressen (PARR Instr., Moline, USA) werden die Proben dann über Nacht für 12 Stunden bei 60°C getrocknet und in einer Brennkammer (Packard Tricarb Oxidizer Model 307®, Canberra Packard, Dreieich, Deutschland) verascht.

Das frei werdende <sup>14</sup>C wird als <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> in 7 ml 2-Methoxyethylamin und 13 ml Omni-Szintisol® (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) aufgefangen und die Radioaktivität (dpm) in einem Flüssigszintillationszähler (Packard 2500 TR®) bestimmt. Die Messungen der Radioaktivität werden von der Firma Merck, München, Deutschland, durchgeführt.

### 3.3.3 Statistische Methoden

Alle Werte je Gruppe werden als Mittelwert und Standardabweichung (SD) angegeben. Die Signifikanzniveaus werden mit nicht-parametrischen Tests berechnet. Um die vier Versuchsgruppen untereinander zu vergleichen, verwendet man den Kruskal-Wallis-Test. Liegt das Signifikanzniveau zwischen den vier zu vergleichenden Gruppen bei  $p \leq 0,05$ , werden mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests jeweils zwei Gruppen miteinander verglichen. Alle statistischen Berechnungen erfolgen mit dem Programm Graph Prism™ Vers.4.03 (San Diego, USA).

## 3.4 Ergebnisse

### 3.4.1 Physiologische Parameter

Es bestehen im Rahmen des Versuchs keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen im Hinblick auf Gewicht der Tiere, applizierte Menge des Paracetamols, der Aktivkohlemenge und der Spezifischen Radioaktivität des <sup>14</sup>C-markierten Paracetamols (siehe Tabelle 4)

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die Tiere (n=40) haben ein mittleres Körpergewicht von  $450 \pm 53$  g. Die gewichtsbezogene applizierte Menge des  $^{14}\text{C}$ -markierten Paracetamols beträgt  $34 \pm 3,9$  mg mit einer Radioaktivität von  $0,21 \pm 0,025$  MBq und einem Probenvolumen von  $570 \pm 65$   $\mu\text{l}$ . Bei den Untergruppen AC+ wird der Darm im Mittel mit  $0,88 \pm 0,11$  g Aktivkohle (AC) perfundiert.

**Tabelle 4: Angaben zu den Applikations- und Sammelmengen während dem Versuch und dem Körpergewicht der Versuchstiere bei Versuchsbeginn**

	Alle Tiere n=40	AC+GG+ n=10	AC+GG- n=10	AC-GG- n=10	AC-GG+ n=10	p-Wert <sup>b</sup>
<b>Körpergewicht (g)</b>	450 $\pm$ 53	463 $\pm$ 53	427 $\pm$ 50	435 $\pm$ 48	477 $\pm$ 54	0,125
<b><math>^{14}\text{C}</math>-Paracetamol<sup>c</sup> (mg)</b>	34 $\pm$ 3,9	34 $\pm$ 3,7	32 $\pm$ 3,7	33 $\pm$ 3,6	36 $\pm$ 4,0	0,133
<b>(MBq)</b>	0,21 $\pm$ 0,025	0,21 $\pm$ 0,027	0,19 $\pm$ 0,023	0,20 $\pm$ 0,022	0,22 $\pm$ 0,025	0,185
<b>Norepinephrin<sup>g</sup> (<math>\mu\text{g}/\text{h}</math>)</b>	37,4 $\pm$ 40,8	55,03 $\pm$ 45,04	19,05 $\pm$ 20,55	26,15 $\pm$ 18,8	49,46 $\pm$ 58,35	0,173
<b>Urin (g/210 min)</b>	8,8 $\pm$ 7,1 <sup>d</sup>	4,8 $\pm$ 2,9	9,8 $\pm$ 6,9	11,9 $\pm$ 9,5	6,9 $\pm$ 5,6	0,147
<b>Darmperfusat (g/30 min)</b>	7,9 $\pm$ 1,4	8,1 $\pm$ 1,4	7,6 $\pm$ 1,6	8,5 $\pm$ 1,4	7,6 $\pm$ 1,3	0,375
<b>Galle (g/30 min)</b>		1,0 $\pm$ 0,1 <sup>e</sup>			0,3 $\pm$ 0,1 <sup>f</sup>	0,105

<sup>a</sup> Mittelwert und Standardabweichung

<sup>b</sup> p-Wert (<0,05 Unterschied signifikant). Die Berechnung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen den vier Tiergruppen erfolgt durch den Kruskal-Wallis Test.

<sup>c</sup> Paracetamol wird intravenös injiziert zum Zeitpunkt t=0

<sup>d</sup> Der Schwankungsbereich der gesammelten Urinmenge lag bei 0,9 bis 24,9 g/210 min.

<sup>e</sup> Steigung ist -0,00039 (g/min.) und nicht signifikant abweichend von Null (p = 0,69).

<sup>f</sup> Steigung ist -0,00018 (g/min.) und nicht signifikant abweichend von Null (p = 0,65).

<sup>g</sup> Norepinephrin wird intravenös verabreicht, um einen mittleren arteriellen Druck von 80 bis 120 mmHg aufrechtzuerhalten



Vitalparameter

Alle Ratten stehen während des Versuchs unter kontinuierlicher Beobachtung ihrer Vitalwerte (systolischer, diastolischer und mittlerer Blutdruck, der Blutgaswerte, pH, Hämoglobin (Hb), Hämatokrit und Basenexzess (BE) (siehe Tabelle 5).

Das verabreichte Volumen der Versuchssubstanz, Paracetamol, hat während des Versuchs weder einen signifikanten Einfluss auf den Hämatokritwert noch negative Auswirkungen auf den pulmonalen Gasaustausch während des Versuchs. Ein Blutdruckanstieg nach der Injektion als mögliches Anzeichen für eine Hypervolämie ist nicht zu verzeichnen.

Tabelle 5: Vitalparameter aller Tiere (n=40)

	Mittelwert $\pm$ SD <sup>a</sup> [Min. bis Max.]	Steigung <sup>c</sup> (min <sup>-1</sup> )	p-Wert <sup>b</sup> [r <sup>2</sup> ]
p <sub>a</sub> O <sub>2</sub> (mmHg)	293,1 $\pm$ 32,0 [248-350]	-0,091	0,6180 [0,04]
p <sub>a</sub> CO <sub>2</sub> (mmHg)	45,6 $\pm$ 4,3 [42-54]	0,032	0,1496 [0,31]
MAP <sup>d</sup> (mmHg)	115 $\pm$ 20 [87-150]	-0,183	<0,0001 [0,87]
Hb <sup>e</sup> (g/dl)	8,3 $\pm$ 0,7 [7,3-9,1]	-0,008	<0,002 [0,82]

<sup>a</sup> Mittelwert und Standardabweichung der Werte der arteriellen Blutgasanalyse, die über den gesamten Versuchszeitraum alle 30 Minuten erfolgt.

<sup>b</sup> p-Wert (<0,05 Unterschied signifikant).

Zur statistischen Unterscheidung zwischen den 4 Gruppen wurde der Kruskal-Wallis Test verwendet.

<sup>c</sup> Die Steigung wird durch eine lineare Regressionsanalyse getestet, wenn sie sich signifikant von Null unterscheidet (p-Wert). Eine positive oder negative Steigung zeigt einen steigenden oder fallenden Mittelwert über den Versuchszeitraum an. Die Anpassungsgüte (r<sup>2</sup>) ist in Klammern angegeben.

<sup>d</sup> MAP bedeutet mittlerer arterieller Druck, der über die A. carotis communis mit Hilfe eines Blutdruckmessgerätes über den gesamten Versuchszeitraum gemessen wird.

<sup>e</sup> Hb steht für den Hämoglobinwert, der alle 30-60 Minuten mit Hilfe des Blutgasanalysegerätes ermittelt wird.

### Beatmung

Obwohl die Beatmung durch ein Beatmungsgerät gesteuert und durch Blutgaswerte überwacht wird, zeigen die Tiere eine leichte Tendenz zur kompensierten respiratorischen Azidose. Der Kohlendioxidpartialdruck ( $p_a\text{CO}_2$ ) liegt bei  $45,6 \pm 4,3$  mmHg, jedoch ohne einen signifikanten Anstieg über die Versuchszeit (siehe Tabelle 5). Der  $p_a\text{CO}_2$  übersteigt in keinem Versuch 54 mmHg und zeigt keinen Einfluss auf den pH-Wert, der konstant bei  $7,33 \pm 0,04$  bleibt. Der arterielle Sauerstoffpartialdruck ( $p_a\text{O}_2$ ) der Tiere bleibt während des Versuchs stabil bei einem  $p_a\text{O}_2$  von  $293,1 \pm 32,0$  mmHg ( $\text{O}_2$ -Beatmung).

Der Basenexcesswert (BE) liegt bei  $-1,64 \pm 1,83$  mmol/l während des 210 min. dauernden Versuchs. Um eine potentielle Lungenschädigung durch Überblähung zu vermeiden, wird das Atemzugvolumen deshalb nicht über die physiologischen Grenzen hinaus gesteigert (siehe Tabelle 5).

### Hämoglobinwert im Verlauf des Experiments

Der Hämoglobinwert beträgt bei allen Tieren jeder Gruppe ohne signifikanten Unterschied zu Beginn des Versuchs ( $t = 0$ )  $9,1 \pm 0,8$  g/dl, und zeigt einen signifikanten Abfall bis zum Zeitpunkt  $t = 210$  Minuten auf  $7,3 \pm 1,4$  g/dl (siehe Tabelle 5). Das Absinken des Hämoglobinwertes erklärt sich durch die Menge an Blut, die während des Versuchs zu Analyse Zwecken entnommen wird. Jedem Tier entzieht man während des gesamten Versuchsablaufes insgesamt ca. 2 ml Blut. Der Hämoglobingehalt beträgt im Mittel über den Versuchszeitraum  $8,3 \pm 0,7$  g/dl.

### Norepinephrin und arterieller Druck

Bei allen Tieren jeder Gruppe erfolgt die Gabe von Norepinephrin, um den mittleren arteriellen Druck (MAP), der physiologisch bei 80 bis 120 mmHg liegt, aufrechtzuerhalten (siehe Tabelle 4). Die benötigten und verabreichten Dosen ( $37,4 \pm 40,8$   $\mu\text{g/h}$ ) weisen keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,173$ ) zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen auf. Die Tiere mit Gallengangskanülierung haben wohl allerdings aufgrund des größeren operativen Traumas eine Tendenz zu einer höheren Dosis.

Der mittlere arterielle Druck der Tiere im Versuch liegt bei  $115 \pm 20$  mmHg, zeigt aber im Laufe des Experiments eine signifikante Abnahme trotz der Gabe von Norepinephrin und des vollständigen Ersatzes des verlorenen Flüssigkeitsvolumens.

### Harnmenge

Urin wird bei allen Tieren jeder Gruppe über den gesamten Versuchszeitraum von 0 - 210 Minuten gesammelt. Ein Sammeln des Urins in kürzeren Intervallen ist durch die geringe Menge und das Fehlen einer konstanten Harnflusses als nicht sinnvoll erachtet. Die kumulative Urinproduktion zeigt sich nicht signifikant unterschiedlich zwischen den einzelnen Gruppen und beträgt  $8,8 \pm 7,1$  g für alle Tiere (siehe Tabelle 4), wobei die Urinmengen der gallengangskanülierten Gruppen nicht signifikant geringer ausfallen.

### Perfusionsmenge aus dem Dünndarm

Die Dünndarmperfusatmengen, die von 0 – 15, 15 – 30 und dann alle 30 Minuten aufgefangen werden, bleiben ebenfalls konstant ohne signifikante Unterschiede ( $7,9 \pm 1,4$ g) zwischen den einzelnen Gruppen. Dies deutet auf eine vergleichbare konstante Perfusion hin (siehe Tabelle 4).

### Biliäre Sekretion

Die Gallenmenge der beiden Gruppen, bei denen eine Gallengangskanülierung durchgeführt wird (AC+GG+ und AC-GG+), ist im Sammelintervall von 30 Minuten in der Gruppe AC+GG+ größer als in der Gruppe AC-GG+, allerdings ohne signifikante Unterschiede ( $1,0 \pm 0,1$  im Vergleich zu  $0,3 \pm 0,1$ g) (siehe Tabelle 4).

Der Gallefluss bleibt konstant über den Versuchszeitraum von 210 Minuten in beiden Gruppen (die Steigung nach linearer Regressionsanalyse ist nicht signifikant abweichend von Null), eine Verschlechterung der Leberfunktion während des Experiments ist damit unwahrscheinlich.

### 3.4.2 Halbwertszeit und AUC von Paracetamol

Zwischen den einzelnen Gruppen gibt es keinen signifikanten Unterschied im Bezug auf die terminale Halbwertszeit ( $p = 0,152$ ). Allerdings tendiert die Halbwertszeit in der Gruppe der gallengangskanülierten (GG+) Tiere dazu, länger zu sein als in der Gruppe mit einem physiologischen Gallefluss (GG-) (siehe Tabelle 6).

Innerhalb der Gruppen, die Aktivkohle erhalten (AC+), ist eine kürzere Halbwertszeit festzustellen als in den Gruppen, die ohne Zugabe von Aktivkohle (AC-) gespült werden, allerdings ohne Signifikanz. Dem Verlauf des Paracetamol im Plasma kann in zufriedenstellender Weise eine

zweiphasige Exponential-Funktion (Plateauwert gleich Null) angepasst werden (siehe Abbildung 12) mit einer terminalen Halbwertszeit  $\beta$  von durchschnittlich 35 bis 51 Minuten (siehe Tabelle 6). Entsprechend der Halbwertszeit  $\beta$  unterscheiden sich die AUCs<sub>5-210 min.</sub> ebenfalls nicht signifikant voneinander ( $p = 0,392$ ). Auffallend ist jedoch, dass die Gruppen mit kanüliertem Gallengang zahlenmäßig höhere Werte zeigen als die Gruppen ohne (GG-) (3,3 im Vergleich zu 2,6 g/min./l).

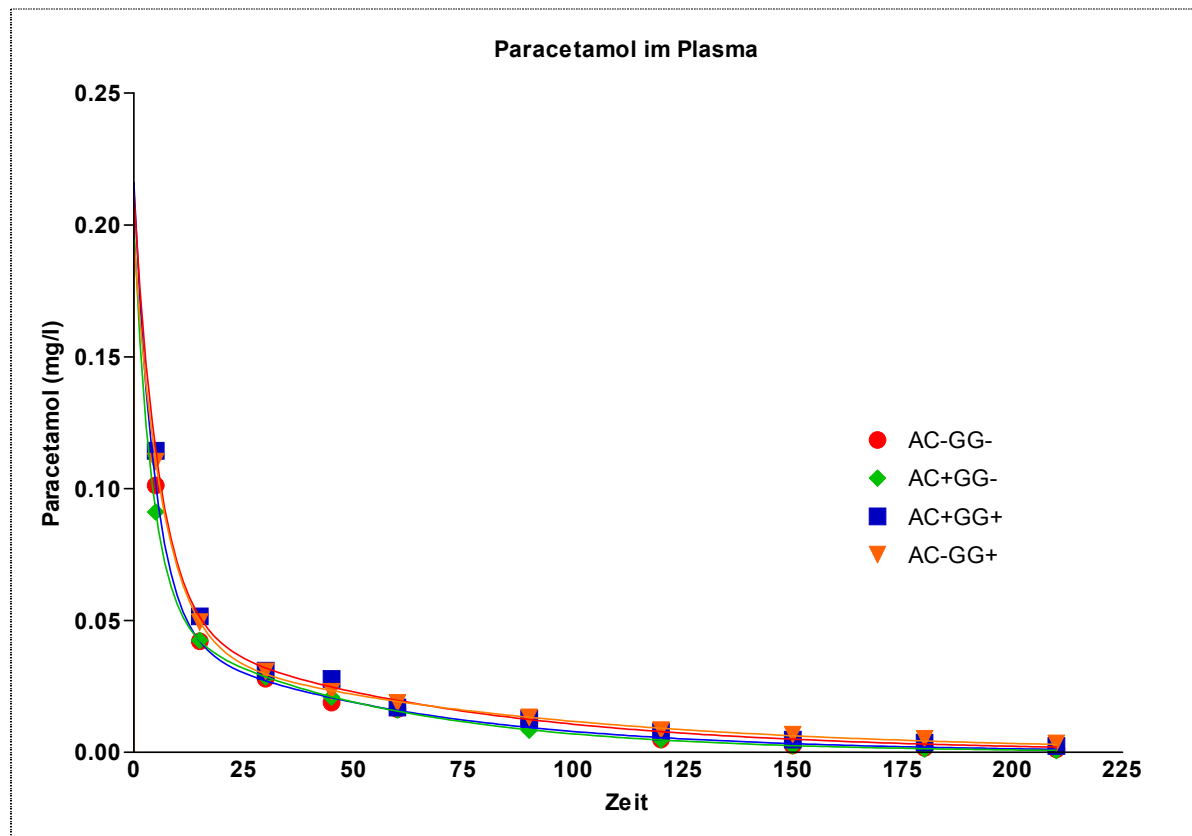


Abbildung 12: Konzentrationsverlauf von Paracetamol im Plasma

Paracetamol im Plasma der vier Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum von 210 Minuten. Paracetamol wird in einem Fluoreszenzpolarisationsimmunoessay bestimmt und in mg/l angegeben.

Tabelle 6: Pharmakokinetik von <sup>14</sup>C-markiertem Paracetamol in den Versuchstiergruppen

	AC+GG+ n=10	AC+GG- n=10	AC-GG- n=10	AC-GG+ n=10	p-Wert <sup>b</sup>
$t_{1/2} \beta$ <sup>c</sup> (min)	46,1±15,1	34,7±4,7	37,9±4,3	50,6±27,6	0,152
AUC <sup>d</sup> (g/min./l)	3,26±0,96	2,61±0,69	2,67±0,49	3,31±1,17	0,392
Radioaktivität (dpm) <sup>e</sup> in 100µl Urinprobe (t=210)	103,760±62,703	103,635±59,896	69,173±37,138	56,989±28,906	0,110
Radioaktivität <sup>f</sup> (%) im Urin (t=210)	30,6±17,1	56,2±10,9	47,9±20,5	44,8±22,0	0,028
Radioaktivität <sup>f</sup> (%) im Darm (t=210)	8,5±2,1	19,0±2,4	21,4±7,0	6,0±1,6	<0,0001
Radioaktivität <sup>f</sup> (%) in der Galle (t=210)	13.9±2.6			13.0±1.6	0,356
Radioaktivität <sup>f</sup> (%) in der Leber (t=210)	0,05±0,02 (n=4)	0,02±0,01 (n=3)	0,02±0,01 (n=5)	0,04±0,04 (n=6)	0,081
Radioaktivität <sup>f</sup> (%) in der linken Niere (t=210)	0,54±0,22 (n=4)	0,12±0,11 (n=3)	0,08±0,05 (n=5)	0,41±0,25 (n=6)	0,071
Radioaktivität <sup>f</sup> (%) in der rechten Niere (t=210)	0,56±0,38 (n=4)	0,12±0,11 (n=3)	0,13±0,08 (n=5)	0,40±0,37 (n=6)	0,071

<sup>a</sup> Mittelwert und Standardabweichung

<sup>b</sup> p-Wert (<0,05 Unterschied signifikant).

Zur statistischen Unterscheidung zwischen vier Gruppen wurde der Kruskal-Wallis Test verwendet, bei signifikanten Unterschieden werden zwei Gruppen mit dem Mann-Whitney Test verglichen.

<sup>c</sup> Die Halbwertszeit ( $t_{1/2} \beta$ ) wird mittels einer nicht-linearen-Regressionsanalyse berechnet.

<sup>d</sup> AUC steht für Area under curve und wird mit der GraphPad Prism™ Version 4.03. erstellt. An die Daten konnte eine zweiphasige Exponential-Funktion angepasst werden (Plateau = Null). Die Anpassungsgüte ( $r^2$ ) ist in Klammern angegeben.

<sup>e</sup> dpm steht für decays per minute. (Zerfallereignisse pro Minute) Der Wert wurde mit einem Flüssigszintillationszähler bestimmt.

<sup>f</sup> Die Radioaktivität in den Organen wird mit einem Flüssigszintillationszähler gemessen, von 1 g Probe jedes Organs. Die Prozentwerte sind im Verhältnis zur gesamt verabreichten Radioaktivität.

### 3.4.3 Renale Exkretion von Paracetamol (P) und seiner Metaboliten (M)

Im Vergleich der kumulativen Exkretion von P+M im Urin 210 Minuten nach Paracetamolinjektion fällt ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen AC+GG+ und AC+GG- auf ( $p = 0,009$ ). Die Radioaktivität in 100  $\mu\text{l}$  Urinprobe bei den Tieren, die Aktivkohle erhalten, ist vom Zahlenwert her höher als bei den Tieren, deren Dünndarm lediglich mit PEG perfundiert wird. Ein signifikanter Unterschied besteht jedoch nicht ( $p = 0,109$ ). Eine offensichtliche Differenz zwischen den GG+ und den GG- Tieren liegt nicht vor (siehe Tabelle 6).

Ein beachtlicher Variationskoeffizient in der renalen Exkretion von P+M von über 55% wird festgestellt. Innerhalb der GG+ Gruppen scheint die Aktivkohle die Urinexkretion zu verringern, ohne das ein statistisch signifikanter Wert erreicht wird. Es besteht eine Korrelation zwischen dem Harnfluss und der renalen Ausscheidung des  $^{14}\text{C}$ -P+M innerhalb der 210 Minuten nach der Paracetamolgabe innerhalb aller Gruppen ( $r^2 = 0,72$ ).

Mit steigendem Harnfluss steigt auch die renale Exkretion an, die fast 70 % der verabreichten Radioaktivität erreicht (siehe Abbildung 13).

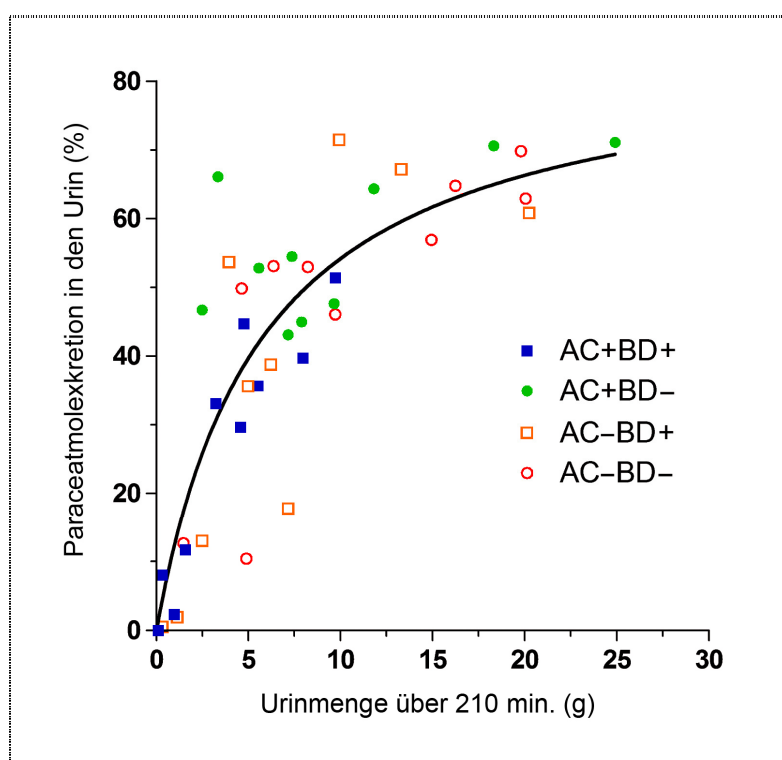


Abbildung 13: Korrelation zwischen Paracetamol exkretion in den Urin und Diurese

### 3.4.4 Exkretion von Paracetamol (P) und seiner Metaboliten (M) in den Darm

Die bestimmte Menge von P+M in der Dünndarmspülprobe liegt zwischen 6 und 21% der applizierten Radioaktivität (siehe Tabelle 6).

Bei den Tieren mit kanüliertem Gallengang werden 210 Minuten nach Injektion 6 bis 8,5% der applizierten Paracetamoldosis gefunden. Es besteht dabei kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen AC+GG+ und AC-GG+. Allerdings besteht ein signifikanter Unterschied ( $p = 0,0001$ ) bei der Exkretion von Paracetamol in den Darm zwischen den Gruppen, die einen physiologischen Gallefluss aufweisen (GG-) zu den Gruppen mit kanüliertem Gallengang (GG+). Der Unterschied zwischen den GG+ und den GG- Tieren liegt bei etwa 13 %, was der Menge von Paracetamol und seiner Metaboliten entspricht, die bei den GG+ Tieren in der ausgeleiteten Galle gefunden wird.

Die Radioaktivität in 1 g Darmspülprobe, die alle 30 Minuten gesammelt wird (siehe Abbildung 14), zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen GG- und GG+. Im Vergleich der Gruppe AC-GG+ zu AC-GG- liegt der p-Wert bei  $p = 0,007$ . Zwischen den Gruppen AC+GG- und AC+GG+ errechnet sich ein p-Wert von  $p = 0,021$  (siehe Tabelle 6 und Abbildung 14). Die Paracetamolmenge im Darmperfusat ist zahlenmäßig größer in der AC+GG+ Gruppe als in der AC-GG+ Gruppe, allerdings ohne signifikanten Unterschied.

In der GG- Gruppe erreicht die Radioaktivität ihr Maximum 90 Minuten nach Paracetamolinjektion und fällt danach stetig. Für die Untergruppen AC+ und AC- ist dabei kein signifikanter Unterschied feststellbar ( $p = 0,959$ ). Im Gegensatz dazu wird das Maximum der Radioaktivität in den GG+ Gruppen bereits 30 Minuten nach Injektion festgestellt. Der Zeitunterschied zwischen Injektion und Maximum der Radioaktivität beträgt nur 30 Minuten und der Abfall nach der maximalen Radioaktivität folgt einer monoexponentiellen Funktion.

Bei der Gruppe AC+GG+ liegt die berechnete Halbwertszeit bei  $t_{1/2} = 50$  min. ( $r^2 = 0,86$ ) und bei der Gruppe AC-GG+ beträgt die Halbwertszeit  $t_{1/2} = 65$  min. ( $r^2 = 0,67$ ).

Wie in der GG- Gruppe gibt es keinen signifikanten Unterschied der Radioaktivität in der GG+ Gruppe, wenn man die Untergruppen AC+ und AC- miteinander vergleicht ( $P = 1,000$ ). Signifikante Unterschiede treten unabhängig von der applizierten Aktivkohle zwischen den Gruppen mit und ohne kanüliertem Gallengang auf.

Die Konzentrationen des Paracetamols in den Darmperfusatproben werden mit dem TDx-assay (siehe 3.3.1 Probemessungen) semiquantitativ gemessen. Die Konzentrationen in beiden Gruppen folgen einer Monoexponentialfunktion mit identischen Halbwertszeiten von 43 Minuten (Plateau = Null,  $r^2 = 0,87$  bzw.  $0,93$ ). Paracetamol wird mit einer mittleren Maximalkonzentration von 85 mg/l und 75 mg/l nach 30 Minuten für die Gruppe AC-GG- ( $n = 3$ ) und AC-GG+ ( $n = 3$ ) gefunden. Dieser Wert kann nur semiquantitativ gewertet werden, da die genaue Bestimmung durch pH, Gallensäuren und Verunreinigung verfälscht sein könnte.

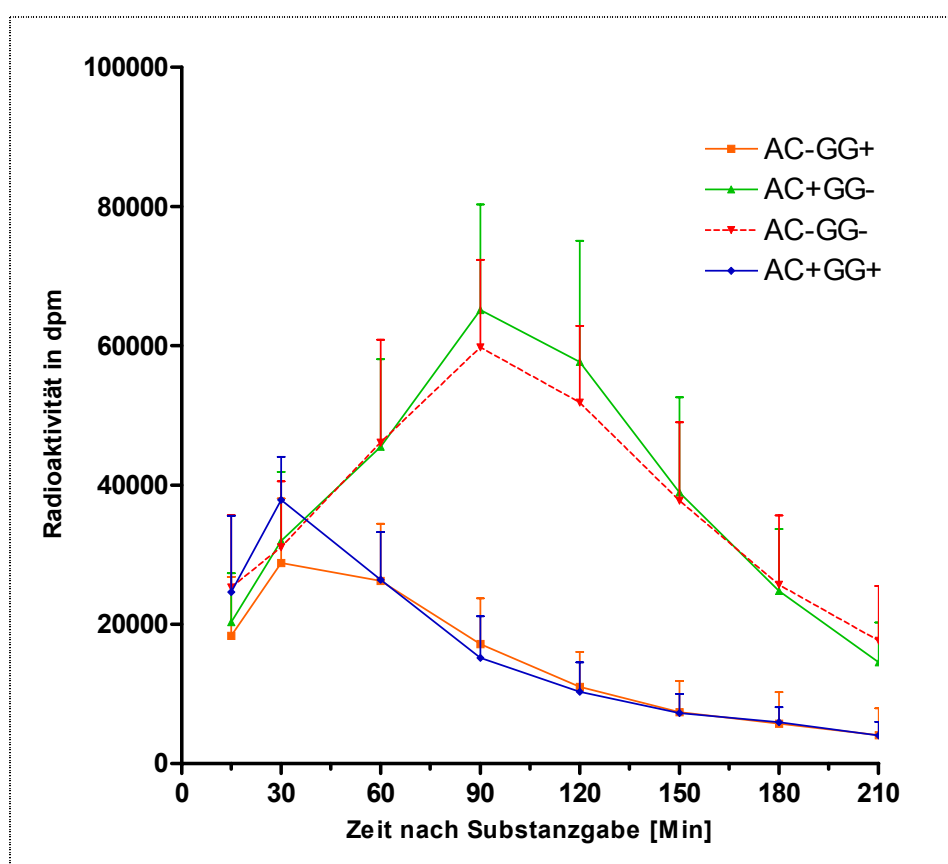


Abbildung 14: Radioaktivität von  $^{14}\text{C}$ -markiertes P+M im Darmperfusat (1g) aller Gruppen über den gesamten Versuchszeitraum  $t=210$

### 3.4.5 Exkretion von Paracetamol (P) und seiner Metaboliten (M) in die Galle

Ungefähr 13 % des P+M wird nach 210 Minuten in der Galle gefunden (siehe Tabelle 6). In der Gruppe AC+ ist die Menge des gemessenen P+M zahlenmäßig höher als in der Gruppe AC-, allerdings ist der Unterschied gering und nicht signifikant. Die Gallesekretion unterscheidet sich ebenfalls nicht signifikant zwischen der Gruppe AC+GG+ und AC-GG+. Die Radioaktivität der



jeweils 100 µl Galleproben erreicht ein Maximum nach 30 Minuten nach der Paracetamolgabe. Der weitere Verlauf folgt einer monoexponentiellen Funktion ( $r^2 = 0,89$  bzw.  $0,90$  für GG+AC+ bzw. GG+AC-) mit einer Halbwertszeit von 59 bzw. 53 Minuten. Zu keiner Zeit besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen AC+ und AC-.

### 3.4.6 Speicherung von Paracetamol (P)

#### und seiner Metaboliten (M) in den Organen

In den vier Gruppen werden bei einigen Tieren ( $n = 3 - 6$ ) post mortem Leber und Nieren entnommen und jeweils 1 g (Nassgewicht) Organprobe auf Paracetamol und seine Metaboliten untersucht (siehe Abbildung 15).

Wie in Tabelle 6 gezeigt, beträgt die Radioaktivität in 1 g Lebergewebe unter 1 % der applizierten Paracetamoldosis 210 Minuten nach der Injektion. Nach Anwendung des Kruskal-Wallis-Test stellen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen heraus ( $P = 0,081$ ). Die Tiere der Gruppe GG- weisen tendenziell weniger Radioaktivität auf als die der Gruppe GG+. Aktivkohle hat keinen Einfluss auf den Gehalt von P+M in der Leber. Die P+M-Menge im Nierenparenchym 210 Minuten nach Injektion ist nur marginal und ohne signifikanten Unterschied unter den Versuchsgruppen ( $p = 0,07$ ). Tiere der Gruppe GG+ zeigen tendenziell einen höheren Gehalt an P+M als die Gruppe GG-, allerdings ohne statistische Signifikanz.

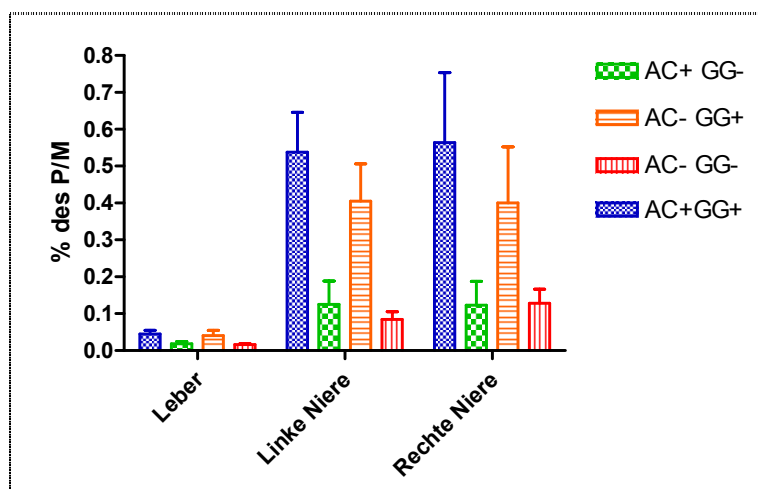


Abbildung 15: Der Gehalt von P+M in 1g Probe von Leber, linker und rechter Niere, 210 min nach Applikation der Versuchssubstanz (% der verabreichten Radioaktivität mit der Standardabweichung (SD))

## 4 DISKUSSION

### 4.1 Zur Eignung des Tiermodells

Die Ratte ist aufgrund ihrer anatomischen und physiologischen Verhältnisse ein etabliertes Tiermodell und wird häufig für Absorptionsstudien am Intestinum eingesetzt (SCHANKER et al. 1958; HUANG 1990; LU et al. 1992; CHO et al. 1996; ISSA et al. 2003). Durch die Ähnlichkeit der Medikamentenabsorption in der Ratte und im Menschen übertrifft die intestinale Perfusion in vivo das Perfusionsmodell in vitro (SALPHATI et al. 2001).

Im vorliegenden Versuch setzte man die Single-Pass-Perfusionstechnik in modifizierter Technik ein, die ARIMORI und Mitarbeiter in zahlreichen Veröffentlichungen beschrieben haben (ARIMORI und NAKANO 1985; 1986; 1987; 1988; 1988a; ARIMORI et al. 1992; ARIMORI et al. 2001). Bei diesen Arbeitsgruppen wurde im Gegensatz zu der eigenen Arbeitsgruppe nicht näher auf die Vitalwerte der Tiere eingegangen. Während des Versuchszeitraums im vorliegenden Versuch wurden die Herz-Kreislaufwerte in regelmäßigen Abständen überprüft und gegebenenfalls medikamentös korrigiert. Ein zu niedriger Blutdruck kann die Verteilung des Paracetamols beeinflussen (JANG et al. 1994). Bei Nichtüberwachung von Kreislauf und Atmung der anästhesierten Tiere hätte es möglicherweise durch zu hohen oder zu niedrigen Blutdruck oder durch Hypoventilation zu Veränderungen der Verteilung und Elimination kommen können (ATKINSON und ATKINSON 1996). Eine chronische Hypoxämie kann den Stoffwechsel von Paracetamol beeinflussen, sodass sich die Halbwertszeit und AUC-Werte erhöhen. Bei Ratten, die eine Hypoxämie aufweisen, ist die Bildung von Glukuronid-, Gluthation- und Sulfatkonjugaten signifikant vermindert. Ebenso ist die totale Clearance bei diesen Tieren erniedrigt (AW et al. 1991). Die intestinale Perfusion kann durch eine verminderte Herzfrequenz und einen verminderten Blutdruck ebenfalls reduziert sein.

Für die Fragestellung des vorliegenden Versuchs, ob Aktivkohle die Exsorptionsrate von Paracetamol aus dem Blutkreislauf ins Intestinallumen erhöhen kann, ist ein intaktes, funktionierendes Lymph- und Kreislaufsystem erforderlich, das in einem In-vitro-Versuch nicht zu erreichen ist (RAOOF et al. 1998). Die In-situ-Single-Pass-Perfusionstechnik ist durch den intakten Blutfluss, durch die Innervation und die Clearance-Fähigkeiten des Organismus der Ratte geeignet, physio-

logische und pharmakologische Eigenschaften zu überprüfen. Die Untersuchungen müssen durch Kontrolle der Konzentration, des pH-Wertes und der Osmolalität des Pharamkons sowie der Fließgeschwindigkeit im Darm überwacht werden (STEWART et al. 1995).

Im Gegensatz zu In-vitro-Modellen muss bei In-vivo-Modellen die Korrelation zu Daten des lebenden Organismus nicht gesucht werden. Ein wichtiger Vorteil der Verwendung von Tiermodellen ist, dass man mit der gleichen Spezies sowohl Absorptionsstudien wie auch Untersuchungen zur Pharmakologie- und Toxikologie bewerten kann (HIDALGO 2001).

Um eine quantitative Bestimmung des Paracetamols und seiner Metaboliten (P+M) in den Galle-, Urin- und Darmperfusatproben zu ermöglichen, wurde radioaktiv ( $^{14}\text{C}$ ) markiertes Paracetamol eingesetzt. Eine Bestimmung des P+M in den AC - Faezes wäre ohne eine  $^{14}\text{C}$ -Markierung nicht möglich. Durch Veraschung konnte die Gesamt-Radioaktivität durch das freigesetzte  $^{14}\text{CO}_2$  gemessen werden. Das PEG hat selbst keine hohe Proteinbindung, ist für den Dialysemechanismus geeignet, lässt eine homogene Verteilung der Aktivkohle zu und erlaubt eine gut zu quantifizierende Bestimmung der  $^{14}\text{C}$ -markierten Versuchssubstanz. Allerdings war eine Differenzierung von unverändertem Paracetamol und seinen Metaboliten in diesen Proben mit dem TDx-Immunoassay nicht möglich.

Anders als bei ARIMORI und Mitarbeitern wurde in der vorliegenden Studie zum Perfundieren des Dünndarms und als Transportmedium für die Aktivkohle PEG verwendet, das eine weitgehend homogene Lösung der Aktivkohle ermöglicht. Außerdem hat man sich für eine niedrigere Perfusionsrate entschieden. Die Aktivkohle hat durch die langsame Perfusionsrate (25 ml/h statt 75 ml/h) mehr Zeit für die Adsorption der Pharmaka und gleichzeitig wird einer eventuellen Schädigung der Darmschleimhaut vorgebeugt.

## 4.2 Die gastrointestinale Dialyse als Dekontaminationsmöglichkeit

Da Paracetamol nicht im Magen, sondern im oberen Dünndarm resorbiert wird (ADAMS und POHLEMANN 1999) bietet sich die intestinale Dialyse als Dekontaminationsmöglichkeit an.

Die verschiedenen Möglichkeiten der Elimination von Xenobiotika wie, renale, biliäre, pulmonale und exogene Clearanceprozesse sowie gastrointestinale Clearanceprozesse durch Aktivkohle (gastrointestinale Dialyse) wirken additiv. Die Verwendung von Aktivkohle in der gastrointesti-

nenen Dialyse, um die Arzneimittelclearance zu beschleunigen, schließt nicht den gleichzeitigen oder nachfolgenden Einsatz anderer Standardmethoden aus (LEVY 1982). Weitere klinisch verbreitete Methoden wie die Gabe von Abführmitteln, Magenspülung oder die Applikation von Ipecac-Sirup® oder dem Paracetamolantidot N-Acetylcystein (ACC) wären zu nennen. KRENZELOK berichtete 2002 über die verschiedenen Entwicklungen in der Therapie von vergifteten Patienten. Er vertrat die Meinung, Abführmittel seien niemals indiziert und als ineffektiv und potentiell gefährlich anzusehen.

TEECE und HOGG machten 2004 eine Studie zu der Frage, ob eine Magenspülung bei mit Paracetamol vergifteten Patienten effektiver sei als die Aktivkohlegabe. Sie recherchierten in 63 Veröffentlichungen und kamen zu dem Schluss, dass eine Magenspülung weniger Wirkung zeige als die Gabe von Aktivkohle allein (TEECE und HOGG 2004).

Die Rolle des Antidots ACC bei der Dekontamination paracetamolvergifteter Patienten ist umstritten. Es bietet Schutz gegen Leberschädigung bei Applikation innerhalb von 12 Stunden nach einer einmaligen Paracetamolüberdosis. Es bestehen einige Theorien zum potentiellen Schutzmechanismus (z.B. Bindung freier Radikale), aber klinische Studien waren auch widersprüchlich bezüglich der Wirksamkeit (DARGAN und JONES 2002). Auch PRESCOTT et al. (1979) kamen zu ähnlichen klinischen Ergebnissen. Sie fanden in ihrer Studie an 100 Patienten, die mit ACC behandelt wurden, heraus, dass nur eine frühe Gabe von ACC zu einem positiven Behandlungsausgang führen kann. Die Effektivität der Behandlung nahm zwischen 8 und 15 Stunden nach Intoxikation stark ab. Eine Behandlung nach 15 Stunden stellte sich als ineffektiv heraus (PRESCOTT et al. 1979). JAMES et al. führten 2003 eine Studie an Mäusen durch, denen sie 300 mg/kg Paracetamol injizierten und die sie in verschiedenen zeitlichen Abständen mit ACC behandelten. Eine Behandlung mit ACC nach einer Stunde verhinderte eine Lebertoxizität vollständig, nach zwei Stunden nur teilweise und nach vier Stunden war kein Schutz mehr gegen eine Hepatotoxizität gegeben (JAMES et al. 2003). Ein Nachteil der ACC-Therapie ist, dass sie schnellstmöglich nach Intoxikation durchgeführt werden muss. Darüber hinaus sollte sie intravenös verabreicht werden. Es ist ein Fall einer anaphylaktischen Reaktion beim Menschen nach oraler Eingabe bekannt (RUMACK 1983).

Aktivkohle hat kaum Kontraindikationen und ist effektiv bei den meisten Vergiftungen (LARSEN und CUMMINGS 1998). Allerdings wird sie von der Amerikanischen Gesellschaft für klinische Toxikologie nur bei Vergiftungen mit Carbamazepin, Dapson, Phenobarbital, Chinin

und Theophyllin uneingeschränkt empfohlen (ANONYM 1999). Durch die positiven Eigenschaften der Aktivkohle, die Exsorption der Pharmaka aus der Zirkulation in das Intestinallumen zu erhöhen, ist eine Aktivkohlebehandlung auch noch nach bereits erfolgter Resorption der Pharmaka wirksam. Im Falle einer Intoxikation ist sie bei Ausbildung von Tablettenkonglomeraten im Magendarmtrakt, die zu einer deutlich verzögerten Resorption führen, länger effektiv.

### **4.3 Zur Pharmakokinetik von Paracetamol (P) und seiner Metaboliten (M) und zur fehlenden Effizienz der Aktivkohle**

Der Paracetamolspiegel im Plasma war im Verlauf des Versuchs in allen behandelten Tiergruppen ähnlich (siehe Tabelle 6 und Abbildung 12). Die Halbwertszeit betrug im Durchschnitt 42 Minuten und stimmte damit gut mit den in der Literatur berichteten Werten überein. HIRATE et al. (1990) bestimmten bei Ratten die Halbwertszeiten von Paracetamol nach intraarterieller, intravenöser und oraler Applikation. Bei drei unterschiedlichen Dosen Paracetamol von 15, 30 und 150 mg/kg KG maßen sie Halbwertszeiten von 25, 30 bzw. 70 Minuten. Auch für die AUC-Werte (ca. 3g/min./l) der vorliegenden Studie finden sich ähnliche Vergleichswerte in der Literatur. Sie liegen dort zwischen 0,5 und 4,3 g/min./l für jeweils 30 mg und 150 mg Paracetamol/kg KG (HIRATE et al. 1990). CHYKA untersuchte 1995 an weiblichen Schweinen die Effektivität von repetitiver Aktivkohlegabe. Diesen war zuvor Paracetamol (30 mg/kg KG) intravenös injiziert worden. Es konnte kein signifikanter Einfluss im Vergleich zu den Kontrollgruppen festgestellt werden (CHYKA 1995).

Die Exsorption von Pharmaka in das Intestinallumen und deren enterohepatischer Kreislauf spielen für den Mechanismus der gastrointestinalen Dialyse mit Aktivkohle eine große Rolle. Das ausschließlich biliär sezernierte P+M bei den gallengangskanülierten Tieren lässt einen enterohepatischen Kreislauf erwarten, der durch die Aktivkohle unterbrochen werden sollte. In der vorliegenden Studie erwartete man, dass sich in Bezug auf die Paracetamolmenge bei den GG+- Gruppen ein Unterschied zwischen den gallengangskanülierten Tieren und den Tieren ohne kanülierten Gallengang darstellte. Bei nicht gallengangskanülierten Tieren kann das in die Galle exsorbierete Paracetamol im Dünndarm reabsorbiert werden oder durch die Aktivkohle endgültig eliminiert werden. Eine Dünndarmperfusion kann auch ohne Aktivkohlegabe durch die

kontinuierliche Fließgeschwindigkeit eine Pharmakareabsorption vermindern. Die beobachtete Ineffektivität von verabreichter Aktivkohle im Hinblick auf das Fehlen einer Reduktion der Halbwertszeit im Plasma könnte ebenfalls auf die Fließgeschwindigkeit zurückzuführen sein, die der Aktivkohle nicht genügend Zeit für die Adsorption des Paracetamols lässt.

Es ist nicht sicher, dass eine homogene Verteilung der Aktivkohle im Dünndarm vorlag. Auch war die homogene Verteilung während der Perfusion eventuell nicht gewährleistet. Durch den Magnetrührer war zwar die Aktivkohle im Glaskolben vor der Applikation homogen. Sie könnte sich allerdings bei der geringen Fließgeschwindigkeit im Intestinum abgesetzt haben. Der angestrebte Effekt der Aktivkohle im vorliegenden Modell wäre auch in diesem Fall eingeschränkt. Es ist bekannt, dass die Darmmotilität im perfundierten Jejunum durch Anästhesie und Laparotomie deutlich beeinflusst wird (ANDERSON et al. 1988). In den eigenen Untersuchungen wurde mit großer Sorgfalt auf eine optimale Zirkulation und Beatmung während der Anästhesie geachtet und versucht, das Trauma während der operativen Eingriffe zu minimieren. Letztendlich kann die Adsorptionskapazität von Aktivkohle aber auch durch andere Faktoren wie pH, Temperatur, Partikelgröße, Darminhalt etc. beeinflusst worden sein.

#### **4.4 Zur Exkretion von Paracetamol (P) und seiner Metaboliten (M) in die Galleflüssigkeit, in die Darmspülproben und in den Urin**

##### Biliäre Sekretion

Innerhalb der Gruppen, die mit Aktivkohle perfundiert wurden, traten keine signifikanten Unterschiede auf (siehe Tabelle 5). Die Menge von P+M, die innerhalb des Versuchszeitraumes von 210 Minuten in die Galle ausgeschieden wurden, betrug einheitlich ca. 13 % der verabreichten Gesamtdosis (siehe Tabelle 6). Die maximale Konzentration von P+M in der Galle wurde schon nach der Sammelperiode 0 – 15 min. und 15 – 30 min. gefunden. Der zeitliche Unterschied zwischen den Konzentrationsmaxima im Plasma und in der Galle ist gering. In der Sammelperiode zwischen 60 und 90 Minuten divergierten die Spiegel besonders stark. Die Gallekonzentration von P+M lag bei 800 mg/l, die Konzentration im Plasma bei 12,5 mg/l. Das erklärt sich aus der Fähigkeit der Leberzellen, Xenobiotika (Metaboliten) im sinusoidalen Raum zu konzentrieren (VILLA et al. 1988).

Biliär ausgeschiedene Medikamente können im Intestinum reabsorbiert werden, sofern keine nicht-absorbierbaren Adsorptionsmittel, wie Aktivkohle, die biliär sezernierten Pharmaka binden und so den enterohepatischen Kreislauf unterbrechen und damit eine Elimination beschleunigen (HUANG 1990). Im vorliegenden Versuch lag eine aktivkohleunabhängige Verzögerung der Exkretion von P+M bei den Tieren mit physiologischem Gallefluss vor. Das Maximum des <sup>14</sup>C-markierten Paracetamols lag bei der GG- Gruppe bei 90 Minuten im Vergleich zur GG+ Gruppe, die ihr Maximum schon nach 30 Minuten erreichte. Oral verabreichtes Paracetamol wird im oberen Dünndarm resorbiert (ADAMS und POHLEMANN 1999), wo auch der Ductus choledochus mündet. Die Nachbarschaft des Ductus choledochus zum Dünndarm liefert eine Erklärung für die Verzögerung in den GG+ Tieren.

Die 13 % des Paracetamols und seiner Metaboliten, die in der Galle nach 210 Minuten bestimmt wurden, stimmen gut mit den Daten in der Literatur überein. So wird der prozentuale Anteil der Metaboliten des intravenös verabreichten Paracetamols (300 mg/kg), das innerhalb von 6 Stunden in die Galle von Ratten ausgeschieden wurde, mit über 19 % beschrieben, wobei als Hauptmetaboliten Paracetamolglucuronid (10%), Paracetamolsulfat (4,6%) und Paracetamolglutathion (3%) erfasst wurden (CHO et al. 1996).

### Seromukosaler Transport

Die Gesamtmenge des <sup>14</sup>C-markierten Paracetamols, die nach dem Versuchszeitraum von 210 Minuten in der Darmperfusatsprobe gefunden wurde, betrug ca. 7% der verabreichten Gesamtdosis bei den Tieren mit kanüliertem Gallengang und ca. 20% der Gesamtdosis bei den Tieren mit physiologischem Gallefluss. Somit bleibt ein Unterschied von 13 %, der sich mit der Menge P+M, die in der Galle gemessen wurde, deckt (siehe Tabelle 6). Zwischen den Versuchstiergruppen, die Aktivkohle erhielten, und denen, die nur mit PEG gespült wurden, konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Es ist noch nicht völlig geklärt, ob die gastrointestinale Dialyse einem passiven, einem Carrier-vermittelten oder einem aktiven spezifischen Transportmechanismus durch P-Glykoprotein unterliegt, codiert durch das Multidrug-resistance-1-Gen. Letzteres wird von einigen Autoren vermutet (GRAMATTE und OERTEL 1999; SISODIYA et al. 1999). Eine genaue Abklärung könnte durch weitere Studien untersucht werden. Das Maximum der Radioaktivität in der Darmperfusatsprobe bei den gallengangskanülierten Tieren lag bei 30 Minuten nach der Injektion. Der Wert fiel mit einer Halbwertszeit von 50 Minuten entspre-

chend der Plasma-Eliminations-Halbwertszeit. Dieses Verhalten spricht für einen passiven Diffusionsprozess als seromukosalen Transport.

PANG et al. untersuchten 1986 die Absorption und den Metabolismus von Paracetamol in einem In-situ-Modell an Ratten. Vom Paracetamol im Blutkreislauf wurden 5,6 % unverändertes Paracetamol in der Darmflüssigkeit bestimmt. Metaboliten wurden nicht gefunden (PANG et al. 1986). Dies ist vergleichbar mit den eigenen Ergebnissen, die 7% der Paracetamoldosis in der Dünndarmspülprobe und 13 % in der Gallenflüssigkeit aufweisen (siehe Tabelle 6). In den Galle-, Urin- und Darmspülproben wurde keine Differenzierung hinsichtlich der Metaboliten des gefundenen <sup>14</sup>C-markierten Paracetamols durchgeführt. Allerdings konnte man die berichtete Exkretion von unverändertem Paracetamol in der Darmspülprobe durch Bestimmungen mit dem TDx-Assay in den Untergruppen AC-GG+ und AC-GG- bestätigen. Gemäß der Herstellerinformation ist der TDx-Assay spezifisch für Paracetamolkonzentrationen bis 400 mg/l. Paracetamolmetaboliten wie Paracetamolglucuronid, Paracetamolsulfat, 3-Cystein-Paracetamol und 3-Mercapto-Paracetamol zeigen keine Kreuzreaktionen bis Konzentrationen von 400 mg/l. Daher kann man annehmen, dass das analysierte Paracetamol in der Darmperfusatprobe unverändertes Paracetamol ist. Tatsächlich werden 30 Minuten nach Versuchsbeginn in den Darmperfusatproben jeweils 85 und 75 mg/l Paracetamol durch den TDx-assay in den Gruppen AC-GG- und AC-GG+ bestimmt.

### Renale Exkretion

In der Literatur wird die renale Exkretion von P+M mit 83 % (LEVY und HOUSTON 1976) und 86 % beschrieben (CHO et al. 1996). In der vorliegenden Studie zeigte die Exkretion von P+M in den Urin innerhalb 210 Minuten nach Injektion keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Es gab allerdings teils beachtliche Abweichungen innerhalb jeder Gruppe bezüglich des Harnflusses. Die durchschnittliche renale Exkretion des P+M betrug 45 % und wies eine Korrelation zum Harnfluss innerhalb aller Gruppen auf. Signifikante Unterschiede der Exkretion der P+M traten zwischen den Gruppen AC+GG- (56 %) und AC+GG+ (30 %) auf (siehe Tabelle 6). Diese können auf die Harnmengenunterschiede zurückzuführen sein. So wurden in der AC+GG- Gruppe im Mittel 9,8 g Urin und in der Gruppe AC+GG+ 4,8 g gesammelt (siehe Tabelle 5). Die Unterschiede in der Urinmenge zwischen den gallengangskanülierten Tieren und den GG- Tieren könnten aufgrund des Flüssigkeitsverlustes durch die ausgeleitete Galle



erklärt werden. Die Kanülierung des Gallenganges an sich scheint einen geringen Einfluss hinsichtlich der renalen Exkretion von P+M zu haben.

### **4.5 Zur klinischen Relevanz von Aktivkohle für die Erhöhung der Exsorption des Paracetamols (P) und seiner Metaboliten (M) in das Intestinallumen**

In der vorliegenden Studie, durchgeführt an Ratten, konnte keine gesteigerte Clearance von intravenös verabreichtem Paracetamol durch Aktivkohle festgestellt werden. Die Menge P+M, die ausschließlich seromukosal ausgeschieden wurde, liegt unter 10 % der verabreichten Gesamtdosis. Die geringe Exsorption könnte durch eine zu gering verabreichte Dosis Paracetamol oder Aktivkohle erklärt werden. Es wurde in den eigenen Untersuchungen jeweils nur eine Konzentration untersucht. Aktivkohle kann ein effektives Adsorptionsmittel für Paracetamolvergiftungen sein, wenn es in kürzester Zeit nach Ingestion und in ausreichender Menge appliziert wird (LEVY und HOUSTON 1976). Im eigenen Versuch wurden nur 75 mg/kg KG Paracetamol verabreicht. Diese Dosis erreicht bei Ratten keine toxischen Werte. JUNG untersuchte 1985 die Pharmakokinetik von intravenös verabreichtem Paracetamol an zwei unterschiedlich ernährten Rattengruppen, und stellte fest, dass die Verteilung von Paracetamol dosis- und zeitabhängig ist (GALINSKY und LEVY 1981; JUNG 1985). GALINSKY et al. (1981) fanden dosisabhängige Ergebnisse: Bei Applikationen von 300 mg/kg fanden sie über 24 Stunden 22 %, und bei der Gruppe, die 100 mg/kg KG Paracetamol bekam, nur 11 % der injizierten Dosis.

Die eigenen Modifizierungen der gastrointestinalen Dialyse unter Einbindung der Überwachung und Stabilisierung bestimmter Vitalparameter der Versuchstiere bewährten sich in der vorliegenden Untersuchung. Sie könnten Beispiel und Vorlage für weitere Studien mit höheren Paracetamoldosierungen sein. Die Exsorption des Paracetamols könnte sich relevant steigern, wenn mit höheren Dosen gearbeitet würde. Genauso könnte eine höhere Dosis von Aktivkohle die Adsorption verbessern. Der Einfluss der Aktivkohle wurde bei der vorliegenden Fragestellung über einen Versuchszeitraum von 210 Minuten untersucht. Nach dieser Zeit war der P+M-Gehalt im Blut noch nicht bei Null. Das Risiko, dass die Tiere durch die längere Narkosezeit klinische Probleme zeigen könnten, wurde so umgangen. Allerdings ist noch ungeklärt, wie schnell die Permeation

über die Darmmembran stattfindet. Somit spielt der Zeitfaktor eine wohl ebenfalls nicht zu unterschätzende Rolle. Eine klinisch relevante seromukosale Exkretion und effektive Adsorption durch Aktivkohle in der gastrointestinalen Dialyse würde neue Perspektiven in der Behandlung vergifteter Patienten eröffnen.

### **4.6 Zur Relevanz der Aktivkohle in der klinischen Behandlung Vergifteter**

In der vorliegenden Untersuchung konnte die Effizienz der Aktivkohle auf die erhöhte Exsorption von Pharmaka ins Intestinallumen – hier am Beispiel des Paracetamols - nicht bewiesen werden. Allerdings hat Aktivkohle per se eine klinische Relevanz für die Giftelimination durch die Adsorption der oral eingenommenen Stoffe. Die direkte Resorption aus dem Magendarmtrakt oder die über den enterohepatischen Kreislauf kann so beeinträchtigt werden. CHRISTOPHERSEN et al. untersuchten 2002 die Effektivität der Aktivkohle bei einer simulierten Paracetamolvergiftung mit 12 Freiwilligen. Sie verabreichten eine und zwei Stunden nach Paracetamolapplikation die Aktivkohle und konnten in beiden Gruppen eine signifikante Reduzierung der AUC-Werte nach dieser raschen Behandlung feststellen (CHRISTOPHERSEN et al. 2002). Je schneller der vergiftete Patient behandelt wird, desto besser sind die Erfolgsaussichten. Aktivkohlegabe innerhalb von 5 Minuten nach Medikamenteneinnahme reduziert die Absorption des Paracetamols um 83 % (YEATES und THOMAS 2000).

Diese Studien zeigen eine mögliche therapeutische Relevanz der Aktivkohle bei vergifteten Patienten an, insbesondere wenn es sich um Paracetamolvergiftungen handelt. Allerdings sind die Ergebnisse, die in einer einschlägigen Fachzeitschrift veröffentlicht wurden (EYER et al. 2007), auf die klinische Toxikologie nicht unmittelbar übertragbar, da erhebliche Zeitunterschiede zwischen Gifteinnahme und Beginn der Therapie vorliegen können. Weitere Untersuchungen am Rattenmodell sind durchzuführen, um die Wirksamkeit der Aktivkohle als Adsorptionsmittel und zur Unterstützung der intestinalen Dialyse zu beweisen.

### 5 ZUSAMMENFASSUNG

Mittels eines In-vivo-Modells wurde an anästhesierten Ratten der Einfluss von repetitiver Aktivkohlegabe auf die Elimination von intravenös verabreichtem Paracetamol untersucht. Dabei wurden 40 Ratten randomisiert und in vier Gruppen zu je 10 Tieren aufgeteilt. Die Konzentration des <sup>14</sup>C-markierten Paracetamols und seiner Metaboliten wurde bei allen Tieren in Plasma, Gallenflüssigkeit, Urin und Darmspülproben gemessen. Um den Einfluss der Aktivkohle auf die Elimination von Paracetamol zu testen, wurde der Dünndarm einer Hälfte der Versuchstiere (n=20) mit in Polyethylenglykollösung (PEG) suspendierter Aktivkohle perfundiert (= gastrointestinale Dialyse) und bei der anderen Hälfte (n=20) nur mit PEG. Zur Klärung der Frage, ob Aktivkohle den enterohepatischen Kreislauf von Paracetamol unterbricht, wurden jeweils bei der Hälfte der Aktivkohle-Tiere (n=10) und der Hälfte der PEG-Tiere (n=10) die Galle ausgeleitet und auf Paracetamol untersucht.

Über einen Versuchszeitraum von 3,5 Stunden wurden im ilealen Effluat der Tiere mit einem physiologischen Gallefluss ca. 20% der verabreichten Paracetamoldosis gefunden und ca. 7% im ilealen Effluat der Tiere mit kanüliertem Gallengang. In der ausgeleiteten Galle fand man 13% des Paracetamols und seiner Metaboliten. Aktivkohle hatte keinen Einfluss auf die Exsorption von Paracetamol in den Dünndarm. Die terminale Halbwertszeit im Blut lag zwischen 35 bis 51 Minuten und war zwischen den vier Gruppen ohne signifikanten Unterschied (P=0,152). Die Area under curve-Werte waren ebenfalls ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (P=0,392) und bewegten sich im Bereich von 2,6 bis 3,3 g/min./l. Der Paracetamolgehalt in den postmortalen Leber- und Nierenproben war sehr gering und betrug zwischen 0,02% und 0,6% der applizierten Gesamtdosis. Die Exkretion von Paracetamol in den Urin war zwischen den Gruppen sehr unterschiedlich und reichte von 31 bis 56 % und korrelierte mit dem Harnfluss. Der fehlende Effekt von Aktivkohle auf die Elimination von intravenös verabreichtem Paracetamol ist wahrscheinlich auf die zu geringe exsorbierte Menge ins Darmlumen zurückzuführen.

## 6 SUMMARY

### **Influence of repetitive duodenal application of activated charcoal on the elimination of the elimination of intravenously applied acetaminophen (N-Acetyl-para-aminophenol)**

The influence of the repeated administration of activated charcoal on elimination of intravenously injected acetaminophen was investigated in an in-vivo model of anaesthetized rats. 40 rats were randomized and divided into four groups of 10 animals, respectively. Concentration of <sup>14</sup>C-marked acetaminophen and its metabolites was measured in plasma, urine and small intestine irrigation samples of all animals. To measure the influence of activated charcoal on elimination of acetaminophen, the small intestine of one half of the animals (n=20) was perfused with activated charcoal dissolved in polyethylene glycol (PEG) (= gastrointestinal dialysis), the small intestine of the other half (n=20) was perfused just with PEG. In order to answer the question whether activated charcoal interrupts enterohepatic circulation, half of the rats treated with activated charcoal and half of the PEG-treated animals (n=10, respectively) were subject to bile duct cannulation; the externalized bile was then quantified for acetaminophen. During a testing period of 3.5 hours, in the ileal effluent of animals with physiological bile flow, we detected ca. 20% of the dose administered originally; in the animals subject to cannulation, we found about 7%. 13% of acetaminophen and metabolites were found in the externalized bile. Activated charcoal did not influence the exsorption of acetaminophen into the small intestine. Terminal half-life in blood ranged from 35-51 minutes, there was no statistically significant difference between the groups (P=0.152). Neither did the Area under curve (AUC) – ranging from 2.6 to 3.3 g/min./l. – show significant variation between groups (P=0.392). Concentration of acetaminophen in liver and kidney samples, which were removed post mortem, was very low, ranging from 0.02 to 0.6% of the dose originally administered. Excretion of acetaminophen into urine varied widely (31-56%), correlating with diuresis. The absence of an effect of activated charcoal on elimination of acetaminophen and metabolites may have been caused by exsorption of insufficient amounts into the intestinal lumen.

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

**ADAMS HA, POHLEMANN T (1999).**

Effect of anesthetics on the function of the gastrointestinal tract.  
*Anaesthesiol Reanim* 24(4): 88-94.

**ALLEN AL (2003).**

The diagnosis of acetaminophen toxicosis in a cat.  
*Can Vet J* 44(6): 509-10.

**ANDERSON BW, LEVINE AS, LEVITT DG, KNEIP JM, LEVITT MD (1988).**

Physiological measurement of luminal stirring in perfused rat jejunum.  
*Am J Physiol* 254(6 Pt 1): G843-8.

**ANONYM (1999).**

Position statement and practice guidelines on the use of multi-dose activated charcoal in the treatment of acute poisoning. American Academy of Clinical Toxicology; European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists.  
*J Toxicol Clin Toxicol* 37(6): 731-51.

**ANVIK JO (1984).**

Acetaminophen toxicosis in a cat.  
*Can Vet J* 25(12): 445-447.

**ARIMORI K, DESHIMARU M, NAKANO M (1992).**

The effect of dinoprost on transport of water and imipramine through rat small intestinal membranes.  
*J Pharm Pharmacol* 44(1): 15-8.

**ARIMORI K, KUROKI N, KUMAMOTO A, TANOUE N, NAKANO M, KUMAZAWA E, TOHGO A, KIKUCHI M (2001).**

Excretion into gastrointestinal tract of irinotecan lactone and carboxylate forms and their pharmacodynamics in rodents.  
*Pharm Res* 18(6): 814-22.

**ARIMORI K, NAKANO M (1985).**

Transport of theophylline from blood to the intestinal lumen following i.v. administration to rats.  
*J Pharmacobiodyn* 8(4): 324-7.

**ARIMORI K, NAKANO M (1986).**

Transport of phenobarbitone into the intestinal lumen and the biliary tract following i.v. administration to rats.  
*J Pharm Pharmacol* 38(5): 391-3.

**ARIMORI K, NAKANO M (1987).**

The intestinal dialysis of intravenously administered phenytoin by oral activated charcoal in rats. *J Pharmacobiodyn* 10(4): 157-65.

**ARIMORI K, NAKANO M (1988).**

Transport of procainamide and N-acetylprocainamide from blood into the intestinal lumen and intestinal dialysis by oral activated charcoal in rats with acute renal failure. *J Pharmacobiodyn* 11(7): 504-11.

**ARIMORI K, NAKANO M (1988a).**

Transport of furosemide into the intestinal lumen and the lack of effect of gastrointestinal dialysis by charcoal in rats with acute renal failure. *J Pharmacobiodyn* 11(1): 1-8.

**ARIMORI K, NAKANO M (1988b).**

Transport of procainamide and N-acetylprocainamide from blood into the intestinal lumen and intestinal dialysis by oral activated charcoal in rats with acute renal failure. *J Pharmacobiodyn* 11(7): 504-11.

**ARIMORI K, NAKANO M (1989).**

Study on transport of disopyramide into the intestinal lumen aimed at gastrointestinal dialysis by activated charcoal in rats. *J Pharm Pharmacol* 41(7): 445-9.

**ARIMORI K, WAKAYAMA K, NAKANO M (1989).**

Increased transport of theophylline into gastrointestinal lumen and gastrointestinal dialysis by activated charcoal in rats with hepatic cirrhosis. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 37(11): 3148-9.

**ATKINSON PP, ATKINSON JL (1996).**

Spinal shock. *Mayo Clin Proc* 71(4): 384-9.

**AW TY, SHAN XQ, SILLAU AH, JONES DP (1991).**

Effect of chronic hypoxia on acetaminophen metabolism in the rat. *Biochem Pharmacol* 42(5): 1029-38.

**BOOTH N (1988).**

*Veterinary Pharmacology and Therapeutics*.  
6 th ed. Annes, Iowa: University Press.

**BOUTAUD O, ARONOFF DM, RICHARDSON JH, MARNETT LJ, OATES JA (2002).**

Determinants of the cellular specificity of acetaminophen as an inhibitor of prostaglandin H(2) synthases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(10): 7130-5.

**CHO E, JANG SH, LEE JW, KIM ND, LEE MG (1996).**

Metabolic changes of acetaminophen after intravenous administration to rats pretreated with a hepatoprotective agent, YH-439.  
Res Commun Mol Pathol Pharmacol 91(1): 3-16.

**CHRISTOPHERSEN AB, HOEGBERG LC, KRISTENSEN K, SKANNING PG, ANGELO HR, CHRISTENSEN HR (2004).**

The effect of activated charcoal, given as an oral solution, on the elimination half life of intravenous Paracetamol.  
J Toxicol Clin Toxicol.

**CHRISTOPHERSEN AB, LEVIN D, HOEGBERG LC, ANGELO HR, KAMPMANN JP (2002).**

Activated charcoal alone or after gastric lavage: a simulated large paracetamol intoxication.  
Br J Clin Pharmacol 53(3): 312-7.

**CHYKA PA (1995).**

Multiple-dose activated charcoal and enhancement of systemic drug clearance: summary of studies in animals and human volunteers.  
J Toxicol Clin Toxicol 33(5): 399-405.

**CHYKA PA, HOLLEY JE, MANDRELL TD, SUGATHAN P (1995).**

Correlation of drug pharmacokinetics and effectiveness of multiple-dose activated charcoal therapy.  
Ann Emerg Med 25(3): 356-62.

**CROCKETT R, KRISHEL SJ, MANOQUERRA A, WILLIAMS SR, CLARK RF (1996).**

Prehospital use of activated charcoal: a pilot study.  
J Emerg Med 14(3): 335-8.

**DARGAN PI, JONES AL (2002).**

Acetaminophen poisoning: an update for the intensivist.  
Crit Care 6(2): 108-10.

**DERLET RW, ALBERTSON TE (1986).**

Activated charcoal--past, present and future.  
West J Med 145(4): 493-6.

**ERHARDT W, HENKE J, KROKER R (2004)**

Pharmaka zur perioperativen Schmerzlinderung.  
In: ERHARDT, W., HENKE, J. and HABERSTROH, J. (Hrsg.):  
Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier.  
Schattauer, Stuttgart, 117 - 31.

**EYER F, JUNG N, NEUBERGER H, SCHULZ R, STEINER K, LADSTETTER B, POETHKO T, HENKE J, ZILKER T (2007).**

Enteral exsorption of acetaminophen after intravenous injection in rats: influence of activated charcoal on this clearance path. Basic Clin Pharmacol Toxicol 101(3): 163-71.

**GALINSKY RE, LEVY G (1981).**

Dose- and time-dependent elimination of acetaminophen in rats: pharmacokinetic implications of cosubstrate depletion. J Pharmacol Exp Ther 219(1): 14-20.

**GIFTNOTRUFZENTRALE MÜNCHEN RDI (2007).**

**GRAMATTE T, OERTEL R (1999).**

Intestinal secretion of intravenous talinolol is inhibited by luminal R-verapamil. Clin Pharmacol Ther 66(3): 239-45.

**GYAMLANI GG, PARIKH CR (2002).**

Acetaminophen toxicity: suicidal vs. accidental. Crit Care 6(2): 155-9.

**HACK JB, GILLILAND MG, MEGGS WJ (2006).**

Images in emergency medicine. Activated charcoal aspiration. Ann Emerg Med 48(5): 522, 531.

**HARRIS CR, FILANDRINOS D (1993).**

Accidental administration of activated charcoal into the lung: aspiration by proxy. Ann Emerg Med 22(9): 1470-3.

**HEBEL A, RATTELBACH H-G, PFEIFFER C (1978).**

Schwere Vergiftung eines Hundes mit Optalidon. Spezial. Tierärztliche Presse 6: 377 - 85.

**HENSCHLER D, KREUTZER P (1968).**

[Concept and significance of therapy with antidotes in the course of time]. Arch Toxikol 24(1): 1-14.

**HIDALGO IJ (2001).**

Assessing the absorption of new pharmaceuticals. Curr Top Med Chem 1(5): 385-401.

**HIRATE J, ZHU CY, HORIKOSHI I, BHARGAVA VO (1990).**

First-pass metabolism of acetaminophen in rats after low and high doses. Biopharm Drug Dispos 11(3): 245-52.



**HUANG JD (1990).**

Comparative drug exsorption in the perfused rat intestine.  
J Pharm Pharmacol 42(3): 167-70.

**ILLES P, ALLGAIER C (2005)**

Nicht-saure antipyretische Analgetika: Paracetamol.  
In: AKTORIES, K., FÖRSTERMANN, U., HOFFMANN, F. and STARKE, K. (Hrsg.): Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie.  
9. Auflage, Urban & Fischer Verlag, München, 240 - 1.

**ISBISTER GK, BUCENS IK, WHYTE IM (2001).**

Paracetamol overdose in a preterm neonate.  
Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 85(1): F70-2.

**ISBISTER GK, DAWSON AH, WHYTE IM (2003).**

Feasibility of prehospital treatment with activated charcoal:  
Who could we treat, who should we treat?  
Emerg Med J 20(4): 375-8.

**ISSA C, GUPTA P, BANSAL AK (2003).**

Implications of density correction in gravimetric method for water flux determination using rat single-pass intestinal perfusion technique: a technical note.  
AAPS PharmSciTech 4(2): E16.

**JACKSON CH, MACDONALD NC, CORNETT JW (1984).**

Acetaminophen: a practical pharmacologic overview.  
Can Med Assoc J 131(1): 25-32, 37.

**JAMES LP, MCCULLOUGH SS, LAMPS LW, HINSON JA (2003).**

Effect of N-acetylcysteine on acetaminophen toxicity in mice: relationship to reactive nitrogen and cytokine formation.  
Toxicol Sci 75(2): 458-67.

**JANG SH, LEE MH, LEE MG (1994).**

Pharmacokinetics of acetaminophen after intravenous and oral administration to spontaneously hypertensive rats and normotensive Wistar rats.  
J Pharm Sci 83(6): 810-4.

**JUNG D (1985).**

Disposition of acetaminophen in protein-calorie malnutrition.  
J Pharmacol Exp Ther 232(1): 178-82.

**KARIM A, IVATTS S, DARGAN P, JONES A (2001).**

How feasible is it to conform to the European guidelines on administration of activated charcoal within one hour of an overdose?  
Emerg Med J 18(5): 390-2.

**KRENZELOK EP (2002).**

New developments in the therapy of intoxications.

Toxicol Lett 127(1-3): 299-305.

**KWAK MK, LEE WI, KIM ND, LEE MG (1998).**

Metabolic changes of acetaminophen after intravenous administration to rats pretreated with 2-(allylthio)pyrazine.

Biopharm Drug Dispos 19(4): 273-7.

**LARSEN LC, CUMMINGS DM (1998).**

Oral poisonings: guidelines for initial evaluation and treatment.

Am Fam Physician 57(1): 85-92.

**LEVY G (1982).**

Gastrointestinal clearance of drugs with activated charcoal.

N Engl J Med 307(11): 676-8.

**LEVY G, HOUSTON JB (1976).**

Effect of activated charcoal on acetaminophen absorption.

Pediatrics 58(3): 432-5.

**LIN YC, SUSSMAN HH, BENITZ WE (1997).**

Plasma concentrations after rectal administration of acetaminophen in preterm neonates.

Paediatr Anaesth 7(6): 457-9.

**LU HH, THOMAS JD, TUKKER JJ, FLEISHER D (1992).**

Intestinal water and solute absorption studies: comparison of in situ perfusion with chronic isolated loops in rats.

Pharm Res 9(7): 894-900.

**MACNAUGHTON SM (2003).**

Acetaminophen toxicosis in a Dalmatian.

Can Vet J 44(2): 142-4.

**MANDEL (1971)**

Pathways of drug biotransformation: Biochemical conjugations.

Fundamentals of drug metabolism and drug deposition.

In: LADU BN, M. H., WAL EL (Hrsg.).

William & Wilkins, Baltimore, 149 - 186.

**PALATNICK W, TENENBEIN M (1992).**

Activated charcoal in the treatment of drug overdose. An update.

Drug Saf 7(1): 3-7.

**PANG KS, YUEN V, FAYZ S, TE KOPPELE JM, MULDER GJ (1986).**

Absorption and metabolism of acetaminophen  
by the in situ perfused rat small intestine preparation.  
Drug Metab Dispos 14(1): 102-11.

**PETERSON RG, RUMACK BH (1977).**

Treating acute acetaminophen poisoning with acetylcysteine.  
Jama 237(22): 2406-7.

**PRESCOTT LF, ILLINGWORTH RN, CRITCHLEY JA, STEWART MJ, ADAM RD,  
PROUDFOOT AT (1979).**

Intravenous N-acetylcysteine: the treatment of choice for paracetamol poisoning.  
Br Med J 2(6198): 1097-100.

**PROUDFOOT AT, WRIGHT N (1970).**

Acute paracetamol poisoning.  
Br Med J 3(5722): 557-8.

**RAOOF AA, BUTLER J, DEVANE JG (1998).**

Assessment of regional differences in intestinal fluid movement  
in the rat using a modified in situ single pass perfusion model.  
Pharm Res 15(8): 1314-6.

**RUMACK BH (1983).**

Acetaminophen overdose.  
Am J Med 75(5A): 104-12.

**RUMACK BH, PETERSON RC, KOCH GG, AMARA IA (1981).**

Acetaminophen overdose. 662 cases with evaluation of oral acetylcysteine treatment.  
Arch Intern Med 141(3 Spec No): 380-5.

**SALPHATI L, CHILDERS K, PAN L, TSUTSUI K, TAKAHASHI L (2001).**

Evaluation of a single-pass intestinal-perfusion method  
in rat for the prediction of absorption in man.  
J Pharm Pharmacol 53(7): 1007-13.

**SCHANKER LS, TOCCO DJ, BRODIE BB, HOGBEN CA (1958).**

Absorption of drugs from the rat small intestine.  
J Pharmacol Exp Ther 123(1): 81-8.

**SIEGERS CP, ROZMAN K, KLAASSEN CD (1983).**

Biliary excretion and enterohepatic circulation of paracetamol in the rat.  
Xenobiotica 13(10): 591-6.

**SISODIYA SM, HEFFERNAN J, SQUIER MV (1999).**

Over-expression of P-glycoprotein in malformations of cortical development.  
Neuroreport 10(16): 3437-41.

**STEWART BH, CHAN OH, LU RH, REYNER EL, SCHMID HL, HAMILTON HW, STEINBAUGH BA, TAYLOR MD (1995).**

Comparison of intestinal permeabilities determined in multiple in vitro and in situ models: relationship to absorption in humans. Pharm Res 12(5): 693-9.

**SUTTON E, SOYKA LF (1973).**

How safe is acetaminophen? Some practical cautions with this widely used agent. Clin Pediatr (Phila) 12(12): 692-6.

**SUTTON SC, RINALDI MT, MCCARTHY JM, VUKOVINSKY KE (2002).**

A statistical method for the determination of absorption rate constant estimated using the rat single pass intestinal perfusion model and multiple linear regression. J Pharm Sci 91(4): 1046-53.

**TEECE S, HOGG K (2004).**

Best evidence topic reports. Gastric lavage in paracetamol poisoning. Emerg Med J 21(1): 75-6.

**THAKORE S, MURPHY N (2002).**

The potential role of prehospital administration of activated charcoal. Emerg Med J 19(1): 63-5.

**TOMIMARU A, ARIMORI K, INOTSUME N, NAKANO M (1996).**

Effect of activated charcoal and atropine on absorption and/or exsorption of organophosphorus compounds in rats. J Pharm Pharmacol 48(4): 351-6.

**VILLA P, SASSELLA D, CORADA M, BARTOSEK I (1988).**

Toxicity, uptake, and subcellular distribution in rat hepatocytes of roxithromycin, a new semisynthetic macrolide, and erythromycin base. Antimicrob Agents Chemother 32(10): 1541-6.

**WAKABAYASHI Y, MARUYAMA S, HACHIMURA K, OHWADA T (1994).**

Activated charcoal interrupts enteroenteric circulation of phenobarbital. J Toxicol Clin Toxicol 32(4): 419-24.

**WALLACE CI, DARGAN PI, JONES AL (2002).**

Paracetamol overdose: an evidence based flowchart to guide management. Emerg Med J 19(3): 202-5.

**YEATES PJ, THOMAS SH (2000).**

Effectiveness of delayed activated charcoal administration in simulated paracetamol (acetaminophen) overdose. Br J Clin Pharmacol 49(1): 11-4.

ZHOU L, MCKENZIE BA, ECCLESTON ED, JR., SRIVASTAVA SP, CHEN N, ERICKSON RR, HOLTZMAN JL (1996).

The covalent binding of [<sup>14</sup>C]acetaminophen to mouse hepatic microsomal proteins: the specific binding to calreticulin and the two forms of the thiol:protein disulfide oxidoreductases.

Chem Res Toxicol 9(7): 1176-82.

## 8 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Symptome nach Paracetamolüberdosierung nach zeitlichem Verlauf (PROUDFOOT und WRIGHT 1970) .....	6
Tabelle 2: Gruppeneinteilung und Tierzahl .....	22
Tabelle 3: Narkoseerhaltung über den Versuchszeitraum .....	27
Tabelle 4: Vitalparameter aller Tiere (n=40).....	36
Tabelle 5: Angaben zu den Applikations- und Sammelmengen während dem Versuch und dem Körpergewicht der Versuchstiere bei Versuchsbeginn .....	35
Tabelle 6: Pharmakokinetik von <sup>14</sup> C-markiertem Paracetamol in den Versuchstiergruppen.....	40

## 9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Strukturformel von Paracetamol (N-Acetyl-para-aminophenol).....	3
Abbildung 2:	Stoffwechsel von Paracetamol (ILLES und ALLGAIER 2005).....	5
Abbildung 3:	Enterohepatischer Kreislauf .....	14
Abbildung 4:	Effekt der Aktivkohle auf die enterohepatische Rezirkulation von Pharmaka ...	14
Abbildung 5:	Diffusion von Pharmaka ohne (links) und mit (rechts) Aktivkohle .....	15
Abbildung 6:	Kanülierung der V. jugularis dextra .....	25
Abbildung 7:	Kanülierung der A. carotis communis sinistra .....	26
Abbildung 8:	Ductus choledochus .....	28
Abbildung 9:	Kanülierung des Ileums .....	29
Abbildung 10:	Katheter im Duodenum, Ileum und Harnblase .....	30
Abbildung 11:	Übersicht der Katheter .....	31
Abbildung 12:	Konzentrationsverlauf von Paracetamol im Plasma .....	39
Abbildung 13:	Korrelation zwischen Paracetamol exkretion in den Urin und Diurese .....	41
Abbildung 14:	Radioaktivität von <sup>14</sup> C-markiertes P+M im Darmperfusat (1g) aller Gruppen über den gesamten Versuchszeitraum t=210.....	43
Abbildung 15:	Der Gehalt von P+M in 1g Probe von Leber, linker und rechter Niere, 210 min nach Applikation der Versuchssubstanz (% der verabreichten Radioaktivität mit der Standardabweichung (SD).....	44

## 10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

$^{14}\text{C}$	Kohlenstoff-Isotop
AC	Aktivkohle
AUC	Area under curve
BE	Baseexcess
$\text{CO}_2$	Kohlendioxid
dpm	decays per minute
EKG	Elektrokardiogramm
GG	Gallengang
Hb	Hämoglobin
Hg	Quecksilber
i.v.	intravenös
kBq	Kilobequerel
KG	Körpergewicht
MAP	Mean Arterial Pressure
max	Maximum
MBq	Megabequerel
min	Minimum
n	Anzahl
p	Signifikanzmaß
PEG	Polyethylenglykollösung
PGHS-2	Prostaglandin-H-Synthese-Hemmer
P+M	$^{14}\text{C}$ -markiertes Paracetamol und seine Metaboliten
paO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
paCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
r <sup>2</sup>	Anpassungsgüte
SD	Standardabweichung
SEM	Standard error of mean
t	Zeit
t <sub>1/2</sub>	Halbwertszeit
TIVA	totale intravenöse Anästhesie
ZNS	Zentrales Nervensystem



### 11 DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. med. vet. M. Stangassinger danke ich herzlich für die Übernahme der Arbeit an die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Mein Dank gilt Prof. Zilker für die Ermöglichung meiner Arbeit und die freundliche Unterstützung ohne die dieses Projekt nicht möglich gewesen wäre.

Für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes gilt mein Dank Herrn Univ.-Prof. Dr. med. B. Gänsbacher, Direktor des Instituts für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen Universität München.

Einen besonders großen Dank möchte ich Dr. med. F. Eyer aussprechen für die ständige liebevolle Betreuung und seinen Beistand, für die fachliche und psychologische Unterstützung und jederzeit freundliche Hilfe und Durchsicht bei meiner Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt für die Vermittlung der Dissertation, die geduldige und liebevolle Unterstützung, besonders in den Anfängen des Experiments, die freundliche und sorgfältige Durchsicht der Arbeit und die jederzeit freundliche und geduldige Unterstützung.

Genauso herzlich möchte ich mich bei Frau P.D. Dr. med. vet. J. Henke für die große Hilfeleistung und der jederzeit freundlichen Beratung zu allen Fragen bedanken.

Ganz besonders möchte ich Frau H. Neuberger danken, die jederzeit zu meiner Seite stand, mich tatkräftig unterstützte und der ich eine unvergessliche Zusammenarbeit verdanke.

Für die fachkundige Zubereitung und seine Hilfe bei der Versuchssubstanz möchte ich mich bei Herrn Dipl. chem. T. Poethko, aus der Nuklearmedizinischen Klinik und Poliklinik des Rechts der Isar, bedanken.

## DANKSAGUNG

---

Ganz besonders möchte ich mich bei Frau Pohlheimer und Frau Hertel für die nette Zusammenarbeit und ihre Unterstützung während unserer Experimente bedanken.

Mein Dank gilt auch Dipl. math. R. Busch vom Institut für medizinische Statistik und Epidemiologie der TU-München, die in allen statistischen Fragen stets ein offenes Ohr hatte.

Zudem möchte ich den Mitarbeitern und Doktoranden des Zentrums für Präklinische Forschung danken, besonders, Dr. rer. nat. A. Steger für seine Unterstützung in allen „radioaktiven“ Fragen und den Tierpflegern, stellvertretend Roswitha Bergmeyer für die gute Betreuung unserer Versuchsratten und stete Hilfsbereitschaft.

Zum Schluss möchte ich noch den wichtigsten Menschen in meinem Leben danken, meinen Eltern, meinem Bruder und meinen Freunden, für ihre liebevolle Geduld, Hilfe und immerwährende Unterstützung, die mir sehr viel bedeutet hat.

Vielen lieben Dank.

## 12 LEBENS LAUF

**Nicole Jung**  
**geboren am 15.12.1976 in Siegen,**  
**wohnhaft in München.**

### **Schul Ausbildung:**

1983 bis 1987	Grundschule Maria Homscheidt, Herdorf
1987 bis 1990	Gymnasium auf dem Rasberg, Neunkirchen
1990 bis 1997	Gymnasium auf der Morgenröthe, Siegen
03.06.1997	Allgemeine Hochschulreife

### **Studium:**

1997 bis 2004	Studium der Veterinärmedizin an der Ludwigs-Maximilians-Universität, München
09.03.2004	Abschluss durch das 3. Staatsexamen
02.04.2004	Approbation zur Tierärztin

### **Promotion:**

WiSe 2004/2005 bis SoSe 2007	Promotionsstudium im Zentrum für Präklinische Forschung des Klinkums Rechts der Isar, der Technischen Universität München.
---------------------------------	---

### **Beruf:**

Seit 02.2006	beschäftigt als Mitarbeiterin in der Fachpraxis für Tierpathologie Dr. W. von Bomhard & Dr. S. Pfleghaar.
--------------	--