

## Biologische und arzneimittelrechtliche Hinweise zur diagnostischen Anwendung einer 5%igen Kreatinin-Lösung als renalen Funktionstest bei Kleintieren

Mit Hilfe der körpereigenen und harnpflichtigen Substanz „Kreatinin“ lässt sich mit einem pharmakokinetischen Modell der exogenen Kreatinin-Clearance die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) bei Hund und Katze bestimmen. Für die Durchführung unserer modifizierten exogenen Kreatinin-Clearance zur GFR-Bestimmung muss der Marker Kreatinin in der Dosierung von 2 g/m<sup>2</sup> Körperoberfläche i. v. oder s. c. an die Patienten verabreicht werden. Als vorteilhafte Lösung hat sich die 5 %ige Kreatinin-Lösung (5 g Kreatinin/100 ml Aqua ad.inj.) herausgestellt.

Einmal hergestellte diagnostische 5 %ige Kreatinin-Lösung darf **nicht eingefroren** werden. Beim Einfrieren bilden sich größere Kristalle, die nach dem Auftauen nicht wieder in Lösung gehen. Sollte die Kreatinin-Lösung versehentlich durch einen Lagerungsfehler (Kühlschrank zu kalt eingestellt etc.) eingefroren worden sein, so ist sie zu verwerfen. Ebenso ist die Kreatinin-Lösung nicht stark **zu erhitzen**. Ansonsten kommt es an der organischen Substanz zu möglichen Strukturveränderungen. Nachfolgend wäre das Kreatinin nicht mehr als diagnostischer Marker im tierischen Organismus einsetzbar.

### 1. *Metabolische Angaben zum Kreatinin*

Kreatinin im Blutplasma stammt vom Kreatin aus den Muskelzellen. Sowohl das freie Kreatin als auch das Kreatinphosphat besitzen wesentliche Bedeutung für den Energiestoffwechsel der Muskelzellen, die Regulation des Säuren-Basen-Status und vermutlich die Proteinsynthese im Körper (Murphy et al., 2001). In der Muskulatur findet die Umwandlung von Kreatin in Kreatinin als irreversible Reaktion statt. Ins Blut gelangte Kreatinin ist ein Stoffwechselendprodukt und wird als harnpflichtige Substanz über die Nieren eliminiert. Bei allen Säugetierspezies wird Kreatinin frei ultrafiltriert und erscheint im Primärharn mit gleicher Konzentration wie im Plasma. Die täglich im Organismus gebildete Kreatininmenge steht im engen Zusammenhang mit der Muskelmasse und ist ansonsten kaum von extrarenalen Faktoren abhängig (Finco, 1989). Somit wird Plasma-[Kreatinin] entscheidend von der renalen Ausscheidung, d. h. der glomerulären Filtration, geprägt. Dieser Umstand kann für eine diagnostische Bestimmung der Nierentätigkeit (GFR) genutzt werden.

### 2. *Biologische Wirkungen nach Gabe der 5%igen Kreatinin-Lösung an Tiere*

Die applizierte 5 %ige Kreatinin-Lösung verteilt sich sofort im Extrazellularraum des Tieres. Niedermolekulares Kreatinin überwindet das Kapillarendothel problemlos mittels einfacher Diffusion, so dass in diesem Fall eine durchblutungslimitierte Verteilung im Körper existiert. Aufgrund dieser Verhältnisse kann eine **Volumenbelastung** als Folge der Gabe von Kreatinin-Lösung in vorgeschriebener Dosierung **ausgeschlossen** werden.

Nach umfangreichen Studien der freien Uni Berlin lässt sich zusammenfassend feststellen, dass durch die osmotische Wirksamkeit des Kreatinins nach Zugabe des extrem hypoosmolaren Aqua ad inj. die diesbezüglichen Warnhinweise auf den Abpackungen der Injektionsflüssigkeit gegenstandslos werden. Weiterhin bewirkt die leicht hyperosmolare 5 %ige Kreatinin-Lösung nach Applikation und Verteilung im Organismus **keine nennenswerten osmotischen Imbalancen**.

Kreatinin ist im Körper ein Endprodukt des Muskelzellstoffwechsels, welches extrazellulär im  $\mu\text{mol}$ -Bereich je l vorkommt und über die Nieren ausgeschieden wird. Es gilt klinisch als **nichttoxisch**. Seine  $\text{LD}_{50}$  beträgt bei Mäusen  $>9000 \text{ mg/kg KM}$  (Sicherheitsdatenblatt der Fa. DSM Fine Chemicals Nfg GmbH & Co. KG vom 02.05.2001). Im Vergleich dazu ergeben sich bei der Dosierung während der modifizierten exogenen Kreatinin-Clearance folgende Werte: Kreatinin-Dosis von  $2 \text{ g/m}^2$  bedeutet  $2000 \text{ mg/32 kg}$  ( $=1,01 \text{ m}^2$ ) oder  $62,5 \text{ mg/kg KM}$ . Die vorgeschriebene Anwendung der 5%igen Kreatinin-Lösung als Diagnostikum bedeutet also **keinerlei toxische Gefahr** für den Tierpatienten. Außerdem sind für Kreatinin keine primären Reizwirkungen an der Haut oder am Auge sowie keine sensibilisierende Wirkungen bekannt.

Bei hochgradig nierenkranken (urämischen) Patienten mit stark reduzierter GFR steigt endogenes Plasma-Kreatinin an und nachfolgend wird die Bildung der toxischen Abbauprodukte begünstigt. Wichtig dabei ist, dass die toxischen Wirkungen solcher Kreatinin-Abbauprodukte erst durch länger dauernde Einwirkungen (Tage, Wochen) dieser Stoffe zu Stande kommen. Im Fall der diagnostischen Durchführung der modifizierten exogenen Kreatinin-Clearance ist das zugeführte Kreatinin auch bei nierenkranken Patienten innerhalb weniger Stunden vollständig eliminiert. Demzufolge ist nach Nutzung des renalen Funktionstests mit exogenem Kreatinin beim Patienten **keinesfalls mit einer Verschlechterung der Niereninsuffizienz zu rechnen**.

#### *4. Arzneimittelrechtliche Angaben zur 5 %igen Kreatinin-Lösung*

*Die nachfolgend aufgeführten Hinweise ergeben sich aus dem Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz (=AMG)) mit geltender Fassung vom 07.06.2002.*

Bei der 5 %igen Kreatinin-Lösung handelt es sich um ein Diagnostikum, durch dessen Anwendung eine Krankheit, ein Leiden oder ein Körperschaden erkannt werden kann. Damit ist die diagnostische 5 %ige Kreatinin-Lösung nach § 2 des AMG ein Arzneimittel, das den Bestimmungen dieses Gesetzes unterliegt.

Nach § 13 (1) AMG bedarf es für die Herstellung von Arzneimitteln (AM) einer Erlaubnis der zuständigen Behörde. **Eine Ausnahme stellt nach § 13 (2) AMG die Herstellung von AM durch einen Tierarzt im Rahmen des Betriebs einer tierärztlichen Hausapotheke dar**, die ausschließlich für den Verkehr außerhalb von Apotheken freigegebene Stoffe oder Zubereitungen aus solchen Stoffen enthalten.

Entsprechend der „Verordnung über apothekenpflichtige und freiverkäufliche Arzneimittel vom 12.11.1988“ ist **Kreatinin kein Arzneimittel im therapeutischen Sinn und somit auch nicht apothekenpflichtig.**

**Nach § 21 (2) bedarf es keiner Zulassung für AM, die für Einzeltiere oder Tiere eines bestimmten Bestandes in tierärztlichen Hausapotheken hergestellt werden. Demzufolge ist der Tierarzt berechtigt, für die diagnostische Anwendung an den vom ihm behandelten Tieren die Kreatinin-Lösung herzustellen und einzusetzen.**

Innerhalb der letzten 3 Jahre wurden in vier verschiedenen europäischen Ländern (Deutschland, Österreich, Schweiz und Niederlande) der renale Funktionstest vom tierärztlichen Fachpersonal vor Ort an  $>500$  Hunden und  $>300$  Katzen durchgeführt. In keinem Fall ergaben sich Unverträglichkeitsreaktionen der diagnostisch eingesetzten 5 %igen Kreatinin-Lösung.

Festzustellen bleibt, dass nach § 9 AMG derjenige als Verantwortlicher gilt, der das Arzneimittel oder in unserem Fall das Diagnostikum in den Verkehr bringt. Obwohl nach fachlich-wissenschaftlichen Erwägungen beim Einsatz der 5 %igen Kreatinin-Lösung in vorgeschriebener Dosierung nicht mit nachweisbaren Nebenwirkungen zu rechnen ist, bleibt - wie bei jeder anderen veterinärmedizinischen Intervention an Tieren auch - ein quantitativ nicht zu bezifferndes minimales Restrisiko bestehen. Wer sich vor diesem Restrisiko schützen möchte, sollte vom Tierhalter die **Einverständniserklärung** vor Beginn des diagnostischen Verfahrens unterschreiben lassen.

# **Anleitung zur Durchführung der modifizierten Plasma-Clearance von exogenem Kreatinin und Interpretationshilfe**

## **Vorbemerkungen**

Die Beurteilung der Filtrationsleistung der Nieren (=glomeruläre Filtrationsrate, =GFR) basiert auf der Ausscheidungsgeschwindigkeit der exogen zugeführten Markersubstanz Kreatinin aus dem Blutplasma (= Plasma-Clearance von exogenem Kreatinin, bzw. P-CL\_Kreatinin, *exo*). Dabei wird nur die terminale Phase der Ausscheidung, nach weitgehendem Abschluss aller Verteilungsvorgänge im Organismus, berücksichtigt. Um funktionsdiagnostische Aussagen aus den Laborbefunden abzuleiten und um die Vergleichbarkeit mit den Referenzwerten zu gewährleisten, müssen die folgenden Voraussetzungen zur korrekten Berechnung der Plasma-Clearance-Kreatinin, *exo* erfüllt sein.

- Die Tiere müssen >6 h vor Beginn des renalen Funktionstests nüchtern sein, Wasserzufuhr vor und während der Durchführung ist anzustreben.
- Eine gleichzeitige Dauertropfinfusion in der Menge etwa des Erhaltungsbedarfs des Tieres (40-70 ml/kg/d) hat keinen Einfluss auf das Ergebnis der Clearance-Bestimmung. Über den Einfluss von Medikamentengaben auf die Werte der P-CL\_Kreatinin, *exo* liegen bisher keine Erfahrungswerte vor.
- Die korrekte Dosierung von 2 g Kreatinin/m<sup>2</sup> Körperoberfläche (=KOF) sollte eingehalten werden. Im Protokoll dokumentierte Über-/Unterdosierungen werden je doch in der Datenauswertung berücksichtigt.
- Für die Applikation des Markers Kreatinin sollte ein anderer venöser Zugang verwendet werden als für die Entnahme der Blutproben. Ist dies nicht möglich, so ist die Braunüle nach Applikation des Kreatinins gründlich zu spülen und vor Entnahme der ersten Blutprobe ist eine genügend große Menge Blut zu verwerfen. Alternativ kann die exogene Kreatinin-Lösung auch subkutan appliziert werden.
- Es sollen 3 Proben *p. appl.* entnommen werden. Die Berechnung der P-CL\_Kreatinin, *exo* ist auch mit nur 2 Proben *p. appl.* möglich; jedoch entfällt in diesem Fall die Validierung der Werte.

Die erste Blutprobe *p. appl.* sollte frühestens 3 h nach der Kreatinin-Applikation entnommen werden. Der beste Zeitraum zur Entnahme der 3 Blutproben ist 4-9 h *p. appl.*

Der Zeitraum zwischen der Entnahme der Blutproben 1-3 sollte mindestens 1 h betragen.

Die Entnahmezeitpunkte müssen exakt (Minutengenau) dokumentiert sein. Je geringer der zeitliche Abstand der Blutproben, umso größere Bedeutung hat die exakte Zeitdokumentation. In der Praxis wird hierzu am besten zum Zeitpunkt der Applikation des exogenen Kreatinins an das Tier ein Wecker mit Digitalanzeige der Uhrzeit eingeschaltet. Danach können die Entnahmezeitpunkte der folgenden 3 Blutproben mühelos und sehr exakt abgelesen werden. Als eine Plausibilitätskontrolle des renalen Funktionstests gilt, dass die Serumkreatininwerte der Proben 1-3 in ihren Konzentrationen absteigend sein müssen. Außerdem müssen die Serumkreatininwerte der Proben 1-3 deutlich über der Konzentration des endogenen Kreatinins zum Zeitpunkt 0 vor Applikation des Markers liegen (letzte Probe 3 möglichst > 2 x endogenes Serumkreatinin).

### **Tabellenblatt: ‚Protokollbogen‘**

In dieses Tabellenblatt sind alle relevanten Informationen zum Patienten und zur Durchführung der PI-CI\_Kreatinin, exo in der tierärztlichen Praxis/Klinik einzutragen und nach Fertigstellung mit den Proben einzusenden.

- *Datum* der Einsendung
- *Besitzer* des Tieres
- *Name, Geburtsdatum und Rasse des Tieres*
- *Körpermasse* des Tieres
- *appl. Kreatinin-Dosis* (in ml 5%iger Lösung)
- *Uhrzeit* der Probenahmen

In die Felder der Zeile „Uhrzeit“ sind die exakten Uhrzeiten (hh:mm) der Applikation des Kreatinins sowie der Entnahme der Proben 1-3 einzutragen.

### **Befundbogen (erhalten Sie nach Fertigstellung der Kreatinin-Clearance von LABOKLIN)**

Aus dem Befundbogen ersehen Sie, anhand der zwei Diagramme die GFR mit ausführlichem Interpretationstext. Um die Güte der Anpassung der exponentiellen Regressionsgeraden an die drei Messwerte zu beurteilen, wird im linken Diagramm das Bestimmtheitsmaß der Regression ( $R^2$ ) angegeben. Im Idealfall beträgt dieser Wert  $R^2 = 1$ . Bei  $R^2 > 0,9800$  kann in der Regel bedenkenlos die GFR-Abschätzung auf der Grundlage aller drei Messwerte erfolgen. Bei  $0,9500 < R^2 < 0,9800$  sollte die Plausibilität des berechneten GFR-Wertes anhand aller drei Messwerte durch Bewertung weiterer Parameter der Nierenfunktion kritisch geprüft werden. Bei  $R^2 < 0,9500$  ist es meist sinnvoll, die GFR-Abschätzung nur basierend auf zwei Messwerten vorzunehmen. Ggf. sollte der Test in angemessener Zeit wiederholt werden.

## Renaler Funktionstest: Protokollbogen

(bitte ausgefüllt an LABOKLIN zurücksenden)

Einsender:  
(Stempel)

Datum der Probenentnahme:

### Angaben zum Tier

Besitzer:	Geschlecht:
Tierart/Rasse:	Geburtsdatum/Alter:
Name des Tieres:	Körpermasse:
Diagnose/Verdachtsdiagnose:	

### Entnahme der Blutproben zur Bestimmung von Serum-[Kreatinin]

Proben-Nr.	Zeit post appl. (min)	Tatsächliche Uhrzeit	Gemessene Serum-[Kreatinin]	Bemerkungen
0	vor Applikation			
	0		Injizierte Kreatininlösung (5%ig): .....ml	
1				
2				
3				

#### *Ergänzende Labor-Daten (optional)*

<i>Blut</i>	Hct	
	Serum-[Protein]	
<i>Harn</i>	Dichte/Osmolalität	
	Harn-[Protein]	
	Harn-[Kreatinin]	
	Sediment	

#### Bemerkungen

### Renaler Funktionstest

Dosierung von 5%iger Kreatininlösung zur Bestimmung der modifizierten Plasma-Clearance von exogenem Kreatinin (Dosis: 2 g Kreatinin/m<sup>2</sup> KOF)

kg KM	m <sup>2</sup> KOF	ml Kreatinin 5%
1,6	0,14	5,5
1,8	0,15	5,9
2	0,16	6,3
3	0,21	8,3
4	0,25	10,1
5	0,29	11,7
6	0,33	13,2
7	0,37	14,6
8	0,40	16,0
9	0,43	17,3
10	0,46	18,6
11	0,49	19,8
12	0,52	21,0
13	0,55	22,1
14	0,58	23,2
15	0,61	24,3
16	0,63	25,4
17	0,66	26,4
18	0,69	27,5
19	0,71	28,5
20	0,74	29,5
21	0,76	30,5
22	0,79	31,4
23	0,81	32,4
24	0,83	33,3
25	0,85	34,2
26	0,88	35,1
27	0,90	36,0
28	0,92	36,9
29	0,94	37,8
30	0,97	38,6
31	0,99	39,5
32	1,01	40,3
33	1,03	41,2
34	1,05	42,0
35	1,07	42,8
36	1,09	43,6
37	1,11	44,4

kg KM	m <sup>2</sup> KOF	ml Kreatinin 5%
38	1,13	45,2
39	1,15	46,0
40	1,17	46,8
41	1,19	47,6
42	1,21	48,3
43	1,23	49,1
44	1,25	49,9
45	1,27	50,6
46	1,28	51,4
47	1,30	52,1
48	1,32	52,8
49	1,34	53,6
50	1,36	54,3
51	1,38	55,0
52	1,39	55,7
53	1,41	56,4
54	1,43	57,1
55	1,45	57,8
56	1,46	58,5
57	1,48	59,2
58	1,50	59,9
59	1,52	60,6
60	1,53	61,3
61	1,55	62,0
62	1,57	62,7
63	1,58	63,3
64	1,60	64,0
65	1,62	64,7
66	1,63	65,3
67	1,65	66,0
68	1,67	66,6
69	1,68	67,3
70	1,70	68,0
71	1,72	68,6
72	1,73	69,2
73	1,75	69,9
74	1,76	70,5
75	1,78	71,1

KM = Körpermasse in kg; KOF = Körperoberfläche in m<sup>2</sup>. Formel: KOF (m<sup>2</sup>) = 0,1 · KM<sup>0,667</sup> (kg)

## Tabelle 1 Durchführung des renalen Funktionstests bei Hunden bzw. Katzen

**Ansetzen der 5% igen Kreatininlösung:** Mit einer sterilen Einmalkanüle 100 ml Aqua ad.inj. in die, von LABOKLIN angeforderte Kreatininf flasche (enthält 5 gr. Kreatinin in DAB Qualität) einbringen und bei Raumtemperatur unter mehrmaligem Schwenken lösen. **Achtung:** Aufgrund des langsamen Lösens des Kreatininpulvers ca. 10-12 Std. vor Gebrauch ansetzen. Kreatininlösung im Kühlschrank bei 5-7°C lagern. Nicht stark erhitzen oder einfrieren! Haltbarkeit: 4 Monate

<b>Ablauf</b>	<b>Zeit (Std.) <i>p. appl.</i></b>	<b>Testdurchführung</b>	<b>Bemerkungen</b>
<i>Patienten- vorbereitung</i>		- Nahrungskarenz über mindestens 6 h - Trinkwasser ad libitum (auch während der Testdurchführung)	Test parallel zu einer Dauertropfinfusion durchführbar
<i>Funktions- test</i>	0	- Entnahme der <b>Probe 0</b> (=Ausgangswert) - Kreatiningabe i.v. oder s.c. oder oral - Einschalten einer Stoppuhr mit Digitalanzeige zur exakten Feststellung der Zeitpunkte der Probenentnahmen 1 bis 3	<u>Dosis (siehe a):</u> 2g/m <sup>2</sup> KOF als 5%ige Lösung (50 mg/ml) i.v. oder s.c. oder 4g/m <sup>2</sup> KOF peroral
	3 . . . . . 8	- früheste Entnahme der Probe 1  In diesem Zeitfenster kann die Entnahme der <b>Proben 1, 2 und 3</b> erfolgen. Dabei können die Entnahmezeitpunkte den organisatorischen Abläufen in der Praxis angepasst werden. Der Zeitabstand zwischen den Probenentnahmen muss mindestens 1 h betragen. - späteste Entnahme der Probe 3	<u>Wichtig:</u> Die Zeitangabe der Probenentnahmen muss minutengenau (!) in den Protokollbogen eingetragen werden. <u>Achtung:</u> Für die Abnahme und die Injektion nicht gleichen Zugang verwenden
<i>Auswertung</i>		Einsenden der Proben zu LABOKLIN <sup>b</sup> ; Einsender erhält ermittelte Labordaten in einem Befundbogen zugesandt.	<u>Labor (siehe b):</u> Bestimmung der Serum-Kreatininwerte und Berechnung der GFR

<sup>a</sup> Das Kreatinin kann bei Verdopplung der Dosierung auf 4 g/m<sup>2</sup> KOF auch oral verabreicht werden. Hierzu ist das bezogene Kreatininpulver vorteilhaft in Tablettenform (Apotheke) zu bringen (s. HARTMANN et al. (2006), Berliner Münch. Tierärztl. Wochenschrift 119: 62-67).

<sup>b</sup> Eine Tabelle zur Umrechnung von Körpermasse (kg) in Körperoberfläche (m<sup>2</sup>), Protokollbögen für die Testdurchführung sowie Kreatininpulver zur eigenen Herstellung der applikationsfähigen Kreatininlösung sind beziehbar über: LABOKLIN, 97688 Bad Kissingen, Steubenstr.4, Tel.:0971/72020, Fax: 0971/68546 E-Mail: service@laboklin.de

**Table 2** Indikationen zur Anwendung des renalen Funktionstests bei Hunden bzw. Katzen

1	<b>Verdacht auf renale Malfunktion:</b> Erfassung subklinischer Funktionsstörungen bei nichtazotämischen Tieren
2	Vorsorge-Untersuchung älterer Tiere („ <b>Geriatric-Check</b> “): Rechtzeitige Erkennung verminderter renaler Ultrafiltration, z. B. beginnendes CNV und damit frühzeitige Einleitung von Behandlungsmaßnahmen
3	bei <b>vermuteter Rassedisposition</b> für CNV: Untersuchung auch junger Tiere zum Nachweis physiologischer oder (subklinisch) pathologischer Nierentätigkeit
4	bei <b>nachgewiesener(n) morphologisch veränderter(n) Niere(n)</b> , wie Organverkleinerung/-vergrößerung, Zysten u. a. Ermittlung der funktionellen Relevanz der festgestellten Strukturveränderungen
5	bei <b>akutem Nierenversagen</b> während und besonders nach der Erkrankung zur Feststellung möglicher (bleibender) renaler Funktionseinschränkungen
6	<b>Differenzialdiagnostik:</b> Intra- und nicht mit intraluminalen Druckanstieg einhergehende postrenale Funktionsstörungen
7	bei <b>existierender renaler Malfunktion</b> , wie <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bestimmung der Intensität des akuten oder chronischen Nierenversagens mit sich daraus ableitenden Hinweisen zur Prognose des Leidens</li> <li>- Wirksamkeitskontrolle eingeleiteter Behandlungsmaßnahmen (Elektrolyt- und Flüssigkeitstherapie, Nierendiät, Medikamenteinsatz u. a.)</li> <li>- Korrektur von Dosis oder Dosierungsintervall bei Arzneimitteln mit „nierengängigen“ Wirkstoffen (Minimierung unerwünschter Reaktionen bei Überdosierung), z. B. bei Narkotika, Chemotherapeutika u. a</li> </ul>



## **Einverständniserklärung**

Hiermit erkläre ich mich damit einverstanden, dass meinem Tier „\_\_\_\_\_“ zu diagnostischen Zwecken der Untersuchung von Nierenfunktionen eine 5%ige Kreatinin-Lösung verabreicht wird.

Bei dieser Lösung handelt es sich um eine Zubereitung, die nach den Regeln der pharmakologischen Wissenschaft hergestellt wurde und deren Verträglichkeit an einer Vielzahl von Tieren belegt ist (Stand: 02/2007: >500 Hunde, >300 Katzen). Außer dem diagnostischen Befund stelle ich keine weiteren Forderungen nach Einsatz dieses Diagnostikums.

.....

Datum und Unterschrift