

6. Zusammenfassung

Vergleichende Untersuchung zur enzymatischen Resorptionsbeschleunigung von subkutan appliziertem Xylazin und Ketamin am isoliert perfundierten Rindereuter

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob eine vergleichende Untersuchung zur enzymatischen Resorptionsbeschleunigung von subkutan appliziertem Xylazin und Ketamin am isoliert perfundierten Rindereuter durchgeführt werden kann. Bei den verwendeten Enzymen handelte es sich um eine testikuläre Hyaluronidase, zwei biotechnologisch gewonnene Hyaluronatlyasen und eine biotechnologisch gewonnene Kollagenase. Die Euter stammten von gesunden Schwarzbunten Schlachtkühen, welche mit erwärmter, begaster Tyrodelösung perfundiert wurden. Die aus Bakterien isolierten Enzyme sind bisher noch nicht *in vivo* eingesetzt worden und sollten daher erst an diesem *In-vitro*-Modell auf ihre Wirksamkeit hin überprüft werden.

In der Wildtierimmobilisation ist die rasche Anflutung der Wirkstoffe innerhalb der ersten Minuten entscheidend. In Hinblick auf einen Einsatz des sich am wirkungsvollsten erweisenden Enzyms in der Wildtierimmobilisation wurde Xylazin und Ketamin in hochkonzentrierter Form als Hellabrunner Mischung (1 ml enthält 125 mg Xylazin und 100 mg Ketamin) verwendet.

Jeweils 2 ml der Anästhetikamischung wurden subkutan ohne und mit den verschiedenen Resorptionsbeschleunigern am isoliert perfundierten Rindereuter appliziert. Im Versuchszeitraum von 240 Minuten wurden innerhalb der ersten 10 Minuten alle 2 Minuten und im weiteren Verlauf alle 15 beziehungsweise 30 Minuten Perfusatproben gesammelt. Der Nachweis der Wirkstoffe erfolgte mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit UV-Detektion.

Auch ohne Zusatz eines Resorptionsbeschleunigers sind Xylazin und Ketamin in geringen Mengen bereits nach 2 Minuten im Perfusat nachweisbar. Doch alle Enzymzusätze hatten eine positive Auswirkung auf die Anflutungsgeschwindigkeit und Höhe der insgesamt resorbierten Wirkstoffmenge. Nach Zusatz von 150 I.E. der testikulären Hyaluronidase kam es innerhalb der ersten 10 Minuten zu keiner signifikant höheren Anflutung der Anästhetikamenge im Perfusat und erst nach 30 Minuten Perfusionszeit wurde hochsignifikant mehr Wirkstoff resorbiert als in der Kontrollgruppe.

Die beiden bakteriellen Hyaluronatlyasen zeigten dagegen innerhalb der ersten Minuten deutlich stärkere Auswirkungen auf die Resorptionsgeschwindigkeit von Xylazin und Ketamin. So wurde mit Zusatz von 150 I.E. der Hyaluronatlyase B aus *Streptococcus equisimilis* bereits nach 2 Minuten signifikant und in der 10. Minute hochsignifikant mehr Wirkstoff ins Blutgefäßsystem aufgenommen als in der Kontrollgruppe. Bei der Hyaluronatlyase A aus *Streptococcus agalactiae* war der Gehalt an Xylazin ab der 2. Minute, der Gehalt an Ketamin ab der 6. Minute signifikant erhöht. Im weiteren Versuchsverlauf wurde Ketamin ab der 15. Minute und Xylazin ab der 30. Minute hochsignifikant gesteigert ins Perfusat resorbiert.

Der ins Perfusat resorbierte Wirkstoffgehalt war mit Zusatz von 1,2 I.E der Kollagenase aus *Clostridium histolyticum* sowohl für Ketamin und als auch für Xylazin am größten; so war der Gehalt beider Wirkstoffe im Perfusat bereits nach 2 Minuten hochsignifikant und für Ketamin ab der 15. Minute und für Xylazin ab der 30. Minute sogar höchstsignifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Über den gesamten Resorptionszeitverlauf von 240 Minuten betrachtet, lag die insgesamt resorbierte Menge an Ketamin in der Gruppe der Hyaluronatlyase B aus *Streptococcus equisimilis* (29,9 mg) nur knapp über dem Wirkstoffgehalt in der Gruppe der testikulären Hyaluronidase (25,78 mg). In der Gruppe der Hyaluronatlyase A aus *Streptococcus agalactiae* wurde ab der 45. Minute die Resorption der Anästhetika nochmal deutlich gesteigert (42,26 mg), dennoch wurde durch Zusatz der Kollagenase fast doppelt soviel Ketamin in das Perfusat resorbiert (77,95 mg; Abb. 18 u. 19, Seite 89, 90). Die Anflutung von Xylazin wurde durch die einzelnen Enzymzusätze in ähnlicher Weise beeinflusst, nur war durch die höhere Dosierung auch ein höherer Wirkstoffgehalt im Perfusat nachzuweisen.

Für einen Einsatz in der Wildtierimmobilisation wären sowohl die Hyaluronatlyase B als auch die Kollagenase, eventuell als Enzymkombination, denkbar, weil durch diese Enzyme die Resorption der Wirkstoffe innerhalb der ersten Minuten besonders stark beschleunigt wurde. Somit hat sich das isoliert perfundierte Rindereuter als geeignet erwiesen, eine erste Aussage über die Wirksamkeit der getesteten Enzyme zu machen; unabhängig von *in vivo* auftretenden störenden Einflußfaktoren. Die in dieser Untersuchung gewonnenen Ergebnisse müssen in fortgeführten Studien im Einsatz am Tier bestätigt werden.

7. Summary

Carola Anne Greta Groß

Comparative studies concerning the enzymatic absorption acceleration of subcutaneously administered xylazine and ketamine in the isolated perfused bovine udder

The aim of the presented study was to examine, whether the enzymatic acceleration of subcutaneously administered xylazine and ketamine can be accessed in the isolated perfused bovine udder. Mammary glands from healthy slaughtered German Black Pied cows were perfused with warmed and gassed Tyrode solution.

The tested enzymes were a testicular hyaluronidase, two bacterial hyaluronatlyases and a bacterial collagenase. The enzymes of bacterial origin had not been used *in vivo* so far and therefore first had to be tested for their effectiveness in the *in vitro*-model.

In wildlife immobilisation onset of anaesthesia within few minutes is very important. Looking for the most effective enzyme with respect to distance immobilisation the high concentrated solution known as Hellabrunner Mixture (1 ml contains 125 mg xylazine and 100 mg ketamine) was used in this study. Two millilitres of this anaesthetic combination was administered subcutaneously with or without addition of the different enzymes to isolated perfused udders. During the first 10 minutes, every two minutes and furtheron in intervals of 15 and 30 minutes perfusate samples were gained. The concentration of xylazine and ketamine was analysed by high pressure liquid chromatography with UV detection.

Without addition of any enzyme low concentrations of xylazine and ketamine were measurable during the first 10 minutes. Nevertheless all enzymatic additions had a positive influence on the speed of absorption of the drugs to the perfusate. Though addition of 150 I.U. of testicular hyaluronidase, there is no significant increase within the first 10 minutes, the content of xylazine and ketamine in the perfusate is significantly higher compared to the control group after 30 minutes.

Within the first minutes the two hyaluronatlyases had a greater influence on the speed of absorption from subcutaneous tissue. By addition of 150 I.U. of the hyaluronatlyase B from

Streptococcus equisimilis xylazine and ketamine are significantly higher concentrated in the perfusate after 2 minutes.

The hyaluronatlyase A from *Streptococcus agalactiae* facilitated a significantly increased absorption for xylazine after 2 minutes and for ketamine after 6 minutes; after 30 minutes the absorption of both drugs is significantly enhanced. The areas under the absorption-time curve for xylazine and ketamine were greatest after addition of 1.2 I.U. of collagenase from *Clostridium histolyticum*; the content of both drugs in the perfusate was significantly increased after 2 minutes, for ketamine after 15 and for xylazine after 30 minutes the concentration differed significantly compared to the control group.

After 240 minutes the mean amount of absorbed ketamine is only slightly higher (29.9 mg) in the group of the hyaluronatlyase B from *Streptococcus equisimilis* than in the group with the testicular hyaluronidase (25.78 mg). With the hyaluronatlyase A from *Streptococcus agalactiae* there is a clear increase of anaesthetics in the perfusate after 45 minutes that reaches 42.26 mg within the same time. The collagenase increases the absorption of xylazine and ketamine to 77.95 mg in the perfusate. The absorption of xylazine is influenced in a similar way with the concentration being higher in the perfusate due to the higher dosage.

For use in wildlife immobilisation the hyaluronatlyase B as well as the collagenase, or maybe a combination of them seems to be suitable, because the absorption of active substances within the first minutes is highly accelerated. The isolated perfused bovine udder is useful to make a first statement concerning the effectiveness of the tested enzymes. The results found in this study have to be asured in *in vivo* studies.