

6. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Untersuchung war es, anhand der mit einem Anti-Faktor-Xa (FXa)-Test ermittelten Heparinplasmaaktivität für das unfraktionierte Na-Heparin (UFH) Liquemin® pharmakokinetische Daten für den Hund zu ermitteln. Bei der intravenösen Verabreichung erhielten jeweils 5 gesunde, nüchterne adulte Hunde der Rasse Beagle 25, 50 bzw. 100 I.E./kg KGW UFH. Blutproben wurden vor Heparin-gabe und 2, 5, 10, 15, und 30 Minuten sowie 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 Stunden nach Heparin-gabe genommen. Subkutan wurden 250, 500 oder 750 I.E./kg KGW verabreicht. Blutproben wurden hier vor Heparin-gabe und 10, 15 und 30 Minuten sowie 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 und 24 Stunden nach Heparin-gabe genommen.

Weiterhin wurde fünf Beagles jeweils sechsmal im Intervall von acht Stunden 500 I.E./kg UFH subkutan injiziert. Jeweils fünf andere Beagle bekamen sechsmal UFH in der gleichen Dosierung im Abstand von 12 Stunden verabreicht. Die Blutentnahmen erfolgten hier jeweils unmittelbar vor Heparin-gabe und zum Zeitpunkt der höchsten Heparinaktivität vier Stunden nach Heparin-gabe.

Neben der Heparinplasmaaktivität wurden folgende Meßgrößen untersucht: die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT), die Thrombinzeit, die Reaktionszeit des Resonanzthrombogramms (RTG-r) (nicht bei den Versuchen mit wiederholter Applikation), die Antithrombin-III-Aktivität, die Thrombozytenzahl und der Hämatokrit.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Zwei Minuten nach der intravenösen Injektion von 25, 50 oder 100 I.E./kg KGW wurde ein Heparinplasmaspiegel von $0,65 \pm 0,15$, $0,91 \pm 0,10$ oder $1,94 \pm 0,22$ I.E./ml (arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung) gemessen. Die kurze errechnete terminale Halbwertszeit (t_{50}), die dosisabhängig zwischen 22 und 40 Minuten lag, brachte das rasche Absinken des Heparinplasmaspiegels nach intravenöser Injektion zum Ausdruck. Die totale Clearance (Cl_{tot}) lag nach Gabe von 25 I.E./kg mit $1,32 \pm 0,45$ ml/min/kg tendenziell höher als nach Applikation von 50 I.E./kg ($0,93 \pm 0,20$ ml/min/kg) und nach 100 I.E./kg ($1,08 \pm 0,43$ ml/min/kg). Das scheinbare Verteilungsvolumen lag im Mittel bei 39 - 54 ml/kg.

Maximale Heparinplasmaaktivitäten (C_{max}) wurden nach subkutaner Verabreichung von UFH nach etwa 4 Stunden gemessen. Sie betragen nach Injektion von 250 I.E./kg $0,25 \pm 0,10$ I.E./ml, von 500 I.E./kg $0,60 \pm 0,15$ I.E./ml und nach Verabreichung von 750 I.E./kg $1,29 \pm 0,24$ I.E./ml. Im Vergleich zu intravenös verabreichtem UFH ergab sich eine deutlich längere t_{50} im Mittel zwischen 3,5 und 5,5 Stunden. Mit steigender Heparindosierung verminderte sich die Cl_{tot} von $2,08 \pm 0,73$ ml/min/kg (250 I.E./kg) auf $0,83 \pm 0,27$ ml/min/kg (750 I.E./kg). Die Anflutungshalbwertszeit von subkutan verabreichtem UFH beim Hund, berechnet nach der Formel $\ln 2 / k_{01}$, lag nach Gabe von 250 I.E./kg bei 75 Minuten und bei 99 Minuten nach Applikation der Dosierungen 500 und 750 I.E./kg. Die näherungsweise ermittelte Bioverfügbarkeit lag für 250 I.E./kg bei 53%, für 500 I.E./kg bei 61 % und für 100 I.E./kg bei über 100 %.

Bei der Durchführung der Gerinnungstests zeigte sich, daß die APTT und die mit einer Arbeitslösung von 6 I.U./ml Thrombin gemessene Thrombinzeit zur Überwachung einer Heparintherapie geeignet sind. Die Messung der Thrombinzeit mit einer Arbeitslösung von 3 I.U./ml und die RTG-r sind nur für niedrige Heparindosierungen geeignet, da die Meßwerte bereits bei hohen therapeutischen Spiegeln nicht mehr meßbare Werte annehmen.

Aus den nach Einmaldosierung erhaltenen Meßergebnissen, ergab sich rechnerisch für die Mehrfachapplikation eine Dosierung von 500 I.E./kg alle 8 Stunden subkutan. Bei der Durchführung an 5 Hunden der Rasse Beagle zeigte sich jedoch, daß nach dieser Dosierung ein starker Anstieg der Heparinplasmaaktivität auf bis zu $1,71 \pm 0,30$ I.E./ml festzustellen war. Die daraufhin durchgeführte Studie, jeweils fünf Beagles insgesamt sechsmal 500 I.E./kg im Abstand von 12 Stunden zu verabreichen, zeigte, daß auch hier die Heparinplasmaaktivitäten bei erheblicher individueller Varianz deutlich über den angestrebten Bereich hinaus, im Mittel auf 1,15 I.E./ml anstiegen. Jeweils zwei der fünf Beagle der zwei Wiederholungsversuche wiesen starke Hämatome an der seitlichen Bauch- und Brustwand, an der die Heparinapplikation erfolgte, auf.

Die Ergebnisse der Versuche mit wiederholter Heparinapplikation zeigen, daß sich aus den pharmakokinetischen Daten nach Einzelapplikation kein einheitliches zuverlässiges Dosierungsschema für UFH beim Hund entwickeln läßt. Auch ist eine

individuelle Therapieüberwachung zwingend erforderlich. Für anschließende Studien sollte eine noch weiter reduzierte Dosierung, z.B. 400 I.E./kg ab der zweiten Injektion, eingesetzt werden.

7. Summary

Christina Jacobs

Pharmacokinetics of an unfractionated heparin (Liquemin®) in the dog after intravenous and subcutaneous application - effect on activated partial thromboplastin time, thrombin time, resonance thrombogram and antithrombin III activity

The aim of this study was to determine pharmacokinetic data for the unfractionated sodium heparin (UFH) Liquemin® for the dog. This was performed on the basis of heparin plasma levels which were measured by an anti-factor Xa (FXa)-test. Groups of five healthy, sober and adult beagle dogs received 25, 50 or 100 IU/kg bodyweight (BW) UFH intravenously. Blood samples were taken before and 2, 5, 10, 15 and 30 minutes as well as 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 and 12 hours after heparin application. Subcutaneously 250, 500 or 750 IU/kg BW were administered. Blood samples were taken before and 10, 15 and 30 minutes as well as 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 and 24 hours after the heparin application.

Moreover, five beagles received six doses of 500 IU/kg heparin every eight hours subcutaneously. Another group with five beagles was given six applications of the same dosage of heparin every 12 hours subcutaneously. The blood samples were taken in these cases directly before the heparin application and at the time of the maximum heparin plasma activity four hours after the heparin application.

The heparin plasma activity and the following parameters were examined: the activated partial thromboplastin time (APTT), the thrombin time (TT), the reaction time of the resonance thrombogram (RTG-r) (not in the repeated applications), the antithrombin III activity, the platelet count and the packed cell volume.

The following results were obtained:

Two minutes after intravenous application of 25, 50 or 100 IU/kg BW a heparin plasma level of 0.65 ± 0.15 , 0.91 ± 0.10 or 1.94 ± 0.22 IU/ml (mean \pm standard deviation) were measured. The short terminal half life time (t_{50}) between 22 and 44

minutes dependent on dosage, reflected the fast decrease of the heparin plasma level after intravenous application. The total clearance (Cl_{tot}) showed the highest level after application of 25 I U /kg (1.32 ± 0.45 ml/min/kg) and was 0.93 ± 0.20 ml/min/kg and 1.08 ± 0.43 ml/min/kg after application of 50 and 100 I U /kg. The apparent volume of distribution was between 39 – 54 ml/kg (mean values). Approximately four hours after subcutaneous application the maximum heparin plasma activities were determined. These values were 0.25 ± 0.10 I.U./ml after application of 250 I U /kg, 0.60 ± 0.15 I.U./ml after 500 I U /kg and 1.29 ± 0.24 I U /ml after 750 I.U./kg. In comparison to the intravenously applied heparin an increased t_{50} with mean values between 3.5 and 5.5 hours was determined. With increasing dosage of heparin the Cl_{tot} was reduced from 2.08 ± 0.73 ml/min/kg (250 I U /kg) to 0.83 ± 0.27 ml/min/kg (750 I U /kg). The induction half life time of subcutaneous applied heparin, calculated after the formula $\ln 2/k_{01}$, was 75 minutes after application of 250 I U /kg and 99 minutes after application of 500 and 750 I U /kg. The bioavailability was approximately 53 % for 250 I U /kg, 61 % for 500 I.U /kg and more than 100 % for 100 I U /kg.

The results of the coagulation tests indicated, that the APTT and also the TT, measured with a working solution of 6 I U /ml thrombin, were suitable to control heparin therapy in dogs. The TT measured with a working solution of 3 I U /ml and the RTG-r are only useful to control low-dose-heparin therapy. The results of these tests were above the measuring range in cases of high therapeutic heparin levels.

Respecting the measurement results of the single injection study a dosage of 500 I U /kg three times a day was calculated for repeated subcutaneous applications. However when testing this dosage scheme in five beagle dogs, a strong increase of heparin plasma activity up to 1.71 ± 0.30 I U /ml was measured. In the following study another five beagle dogs were treated with the same dosage but every 12 hours. Also in this case, the heparin plasma activity increased up to 1.15 ± 0.40 I U /ml and, thereby, over the therapeutic range. A distinct individual variability was found. In both of these repeated application studies two of the five beagles developed strong haematomas at the lateral bodywall of thorax and abdomen where heparin was injected subcutaneously.

The results of the studies with repeated applications show that the pharmacokinetic data after a single heparin injection cannot be used to develop an exact dosage scheme for heparin therapy in dogs. In addition, an individual monitoring is necessary. For following studies, a further reduced dosage should be used, for example 400 I.U./kg for the second and following injections.