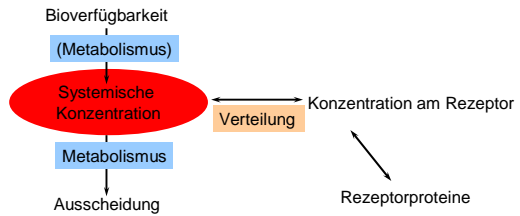


Toxikologische Bestimmungen und Medikamentenspiegel in der Begutachtung

Prof. Dr. Katharina Rentsch
 Klinische Chemie
 Universitätsspital Basel



Einflussfaktoren auf die Medikamententherapie

Pharmakokinetik

- Leberfunktion
- Nierenfunktion
- Verteilungsvolumen
- Genetik der Arzneimitteltransporter
- Genetik der metabolisierenden Enzyme
- Interaktionen

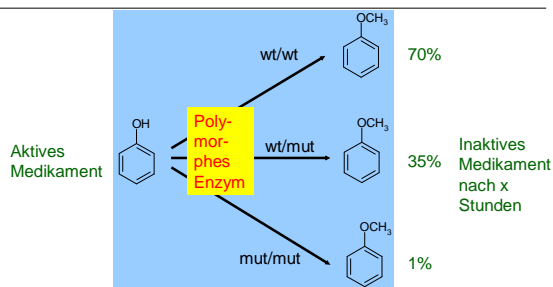
Pharmakodynamik

- Genetik der Zielsysteme

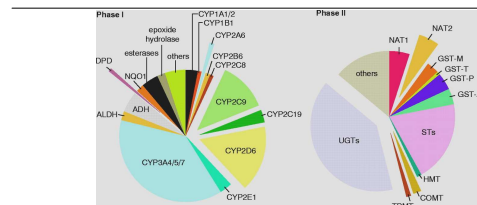
Genetischer Polymorphismus

Vorkommen von zwei oder mehr unterschiedlichen Genotypen in einer Population in Häufigkeiten, die nicht allein der Mutationsrate entsprechen

Pharmakogenetik

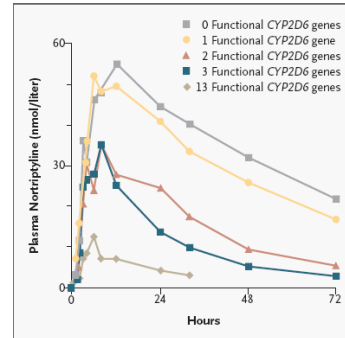
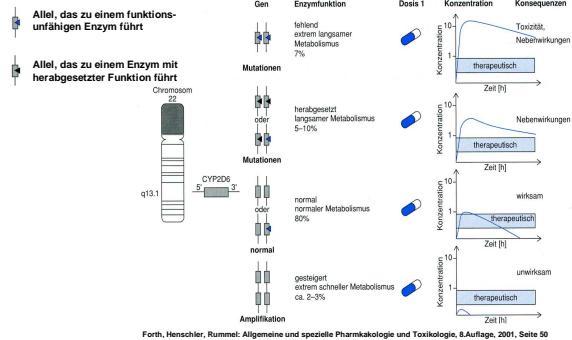


Pharmakogenetik



ADH, alcohol dehydrogenase; ALDH, aldehyde dehydrogenase; CYP, cytochrome P450; DPD, dihydropyrimidine dehydrogenase; NQO1, NADPH:quinone oxidoreductase; COMT, catechol O-methyltransferase; GST, glutathione S-transferase; HMT, histamine methyltransferase; NAT, N-acetyltransferase; STs, sulfotransferases; TPMT, thiopurine methyltransferase; UGTs, uridine 5-triphosphate glucuronosyltransferases

Auswirkungen von CYP2D6-Polymorphismen



CYP2D6 Allel - Frequenzen

TABLE 1 Major human polymorphic variant CYP2D6 alleles and their global distribution

Major variant allele*	Mutation	Consequence	Allele frequency (%)			
			Caucasians	Asians	Black Africans	Ethiopians and Saudi Arabians
CYP2D6*2A11	Gene duplication/multiduplication	Increased enzyme activity	1-5	0-2	2	10-16
CYP2D6*4	Defective splicing	Inactive enzyme	12-21	1	2	1-4
CYP2D6*5	Gene deletion	No enzyme	2-7	6	4	1-3
CYP2D6*10	P34S, S486T	Unstable enzyme	1-2	51	6	3-9
CYP2D6*17	T107L, R296C, S486T	Altered affinity for substrates	0	0	20-35	3-9

* All variant alleles are listed by the Human CYP Allele Nomenclature Committee at <http://www.imm.ki.se/cypalleles/cyp2d6.htm>.

Annu. Rev. Med. 2006. 57:119-37

Interaktionen

Interaktionen

- Alle Cytochrom P450 – Enzyme können gehemmt oder induziert werden durch gewisse Substanzen
- Induktoren oder Inhibitoren müssen nicht immer auch Substrate der Enzyme sein
- Bei den Enzymen mit genetischen Polymorphismen zusätzliche Möglichkeit für Nebenwirkungen bzw. Wirkungslosigkeit

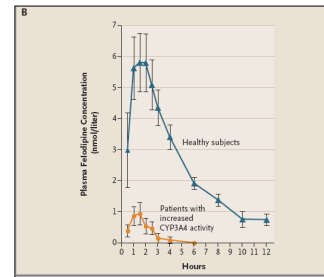
CYP 3 A4

- Metabolisiert sehr viele Medikamente
- Lässt sich durch sehr viele Substanzen zum Teil massiv hemmen oder induzieren
- Hat deshalb riesiges Potential für Interaktionen

Table 2. Common Drug Substrates, Inhibitors, and Inducers of CYP3A, According to Drug Class.^a

CYP3A Substrates	CYP3A Inhibitors	CYP3A Inducers
Calcium-channel blockers Diltiazem Felodipine Nifedipine Verapamil	Calcium-channel blockers Diltiazem Verapamil Azole antifungal agents Itraconazole Ketoconazole Macrolide antibiotics Clarithromycin Erythromycin Troleandomycin (Not azithromycin)	Rifamycins Rifabutin Rifampin Rifapentine Anticonvulsant agents Carbamazepine Phenobarbital Phenytoin Anti-HIV agents Efavirenz Nevirapine
Immunosuppressant agents Cyclosporine Tacrolimus Benzodiazepines Alprazolam Midazolam Triazolam	Anti-HIV agents Delavirdine Indinavir Ritonavir Saquinavir	Others St. John's wort
Statins Atorvastatin Lovastatin (Not pravastatin)	Others Grapefruit juice Mifepristone Nefazodone	
Macrolide antibiotics Clarithromycin Erythromycin		
Anti-HIV agents Indinavir Nelfinavir Ritonavir Saquinavir		
Others Losartan Sildenafil		

CYP3A4 - Induktion



Blutentnahme: wann und wie?

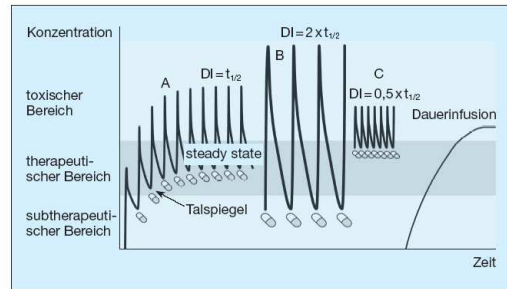
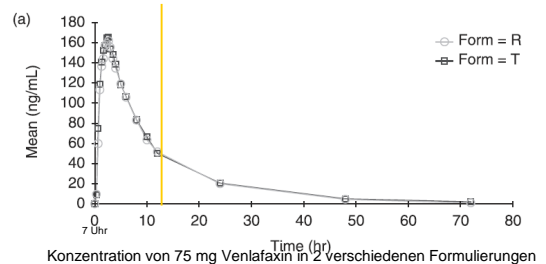


Abb. 1: Konzentrationskurven eines Arzneimittels bei oraler Einnahme und Dauerinfusion (DI: Dosierungsintervall).

Zeitpunkt der Blutentnahme

- Steady-state: mindestens 5 Halbwertszeiten nach Ende der Therapie bzw. nach Dosisänderungen, vor der Einnahme der nächsten Dosis (oder mindestens nach Ende der Verteilungsphase)
- Therapeutische Bereiche beziehen sich im allgemeinen auf die tiefste Konzentration
→ Blut muss kurz vor der Einnahme/Verabreichung der nächsten Dosis abgenommen werden

→ Was machen, wenn dies zeitlich nicht geht?



Konzentration von 75 mg Venlafaxin in 2 verschiedenen Formulierungen

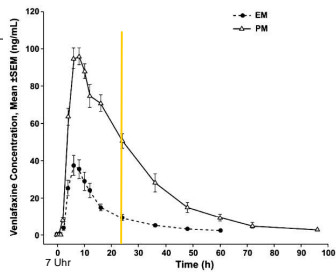


FIGURE 1. Mean (SEM) plasma concentration of venlafaxine in EM and PM participants after administration of venlafaxine ER (75 mg).

(J Clin Psychopharmacol 2009;29: 39-43)

Wichtig bei der Blutentnahme für Medikamentenspiegel

- Zeitpunkt und Dosis der letzten Medikamenteneinnahme vom Patienten erfragen und aufschreiben
- Zeitpunkt der Blutentnahme notieren

→ Mit Hilfe der Angaben zur Pharmakokinetik (z.B. im Arzneimittelkompendium) Interpretation von Medikamentenkonzentrationen auch bei nicht optimalen Zeitpunkt möglich

Medikamente (nur ein Medikament pro Auftrag!)

QUANTITATIVE MEDIKAMENTENMESSUNGEN IM BLUT (bitte unbedingt vollständig ausfüllen)

Gewicht (kg):	GEW	<input type="checkbox"/> Gewicht: _____ kg	
Dosierungsschema:	INTD	<input type="checkbox"/> Initialdosis: _____ mg	am (Datum): _____
	ERHD	<input type="checkbox"/> Erhaltungsdosis: _____ mg/d	seit (Datum): _____
	LDOS	<input type="checkbox"/> Letzte Dosierung: _____ mg	(Datum, Zeit): _____
Verabreichungsweg:	IV	<input type="checkbox"/> i.v.	<input type="checkbox"/> PCS
		<input type="checkbox"/> oral	
Therapieerfolg:	TERF	<input type="checkbox"/> gut	<input type="checkbox"/> ungenügend
		<input type="checkbox"/> sicher schlecht	<input type="checkbox"/> fehlend
Compliance:	COMPL	<input type="checkbox"/> gut	<input type="checkbox"/> fraglich
		<input type="checkbox"/> sicher schlecht	<input type="checkbox"/> Medikamentenmissbrauch
Indikation:	TERO	<input type="checkbox"/> Therapiekontrolle (am Fusspunkt, im Steady State nach 4 HWZ)	<input type="checkbox"/> Compliance
	TEUN	<input type="checkbox"/> Ungenügender Therapieerfolg trotz adäquater Dosierung	<input type="checkbox"/> Vermutete Toxizität unbekannter NOXE
	DOAN	<input type="checkbox"/> Dosisanpassung (Eliminationsstörung)	
	NCK	<input type="checkbox"/> Berechnung der individuellen Kinetik (mindestens 2 Entnahmen)	
	TOXI	<input type="checkbox"/> Vermutete Toxizität, nämlich:	
	INTA	<input type="checkbox"/> V.a. Interaktion (z.B. bei Änderung der Begleitmedikation)	
	ANND	<input type="checkbox"/> Änderung:	
	COMED	<input type="checkbox"/> Comedication mit: _____	

Interpretation der Resultate

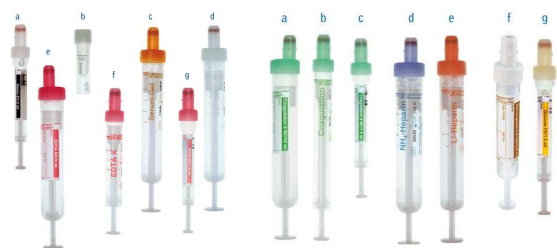
Was ist der therapeutische Bereich?

- Idealfall: Bereich, wo im allgemeinen ein therapeutischer Effekt, aber keine UAW's erwartet werden können
- Regelfall: Üblicherweise erreichte Konzentration, die nach Einnahme einer üblichen Dosis in der Standardformulierung erreicht wird und keine Toxizität verursacht
- Ist nur gültig für einen genau definierten Zeitpunkt der Blutentnahme nach Verabreichung eines Medikamentes auf einem definierten Verabreichungsweg

Interpretation der Resultate

- „Erreichung einer Serumkonzentration im „therapeutischen Bereich“ = Hohe Chance für Therapieerfolg
→ Etablierte therapeutische Bereiche für das Medikament, die Krankheit und das Patientenkollektiv nötig
Leider häufig nur kinetische Daten vorhanden
- (Sehr) hohe Serumkonzentration
→ Möglichkeit der Toxizität
- (Sehr) niedere Serumkonzentration
→ Non-Compliance? Oder Dosisanpassung nötig bei fehlendem therapeutischen Effekt

Probenmaterial



ANALGETIKA		ANTIDEPRESSIVA*	
ACE	Acetaminophen (Paracetamol)	AMI	Amitriptylin (Saroten) +
SAL	Salicylate (z.B. Aspirin)	CITOP	Citalopram
ANTIPILEPTIKA*		CLO	Clomipramin (Anafranil) +
CAZ	Carbamazepin	DES	Desipramin (Pertofran)
CLON	Clonazepam +	DOX	Doxepin +
LAMO	Lamotrigin	DUL	Duloxetin
LEV	Levetiracetam	ESCIT	Escitalopram
OXCAR	Oxcarbazepin +	FLUX	Fluoxetin
PHE	Phenobarbital (Luminal)	FLUV	Fluvoxamin
DPH	Phenytoin (Epanutin)	IMI	Imipramin (Tofranil)
PRM	Primidon + Phenobarbital	LI	Lithium (Quilonorm)
VAL	Valproinsäure (Depakine)	MAP	Maprotilin (Ludiomil) +
FREIE ANTIPILEPTIKA FRAKT.		MIA	Mianserin +
FDPH	Phenytoin, freie Fraktion	MIRTA	Mirtazapin
FVAL	Valproinsäure, freie Fraktion	MOCL	Moclobemid
		NOR	Nortriptylin +
		PARO	Paroxetin
		SERT	Sertralin +

■ Kalium-EDTA
■ Fluorid
■ Lithium-Heparin pyrogenfrei
■ ohne Zusatz
■ ohne Zusatz
■ ohne Zusatz

Röhrchen mit Trenngel

- Können Medikamente absorbieren

Medikamente / Toxikologie 7

STA 54220
RoPo 4220/4241

Achtung!
Für die Bestimmung von Suchmitteln und Medikamenten im Serum benötigen wir die **900 Serum-Microcentrifuge** (ohne Gel).

Zusammenfassung

Blutentnahme:

- Normalerweise vor der Verabreichung der nächsten Dosis
- Nach Erreichen des steady-state (d.h. 5 Halbwertszeiten nach Therapiebeginn oder Dosisänderung)

Probenmaterial:

- Keine Röhrchen mit Trenngel
- Gemäss den Vorgaben des Labors

Ko-medizierte Medikamente:

- Können den Medikamentenspiegel beeinflussen

Drogenscreening

Was wird mittels Immunoassay gemessen?

Substanz, die im Urin ausgeschieden wird

- Muttersubstanz = Droge
- Metabolit

Einzelteste

- Gezielt und „sehr“ spezifisch für diese Droge

Stoffgruppenteste

- Mehr oder weniger unspezifisch, die chemischen Strukturen, die für diese Stoffgruppe typisch sind

Sind alle Immunoassays gleich?

NEIN

Verschiedene Antikörper sind unterschiedlich spezifisch
 Unterschiedliche Kalibratoren
 Verschiedene cut-off - Konzentrationen

Wann wird ein Test positiv?

- Person scheidet die untersuchte Substanz im Urin aus
- Person scheidet ein Substanz im Urin aus, die mit dem Test interagiert
- Konzentration im Urin überschreitet die juristische cut-off – Konzentration

Einzelteste	SCDAT (CH)	SAMSHA (USA)
E Cannabis (THC-Carbonsäure)	50	50
Cocain oder Cocain- Metabolit (Benzoylcegonin)	300	300
LSD	0.5	-
Methadon	300	-
EDDP	100	-
Methaqualon	300	-
6-Monoacetylmorphin (6-MAM)	10	-

Stoffgruppe, Stoff	SCDAT (CH)	SAMSHA (USA)
Amphetamine	500	000
Barbiturate	300	-
Benzodiazepine	100	-
Opiate	300	2000

Amphetamine im Urin

Test:	Abuscreen (Roche)	FPIA (Abbott)
Kalibrator:	d-Amphetamin	d-Amphetamin
Cut - off:	500 ng/ml	300 ng/ml

Substanz	Nachgewiesene Substanzen	
	Kreuzreaktivität in % ca.	Kreuzreaktivität in % ca.
di-Amphetamin	77	110
di-Methamphetamin	53	76.7
Methylenoxyamphetamin (MDMA)	42	100
Methylenoxyamphetamin (MDA)	35	150
p-Hydroxyamphetamin	27	30
β-Phenethylamin	4.4	ND
l-Amphetamin	4.3	36
l-Phenylpropanolamin	0.9	
d,l-Phenylpropanolamin	0.6	
Propylhexidine	0.5	34
p-Hydroxymethamphetamin	0.5	
Tyramin	0.3	0.4
l-Phenylephrin	0.2	
d-Phenylpropanolamin	0.1	
Fenfluramin		20
Isomethepten		11
Phentermin		35
Tranylcypromin		0.3

Kreuzreaktivität → Resultat

Amphetamin:

- Roche 77% (cut-off 500 ng/ml)
- Abbott 110% (cut-off 300 ng/ml)

Nachgewiesene Menge, die zu einem positiven Resultat führt:

$$= 500 / 0.77 = 650 \text{ ng Amphetamin / ml (Roche)}$$

$$= 300 / 1.1 = 272 \text{ ng Amphetamin / ml (Abbott)}$$

Bestätigungsanalysen

- Alle Hersteller immunologischer Drogenscreeningmethoden beschreiben ihre Resultate als provisorisch
- Bestätigung mittels massenspektrometrischer Methoden (LC-MS, GC-MS)
- Zwingend alle positiven Urine mit juristischen Konsequenzen bestätigen: Strassenverkehr, Polizei
- Workplace Drug Testing: Bestätigung notwendig, da meist mit Verlust des Arbeitsplatzes verbunden
- Immer dort wo Zweifel am Resultat bestehen

Tabelle 1: Liste der GTFCh bezüglich der zu erreichenden Bestimmungs- bzw. Nachweisgrenzen für Missbrauchsdrogen und deren Metaboliten nach forensischen Erfordernissen in verschiedenen Matrices, bestimmt mittels beweisenden chromatographischen Methoden.

Substanzklasse	Serum/Plasma [µg/L]	Urin ¹ [µg/L]	Haare ² [ng/mg]
Cannabinoide			
Delta-9-Tetrahydrocannabinol (THC)	1	-	0.02
Delta-9-Tetrahydrocannabinol-9-carbonsäure (THC-COOH)	10 ¹	10 (nach Hydrolyse)	-
Amphetamin und Derivate			
Amphetamin	25	200	0.1
Methamphetamin	25	200	0.1
MDMA	25	200	0.1
MDA	25	200	0.1
MDEA	25	200	0.1
Cocain und Metaboliten			
Cocain	10	-	0.1
Benzoylcegonin	30	-	0.1
Opiate/Opioide			
Morphin	10	25 (nach Hydrolyse)	0.1
Codein	10	25 (nach Hydrolyse)	0.1
6-Monoacetylmorphin	2 ²	10 (nach Hydrolyse)	0.1
Methadon	50	200	0.1
EDDP	-	200	0.1

¹ Bei bestimmten Fragestellungen tiefer

² Nachweisgrenze, semiquantitativer Wert

Cannabinoide im Urin

- Nachweisbarkeit im Urin: ca. 7 – 10 Tage häufiger Konsume bis 8 Wochen
- Immunoassays mit verschiedenen Cut-off-Konzentrationen verfügbar (25, 50, 100 µg/l)
- Unterscheidung akuter Missbrauch – chronischer Missbrauch nicht möglich
- Verlaufskontrolle über THC/Kreatinin-Quotient

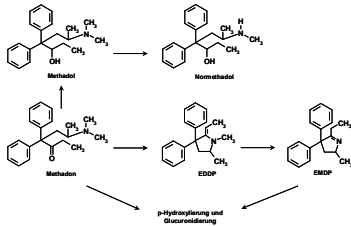
$$\frac{\text{Konzentration des Suchtstoffes im Urin (µg/L)}}{\text{Konzentration des Kreatinins im gleichen Urin (mmol/L)}} = \frac{\text{Suchtstoff (µg)}}{\text{Kreatinin (mmol)}}$$

Cocain im Urin

- Sehr spezielle chemische Struktur
- Kaum Kreuzreaktionen

Methadon im Urin

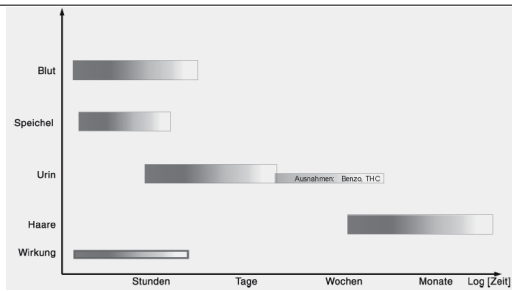
- Untersuchung von entweder Methadon oder seinem Hauptmetaboliten EDDP



Opiate im Urin

- Immunoassays erfassen nur Opiate und keine Opiode
- Antidote stören die Bestimmung nicht
- Mohnsamen in normalen Mengen eingenommen führen nicht zu einem positiven Befund

Probenmaterial



SUCHTMITTEL SERUM 7.5 ml

SMS	Suchtmittelscreening qual.
ACE	Acetaminophen (Paracetamol)
AMP	Amphetamine inkl. Ecstasy
BAR	Barbiturate
BEN	Benzodiazepine
CAN	Cannabis
COC	Cocain (Metabolite)
LSD	LSD
MEA	Methadon
SMEQ	Methaqualon
OPI	Opiate + 6AM
SAL	Salicylate
TRC	Trizykl. Antidepressiva

SUCHTMITTEL URIN 2 x 8.5 ml

USMS	Suchtmittelscreening qual. Prüfung auf Störeinflüsse (pH, spez. Gewicht, Kreatinin, Nitrit, genereller Sample Check)
UALC	Alkohol
UAMP	Amphetamine*
UBAR	Barbiturate
UBEN	Benzodiazepine*
UBLP	Buprenorphin
UCAN	Cannabis
UCOC	Cocain (Metabolite)*
UMEA	Methadon + EDDP
UMEQ	Methaqualon
UOPI	Opiate + 6AM*
UTRC	Trizykl. Antidepressiva

Zusammenfassung

Verlaufsbeurteilung nur über Quotienten
Drogenkonzentration/Kreatininkonzentration

Auch negative Urine können die Substanz enthalten,
Nachweisgrenzen müssen beachtet werden

Kreuzreaktivitäten berücksichtigen, sind in den zur
Verfügung gestellten Tabellen oft nicht aufgeführt, was
nicht heisst, dass sie nicht vorhanden sind
