

Mischintoxikation mit Metformin

Herbert Desel, Uwe Stedtler, Andreas Behrens und Hartmud Neurath

Arbeitsgruppe Klinisch-toxikologische Analytik und Beratung und Giftinformationszentrum-Nord, Zentrum Pharmakologie und Toxikologie, Georg-August-Universität Göttingen, Robert-Koch-Str. 40, 37075 Göttingen (Email: HDesel@Med.Uni-Goettingen.de)

1. Einleitung

Biguanide haben als orale Antidiabetica eine lange Tradition. Wegen des Risikos des Auftretens von Lactatazidosen wurden Wirkstoffe dieser Substanzgruppe in den achtziger Jahren zunehmend seltener verordnet: alle Biguanide mit Ausnahme des kurzwirkenden Metformins verschwanden vom Markt. Durch klinische Studien der letzten Jahre, besonders durch die große *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS, Zusammenfassung siehe z. B. King et al. 1999) wurde die Bedeutung von Metformin für die Therapie übergewichtiger Patientinnen und Patienten mit Typ 2-Diabetes wieder erheblich aufgewertet. Metformin wird daher wieder erheblich häufiger verschrieben: Zwischen 1988 und 1997 stieg die Anzahl der verordneten Tagesdosen in Deutschland von 9 auf 122 Millionen an (Schwabe & Paffrath 1999). Mit dem vermehrten Auftreten von Metformin-Vergiftungen muß daher heute gerechnet werden. Bei klinisch-toxikologischen Untersuchungen wegen metabolischer Azidose unklarer Ursache sollte daher immer auf Metformin geachtet werden.

In der hier vorgestellten Kasuistik war die Einnahme einer hochtoxischen Dosis Metformin durch eine unvollständige Anamnese und die begleitende Einnahme weiterer Substanzen mit typischer Vergiftungssymptomatik nicht rechtzeitig erkannt worden.

2. Kasuistik

Anamnese, Primärbefund und -behandlung

Ein 50jähriger Mann wurde morgens von der Hausärztin somnolent aufgefunden. Bei ihm fanden sich leere Tablettenschachteln für 100 Tbl. Euglucon[®] (Glibenclamid), 50 Tbl. Xanef[®] (Enalapril) und 50 Tbl. Musaril[®] (Tetrazepam). Beim Eintreffen in der Klinik war der Patient bewußtlos, die Konzentration von Glucose im Plasma lag unterhalb der Nachweisgrenze. Nach Glucoseinfusion stieg der Blutzuckerwert auf über 100 mg/dl an, ohne eine wesentliche Veränderung des klinischen Zustandes.

Klinisch-toxikologische Analytik I

Serumanalytik:

- Durch toxikologische Analytik wurde Glibenclamid zu 440 µg/l Serum bestimmt.
- In der gaschromatographischen Prüfung auf Lösemittel des Serums fand sich kein positiver Befund.
- In der Serumprobe wurde durch GC/MS Carbamazepin, 5H-Dibenz[b,f]azepin und Coffein nachgewiesen.

Urinanalytik:

In der Urinprobe wurden durch GC/MS-Analytik (mit und ohne Konjugatsspaltung, s. Methoden) folgende Substanzen identifiziert:

- Glibenclamid
- Carbamazepin und Metabolite
- Tetrazepam und Metabolite
- Diazepam und Nordazepam
- ein Furosemidmetabolit
- Lidocain
- Coffein
- 4-Amino-2-dimethylamino-6-methyl-1,3,5-triazin

Die analytischen Befunde wurden zunächst als eine Mischintoxikation mit übertherapeutischer Serumkonzentration an Glibenclamid (therapeutisch 100 - 200 µg/l, Schulz & Schmoldt 1997), mit Carbamazepin, Tetrazepam, Diazepam, Furosemid und Coffein interpretiert. Lidocain als Inhaltsstoff von Gleitgelen ist als Probenkontamination zu deuten. 5H-Dibenz[b,f]azepin ist am wahrscheinlichsten ein GC-Artefakt von Carbamazepin. Für den Nachweis von 4-Amino-2-dimethylamino-6-methyl-1,3,5-triazin ergab sich zunächst keine Erklärung.

Klinischer Verlauf I

Erst einige Stunden nach Aufnahme wurde bei dem bewußtlosen und inzwischen maschinell beatmeten Patienten eine Blutgasanalyse durchgeführt. Dabei wurde eine schwere Laktatazidose nachgewiesen:

- Blut-pH-Wert 6,77 (Referenzbereich: 7,35-7,43, Greiling & Gressner 1995)
- Laktat im Plasma: 26 mmol/l (Referenzbereich: 1,00-1,78 mmol/l, Greiling & Gressner 1995)

Außerdem wurde eine starke

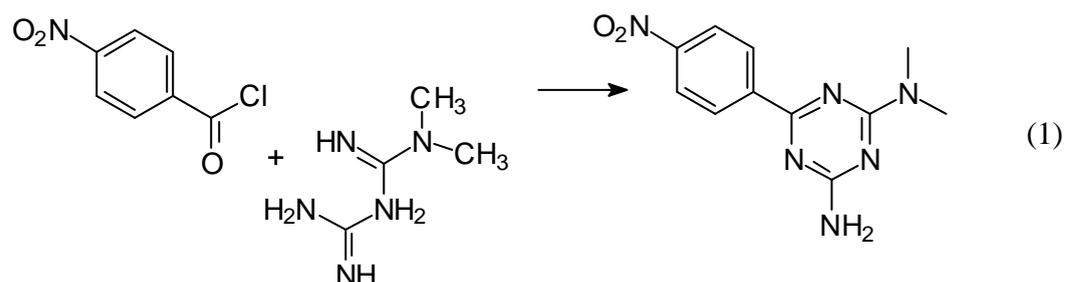
- Hyperammoniämie (600 µg/dl, Referenzbereich: 23-102 µg/dl, Greiling & Gressner 1995) festgestellt. Für diese Laborbefunde ergab sich aus der Anamnese und der toxikologischen Analytik keine Erklärung. Trotz der sofort eingeleiteten Gabe von Natriumhydrogencarbonat und Hämodialyse verstarb der Patient am Folgetag an nicht beherrschbarem Kammerflimmern.

Klinisch-Toxikologische Analytik II

Da die Genese der schweren Azidose mit der Aufnahme der nachgewiesenen Medikamente nicht in Zusammenhang gebracht und eine Ingestion von toxischen Dosen Methanol durch die bereits durchgeführte Lösemittelanalytik ausgeschlossen worden war, wurde nach Bekanntwerden der Azidoseproblematik eine Bestimmung von Ethylenglykol durchgeführt: In der gaschromatographischen Glycolanalytik des Serums fand sich kein positiver Befund.

Aufgrund der Vorerkrankung des Patienten (*Diabetes mellitus, Typ 2*), des klinischen Verlaufs und der Ergebnisse der Laboruntersuchungen wurde die Möglichkeit einer zusätzlichen Einnahme eines Biguanides in Betracht gezogen. Daher wurden mittels einer neu im Labor etablierten Spezialanalytik Serum und Urin *post mortem* auf Metformin untersucht.

Nach gezielter Vorbehandlung mit 4-Nitrobenzoylchlorid (s. Reaktionsgleichung 1) konnte in der Urinprobe des Patienten 4-Amino-2-dimethylamino-6-(4'-nitrophenyl)-1,3,5-triazin identifiziert werden (Abb. 1). Synthetische Testurine wurden mit gleicher Vorbehandlung untersucht: In T2 (Kontrollurin supplementiert mit 50 mg/l Metformin) fand sich ebenfalls 4-Amino-2-dimethylamino-6-(4'-nitrophenyl)-1,3,5-triazin, in T1 (unsupplementierter Kontrollurin) fand sich diese Substanz nicht. Im Urin konnte somit Metformin sicher nachgewiesen werden.



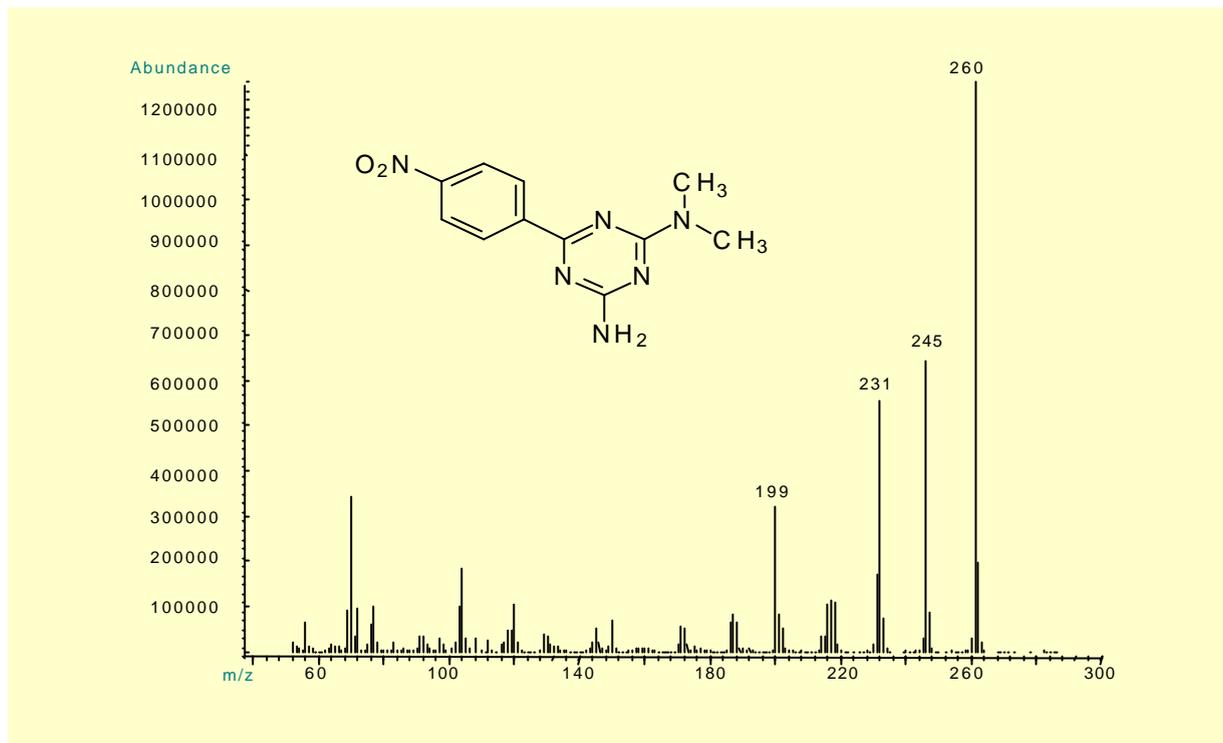
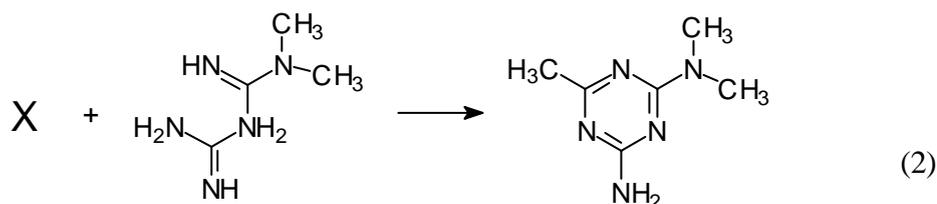


Abb. 1: Massenspektrum des Metformin-Derivates

Mittels einer (ebenfalls neu im Labor etablierten) HPLC-Methode wurde ein Metformin-Spiegel im Serum von 166 mg/l bestimmt (therapeutisch 0,1-1,3 mg/l, als letal wird ein Spiegel von 85 mg/l eingeschätzt, Schulz und Schmoldt 1997). Die Metformin-Konzentration in der Urinprobe betrug 1607 mg/l.

Schließlich wurden Leerurine mit verschiedenen Konzentration von Metformin supplementiert und im Labor-Routine-GC/MS-Screening-Verfahren aufgearbeitet: in der mit 500 mg Metformin/l supplementierten Probe war 4-Amino-2-dimethylamino-6-methyl-1,3,5-triazin sicher identifizierbar, bei niedrigeren Konzentrationen war die Substanz nicht sicher nachzuweisen. Die Substanz war ebenfalls nicht nachzuweisen, wenn statt Ethanol andere Lösemittel (Diethylether, Trichlormethan) zur GC-Injektion verwandt wurden. Als Bildungsreaktion käme danach eine Zyklisierung unter Mitwirkung von Ethanol in Betracht (Reaktionsgleichung 2).

Der Nachweis von 4-Amino-2-dimethylamino-6-methyl-1,3,5-triazin im Patientenurin kann somit durch die Anwesenheit hoher Konzentrationen von Metformin verursacht worden sein. Nach Integration des Massenspektrums von 4-Amino-2-dimethylamino-6-methyl-1,3,5-triazin in die laboreigene Spektrenbibliothek kann der Nachweis dieser Substanz zukünftig als Hinweis auf schwere Metformin-Vergiftungen gelten.



X = EtOH (?)

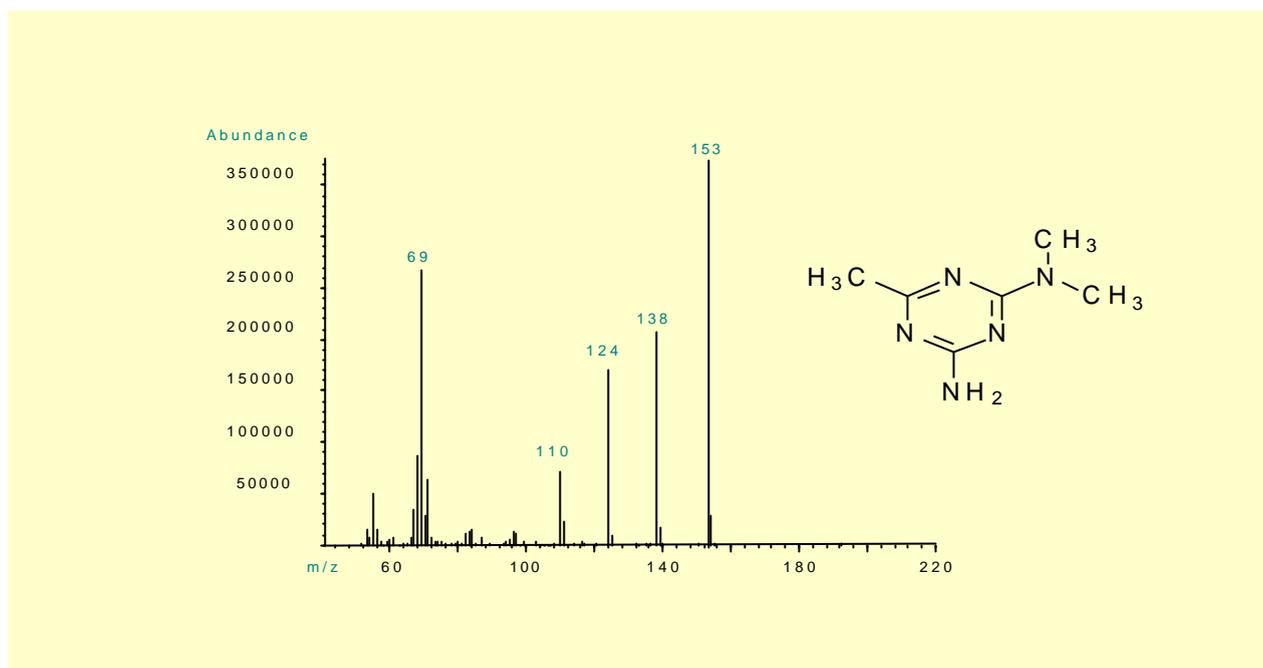


Abb. 2: Massenspektrum des Reaktionsproduktes

3. Methoden

Glibenclamidbestimmung im Serum: HPLC mit RP18-Säule und Laufmittel Acetonitril / NaH_2PO_4 -Puffer nach Benzolextraktion. UV-Detektion, externe Kalibrierung.

Gaschromatographische Lösemittel- und Glycolanalytik (Serumdirektinjektion, Flammenionisationsdetektor). Für die Glycolbestimmung wurde die Serumprobe durch Zugabe von Aceton deproteinisiert (Desel & Neurath 1999).

Gaschromatographie mit massenselektiver Detektion (GC/MS) nach nativer und alkalischer organischer Extraktion. Teile der Urinprobe wurden sauer hydrolysiert und nach organischer Extraktion zur Gewinnung von Acetylderivaten mit Acetanhydrid (Pfleger et al. 1992) und zur Gewinnung von Methylderivaten mit Trimethylaniliniumhydroxid (TMAH) behandelt (laboreigenes Screening-Standardverfahren).

Identifizierung von Metformin im Urin nach Behandlung mit 4-Nitrobenzoylchlorid (Ross 1977).

Metforminbestimmung im Serum und Urin (Yuen & Peh 1998): *Reversed phase*-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit Cyanopropyl-Säule und Acetonitril/ KH_2PO_4 -Puffer als Laufmittel. Direktinjektion der Probe nach Deproteinierung mittels Perchlorsäure. UV/VIS-Detektion (*Diodenarray*), externe Kalibrierung.

4. Diskussion

Klinik und Verlauf der hier beschriebenen Vergiftung entsprechen einer schweren, letztlich letalen Metforminintoxikation mit Laktatazidose, die initial durch Benzodiazepine und einen durch Glibenclamid bedingten Blutzuckerabfall maskiert wurde. Metformin wird z.Zt. auch bei umfassenden toxikologischen Suchanalysen häufig nicht (sicher) erfasst.

5. Literatur

Desel H & Neurath H (1999) Bestimmung von Glycolthern mittels GC/FID. In: Beiträge z. XI. Symposium der GTFCh in Mosbach 1999 (F. Pragst, Hrsg.), Heppenheim: Helm, S. 233-237

Greiling H & Gessner AM (1995) *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*. 3. Aufl., Stuttgart: Schattauer.

King P, Peacock I, & Donnelly R (1999) *The UK prospective diabetes study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes*. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **48**, 643-648

Pfleger K, Maurer HH & Weber A (1992): *Mass spectral and GC data of drugs, poisons, pesticides, pollutants, and their metabolites*. 2nd ed. Weinheim: VCH

Ross MSF (1977) *Determination of metformin in biological fluids by derivatization followed by high-performance liquid chromatography*. *J. Chromatogr.* **133**, 408-411

Schulz M & Schmoldt A (1997) *Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 500 drugs*. *Pharmazie* **52**, 895-911

Schwabe U & Paffrath D (1999) *Arzneimittelverordnungsreport 1998*. Berlin usw.: Springer

Yuen KH & Peh KK (1998) *Simple high-performance liquid chromatographic method for the determination of metformin in human plasma*. *J. Chromatogr.* **710**, 243-246