

Disaccharidnachweis im Urin: geeignete Markersubstanzen für den intravenösen Substitutkonsum?

Hilke Jungen, Hilke Andresen- Streichert, Alexander Mueller, Stefanie Iwersen-Bergmann

Universitätsklinikum Hamburg- Eppendorf, Institut für Rechtsmedizin, Toxikologie, Butenfeld 34, D-22529 Hamburg

Abstract

Einleitung: Bei der Behandlung heroinabhängiger Patienten kann im Rahmen der Substitutionstherapie Methadon und Buprenorphin zur oralen Aufnahme verschrieben werden. Diese Substitutionsarzneimittel enthalten als Hilfsstoffe u. a. Disaccharide wie Lactose und Saccharose. Diese werden nach oraler Aufnahme im Dünndarm von Disaccharidasen in Monosaccharide gespalten. Seit längerer Zeit ist bekannt, dass Substitutionsmittel in der Szene ebenfalls intravenös konsumiert werden. Da im Blut keine Disaccharidasen vorhanden sind, ist nach i.v.Konsum zu erwarten, dass die Disaccharide unverändert über den Urin ausgeschieden werden. Das Ziel dieser Studie war es zu überprüfen, ob Disaccharide als Markersubstanzen zur Unterscheidung eines intravenösen von einem oralen Substitutkonsum geeignet sind. Dazu wurden Urinproben von Drogenkonsumenten untersucht, die zuvor Substitutionsmittel intravenös appliziert hatten.

Methoden: Es wurden Urinproben von Drogenkonsumenten untersucht, die zuvor Methadon, Buprenorphin und/oder Heroin intravenös konsumiert hatten. Diese Proben wurden im „Drob Inn“, Hamburg gewonnen, einer Einrichtung, in der den Drogenkonsumenten sowohl Konsumräume als auch verschiedene Hilfsangebote zur Verfügung stehen.

Ergebnisse: In den untersuchten Urinproben der Drogenkonsumenten ließen sich in allen Fällen Disaccharide nachweisen. Probanden eines Kontrollkollektiv, die Disaccharide oral aufgenommen hatten zeigten im Urin hingegen keine positiven Disaccharidbefunde.

Schlussfolgerungen: Der Nachweis von Disacchariden im Urin erscheint geeignet, um eine intravenöse von einer oralen Aufnahme disaccharidhaltiger Substitutionsmittel zu unterscheiden.

1. Einleitung

Seit den 1990er Jahren können Opiatabhängige im Rahmen von Substitutionsprogrammen mit Methadon und Buprenorphin behandelt werden. Die absolute Zahl der Drogentodesfälle hat mit zunehmender Ausweitung des Substitutionsprogrammes bundesweit und auch in Hamburg deutlich abgenommen. Gleichzeitig stieg die Nachweishäufigkeit des Methadons bei den Drogentodesfällen in Hamburg insbesondere in den letzten Jahren auf 50%-75% an. Hierbei ergaben sich häufig Hinweise auf den intravenösen Konsum von Substitutionsmitteln.

In einer durch das Zentrum für Interdisziplinäre Suchtforschung durchgeführten Befragung szenenaher sowie substituierter Personen wurden Motive des nichtbestimmungsgemäßen Konsums von Substitutionsmitteln untersucht. Unter nicht bestimmungsgemäßem Konsum versteht man zum einen den Konsum ohne ärztliche Verschreibung, zum anderen den intravenösen Konsum von Substituten. Als Hauptgründe wurden von beiden befragten Gruppen (substituierte Personen vs. Personen aus der Drogenszene) u. a. die Nichtverfügbarkeit von Heroin sowie der günstigere Preis von Methadon gegenüber Heroin angegeben [1].

Werden Methadon und Buprenorphin intravenös appliziert, steigt durch die schnelle zentrale Anflutung das Risiko für Intoxikationen mit Symptomen wie Bewusstlosigkeit und Atemdepression. Bei der Bewertung eines Methadonbefunds im Blut einer fraglich an Methadon verstorbenen Person erleichtert die Kenntnis des Applikationsweges die Beurteilung. Auch für substituierende Ärzte besteht bislang keine Möglichkeit den bestimmungsgemäßen Gebrauch einer Take-Home-Verordnung zu überprüfen. Das Ziel unserer Untersuchungen war es daher, Markersubstanzen zu finden, mit deren Hilfe eine intravenöse von einer oralen Substitutaufnahme unterschieden werden kann.

Beim i. v.- Konsum von Substitutionsmittel gelangen neben den Wirkstoffen auch Hilfsstoffe ins Blut. Hierbei handelt es sich zum Beispiel um Saccharose, welche flüssigen Methadonzubereitungen zur Viskositätserhöhung zugesetzt wird und Lactose, die als Hilfsstoff in der Tablettenherstellung Verwendung findet [2,3]. Beide Zucker gehören zur Gruppe der Disaccharide, die aus zwei Monosaccharideinheiten aufgebaut sind. Lactose besteht aus Glucose und Galactose, während Saccharose aus Glucose und Fructose zusammengesetzt ist. Disaccharide werden bei oraler Aufnahme durch Glycosidasen, den Bürstensaumenzymen im Dünndarm, in die jeweiligen Monosaccharide abgebaut und über Transportsysteme der Enterozyten ins Blut aufgenommen und dort verstoffwechselt. Entsprechende Enzyme liegen jedoch nicht im Blut vor, so dass bei einem intravenösen Konsum von einer Ausscheidung der intakten Disaccharide im Urin auszugehen ist [4-6].

Um diese Hypothese zu überprüfen wurden Urinproben von gesunden Nicht- Drogenkonsumenten und Urinproben von Drogenkonsumenten auf Disaccharide untersucht. Die Ergebnisse der ersten Studie sind zur Publikation eingereicht und werden daher in dieser Arbeit nur kurz zusammenfasst.

2. Material und Methoden

2.1. Probengewinnung

Das Kontrollkollektiv bestand aus gesunden Nicht-Drogenkonsumenten (n=30), die 30 Minuten und 2-3 Stunden nach der oralen Aufnahme von je 20 g Lactose und Saccharose Urinproben abgaben. Die Urinproben von Drogenkonsumenten wurden im „Drob Inn“ Hamburg gewonnen. Dort können Konsumenten in Konsumräumen Drogen konsumieren und verschiedene medizinische und soziale Hilfsangebote in Anspruch nehmen.

Das erste Kollektiv bestand aus 26 Drogenkonsumenten, welche Methadon, Buprenorphin und/oder Heroin intravenös konsumiert hatten und ca. 15- 30 Minuten nach Konsum eine Urinprobe abgaben. Im zweiten Kollektiv, über das hier berichtet wird, wurden pro Teilnehmer (n=8) zwei Urinproben gewonnen. Die erste Probe wurde vor dem intravenösen Substitutkonsum gewonnen, die zweite danach. Die zeitlichen Abstände zum jeweiligen Konsum sowie die Art der konsumierten Substanzen wurden mittels Fragebogen erfasst. Alle Daten wurden anonymisiert erhoben. Die Urinproben wurden nach der Probengewinnung schnellstmöglich gekühlt gelagert (4°C) und spätestens nach 8-48 Stunden im Labor bis zur Bearbeitung bei -20 °C aufbewahrt.

2.2. Immunoassays

Die Urinproben der Drogenkonsumenten wurden mittels immunchemischer Methoden (CEDIA DAU; Thermo Fisher Scientific) am Hitachi 912 Automatic Analyser auf Methadon, Buprenorphin, Opiate und Benzodiazepine untersucht.

2.3. HPLC-DAD

Vor Studienbeginn wurde eine HPLC-Methode zur Trennung benzoyleierter Mono- und Disaccharide etabliert, die für die Untersuchung der ersten 26 Urinproben von i. v. Drogen/ Substitutionskonsumenten eingesetzt wurde sowie zur Messung der Stabilität der Disaccharide in gelagerten Urinproben. Mit dieser Methode können auch Monosaccharide erfasst werden, die nach Lagerung der disaccharidhaltigen Urinproben ebenfalls nachweisbar sind.

2.4. LC/MS

Für die weiteren Untersuchungen war eine Erfassung der Monosaccharide nicht erforderlich und es wurde eine weniger arbeitsintensive LC-MS Methode etabliert. 0,1 mL Urin wird mit den Internen Standards Glucose- D7 und Saccharose- D2 versetzt und mit Aceton gefällt. Nach dem Schütteln und Zentrifugieren wird der Überstand zur Trocken eingedampft und in Wasser und Acetonitril angelöst. 20 µL werden in das LC/MS- System injiziert.

Die Analyse erfolgt an einem Thermo Finnigan Duo LCQ 2.0 Massenspektrometer, Thermo Finnigan Surveyor LC Pumpe, Thermo Spectra Series AS 300 Autosampler und der Xcalibur 2.0 SUR 2 Software.

Die Disaccharide werden über eine Macharey- Nagel Nucleodur NH₂ –RP 250* 3mm Säule bei einer Flussrate von 0,8 mL/min im Gradientenlauf aufgetrennt. Laufmittel A besteht aus Acetonitril mit Ameisensäure, Laufmittel B aus 0,5- mM Ammoniumformiatpuffer. Die Detektion der Disaccharide erfolgt im MS/MS- Modus als Disaccharid- Formiat- Addukte. Die detektierten Massen sind m/z 387 für Saccharose und Lactose sowie m/z 389 für Saccharose- D2.

3. Ergebnisse und Diskussion

In den Urinproben der gesunden Nicht- Drogenkonsumenten waren nach oralem Konsum keine Disaccharide nachweisbar. Dies spricht dafür, dass bei oraler Aufnahme und intakter Darmfunktion Disaccharide nicht ins Blut gelangen. In allen der 26 Urinproben der Drogenkonsumenten, welche zuvor Substitutionsmittel und/oder Heroin konsumiert hatten ließen sich Saccharose und/oder Lactose nachweisen. Dieser Befund bestätigt die Vermutung, dass nach der Injektion von zuckerhaltigen Drogen und Zubereitungen, die ins Blut gelangten, Disaccharide unverändert renal filtriert und eliminiert werden. 23% der Proben waren ausschließlich positiv für Saccharose, in diesen Proben wurde immunchemisch Methadon nachgewiesen. Dieser Befund ist mit der Injektion von Methadonsirup erklärlich, da in diesem Saccharose zur Viskositäts-erhöhung zugesetzt wird. Die weiteren Ergebnisse dieses Untersuchungskollektivs wurden bereits auf der Frühjahrstagung der deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin 2011 in Münster ausführlich vorgestellt [7].

Im zweiten Drogenkonsumenten- Kollektiv wurde jeweils eine Urinprobe vor und nach dem intravenösen Konsum gewonnen. Die Konsumenten wurden zu dem Zeitpunkt und Art des letztmaligen i.v.-Konsums befragt, um abzuschätzen wie lange nach einem erfolgten i.v.-Konsum positive Befunde im Urin zu erwarten sind. Ferner wurde erfasst welche Substanz aktuell intravenös konsumiert werden sollte. Alle 8 Probanden gaben an, Methadonzubereitungen konsumiert zu haben. 7 Probanden applizierten beide Male Methadontabletten (Methaddict[®]), ein Proband konsumierte einmal Methadonlösung und einmal Methadon- Tabletten. Bei der Hälfte der Fälle wurden zusätzlich noch Benzodiazepine, Cocain oder Heroin intravenös konsumiert.

In allen 16 Urinproben ließen sich Disaccharide nachweisen. Bei sechs Probanden war ein Anstieg von beiden Disacchariden messbar, in jeweils einer Probe stiegen Lactose oder Saccharose an. Die gemessenen Konzentrationen lagen zwischen 25 und 4000 mg/L [Abb.1].

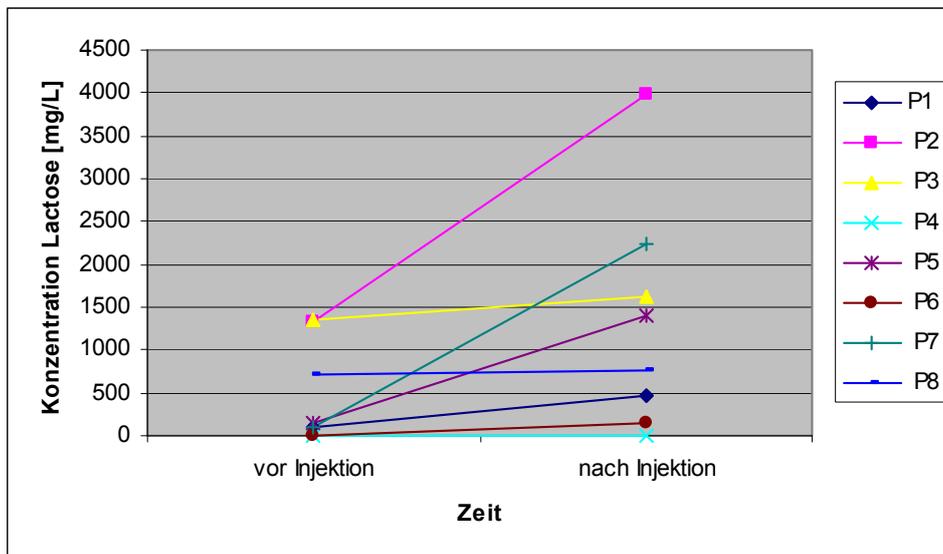


Abb. 1. Lactose im Urin vor und nach intravenösem Konsum von Methadontabletten und flüssigen Methadonzubereitungen.

In zwei der zuerst gewonnen Urinproben war keine Lactose (mehr), jedoch noch geringe Konzentrationen von Saccharose nachweisbar. Hier lag der letztmalige intravenöse Konsum bereits 92 bzw. 48 Stunden zurück. Bei den übrigen Probanden mit positiven Lactosebefunden, betrug diese Zeitspanne bis zum letzten Konsum hingegen nur 1 bis 20 Stunden. Die zweite Urinprobe wurde in allen Fällen 30- 60 Minuten nach dem aktuellen Konsum gewonnen. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Disaccharide zumindest über einen Zeitraum von bis zu einem Tag in den Urin ausgeschieden werden. Um diese ersten Ergebnisse zum zeitlichen Verlauf zu überprüfen, ist die Untersuchung eines größeren Kollektivs geplant.

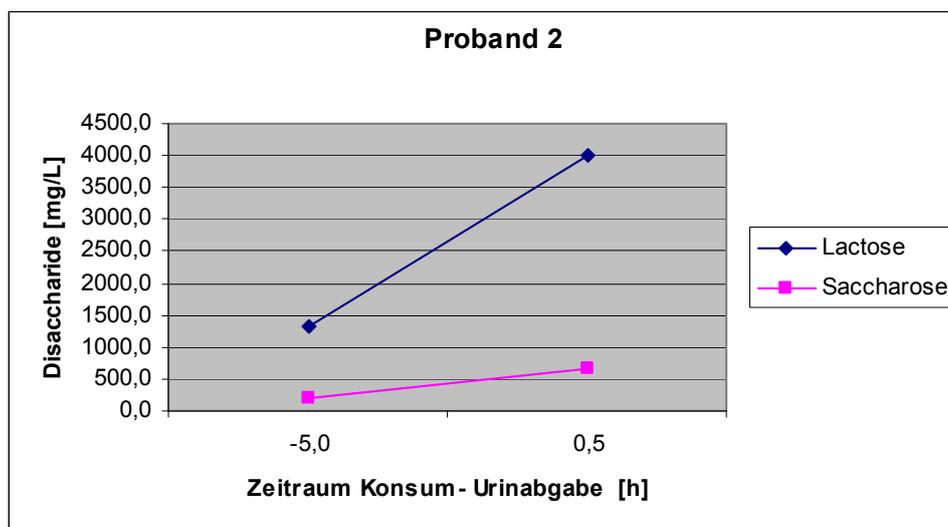


Abb. 2. Disaccharide im Urin nach i. v.- Konsum von Methadict®.

Nach dem intravenösen Konsum von Methaddict[®]-Tabletten ließ sich bei einem Teilnehmer ein starker Anstieg von Lactose und ein schwächerer Anstieg von Saccharose feststellen [Abb.2]. Diese Befunde lassen sich gut mit dem angegebenen Konsum von tablettenförmigem Methadon in Einklang bringen, da in Methaddict[®]-Tabletten neben Lactose auch ein kleinerer Anteil Saccharose verpresst wird.

Der Nachweis beider Disaccharide kann also sowohl durch einen intravenösen Konsum von Methaddict[®]-Tabletten als auch durch den kombinierten i. v.-Konsum von anderen lactosehaltigen Tabletten wie z.B. Benzodiazepinen in Kombination mit flüssigen Methadonzubereitungen, erklärt werden.

4. Schlussfolgerungen

Die hier vorgestellte Methode ist geeignet zum Nachweis von Disacchariden im Urin und bietet die Möglichkeit einen intravenösen von einem oralen Konsum zuckerhaltiger Substitutionsmittel zu unterscheiden. Der Nachweis des Applikationsweges kann für den substituierenden Arzt Informationen im Hinblick auf einen nicht bestimmungsgemäßen Gebrauch von verordneten Substitutionsmitteln liefern und die Bewertung von Methadonkonzentrationen bei fraglichen Drogentodesfällen erleichtern.

5. Literatur

- [1] Reimer J et al. Folgestudie zur nicht bestimmungsgemäßen Verwendung von Substitutionsmitteln in Deutschland. ZIS Hamburg, 2011. <http://www.zis-hamburg.de/projekte/projektetails/Folgestudie-zur-missbraeuchlichen-Verwendung-von-Substitutionsmitteln-in-Deutschland/>
- [2] Fachinformation Methaddict[®], Subutex[®]
- [3] ABDA-Bundesvereinigung Deutscher Apothekerverbände (Hrsg.). Deutscher Arzneimittel-Codex/ Neues Rezeptur-Formularium. Govi-Verlag, Eschborn, 2009, Seite 20 1-6.
- [4] Drozdowski LA, Thomson ABR. Intestinal sugar transport. World J Gastroenterol 2006;12:1657- 1670.
- [5] Wright EM, Hirayama BA, Loo DF. Active sugar transport in health and disease. J Int Med 2006;261:32- 43.
- [6] Cox MA, Lewis MB, Cooper BT. Sucrosemia in untreated celiac disease a potential screening test. Dig Dis Sci 1998;43:1096- 1101.
- [7] Jungen H, Andresen H, Müller A, Iwersen-Bergmann S. Nachweis von Begleitstoffen opioid-/opiathaltiger Drogen und Zubereitungen im Urin von Drogenkonsumenten. Eine Hilfe zur Beurteilung der Applikationsform? 20. Frühjahrstagung Nord der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Münster, 2011.