

Praktikumsaufgabe 2

Toxikokinetik: Bromazepam

Vorgeschichte:

Ein 54-jähriger Mann wird tief bewusstlos von seiner Ehefrau in der gemeinsamen Wohnung aufgefunden. Die Feuerwehr wird gerufen und der Patient in die Rettungsstelle eines Berliner Krankenhauses gebracht.

Die toxikologische Analyse ergab die Diagnose „Bromazepamintoxikation“ mit einer initialen Konzentration von 5800 ng/ml im Plasma. Bei einer Kontrolle ca. 6 h nach Krankenhausaufnahme lag die Bromazepamkonzentration bei 5000 ng/ml. Wegen der Schwere des Krankheitsbildes, das hier nicht näher beschrieben werden soll, wird eine Haemoperfusion erwogen.

Fragestellung und Aufgaben

Bestimmen Sie die Bromazepamkonzentration im Serum des Patienten nach Durchführung einer Haemoperfusion und beurteilen Sie die Effektivität des Verfahrens!

Analytik

Führen Sie eine Bromazepambestimmung im Plasma durch.

Probenbearbeitung

500 µl Serum / Plasma

+ **100 µl TRIS - Puffer**

+ **400 µl Extraktionsmittel / IS (1) MPPH / DCM**

in Eppendorf-Reaktionsgefäß (spitz) pipettieren

ca. 5 min schütteln

ca. 4 min zentrifugieren bei >15000 g (13000 U/min)

obere wässrige Phase und Eiweißschicht absaugen und verwerfen

200 µl der unteren Dichlormethan-Phase in ein weiteres Eppendorf-Reaktionsgefäß (spitz) überführen

unter Stickstoff (N₂) bei ca. 40°C bis zur Trockene abdampfen

Rückstand in 100 µl Rekonstitutionslösung (50/50) aufnehmen

ca. 15 sec mixen (Vortex)

in Vial mit Glaseinsatz überführen und analysieren

Die Probe wird in den Autosampler der HPLC-Anlage „LC2“ eingesetzt und die entsprechende Methode durch die technische Assistenz gestartet

Nach Ausdruck des Chromatogramms erfolgt die Identifikation von Bromazepam mittels relativer Retentionszeit (RRT) und UV-Spektrum. Die Quantifizierung wird mittels IS, Quotientenbildung (Q) und Steigung der Kalibriergeraden (b) gem. HPLC-Liste erstellt.

Auszug aus HPLC-Liste: RRT (Bromazepam): 0,563
b (Bromazepam): 0,979

Berechnung der c(Bromazepam): $Q = \frac{Area(Bromazepam)}{Area(IS=MPPH)}$

$$c(Bromazepam)[\mu\text{g/mL}] = \frac{Q}{b}$$

Auswertung und Interpretation

1. Tragen Sie die Messpunkte:
 $t_1 = 0 \text{ h}$, $C_1 = 5800 \text{ ng/ml}$ und
 $t_2 = 6 \text{ h}$, $C_2 = 5000 \text{ ng/ml}$ in semilogarithmisches Papier ein.
2. Legen Sie durch beide Punkte eine Gerade (prognostizierter Eliminationsverlauf).
3. Bestimmen Sie die Halbwertszeit des Patienten für Bromazepam.
Wie ist diese zu beurteilen?
4. Schätzen Sie ab, ob eine von der Klinik in Erwägung gezogene Haemoperfusion relevanten Einfluss auf die Bromazepamdetoxikation haben könnte.
5. Die Hämoerfusion wurde schließlich ca. 8 h nach Krankenhausaufnahme über 4 Stunden durchgeführt.
6. Tragen Sie den bei Ihrer Messung erhaltenen Messwert in die Graphik ein:
 $t = 12 \text{ h}$, $C = \text{„Messergebnis“ ng/ml}$, legen Sie durch den Startpunkt der Haemoperfusion ($t = 8 \text{ h}$; $c(\text{Bromazepam})=4758 \text{ ng/mL}$) auf der prognostizierten Eliminationsgeraden und Ihren Messpunkt eine Gerade.
7. Bestimmen Sie die Halbwertszeit während der Hämoerfusion.
8. Verschieben Sie die Gerade des ursprünglich prognostizierten Eliminationsverlaufs parallel zu Ihrem Messpunkt, dem Endpunkt der Haemoperfusion.

9. Wie viele Stunden früher wird die von Ihnen gemessene Konzentration erreicht als ohne Haemoperfusion?
10. Rufen Sie den Patienten (Fachtox, Bromazepam, geb.01.01.1955; Barcode: 12345678) mit Hilfe der Laborsoftware WinTox auf, vergleichen Sie Ihre Ergebnisse mit dem theoretisch prognostizierten Effekt der Haemoperfusion.
11. Diskutieren Sie Ihr Analysenergebnis im Zusammenhang mit Ihren Berechnungen, Abschätzungen bzw. Erwägungen zur Bromazepamdetoxikation bei diesem Patienten.

Hintergrundinformationen

Bromazepam ist ein Benzodiazepin. Es wird zur symptomatischen Behandlung von akuten und chronischen Spannungs- Angst- und Erregungszuständen eingesetzt. In sehr hohen Dosen bei Vergiftungen führt es zu Bewusstlosigkeit, Koma und Atemdepression.

Populationspharmakokinetische Parameter von Bromazepam:

Bioverfügbarkeit: 85 %

Verteilungsvolumen (V_D): 0,9 l/kg

Halbwertszeit ($t_{1/2}$): 22 h

Clearance (CL): 0,472 ml/min/kg

Plasmaeiweißbindung: 70 %

Therapeutische Konzentration: 80 – 170 ng/ml

Toxikologisch „kritische“ Konzentration: 1000 ng/ml

Halbwertszeit:

$$t_{1/2} = \frac{t_2 - t_1}{\ln\left(\frac{C_1}{C_2}\right)} \times \ln 2$$

Die Halbwertszeit ($t_{1/2}$) ist die Zeit, in der bei Vorliegen einer Kinetik 1. Ordnung die Konzentration einer Substanz um die Hälfte sinkt.

Clearance:

$$CL = \frac{V_D \times \ln 2}{t_{1/2}} \quad (\text{in mL/min/kg})$$

Die Clearance (Cl) ist ein pharmakokinetischer Parameter, der angibt, welches Plasmavolumen pro Zeiteinheit (bezogen auf das Körpergewicht) von einem Stoff befreit wird.

Haemoperfusion

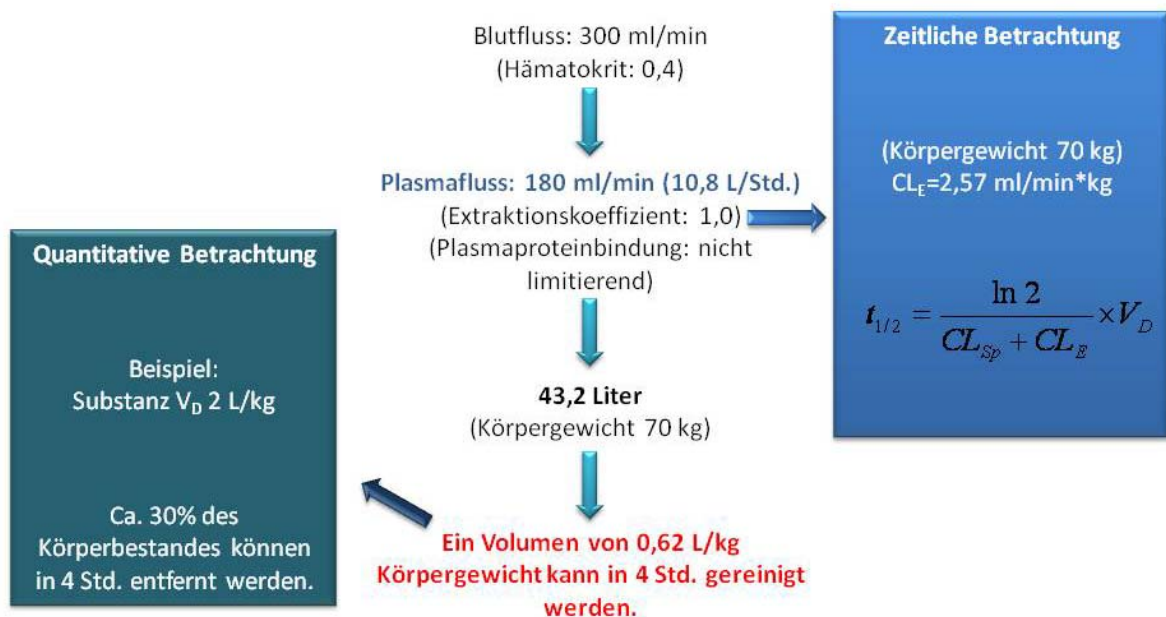
Die Haemoperfusion ist ein sekundäres Detoxikationsverfahren, mit dem das Blutplasma von einem Fremdstoff befreit werden kann.

Dabei wird ein bestimmtes Blutvolumen pro Zeiteinheit über eine fremdstoffadsorbierende Einheit geleitet (z.B. Aktivkohle, Kunstharz). Durch diesen Adsorptionseffekt wirkt die Plasmaeiweißbindung (anders als bei der Dialyse) nicht limitierend. Die zu erreichende extrakorporale Clearance hängt

- vom Plasmafluß,
- von den physikochemischen Eigenschaften der Substanz und
- von den Adsorptionseigenschaften des Systems ab.

Extrakorporale Detoxikationsverfahren werden in der Regel über einige (z.B. 4) Stunden durchgeführt.

Die Gesamtclearance bei Haemoperfusion ergibt sich aus der Summe von Spontanclearance (CL_{sp}) und extracorporaler Clearance (CL_E).



Unter Berücksichtigung der für den Beispielpatienten berechneten Halbwertszeit und des Populationsverteilungsvolumens beträgt dessen Spontanclearance 0,371 ml/min/kg.