

Verteilung von Digoxin, Digitoxin und ihren kardioaktiven Metaboliten im menschlichen Herz- und Nierengewebe

Eine post mortem-Untersuchung

Jörg Plum and Thomas Daldrup

Institut für Rechtsmedizin der Universität Düsseldorf, Moorenstr. 5, D-4000 Düsseldorf 1,
Bundesrepublik Deutschland

Distribution of Digoxin, Digitoxin and Their Cardioactive Metabolites in the Human Heart and Kidney—A Post-mortem Study

Summary. A method was developed for the specific determination of digoxin and digitoxin, as well as their semisynthetic derivatives and dependent cardioactive metabolites, in autopsy samples of heart and kidney.

A collective of six patients on long-term treatment with therapeutic doses of β -acetyldigoxin had a mean myocardial digoxin content of 46.1 ± 25.0 ng/g (SD); kidney: 50.3 ± 30.3 ng/g. Digoxigenin bisdigitoxoside represented the second most important metabolite in heart and kidney; digoxigenin monodigitoxoside and digoxigenin follow, respectively.

In a collective of seven patients on maintenance treatment with digitoxin, the mean tissue levels were higher but the metabolic pattern was similar (myocardial digitoxin content: 78.9 ± 38.4 ng/g, renal content: 104.1 ± 44.1 ng/g). The amount of digoxin formed by hydroxylation under long-term treatment with digitoxin in heart and kidney were approximately 10 ng/g.

A case of digoxin intoxication differed both in the tissue content and in the metabolic distribution.

Key words: Poisoning, digoxin and digitoxin – Digoxin – Digitoxin

Zusammenfassung. Es wurde ein Verfahren entwickelt zur monospezifischen Bestimmung von Digoxin, Digitoxin, ihren halbsynthetischen Derivaten und abhängigen kardioaktiven Metaboliten in postmortalen Gewebeproben von Herz und Niere.

Ein Kollektiv von sechs therapeutisch mit β -Acetyldigoxin behandelten Patienten zeigte einen mittleren myokardialen Digoxinspiegel von $46,1 \pm 25,0$ ng/g (SD); Niere: $50,3 \pm 30,3$ ng/g. Digoxigenin-bisdigitoxosid bildete den quantitativ zweitbedeutendsten Metaboliten in Herz und Niere. Digoxigenin-monodigitoxosid und Digoxigenin folgten in der Abstufung.

Ein therapeutisches Digitoxin-Kollektiv ($n = 7$) wies durchgehend höhere Gewebespiegel auf, zeigte aber ein ähnliches Metabolitenmuster (Digitoxin-Gehalt des Herzens: $78,9 \pm 38,4$ ng/g; Niere: $104,1 \pm 44,1$ ng/g). Der Anteil des durch Hydroxylierung entstehenden Digoxins unter Digitoxin-Dauertherapie lag in Herz und Niere im Mittel bei 10 ng/g.

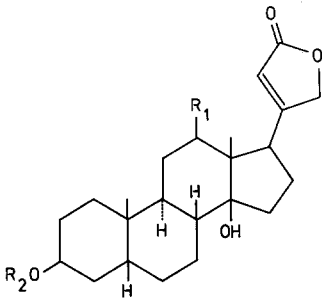
Eine Digoxin-Intoxikation unterschied sich sowohl im Gewebegehalt als auch in der relativen Verteilung der Metabolite.

Schlüsselwörter: Intoxikation, Digoxin und Digitoxin – Digoxin – Digitoxin

Die unterschiedlich starke Anreicherung der Herzglykoside im menschlichen Gewebe ist schon Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Zum Teil wurden diesbezüglich Messungen mit vorher zugeführten, isotonenmarkierten Glykosiden durchgeführt [5, 11, 25], oder die Proben wurden, vor allem seit der Einführung des RIAs, nach entsprechender Aufarbeitung direkt bestimmt. Die Entnahme geschah sowohl in vivo unter Operationsbedingungen [9, 10, 15, 16] als auch autopsisch [1, 7, 8, 16, 18, 35]. Die genannten Studien untersuchten zumeist den Gewebegehalt von Digoxin. Für Digitoxin liegen bisher nur wenige Messungen vor [2, 21, 25, 33]. Die Gewebegehalte der verschiedenen Herzareale fanden in allen Fällen naturgemäß besondere Beachtung.

In den meisten Untersuchungen bestand die gewählte Bestimmungstechnik in einer Homogenisierung der Gewebeproben, anschließenden Extraktionsschritten und Überführung des Endextraktes zu einer empfindlichen radioimmunologischen Messung. Die letztere Bestimmungsmethode ist aber nicht monospezifisch für eine Substanz, sondern erfaßt in unterschiedlichem Ausmaß noch andere steroidal ähnlich aufgebaute Substanzen. So werden, wie wir bei der Untersuchung der von uns gewählten handelsüblichen RIA-Kits feststellen konnten, insbesondere die abhängigen kardioaktiven Metabolite der Muttersubstanzen mit einer zum Teil mehr als 100%igen Kreuzreaktivität miterfaßt. Bei nicht genau bekannter Aufschlüsselung der relativen Verteilung aller Metabolite und ihrer Kreuzreaktivität sind reine RIA-Messungen als summarisch und quantitativ verfälscht zu bezeichnen [13, 14, 20]. Hierauf beruhende Ergebnisse können zwischen verschiedenen Studien z. B. dadurch an Vergleichbarkeit verlieren, daß sich das Extraktionsspektrum der Metabolite abhängig von der Aufarbeitungsmethode der eingesetzten Organproben ändert.

Eine substanzspezifische Messung von Digitoxin und seinen abhängigen Metaboliten im menschlichen Gewebe wurde bisher nur von Storstein [33] unternommen. Er gibt in seiner Studie allerdings keine absoluten Gehalte, sondern die prozentuale Metabolitenaufschlüsselung in autopsischen Herzwegewebeproben an. Als Bestimmungsmethode wählte er die Kombination einer dünn-schichtchromatographischen Vortrennung mit anschließender quantitativer Auswertung durch einen ^{86}Rb -Assay. Wir setzten als einfacher und schneller durchzuführende Trenntechnik die Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie ein [28] und schlossen zur empfindlichen quantitativen Auswertung einen RIA an. Diese Technik wurde in unterschiedlicher Modifikation bereits erfolgreich zur selektiven und empfindlichen Bestimmung von Digitalisglykosiden eingesetzt [19, 20, 23, 24]. Unter Ausschaltung der prinzipiell recht störanfälligen



Verbindung	R ₁	R ₂
Digitoxigenin	H	H
Digitoxigenin-monodigitoxosid	H	D
Digitoxigenin-bisdigitoxosid	H	D—D
Digitoxin	H	D—D—D
Digoxigenin	OH	H
Digoxigenin-monodigitoxosid	OH	D
Digoxigenin-bisdigitoxosid	OH	D—D
Digoxin	OH	D—D—D
β-Acetyldigoxin	OH	D—D—D—Ac
β-Methyldigoxin	OH	D—D—D—Met

D = Digitoxose; Ac = acetyl; Met = methyl

Abb. 1. Struktur der untersuchten Digitalisglykoside und ihrer Genine

immunologischen Meßtechnik kontrollierten wir den Gehalt der im Gewebe genügend hoch angereicherten Cardenolide zusätzlich durch direkte dünn-schichtchromatographische Messung [27].

Ziel unserer Untersuchung war es, bei Patienten unter Digoxin- und Digitoxin-Therapie die durch Hydrolyse der Zuckerseitenkette des Glykosidmoleküls entstehenden kardioaktiven Metabolite postmortem im Herz- und Nierengewebe zu bestimmen. Außerdem sollten die klinisch bedeutsamen halbsynthetischen Digoxin-Derivate β-Acetyldigoxin und β-Methyldigoxin miterfaßt werden (Abb. 1). Unter Digitoxin-Behandlung interessierte außerdem der Gewebegehalt des durch 12-β-Hydroxylierung entstehenden Digoxins. Unterschiede zwischen der Serumkonzentration von hydroxylierten Verbindungen mit ca. 2–8% [26, 29, 30] und ihrem Gewebegehalt [33] scheinen zu bestehen.

Neben der spezifischen Metabolitenbestimmung im Gewebe wurden mittels der herkömmlichen summarischen RIA-Messung die postmortalen Blutglykosidspiegel unter Digoxin- und Digitoxin-Behandlung bestimmt.

Methodik

Zur Untersuchung gelangten 9 Patienten, die präklinisch bzw. nach stationärer Einweisung mit Digoxin-Präparaten behandelt wurden. Eine suizidale Digoxin-Intoxikation wurde dem therapeutischen Kollektiv gegenübergestellt.

Ein Kollektiv von 7 Patienten unter einer Erhaltungstherapie mit Digotoxin wurde untersucht. Die postmortalen Proben entstammten zum einen dem linken Herzventrikel als Querschnitt durch alle Wandschichten. Pathologische Umbauzonen wie Narben und Infarktbezirke wurden ausgelassen, größere epikardiale Fettbewachsungen entfernt. Vom Nierengewebe wurden jeweils Scheiben mit etwa gleichen Anteilen von Rinde und Mark entnommen. Vacatfett im Nierenbeckenbereich wurde entfernt. Die Blutproben stammten aus der Vena cava inferior.

Die Aufarbeitung der z.T. hämolysierten bzw. gelinierten Blutproben führten wir mittels Extrelut-Säulen (Merck) durch. 1 ml Vollblut gelangte mit 19 ml Aqua dest. auf die Trägermatrix der Säule. Eluiert wurde mit 60 ml Ethylacetat. Die Wiederfindungsrate lag für die hier untersuchten Cardenolide zwischen 88% und 100%. Nach Abdunstung der organischen Phase wurde der Rückstand in Leerserum aufgenommen und einem RIA zugeführt (Digoxin RIA phase TM, Beckman Instruments; Digotoxin RIA Kit ¹²⁵Jod, Becton Dickinson).

Für die Bestimmung der Gewebegehalte von Digoxin, Digotoxin und ihren kardioaktiven Metaboliten haben wir ein Extraktions- und Reinigungsverfahren entwickelt, das bei einer Wiederfindung aller Cardenolide zwischen 49% und 73% (außer β -Ac-DG: 25%) Organballaststoffe weitgehend ausschaltet [27]. Die Gewebeaufarbeitungstechnik ist im Laufdiagramm (Abb.2) schematisch zusammengefaßt. Mit dieser Methode war der direkte dünn-schichtchromatographische Nachweis therapeutischer Glykosidkonzentrationen im Gewebe

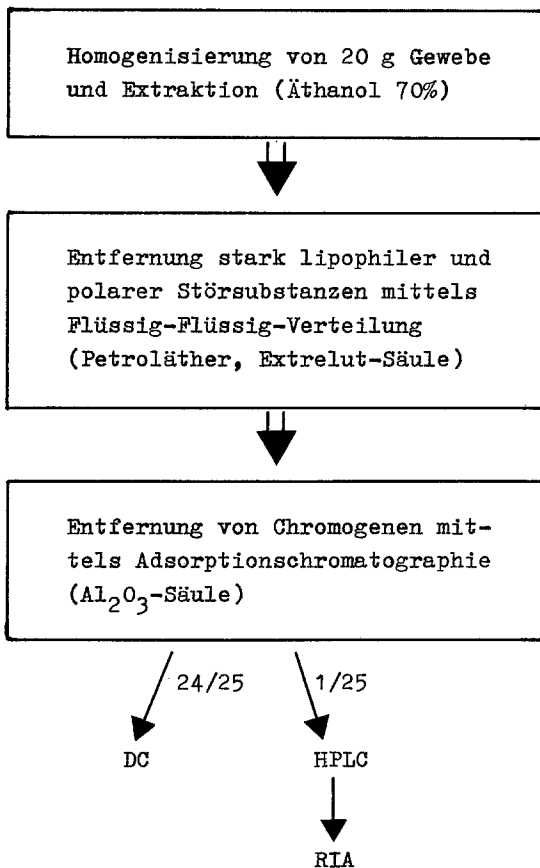


Abb.2. Extraktionsverfahren zur Reinigung von Digoxin, Digitoxin, ihren kardioaktiven Metaboliten und Derivaten aus Gewebe

möglich. $\frac{1}{25}$ des Endextraktes wurde zur empfindlichen Metabolitenanalyse HPLC-fraktioniert. Dies erfolgte nach einem von uns entwickelten Verfahren mittels Gradientenelution an einer C18 reversed-phase-Säule [28]. Alle hier untersuchten Cardenolide konnten mit diesem System in einem Lauf erfaßt werden. Die gesammelten Fraktionen wurden gefriergetrocknet und der Rückstand vor der immunologischen Messung in Leerserum aufgenommen. Die untersuchten abhängigen kardioaktiven Metabolite wiesen eine relative Antikörperaffinität gegenüber der Muttersubstanz Digoxin bzw. Digitoxin zwischen 111% und 160% auf. Sie konnten somit ohne Empfindlichkeitseinbuße mit dem Digoxin- bzw. Digitoxin-RIA gemessen werden. Der Assay wurde dabei so modifiziert, daß für die einzelnen Metabolite jeweils eine eigene Standard-Eichkurve erstellt wurde.

Ergebnisse und Diskussion

Digoxin-Kollektiv

Tabelle 1 zeigt die Zusammenstellung der wichtigsten klinischen und pathologisch-anatomischen Befunde. Die tägliche Erhaltungsdosis der Digoxin-behandelten Patienten lag zwischen 0,2 mg und 0,4 mg. Die kürzeste Behandlungsdauer betrug sechs Tage. In einem Fall (H) erfolgte nach vorheriger Lanitop-Einnahme eine stationäre Behandlung mit Digitoxin. Bei dem Patienten I wurde die Glykosidmedikation während seines 10tägigen stationären Aufenthaltes abgesetzt. Tabelle 2 gibt einen Überblick über die quantitative Metabolitenaufschlüsselung im Herz- und Nierengewebe sowie den summarisch gemessenen Blutglykosidspiegel. Mittelwerte, Standardabweichung und Bereichsgrenzen der Gewebegehalte von 6 Patienten unter Dauertherapie mit β -Acetyldigoxin sind in einem Säulendiagramm zusammengefaßt (Abb. 3).

Es zeigte sich, daß unter Zugrundelegung klinischer Serumkonzentrationskriterien die Blutspiegel der untersuchten Digoxin-Patienten alle im potentiellen ($\geq 2,3$ ng/ml, $\leq 4,0$ ng/ml) und z.T. im manifesten ($> 4,0$ ng/ml) Intoxikationsbereich lagen. Die Schwankungsbreite der Blutglykosidkonzentrationen war im therapeutischen Digoxin-Kollektiv ($n = 7$, ohne H, I) groß. Der mittlere Vollblutglykosidspiegel betrug $6,6 \pm 5,6$ ng/ml. Wie bereits aus vorhergehenden Studien bekannt [3, 17, 18, 22, 34, 35] findet sich postmortal im Blut, und zwar besonders im Herzblut und den herznahen großen Gefäßen [3, 34], ein deutlicher Konzentrationsanstieg gegenüber den präfinalen Werten. Dieser Umstand kann auf einen postmortal einsetzenden Rückdiffusionsprozeß zwischen den in der Regel höher anreichernden Organgeweben und dem interstitiellen und Plasmaraum zurückgeführt werden [3, 34].

Die untersuchten Organe zeigten für den Hauptmetaboliten DG-3 (Abkürzung wie in Tabelle 2 und Abb. 3) einen breiten Streubereich der gemessenen Organgehalte. Die Patienten unter Dauertherapie mit β -Acetyldigoxin (A-F) wiesen linksventrikuläre DG-3-Gehalte zwischen 19,8 und 80,9 ng/g bei einem Mittelwert von $46,1 \pm 25,0$ ng/g auf. Die untersuchten Nierenproben lagen im Bereich zwischen 23,2 und 89,8 ng/g bei einem Mittelwert von $50,3 \pm 30,3$ ng/g. Von der unveränderten Ausgangssubstanz β -Ac-DG fanden wir im Herz- und Nierengewebe nur geringe Organgehalte zwischen 0 und 4,3 ng/g. Neben DG-3, sofern man dieses als Metabolisierungsprodukt des halbsynthetischen Derivates auffaßt, bildete das Bisdigitoxosid mit $11,0 \pm 5,1$ ng/g im Herzen und $13,6 \pm 3,5$

Tabelle 1. Personenbezogene Daten, pathologische Befunde und Dosierungsplan der in der Klinik verstorbenen Patienten, die nach Digoxin-Medikation untersucht wurden

Patient	Alter in Jahren	Größe in m	Körper- gewicht in kg	Zeit zwischen † und Sektion in h	Glykosiddosierung vor †	Herz- gewicht in g	Nieren- gewicht in g	Diagnose bzw. Sektionsbefund
A	61	1,75	65	30	* 0,2 mg Novodigal, 60 h vor † 0,4 mg	690	160/160	Lungenembolie
B	75	1,53	55	24	* 0,4 mg Novodigal	450	140/140	Akute Bronchopneumonie, rezidiv. Lungenembolien
C	78	1,70	61	31	12 d 0,2 mg Novodigal	420	170/170	Bronchialcarcinom
D	57	1,50	42	78	6 d 0,3 mg Novodigal	280	115/115	Portiocarcinom, Broncho- pneumonie
E	74	1,60	70	24	12 d 0,3 mg Novodigal	440	150/150	Herzinfarkt
F	64	1,82	81	43	21 d 0,3 mg Novodigal	400	270/300	Herz- und Kreislaufversagen bei Crush-Nieren
G	78	1,70	68	30	* 0,2 mg Lanitop	340	260/260	Herzinsuffizienz, Diabetes mellitus
H	76	1,55	67	19	* bis 5 d vor † 0,2 mg Lanitop, ab 5 d vor † Umstellung auf Digimerck	470	240/?	Herzinfarkt, Diabetes mellitus
I	76	1,75	78	76	* bis 10 d vor † 0,3 mg Novodigal, ab 10 d vor † kein Glykosid	600	180/180	Bronchialcarcinom

* bedeutet Dauermedikation > 30 Tage

Tabelle 2. Verteilung von Digoxin, seinen Derivaten und abhängigen kardioaktiven Metaboliten im postmortalen Herz- und Nierengewebe bei Patienten nach therapeutischer Behandlung mit Digoxin-Präparaten. Die zugehörigen Blutkonzentrationen wurden ohne Metabolitenaufschlüsselung summarisch mit einem Digoxin-RIA gemessen

Patient	Verabreichtes Glykosid	Gewebe	Gehalt, Konzentration (ng/g bzw. ng/ml)					
			DG-3	β-Ac-DG	β-Met-DG	DG-2	DG-1	DG-0
A	Novodigal	Herz	74,8	4,0	—	9,1	3,8	4,4
		Niere	43,8	0,0	—	10,6	1,2	1,4
		Blut	2,3	—	—	—	—	—
B	Novodigal	Herz	80,9	3,4	—	20,7	5,9	6,8
		Niere	89,8	4,3	—	17,4	4,9	5,3
		Blut	10,7	—	—	—	—	—
C	Novodigal	Herz	23,2	0,0	—	6,5	1,2	1,6
		Niere	16,9	2,9	—	8,1	2,4	3,0
		Blut	4,4	—	—	—	—	—
D	Novodigal	Herz	29,6	3,6	—	10,3	2,8	2,5
		Niere	81,3	2,9	—	15,6	4,0	3,0
		Blut	2,7	—	—	—	—	—
E	Novodigal	Herz	34,8	2,7	—	11,4	3,5	2,9
		Niere	49,8	2,5	—	14,4	3,3	3,1
		Blut	4,6	—	—	—	—	—
F	Novodigal	Herz	33,3	2,7	—	7,8	2,7	2,3
		Niere	20,1	0,0	—	15,7	2,2	1,7
		Blut	17,7	—	—	—	—	—
G	Lanitop	Herz	19,8	—	—	7,0	2,0	3,0
		Niere	57,4	—	32,6	5,6	3,2	4,9
		Blut	4,0	—	65,8	—	—	—
H	Lanitop, Digimerck	Herz	8,1	—	—	4,6	1,8	2,2
		Niere	5,8	—	—	7,3	3,5	2,2
		Blut	4,5	—	—	—	—	—
I	Novodigal	Herz	10,4	0,0	—	4,6	2,1	1,9
		Niere	1,5	0,0	—	6,6	1,2	1,8
		Blut	0,0	—	—	—	—	—

DG-3 = Digoxin, β -Ac-DG = β -Acetyldigoxin, β -Met-DG = β -Methyldigoxin, DG-2 = Digoxigenin-bisdigtoxosid, DG-1 = Digoxigenin-monodigtoxosid, DG-0 = Digoxigenin

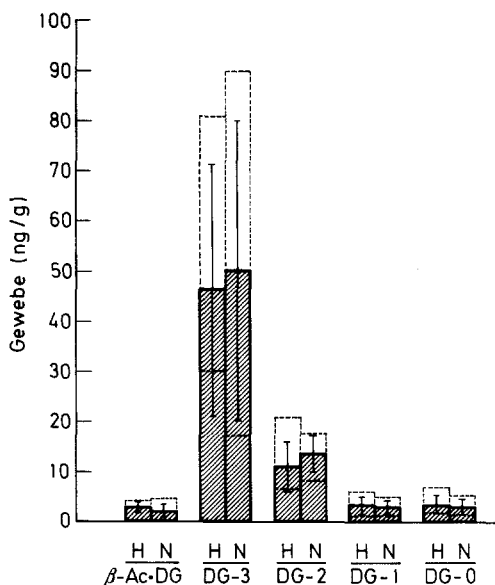


Abb. 3. Säulendarstellung der durchschnittlichen Metabolitenverteilung im Gewebe von 6 Patienten unter Dauertherapie mit β -Acetyldigoxin. Darstellung von Standardabweichung und Bereichsgrenzen (gestrichelte Linien). Legende zur Metabolitenabkürzung wie in Tabelle 2

ng/g in der Niere den zweitbedeutendsten Metaboliten. Es stellte einen Anteil an den gemessenen kardioaktiven Substanzen von 16,5% im Herzen und 18,9% in der Niere. Das Monodigitoxosid und das Genin spielten mit einem durchschnittlichen Gehalt von ca. 3 ng/g in Herz und Niere nur eine untergeordnete Rolle.

Die genannten Werte gelten streng genommen allein für die Behandlung mit dem halbsynthetischen Präparat β -Acetyldigoxin. Dieses kann in seiner metabolischen Verteilung aber wahrscheinlich mit dem reinen Digoxin gleichgesetzt werden, da es nach vorliegenden Studien noch während seiner Resorption in der Darmmucosa eine Deacetylierung erfährt [4, 6, 31].

Eine deutlich unterschiedliche Metabolitenkonstellation sahen wir bei einer Patientin unter Dauertherapie mit β -Methyldigoxin (Tabelle 2). In diesem Fall war ein bedeutsamer und quantitativ den DG-3-Gehalt übersteigender Anteil an unveränderter Ausgangssubstanz β -Met-DG nachzuweisen. Dieser macht ca. die Hälfte des Gesamtanfalls an kardioaktiven Substanzen aus. Die Verteilung der übrigen kardioaktiven Metabolite glich in der Abstufung etwa dem β -Acetyldigoxin-Kollektiv.

Digoxin-Intoxikation

Abbildung 4 zeigt die Metabolitenverteilung im Gewebe einer suizidalen Digoxin-Vergiftung. Die zugehörigen anamnestischen Daten sind in Tabelle 3 aufgeführt.

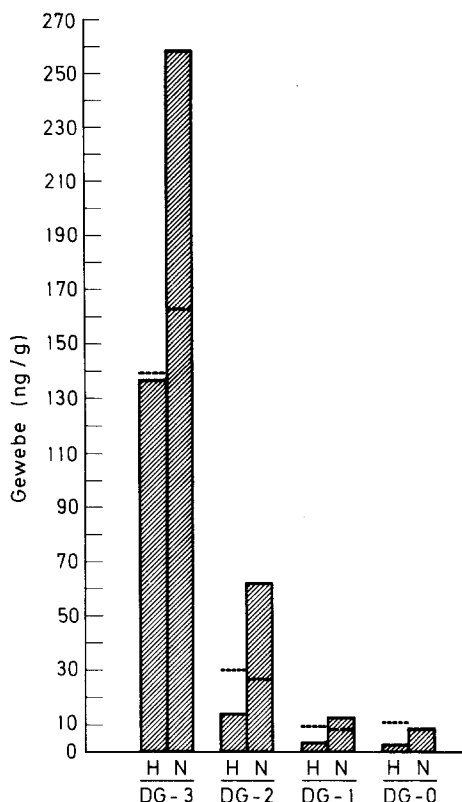


Abb. 4. Säulendarstellung der Metabolitenverteilung im Gewebe eines Falles mit suizidaler Digoxin-Vergiftung. Darstellung der Toleranzgrenze unter der mit 95% Wahrscheinlichkeit wenigstens 95% der Grundgesamtheit mit therapeutischen Gewebegehalten liegt (bezogen auf das Kollektiv in Abb. 3 unter Normalverteilung). H = Herzgewebe (li. Ventrikel), N = Nierengewebe. Legende zur Metabolitenabkürzung wie in Tabelle 2

Die im Vergiftungsfall gemessene Vollblutkonzentration erlaubte mit 18,5 ng/ml keine eindeutige Abgrenzung gegenüber den Werten des therapeutisch behandelten Kollektivs.

Der DG-3-Gehalt im Herzen überstieg den höchsten therapeutisch gemessenen Wert um den Faktor 1,7. Für die Niere ergab sich bei diesem Vergleich ein Faktor von 2,9. In bezug auf das therapeutische Digoxin-Kollektiv wurde unter Annahme einer Normalverteilung für alle Metabolite die statistische obere Toleranzgrenze bestimmt, unter welcher mit 95%iger Wahrscheinlichkeit wenigstens 95% der Gewebegehalte der therapeutischen Grundgesamtheit liegen. Im Nierengewebe wurden diese Grenzen vom DG-3-Spiegel mit 258,2 ng/g und vom DG-2-Spiegel mit 61,7 ng/g weit übertroffen. Die Spiegel der übrigen Metabolite DG-1 und DG-0 waren zwar noch absolut gesehen erhöht, fielen aber bereits in die Nähe hoher therapeutischer Werte. Im Herzgewebe unterschritt DG-3 mit 136,4 ng/g knapp die obere Toleranzgrenze. Die übrigen Metabolite DG-2, DG-1 und DG-0 kamen im Herzgewebe mit deutlich geringerem, im therapeutischen Niveau liegendem Gehalt vor.

Tabelle 3. Personenbezogene Daten und Sektionsbefund im Falle eines Suizides mit Verdacht auf Ingestion einer tödlichen Menge Herzglykosides

Patient	Alter in Jahren	Größe in m	Körper- gewicht in kg	Zeit zwischen † und Sektion in h	Glykosiddosierung vor †	Herz- gewicht in g	Nieren- gewicht in g	Diagnose bzw. Sektionsbefund
V	35	1,67	107	24	Vermutlich 300 Tabletten Lanicor	370	200/200	Arzneimittelintoxikation

Tabelle 4. Personenbezogene Daten, pathologische Befunde und Dosierungsplan der in der Klinik verstorbenen Patienten, die nach Digitoxin-Medikation untersucht wurden

Patient	Alter in Jahren	Größe in m	Körper- gewicht in kg	Zeit zwischen † und Sektion in h	Glykosiddosierung vor †	Herz- gewicht in g	Nieren- gewicht in g	Diagnose bzw. Sektionsbefund
K	70	1,55	48	28	* bis 3 d vor † 0,2 mg Digimerck, ab 3 d vor † 0,1 mg	450	90/ 90	Aorten- und Mitralklappenstenose, obturierender Vorhofflimmern
L	75	1,54	54	33	11 d 0,1 mg Digimerck	415	140/140	Zustand nach Hypothermie, Bronchopneumonie
M	91	1,45	44	34	* bis 3 d vor † 0,1 mg Digimerck, ab 3 d vor † 0,07 mg	295	100/100	Mammakarzinom, Herz- und Kreislaufversagen
N	69	1,52	60	33	* 0,1 mg Digimerck	350	150/150	Abszedierte Pyelonephritis, Diabetes mellitus
O	77	1,53	42	35	* 0,07 mg Digimerck	440	130/130	Leberabszess bei perforier. Cholecystitis, Diabetes mellitus
P	68	1,73	67	23	16 d 0,1 mg Digimerck	480	140/140	Herzinfarkt, Prostatakarzinom mit Metastasen
Q	81	1,55	60	28	17 d 0,1 mg Digimerck	450	140/140	Akute Bronchopneumonie, Herzinsuffizienz

* bedeutet Dauermedikation > 30 Tage

Metabolitenkonstellation und Dosierungsmodus

Es fällt auf, daß absolut hohen DG-1-Gehalten auch hohe DG-0-Werte zugeordnet sind und für niedrige Meßwerte das Entsprechende gilt. Diese Beziehung ist bei einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,8570$ hoch signifikant ($P < 0,001$, $n = 18$, Herz und Niere). Unter Dauertherapie bestätigt sich zudem eine positive Korrelation zwischen dem Gehalt von DG-3 und den abhängigen Metaboliten DG-1 und DG-0:

DG-3 – DG-0, $r = 0,7611$, $P < 0,01$, $n = 12$, Herz und Niere

DG-3 – DG-1, $r = 0,7974$, $P < 0,01$, $n = 12$, Herz und Niere

Liegt eine längere Digoxin-Medikationspause vor dem Tode (H und I), so fallen bei geringerem DG-3-Gehalt noch vergleichsweise hohe Spiegel von DG-2, DG-1 und DG-0 auf. Eine mögliche Erklärung dieses Umstandes läge in einer höheren Gewebe-Eliminationshalbwertszeit der durch sukzessive Zuckerspaltung zunehmend lipophil werdenden Cardenolide. In diesem Zusammenhang ist das Metabolitenverhältnis von DG-3 zu DG-0 im Myokard interessant. Es liegt bei dem Patienten I mit einer Medikationspause von 10 Tagen vor dem Tode bei 5,5. Im therapeutischen Digoxin-Kollektiv ($n = 6$) finden sich bei ununterbrochener Langzeitbehandlung DG-3/DG-0-Quotienten im Herzen zwischen 11,9 und 17,0. Im Falle der akuten Digoxin-Intoxikation erreicht das Verhältnis mit 54,5:1 seinen Höchstwert.

Die gefundene Konstellation kann dafür sprechen, daß im Vergiftungsfall der Tod eingetreten war, bevor eine ausgeprägte körpereigene Digoxinmetabolisierung bzw. Metabolitenaufnahme im Myokard möglich war. Da die Entstehung der kardioaktiven Metabolite durch sukzessive hydrolytische Spaltung ein zeitabhängiger Prozeß ist [12], kann sich demgegenüber unter Langzeittherapie ein myokardiales Equilibrium einstellen.

Digitoxin-Kollektiv

Tabelle 4 zeigt die Zusammenstellung der wichtigsten klinischen und pathologisch-anatomischen Befunde von 7 Patienten unter einer Dauertherapie mit Digitoxin. Die verabreichten täglichen Dosen lagen zwischen 0,07 und 0,2 mg bei einer Medikationsdauer von mindestens 11 Tagen. Die Verteilung der abhängigen kardioaktiven Metaboliten einschließlich des durch Hydroxylierung entstehenden Digoxins sind in Tabelle 5 und Abb. 5 dargestellt.

Die summarisch bestimmten Blutglykosidspiegel (Tabelle 5) zeigten im Gegensatz zum Digoxin-Kollektiv eine recht homogene Verteilung. Mit Konzentrationen zwischen 11,5 und 28,0 ng/ml überschritt kein Wert den potentiell toxischen Grenzwert von 30 ng/ml. Der mittlere Digitoxin-Spiegel betrug $15,7 \pm 5,7$ ng/ml. Dieses vom Digoxin-Kollektiv deutlich abweichende Blutspiegelverhalten ist möglicherweise auf den weitaus geringeren Gewebe/Blut-Konzentrationsgradienten von Digitoxin zurückzuführen. Ein geringerer Gradient führt entsprechend zu einem langsameren und prozentual weniger bedeutsamen postmortalen Blutspiegelanstieg. Die hohe Eiweißbindung des Moleküls (Serum-Eiweißbindung ca. 97%) ist auch intrazellulär im Organgewebe anzunehmen [33] und kann den Diffusionsausgleich zusätzlich begrenzen.

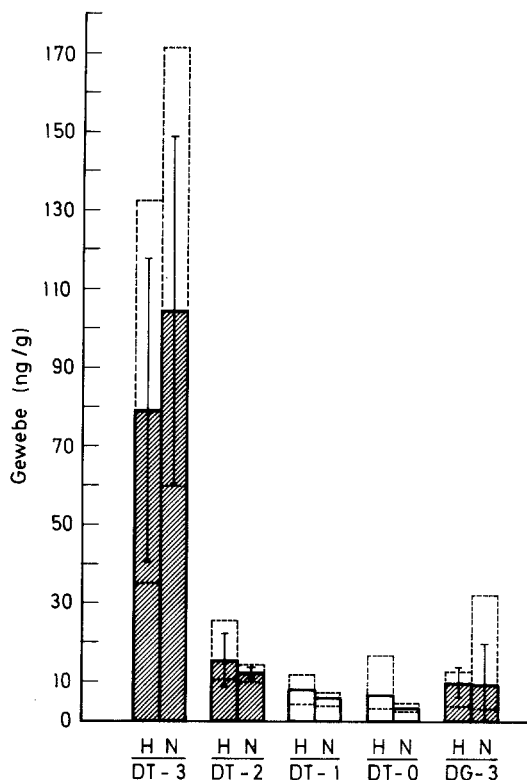


Abb.5. Säulendarstellung der durchschnittlichen Metabolitenverteilung im Gewebe von 7 Patienten unter Dauertherapie mit Digitoxin. Darstellung von Standardabweichung und Bereichsgrenzen (gestrichelte Linien). Die für DT-1 und DT-0 aufgeführten Mittelwerte und unteren Bereichsgrenzen sind im Gegensatz zu den oberen Bereichsgrenzen aus meßtechnischen Gründen nicht mehr präzise. Sie können aber als größenordnungsmäßiger Anhalt dienen. H = Herzgewebe (li. Ventrikel), N = Nierengewebe. Lebende zur Metabolitenabkürzung wie in Tabelle 2

Im Gewebe bestand ebenso wie im Digoxin-Kollektiv eine relativ große Spannweite der gemessenen DT-3-Gehalte. Diese lagen im linken Ventrikelmyokard zwischen 34,9 ng/g und 132,1 ng/g mit einem Mittelwert von $78,9 \pm 38,4$ ng/g. Die Nierengehalte wiesen bei einer Spannweite von 59,7 ng/g bis 171,4 ng/g einen Mittelwert von $104,1 \pm 44,1$ ng/g auf. In allen untersuchten Fällen war ein Überwiegen des DT-3-Gehaltes in der Niere festzustellen. Der quantitativ zweitbedeutendste Metabolit war, wie in der Digoxin-Gruppe, das Bisdigoxosid. Sein Gehalt betrug durchschnittlich $15,4 \pm 6,5$ ng/g im Herzen und $11,9 \pm 1,5$ ng/g in der Niere. Die übrigen Metabolite DT-1 und DT-0 spielten quantitativ nur eine geringe Rolle. Ihre Gehalte lagen in vielen Fällen bereits unterhalb der exakten Bestimmungsgrenze des verwendeten RIAs. Das Ausmaß des durch 12- β -Hydroxylierung entstehenden Digoxins unter Digitoxin-Behandlung erwies sich im Gewebe als durchaus bedeutend. Der durchschnitt-

Tabelle 5. Verteilung von Digoxin und seinen abhängigen kardioaktiven Metaboliten im postmortalen Herz- und Nierengewebe bei Patienten nach therapeutischer Behandlung mit Digitoxin. Die zugehörigen Blutkonzentrationen wurden ohne Metabolitenauflösung mit einem Digitoxin-RIA gemessen. Die mit * gekennzeichneten Werte liegen an der Bestimmungsgrenze im nicht mehr linearen Bereich der RIA-Messung. Sie sind daher nur als größenordnungsmäßiger Anhalt zu betrachten

Patient	Verabreichtes Glykosid	Gewebe	Gehalt, Konzentration (ng/g bzw. ng/ml)				
			DT-3	DT-2	DT-1	DT-0	DG-3
K	Digimerck	Herz	132,1	25,3	9,2	9,8	12,4
		Niere	153,4	14,2	5,9 *	3,6 *	10,1
		Blut	12,3	—	—	—	—
L	Digimerck	Herz	121,5	12,0	8,4 *	5,8 *	3,7
		Niere	171,4	12,3	5,7 *	2,8 *	2,8
		Blut	28,0	—	—	—	—
M	Digimerck	Herz	71,1	10,3	4,3 *	3,3 *	14,5
		Niere	103,4	11,9	7,1 *	3,0 *	31,9
		Blut	12,8	—	—	—	—
N	Digimerck	Herz	95,1	12,4	10,7	5,5 *	9,4
		Niere	106,5	12,5	6,0 *	4,6 *	7,5
		Blut	16,1	—	—	—	—
O	Digimerck	Herz	34,9	11,9	8,9 *	7,2 *	9,5
		Niere	67,7	9,7	6,3 *	2,8 *	3,3
		Blut	13,3	—	—	—	—
P	Digimerck	Herz	40,9	24,4	11,6	16,7	13,1
		Niere	66,4	12,6	4,1 *	3,8 *	8,3
		Blut	11,5	—	—	—	—
Q	Digimerck	Herz	56,9	11,8	4,5 *	5,5 *	7,5
		Niere	59,7	10,2	5,9 *	4,2	3,2
		Blut	15,9	—	—	—	—

DT-3 = Digitoxin, DT-2 = Digitoxigenin-bisdigitoxosid, DT-1 = Digitoxigenin-monodigitoxosid, DT-0 = Digitoxigenin, DG-3 = Digoxin

liche Digoxin-Spiegel im Myokard betrug $10,0 \pm 3,7$ ng/g. Das entspricht einem Anteil von ca. 8% am Gesamtaufkommen der gemessenen kardioaktiven Metabolite. In der Niere fanden wir einen Extremwert von 31,9 ng/g. Der mittlere Spiegel betrug $9,5 \pm 10,3$ ng/g. Die Höhe des DG-3-Gehaltes korrelierte in keinem der beiden Organe mit dem jeweils gemessenen DT-3-Gehalt.

Vergleich zwischen HPLC-RIA-Messung und DC-Bestimmung

Die in allen Fällen parallel durchgeführten semiquantitativen DC-Messungen bestätigten die mit dem RIA ermittelten Gehalte der Hauptcardenolide (DG-3, β -Met-DG, DT-3 und z. T. DG-2). Es bestand eine lineare Regression zwischen den genannten Meßmethoden mit Korrelationskoeffizienten von $> 0,9240$. Auf immunologische Fehlmessung (z. B. durch unbekannte Kreuzreaktion) verdächtige Extremwerte wie z. B. den hohen DG-3-Nierengehalt von 31,9 ng/g bei einem Patienten unter Digitoxin-Therapie konnten wir mittels DC verifizieren (im genannten Fall DC: 22 ng/g bei diskreten Ablesestufen von 7,3 ng/g).

Vergleichende Betrachtung bisheriger Konzentrationsdaten

Uns sind bisher noch keine weiteren Literaturangaben über die quantitative Aufschlüsselung der kardioaktiven Digoxin-Metabolite im menschlichen Gewebe bekannt. Der direkte Vergleich der hier vorliegenden Ergebnisse mit den bekannten summarischen RIA-Messungen im Gewebe erscheint problematisch. Addiert man Digoxin und alle gemessenen kardioaktiven Metabolite zu einem Gesamtglykosidspiegel, so ergibt sich eine bessere Vergleichbarkeit mit der summarischen RIA-Methode. Es bleibt aber zu berücksichtigen, daß in einem nicht metabolitenspezifischen RIA einzelne Metabolite durch unterschiedliche Antikörperaffinität zu hoch bzw. zu niedrig gemessen werden und daß ohne chromatographische Aufschlüsselung Art und Anzahl der erfaßten Cardenolide im Gewebe unbekannt bleiben.

Mit einem von uns bestimmten Gesamtgehalt im linken Herzventrikel von $66,5 \pm 32,9$ ng/g unter Digoxin-Erhaltungstherapie besteht eine weitgehende Übereinstimmung mit den Befunden von Weinmann et al. [35] ($61,4 \pm 45,1$ ng/g) und Biddle et al. [7] ($70,4 \pm 10,0$ ng/g). Andere Studien bestimmten zum Teil deutlich höhere Gewebespiegel [16, 1] (105 ± 27 ng/g, 190 ± 59 ng/g). Der mittlere Nierengesamtgehalt stellt sich mit $71,9 \pm 35,9$ ng/g gegenüber den bisherigen Literaturvergleichsdaten geringer dar [1, 18, 35] (89,6 ng/g bis 149,0 ng/g). Als mögliche Erklärung für dieses Ergebnis wäre der Umstand zu diskutieren, daß im Nierengewebe der Anteil ausscheidungsfähiger, in dieser Arbeit nicht bestimmter, polarer Metabolite höher liegt.

Okita et al. [25] gelang mit biosynthetisch markiertem ^{14}C -Digitoxin erstmals der genügend empfindliche Nachweis von Digitoxin im Gewebe. Unverändertes Digitoxin bestimmten sie im Myokard ebenso wie in der Niere nur in einer Größenordnung von 20 ng/g. Nicht weiter spezifizierte Metabolite traten im Herzen bis zur doppelten, in der Niere bis zur fünffachen Menge der Muttersubstanz auf. Lukas [21] bestimmte ebenfalls mittels Tracer-Technik bei 4 Patienten unter Digitoxin-Dauertherapie Herzglykosidspiegel zwischen 99 und

205 ng/g und Nierengehalte zwischen 117 und 219 ng/g. Die einzige Studie, die sich eingehend mit der Metabolitenaufschlüsselung von Digitoxin im Herzwewebe beschäftigt, stammt von Storstein [33]. Bei 5 Patienten unter Erhaltungstherapie stellt unverändertes Digitoxin mit 54,7% den Hauptanteil der gemessenen kardioaktiven Substanzen (DT-3, DT-2, DT-1, DT-0 und DG-3, DG-2, DG-1, DG-0). Die durch Hydroxylierung entstandenen Digoxin-Metabolite beteiligten sich mit 12% an diesem Aufkommen. Aderjan [2] ermittelte bei einem Kollektiv von 10 Patienten unter Langzeitbehandlung einen summarischen Digitoxin-Spiegel im linken Ventrikel von $181,7 \pm 82,2$ ng/g. Digoxin und seine zuckerärmeren Metabolite bestimmte er in einer Fraktion zu $1,46 \pm 1,2$ ng/g. In diesem Zusammenhang ist interessant, daß bei einer kinetischen in vitro-Untersuchung mit menschlichem Leberhomogenat keine Hydroxylierung des Geninkerns festzustellen war [32]. Auch die komplette Digitoxosen-Abspaltung vom Digitoxin-Molekül zum freien Genin trat nicht auf. Wir fanden ebenso wie Storstein unverändertes Digitoxin als Hauptcardenolid im Myokard. Der Gehalt von Digoxin stellte mit $10,0 \pm 3,7$ ng/g einen Anteil von ca. 8% am Gesamtaufkommen der gemessenen kardioaktiven Substanzen (DT-3, DT-2, DT-1, DT-0 und DG-3).

Literatur

1. Aderjan R (1981) Tödliche Vergiftungen mit Herzglykosiden. Nachweis und rechtsmedizinisch toxikologische Befundbewertung. Habilitationsschrift Heidelberg
2. Aderjan R (1983) Digitoxin-Konzentrationen in postmortal entnommenen Blut- und Gewebeproben des Menschen nach therapeutischer Dosierung. In: Gillmann H, Storstein L (Hrsg) Digitalistherapie heute. Verlag für angewandte Wissenschaften, München, S 49–57
3. Aderjan R, Mattern R (1980) Zur Wertigkeit postmortaler Digoxin-Konzentrationen im Blut. Z Rechtsmed 86: 13–20
4. Bente HF (1971) Renale Ausscheidungsprodukte von Alpha- und Beta-Acetyldigoxin. Therapiewoche 21: 2186–2190
5. Bente HF (1975) Organverteilung verschiedener Herzglykoside. In: Jahrmärkter H (Hrsg) Digitalistherapie. Springer Verlag, New York, S 19–37
6. Bergmann K, Abshagen U, Rietbrock N (1972) Quantitative analysis of digoxin, 4'''-acetyldigoxin and 4'''-methylidigoxin and their metabolites in bile and urine of rats. Arch Pharmacol 273: 154–167
7. Biddle TL, Weintraub M, Lasagna L (1978) Relationship of serum and myocardial digoxin concentration to electrocardiographic estimation of digoxin intoxication. J Clin Pharmacol 18: 10–15
8. Brisse B, Müller KM, Bender F, Harder K (1977) Digoxinspiegel in verschiedenen Abschnitten des menschlichen Myokards. Verh Dtsch Ges Inn Med 83: 1673–1676
9. Caroll PR, Gelbart A, O'Rourke MF, Shortus J (1973) Digoxin concentrations in the serum and myocardium of digitalised patients. Aust NZJ Med 3: 400–403
10. Coltart J, Howard M, Chamberlain D (1972) Myocardial and skeletal muscle concentrations of digoxin in patients on longterm therapy. Br Med J 2: 318–319
11. Doherty JE, Perkins WH, Ackerman GL (1967) The distribution and concentration of triated digoxin in human tissues. Ann Intern Med 66: 116–124
12. Doherty JE, Kane JJ (1973) Clinical pharmacology and therapeutic use of digitalis glycosides. Drugs 6: 182–221
13. Gault MH, Longerich LL, Loo JCK, Ko PTH, Fine A, Vasdev SC, Dawe MA (1984) Digoxin biotransformation. Clin Pharmacol Ther 35: 74–82
14. Graves PE, Perrier D, Marcus FI (1983) Quantitation of digitoxin and the bis- and monodigitoxosides of digitoxigenin in serum. J Chromatogr 278: 397–405

15. Güllner HG, Stinson EB, Harrison DC, Kalman SM (1974) Correlation of serum concentrations with heart concentrations of digoxin in human subjects. *Circulation* 50:653–655
16. Haasis R, Larbig D, Stunkat R, Bader H, Seboldt H (1977) Radioimmunologische Bestimmung der Glykosidkonzentration im menschlichen Gewebe. *Klin Wochenschr* 55:23–30
17. Iisalo E, Nuutila M (1973) Myocardial digoxin concentrations in fatal intoxications. *Lancet* I:257
18. Karjalainen J, Ojala K, Reissel P (1974) Tissue concentrations of digoxin in autopsy material. *Acta Pharmacol Toxicol* 34:385–390
19. Loo JCK, McGilveray IJ, Jordan N (1977) Quantitation of digoxigenin in serum following oral administration of digoxin in humans. *Res Comm Chem Path Pharmacol* 17:497–506
20. Loo JCK, McGilveray IJ, Jordan N (1981) The estimation of serum digoxin by combined HPLC separation and radioimmunological assay. *J Liquid Chromatogr* 4:879–886
21. Lukas DS (1971) Some aspects of the distribution and disposition of digitoxin in man. *Ann NY Acad Sci* 179:338–361
22. Margot PA, Finkle BS, Peat MA (1983) Analysis and problems of interpretation of digoxin in postmortem blood and tissues. *Proc West Pharmacol Soc* 26:393–396
23. Morais JA, Zlotnicki RA, Sakmar E, Stetson PL, Wagner JG (1981) Specific and sensitive assays for digoxin in plasma, urine and heart tissue. *Res Comm Chem Path Pharmacol* 31:285–298
24. Nelson HA, Lucas SV, Gibson TP (1979) Isolation by high performance liquid chromatography and quantitation by radioimmunoassay of therapeutic concentrations of digoxin and metabolites. *J Chromatogr (Biomed Appl)* 163:169–177
25. Okita GT, Talso PJ, Curry JH, Smith FD, Geiling EMK (1955) Metabolic fate of radioactive digitoxin in human subjects. *J Pharmacol Exp Ther* 115:371–379
26. Peters U, Hengels KJ, Hausamen TV, Grosse-Brockhoff F (1975) Einfluß von Rifampicin auf den Metabolismus des Digitoxins. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 81:1675–1676
27. Plum J (1984) Postmortaler Nachweis von Digitalisglykosiden beim Menschen. *Dissertation Düsseldorf*
28. Plum J, Daldrup T (1985) Separation of digoxin, digitoxin, their semi-synthetic derivatives and cardioactive metabolites by high-performance liquid chromatography (in Vorbereitung)
29. Rietbrock N, Vöhringer HF, Kuhlmann I (1977) Der Metabolismus herzwirksamer Glykoside. *Herz Kreislauf* 9:825–832
30. Rietbrock N, Woodcock BG (1981) Pharmacokinetics of digoxin and derivatives. In: Greef K (ed) *Cardiac glycosides. Handbook of experimental pharmacology*, vol 56/II. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 31–56
31. Ruiz-Torres A, Burmeister H (1972) Stoffwechsel und Kinetik von β -Acetyldigoxin. *Klin Wochenschr* 50:191–195
32. Schmoldt A (1984) Untersuchungen zum Metabolismus der Digitalisglykoside. *Beitr Gerichtl Med* 42:95–101
33. Storstein L (1977) Studies on digitalis. X. Digitoxin metabolites in human myocardium and relationship between myocardial and serum concentrations of digitoxin in patients on maintenance treatment. *Clin Pharm Ther* 21:395–408
34. Vorpahl TE, Coe JI (1978) Correlations of ante and postmortem digoxin levels. *J Forens Sci* 23:329–334
35. Weinmann J, Hasford J, Kuhlmann J, Bippus PH, Lichey J, Rietbrock N (1979) Digoxinkonzentrationen in Plasma und Gewebe. *Med Klin* 74:613–619

Eingegangen am 22. Januar 1985