

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf
Direktor Herr Prof. Dr. med. Klaus Püschel

Fentanylkonzentrationen im Blut von Verstorbenen im Vergleich zu Lebenden

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Annemarie Susanne Gullans
aus Stuttgart

Hamburg 2008

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am: 9.4.2009

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Professor Dr. med. A. Schmoltd

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: Professor Dr. med. H. Beck

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: Professor Dr. med. K. Püschel

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg (Direktor Prof. Dr. med. Klaus Püschel) in der Zeit von November 2003 bis Dezember 2008 angefertigt.

Danksagungen

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Achim Schmoldt, Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, möchte ich für die Überlassung des Themas danken.

Bei meiner Betreuerin Frau Dr. rer. nat. Hilke Andresen, Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, bedanke ich mich besonders für die intensive Betreuung.

Bei Herrn Professor Dr. med. Klaus Püschel möchte ich mich insbesondere für die kritische Durchsicht der Arbeit bedanken.

Den Mitarbeitern des Fachbereichs Toxikologie danke ich für die gute Zusammenarbeit, ganz besonders Herrn Alexander Müller für die Analyse der Fentanyl-extrakte per LC/MS.

Meiner Mitdoktorandin Michele Veselinovic danke ich für die Blutentnahmen der Verstorbenen im Krematorium Öjendorf.

Herzlichen Dank an Herrn Prof. Dr. med. Helge Beck, Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie des UKE, für seine Bereitschaft die Studie zu unterstützen und an Frau Dr. med. Kamayni Agarwal, Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie des UKE, sowie die weiteren beteiligten Mitarbeiter für die Gespräche mit den Patienten bezüglich der Einverständniserklärung und den Blutentnahmen.

Ich danke Herrn Dr. med. Sven Anders und allen anderen Rechtsmedizinern für die Übermittlung der Totenscheine der Verstorbenen aus dem Krematorium Öjendorf.

Herrn Professor Dr. rer. nat. Hans-Peter Beck-Bornholdt möchte ich ganz besonders für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung und vor allem für sein hervorragendes Doktorandenseminar danken, welches immer wieder einen Ansporn für die Fertigstellung der Dissertation gab.

Der Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie des Universitätsklinikums Eppendorf möchte ich für die Bereitstellung der Blute der lebenden Probanden ganz herzlich danken.

Bei der Johanna und Fritz Buch Gedächtnis-Stiftung bedanke ich mich für die finanzielle Unterstützung unserer Studie.

Herrn Dr. jur. Jörn Kuckuk danke ich für das Korrekturlesen und für die wertvollen Kommentare und Anregungen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
1 Einleitung	1
1.1 Einführung.....	1
1.1.2 Geschichte des Fentanyls	1
1.1.3.1 Aufbau des transdermalen Pflasters (Durogesic®).....	2
1.1.3.2 iPATS	3
1.1.4 Anwendungsgebiete für Durogesic®	4
1.1.4.1 Gegenanzeigen	4
1.1.5 Pharmakokinetik.....	4
1.1.5.1 „steady state“	5
1.1.5.2 Maximale Serumkonzentrationen	5
1.1.5.3 Die transdermale Absorption beeinflussende Faktoren	5
1.1.5.3.1 Blutfluss in der Haut	6
1.1.6 Pharmakodynamik.....	6
1.1.6.1 Wirkort	7
1.1.7 Unerwünschte andere Wirkungen	8
1.1.7.1 Respiratorische Effekte	8
1.1.7.2 Gastrointestinale Effekte	8
1.1.8 Metabolisierung.....	8
1.1.8.1 Interaktionen mit anderen Medikamenten.....	8
1.1.9 Missbrauch/Intoxikation.....	9
1.1.9.1 Pflasterüberdosierung.....	9
1.1.9.2 Intravenöser Missbrauch	9
1.1.9.3 Intoxikation mit bereits benutzten Pflastern.....	10
1.1.9.4 Inhalativer Missbrauch.....	10
1.1.9.5 Intoxikation aufgrund einer veränderten Pharmakokinetik.....	10
1.1.9.6 „China White“	11
1.1.9.7 Übergreifende Studien.....	11
2 Fragestellung	12
3 Material	13
3.1 Chemikalien	13
3.1.1 Reagenzien und Puffer:	13
3.2 Immunoassay.....	13
3.3 Humanes Untersuchungsmaterial.....	13
4 Methoden.....	15
4.1 Probanden.....	15
4.1.1 Auswahl der verstorbenen Probanden.....	15
4.1.2.1 Auswahl der lebenden Patienten	15
4.2 Bestimmung von Fentanyl im Serum/ Leichenblut mittels LC/MS.....	16
4.2.1 Prinzip der Methode	16
4.2.2 Referenzsubstanzen.....	16
4.2.3 Arbeitslösungen.....	16
4.2.4 Proben und Kontrollaufarbeitung.....	16
4.2.5 Durchführung der Analyse per LC/MS	17
4.2.5.3 Die Elektrospray Ionization (ESI).....	18
4.2.5.4 Die Fragmentierung des Fentanyls.....	18
4.2.6 Auswertung	19
4.3.1 Immunoassay.....	20
5 Ergebnisse	21

5.1 Validierung der LC/MS-MS Methode	21
5.2 Ergebnisse der verstorbenen Probanden	22
5.3 Ergebnisse der lebenden Patienten	25
5.4 Alter bei lebenden Patienten und Verstorbenen	27
5.5 Liegezeit der Verstorbenen bis zur Blutabnahme	31
6 Diskussion	32
6.1 Diskussion der angewandten Methodik	32
6.1.1 Einführung in die verwendete Methodik.....	32
6.1.2 Liquid chromatography, mass spectrometry (LC/MS)- Entwicklung der Methode	32
6.1.3 Studien zum Nachweis von Fentanyl.....	33
6.1.4 Diskussion der in unserer Studie ermittelten Validierungsdaten	33
6.2 Immunoassay.....	35
6.3 Übersicht der Ergebnisse.....	35
6.4 Fentanylkonzentrationen in der Literatur.....	36
6.5 Fentanyl im Alter	40
6.6 Liegezeit der Verstorbenen	41
6.7 Vergleich Serum vs. Vollblut.....	42
6.8 Pharmakogenetik.....	43
6.9 Postmortale Umverteilung von Substanzen im Blut	43
6.10 Schlussfolgerungen	45
7 Zusammenfassung	46
8 Literaturverzeichnis.....	47
9 Anhang	56
Anhang 1: Dokumentationsbogen für Verstorbene.....	56
Anhang 2: Anamnesebogen der Verstorbenen für den Hausarzt/ das Krankenhaus.....	57
Anhang 3: Anamnesebogen der lebenden Patienten, Teil 1.....	58
Anhang 4: Anamnesebogen der lebenden Patienten, Teil 2.....	59
Anhang 5: Informationsblatt für lebenden Patienten	60
Anhang 6: Einwilligungserklärung /Datenschutz lebende Patienten	61
Anhang 7: Einverständniserklärung der lebenden Patienten zur Fentanylstudie	62
Anhang 8: Validierungsprotokoll für postmortales Blut.....	65
Lebenslauf	66
Erklärung.....	67

1 Einleitung

1.1 Einführung

Fentanyl ist ein synthetisches Opioid mit rasch einsetzender (2-3 min) und kurz anhaltender analgetischer Wirkung (30-60 min) nach intravenöser Gabe. Fentanyl ist 75-100fach stärker wirksam als Morphin. Fentanyl gehört nach WHO Stufenschema für Schmerzen zur Klasse 3. Der IUPAC- Name lautet: N-phenyl-N-(1-(2-phenylethyl)-4-piperidiny)l) propanamid. Nachfolgend ist die Strukturformel des Fentanyls abgebildet.

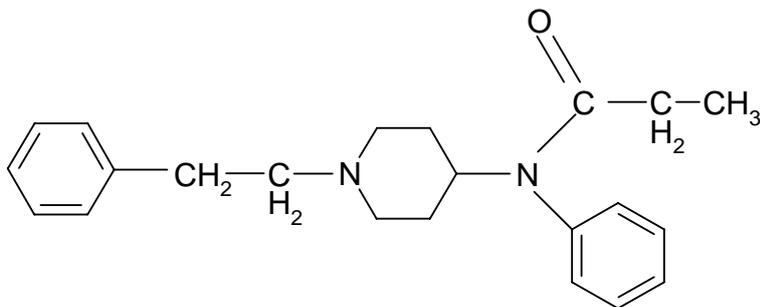


Abb.1 Strukturformel des Fentanyls.

Das Molekulargewicht der Fentanylbase beträgt 336,5; der pKa ist 8,4, die Summenformel C₂₂H₂₈N₂O.

1.1.2 Geschichte des Fentanyls

Fentanyl wurde 1963 von Janssen Pharmaceutica in Belgien in den europäischen und in den siebziger Jahren in den amerikanischen Markt eingeführt.

Fentanyl ist z.B. als Citratsalz in einer Injektionslösung (50 µg/ml) erhältlich.

Es ist als Schmerzmittel bei Narkosen und in der postoperativen Schmerztherapie zugelassen (Smialek et al., 1994). Fentanyl wird auch als Prämedikation vor schmerzhaften Eingriffen als oral transmukosales Fentanylcitrat (OTFC) bei Kindern und Erwachsenen in den USA eingesetzt (Egan et al., 2000, Macaluso et al., 1996, Schechter et al., 1995). Die Anflutungsgeschwindigkeit ist hier so hoch wie bei der intravenösen Gabe (Streisand et al., 1991). OTFC in Deutschland noch nicht zugelassen.

1.1.3 Entwicklung des transdermalen Pflasters (Durogesic®)

In den sechziger Jahren erforschten Scheublin et al. die Vorgänge der Hautpermeabilität an präparierten Hautproben und untersuchten mit ihnen in Diffusionskammern die Bewegung von Chemikalien durch die Haut. Die Arbeitsgruppe fand heraus, dass der Mechanismus auf primärer Diffusion beruht. Die unterschiedliche Dicke des Stratum corneum ist der wichtigste Grund für die unterschiedlichen Permeationsraten verschiedener Hautareale (Scheublin et al., 1971).

Die ersten transdermalen Pflaster wurden vor ca. 40 Jahren von der Alza Corporation in Kalifornien entwickelt. Die Pflaster enthielten Nitroglycerin zur Behandlung der Angina pectoris; ein weiteres Pflaster, welches Scopolamin enthielt, wurde gegen Seekrankheit hergestellt. Das Durogesic® Pflaster ist für die kontinuierliche, nicht-invasive Schmerzmittelzufuhr entwickelt worden (Southam 1993).

Das niedrige molekulare Gewicht, die hohe Wirksamkeit und die hohe Lipophilie des Fentanyl ermöglichten es, ein transdermales Pflaster (Durogesic®) mit Fentanyl herzustellen (Jeal & Benfield 1997).

Das transdermale Pflaster (Duragesic®) wurde 1991 in Amerika und 1992 in Kanada zugelassen (Southam, 1993).

In der Schmerzzambulanz der Universität Köln wurde bereits 1992 in klinischen Phase-II-Studien die Effektivität des Durogesics® untersucht und bestätigt (Likar, 2001).

In Deutschland wurde Durogesic® aber erst 1995 zugelassen (Grond, 2005).

Die Firma Cygnus versuchte, nachfolgend die Zulassung für ein transdermales Pflaster mit Fentanyl zu erhalten, das auch für postoperative Schmerzzustände zugelassen werden sollte. Das transdermale Fentanylpflaster dieses Unternehmens enthielt allerdings keine „rate control membrane“, also keine Membran, die die Abgabe von Fentanyl an den Organismus kontrolliert. Es zeigte sich in einer Studie mit Probanden, die postoperativ das Pflaster von Cygnus erhielten, eine große Variabilität, mit der das Fentanyl absorbiert wurde. Von 14 Probanden erlitten drei eine klinisch signifikante Fentanylintoxikation, weshalb dieses transdermale Fentanylpflaster keine Zulassung erhielt (Fiset et al., 1995).

1.1.3.1 Aufbau des transdermalen Pflasters (Durogesic®)

Das konventionelle Pflaster besteht aus vier Schichten:

Die Oberseite besteht aus einer Folie, die das Fentanylreservoir von oben verschließt („backing layer“).

Die Unterseite besteht aus einer Membran aus

Ethylvinylacetatcopolymer, die die Freisetzung des Fentanyl über die Haut kontrolliert.

Das Reservoir enthält Fentanyl-Base (2,5 mg/10 cm²) gelöst in Ethanol (0,1 ml/ 10 cm²) und

enthält Hydroxyethylcellulose als Gelbildner. Die Hauthaftung erfolgt durch eine selbstklebende Polymerschicht unter der diffusionsteuernden Membran („release membrane“).

Vor Anwendung des Pflasters muss jeweils die Schutzfolie, die der Klebefolie aufliegt, entfernt werden (Duragesic®, Full Prescribing Information, 2005, Likar, 2001).

In Abb. 2 ist der Querschnitt durch ein konventionelles Durogesic®- Pflaster dargestellt.

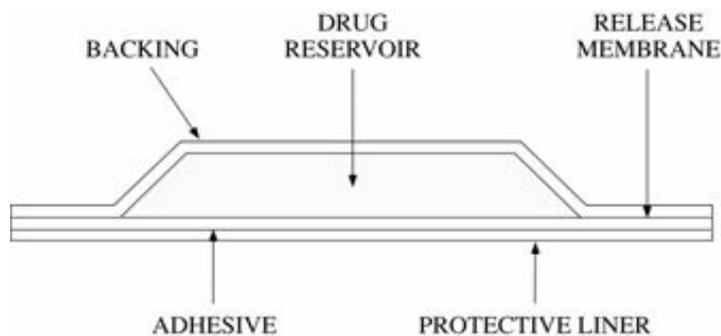


Abb.2 Aufbau des konventionellen Pflasters (Durogesic®), Quelle: Janssen- Cilag Duragesic®, Full Prescribing Information, 2005.

Das weiterentwickelte transdermale Pflaster Durogesic® SMAT besteht hingegen aus nur zwei funktionalen Schichten: einer wasserabweisenden Trägerfolie auf der Oberseite und einer fentanylhaltigen, selbstklebenden Matrixschicht (Durogesic® SMAT Fachinformation, 2006).

Es ist ein Monolayer- Matrixsystem und besitzt keine kontrollierende Steuermembran, da die Haut selbst mit ihren Barriereeigenschaften im Stratum corneum die Diffusion des Fentanyls begrenzt. Im Matrixpflaster wird Fentanyl direkt molekulardispert in halbfesten Kleber eingebracht.

Der Haftkleber übernimmt zusätzlich die Aufgabe des Wirkstoffträgers, so dass auf die übrigen Hilfsstoffe des Reservoirsystems, wie z.B. Stabilisatoren und Lösungsmittel verzichtet werden kann (Likar, 2001). Dieses Pflaster wurde entwickelt, um einem Missbrauch und versehentlichen Intoxikationen vorzubeugen. Zumeist Drogenabhängige ziehen sich das Fentanylgel aus dem konventionellen Durogesic®- Pflaster bzw. aus Generika in einer Spritze auf, um sich dann das Gel intravenös zu spritzen. Ein weiteres Problem ist die versehentliche Intoxikation mit Fentanyl durch defekte Gelpflaster.

Diese Gefahren sollen bei den weiterentwickelten Durogesic® SMAT Pflastern verhindert werden. Theoretisch soll das Zerschneiden des Pflasters nicht zu einer vermehrten Freisetzung von Fentanyl führen. Der Hersteller rät trotzdem vom Zerschneiden des SMAT-Pflasters ab, da hierzu keine Daten vorliegen (Grond, 2005).

Die Menge des abgegebenen Fentanyls verhält sich proportional zur Oberfläche des Pflasters, wie in Tabelle 1 gezeigt wird.

Tabelle 1: Dosis, Fläche und Fentanylgehalt der verschiedenen Durogesic®- Pflaster
Quelle: Duragesic® (Fentanyl Transdermal System), Full Prescribing Information, 2005.

Fläche in cm ²	Fentanylinhalt in mg	Dosis in µg/h
5	1,25	12
10	2,5	25
20	5	50
30	7,5	75
40	10	100

Da das transdermale Pflaster Durogesic® aufgrund von passiver Diffusion seinen Wirkstoff an die Haut, bzw. das subkutane Fettgewebe abgibt, ist eine sehr viel größere Menge an Fentanyl im Reservoir des Pflasters gelöst, um den Konzentrationsgradienten des Fentanyls für drei Tage zu gewährleisten. Dies führte dazu, dass selbst nach Benutzung des Pflasters bei Zerstörung der Schutzhülle genug Fentanyl im Reservoir vorhanden ist, um eine tödliche Intoxikation zu verursachen. Dies gilt für beide Pflastersysteme.

1.1.3.2 iPATS

In der postoperativen Schmerztherapie hat sich die patientenkontrollierte Analgesie (PCA) in der Vergangenheit sehr bewährt. Mit Ionsys® hat Janssen-Cilag die erste nicht-invasive PCA zur Behandlung postoperativer Schmerzen auf den Markt gebracht. Das mit Fentanyl befüllte iontophoretische patientenaktivierte transdermale System (Fentanyl iPATS) ist kabel- und schlauchlos und so groß wie eine Scheckkarte. Es wird, wie auch das transdermale Pflaster, auf die Haut aufgeklebt. Das neuartige System nutzt das Prinzip der Iontophorese und wirkt analgetisch äquivalent wie eine intravenöse PCA mit Morphin. Das iPATS ist mit Fentanyl vorbefüllt und vorprogrammiert, so dass sich der Patient pro Stunde max. sechs Bedarfsdosen mit je 40 µg applizieren kann (Grübler, 2007).

1.1.4 Anwendungsgebiete für Durogesic®

Durogesic®-Pflaster werden bei Patienten mit chronischen Schmerzen eingesetzt, die nur mit Opioidanalgetika ausreichend behandelt werden können und einer längeren, kontinuierlichen Behandlung bedürfen.

Besonders in der palliativen Therapie hat sich das transdermale Pflaster aufgrund deutlicher Schmerzreduktion bei aktiven Bewegungen wie z.B. Laufen im Vergleich zur jeweiligen Vormedikation bewährt. Auch die Verträglichkeit des Pflasters wird als gut angegeben, so dass in der palliativen Therapie Durogesic®-Pflaster bei 80 % der Patienten zu einer deutlichen Verbesserung der individuellen Lebensqualität führen (Nugent et al., 2001, Radbruch et al., 2001, Zimmermann und Waap, 2005, Clark et al., 2004).

1.1.4.1 Gegenanzeigen

Durogesic® darf nicht angewendet werden bei:

- kurzfristigen Schmerzzuständen, z. B. nach operativen Eingriffen
- bekannter Überempfindlichkeit gegen den Wirkstoff Fentanyl und Bestandteile des transdermalen Pflasters
- bradykarden Rhythmusstörungen
- bei schwer beeinträchtigten ZNS- Funktionen (Durogesic®-SMAT Fachinformation, 2006).

1.1.5 Pharmakokinetik

Nach Applikation des Pflasters wird Fentanyl über einen Zeitraum von ca. 72 Stunden über die Haut in das Blut abgegeben. Erste Fentanylkonzentrationen können 1-2 Stunden nach Applikation im Serum nachgewiesen werden. Die Serumkonzentrationen stabilisieren sich 12-24 Stunden nach initialer Applikation (Southam, 1993).

Dies zeigt sich auch in folgender Abbildung 3; hier sind nach wiederholter Applikation von Durogesic® die Serumkonzentrationen von Fentanyl bei den Probanden gemessen worden. Zudem zeigt Abb.3 die Abnahme der Fentanylkonzentration im Serum nach Entfernen des Durogesic®-Pflasters.

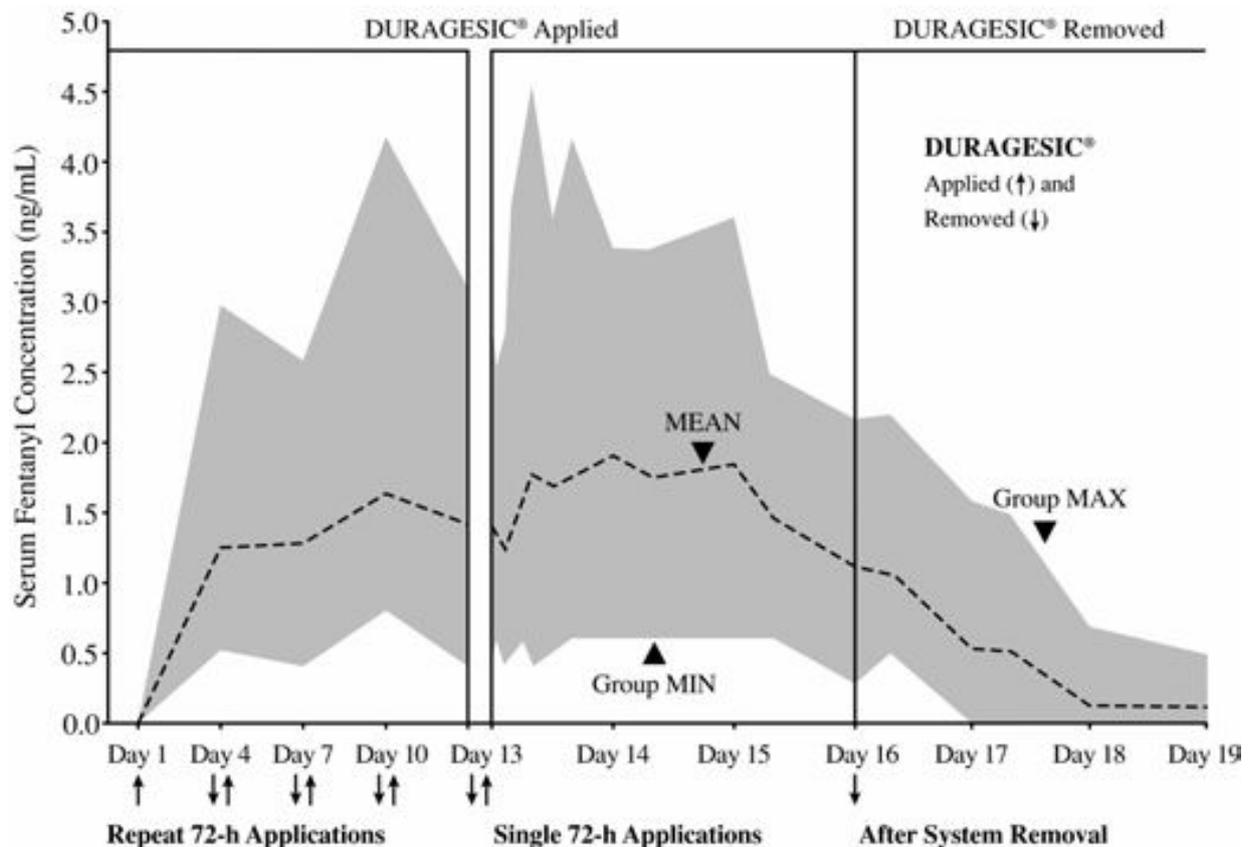


Abb. 3: Serumspiegel bei Probanden mit appliziertem Durogesic® Pflaster, (Quelle: Duragesic® Full Prescribing Information, 2005).

1.1.5.1 „steady state“

Bei wiederholten Applikationen von jeweils 72 Stunden Dauer erreichen die Serumkonzentrationen einen „steady state“, der bei nachfolgendem Gebrauch von Pflastern derselben Stärke erhalten bleibt. Nach Entfernen des Durogesic®-Pflasters fallen die Fentanylkonzentrationen im Serum mit einer Halbwertszeit von ca. 17 Stunden (Bereich 13-22 Stunden) langsam ab (Durogesic® SMAT Fachinformation, 2006).

1.1.5.2 Maximale Serumkonzentrationen

Die mittlere maximale Serumkonzentration (C_{max}) reicht von 0,7 ng/ml bei einem 25 $\mu\text{g/h}$ -Pflaster bis zu 2,6 ng/ml bei einem 100 $\mu\text{g/h}$ Pflaster. Die Zeit (t_{max}) zwischen Applikation des Pflasters und des Auftretens von C_{max} betrug zwischen 12 und 48 Stunden (Grond et al., 2000). Die relativ lange Zeit bis zum Erreichen des t_{max} wird der Bildung eines Fentanyldepots im subkutanen Fettgewebe zugeschrieben, welches Fentanyl sukzessive an das Blut freigibt (Holley & Steennis, 1988, Gourlay et al., 1989).

1.1.5.3 Die transdermale Absorption beeinflussende Faktoren

Gegenstand verschiedener Studien war der Einfluß des Lebensalters auf die Pharmakokinetik des transdermalen Fentanyls. In einer Studie wurden 11 Kinder mit onkologischen Erkrankungen (Alter 7-18), die transdermales Fentanyl bis zu 275 Tage erhielten, untersucht. Die C_{max} reichte von 0,91 ng/ml bei 25 $\mu\text{g/h}$ bis zu 39,9 ng/ml bei 200 $\mu\text{g/h}$.

Die t_{max} lag im Bereich von 18 bis 66 Stunden. Die Clearance, das Verteilungsvolumen und das vorhergesagte Plasmaprofil für das „steady state“ waren vergleichbar mit denen der Erwachsenen (Collins et al., 1999).

In einer weiteren Studie wurden 5 junge Erwachsene und 6 ältere Patienten mit Durogesic-Pflastern (50 µg/h) postoperativ behandelt. Bei den älteren Patienten lag t_{max} 3-4 Stunden später; die Eliminationshalbwertszeit war ca. 23 Stunden länger (Esteve et al., 1991).

Die Ergebnisse der Studien legen den Schluss nahe, dass Fentanyl bei älteren Patienten verzögert eliminiert wird (Grond et al. 2000).

Studien zur in vitro Zelldiffusion mit humaner Haut von Verstorbenen zeigten, dass Fentanyl an verschiedenen Lokalisationen des Körpers (Brust, Abdomen, Hüfte) ähnliche Diffusionsraten aufwies (Roy & Flynn, 1990, Roy et al., 1994). Es konnten aber auch intra- und interindividuelle Differenzen bei der Absorption von Fentanyl beobachtet werden (Jeal & Benfield, 1997, Solassol et al., 2005).

In einer weiteren Studie wurde auf Kadaverhaut aufgeklebtes, transdermales Fentanyl untersucht. Über die Temperaturspanne von 32°C auf 37°C verdoppelte sich (in vitro) der Fluss des Fentanyls durch die Haut (Gupta et al., 1992).

1.1.5.3.1 Blutfluss in der Haut

Nachdem das Fentanyl durch die Haut diffundiert ist, wird es von dem lokalen Blutfluss in den systemischen Kreislauf befördert. Aus physiologischer Sicht wird die Aufnahme des Fentanyls somit nicht nur von der Permeabilität der Haut beeinflusst, sondern auch von dem lokalen Blutfluß durch die Haut. Die Permeationsgeschwindigkeit des Fentanyls ist ein sehr viel langsamerer Prozeß als der lokale Blutfluß unter normalen Bedingungen. Somit führt dieser Konzentrationsunterschied zur Diffusion. Nur unter extremen Umständen, wenn z. B. der Blutfluß unter dem Pflaster zum Erliegen käme, würde dies die Fentanylabsorption beeinflussen (Hwang et al., 1991).

Untersuchungen ergaben eine Plasmaproteinbindung von 72,4 % ± 7,9 bei 30 internistisch gesunden Probanden, sowie eine völlige Gleichverteilung von Fentanyl zwischen intra- und extraerythrozytärem Raum (Lehmann et al., 1983).

1.1.5.4 Metabolismus in der Haut

In der Haut findet ein großes Spektrum an metabolischen Reaktionen, wie z. B. Phase I-Reaktionen (Oxidierung, Reduktion und Hydrolyse) und Phase II-Reaktionen, statt. Bei Substanzen, die über transdermale Pflaster in den systemischen Kreislauf gelangen sollen, muß sichergestellt werden, dass sie nicht in der Haut zu wirkungslosen oder toxischen Metaboliten verstoffwechselt werden. Aus diesem Grund wurde ein fraglicher Metabolismus von Fentanyl in der Haut untersucht. Bei der Inkubation von Fentanyl in Keratinozyten in einer Zellkultur konnte kein relevanter Metabolismus nachgewiesen werden (Hwang et al., 1991). Dieses Ergebnis wird durch eine Bioverfügbarkeitsstudie gestützt, in der 92 % der Dosis, die vom Durogesic®-Pflaster abgegeben wurden, in der systemischen Zirkulation als unverändertes Fentanyl wiedergefunden wurden (Varvel et al., 1989).

1.1.6 Pharmakodynamik

Fentanyl ist ein reiner Agonist und hat eine hohe selektive Affinität für den µ-Opioidrezeptor. Anders als Morphin besitzt es eine hohe Lipidlöslichkeit, wodurch die Passage der Blut-Hirn-Schranke deutlich vereinfacht ist.

Bei Patienten, die nicht an Opioide gewöhnt sind, liegt die Fentanylserumkonzentration, mit der eine effektive Analgesie erreicht wird, bei 0,2- 1,2 ng/ml im Blut oder Serum. Die Häufigkeit unerwünschter Nebenwirkungen steigt ab einer Serumkonzentration von 2 ng/ml. Häufig beobachtete Nebenwirkungen sind Erbrechen, Schwindel und Obstipation (Ahmedzai et al., 1997, Hays et al., 2001). Bei einer Überdosierung provoziert Fentanyl eine ZNS-Depression mit Stupor, Koma und Atemdepression. Weitere unerwünschte Nebenwirkungen können Hypothermie, Bradykardie, Hypotonie sowie ein schlaffer Tonus der Skelettmuskulatur sein.

Die akute Vergiftung zeigt sich meist durch Sedierung, Ataxie, Miosis, Atemdepression und Krämpfe, wobei die Atemdepression lebensbedrohlich sein kann.

1.1.6.1 Wirkort

Endogene Opioide reagieren hauptsächlich mit den drei Opiatrezeptoren im ZNS, den Mu-, Kappa- und Delta-Rezeptoren. Die Opioidbindestellen liegen in enger Nachbarschaft zu den Schaltneuronen des lateralen Mesenzephalon, die den Schmerzimpuls zum Nucleus limitans und dem aktivierenden retikulären System leiten. Hieraus wird verständlich, dass Opioide nicht nur analgetisch, sondern auch hypnosedativ wirken (Freye, 2001).

Nach Freye und Latasch gehören Opioidrezeptoren zu den Guaninnukleotid bindenden Proteinen (G-Proteine). Der aus sieben Eiweißketten bestehende transmembranöse Opioidrezeptor interagiert mit seiner intrazellulären C- Endigung mit dem G- Protein (Neer, 1995). Das G-Protein vermittelt seine Wirkung nicht über einen direkten Kontakt mit dem endgültigen Effektormolekül. Die Signalübermittlung erfolgt über den Prozess des Mediator G-Proteins, welches die Information an das Effektorprotein weiterleitet. Das G-Protein besteht aus einer Alpha-, Beta- und Gammauntereinheit und stellt ein heterotrimeres, membrangebundenes Protein dar. Nach Bindung eines Liganden an den Rezeptor kommt es zur Abspaltung des Guanidindiphosphats (GDP) und zur Bildung von Guanintriphosphat (GTP); hierdurch wird die Trennung der Alpha- von der Beta- und Gammauntereinheit eingeleitet. Die getrennten Untereinheiten bewirken dann intrazellulär entweder eine Zunahme, meistens jedoch eine Abnahme der Adenylzyklaseaktivität (Franklin et Hoss,1984). Da zwölf Isoformen für die Alpha-, sieben für die Beta- und fünf für die Gammauntereinheit vorliegen, werden über das G- Protein auch unterschiedliche intrazelluläre Systeme aktiviert, wie z.B. die Adenylzyklase, die Phospholipase und das Inositol-1,4,5- triphosphat.

Über das zyklische Adenosinmonophosphat wird die analgetische Wirkung der Opioide vermittelt. Mit dem Abfall der cAMP-Produktion wird ein Verschluss der spannungsabhängigen Ca^{2+} - Kanäle, sowie ein verminderter Ionenstrom der K^{+} - Kanäle ausgelöst. Es resultiert daraus eine Hyperpolarisation der Zelle, die die Weiterleitung nozizeptiver Afferenzen verhindert und so eine Analgesie bewirkt. Nachdem eine GTPase das GTP wieder zu GDP hydrolysiert hat, erfolgt eine Inaktivierung der Alphauntereinheit des G-Proteins. Die Alphauntereinheit dissoziiert vom Effektor und vereinigt sich wieder mit der Beta- und Gammauntereinheit. Die Wirkung des Opioids ist beendet und der Rezeptor ist wieder bindungsfähig (Freye und Latasch, 2003, Murkin,1991).

Mestek et al. konnten diesen Mechanismus bestätigen: Die Aktivierung des μ -Rezeptors führt zur Inhibition der Adenylatcyclase und reguliert so die Membranstabilität für Ca^{2+} und K^{+} . Der wichtigste Effekt des μ - Rezeptors im Hirn ist also die Verminderung der neuronalen Membranerregbarkeit (Mestek et al., 1995).

1.1.7 Unerwünschte andere Wirkungen

1.1.7.1 Respiratorische Effekte

Wie auch andere Opioide, kann Fentanyl eine lebensbedrohliche Atemdepression bewirken. Es wird angenommen, dass Fentanyl die Atemdepression über den $\mu 1$ - Rezeptor auslöst (Shu-Wen et al., 1996). Experimente mit Katzen lassen vermuten, dass Fentanyl außerdem eine Thoraxrigidität auslösen kann, die von einer erhöhten efferenten Aktivität der inspiratorischen Motoneuronen der Wirbelsäule herrührt und damit eine atemdepressorische Wirkung verstärken kann (Tabatabai et al., 1989).

1.1.7.2 Gastrointestinale Effekte

Eine häufige unerwünschte Nebenwirkung bei allen Opiaten und Opioiden ist die Obstipation. Die Opioide binden an die Opioidrezeptoren des Gastrointestinaltraktes (Meissner- Plexus), was zu verminderter Peristaltik und verminderter intestinaler Sekretion führt. Zudem erhöht sich der Tonus der Ileocaecalklappe und der des Anus. Dies verlängert die Passagezeit des Stuhls durch das Colon und kann so zur Obstipation führen (Collett, 1998).

1.1.8 Metabolisierung

Fentanyl wird in den Lebermikrosomen größtenteils durch das Cytochrom P450 (3A4) oxidativ über N-Desalkylierung zu 99% zum inaktiven Metaboliten Norfentanyl verstoffwechselt. Weitere Metaboliten sind Despropionylfentanyl, Hydroxyfentanyl und Hydroxynorfentanyl, die eine vernachlässigbar geringe pharmakologische Aktivität zeigen. Die Clearance für intravenös verabreichtes Fentanyl liegt bei 34,2- 52,8 l/h. Weniger als 10 % der applizierten Fentanyl-dosis kann unverändert im Urin nachgewiesen werden (Guitton et al., 1997, Feerman & Lasker, 1996, Labroo et al., 1997). Poklis untersuchte die Urinkonzentration von Fentanyl und Norfentanyl bei 546 Probanden per GC-MS, die jeweils mit einem 25, 50, 75 oder 100 $\mu\text{g/h}$ Durogesic®- Pflaster therapiert wurden. In der Studie konnte eine große Variation zwischen Fentanyl- und Norfentanylkonzentrationen im Urin einiger Probanden nachgewiesen werden. Im allgemeinen waren die Norfentanylkonzentrationen im Urin 3-4 mal höher als die des Fentanyls (Poklis, 2004).

1.1.8.1 Interaktionen mit anderen Medikamenten

Bei Patienten, die mit Durogesic® in Kombination mit weiteren Opioiden oder anderen zentralwirksamen, potentiell atemdepressiven Medikamenten (z.B. Benzodiazepinen) behandelt werden, sollten die Medikamente aufeinander abgestimmt werden. Da der Metabolismus des Fentanyls abhängig vom CYP3A4 ist, kann die gleichzeitige Gabe von Medikamenten, die ebenfalls über dieses Isoenzym verstoffwechselt werden, den Abbau des Fentanyls verlangsamen. Bekannte Beispiele für CYP 3A4-Inhibitoren sind z.B. Makrolide oder Proteaseinhibitoren. Patienten, denen diese Medikamente zusammen mit Durogesic® verabreicht werden, sollten überwacht werden, um ggf. eine Dosisanpassung vornehmen zu können. Eine Induktion des CYP 3A4-Systems, etwa über Rifampizin oder Carbamazepin, kann einen beschleunigten Abbau von Fentanyl zur Folge haben. Auch hier sollte die Kombination dieser Medikamente überwacht werden (Labroo et al., 1997).

1.1.9 Missbrauch/Intoxikation

Bereits seit der Einführung von Fentanyl sind Fälle der missbräuchlichen Anwendung bekannt. Aufgrund der beschränkten Verfügbarkeit wurde es zunächst meist durch medizinisches Personal missbraucht. Mit der Einführung des transdermalen Pflasters erweiterte sich der Personenkreis, der Zugang zu Fentanyl erhielt, und somit erhöhte sich auch der Missbrauch der Substanz (Reeves & Ginifer, 2002).

Es sind für Durogesic®-Pflaster verschiedene Arten der missbräuchlichen Applikation beschrieben.

1.1.9.1 Pflasterüberdosierung

Am häufigsten treten Intoxikationen durch eine gleichzeitige Applikation mehrerer Fentanylpflaster auf. Beschrieben wird z.B. ein Fall, bei dem sich eine 83-jährige Frau Pflaster von insgesamt 300 µg/h aufklebte und an dieser Intoxikation verstarb (Edinboro et al. 1997).

In einem weiteren Fall wird über eine Patientin berichtet, die sich im Rahmen einer Verwechslung ein Durogesic® Pflaster (100 µg/h) selbst applizierte. Die am Folgetag resultierende Fentanylintoxikation wurde durch den Notarzt erfolgreich mit Naloxon behandelt (Klockgether-Radke & Neumann, 2002).

Ein 54 Jahre alter Mann wurde in seinem Schlafzimmer mit einem transdermalen Fentanylpflaster (75 µg/h) auf seinem Penis aufgefunden. Der somnolente Mann wurde sofort ins Krankenhaus gebracht, wo er nach kurzer Zeit verstarb (Grobosch et al., 2007).

Auch über die Intoxikation mit einem rektal aufgeklebten Fentanylpflaster wird berichtet. Zum Beispiel hatte sich ein 41 Jahre alter Mann 3 Fentanylpflaster mit jeweils 100 µg/h Stärke rektal eingeführt.

Die Ärzte entfernten die Pflaster und behandelten den Patienten mit Naloxon. Die Applikation von Fentanylpflastern auf die rektale Schleimhaut gilt als besonders gefährlich, da hier eine erhöhte Resorptionsrate für Fentanyl, sowie eine erhöhte Körpertemperatur im Vergleich zu der Hauttemperatur zusammenspielen (Coon et al., 2005).

Kramer und Tawney berichten über einen 31-jährigen Mann, der in die Notaufnahme des Krankenhauses mit einer Atemdepression eingeliefert wurde. Der Patient hatte sich ein Durogesic®-Pflaster (75 µg/h) in die Mundhöhle geklebt, ein zweites Pflaster von 75 µg/h wurde an der rechten Hüfte entdeckt. Der Patient verstarb letztendlich an einer Atemdepression (Kramer et Tawney, 1998).

1.1.9.2 Intravenöser Missbrauch

Der intravenöse Missbrauch von Fentanyl wird häufiger in der Literatur beschrieben. Hierbei wird das Fentanylgel aus dem Durogesic®-Pflaster mit einer Spritze aufgezogen und dann intravenös verabreicht. Ein Missbrauch dieser Art wird überwiegend bei intravenös Drogenabhängigen beobachtet. In einem Fall hatten sich zwei daraufhin Verstorbene das Fentanylgel ebenfalls aus dem Pflaster in eine Spritze aufgezogen und sich das Gel dann i.v. gespritzt (Lilleng et al., 2004). In einem weiteren Fall teilten sich ein Mann und eine 35-jährige Frau insgesamt eine Dosis von 500 µg/h transdermalen Pflaster. Dieses zogen sie auf eine Spritze auf und verabreichten sich das Fentanylgel intravenös. Der Rettungsdienst behandelte den Mann, der eine Cheyne-Stokes Atmung hatte, erfolgreich mit 1,2 mg Naloxon, die Frau verstarb letztendlich an kardiorespiratorischem Versagen mit nachfolgendem Hirnödem (Reeves & Ginifer, 2002).

1.1.9.3 Intoxikation mit bereits benutzten Pflastern

Des Weiteren wird von einem Fall berichtet, bei dem sich ein (drogenabhängiger) Angestellter eines Bestattungsunternehmens mit benutzten Durogesic- Pflastern eines Verstorbenen vergiftete. Fentanyl konnte hier per Gaschromatographie/ Massenspektrometrie (GC/MS) und Radioimmunoassay (RIA) nachgewiesen werden. Die Applikationsart konnte post mortem nicht mehr ermittelt werden. Dies zeigt, dass sogar in benutzten Durogesic-Pflastern genug Fentanyl für eine tödliche Intoxikation enthalten ist (Flannagan et al. 1996). Weiter wurden Intoxikationen bei Kindern mit Fentanyl bekannt, die sich Durogesic®-Pflaster aus dem Müll nahmen, und diese dann aßen (Teske, 2006).

1.1.9.4 Inhalativer Missbrauch

Marquardt und Tharrat beschrieben 1994 den Fall eines inhalativen Missbrauchs von Durogesic®- Pflastern. Hier hatte ein Mann das Fentanylgel auf einer Aluminium-Folie erhitzt und die Dämpfe eingeatmet.

Auch dieser Mann verstarb infolge der verursachten Atemlähmung.

1.1.9.5 Intoxikation aufgrund einer veränderten Pharmakokinetik

Durch eine Veränderung der Permeationsrate des Fentanyls durch die Haut, z.B. aufgrund einer erhöhten Hauttemperatur, ist ebenfalls eine Intoxikation möglich. Ausgehend von einem pharmakokinetischen Modell kann angenommen werden, dass bei einer Körpertemperatur von 40°C die Serumkonzentration von Fentanyl um ein Drittel ansteigen kann, was auf eine erhöhte Freisetzung des Fentanyls aus dem Reservoir und auf eine erhöhte Hautpermeabilität zurückzuführen ist (Southam, 1995).

Es wird ein Fall geschildert, bei dem eine Patientin mit einem Durogesic- Pflaster (100 µg/h) im Krankenhaus ein Heizkissen benutzt hatte, das auf das Durogesic®- Pflaster gerutscht war. Dies bewirkte eine Überdosierung mit Atemdepression (16 Atemzüge/min) und Miosis. Die Patientin wurde erfolgreich mit Naloxon behandelt. Das Heizkissen hatte die Hauttemperatur auf 42°C erhöht und so eine lebensbedrohliche Überdosierung ausgelöst (Rose et al., 1993).

Frölich berichtet über eine Patientin, die mit 75µg/h Durogesic® therapiert wurde. Bei einer Operation am Bein kam es zu einer Unterkühlung der Patientin mit einer Körpertemperatur von 34,9°C. Daraufhin wurde eine Heizdecke auf den Oberkörper gelegt, die Atemfrequenz ging nach dieser Maßnahme von 16 Atemzügen/min mit einem Zugvolumen von 300 ml auf 3 Atemzüge/min mit einem Zugvolumen von 800 ml hinunter. Die Pupillen der Patientin waren zu diesem Zeitpunkt stechnadelkopfgroß. Nach Entfernen des Fentanylpflasters und Gabe von 60 µg Naloxon kam es zu einer raschen Besserung der Symptomatik. In diesem Fall wird das erste Mal über eine transdermale Fentanylüberdosierung berichtet, die während einer Operation mit kontinuierlicher Überwachung geschah (Frölich et al., 2001).

In einem anderen Fall handelte es sich um einen 44 Jahre alten Mann, bei dem aufgrund hoher Außentemperaturen und körperlicher Aktivität ein Anstieg der Körpertemperatur und damit eine erhöhte Absorbtiionsrate des Fentanyls aus dem Pflaster auftrat. Der Mann zeigte Zeichen einer Fentanylintoxikation, wie Schläfrigkeit, eine „verwaschene“ Sprache und stechnadelkopfgroße Pupillen. Der Patient wurde gleichfalls erfolgreich mit Naloxon behandelt (Newshan, 1998).

1.1.9.6 „China White“

Im Dezember 1979 wurden zwei Tote in Orange County/Kalifornien aufgefunden. Obwohl diese Personen zuvor eine Droge namens „China white“ konsumiert haben sollten, ergaben die toxikologischen Untersuchungen keinen Hinweis auf eine Intoxikation mit bekannten illegalen Drogen. In nachfolgenden chemischen Untersuchungen zeigte sich, dass sich hinter der Bezeichnung „China white“ Alpha-methylfentanyl, ein vielfach höher wirksames Homolog des Fentanyls verbirgt. Über die nächsten fünf Jahre tauchten eine größere Zahl an Fentanylanaloga als „designer drugs“ in der Drogenszene Kaliforniens als Heroinersatz auf, bis 1990 konnten zehn Derivate von Fentanyl identifiziert werden.

In einer Studie von Henderson wurden 112 Intoxikationen mit Todesfolge festgestellt, die auf Fentanyl oder ein Analogon von Fentanyl zurückzuführen waren (Henderson, 1991).

Fentanyl, bzw. seine Analoga werden in der Drogenszene als „China white“ unter Beimengung von z.B. Amphetaminen, Koffein, Phenazon und/oder Zucker verkauft. In Schweden starben an dieser Mischung während einer 16- monatigen Zeitspanne neun Drogenabhängige (Kronstad et al., 1997).

1992 gab es von Januar bis April in Maryland/USA ähnliche Fentanyl assoziierte Todesfälle von 30 Drogenabhängigen. Die Analyse der von der Polizei beschlagnahmten „Drogenpäckchen“ ergab Mischungen mit Fentanyl-hydrochlorid in variierenden Konzentrationen (0,6 bis 6,7 %), vermischt mit Chinin, Mannitol, Lactose und Inositol. Die Proben wurden per RIA auf Fentanyl gescreent, sowie bei positivem Befund mit GC/MS quantifiziert (Smilak et al., 1994).

1.1.9.7 Übergreifende Studien

2006 erschien eine retrospektive Studie von Martin et al., in der 112 Fentanyl-assoziierte Todesfälle auf die Todesumstände und die toxikologischen Ergebnisse ausgewertet wurden. Es wurden verschiedene Applikationswege des Fentanyls festgestellt: Transdermale Applikation von Durogesic®-Pflastern, intravenöse Injektion von Fentanylgel aus dem Pflaster oder Fentanyl-Citrat Lösung, transmukosale Administration (rektal, vaginal und über die Mundschleimhaut) und die Inhalation von Fentanyl aus Durogesic®-Pflastern.

Es konnte zudem gezeigt werden, dass die Fentanylkonzentrationen im Blut bei intravenösem Missbrauch des Fentanyls im Mittel deutlich höher waren als nach transdermaler Applikation. Kuhlmann et al. untersuchten 2003 post mortem 23 Fälle, in denen Fentanylabusus eine Rolle spielte. Das Fentanyl wurde per GC/MS im Urin oder im Blut detektiert. Zudem wurde die Anamnese der Patienten, ein weiterer Drogenkonsum, zusätzliche Medikamenteneinnahme sowie der Auffindungsort der Leichen beschrieben.

Anderson und Muto untersuchten 2000 die postmortale Verteilung des Fentanyls in verschiedenen Geweben in 25 Fällen. Das Fentanyl wurde mittels GC/MS analysiert. Zudem wurden ebenfalls die Anamnese, weiterer Drogen- oder Medikamentenabusus, der Auffindungsort der Leiche und die Todesursache untersucht.

2 Fragestellung

Der Einsatz von Opioiden als transdermale Pflaster in der Schmerztherapie hat sich in der Vergangenheit sehr bewährt. Vor allem, da bei dieser Applikationsform aufgrund der gleichmäßigen Wirkstoffabgabe wesentlich seltener Nebenwirkungen auftreten und eine höhere Compliance in der Therapie erreicht werden kann.

Da es sich bei den Wirkstoffen Fentanyl oder Buprenorphin um hochpotente Substanzen handelt, kommt es auch immer wieder zu Todesfällen im Zusammenhang mit einer solchen Schmerztherapie durch eine akzidentielle oder beabsichtigte Überdosierung oder eine missbräuchliche Verwendung dieser Pflaster. Aus diesem Grund wird im Untersuchungsgut der rechtsmedizinischen Institute durch die chemisch-toxikologischen Untersuchungen im Rahmen der Obduktion immer häufiger Fentanyl nachgewiesen.

Anhand der nachgewiesenen Fentanyl-Konzentration im Blut muss beurteilt werden, ob es sich um eine todesursächliche oder mittodesursächliche Fentanylintoxikation handelte, oder ob es noch therapeutische Spiegel vorlagen.

Hier stehen die Toxikologen vor dem Problem, dass als Grundlage für eine solche Beurteilung in der derzeitigen Literatur nur wenige Daten vorliegen. Problematisch ist außerdem, dass Konzentrationen im Blut, die bei lebenden Patienten ermittelt wurden, nicht direkt mit Untersuchungsergebnissen verglichen werden können, die in postmortal gewonnenen Proben bestimmt wurden. Dies ist durch die postmortalen biochemischen Veränderungen und vor allem die sog. postmortale Rückverteilung zu erklären, durch die Substanzen aus tieferen Kompartimenten freigesetzt werden und Konzentrationsverhältnisse verschoben werden.

Für eine sicherere toxikologische Beurteilung der Fentanylkonzentrationen wird somit eine breitere Datenbasis für postmortal bestimmte Konzentrationen bei bekannter transdermaler Fentanyl-dosis benötigt.

Folgende Fragestellungen sollten in der Studie behandelt werden:

- In welchem Bereich liegen die Fentanyl-Konzentrationen im Blut von Verstorbenen ?
- Korrelieren diese Konzentrationen mit der applizierten Fentanyl-dosis ?
- Spiegelt sich eine Toleranzentwicklung bei länger andauernder Therapie in der Stärke der verabreichten Pflaster bzw. der Gesamtdosis wieder ?
- In wie weit unterscheiden sich die postmortal bestimmten Konzentrationen von denen der lebenden Patienten ?

3 Material

3.1 Chemikalien

	Firma
K ₂ HPO ₄ - Lösung	Merck Schuchard OHG, Hohenbrunn
1- Chlorbutan	Merck Schuchard OHG, Hohenbrunn
Methanol Chromasolv®	Fluka, München
Dest. Wasser Chromasolv®	Fluka, München
Acetonitril Chromasolv®	Fluka, München
Ameisensäure Chromasolv®	Fluka, München
Fentanyl 100 µg/ml	Cerilliant, Texas, USA
Fentanyl D5 100 µg/ml	Cerilliant, Texas, USA

3.1.1 Reagenzien und Puffer:

Gesättigte Pufferlösung (pH: 7,5), es wird zunächst eine gesättigte Pufferlösung mit K₂HPO₄-Lösung in destilliertem Wasser hergestellt. Diese wird anschließend 1+3 mit destilliertem Wasser verdünnt.

Laufmittel 1 für LC/MS
90% Wasser, 10 % Acetonitril,
0,1 % Ameisensäure

Laufmittel 2 für LC/MS
90% Methanol, 10 % H₂O,
0,1 % Ameisensäure

3.2 Immunoassay

	Firma
Inspec®- Fentanyl- Enzymimmunoassay	Mashan Diagnostika, Reinbek

3.3 Humanes Untersuchungsmaterial

Humanes Leichenblut

Die Abnahme und Untersuchung der Blutproben von Patienten und Verstorbenen, die Fentanyl erhalten hatten, erfolgte gemäß dem Genehmigungsprotokoll der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg Nr. OB-085/04 vom November 2004.

Humanes Vollblut im Serumröhrchen

Leerseren für Kontrollen und Validierung Institut für Transfusionsmedizin des
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Leerblut von Verstorbenen
für Kontrollen und Validierung Institut für Rechtsmedizin,
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Arbeitsbereich Toxikologie

3.4. Verbrauchsmaterial

Firma

ReagiergefäÙe (1.5, 2 ml)	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen (5 µl, 20 µl, 100 µl, 1000 µl)	Sarstedt, Heidelberg
Inserts	Varian, Darmstadt
GC-Vials	Varian, Darmstadt
Serumröhrchen	Sarstedt, Heidelberg

3.5 Laborgeräte

Firma

Eppendorf Schüttler Mixer 5432	Eppendorf, Hamburg
Eppendorf Tischzentrifuge 5415 D	Eppendorf, Hamburg
Photometer, Tecan Spectra	Mashan Diagnostika, Reinbek
Liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS), Finnigan LCQDUO	Thermoquest, San Jose, CA, USA
HPLC-Säule (Atlantis dc 18) (20 mm Länge; 2,1 mm Durchmesser)	Waters, Massachusetts, USA
Vortexer	Scientific Industries inc. N.Y., USA
Pipetten (5 µl, 20 µl, 100 µl, 1000 µl)	Eppendorf, Hamburg

3.6 Statistik

Die linearen Regressionsgraden und zugehörigen 95%-Konfidenzintervalle wurden mit Hilfe des Programms GraphPad Prism (Version 3.02) berechnet.

4 Methoden

4.1 Probanden

Nach Genehmigung durch die Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg wurden 120 weibliche oder männliche Verstorbene und 30 lebende weibliche oder männliche Patienten in die Studie aufgenommen.

4.1.1 Auswahl der verstorbenen Probanden

Bei der äußeren Leichenschau durch die Ärzte des Instituts für Rechtsmedizin im Krematorium Öjendorf wurden die Totenscheine der Toten mit einem oder mehreren aufgeklebten Durogesic®-Pflastern an das Institut für Rechtsmedizin weitergeleitet. Über das jeweilige Bestattungsunternehmen wurde telefonisch Kontakt zu den Angehörigen aufgenommen, die nach mündlicher Aufklärung über die Studie telefonisch das Einverständnis zur Blut- und Haarprobenentnahme gaben. Wenn innerhalb von 3 Tagen nach der äußeren Leichenschau die Angehörigen nicht zu erreichen waren, oder diese die Blut- oder Haarprobenentnahme ablehnten, wurde der Verstorbene ohne Probenentnahme der Kremierung zugeführt.

4.1.1.1 Gewinnung und Aufbewahrung der Blutproben, Dokumentation des Verstorbenen

Bei 120 Verstorbenen wurde Femoralvenenblut über einen Hautschnitt gewonnen. Die Proben wurden anschließend sofort in das Institut für Rechtsmedizin gebracht und bis zu ihrer weiteren Verarbeitung bei -20°C eingefroren.

Die Körpergröße der Verstorbenen wurde per Maßband in cm bestimmt und das Gewicht in die Gruppen kachektisch/normal/leicht adipös und adipös eingeteilt. Zudem wurde dokumentiert, ob die Verstorbenen Fäulniserscheinungen oder Beinödeme aufwiesen. Die Stärke des aufklebenden Pflasters, mögliche Beschädigungen, sowie der/die Applikationsorte auf dem Verstorbenen wurden dokumentiert (s. Anhang 1).

Das Alter der Verstorbenen wurde über die Geburts- und Sterbedaten auf den Totenscheinen errechnet.

4.1.2. Erhebung der Fremdarztanamnese bei Hausarzt

Von den Totenscheinen der Verstorbenen und durch die Angaben der Angehörigen wurden die Hausärzte, bzw. das letzte behandelnde Krankenhaus der Verstorbenen ermittelt.

Diesen wurden Anamnesebögen zur Ermittlung der Schmerztherapie und Erkrankung des Verstorbenen zugesandt (s. Anhang 2) und nach Rücksendung ausgewertet.

4.1.2.1 Auswahl der lebenden Patienten

Die Patienten wurden in Zusammenarbeit mit der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie, Abteilung Schmerzklinik Universitätsklinikum Eppendorf und der Strahlentherapie/Radioonkologie des Universitätsklinikums Eppendorf rekrutiert. Nach Aufklärung durch einen Arzt und Einverständnis der Patienten, wurde diesen Blut entnommen und eine Anamnese erhoben (Formulare s. Anhang 3 und 4). Das Blut wurde bis zur Weiterverarbeitung im Kühlschrank gelagert.

4.2 Bestimmung von Fentanyl im Serum/ Leichenblut mittels LC/MS

4.2.1 Prinzip der Methode

Flüssig/Flüssig-Extraktion der Serum- bzw. Blutproben mit anschließender LC/ MS- Analyse

4.2.2 Referenzsubstanzen

- Fentanyl-Stammlösung (100 µg/ml)
- Fentanyl D5-Stammlösung (100 µg/ml)

4.2.3 Arbeitslösungen

Fentanyl (1 µg/ml) Stammlösung 1:100 verdünnen:
10 µl Fentanyl- Stammlösung + 990 µl Acetonitril/ H₂O 50:50
Fentanyl (0,1 µg/ml) Stammlösung 1:1000 verdünnen:
1 µl Fentanyl- Stammlösung + 999 µl Acetonitril/ H₂O 50:50

Interner Standard:

Fentanyl D5 (1 µg/ml) Stammlösung 1:100 verdünnen:
10 µl Fentanyl- D5- Stammlösung + 990 µl Acetonitril/ H₂O 50:50

4.2.4 Proben und Kontrollaufarbeitung

4.2.4.1 Kontrollaufarbeitung

Parallel zur Probenaufarbeitung wird in jeder Serie ein Kalibrator, sowie eine Richtigkeitskontrolle aufgearbeitet.

Die Konzentration an Fentanyl in der Richtigkeitskontrolle liegt bei 2,5 ng/ml und die des Einpunktkalibrators bei 10 ng/ml. Die Richtigkeitskontrollen wurden als großer Pool angesetzt und aliquotiert eingefroren.

In Tabelle 2 wird das Pipettierschema für die Aufarbeitung von Fentanyl dargestellt:

Tabelle 2: Pipettierschema für die Aufarbeitung von Fentanyl.

	Patient	Richtigkeitskontrolle (2,5 ng/ml)	Kalibrator (10 ng/ml)
Probe	500 µl		
Kontrollserum		500 µl	500 µl
Fentanyl-D5 (1 µg/ml)	5 µl	5 µl	5 µl

4.2.4.2 Probenaufarbeitung

Jeweils 500 µl Blut oder Serum wurden in ein 2 ml Reagiergefäß pipettiert. Den Proben wurde anschließend 5 ng Fentanyl D5 als interner Standard hinzugefügt. Anschließend wurden 250 µl Phosphatpuffer (pH 7,5) zugegeben und diese danach kurz geschüttelt.

Nach dem Schütteln wurden den Proben 1000 µl Chlorbutan als Extraktionsmittel hinzugegeben und die Proben für mindestens 30 min geschüttelt. Daraufhin wurden die Proben bei 16.000 U/min für 5 Minuten zentrifugiert.

Die Chlorbutan-Überstände wurden in ein Reagiergefäß (1,5 ml) überführt und danach bei 40°C unter Stickstoffstrom getrocknet.

Die abgedampften Proben wurden mit 200 µl LC/MS-Laufmittel 1 aufgenommen, 2 Minuten gevortext und dann 5 Minuten bei 16.000 U/min zentrifugiert.

150 µl des Überstands wurden in Vials mit Inserts pipettiert und verschlossen.

4.2.5 Durchführung der Analyse per LC/MS

4.2.5.1. Die High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)

Die LC ist eine Trennmethode für eine große Anzahl organisch-chemischer Verbindungen, die auch eine Trennung von schwer flüchtigen Verbindungen, wie z.B. polaren oder höhermolekularen Stoffe, ermöglicht.

Die Massenspektrometrie (MS) ist eine spezifische Methode zur Detektion und Identifizierung organisch-chemischer Verbindungen. Sie liefert nicht nur Informationen über das Molekulargewicht, sondern ebenso durch die Bildung charakteristischer Fragmente Informationen über die chemische Struktur.

Zur chromatographischen Trennung verwendet wurde eine Säule mit 20 mm Länge und 2,1 mm Durchmesser (Waters Atlantis dc18), gepackt mit Octadecyl-Siloxan modifiziertem Kieselgel (3 µm).

Die Elution erfolgte im Gradientenmodus bei einer Flussrate von 0,5 ml/min nach folgendem Programm (Tabelle 3).

Tabelle 3: Gradientenprogramm zur Abtrennung von Fentanyl

Zeit/Minuten	Laufmittel
0	1
3	2
6	2
7	1
9	1

4.2.5.2 Der massenspektrometrische Detektor

In Kopplung des MS an die HPLC wird das Eluent kontinuierlich auf die Anwesenheit auf Fentanyl (m/z 342, 286, 221, 158) geprüft. Zur Ionisation wurde eine ESI (Elektro Spray Ionisation)-Quelle benutzt. Einstellungen: N₂-Fluss: 45 arb./U, aux: 5 arb./U, Kapillare: 265°C, 30 V, Hochspannung: 4,5 kV im pos. mode.

Das Massenspektrometer LCQduo, Thermo Finnigan wurde mittels einer ESI- („elektrospray ionization“)- Quelle an das HPLC- System gekoppelt. Hier werden durch Protonierung und Desolvatisierung unter Atmosphärendruck Ionen erzeugt. Die zur Desolvatisierung verwendete Kapillare hat eine Temperatur von 265°C sowie ein Potential von 30 V. Zur Sprayerzeugung wird ein Stickstoffstrom (45 arb. Units Sheath/ 5 arb Units Aux) sowie eine Hochspannung von + 4,5 kV verwendet („positive mode“). Dadurch entstehen aus Fentanyl sowie Fentanyl D5 protonierte Molekülonen [M + H]⁺- Ionen mit m/z 337 / 342.

Die entstandenen Ionen werden über einen Separator mit zwei Beschleunigungsabteilen in ein Hochvakuum des Massenspektrometers überführt (Maurer, 2002).

4.2.5.3 Die Elektrospray Ionization (ESI)

ESI ist die schonenste Ionisierungstechnik für LC/MS und erlaubt die Untersuchung von großen, labilen Molekülen in intaktem Zustand. Es können Proteine mit bis zu 100.000 Dalton untersucht werden und es reichen wegen der Mehrfachladung der Ionen Massenanalytoren mit Messbereichen von 2-3000 Dalton aus (Maurer, 2002). Die nachfolgende Abbildung zeigt den Ionisierungsprozeß.

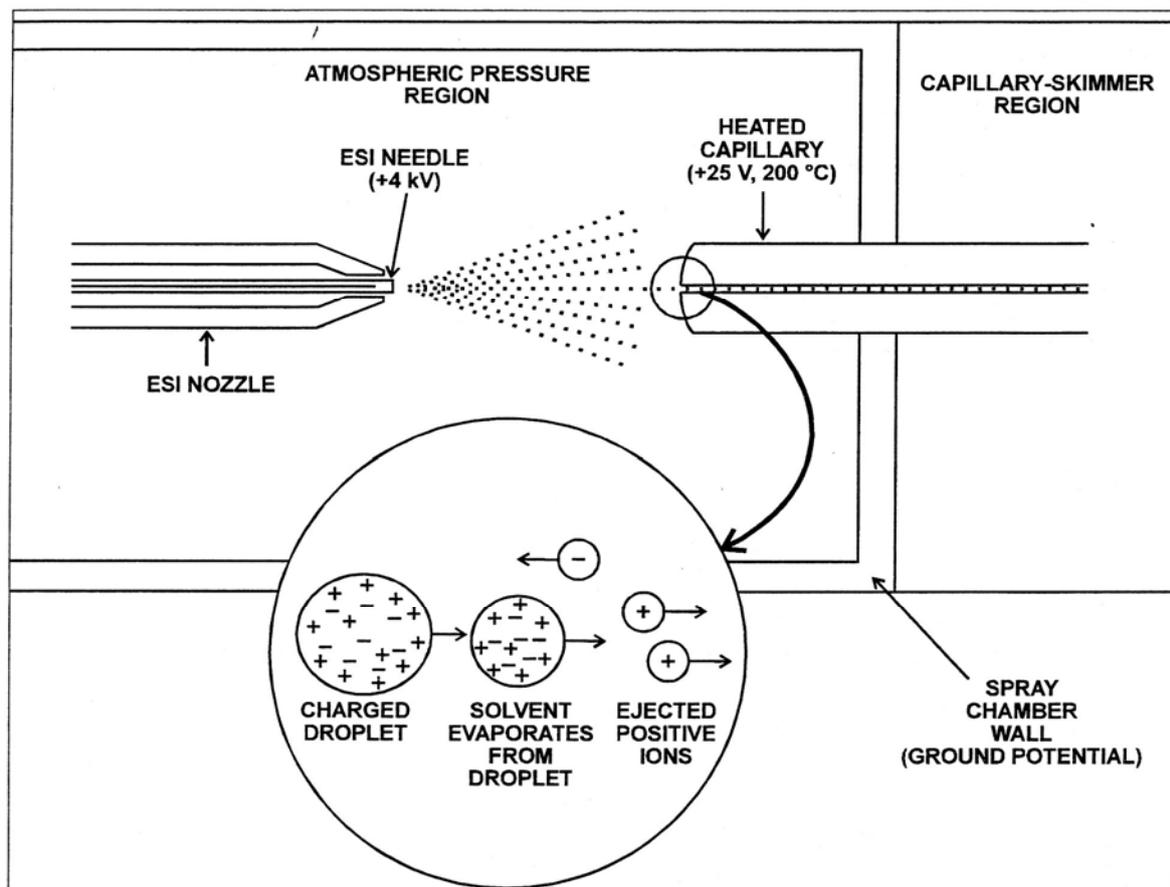


Abb.4: ESI- Prozess im positiven Ionen-Ladungsmodus, (Hardware Manual, Thermo Finnigan LCQduo).

Mit dem ESI- Modus können jeweils positiv oder negativ geladene Ionen erzeugt werden, je nachdem wie die ESI- Nadel geladen ist. Im Falle der hier eingesetzten Methode zur Bestimmung von Fentanyl werden positiv geladene Ionen erzeugt.

4.2.5.4 Die Fragmentierung des Fentanyls

Die Detektion erfolgte im MS/MS-Modus nach kollisionsinduzierter Fragmentierung („CID“), wobei die für Fentanyl/Fentanyl D5 „parent ions“ (m/z 337 und m/z 342) innerhalb des Massenanalytators fragmentiert werden und die Fragmentionen („Tochterionen“) detektiert werden. Der verwendete Massenanalytator ist eine Ionenfalle („Iontrap“), als Kollisionsgas dient Helium. Die Abbildung 6 zeigt die drei Hauptfragmentationsrouten für Fentanyl. Route A zeigt die Abspaltung des neutralen Amidrestes, Route B den neutralen

Verlust des Aminrestes. Die wichtige letzte Route besteht aus der Spaltung des Piperidinrings und dem Verlust der Propionylgruppe (Route C) (Pihlainen et al, 2004).

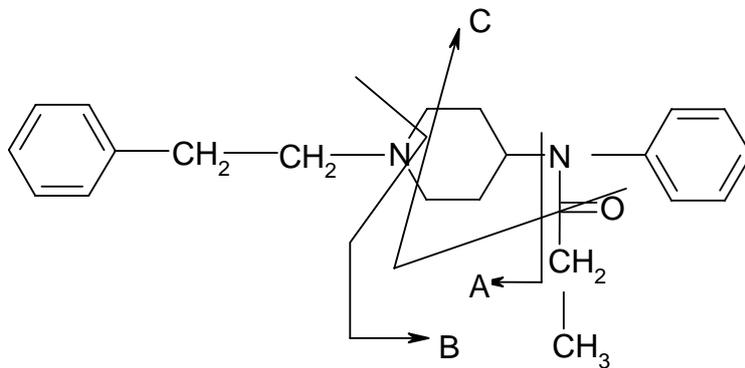


Abb. 5: Hauptfragmentationsrouten des Fentanyls. (Pihlainen et al., 2004)

4.2.6 Auswertung

4.2.6.1 Chromatogramm für Fentanyl

Abbildung 6 zeigt ein Chromatogramm für Fentanyl (oben) und den internen Standard Fentanyl D5.

Bei den Signalen sind jeweils die RT (Retentionszeit), sowie die Flächen der Signale (AA) angegeben. Diese werden für die Quantifizierung verwendet.

Die charakteristischen Fragmentationen sind für Fentanyl m/z: 337, 216, 281 und 188 und m/z: 342, 221, 286, 188 für Fentanyl-D5. Zur Identifizierung des Fentanyls und des internen Standards Fentanyl-D5 dienen die Retentionszeit die Molioen ($M+H^+$) m/z 337 bzw. 342 und deren Fragmentationen (im MS/MS-Mode) m/z 281, 216 und 188 bzw. 286, 211 und 188 als Qualifier (siehe Abb. 6). Die Quantifizierung erfolgte anhand der geltenden Kalibrationskurve gemäß Validierungsprotokoll (s. Anhang 8) und Abb. 6.

Berechnung des Fentanylgehalts: Berechnungsgrundlage ist der Responsefaktor, der sich aus dem Verhältnis der Peakfläche (Area) von Fentanyl zu der Peakfläche des internen Standards (Fentanyl D5) aus dem mitgeführten Einpunktkalibrator ergibt:

$$\frac{\text{Area Fentanyl} \times 5 \text{ ng (FentanylD5)}}{\text{Area FentanylD5} \times \text{Responsefaktor} \times 0,5 \text{ ml}}$$

$$= \text{ng Substanz/ml Blut/Serum}$$

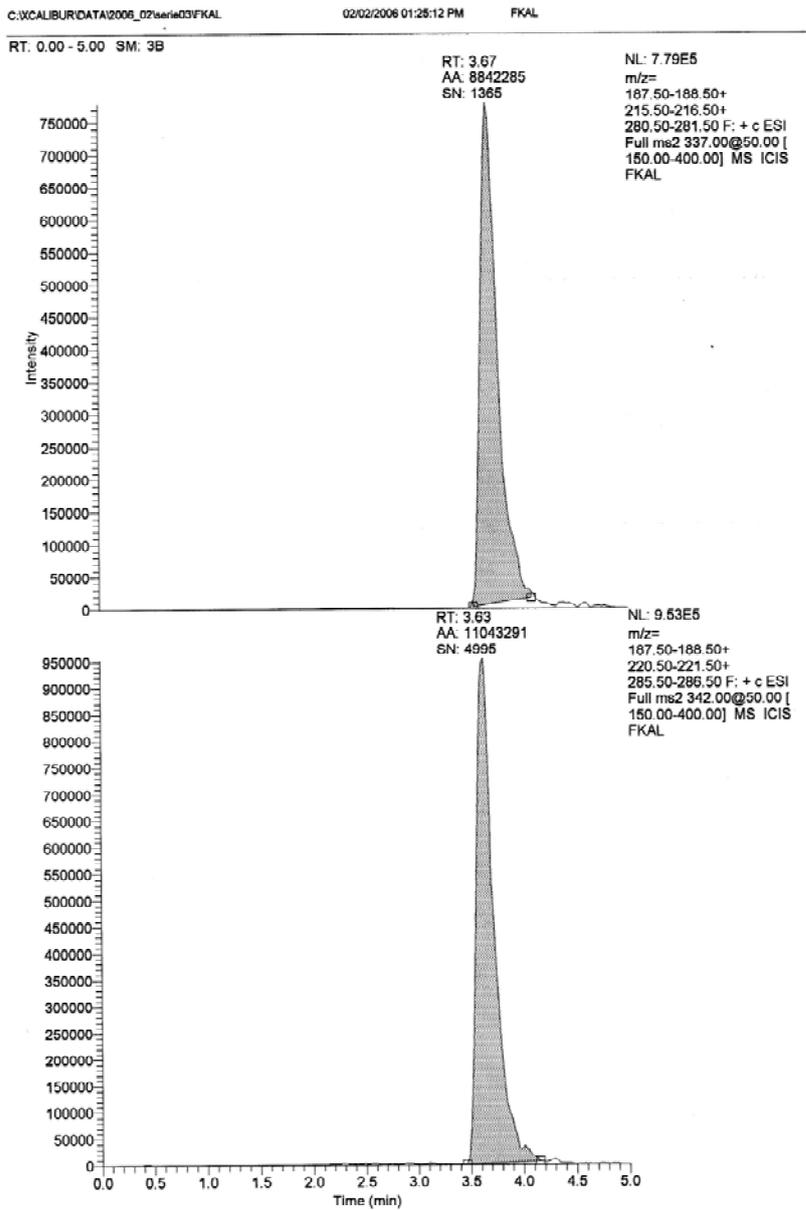


Abb. 6: Chromatogramm für Fentanyl und Fentanyl D5 eines Kalibrators mit 10 ng/ml.

4.3.1 Immunoassay

Die Blutproben der Verstorbenen wurden zusätzlich mit einem Fentanyl-Enzymimmunoassay (EIA) der Firma Mahsan Diagnostika untersucht, der Test wurde entsprechend den Herstellerangaben durchgeführt.

Bei diesem Test handelt es sich um einen nichtkompetitiven Immunoassay. Der monoklonale erste Antikörper ist auf einem Träger (Gefäßwand) fixiert; er wird auch als „Solid-Phase-Antikörper“ (z.B. anti-Fentanyl-Schafsantikörper) bezeichnet. Der Antikörper reagiert mit dem in der Probe enthaltenen Antigen (z.B. Fentanyl), das vollständig gebunden wird. Nach einem Waschgang zur Entfernung anderer Matrix-Bestandteile erfolgt mit einem zweiten, gegen das Antigen gerichteten, Farbstoffmarkierten Antikörper die Sandwich-

Bildung (Dörner, 2003). Die Reaktion wurde nach 30 Minuten mit Schwefelsäure gestoppt. Anschließend wurde die optische Dichte mit einem Photometer ermittelt.

5 Ergebnisse

5.1 Validierung der LC/MS-MS Methode

Die Validierung der LC/MS-MS Methode zur Bestimmung von Fentanyl in humanem Serum nach vorangehender flüssig/flüssig-Extraktion war nach den Richtlinien der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) bereits durch Mitarbeiter des Arbeitsbereiches Toxikologie durchgeführt worden (Peters et al., 2004a und Peters et al., 2004b). Die Analysemethode erwies sich als selektiv, präzise und richtig. Die Linearität über den Kalibrationsbereich war gegeben, sodass die Quantifizierung über ein lineares Kalibrationsmodell erfolgen konnte.

Als analytische Grenzen nach DIN 32645 wurden die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LOD) mit 0,41 ng/ml und die Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification, LOQ) mit 1,34 ng/ml ermittelt.

Richtigkeit und Präzision wurden anhand zweier Qualitätskontrollproben mit einer niedrigen (2,50 ng/ml) und einer hohen (10,00 ng/ml) Konzentration, die an acht unterschiedlichen Tagen jeweils in einer Doppelbestimmung analysiert wurden, überprüft. Die von der GTFCh vorgegebenen Grenzen von +/- 15 % wurden für die Wiederholpräzision (intraday-Präzision), die Laborpräzision (interday-Präzision) und die Richtigkeit eingehalten.

Die Wiederfindungsrate lag mit 84,6 % im niedrigen Konzentrationsbereich und 93,7 % im hohen Konzentrationsbereich deutlich über der Mindestanforderung von 50 %.

Bei Asservaten, die von verstorbenen Personen gewonnen wurden, muss mit postmortalen Veränderungen gerechnet werden. Somit ist eine Blutprobe von einem Verstorbenen nicht mit einer Blutprobe eines Lebenden zu vergleichen. Im Rahmen dieser Dissertation wurde die bereits etablierte Methode zur Bestimmung von Fentanyl im Serum ebenfalls für die Bestimmung für Fentanyl im Leichenblut eingesetzt. Um einen möglichen Einfluss auf die Qualität der Analytik zu überprüfen, wurde die Methode zusätzlich für die Matrix Leichenblut validiert. Hierzu wurden ebenfalls die Parameter Linearität, Richtigkeit, Präzision und Wiederfindung bestimmt.

Unsere Bestimmung der Wiederfindung ergab bei einer Fentanylkonzentration von 2,5 und 10 ng/ml 92,8 % und 101,9 %. Die Qualitätskontrollen mit hoher (10,0 ng/ml) und niedriger (2,5 ng/ml) Konzentration, die bei jeder Probe mit analysiert wurden, lagen ebenfalls innerhalb der vorgegebenen Grenzen.

Im Validierungsprotokoll (siehe Anhang 8), wird gezeigt, dass sich mit der Methode auch für postmortale Blutproben Fentanyl linear und spezifisch nachweisen lässt.

Die Nachweisgrenze (LOD) liegt für die postmortalen Fentanylblute bei 1,24 ng/ml, die Bestimmungsgrenze (LOQ) bei 4,17 ng/ml.

Es wurden 50 männliche und 68 weibliche Verstorbene (n = 118) untersucht.

Von den lebenden Patienten waren 9 männlichen und 18 weiblichen Geschlechts (n= 27).

5.2 Ergebnisse der verstorbenen Probanden

Nach Überprüfung der Unterlagen hinsichtlich der Todesursachen wurden die Verstorbenen in Tabelle 4 als pseudonymisierte Fälle mit jeweilig applizierter Pflasterdosierung in µg/h und die Fentanylkonzentration in ng/ml (Analyse per LC/MS) aufgelistet. Fall 36 wurde wegen mangelhaften Materials aus der Wertung genommen, Fall 113 aufgrund des Verdachts einer Intoxikation.

Tabelle 4: Darstellung aller Verstorbenen als pseudonymisierte Fälle mit applizierter Gesamtpflasterdosis in µg/h und Fentanylkonzentration in ng/ml

Fall	Durogesic pflaster-Dosierung in µg/h	Fentanylkonzentration in ng/ml	Fall	Durogesic pflaster-Dosierung in µg/h	Fentanylkonzentration in ng/ml
T 1	25	1,98	T 61	50	3,74
T 2	50	2,85	T 62	75	7,61
T 3	25	6,63	T 63	150	19,41
T 4	100	16,96	T 64	50	1,43
T 5	50	5,05	T 65	100	39,32
T 6	50	6,07	T 66	25	0,45
T 7	50	19,19	T 67	75	6,69
T 8	75	9,24	T 68	25	3,37
T 9	50	5,77	T 69	100	6,17
T 10	100	9,11	T 70	100	8,65
T 11	25	0,2	T 71	25	1,93
T 12	50	10,26	T 72	75	0,49
T 13	50	1,06	T 73	125	5,13
T 14	50	1,32	T 74	100	2,31
T 15	25	14,66	T 75	50	2,14
T 16	75	10,73	T 76	25	2,13
T 17	50	10,32	T 77	25	2,48
T 18	100	1,76	T 78	50	2,87
T 19	200	78,64	T 79	75	3,83
T 20	75	5,96	T 80	25	0,37
T 21	75	3,57	T 81	125	0,88
T 22	25	4,28	T 82	25	0,42
T 23	50	0,57	T 83	25	6,22
T 24	25	2,69	T 84	50	2,17
T 25	25	28,43	T 85	50	8,07
T 26	125	16,58	T 86	50	4,77
T 27	50	5,31	T 87	50	n.n.
T 28	25	1,9	T 88	50	5,64
T 29	75	3,73	T 89	100	2,18
T 30	50	1,05	T 90	75	4,92
T 31	75	6,82	T 91	25	n.n.
T 32	50	6,4	T 92	100	14,36
T 33	50	n.n.	T 93	25	5,05
T 34	200	31,73	T 94	50	4,07
T 35	50	3,3	T 95	25	1,3

T 36		Material nicht ausreichend	T 96	100	7,33
T 37	75	9,63	T 97	50	8,35
T 38	150	7,5	T 98	50	7,7
T 39	25	2,96	T 99	150	19,05
T 40	50	30,6	T 100	100	26,02
T 41	50	3,45	T 101	50	3,04
T 42	75	20,24	T 102	50	7,49
T 43	50	9,13	T 103	50	8,12
T 44	100	13,35	T 104	50	2,64
T 45	25	0,47	T 105	25	0,88
T 46	200	22,79	T 106	50	3,8
T 47	25	25,61	T 107	75	9,13
T 48	100	35,63	T 108	25	5,56
T 49	25	3,2	T 109	100	7,34
T 50	50	8,63	T 110	100	8,84
T 51	50	4,57	T 111	75	15,52
T 52	125	1,86	T 112	50	0,7
T 53	50	6,69	T 113		außer Wertung
T 54	25	n.n.	T 114	50	2,94
T 55	150	4,3	T 115	25	5,09
T 56	50	5,01	T 116	125	3,67
T 57	75	1,47	T 117	25	1,14
T 58	50	5,25	T 118	25	2,46
T 59	150	14,51	T 119	100	4,37
T 60	50	3,74	T 120	250	38,2

Die nachfolgende Tabelle zeigt die Spannbreite der Fentanylkonzentrationen für die Pflasterstärken von 25 µg/h bis > 125 µg/h der Verstorbenen. Es ist jeweils die niedrigste nachgewiesene bzw. die höchste Konzentration für eine Pflasterstärke aufgeführt. Zudem wurde für jede Pflasterstärke der Median und Mittelwert aller Fentanylkonzentrationen ermittelt.

Tabelle 5: Spannbreite, Median, Mittelwert und Anzahl der Fentanylkonzentrationen der Verstorbenen

Applizierte Dosis	Minimale Konzentration in ng/ml	Maximale Konzentration in ng/ml	Median in ng/ml	Mittelwert in ng/ml	Anzahl der Fälle
25 µg/h	0	28,43	2,46	4,55	29
50 µg/h	0	30,60	4,75	5,46	43
75 µg/h	0,49	20,24	6,74	7,46	16
100 µg/h	1,76	39,32	8,73	12,72	16
125 µg/h	0,86	16,58	3,67	5,61	5
> 125 µg/h	7,5	78,64	20,92	27,09	9

Abbildung 7 zeigt Fentanylkonzentrationen der postmortalen Blutproben in ng/ml bei 118 Verstorbenen in Relation zu der aufgeklebten Durogesic® Pflasterdosis in µg/h. Die Steigung beträgt 0,14 (95% CI: 0,09 ... 0,18) und ist statistisch signifikant von Null verschieden ($p < 0,0001$); der Mittelwert aller ermittelten Fentanylkonzentrationen liegt bei 8,18 ng/ml, der Median bei 5,05 ng/ml.

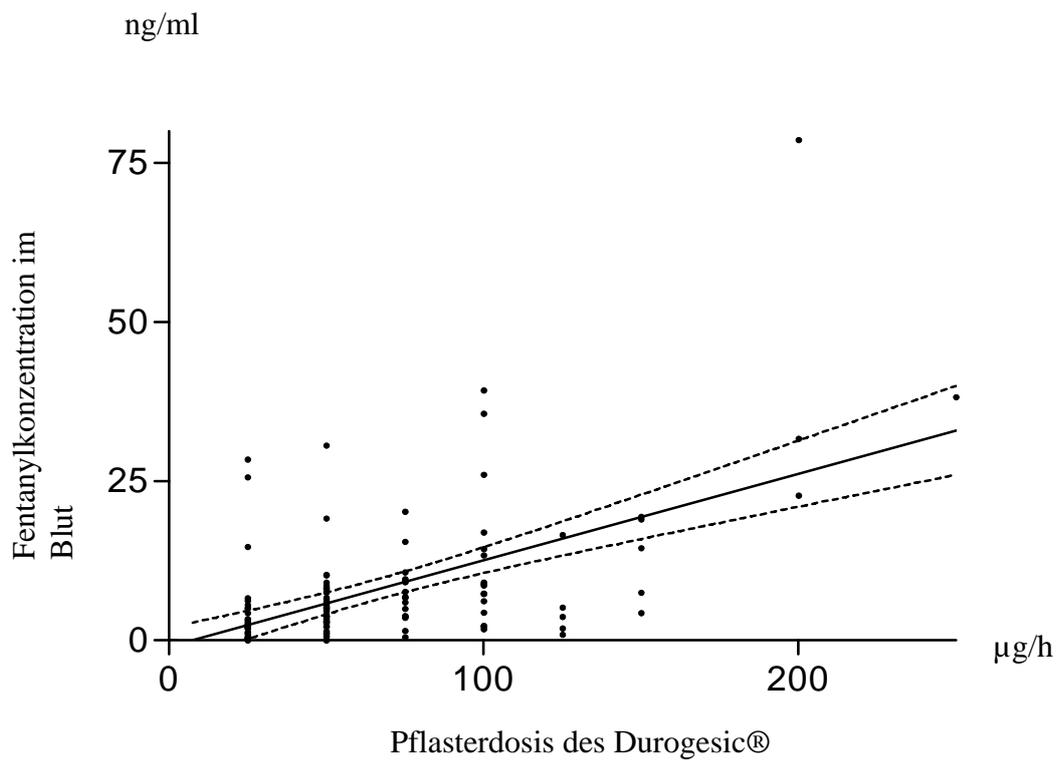


Abb. 7: Fentanylkonzentration im postmortalen Femoralvenenblut in ng/ml in Korrelation zu der aufklebten Dosis des Durogesic® in µg/h.

Die nachfolgende Abbildung bildet die Verteilung der applizierten Pflasterdosen im Kollektiv der Verstorbenen (n=118) ab. Die Pflasterdosen reichten von 25 µg/h bis 250 µg/h. Das Kreisdiagramm zeigt die prozentuale Verteilung der verschiedenen Pflasterstärken.

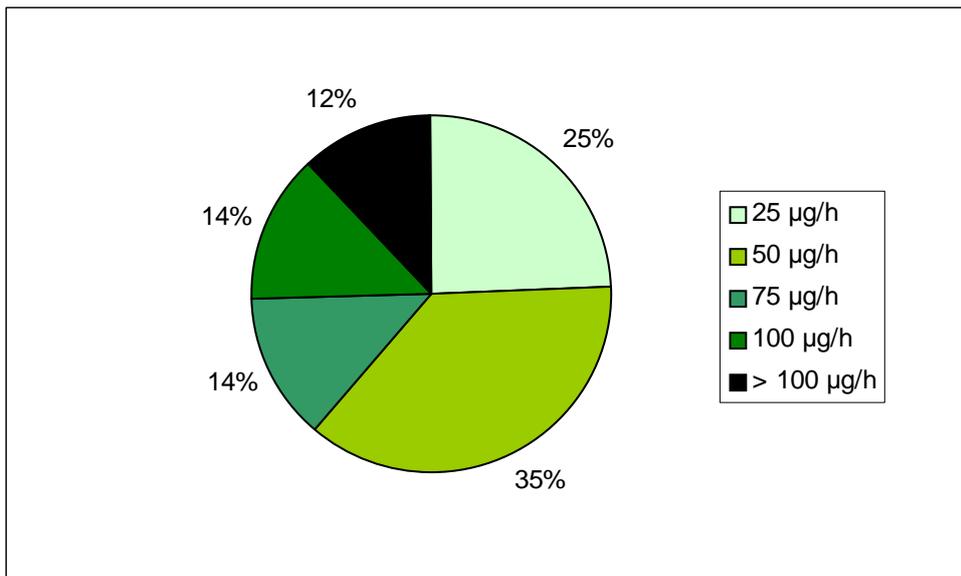


Abb. 8: Verteilung der Durogesic®-Pflasterdosis der Verstorbenen.

5.3 Ergebnisse der lebenden Patienten

Tabelle 6 zeigt die lebenden Probanden als pseudonymisierte Fälle mit jeweiliger Pflasterdosierung in $\mu\text{g/h}$ und Fentanylkonzentration in ng/ml . Die Analyse wurde per LC/MS durchgeführt.

Tabelle 6: Darstellung aller lebenden Probanden mit zugehöriger Pflasterdosis in $\mu\text{g/h}$ und Fentanylkonzentration in ng/ml

Fall	Durogesicpflaster/ Dosierung in $\mu\text{g/h}$	Fentanylkonzentration in ng/ml
1	25	n.n.
2	100	1,67
3	62,5	0,68
4	100	2,65
5	135	0,61
6	50	1,11
7	120	1,55
8	200	3,64
9	50	2,34
10	100	1,71
11	25	0,61
12	75	2,31
13	100	1,23
14	100	1,34
15	100	1,73
16	25	0,6
17	75	0,55
18	25	0,2
19	25	0,71
20	25	1,06
21	175	3,11
22	25	0,16
23	75	0,9
24	25	0,23
25	12,5	0,27
26	25	0,26
27	25	n.n.

Die nachfolgende Tabelle stellt die Spannbreite der Fentanylkonzentrationen für die Pflasterstärken von $12,5 \mu\text{g/h}$ bis $> 100 \mu\text{g/h}$ der lebenden Patienten dar. Es ist jeweils die niedrigste nachgewiesene Konzentration in ng/ml bzw. die höchste Konzentration für eine Pflasterstärke aufgeführt.

Zudem wurde für alle Pflasterstärken der jeweilige Median und Mittelwert bestimmt.

Tabelle 7: Spannbreite der Fentanylkonzentrationen für verschiedene Pflasterstärken der Lebenden

Applizierte Dosis in µg/h	Minimale Konzentration in ng/ml	Maximale Konzentration in ng/ml	Median in ng/ml	Mittelwert in ng/ml	Anzahl der Fälle
12,5 µg/h	0,27	0,27	0,27	0,27	1
25 µg/h	n.n.	1,06	0,24	0,39	10
50 µg/h	1,11	2,34	1,71	1,71	2
(62,5 µg/h)	(0,68)	(0,68)	(0,68)	(0,68)	(1)
75 µg/h	0,55	2,31	0,9	1,25	3
100 µg/h	1,23	2,65	1,69	1,72	6
> 100 µg/h	0,61	3,64	2,33	2,22	4

In Abbildung 9 ist die Fentanylkonzentration im Serum in ng/ml der lebenden Probanden dargestellt, n= 27.

Die Steigung beträgt 0,015 (95% CI: 0,010 ... 0,021) und ist statistisch signifikant von Null verschieden ($p < 0,0001$); der Mittelwert für die Fentanylkonzentrationen der Lebenden liegt bei 1,2 ng/ml, der Median bei 0,9 ng/ml.

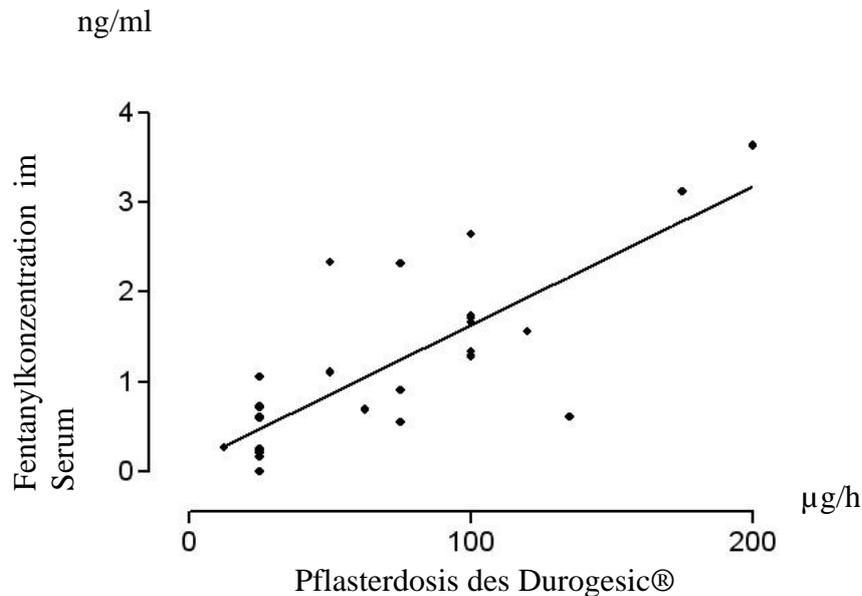


Abb. 9: Fentanylkonzentration im Serum in ng/ml bei den lebenden Probanden in Korrelation zu der jeweiligen aufgeklebten Dosis von Fentanyl in µg/h.

Die nachfolgende Abbildung zeigt die Verteilung der applizierten Pflasterdosen im Kollektiv der lebenden Probanden (n=27) ab. Die Pflasterdosen reichten von 12,5 µg/h bis 200 µg/h.

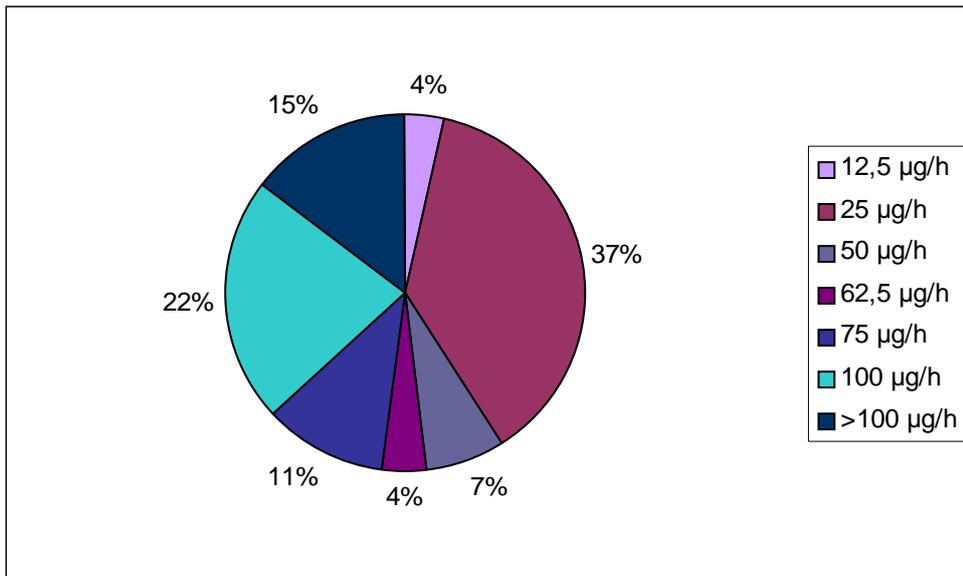


Abb. 10: Verteilung der Durogesic®-Pflasterdosis der Lebenden

5.4 Alter bei lebenden Patienten und Verstorbenen

In dieser Graphik wird jeweils das Alter zum Sterbezeitpunkt, bzw. bei den Lebenden das Alter bei Blutentnahme gezeigt. Die Einteilung erfolgte in Dekaden von < 40 Lebensjahr bis zum 100. Lebensjahr. Der hellgraue Balken kennzeichnet die Verstorbenen, n=118, der Dunkelgraue die lebenden Probanden, n=27, insgesamt n=145. Der Median des Alters liegt bei den Verstorbenen bei 81 Jahren, der Mittelwert bei 78 Jahren.

Die lebenden Probanden hatten ein durchschnittliches Alter von 65,4 Jahren, der Median lag bei 67 Jahren.

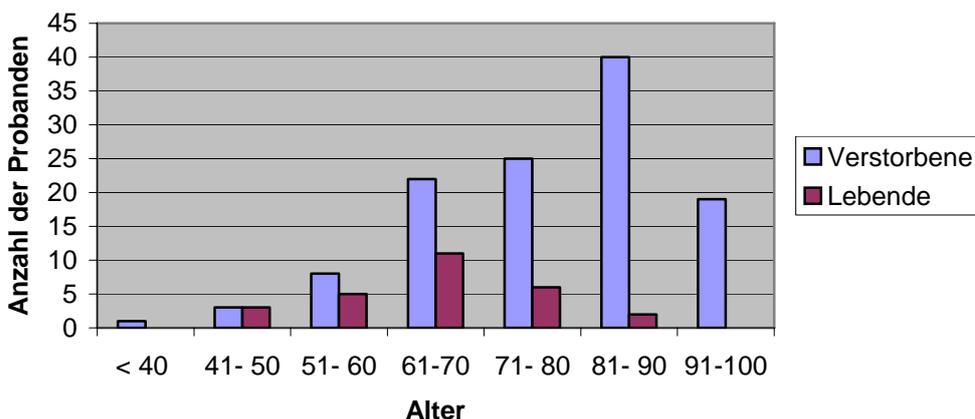


Abb. 11: Alter der Probanden zum Sterbezeitpunkt bzw. bei Blutabnahme.

In der nachfolgenden Graphik ist die Körpergröße aller Probanden (in cm und zu Dekaden < 150 cm bis 190 cm zusammengefasst) dargestellt. Die Verstorbenen sind mit dem hellgrauen, die Lebenden (n= 27) mit dem dunkelgrauen Balken dargestellt.

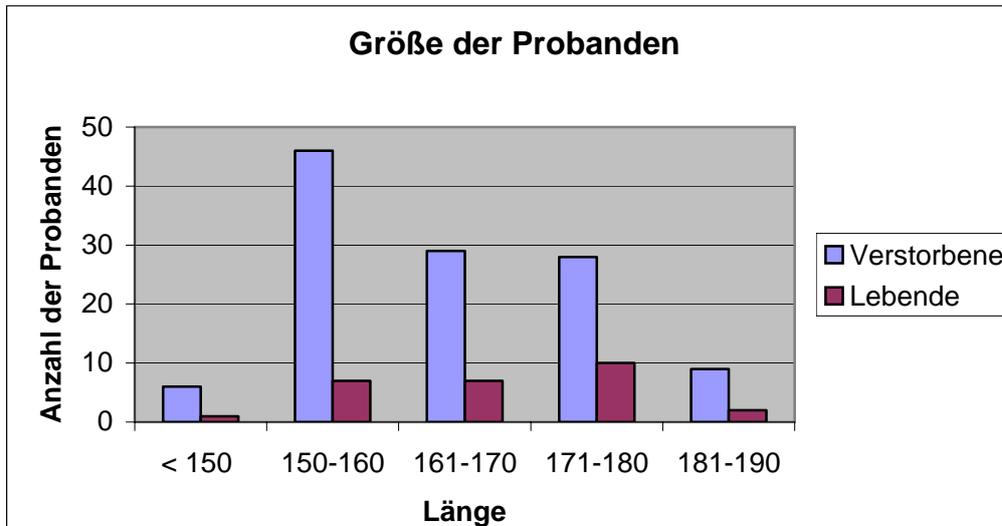


Abb. 12: Verteilung der Größe der Probanden in cm.

In Abb. 13 sind die Ernährungszustände der Probanden abgebildet. Bei den lebenden Probanden (n = 27) wurde aus den Angaben der Anamnese ein BMI-Index errechnet und dieser in die Gruppen kachektisch, normal, leicht adipös und adipös eingeteilt. Ein BMI von < 19 galt als kachektisch, 19 bis 24 als normal, 24 bis 30 als leicht adipös und ein BMI über 30 als adipös. Die Verstorbenen wurden bei der Blutentnahme in die o.g. Gruppen eingeteilt.

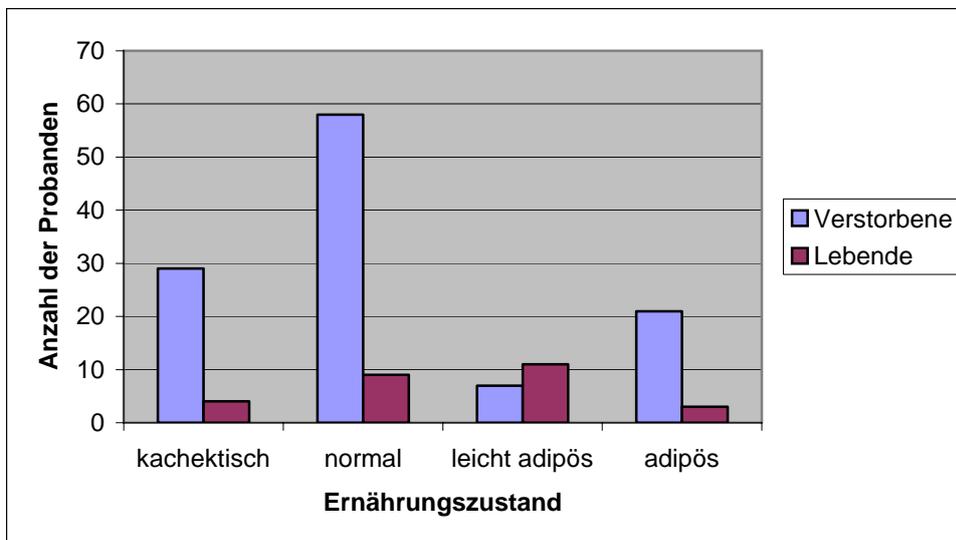


Abb. 13: Ernährungszustände der Probanden.

Abbildung 14 zeigt die angegebenen Todesursachen der Verstorbenen (n= 100). Die Angaben wurden den Hausarztanamnesen bzw. Arztbriefen des jeweiligen Krankenhauses entnommen. Die Krankheiten wurden in die Gruppen onkologische, vaskuläre, neurologische und sonstige Diagnosen eingeteilt.

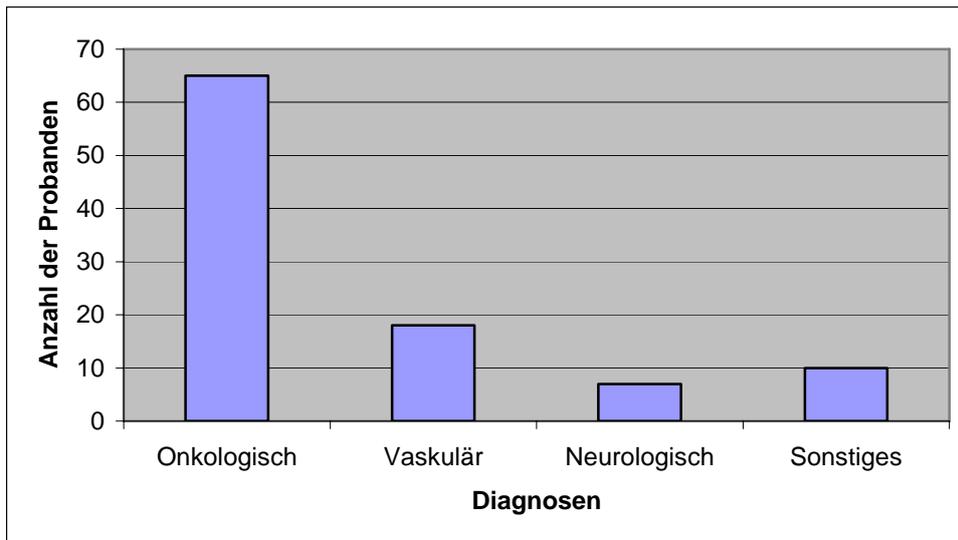


Abb. 14: Diagnosen der Verstorbenen

Die nachfolgende Abbildung zeigt die Hauptdiagnosen der 27 lebenden Patienten. Auch in dieser Graphik wurden die Krankheiten zu den Gruppen onkologisch, vaskulär, neurologisch sowie sonstige zusammengefasst. Die onkologische Gruppe erfasst 11 Tumoren des HNO-Bereichs, zwei gynäkologische Tumoren, ein Lungenkarzinom, ein Karzinom des Magen-Darm-Trakts, ein Urogenital- Karzinom und einen Augentumor (17 insgesamt). Die neurologische Gruppe enthält Lendenwirbelsäulen-Schmerzsyndrome bzw. Lumbago (5), eine Trigeminusneuralgie (1) und eine chron. Cervicobrachialgie (1). „Sonstiges“ beinhaltet eine Rippenfraktur, einen Herpes Zoster und einen Patienten mit abdominellen Schmerzen (3), insgesamt $n = 27$.

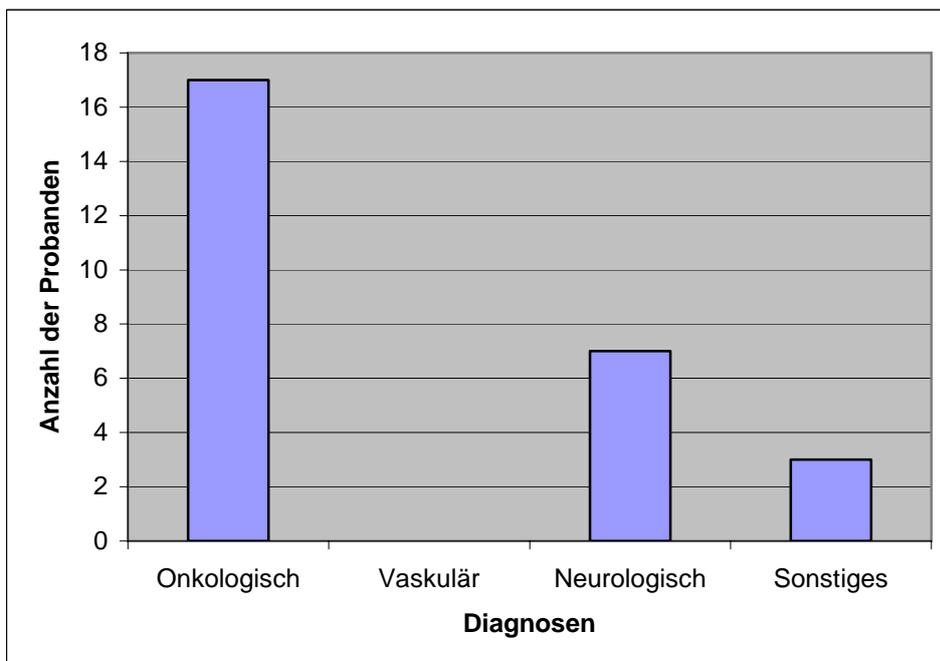


Abb. 15: Diagnosen der lebenden Patienten

In Abbildung 16 sind weitere Medikamente, die die Verstorbenen im Rahmen der Schmerztherapie von ihrem Arzt verordnet bekamen, aufgezeigt. Die Verordnungen wurden in die Gruppen Morphin, nicht steroidale Antirheumatika (NSAR), Benzodiazepine, Tramadol, Metamizol und Sonstige eingeteilt. Die Gruppe „Sonstige“ enthält die Medikamente Zopiclon (3), Amitriptylin (1), Tilidin (1), Metroclopramid (4), Buprenorphin (2), n=96.

Einige Patienten bekamen mehrere Schmerzmedikamente gleichzeitig verordnet.

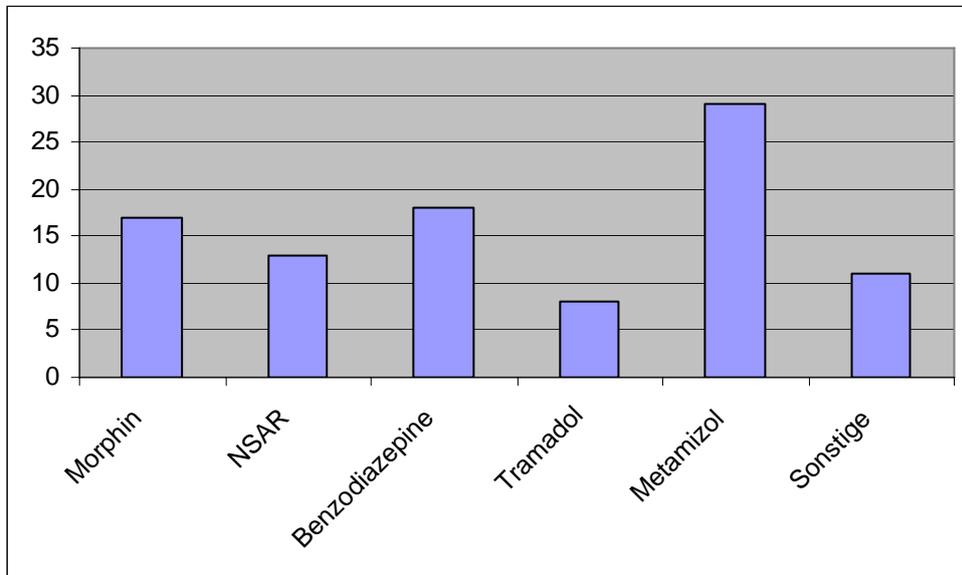


Abb. 16: weitere Medikamentenverordnung im Rahmen der Schmerztherapie der Verstorbenen.

In Abbildung 17 werden weitere Schmerzmedikamente dargestellt, die den Lebenden verordnet wurden. Die Medikamentenanamnese wurde den Planetten entnommen oder von den Patienten erfragt. Die Gruppe „Sonstige“ enthält die Medikamente Amitriptylin (3), Zopiclon (2) und Gabapentin (1), n = 41. Es kam zu Mehrfachnennungen, da einigen Patienten mehrere Medikamente gleichzeitig verordnet worden waren.

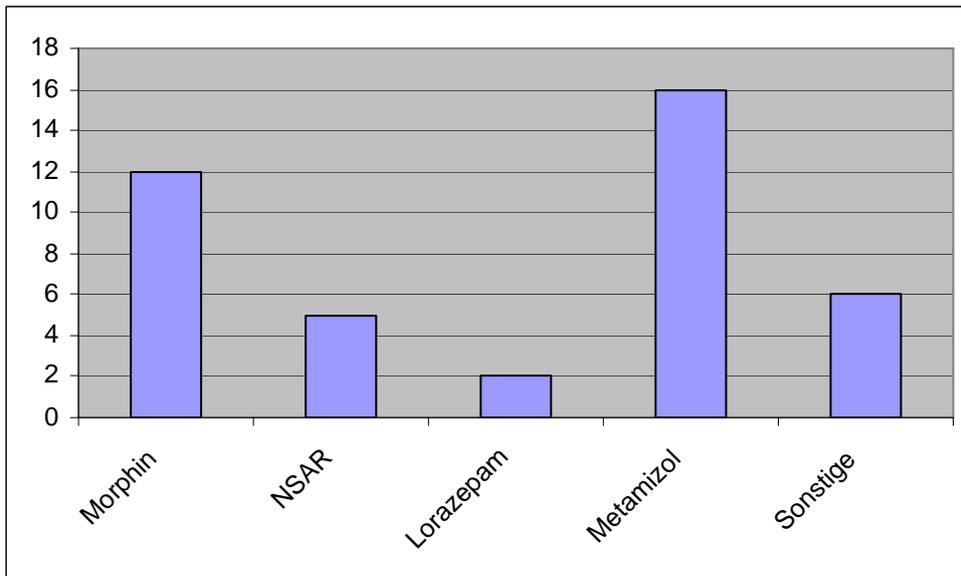


Abb. 17: weitere Medikamentenverordnungen im Rahmen der Schmerztherapie der lebenden Probanden

5.5 Liegezeit der Verstorbenen bis zur Blutabnahme

Die Liegezeit der Verstorbenen vom Todeszeitpunkt bis zur Blutentnahme betrug von einem Tag bis zu 41 Tagen; der Median war zehn Tage. Acht Prozent der Verstorbenen wiesen Fäulniserscheinungen auf, fünfzehn Prozent hatten Beinödeme.

Nachfolgende Abbildung zeigt die Liegezeit bis zur Blutentnahme bei den Verstorbenen (n= 118) als Kreisdiagramm in prozentualer Verteilung. Die Liegezeit in Tagen wurde zu Gruppen von 1– 4, 5-8, 9-12, 13-16 und 17-41 Tage zusammengefasst.

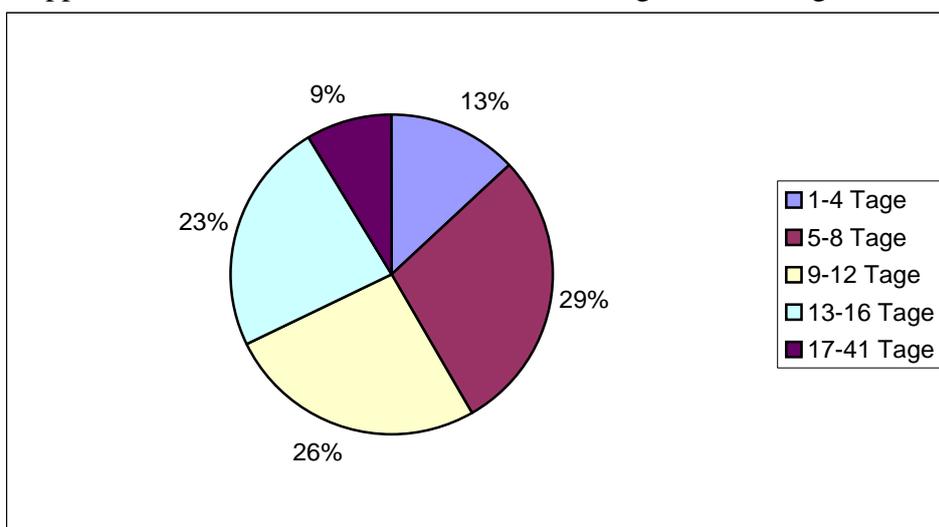


Abb. 18: Liegezeit der Verstorbenen bis zur Blutentnahme in Tagen

6 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wird der Frage nachgegangen, ob im Blut von Verstorbenen andere Fentanylkonzentrationen vorliegen als bei Lebenden mit gleicher Pflasterstärke.

Das Ziel war es, eine Grundlage zur Bewertung von postmortalen Fentanylkonzentrationen zu schaffen, insbesondere im Hinblick auf Verstorbene mit Verdacht auf eine Fentanylintoxikation.

6.1 Diskussion der angewandten Methodik

6.1.1 Einführung in die verwendete Methodik

Die forensisch-toxikologische Analyse ist ein wichtiger Bestandteil rechtsmedizinischer Gutachten, besonders im Hinblick auf die Beurteilung einer Beeinflussung durch Drogen, Alkohol oder Medikamente, z.B. im Zusammenhang mit Fahrtüchtigkeit oder zur Feststellung der Schuldfähigkeit von Straftätern. Da diese Gutachten weitreichende Folgen für die Betroffenen haben können, müssen die analytischen Verfahren eine eindeutige Identifizierung und Quantifizierung der vermuteten Substanzen ermöglichen (Maurer, 2000).

6.1.2 Liquid chromatography, mass spectrometry (LC/MS)- Entwicklung der Methode

Die Massenspektrometrie (MS) wurde bereits in den Jahren 1907 bis 1919 von J.J. Thomson und F.W. Aston entwickelt. Damaliges Ziel war es, Isotope zu trennen und zu identifizieren. In den sechziger Jahren wurde die MS zur Molmassenbestimmung und damit zur Errechnung der elementaren Zusammensetzung in die organische Chemie eingeführt; daneben dient sie zur Identifizierung unbekannter Substanzen.

Ein Massenspektrometer besteht aus einem Einlasssystem, Ionenquelle, Analysator und Detektor (Maurer, 2002). In Abbildung 19 wird ein funktionelles Diagramm des LCQduo Systems (Finnigan LCQDUO) gezeigt, das im Institut für Rechtsmedizin in Hamburg für diese Studie zur Verfügung stand.

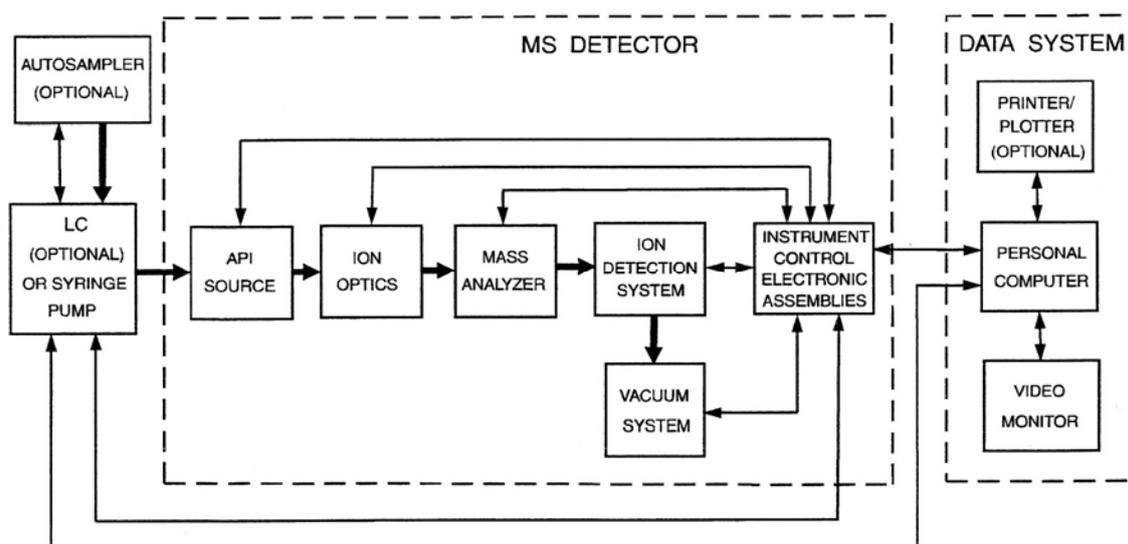


Abb. 19: Funktionelles Diagramm des LCQduo Systems. Die dicken, in eine Richtung weisenden Pfeile zeigen den Fluss der Probe durch das Gerät; die dünnen, beidseitigen Pfeile zeigen die elektrischen Verbindungen. Quelle: Hardware Manual, Thermo Finnigan LCQduo.

6.1.3 Studien zum Nachweis von Fentanyl

Im folgenden soll auf die Sensitivität und Spezifität der angewandten LC-MS/MS Methode eingegangen werden. Es werden Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen vorgestellt und mit dem in unserer Arbeitsgruppe ermittelten Validierungsdaten verglichen.

Day et al. verwendeten die Methode des LC-MS/MS für den Nachweis sehr niedriger Konzentrationen von Fentanyl und Norfentanyl im Plasma nach flüssig-flüssig Extraktion. Das Lower limit of quantitation (LLOQ) lag bei 0,05 ng/ml. Bei Konzentrationen von 0,1; 0,5; 1 und 10 ng/ml lagen die ermittelte intraassay Präzision und Richtigkeit bei 2,1-12,5 % für Fentanyl. Interassay Präzision und Richtigkeit lagen bei 7,34- 10,95 %, die Wiederfindungsraten lagen bei 67- 84% für Fentanyl (Day et al., 2003).

Martens-Lobenhoffer untersuchte das dem Fentanyl ähnliche Sufentanyl in humanem Serum mittels LC-MS/MS.

Die Proben wurden unter basischen Bedingungen mit Toluol-2-Propanol extrahiert. Das LOD lag bei 0,003 ng/ml, das LOQ bei 0,01 ng/ml. Die Wiederfindung für Sufentanyl lag bei 75 %. Die Extraktionsausbeute wurde mit 100% bestimmt (Martens-Lobenhoffer, 2002).

Die Arbeitsgruppe von Coopman berichtet über Wiederfindungsraten der LC/MS-Methode von 95,5- 100,3 % für Fentanyl (Coopman et al., 2007).

Koch et al. untersuchten 2004 die Extraktion und Quantifizierung von Fentanyl und Norfentanyl aus Plasma mit LC/MS. Die flüssig-flüssig Extraktion erfolgte mit Toluol als organische Phase. Die LOQ lag für Fentanyl bei 0,025 ng/ml.

Die inter-day Präzision von Fentanyl lag für die Konzentrationen von 0,075; 0,250 und 0,750 ng/ml bei 6,6; 7,2 und 6,6%, mit einer Genauigkeit von 4,0, 5,1 und 5,1%.

Die intra-day Präzision lag für Fentanyl bei 1,6; 1,9 und 1,9% bei einer Genauigkeit von 11,6, 9,4 und 8,4%.

Die Wiederfindungsraten für Fentanyl bei 0,075; 0,250 und 0,750 ng/ml lagen bei 85, 92 und 75%.

2001 publizierten Shou et al. eine LC-MS/MS- Methode für den Nachweis von Fentanyl in Plasma. Die Untersuchungen ergaben, dass diese Methode Fentanyl in Proben sensitiv und spezifisch nachweisen kann. Die mittlere Wiederfindungsrate lag bei 75,6 % für Fentanyl. Untersucht wurden zudem die Stabilität des Fentanyls im Plasma und in der Stammlösung bei längerer Lagerung (ca. 4°C für 147 Tage). Es wurde festgestellt, dass der Analyt stabil war bei Lagerung, Extraktion und LC-MS/MS- Analyse (Shou et al., 2001).

Eine weitere Methode zur Untersuchung von Fentanyl und seinen Derivaten ist die GC/MS (Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie). Diese Methode hat allerdings den Nachteil, häufig zeitaufwändiger als LC-MS/MS zu sein, da eine umfangreichere Probenvorbereitung und auch häufig eine Derivatisierung erfolgen muss. Vorteile der GC-MS-Methode sind geringere Matrixeffekte sowie der Einsatz kommerzieller Datenbanken zur Identifizierung von Substanzen (Ohta & Suzuki, 1999).

6.1.4 Diskussion der in unserer Studie ermittelten Validierungsdaten

Die im Rahmen der durchgeführten Validierung ermittelten Grenzen lagen bei 1,24 ng/ml für die Nachweisgrenze (LOD) und 4,17 ng/ml für die Bestimmungsgrenze (LOQ). Werte

zwischen der Nachweisgrenze und der Bestimmungsgrenze sollten nur qualitativ angegeben werden, Werte unterhalb der LOD sollten gar nicht angegeben werden.

Die in unserer Studie ermittelten Konzentrationen für Fentanyl im Blut lagen zum Teil unterhalb dieser Grenzen, so dass formal diese Konzentrationen nicht oder nicht quantitativ hätten angegeben werden dürfen.

Aus folgenden Gründen wurden die ermittelten sehr niedrigen Konzentrationen trotzdem zur Auswertung der Studienergebnisse einbezogen:

Es wurden nur deutlich abgrenzbare Analysensignale mit einem Signal-Rausch-Verhältnis (S/N) größer als 3 ausgewertet.

Durch die Qualitätskontrollen die in jeder Serie mitgeführt wurden (Konz. 2,5 und 10 ng/ml) konnte sicher gestellt werden, dass in dem Konzentrationsbereich auch unterhalb der rechnerisch ermittelten LOQ der Gehalt an Fentanyl korrekt erfasst wurde. Außerdem lag der niedrigste eingesetzte Kalibrator und somit das sog. lower limit of quantification (LLOQ) bei 1 ng/mL, ebenfalls in dem Bereich der niedrigen Konzentrationen, die in den Probandenproben gemessen wurden.

Der gewählte Arbeitsbereich der Kalibrierkurve für die durchgeführte Validierung liegt im Bereich der für die Praxis relevanten Konzentrationen (1,0-15,0 ng/ml). Die mit einer an den praktischen Fragestellungen orientierten Kalibriergeraden mit höheren Konzentrationen rechnerisch nach DIN ermittelten Grenzwerte liegen immer über den instrumentell möglichen Werten. Zur Ermittlung der tatsächlichen äußersten Leistungsfähigkeit der instrumentellen Methode müsste eine Kalibriergerade mit deutlich niedrigeren Konzentrationen (im Bereich um die zu erwartende Bestimmungsgrenze) eingesetzt werden.

Für die forensische Praxis sind die ermittelten Grenzen der Methode als ausreichend anzusehen, da Konzentrationen die als potentiell toxisch angesehen werden, oberhalb der ermittelten Grenzen liegen würden.

Bei forensisch relevanten Fragestellungen, die gerichtsverwertbare Ergebnisse erfordern, werden die Konzentrationen unterhalb der Grenzen als „Spuren“ (wenn < LOQ), oder gar nicht angegeben.

Im Vergleich zu den o.g. Studien ist die Wiederfindung für Fentanyl in unserer Studie (92,8 bzw. 101,9 %) (vergleichbar mit der Studie von Coopman, die ebenfalls über eine Wiederfindung von 95- 100% von Fentanyl berichten). Da in der Studie von Martens-Lobenhoffer Sufentanil untersucht wurde, liegen die LOD (0,003 ng/ml) und LOQ (0,01 ng/ml) deutlich niedriger, da aufgrund der stärkeren Wirksamkeit auch deutlich niedrigere Dosen des Medikaments im Vergleich zu Fentanyl verabreicht werden. Die Wiederfindungsraten der anderen Arbeitsgruppen liegen bei 67-92% für Fentanyl, so dass die Ergebnisse für die Wiederfindung von Fentanyl in unserer Studie im oberen Drittel anzusiedeln sind.

Abschließend kann gesagt werden, dass die für diese Studie eingesetzte Methode mit flüssig-flüssig-Extraktion und anschließender LC-MS/MS- Analyse mit Elektrospray im „positiven ionization mode“ spezifisch und für die in der Studie verfolgte Fragestellung geeignet ist.

6.2 Immunoassay

Die nachgewiesenen Fentanylkonzentrationen im Immunoassay ergaben bei dem Vergleich mit den Ergebnissen der LC-MS/MS Untersuchung deutliche und unsystematische Abweichungen in der Konzentration des Fentanyls.

Käferstein und Sticht verglichen 2000 verschiedene nichtradioaktive Immunoassays (EIAs) für den sensitiven Nachweis von Fentanyl. Es wurden die Tests von COZART, STC und DIAGNOSTIX durchgeführt. Diese Tests werden alle von der Firma Mahsan Diagnostika vertrieben und dienen dem Nachweis von Fentanyl im Serum von klinischen und forensischen Fällen.

Alle drei Tests beinhalten eine Kalibrationskurve, die Serumproben mit 0; 0,1; 0,5; 1 und 5 ng/ml Fentanyl enthält. Der Cut-off für diese EIAs kann nach Herstellerangaben bei 0,5 ng/ml gesetzt werden. Die Tests wurden in der Studie gemäß Anweisung durchgeführt. Es zeigten sich keine falsch positiven Ergebnisse in den Tests, allerdings war die quantitative Bestimmung von Fentanyl nicht möglich. Die Untersucher empfehlen die Tests lediglich als Screening- Methode für forensische Fälle. Bei einem positiven Ergebnis sollten dann chromatographische Methoden zur Quantifizierung der Fentanylkonzentration durchgeführt werden.

Die Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe zeigten mit dem Fentanyl-EIA der Firma Mahsan Diagnostika ebenso ein positives Ergebnis bei Vorliegen von Fentanyl. Dieser Test ist somit als erster Screeningtest geeignet. Es zeigte sich jedoch auch bei der Überprüfung durch die LC-MS/MS Methode ein deutliches Abweichen der Fentanylkonzentrationen. Es wurden mittels Immunoassay sowohl zu hohe als auch zu niedrige Konzentrationen ermittelt.

6.3 Übersicht der Ergebnisse

In unserer Studie konnte gezeigt werden, dass eine Korrelation zwischen applizierter Dosis und Fentanylkonzentration im Blut sowohl bei Verstorbenen als auch bei Lebenden besteht (siehe Abb. 7 und Abb. 9).

Zum anderen konnte aber auch gezeigt werden, dass die Fentanylkonzentrationen im Blut bei gleicher Pflasterdosis bei den Verstorbenen deutlich höher liegen als bei lebenden Patienten (siehe Tab. 5 und Tab. 7). So liegt beispielsweise bei 100 µg/h der Median der Verstorbenen bei 8,73 ng/ml, der Median der Lebenden bei 1,96 ng/ml Fentanyl.

Nachfolgende Abbildung 20 zeigt den Unterschied der Fentanylkonzentrationen bei Verstorbenen und Lebenden bei einer Pflasterstärke von 25 µg/h.

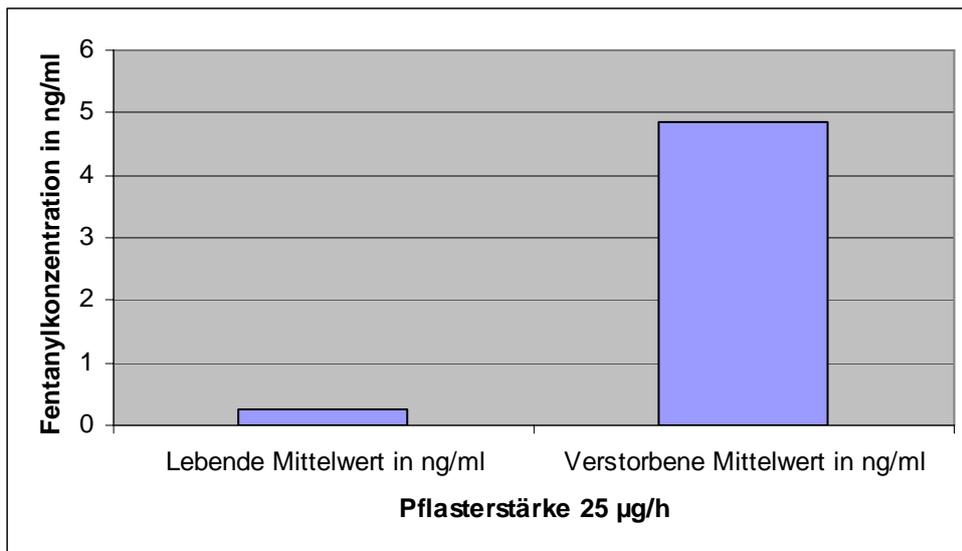


Abb. 20: Vergleich der Fentanylkonzentrationen zwischen Verstorbenen und Lebenden bei einer Pflasterstärke von 25 µg/h

6.4 Fentanylkonzentrationen in der Literatur

Die mittleren maximalen Plasmakonzentrationen (C max) liegen gemäß Herstellerangaben für die Pflasterstärken 25, 50, 75 und 100 µg/h bei 0,6; 1,4; 1,7 und 2,5 ng/ml im Plasma in den ersten 72 h der Applikation von Durogesic®-Pflaster (Duragesic® full prescribing information, 2005).

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über postmortale Fentanylkonzentrationen in der Literatur. Es wurden jeweils die Anzahl der Untersuchten, die Fentanylkonzentrationen verschiedener Gewebe, sowie die Applikationsweise (mit Pflasterdosis), Nachweismethode und Autoren aufgeführt.

Tabelle 8: Postmortal nachgewiesene Fentanylkonzentrationen in der Literatur

Autoren	Applikationsweise	Nachweismethode	Anzahl der Untersuchten	Konzentration des Fentanyls/ postmortal in ng/ml
Edinboro et al., 1997	Transdermal, 300 µg/h	GC/MS	1	venös: 25 Herzblut: 94
Grobosch et al., 2007	Transdermal/Penis, 75 µg/h	LC/MS	1	Blut: 35,1
Coopman, 2007	Transdermal 1000 µg/h	LC/MS	1	rechte V. subclavia: 28,6 linke V. subclavia: 28,2 rechte V. femoralis: 21,3 linke V. femoralis: 20,9 rechter Ventrikel: 37,6

					Linker Ventrikel: 33,9 Urin: 282,9 Mageninhalt: 688,2 Gallenflüssigkeit: 122,5 Glaskörperflüssigkeit: 19,5 Leber: 203 µg/kg Niere: 78,6 µg/kg
Tharp et al., 2004	Intravenös	GC/MS	4	Blut: 5- 27	
Lilleng et al., 2004	Intravenös	GC/MS	2	Blut: 2,7 und 13,8	
Reeves & Ginifer, 2002	Intravenös ca. 250 µg/h	nicht angegeben	1	Blut: 2,0	
Kramer & Tawney, 1998	Transmukosal/ Transdermal je 75 µg/h	GC/MS	1	Blut: 17,2	
Marquard & Tharrat, 1994	Inhalativ	nicht angegeben	1	Femoralvene: 2,66 Herzblut: 6,05 Urin: 41 Leber: 122 ng/g	
Henderson, 1991	nicht angegeben	GC/MS	112	Blut: 0,1- 6,1; Mittelwert 3,0 Urin: Mittelwert 3,9	
Kronstrand et al., 1997	nicht angegeben	GC/MS	9	Blut: 0,5- 17 Urin: 5- 160	
Smialek et al., 1994	nicht angegeben	GC/MS	30	Blut: 2,2- 100 Mittelwert: 18, Median: 11	
Martin et al., 2006	Transdermal Intravenös Inhalativ	GC/MS	112	Blut: 2,7- 383 bei transdermaler Applikation: 4-54 Mittelwert: 18 bei intravenöser Applikation Blut: 3- 383 Mittelwert: 59	
Anderson & Muto, 2000	Transdermal Intravenös	GC/MS	25	Herzblut: 1,8- 139, n= 23 V. femoralis: 3,1- 43, n= 13 Leber: 5,8- 613 µg/kg, n= 22 Gallenflüssigkeit: 3,5- 262, n= 15	

				Urin: 2,9- 895, n= 19 Mageninhalt: 0-1200, n= 17 Milz: 7,8- 79 µg/kg, n= 3 Niere: 11 µg/kg, n= 1 Lunge: 31 µg/kg, n= 1
Kuhlman et al., 2003	Transdermal Transmukosal Intravenös Kombination	GC/MS	23	Blut: 2- 48 Mittelwert: 18

Die hier angegebenen Fentanylkonzentrationen aus der Literatur weisen erwartungsgemäß darauf hin, dass ein intravenöser Missbrauch deutlich höhere Fentanylkonzentrationen zur Folge hat als eine transdermale Intoxikation.

Im Vergleich dazu zeigt die nachfolgende Tabelle 9 die postmortalen Fentanylkonzentrationen unserer Studie ohne die Fälle, in denen kein Fentanyl nachgewiesen wurde, mit applizierter Dosis, Median, Mittelwert, maximaler und minimaler Konzentration und einer Spalte, in der für die jeweils applizierte Dosis 0-90 % bzw. 80 % (bei 125 µg/h lagen nur 5 Fälle vor) aller Fentanylkonzentrationen liegen.

Tabelle 9: Postmortale Fentanylkonzentrationen mit allen Fällen dieser Studie, in denen Fentanyl nachgewiesen wurde (n= 114)

Applizierte Dosis	Anzahl der Fälle	Minimale Konzentration in ng/ml	Maximale Konzentration in ng/ml	Median in ng/ml	Mittelwert in ng/ml	0-90%- Bereich in ng/ml
25 µg/h	27	0,2	28,43	2,48	4,87	0,2-6,6
50 µg/h	41	0,57	30,6	4,77	5,73	0,57-10,26
75 µg/h	16	0,49	20,24	6,74	7,46	0,49-10,73
100 µg/h	16	1,76	39,32	8,73	12,72	1,76-26,06
125 µg/h	5	0,88	16,58	3,67	5,61	0,88-5,31 (80%)
> 125 µg/h	9	7,5	78,64	20,92	27,09	7,5-38,2

Sollen die Werte aus der Literatur mit den Daten dieser Studie verglichen werden, so stellt sich das Problem, dass es in der Literatur kaum Angaben zu transdermalen Intoxikationen mit bekannter Pflasterdosis gibt. Es wurden von unserer Arbeitsgruppe nur drei Studien gefunden, die den Zusammenhang zwischen applizierter Pflasterdosis und postmortaler Fentanylkonzentration untersuchten. Nachfolgend eine Tabelle mit Fällen aus der Literatur und aus dem Untersuchungsgut des Instituts für Rechtsmedizin in Hamburg, bei denen eine Fentanylintoxikation festgestellt wurde.

Tabelle 10: Postmortale Fentanylkonzentrationen bei transdermalen Intoxikationen

Pflasterdosis in µg/h	Fentanylkonzentration in ng/ml	Quelle/ Autor
75	35,1	Grobosch et al. (2007)
300	25	Edinboro et al. (1997)
1000	21,3	Coopman (2007)

200	45	Rechtsmedizin HH
400	42,6	Rechtsmedizin HH
1000	127	Rechtsmedizin HH

Im folgenden sollen „auffällige“ Fentanylkonzentrationen aus der Literatur und unserer Studie diskutiert werden.

Es fällt auf, dass eine deutliche Diskrepanz herrscht zwischen den Intoxikationsfällen mit 1000 µg/h (21,3 ng/ml bei Coopman vs. 127 ng/ml aus der Rechtsmedizin Hamburg). Die Erklärung dafür könnte sein, dass beim Fall, den Coopman untersuchte, alte Pflaster auf der Verstorbenen klebten. Im Fall T19 (Pflasterdosis 200 µg/h, Fentanylkonzentration 78,64 ng/ml) (siehe Tabelle 4) unserer Studie lässt sich diskutieren, ob vielleicht Pflaster vom Verstorbenen entfernt wurden, da die Fentanylkonzentration überdurchschnittlich hoch ist. Die Intoxikation, die Grobosch et al. beschreiben (75 µg/h auf dem Penis) zeigt eine sehr hohe Fentanylkonzentration im Blut (35,1 ng/ml), es scheint, als ob die Absorption des Fentanyls am Penis durch vermehrte Durchblutung stark erhöht ist.

Abbildung 21 zeigt transdermale Intoxikationsfälle mit Fentanyl (aus der Literatur und der Rechtsmedizin aus Hamburg, Tabelle 10) im Vergleich zu den 118 Verstorbenen unserer Studie bei denen eine Intoxikation mit Fentanyl ausgeschlossen wird. Hier zeigt sich, dass die Konzentrationen sowohl über, als auch unter der Kurve der 118 Verstorbenen verteilt sind. Des Weiteren haben die Fälle mit Intoxikation zum Teil auch deutlich höhere Pflasterdosen appliziert.

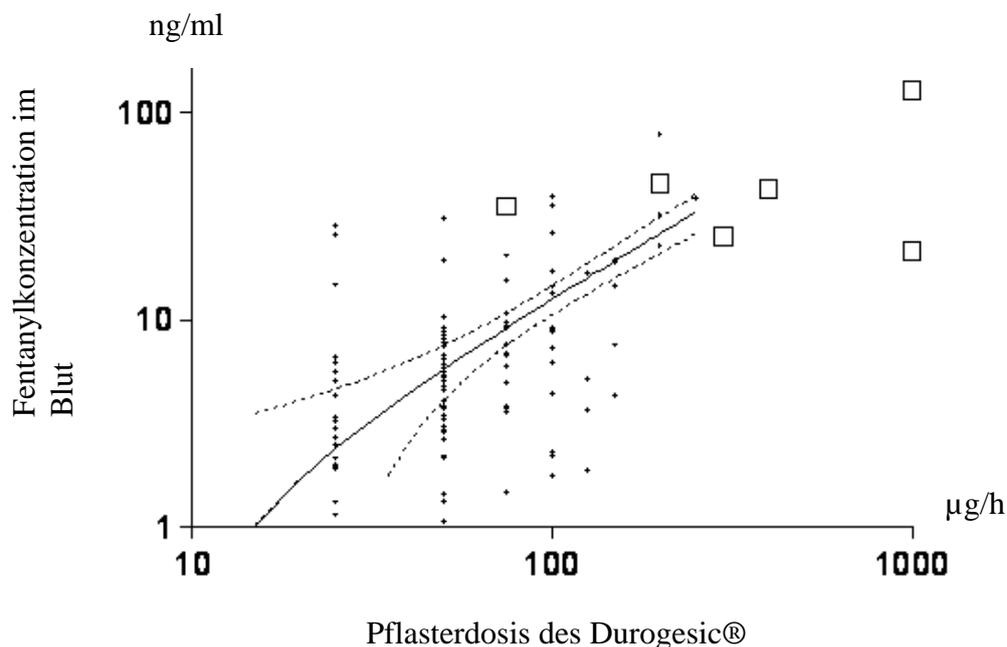


Abb. 21: Fentanylkonzentrationen transdermaler Intoxikationen (Tabelle 10, Quadrate) im Vergleich zu den 118 nicht intoxikierten Verstorbenen unserer Studie, die Abbildung ist logarithmisch dargestellt.

Die Abbildung 22 zeigt Fentanylkonzentrationen von Sektionsfällen mit applizierten Durogesicpflastern, in denen letztendlich eine andere Todesursache als eine Intoxikation mit Fentanyl festgestellt wurde. Die Fentanylkonzentrationen dieser Verstorbenen liegen innerhalb der Bereiche der 118 Verstorbenen unseres Studienkollektivs.

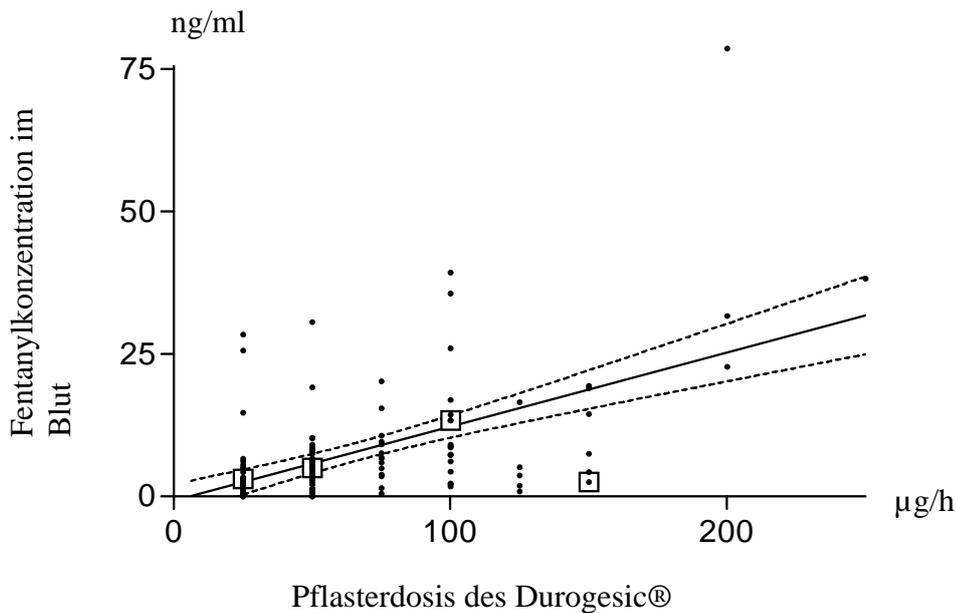


Abb. 22: Fentanylkonzentrationen bei Verstorbenen ohne Intoxikation im Vergleich zu 118 Verstorbenen unserer Studie.

6.5 Fentanyl im Alter

Da zwischen den Verstorbenen (Median des Alters bei Blutentnahme: 81 Jahre, Mittelwert 78 Jahre) und Lebenden Probanden (Median: 67 Jahre, Mittelwert 65,4 Jahre) eine deutliche Altersdifferenz herrscht, sollen mögliche pharmakokinetische Einflüsse des höheren Lebensalters diskutiert werden, um die ermittelten Konzentrationsunterschiede fundiert beurteilen zu können.

Es wird diskutiert, dass Opioide eine verstärkte und verlängerte Wirkung bei älteren Menschen haben können, und dass hierdurch insbesondere im operativen/perioperativen Bereich das Risiko einer Atemdepression erhöht ist. Hierfür verantwortlich sei die verzögerte Redistribution und damit auch eine verzögerte Elimination des Wirkstoffs. Da das Herzzeitvolumen bei Älteren gegenüber der Norm um bis zu 40 % verringert sein kann, wird aus den peripheren Kompartimenten die aktive Wirksubstanz verzögert hinaus transportiert. Die Zufuhr zur Leber und damit zur Metabolisierung erfolgt verzögert (Freye & Levy, 2004). In anderen Studien konnten jedoch bei einem Vergleich zwischen jüngeren und älteren Patienten weder eine signifikante Verlängerung der Eliminationshalbwertszeit noch eine verminderte Clearance oder eine Abnahme des Verteilungsvolumens nachgewiesen werden (Helmers et al., 1984, 1994, zitiert aus Freye & Levy, 2004).

Diese Ergebnisse wurden von anderen Arbeitsgruppen für die Kinetik von Fentanyl, Alfentanil und Sufentanil bestätigt (Matteo et al., 1990, Scott et al., 1987).

Thompson et al. verglichen die perioperative Pharmakokinetik von transdermalem Fentanyl bei zehn jungen Erwachsenen zwischen 25 bis 38 Jahren (durchschnittliches Alter: 32,7 Jahre) mit der bei acht Älteren zwischen 64 und 82 Jahren (durchschnittliches Alter: 73,7 Jahre).

Die Arbeitsgruppe untersuchte die Plasmakonzentrationen für Fentanyl mittels Radioimmunoassay während der Applikation und 30 Stunden nach Entfernen des Fentanylpflasters.

Die maximale Konzentration (C max) war 1,9 ng/ml bei der jüngeren und 1,5 ng/ml bei der älteren Gruppe. Es konnte kein Unterschied festgestellt werden für t max, also dem Zeitpunkt, an dem der maximale Plasmaspiegel für Fentanyl auftritt. Es konnte zudem kein Unterschied für die Halbwertszeit der Elimination für Fentanyl nachgewiesen werden (Thompson et al., 1998).

Holdsworth et al. verglichen 1994 die Pharmakokinetik transdermalen Fentanyls bei zehn gesunden Älteren (67-87 Jahre) mit der von sechs jüngeren Probanden (19-27 Jahre alt). Bei allen zehn älteren Probanden musste das Pflaster (40µg/h) entfernt werden, da unerwünschte Nebenwirkungen auftraten. Bei den sechs jüngeren Probanden musste das Pflaster nicht vorzeitig entfernt werden. Die Fentanylkonzentrationen aus dem Plasma der Probanden wurden per Radioimmunoassay analysiert und ergaben eine durchschnittliche Fentanylkonzentration von 2,05 +/- 1,10 ng/ml bei den älteren Probanden im Vergleich zu 0,88 +/- 0,44 ng/ml bei den Jüngeren. Die höheren Serumkonzentrationen wurden von Holdsworth et al. auf eine vermehrte Absorption und/oder die verminderte Clearance der älteren Probanden zurückgeführt.

Die Wirkung des Opioids geht vom freien Vorliegen des Wirkstoffs im Blut aus. Ein gewisser Teil des Opioids wird jedoch an Plasmaproteine, wie z.B. Albumin oder α1-Glykoprotein, gebunden. Diese Anteile sind nicht wirksam, weil sie nicht durch die Blut-Hirn-Schranke diffundieren können (laut Freye et Levy, 2004; Olson et al., 1975). Häufig tritt im Alter ein existenter Albuminmangel auf, was zu einer Zunahme des Anteils freier Wirksubstanzen und damit auch zu einer Wirkungsverstärkung führen kann (Freye et Levy, 2004).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass bei älteren Personen aufgrund eines verminderten Herzzeitvolumens und einer Abnahme der Durchblutung peripherer Organe ein vermindertes peripheres Verteilungsvolumen resultieren kann (Bentley et al., 1982, Christensen et al., 1982, Scott et al., 1987). Durch die verringerte Durchblutung der Peripherie kommt es zu einer späteren Inaktivierung des Wirkstoffs durch die Leber. Die Wirkungsverlängerung kann durch die Abnahme des initialen Verteilungsvolumens begründet werden, weshalb über einen längeren Zeitraum höhere Blutplasmakonzentrationen zu erwarten sind (Freye et Levy, 2004).

Da alle Probanden, die Verstorbenen wie die Lebenden, vom Alterdurchschnitt im Bereich der Älteren bei den vorliegenden Studien liegen, können die Unterschiede der Fentanylkonzentrationen nicht allein durch das höhere Lebensalter der Verstorbenen im Vergleich zu den Lebenden erklärt werden.

6.6 Liegezeit der Verstorbenen

Ein weiterer Grund, der für die erhöhte postmortale Konzentration des Fentanyls denkbar wäre, ist ein erhöhter Austrocknungsgrad aufgrund längerer Liegezeit vom Zeitpunkt des Todes bis zur Blutabnahme.

Der Wassergehalt des Untersuchungsmaterials unterliegt bei Verstorbenen sehr starken Schwankungen. Die allmähliche Verminderung der Blutflüssigkeit nach dem Tod ist vor allem durch hypostatische und infiltrative Prozesse zu erklären.

Die postmortale Blutentnahme über die Vena femoralis hat den Nachteil, dass durch Eröffnung des Gefäßes auch Blutgerinnsel und damit wasserarme Anteile in das Probengefäß gelangen können (Audrlicky, 1972).

Somit könnte es bei Verstorbenen, die bereits längere Liegezeiten aufwiesen, durch o.g. Effekte zu höheren postmortalen Konzentrationen des Fentanyls im Vergleich zu den Lebenden gekommen sein.

In der nachfolgenden Abbildung 23 ist die Liegezeit der Verstorbenen nach dem Tod bis zur Blutentnahme im Vergleich zur Fentanylkonzentration exemplarisch anhand aller Verstorbenen, die mit 25 µg/h therapiert wurden, gezeigt. Es ergab sich in unseren Untersuchungen auch bei anderen Pflasterdosen kein Hinweis auf einen Zusammenhang der Fentanylkonzentration mit der jeweiligen postmortalen Liegedauer.

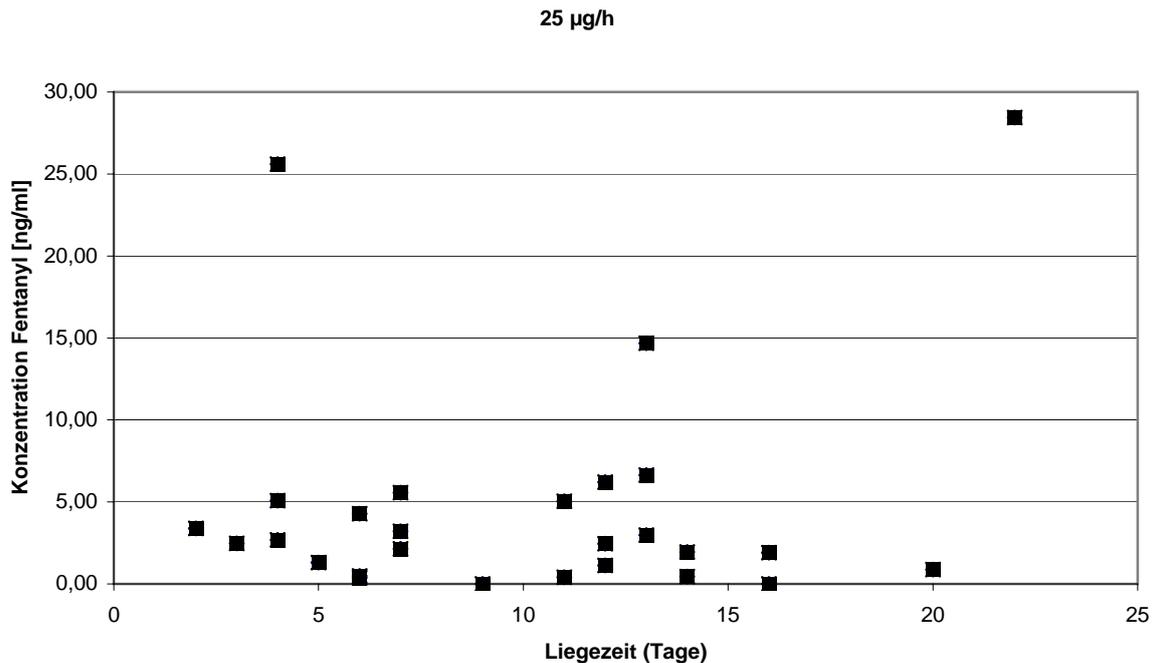


Abb. 23: Liegezeit aller Verstorbenen mit 25 µg/h Pflasterdosis (n=26), im Vergleich zur Fentanylkonzentration

6.7 Vergleich Serum vs. Vollblut

Da in unserer Studie Fentanylkonzentrationen aus dem Serum von Lebenden mit Konzentrationen, die im Vollblut der Verstorbenen bestimmt wurden, verglichen werden, sollte überprüft werden, ob dies einen Einfluss auf die unterschiedlichen Konzentrationen haben könnte.

Veröffentlichungen zur Pharmakokinetik bezeichnen zumeist Konzentrationsmessungen im Serum als „Blutspiegel“. Hierbei wird jedoch nur selten zwischen dem freien (wirksamen) und an Proteinen gebundenen Anteil der Substanz unterschieden.

Besonders für zentral wirksame Pharmaka gilt jedoch, dass die Verfügbarkeit am Wirkort entscheidend ist.

Im Rahmen dessen sind verschiedene Studien erschienen, die das Verhalten von Fentanyl in Bezug auf die Plasmaprotein- und Erythrozytenbindung, sowie dessen Stoffwechselaktivität untersucht haben.

Die Ergebnisse zeigen, dass es nach Aufnahme des Fentanyls in das Blut zu einer raschen Gleichverteilung des Fentanyls im intra- und extraerythrozytären Raum kommt (Bower, 1982, Bower and Hull, 1982, Lehmann, 1983, Meuldermans et al. 1982).

Insofern scheint das menschliche Blut ein homogener Verteilungsraum für Fentanyl zu sein. Im Fall unserer Untersuchungen gehen wir davon aus, dass aufgrund der homogenen Vollblut/Serumverteilung die Konzentrationsbestimmungen von Fentanyl im Serum der Lebenden mit dem Vollblut der Verstorbenen vergleichbar sind.

Fentanyl weist eine hohe Proteinbindung auf, die je nach Studie mit 70-90% angegeben wird (Wiesner et al. 1996).

Da es nach dem Tod zu pH-Wert Veränderungen im Verstorbenen kommt, steigt der freie Anteil des Fentanyls an. Da jedoch bei der Methode, die wir einsetzten, der freie als auch der gebundene Anteil des Fentanyls erfasst wird, sind die deutlich höheren Fentanylkonzentrationen nicht durch z.B. eine alleinige Messung des freien Fentanyls zu erklären.

6.8 Pharmakogenetik

In der Studie von Jin et al. wurden 25 fentanylassoziierte Todesfälle auf postmortale Fentanylkonzentrationen und ihren Genotyp für Cytochrom P450 3A4*1B und 3A5*3 untersucht. Die postmortalen Blutproben wurden per RIA und LC-MS/MS auf Fentanyl und Norfentanyl untersucht. Weiter wurden die Genotypen für CYP3A4*1B und 3A5*3 mit Prosequencing™ ermittelt.

Diese postmortalen Daten lieferten einen ersten Hinweis darauf, dass CYP3A5 in den Fentanylmetabolismus involviert ist und Homozygote für CYP3A5*3 einen beeinträchtigten Metabolismus für Fentanyl besitzen (Jin et al., 2005).

Bei hohen postmortalen Fentanylspiegeln wäre eine genetische Untersuchung auf CYP3A*1B und CYP3A5*3 zu empfehlen, um einen sog. defizienten Metabolisierer für Fentanyl und dadurch die Ursache für erhöhte Konzentrationen an Fentanyl zu ermitteln.

Im folgenden wird der Mechanismus diskutiert, der am wahrscheinlichsten für die erhöhten postmortalen Fentanylkonzentrationen verantwortlich zu machen ist.

6.9 Postmortale Umverteilung von Substanzen im Blut

Die deutlich höheren Fentanylkonzentrationen der Verstorbenen (Median der Verstorbenen: 5,05 ng/ml, der Lebenden: 0,91 ng/ml) (siehe auch Tabelle 5 und 7), können am ehesten durch die postmortale Umverteilung von Substanzen erklärt werden.

Seit langer Zeit ist bekannt, dass es eine postmortale Diffusion von Substanzen aufgrund eines Konzentrationsgradienten gibt, da die physiologischen Bedingungen postmortal verändert sind.

Nach dem Tod erschöpft sich die Zufuhr von Sauerstoff und ATP und die Na⁺/K⁺ Pumpe der Zellmembran setzt aus. Daraufhin werden Zellmembran und Organellen geschädigt; in der Zelle selbst wird die Bindung von Drogen oder Medikamenten an Proteine beendet, sofern dafür Energie benötigt wird. Aufgrund des Sauerstoffmangels kommt es zur anaeroben Glykolyse, Laktat fällt vermehrt an, der pH-Wert vermindert sich. Diese Voraussetzungen ermöglichen es vor allem den basischen Medikamenten, leichter aus den Zellen in das Interstitium zu diffundieren (Suzuki & Watanabe, 2002).

Hilberg et al. untersuchten den Mechanismus der postmortalen Verteilung an Ratten und kamen zu dem Ergebnis, dass die postmortale Diffusion durch den Gastrointestinaltrakt ein Hauptmechanismus für eine postmortale Umverteilung nach oraler Aufnahme von Wirkstoffen sein kann (Hilberg et al., 1992).

Moriya und Hashimoto wiesen verschiedene Mechanismen nach, die die erhöhte postmortale Konzentration von basischen Medikamenten im kardialen Blut erklären könnten. Insbesondere konnten sie nachweisen, dass bei Verstorbenen in Rückenlage basische Medikamente aus der gut durchbluteten Lunge über die Pulmonalvene schnell in die linke Herzkammer diffundieren (Moriya et Hashimoto, 1999).

Pounder und Jones untersuchten vier Tote mit Verdacht auf eine Intoxikation (aufgrund der Anamnese) im Hinblick postmortaler Verteilung des Medikamentes. Die Unterschiede der Medikamentenkonzentrationen aus verschiedenen Geweben/Gefäßen waren so groß, dass sie nicht durch eine inkomplette Verteilung des Medikamentes zu Lebzeiten erklärt werden konnten (Pounder et Jones, 1989).

Besonders bei basischen Substanzen mit einem hohen Verteilungsvolumen ($V_d > 3 \text{ L/kg}$) wird von einem größeren Potential für eine Umverteilung ausgegangen (Leikin & Watson, 2003).

Aus Geweben, in denen Substanzen hoch konzentriert sind, diffundieren Substanzen in das Blut. Hieraus resultiert eine falsch hohe Konzentration an Substanz im Blut, wobei die höchsten Spiegel in großen Gefäßen, wie der Pulmonalarterie oder -vene, niedrigste Spiegel in peripheren Gefäßen, wie z.B. der Femoralvene nachgewiesen werden. Weiter hängt die ermittelte Konzentration von der Entnahmetechnik am Verstorbenen ab, sowie von der Applikationsart des Medikaments oder der illegalen Droge und deren physiko-chemischen Eigenschaften (Pounder & Jones, 1989, Skopp, 2004).

Die Konzentration eines Medikamentes in einer postmortalen Blutprobe muss demnach nicht die tatsächliche Konzentration widerspiegeln, die zum Zeitpunkt des Todes vorlag. Es besteht folglich die Gefahr, dass Patienten eine therapeutische Dosis eines Medikamentes einnehmen, die erhöhte Konzentration des Medikamentes in der postmortalen Blutprobe als letale Überdosis missinterpretiert wird (Jones 1988, Pounder & Jones, 1990, Cook & Braithwaite 2000).

Unsere Ergebnisse konnten zeigen, dass bei gleicher Pflasterdosis bei den Verstorbenen die Fentanylkonzentrationen deutlich höher lagen, als bei den Lebenden (vergleiche Tab. 5 und 7). Dieser Mechanismus muss in den ersten Stunden oder Tagen nach dem Tod eines Menschen auftreten, da die Liegezeit von >2 Tagen bzw. der Austrocknungsgrad des Verstorbenen keine Korrelation bezüglich der Fentanylkonzentration erkennen ließ (siehe Abb. 23).

Diese Feststellung stimmt mit anderen Untersuchungen überein, die erhebliche Veränderungen innerhalb der ersten 6-8 Stunden postmortal nachwiesen (Moriya et Hashimoto 1999, Pounder et al. 1994).

Bei Fentanyl handelt es sich um eine lipophile, basische Substanz bei der von einer postmortalen Umverteilung ausgegangen werden muss (Mutschler, 2001).

Ein Hinweis darauf ist das vergleichsweise höhere Verteilungsvolumen von 3-8 L/Kg (Baselt 2004).

Dies könnte die deutlich höheren Konzentrationen an Fentanyl im Femoralvenenblut bei Verstorbenen im Vergleich zu den Lebenden erklären. Allerdings konnten wir mit unserer Studie ungewöhnlich hohe Konzentrationsdifferenzen (je nach Pflasterdosis 2,5-10 mal höher als bei den Lebenden, siehe Abbildung 20) feststellen. Diese hohen Unterschiede waren allein aufgrund der postmortalen Distribution nicht zu erwarten gewesen, zumal der Verteilungsquotient Herzblut/ peripheres Blut (c/p ratio) mit durchschnittlich 1,6 (0,7-4,6) in einem eher niedrigen Bereich liegt (Baselt 2004).

Somit müssen noch weitere Faktoren hier eine Rolle spielen. Zu bedenken wäre, dass sich nach Applikation eines Pflasters ein Wirkstoffdepot subkutan bildet und mit einer Rückdiffusion dieser zum Teil hohen Konzentrationen postmortal gerechnet werden muss. Allerdings scheint es eher unwahrscheinlich, dass bei einem Applikationsort der Pflaster am Oberkörper hierdurch die Konzentration in der Vena femoralis merklich beeinflusst werden kann. Hinweise darauf, dass die Kinetik des Fentanyl's sich von anderen Opioiden unterscheiden könnte, ergeben sich auch aus der deutlich längeren „kontext-sensitiven Halbwertszeit“ des Fentanyl's, die abhängig von der Applikationsdauer ist (Mutschler, 2001).

6.10 Schlussfolgerungen

Die postmortalen Fentanylkonzentrationen liegen deutlich höher als die der Lebenden. Somit können die postmortal bestimmten Fentanylkonzentrationen nicht mit Konzentrationen der Literatur, die bei Lebenden bestimmt wurden, verglichen werden. Unsere Daten bilden die dringend notwendige Basis zur Bewertung postmortal bestimmter Fentanylkonzentrationen. Liegt die nachgewiesene Konzentration oberhalb des in dieser Studie ermittelten Bereichs für die jeweilige Dosis, so muss eine Entfernung von Pflastern in Betracht gezogen werden, was eine falsch zu niedrige Dosierung vortäuscht.

Auf der Basis der derzeit vorliegenden Daten kann die ungewöhnlich große Differenz der Konzentrationen bei prä- und postmortal gewonnenen Proben nicht ausreichend erklärt werden.

Da die relevanten Konzentrationsänderungen innerhalb der ersten wenigen Stunden erfolgen, sollte eine weitere Studie durchgeführt werden, die es ermöglicht, bei denselben Patienten Fentanylkonzentrationen wenige Stunden vor und nach dem Tod zu vergleichen.

Letztendlich kann auch auf Basis der Daten unserer Studie keine generelle Empfehlung gegeben werden, ab welcher Fentanylkonzentration eine tödlichen Intoxikation als wahrscheinlich anzusehen ist, da hier nicht nur die applizierte Pflasterdosis (und nachgewiesene Fentanylkonzentration) eine Rolle spielt, sondern auch der Schmerzzustand des Patienten vor seinem Tod.

Allerdings ließ sich zeigen, dass die Fentanylkonzentrationen der Fälle in unserem Untersuchungsgut, bei denen als Todesursache eine Intoxikation mit diesem Opioid als wahrscheinlich angesehen wurde, außerhalb der ermittelten Bereiche lagen, oder eine deutlich höhere Pflasterdosis appliziert wurde, als üblicherweise auch bei starken Schmerzen ärztlich verordnet wird (25 µg/h- 200 µg/h).

Bei einem Verdacht auf eine tödliche Fentanylintoxikation empfiehlt es sich, eine Anamnese des zuletzt behandelnden Arztes und gegebenenfalls bei den Verwandten zu erheben, um z.B. Hinweise auf mögliche Interaktionen zwischen Medikamenten, oder eine noch nicht vorhandene Toleranz zu erhalten und um mögliche Diskrepanzen zwischen verordneter und applizierter Dosis aufzudecken.

Ebenso sollten bei der Bewertung postmortal ermittelter Konzentrationen selbstverständlich die Rolle der einzelnen Substanzen (bei mehreren nachweisbaren Substanzen), die variierende Toxizität der verschiedenen Applikationsformen, sowie Geschlecht, Alter und Vorerkrankungen der Verstorbenen mit berücksichtigt werden. Weiter mitberücksichtigt werden muss eine Toleranzentwicklung für Medikamente oder Drogen (Drummer, 2007). Generell ist das toxikologische Untersuchungsergebnis nie isoliert zu betrachten, sondern als ein Baustein zur Bewertung der Todesursache.

7 Zusammenfassung

Der Einsatz transdermaler Pflaster mit stark wirksamen Opioiden ist in der Schmerztherapie bei chronischen Schmerzzuständen (z.B. Tumorschmerzen) weit verbreitet. Eine gefährliche Nebenwirkung bei Überdosierung ist die Atemdepression. Da bei transdermalen Pflastern ein Missbrauchsrisiko besteht und im Verlauf einer Fentanyltherapie Patienten versterben, müssen postmortale Fentanylkonzentrationen fundiert bewertet werden können. In der Literatur liegen sehr wenige Daten zu postmortalen Fentanylkonzentrationen bei transdermaler Intoxikation mit Fentanyl vor. In keiner Studie wurden bis jetzt natürlich Verstorbene, die mit Durogesic®-Pflaster therapiert wurden, auf die postmortale Fentanylkonzentration im Blut untersucht.

Das Ziel der Arbeit war es, die Fentanylkonzentrationen von verstorbenen, nicht intoxikierten Patienten mit den Fentanylkonzentrationen lebender Patienten bei gleicher Pflasterdosis zu vergleichen, um somit die Grundlage für die Bewertung postmortaler Konzentrationen an Fentanyl bei Verdacht auf eine Fentanylintoxikation zu schaffen.

Für diese Studie wurde 118 Verstorbenen und 27 lebenden Probanden, die mit Durogesic® therapiert worden waren, Blut entnommen. Die Anamnese aller Probanden wurde von dem Hausarzt, der Schmerzlinik, bzw. aus dem zuletzt behandelnden Krankenhaus eingeholt. Die Blutproben wurden mit Fentanyl D5 dotiert, durch flüssig-flüssig Extraktion extrahiert und mittels LC-MS/MS analysiert. Vor Beginn der Analysen wurde die Untersuchungsmethode nach geltenden Richtlinien validiert.

Die ermittelten Fentanylkonzentrationen der Verstorbenen lagen deutlich höher als bei den lebenden Patienten mit gleicher Dosierung. Zwar gab es große interindividuelle Schwankungsbreiten, aber es zeigte sich eine Korrelation und lineare Zunahme zwischen steigender applizierter Dosis und Fentanylkonzentration im Blut sowohl bei Lebenden als auch bei den Verstorbenen.

Es konnten keine nennenswerte Veränderung der postmortalen Fentanylkonzentrationen bei längerer Liegedauer des Verstorbenen (> als 2 Tage) festgestellt werden. Dies lässt darauf schließen, dass die postmortale Umverteilung von Fentanyl bereits in den ersten Stunden nach dem Tod eines Menschen geschehen muss. Daher sollte eine Studie durchgeführt werden, die bei palliativen Patienten prä- und postmortale Fentanylkonzentrationen im Blut an Probanden untersucht.

Werte außerhalb des Bereichs, der in dieser Studie ermittelt wurde, weisen auf eine Diskrepanz zwischen Pflasterdosis und Konzentration hin. Liegen die Werte innerhalb des Bereichs, so ist eine Intoxikation mit Fentanyl bei bereits längerer andauernder unveränderter Therapie als unwahrscheinlich anzusehen.

8 Literaturverzeichnis

Ahmedzai S, Brooks D (1997)

Transdermal fentanyl versus sustained-release oral morphine in cancer pain: Preference, efficacy and quality of life. *J Pain Symptom Manage* 13(5): 254-261

Anderson DT, Muto JJ (2000)

Duragesic® transdermal patch: Postmortem tissue distribution of fentanyl in 25 cases. *J Anal Toxicol* 24: 627-34

Audrlicky (1972)

Der Wassergehalt von Leichenblut. In: Brettel HF (Hrsg.) *Arbeitsmethoden der Medizinischen und Naturwissenschaftlichen Kriminalistik*, Schmidt-Römlich, Lübeck, S 69

Baselt RC (2004)

Disposition of toxic drugs and chemicals in man. In: Baselt RC (Hrsg.) *Biomedical publications*, Forster City, California, USA, 7th Ed.

Bentley JB, Borel J, Nenad RE, Gillespie TJ (1982)

Age and fentanyl pharmacokinetics. *Anesth Analg* 61: 968-971

Bower S (1982)

The uptake of fentanyl by erythrocytes. *J Pharm Pharmacol* 34: 181-185

Bower S, Hull CJ (1982)

Comparative pharmacokinetics of fentanyl and alfentanil. *Br J Anaesth* 54: 871-877

Christensen JH, Andreassen F, Jansen JA (1982)

Pharmacokinetics and pharmacodynamics of thiopentone. A comparison between young and elderly patients. *Anaesthesia* 37(4): 398-404

Clark AJ, Ahmedzai S, Allan LG, Camacho F, Horbay GL, Richarz U, Simpson K (2004)

Efficacy and safety of transdermal fentanyl and sustained-release oral morphine in patients with cancer and chronic non-cancer pain. *Curr Med Res Opin* 20(9): 1419-28

Collett B (1998)

Opioid tolerance: The clinical perspective. *Br J Anaesth* 81: 58-68

Collins JJ, Dunkel I, Gupta SK, et al. (1999)

Transdermal fentanyl in children with cancer pain: Feasibility, tolerability and pharmacokinetic correlates. *J Pediatr* 134(3): 319-23

Cook DS, Braithwaite (2000)

Estimating antemortem drug concentrations from postmortem blood samples: the influence of postmortem redistribution. *J Clin Pathol* 53: 282-285

Coon TP, Miller M, Kaylor D, Jones-Spangle K (2005)

Rectal insertion of fentanyl patches: A new route of toxicity. *Ann Emerg Med* 46(5): 437-38

- Coopman V, Cordonnier J, Pien K, Varenbergh DV (2007)
LC-MS/MS analysis of fentanyl and norfentanyl in a fatality due to application of multiple duragesic transdermal therapeutic systems. *Forensic Sci Int* 169(2-3): 223-227
- Day J, Slawson M, Lugo RA, Wilkins D (2003)
Analysis of fentanyl and norfentanyl in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using elektrospray ionisation. *J Anal Toxicol* 27: 513-16
- Dörner K, Deufel T, Dörner R (2003)
Klinisch-chemische Analytik In: Dörner K. (Hrsg.) *Klinische Chemie und Hämatologie*, 5. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York, S 55-59
- Drummer O (2007)
Post-mortem toxicology. *Forensic Sci Int* 165(2-3): 199-203
- Edinboro LE, Poklis A, Trautmann D, Lowry S, Backer R, Harvey CM (1997)
Fatal fentanyl intoxication following excessive transdermal application. *J Forensic Sci* 42(4): 741-743
- Egan TD, Sharma A, Ashburn MA, Kievit J, Pace NL, Streisand JB (2000)
Multiple dose pharmacokinetics of oral transmucosal fentanyl citrate in healthy volunteers. *Anesthesiology* 92: 665-73
- Esteve M, Levron J, Flaisler DB, et al. (1991)
Does aging modify pharmacokinetics of transdermal fentanyl? *Anesthesiology* 75(3): Suppl. A705
- Feierman DE, Lasker J (1996)
Metabolism of fentanyl, a synthetic opioid analgesic, by human liver microsomes. Role of CYP 3A4. *Drug Metab Dispos* 24(9): 932-39
- Fiset P, Cohane C, Browne SC, Brand SC, Shafer SL, (1995)
Biopharmaceutics of a new transdermal fentanyl device. *Anesthesiology* 83(3): 459-69
- Flannagan LM, Butts JD, Anderson WH (1996)
Fentanyl patches left on dead bodies- potential source of drug for abusers. *J Forensic Sci* 41(2): 320-1
- Franklin P, Hoss W (1984)
Opiates stimulate low Km GTPase in brain. *J Neurochem* 43: 1132-1135
- Freye E (2001) Intrathalamische Opioidrezeptoren In: Freye, E (Hrsg.) *Opioide in der Medizin- Wirkung und Einsatzgebiete zentraler Analgetika*. 5. Aufl., Springer, Berlin Heidelberg New York, S 44
- Freye E, Latasch J (2004)
Einsatz der Opioide bei alten Patienten- Pharmakokinetische und pharmakodynamische Überlegungen. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 39: 527-537

- Freye E, Levy L (2003)
Toleranzentwicklung unter Opioidgabe- Molekulare Mechanismen und klinische Bedeutung.
Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 38(1): 14-26
- Frölich M, Gianotti A, Modell JH (2001)
Opioid overdose in a patient using a fentanyl patch during treatment with a warming blanket.
Anesth Analg 93: 647-8
- Gourlay GK, Kowalski S, Plummer JL, Cherry DA, Gaukroger P, Cousins MJ (1989)
The transdermal administration of fentanyl in the treatment of postoperative pain:
Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects. Pain 37(2): 193-202
- Grobosch T, Weniger S, Lampe D (2007)
Fentanyl analytics in a case of fatal misuse of transdermal fentanyl. Bulletin of the
international Association of Forensic Toxicologists 37(2): 26-28
- Grond S (2005)
Wechsel zwischen verschiedenen Pflastersystemen- Sind transdermale therapeutische
Systeme (TTS) in der Schmerztherapie austauschbar? Klinikarzt 34(7):10-12
- Grond S, Radbruch L, Lehmann KA (2000)
Clinical pharmacokinetics of transdermal opioids. Clin Pharmacokinet 38(1): 59-89
- Grübler B (2007)
Nichtinvasive patientenkontrollierte Schmerztherapie. Klinikarzt 36(6): 357
- Guitton J, Buronfosse T, Desage M, Lepape A, Brazier JL, Beaune P (1997)
Possible involvement of multiple cytochrome P450S in fentanyl and sufentanil metabolism as
opposed to alfentanil. Biochem Pharmacol 53: 1613-19
- Gupta SK, Southam M, Gale R, Hwang SS (1992)
System functionality and physicochemical model of fentanyl transdermal system. J Pain
Symptom Manage 7(3): Suppl. 17-26
- Heather RW (1999)
Finnigan LCQ™ Duo hardware manual, revision A, Technical Publications Thermo Quest,
San Jose, Kapitel 1, S 4-5, Kapitel 2, S 1-2
- Helmers JH, van Leuwen L, Zuurmond WW (1994)
Sufentanil pharmacokinetics in young adult and elderly surgical patients.
Eur J Anaesth 11: 181-185
- Helmers JH, van Peer A, Woestenborghs R, Noordium H, Heykants J (1984)
Alfentanil kinetics in the elderly. Clin Pharmacol Therap 36: 239-243
- Henderson GL (1991)
Fentanyl-related deaths: demographics, circumstances, and toxicology of 112 Cases.
J Forensic Sci 36(2): 422-33

- Hilberg T, Bugge A, Beylich KM, Morland J, Bjorneboe A (1992)
Diffusion as a mechanism of postmortem drug redistribution: An experimental study in rats.
Int J Leg Med 105(2): 87-91
- Holdsworth MT, Forman WB, Killilea TA, Nystrom KM, Paul R, Brand SC, Reynolds R
(1994)
Transdermal fentanyl disposition in elderly subjects. Gerontology 40: 32-37
- Holley FO, van Steennis C (1988)
Postoperative analgesia with fentanyl: pharmacokinetics and pharmacodynamics of constant-rate i.v. and transdermal delivery. Br J Anaesth 60(6): 608-613
- Hwang SS, Nichols KC, Southam M (1990) Transdermal permeation: Physiological and physiochemical aspects. In: Transdermal fentanyl. A new approach to prolonged pain control. Proceedings of a workshop on transdermal fentanyl, Cologne, Germany, Sept. 27-28, 1990, Lehmann KA, Zech D (eds.), Springer, Berlin Heidelberg New York, S 1-7
- Janssen-Cilag (2006)
Durogesic®-SMAT Fachinformation. Deutschland
- Janssen Pharmaceutica (2005)
Duragesic® (Fentanyl transdermal system) full prescribing information. US
- Jeal W, Benfield P (1997)
Transdermal fentanyl- a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in pain control. Drugs 53(1): 109-138
- Jin M, Gock SB, Janetto PJ, Jentzen JM, Wong SH (2005)
Pharmacogenomics as molecular autopsy for forensic toxicology: Genotyping cytochrome P 450 3A1*1B and 3A5*3 for 25 fentanyl cases. J Anal Toxicol 29(7): 590-8
- Käferstein H, Sticht G (2000)
Comparison of nonradioactive microtiter plate enzyme immunoassays for the sensitive detection of fentanyl. Forensic Sci Int 113: 353-357
- Klockgether-Radke AP, Gaus P, Neumann P (2002)
Opioidintoxikation durch transdermales Fentanyl. Anaesthesist 51(4): 269-71
- Koch DE, Isaza R, Carpenter JW, Hunter RP (2004)
Simultaneous extraction and quantitation of fentanyl and norfentanyl from primate plasma with LC/MS detection. J Pharmaceut Biomed Anal 34(3): 577-584
- Kramer C, Tawney M (1998)
A fatal overdose of transdermally administered fentanyl. J Am Osteopath Assoc 98(7): 385
- Kronstrand R, Druid H, Holmgren P, Rajs J (1997)
A cluster of fentanyl-related deaths among drug addicts in Sweden.
Forensic Sci Int 88 (3): 185-93

- Kuhlmann JJ Jr., Mc Caulley R, Valouch TJ, Behonick GS (2003)
Fentanyl use, misuse, and abuse: A summary of 23 postmortem cases.
J Anal Toxicol 27: 499-504
- Labroo RB, Paine M, Kenneth ET, Kharasch ED (1997)
Fentanyl metabolism by human hepatic and intestinal cytochrome P450 3A4: Implications for interindividual variability in disposition, efficacy and drug interactions. Drug Metab Dispos 25(9): 1072-80
- Lehmann KA, Schmitz KF, Daub D (1983)
Beiträge zum Verhalten von Fentanyl im menschlichen Blut. Anaesthesist 32: 329-334
- Leikin JB, Watson WA (2003)
Post-mortem toxicology: what the dead can and cannot tell us.
J Toxicol Clin Toxicol 41: 47-56
- Likar R, Sittl R (Hrsg.) (2001) Transdermale therapeutische Systeme- Eigenschaften und Anwendungen/ Transdermales Fentanyl (Durogesic®) zur Schmerzbekämpfung In: Praxis der transdermalen Schmerztherapie, Science, 1. Aufl., S 14-26 und S 44-67
- Lilleng PK, Mehlum LI, Bachs L, Morild I (2004)
Deaths after intravenous misuse of transdermal fentanyl. J Forensic Sci 49(6): 1364-6
- Macaluso AD, Conelly A, Hayes WB, Holub MC, Ramsay MAE, Suit CT, Hein HAT, Swygert TH (1996)
Oral transmucosal fentanyl citrate for premedication in adults. Anesth Analg 82: 158-161
- Marquardt KA, Tharrat RS (1994)
Inhalation abuse of fentanyl patch. J Toxicol Clin Toxicol 32(1): 75-78
- Martens-Lobenhoffer J (2002)
Very sensitive and specific determination of sufentanil in human serum applying liquid chromatography-two stage mass spectrometry. J Chromatogr B 769(2): 227-233
- Martin T, Woodall K, McLellan B (2006)
Fentanyl related deaths in Ontario, Canada: Toxicological findings and circumstances of death in 112 Cases (2002- 2004). J Anal Toxicol 30: 603-610
- Matteo RS, Schwartz A, Ornstein E, Young WL, Cang W (1990)
Pharmacokinetics of sufentanil in the elderly surgical patient. Can J Anaesth 37: 852-856
- Maurer H (2000)
GC-MS und LC-MS in Analytischer Toxikologie. Nachrichten aus der Chemie 48: 390-391
- Maurer H (2002) GC-MS und LC/MS zum Vergiftungsnachweis. In DGPT- Kurs „Klinische Toxikologie“, Homburg.

- Mestek A, Hurley J, Bye LS, Campell AD, Chen Y, Tian M, Liu J, Schulmann H, Yu L (1995)
The human μ opioid receptor: Modulation of functional desensitization by calcium/calmodulin- dependent protein kinase and protein kinase C.
J Neurosci 15(3): 2396- 406
- Meuldermans WEG, Hurkmans RMA, Heykants JJP (1982)
Plasma protein binding and distribution of fentanyl, sufentanil, alfentanil and lofentanil in blood. Arch int Pharmacodyn 257: 4-19
- Moriya F, Hashimoto Y (1999)
Redistribution of basic drugs into cardiac blood from surrounding tissues during early stages postmortem. J Forensic Sci 44(1): 10-16
- Murkin JM (1991)
Central analgesic mechanisms: A review of opioid receptor physiopharmacology and related antinociceptive systems. J Cardiothorac Vasc Anesth 5: 268-277
- Mutschler E, Geisslinger G, Kromer HK, Schäfer-Korting M (2001)
Opioide In: Mutschler (Hrsg.) Mutschler Arzneimittelwirkungen, Aufl. 8, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, S 285-286
- Neer E (1995)
Heterotrimeric C-proteins- organizers of transmembrane signals. Cell 80: 249-257
- Newshan G (1998)
Heat-related toxicity with the fentanyl transdermal patch. J Pain Symptom Manage 16(5): 277-278
- Nugent M, Davis C (2001)
Long-term observations of patients receiving transdermal fentanyl after a randomized trial. J Pain Symptom Manage 21(5): 385-391
- Ohta H, Suzuki S, Ogasawara K (1999)
Studies on fentanyl and related compounds IV. Chromatographic and spectrometric discrimination of fentanyl and its derivatives. J Anal Toxicol 23: 280-85
- Olson GD, Benett W, Porter GA (1975)
Morphine and phenytoin binding to human plasma protein in renal and hepatic failure. Clin Pharmacol Therap 17: 677
- Peters FT, Hallbach J, Maurer HH (2004)
Empfehlungen der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) zur Validierung von Methoden für die toxikologische Analytik im Rahmen der Hirntod-Feststellung Toxichem+ Krimtech 71(2): 93-95
- Peters FT, Hartung M, Herboldt M, Schmitt G, Daltrup T, Mußhoff F (2004)
Anlage zu den Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen. Toxichem+ Krimtech 71(3): 146-151

- Pihlainen K, Grigoras K, Franssila S, Ketola R, Kotiaho T, Kostainen R (2005)
Analysis of amphetamines and fentanyls by atmospheric pressure desorption/ionization on silicon mass spectrometry and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry and its application to forensic analysis of drug seizures. *J Mass Spectrom* 40: 539-45
- Poklis A, Backer R (2004)
Urine concentrations of fentanyl and norfentanyl during application of duragesic® transdermal patches. *J Anal Toxicol* 28(6): 422-25
- Pounder JD, Hartley AK, Watmough PJ (1994)
Postmortem redistribution and degradation of dothiepin. Human case studies and an animal model. *Am J Forensic Med Pathol* 15: 231-235
- Pounder JD, Jones G (1989)
Post-mortem drug redistribution- a toxicological nightmare. *Forensic Sci Int* 45(3): 253-263
- Radbruch L, Sabatowski R, Petzke F, Radbruch AB, Grond S (2001)
Transdermal fentanyl for the management of cancer pain: A survey of 1005 patients. *Palliat Med* 15(4): 309- 321
- Reeves MD, Ginfier CJ (2002)
Fatal intravenous misuse of transdermal fentanyl. *Med J Aust* 177(10): 552-3
- Rose PG, Macfee MS, Boswell MV (1993)
Fentanyl transdermal system overdose secondary to cutaneous hyperthermia. *Anesth Analg* 77: 390-1
- Roy SD, Flynn G (1990)
Transdermal delivery of narcotic analgesics: pH, anatomical, and subject influences on cutaneous permeability of fentanyl and sufentanil. *Pharm Res* 7: 842-7
- Roy SD, Hou S, Witham SL, Flynn GL (1994)
Transdermal delivery of narcotic analgesics: Comparative metabolism and permeability of human cadaver skin and hairless mouse skin. *J Pharm Sci* 83(12): 1723-1728
- Schechter NL, Weisman SJ, Rosenblum M, Bernstein B, Conard PL (1995)
The use of oral transmucosal fentanyl citrate for painful procedures in children. *Pediatrics* 95(3): 335-339
- Scheuplin RJ, Blank I (1971)
Permeability of the skin. *Physiol Rev* 51: 702-747
- Scott JC, Stanski D (1987)
Decreased fentanyl and alfentanil dose requirements with age. A simultaneous pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation. *J Pharmacol Exp Ther* 240: 159-166
- Shou WZ, Jiang X, Beato BD, Naidong W (2001)
A highly automated 96-well solid phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the determination of fentanyl in human plasma. *Rapid Commun Mass Spectrom* 15: 466-76

- Shu-Wen C, Maguire P, Frances MD, Beatty MF, Loew GH (1996)
Evidence for μ 1-opioid receptor involvement in fentanyl mediated respiratory depression.
Eur J Pharmacol 312(2): 241-244
- Skopp G (2004)
Preanalytic aspects in postmortem toxicology. Forensic Sci Int 142: 75-100
- Smialek JE, Levine B, Chin L, Wu SC, Jenkins AJ (1994)
A fentanyl epidemic in Maryland 1992. J Forensic Sci 39(1): 159-164
- Solassol I, Bresolle F, Caumette L, Gracia F, Thezenas S, Astre C, Coulouma R, Culine S, Pinguet F (2005)
Inter and intraindividual variability in transdermal fentanyl absorption in cancer pain patients.
Oncology Reports 14(4): 1029-36
- Southam M (1995)
Transdermal fentanyl therapy: system design, pharmacokinetics and efficacy.
Anticancer Drugs 6 Suppl 3: 29-34
- Streisand JB, Varvel J, Stanski DR, Le Maire L, Ashburn MA, Hague BI, Tarver SD, Stanley TH (1991)
Absorption and bioavailability of oral transmucosal fentanyl citrate. Anesthesiology 75: 223-229
- Suzuki O, Watanabe K (2005)
Postmortem redistribution of drugs in: Suzuki O (Hrsg.) Drugs and Poisons in Humans, Aufl.1 Springer, Berlin, Heidelberg, New York, S 19-20
- Tabatabai M, Kitahata L, Collins JG (1989)
Disruption of the rhythmic activity of the medullary inspiratory neurons and phrenic nerve by fentanyl and reversal with nalbuphine. Anesthesiology 70: 489-95
- Teske J, Weller JP, Tröger HD (2006) Nachweis von Fentanyl und Norfentanyl im Zusammenhang mit transdermalen Schmerzplaster. Vortrag im Rahmen der 15. Frühjahrstagung (Nord) 9.-10. Juni 2006 Der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Dresden
- Tharp AM, Winecker RE, Winston DC (2004)
Fatal intravenous fentanyl abuse- four cases involving extraction of fentanyl from transdermal patches. Am J Forensic Med Pathol 25(2): 178-81
- Thompson JP, Bower S, Liddle AM, Rowbotham DJ (1998)
Perioperative pharmacokinetics of transdermal fentanyl in elderly and young adult patients.
Br J Anaesth 81(2): 152-4
- Varvel JR, Shafer S, Hwang SS, Coen PA, Stanski DR (1989)
Absorption characteristics of transdermally administered fentanyl. Anesthesiology 70: 928-934

Wiesner G, Taeger K, Peter K (1996)
Die Serumproteinbindung von Fentanyl. Anaesthesist 45: 323-329

Zimmermann M, Waap I (2005)
Individuelle Aspekte der Lebensqualität von Patienten mit chronischen Schmerzen.
Anwendungsbeobachtung zur Therapie mit Fentanyl- TTS. MMW- Fortschr. Med.
Originalien I/147 Jg. Suppl 1: 33-40

9 Anhang

Angaben zu Verstorbenen in Öjendorf

Lf. Nr.:

Name:

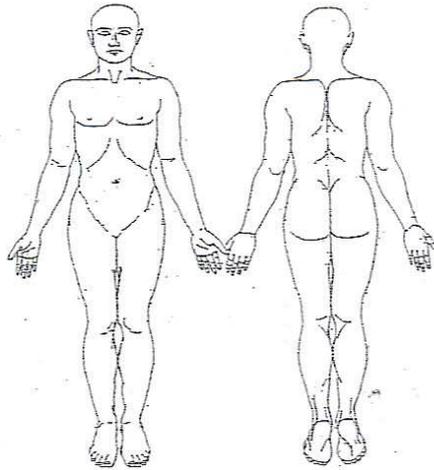
Alter:

Haarfarbe:

Allgemeinzustand:

Größe:

Körperschema: Lokalisation der Pflaster:



Pflaster/Dosis:

Anzahl:

Defekte:

Dokumentation:

Datum:

Blut: Ja: Nein:

Haare: Ja: Nein:

Wer hat abgenommen und wann:

Anhang 1: Dokumentationsbogen für Verstorbene



Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

Institut für
Rechtsmedizin
Prof. Dr. Klaus Püschel
Direktor des Instituts

Zentrum
Klinisch-Theoretische Medizin II
Butenfeld 34, 22529 Hamburg
(Uniklinik: 20246 Hamburg)
Telefon: (040) 428 03-21 27
Telefax: (040) 428 03-39 34
sekr@rechtsmed-hh.de
www.rechtsmed-hh.de

Anamnesebogen für den Hausarzt

Lf. Nr.:

Name:

Vorname:

männl.:

weibl.:

Straße, PLZ, Ort:

Leiterin Toxikologie
Dr. rer.nat. H. Andresen

Telefon (040) 428 03-21 28/36 17
Telefax (040) 428 03-86 60

h.andresen@uke.uni-hamburg.de

_____ (intern auszufüllen)

Grunderkrankung:

Seit wann:

Vorerkrankungen (akut/chronisch, OP's im letzten Jahr):

Fentanyl: Dosierung:

Anzahl der Pflaster:

Seit wann:

Änderungen / Dosierung:

Wenn ja; seit wann:

Optional: vom Hausarzt verordnet:

von der Schmerzzambulanz:

Arztbrief:

Andere Medikamente:

Datum

Unterschrift des Arztes
Adresse, Tel.

Anhang 2: Anamnesebogen der Verstorbenen für den Hausarzt/ das Krankenhaus



Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

Institut für
Rechtsmedizin
Prof. Dr. Klaus Püschel
Direktor des Instituts

Butenfeld 34, 22529 Hamburg
(Uniklinik: 20246 Hamburg)
Telefon: (040) 428 03-21 27
Telefax: (040) 428 03-39 34
sekr@rechtsmed-hh.de
www.rechtsmed-hh.de

Leiterin Toxikologie
Dr. rer.nat. H. Andresen

Schmerzlinik

Fentanyl-Studie

Telefon (040) 428 03-21 28/36 17
Telefax (040) 428 03-86 60

h.andresen@uke.uni-hamburg.de

[Dokument: schmerzlinik_neu.doc]

01.12.2004 ha/ha

Patienten-Anamnese

Angaben zum Patienten:

Patienten-Nummer (Aufkleber):

männl.: weibl:

Geburtsdatum:

Angaben zur Probenentnahme:

Abnahme der 1. Blutprobe: am: um Uhr

Applikation eines frischen Durogesic-Pflasters: am: um Uhr

Abnahme der 2. Blutprobe: am: um Uhr

Zustimmung zur Haarproben-Entnahme ?

JA NEIN

Entnommen am: (ca.cm)

Angaben zum Allgemeinzustand:

Allgemeinzustand:

Größe: cm

Gewicht: kg

Körpertemperatur: °C

Hautzustand:

Version 1, 29.09.04

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Körperschaft des öffentlichen Rechts
Gerichtsstand: Hamburg

Vorstandsmitglieder:
Prof. Dr. Jörg F. Debatin (Vorsitzender)
Dr. Behrend Behrends
Ricarda Klein
Prof. Dr. Rolf A.K. Stahl

Bankverbindung:
HSH Nordbank
Kto.-Nr.: 104 364 000
BLZ: 210 500 00

Anhang 3: Anamnesebogen der lebenden Patienten, Teil 1

Angaben zum Gesundheitszustand:

Grunderkrankung:

Seit wann:

Schmerzstärke:

Schmerzart:

Pupillenweite: Miosis Mydriasis mittelweit

Andere (Vor-) Erkrankungen / OP's im letzten Jahr:

(gerne mit Datum (akut/chronisch;))

Angaben zum Durogesic-Pflaster:

Dosierung:

Wieviele Pflaster:

Seit wann:

Verwendete Applikationsorte der Pflaster (Bitte alle Orte auflisten):

Änderungen in der Dosierung:

Wenn ja, wie und wann:

Angaben zur weiteren Medikation:

Weitere Medikamente:

Intern. bitte nicht ausfüllen!

Dokumentation: Blut 1: Ja nein

Blut 2:

Haare:

Datum:

Unterschrift:

Version 1, 19.09.04



Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

Institut
für Rechtsmedizin

Prof. Dr. Klaus Püschel
Direktor des Instituts
Dipl.-Bw. Dietmar F. Horch
Kaufmännischer Leiter

www.rechtsmed-hh.de

Akkreditiert durch:
Deutscher
Akkreditierungs
Rat
DAR
DAC-P-0314-04-00

Inst. f. Rechtsmedizin - Butenfeld 34 - 22529 Hamburg

Facharzt für Pharmakologie
und Toxikologie
Prof. Dr. med. A. Schmoldt

Telefon (040) 428 03-21 28/36 17
Telefax (040) 428 03-86 60

schmoldt@uka.uni-hamburg.de

[Dokument: fentanyl-patient_neu.doc]

01.12.2004 ha/ha

Sehr geehrte Patientin,
sehr geehrter Patient,

das toxikologische Labor des Instituts für Rechtsmedizin plant zusammen mit der Schmerzlinik des UKE eine wissenschaftliche Untersuchung. Hierdurch soll geklärt werden, ob es einen direkten Zusammenhang zwischen der im Blut nachgewiesenen Konzentration des Wirkstoffes Fentanyl mit der Menge und der Stärke der verordneten Durogesic®-Pflaster besteht, oder ob diese Konzentrationen von Mensch zu Mensch unterschiedlich sind. Hierdurch kann die Arzneimittelsicherheit erhöht und eine Therapie mit diesem Schmerzmittel optimiert werden.

Hierzu ist lediglich die Abnahme einer Blutprobe im Rahmen der Aufnahmeroutine in der Schmerzlinik nötig. Diese Blutprobe wird dann im Institut für Rechtsmedizin mit Hilfe eines speziellen Testes auf die im Blut vorhandene Fentanylkonzentration untersucht. Um diese Werte interpretieren zu können, werden von Ihrem behandelnden Arzt weitere Informationen benötigt, die Ihre Größe, Ihr Gewicht, Ihr Alter, die Krankheitsgeschichte und vor allem die Dosierung des Schmerzmittels sowie die Einnahme anderer Medikamente umfassen. Alle an der Studie beteiligten Mitarbeiter unterliegen der Schweigepflicht. Für diese Studie werden Ihre Personaldaten anonymisiert und die Proben werden nach Beendigung der Studie verworfen. Es werden keine genetischen Untersuchungen der Blutprobe durchgeführt!

Version 3, 01.12.04

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Körperschaft des öffentlichen Rechts
Gerichtsstand: Hamburg

Vorstandsmitglieder:
Prof. Dr. Jörg F. Debatin (Vorsitzender)
Dr. Behrend Behrends
Ricarda Klein
Prof. Dr. Rolf A.K. Stahl

Bankverbindung:
HSH Nordbank
Kto.-Nr.: 104 364 000
BLZ: 210 500 00

Anhang 5: Informationsblatt für lebenden Patienten

Einwilligung zum Datenschutz Fentanyl-Studie

Ich bin damit einverstanden, dass im Rahmen der wissenschaftlichen Studie meine personenbezogenen Daten/Krankheitsdaten aufgezeichnet und pseudonymisiert werden (d.h. ohne Namensnennung).

Die Verarbeitung und Nutzung meiner pseudonymisiert Daten erfolgt auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern für die Dauer von maximal 3 Jahren.

Außerdem bin ich damit einverstanden, dass ein autorisierter und zur Verschwiegenheit verpflichteter Mitarbeiter des durchführenden Labors in die personenbezogenen Daten Einsicht nimmt, soweit dies für die Überprüfung der Studie notwendig ist.

Wenn ich meine Einwilligung zur Teilnahme an der Studie widerrufe, werden die bereits gespeicherten Daten gelöscht.

Name.....

Geb.-Datum.....

.....
Unterschrift

Version 1 29.09.04

Anhang 6: Einwilligungserklärung /Datenschutz lebende Patienten

Einverständniserklärung Fentanyl-Studie

.....(Name des aufklärenden Arztes) hat mich vollständig über den Sinn und den Zweck der geplanten Studie aufgeklärt.
Ich konnte dabei alle mich interessierenden Fragen stellen.

- Ich hatte Gelegenheit, das Aufklärungsblatt genau durchzulesen und Fragen dazu zu stellen.
- Ein Exemplar der Aufklärung/Einverständniserklärung ist mir zum Verbleib ausgehändigt worden.
- Ich weiß, dass ich meine Einwilligung ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir daraus Nachteile bezüglich einer laufenden oder zukünftigen Behandlung entstehen.
- Ich weiß, dass die im Rahmen dieser Studie erhobenen Daten und persönlichen Mitteilungen der ärztlichen Schweigepflicht unterliegen und zur Auswertung nur ohne meinen Namen (anonymisiert) zusammengeführt werden.
- Ich erkläre, dass ich im Rahmen der Studie mit der Aufzeichnung von Krankheitsdaten und ihrer Auswertung durch die Mitarbeiter des Instituts für Rechtsmedizin einverstanden bin.
- Ich bestätige durch meine Unterschrift, dass ich die Aufklärung verstanden habe und mich mit der Durchführung der vorgenannten Studie einverstanden erkläre.

Name:.....

Geb.-Datum:.....

Datum:.....

Unterschrift:.....

Unterschrift des
aufklärenden Arztes:.....

Version 1 29.09.04

Validierungsprotokoll

Seite:	1 von 6	Institution: Institut für Rechtsmedizin
Gültig ab:	02/08	Methode: LC/MS

Titel	Bestimmung von Fentanyl in postmortal gewonnenem Femoralvenenblut
ID-Code	MET/ARZ/40

Angaben zur Methode

Kurzbezeichnung der Methode (ggf. Nr. der SOP)	Fentanyl-Nachweis in postmortalem Femoralvenenblut mit LC/MS nach vorheriger Flüssig/Flüssig-Extraktion
Anwendungsgebiet	Fragestellungen im Rahmen der forensischen Toxikologie
Arbeitsbereich	1,0-15,0 ng/ml
Analyt	Fentanyl
Weitere bestimmbare Analyte	

Verantwortlichkeiten

Leiter der Validierung	Alexander Müller
Beteiligte Mitarbeiter	Annemarie Gullans (Doktorandin)
Bearbeitungszeitraum	06/2005 - 02/2008
Methode gültig erklärt am	12.02.2008
Methode ungültig erklärt am	
Zusammenfassung und Bewertung	Die Methode erwies sich als linear und spezifisch. Die Extraktionsmethode konnte von Serum auf postmortal gewonnene Femoralvenenblutproben übertragen werden. Die Richtigkeit wurde anhand täglich mitgeführter Qualitätskontrollen überprüft und entspricht den Anforderungen.

Validierungsprotokoll

Seite:	2 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin
Gültig ab:	02/08	Methode:	LC/MS

1. Arbeitsbereich und Kalibrationsmodell

A. Target	Messsignal:188	Messgröße: areaquotient	Einheit: ng/ml
-----------	----------------	-------------------------	----------------

	Leerwert	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Konzentration	0,00	1,00	2,50	5,00	7,50	12,50	15,00			
1	0,000	0,097	0,200	0,492	0,806	1,295	1,455			
2	0,000	0,096	0,191	0,517	0,706	1,251	1,534			
3	0,000	0,092	0,227	0,626	0,870	1,507	1,716			
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
Mittelwert	0,000	0,095	0,206	0,545	0,794	1,351	1,568			
SD	0,000	0,003	0,019	0,071	0,083	0,137	0,134			
Varianz	0,000	0,000	0,000	0,005	0,007	0,019	0,018			
Werte	3	3	3	3	3	3	3			

Grubbs-Test auf Straggler (Signifikanz: 95%)

Extremwert	0,000	0,092	0,227	0,626	0,706	1,507	1,716			
Prüfwert		1,134	1,121	1,137	1,065	1,140	1,103			
Tabellenwert	1,153	1,153	1,153	1,153	1,153	1,153	1,153			
Straggler?		nein	nein	nein	nein	nein	nein			

Grubbs-Test auf Ausreißer (Signifikanz: 99%)

Tabellenwert	1,155	1,155	1,155	1,155	1,155	1,155	1,155			
Ausreißer?		nein	nein	nein	nein	nein	nein			

F-Test auf Varianzhomogenität (Signifikanz: 99%)

Kalibrator 1 und 6

Prüfwert	2559,190
Tabellenwert	99,000
Homogen?	nein

Mandel-Test auf Linearität (Signifikanz: 99%)

Prüfwert	Voraussetzungen nicht erfüllt !
Hinweis	Bitte Bereich einschränken oder gewichtete Regression !

B. Qualifier

	Messsignal:188	Messgröße: areaquotient	Einheit: ng/ml
--	----------------	-------------------------	----------------

	Leerwert	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Konzentration										
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
Mittelwert										
SD										
Varianz										
Werte										

Grubbs-Test auf Straggler (Signifikanz: 95%)

Extremwert										
Prüfwert										
Tabellenwert										
Straggler?										

Grubbs-Test auf Ausreißer (Signifikanz: 99%)

Tabellenwert										
Ausreißer?										

F-Test auf Varianzhomogenität (Signifikanz: 99%)

Kalibrator 1 und 6

Prüfwert	---
Tabellenwert	---
Homogen?	---

Mandel-Test auf Linearität (Signifikanz: 99%)

Prüfwert	---
Hinweis	---

Validierungsprotokoll

Seite:	4 von 6	Institution:	Institut für Rechtsmedizin
Gültig ab:	02/08	Methode:	LC/MS

3. Grenzwerte (DIN 32645)

	Kalibrator	Target	Qualifier
	ng/ml	188,000000	areaquotient
1	0,00	0,000	
2	1,00	0,096	
3	2,50	0,191	
4	5,00	0,517	
5	7,50	0,706	
6	12,50	1,251	
7	15,00	1,534	
8			
9			
10			

Wertepaare	7	0
Messungen	1	
Signifikanz	99,00	
k-Wert	3,00	

Ausreisser-F-Test

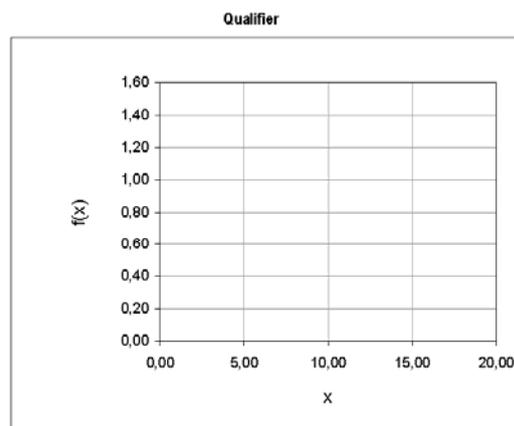
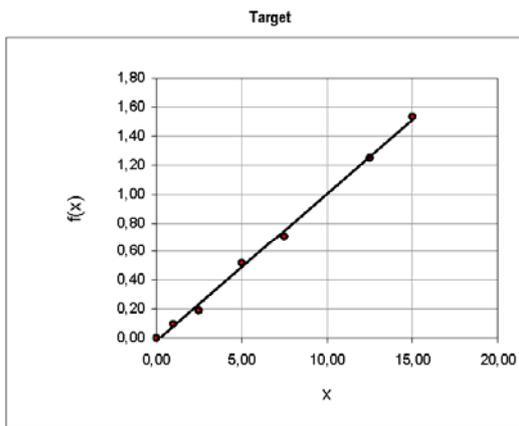
Kalibrator Nr.	3
Prüfwert	2,960
Kritischer Wert 95%	7,700
Straggler?	nein
Kritischer Wert 99%	21,190
Ausreißer?	nein

Linearitäts-Mandel-Test

Prüfwert	1,490
Kritischer-Wert	21,190
Linear?	ja

Grenzwerte

Alpha-Fehler	1,00	100,00	%
Ergebnisunsicherheit	33,33		%
Nachweisgrenze	1,243		
Erfassungsgrenze	2,487		
Bestimmungsgrenze	4,169		(Näherung)
Bestimmungsgrenze	4,171		(exakt)



Lineare Funktionen und Vertrauensbereiche

$$f(x) = a \cdot x + b$$

$$a = 0,102 \quad \pm 0,009$$

$$b = -0,022 \quad \pm 0,077$$

Vertrauensbereich

$$a_{\min} = 0,112 \quad b_{\min} = 0,054$$

$$a_{\max} = 0,093 \quad b_{\max} = -0,099$$

$$f(x) = a \cdot x + b$$

$$a =$$

$$b =$$

Vertrauensbereich

$$a_{\min} =$$

$$a_{\max} =$$

$$b_{\min} =$$

$$b_{\max} =$$

Anhang 8: Validierungsprotokoll für postmortales Blut

Annemarie Gullans
Wasmannstr. 19
22307 Hamburg

Lebenslauf

Geboren am 27. Mai 1981 in Stuttgart

Ärztliche Tätigkeit

seit August 2008 Assistenzärztin für Innere Medizin im Städtischen
Klinikum Brandenburg an der Havel

Studium

Oktober 2001-April 2008 Humanmedizin an der Universität Hamburg

Tertiale im praktischen Jahr

Oktober 2007- Januar 2008 Tertial in der Allgemeinmedizin, Praxis Dr. Keller

Juni 2007– Oktober 2007 Tertial der inneren Medizin, AK Wandsbek

Februar 2007- Juni 2007 Tertial der Chirurgie, AK Nord

Studienbezogene Tätigkeiten

April 2005-Juli 2005 Wahlfach in der Strahlentherapie des UKE

Wintersemester 2004 Vorpräparandin in der Anatomie des UKE

Sommersemester 2003 Teilnahme am Sektionskurs der Rechtsmedizin

Schule

August 1990-Juni 2001 Gymnasium Meiendorf, Hamburg
(Abiturnote: 2,2)

August 1987-Juni 1990 Grundschule

Hamburg, Dezember 2008

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich diese Dissertation noch an keiner anderen Universität eingereicht habe, um ein Promotionsverfahren eröffnen zu lassen.

Ich habe mich auch früher um keine Promotion bemüht.

Ferner versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt, andere als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die den genutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.