Kontrolle des Digoxinspiegels im Serum mit Hilfe einer neuen LKB-Gerätekombination

D. Kuschak und H. Reinauer

Diabetes-Forschungsinstitut a. d. Universität Düsseldorf
Biochemische Abteilung

Zusammenfassung

Wegen der relativ geringen therapeutischen Breite der Digitalisglykoside ist eine Therapieüberwachung durch Messung des Plasmaspiegels der Glykoside angezeigt. Die vorgestellte LKB-Gerätekombination aus einem Kompakt-Gamma-Counter mit on-line Auswertung, verbunden mit einem „coated tube“-Digoxin-Kit neuesten Typs, bietet die Möglichkeit, binnen 90 Minuten den Plasma-Digoxinspiegel zuverlässig und reproduzierbar zu bestimmen. Zum Vergleich wird die off-line-Auswertung mit einem Gerät herkömmlicher Art herangezogen.

Schlüsselwörter:

γ -Counter – on-line/off-line-Auswertung – Solid-phase RIA-Kit

Summary:

Because of the small therapeutical range of digitalis glycosides monitoring of plasma levels is therefore indicated. The described LKB system consists of a γ -counter with on-line data processing. A "silent 700" ASR helps as a terminal for fast data in- and output.

In combination with a new "coated-tube"-digoxin-kit, a rapid and highly sensitive determination of the plasma glycoside level (within 90 minutes) is now possible. In correlation with a conventional off-line system we find highly coincident values.

Key words:

On-line data processing – "Coated tube" – Digoxin kit – Determination of plasma glycoside level.

Die Leistungsfähigkeit moderner Laboratoriumsdiagnostik läßt sich bei keinem anderen Parameter so eindeutig zeigen wie an der radioimmunologischen Bestimmung von Digoxin bzw. Digitoxin. Die herkömmlichen Methoden zur Bestimmung von Pharmaka und anderen Substanzen in Körperflüssigkeiten erwiesen sich in der Vergangenheit oft als unbrauchbar, weil die Nachweisgrenze niedriger lag als die Menge des zu bestimmenden Stoffes. Erst mit der Einführung des Radioimmunoassays (RIA) in den fünfziger Jahren durch Yalow und Berson (1) wurde für eine Reihe von Substanzen eine Steigerung der Nachweisempfindlichkeit um mehrere Zehnerpotenzen erreicht.

Die weitreichende Bedeutung der radioimmunologischen Bestimmungsmethoden zeigt sich besonders daran, daß inzwischen mehr als 600 verschiedene Parameter durch den RIA bestimmt werden können.

Klinische Bedeutung

Schon Withering (2) zeigte vor 200 Jahren die pharmakologische Wirksamkeit von Digitalisglykosiden auf, und die geringe therapeutische Breite dieser Pharmaka ist seitdem Gegenstand einer Vielzahl von Publikationen. Die Herzglykoside gehören zu den am meisten verordneten Pharmaka, und die Indikationsstellung implizierte oft eine Langzeittherapie. Leider führt schon ein Überschreiten der vollwirksamen Dosis um 50% zu Intoxikationssymptomen. In gleicher Weise stellt Unterdosierung einen Therapieerfolg häufig in Frage. Eine einschneidende Wende brachte daher die Einführung der radioimmunologischen Bestimmung der Digoxinkonzentration im menschlichen Serum, die von Smith et al. (1969) erstmals beschrieben wurde. Die Relevanz des Digoxin-RIA's liegt in der Tatsache, daß die Gly-

kosidmenge im Serum – sie beträgt etwa 1% des Gesamtkörperbestandes – in einer definierten Korrelation zur Konzentration im Gewebe (4) und damit parallel zur Wirkung am Herzmuskel steht. Der Serumglykosidspiegel gibt Auskunft über

- a) eine richtig erfolgte, bzw. nicht erfolgte Tabletten-einnahme,
- b) eine normale „bioavailability“, und
- c) eine normale Elimination, bzw. eine eingeschränkte Nierentätigkeit, die durch Creatininclearance abgeklärt ist und der durch eine entsprechende Dosis-korrektur Rechnung getragen werden kann.

Weiterhin kann durch die Bestimmung des Glykosidspiegels eindeutig geklärt werden, ob die aufgetretenen Intoxikationssymptome (5) digitalisbedingt sind oder nicht.

Ergebnisse

Zur Auswertung der Zählraten wurde Programm 4 mit logit-log Transformation verwendet. Bei einer einheit-

lichen Zählzeit von einer Minute fanden wir bei Dreifachbestimmung unter Benutzung von Eppendorf-Pipetten bei beiden Systemen Intraassaywerte von unter 5% VK und Interassaywerte von unter 10%. Die Nachweisgrenze unter diesen Versuchsbedingungen liegt bei 0,1–0,2 ng/ml Digoxin, bzw. Digoxin-Derivaten. Größere Streuungen von über 10% VK bei Werten um 0,5 ng/ml gehen nicht auf Kosten der Meßgeräte und sind, was die klinische Interpretation anbelangt, nicht gravierend.

Die Leistungsfähigkeit des LKB-Gerätes zeigt sich neben einer durch Regressionsanalyse (siehe Abb.1) belegten, gut übereinstimmenden Werten zum „off-line“ Meßprinzip an der Arbeitserleichterung und an der systembedingten Zeitersparnis, was dem Konzept der Rationalisierung und Kostensenkung im Labor entgegenkommt. Eine Serie von 23 Proben zeigte im Vergleich on-line (logit-log)/off-line (spline function) einen Korrelationsfaktor $r = 0,992$, $y = 0,075 + 1,036x$.

Hervorzuheben ist das zeitsparende Rack-Prinzip des „RIA-spezifischen“ LKB-Systems, das Einfach-, Doppel-

Abb.1.

Regressionsanalyse der Digoxinbestimmung

Messung mit dem LKB-System on line gegen Bestimmung am Gamma-Counter (Berthold Friesecke), Typ 5300 mit Teletype und Lochstreifengeber, Auswertung mit einem Tischrechner Hewlett-Packard 9830 mit optischem Lochstreifenleser

und Dreifachbestimmungen erlaubt sowie die universelle Anwendbarkeit handelsüblicher Test-Kits mit unterschiedlichen Röhrchentypen. Durch mehrere Adapter wird auch dieses Problem gelöst. Die Ausbaufähigkeit des LKB-Systems bis zu 2000 Bestimmungen verschiedener Kits hintereinander über das Kassetten-Programm des Texas-Terminals ist als weiterer Vorteil zu bewerten.

Methodik

Mit einem handelsüblichen Digoxin-Reagenzienkit der Firma Boehringer (Mannheim) wurden unausgewählte Seren unserer stationären Klinikspatienten an zwei Gerätesystemen vergleichend untersucht.

Dabei wurden die Proben in Dreifachbestimmung einmal an einem Gamma-Counter der Firma Berthold-Frieseke (Wildbad), Typ 5300, Gammaszint mit Teletype und Lochstreifengeber gemessen und anschließend „off-line“ an einem Tischrechner des Typs Hewlett Packard 9830 mit optischem Lochstreifenleser über spline-Programm ausgewertet. Demgegenüber stand ein LKB-Wallac-Counter, Typ 1270, mit „on-line“ Auswertung durch eingebaute Mikroprozessoren, verbunden mit einem „Silent 700“ ASR Terminal mit Zwillingskassette der Firma Texas-Instruments. Die Auswertung kann an dem LKB-Gerät über z.Z. vier Rechenprogramme erfolgen:

1. CPM und Konzentration,
2. B/Bo und Konzentration,
3. Bo/B und Konzentration,
4. logit B/Bo und log Konzentration.

Schrifttum:

1. YALOW, R. S., BERSON, S. A.:
Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods.
Nature **184** (1959) 1648.
2. WITHERING, W.:
An account of the foxglove and some of its medical uses. In: *Classics of cardiology*, F. A. Wilkins, T. E. Keys, ed., S. 227.
Dover Publ., New York 1941.
3. SMITH, T. W., BUTLER Jr., V. P., HABER, E.:
Determination of therapeutic and toxic serum digoxin concentrations by radioimmunoassay.
New Engl. J. Med. **281** (1969) 1212.
4. LARBIG, D., KOCHSIEK, K., SCHRADER, CH.:
Klinische Aspekte der radioimmunchemischen Bestimmung der Serum-Digoxin-Konzentration.
Deutsche Med. Wschr. **5** (1972) 139.
5. BODEM, G., GILFRICH, H. J., ANLEPP, H., OCHS, H., DENGLER, H. J.:
Klinische und pharmakokinetische Untersuchungen zur Digitalisintoxikation.
Klin. Wschr. **55** (1977) 13.

Anschrift der Verfasser:

Dr. D. Kuschak
Prof. Dr. H. Reinauer
Diabetes-Forschungsinstitut
an der Universität Düsseldorf,
Biochemische Abteilung
4000 Düsseldorf 1, Auf'm Hennekamp 65