

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktorin Prof. Dr. med. Stefanie Ritz-Timme

Untersuchung der Effekte von Cocain und
Levamisol (als Cocainverschnittstoff) auf
das isoliert perfundierte Langendorff-Herz

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Astrid Nina Gartz
2022

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: Prof. Dr. med. Stefanie Ritz-Timme

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Peter Kienbaum

“When you have excluded the impossible, whatever remains, however improbable,
must be the truth.”

Sir Arthur Ignatius Conan Doyle M.D.

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Gartz, A., Pawlik, E., Eckhardt, J., Ritz-Timme, St., Huhn, R., Mayer, F., (2020), Effects of cocaine and levamisole (as adulterant) on the isolated perfused Langendorff heart. *International Journal of Legal Medicine*, <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02300-5>

Zusammenfassung [Deutsch]

In der rechtsmedizinischen Routinearbeit werden nicht selten Todesfälle im Zusammenhang mit dem Konsum von Drogen untersucht. In Fällen, in welchen postmortal nur geringe Konzentrationen von Cocain nachgewiesen und sonstige Todesursachen vollständig ausgeschlossen werden können, stellt sich die Frage, ob Verschnittstoffe von Straßen-Cocain ebenfalls einen tödlichen Einfluss haben können. Der am häufigsten genutzte Verschnittstoff von Cocain ist Levamisol. In der vorliegenden Arbeit wurde mit Hilfe des isoliert perfundierten Langendorff-Herzens geprüft, ob Levamisol die kardialen (Neben-)Wirkungen von Cocain verstärken oder verändern kann. Die Herzen wurden von Ratten als postmortale Organentnahme gewonnen. Cocain und Levamisol wurden jeweils als Einzelsubstanzen und in einer Mischung in unterschiedlichen Verhältnissen mit Blick auf eine Veränderung der kardialen Funktionsparameter getestet. Die Applikation erfolgte über einen Perfusor, danach wurden die Herzen jeweils noch bis zu 120 Minuten beobachtet. Zu bestimmten Zeitpunkten wurden die Funktionsparameter linksventrikulärer Druck, Herzfrequenz und Koronarfluss dokumentiert. Sowohl für Cocain als auch für Levamisol wurden bei allen Parametern relevante Änderungen festgestellt. Die Herzfrequenz fiel bei den Zugaben von Cocain ab, bei Levamisol stieg diese nach der Zugabe an. Der linksventrikuläre Druck zeigte bei den Einzelsubstanzen Schwankungen, wobei die Druckspitzen bei Cocain während der Gabe, bei Levamisol danach zu beobachten waren. Der Koronarfluss fiel bei der Zugabe von Cocain stark ab, bei der Zugabe von Levamisol stieg dieser an. Bei den Mischungen in verschiedenen Verhältnissen zeigte sich eine Kombination der Effekte der Einzelsubstanzen. Die Entstehung von neuen Effekten oder offensichtliche Verstärkungen wurden nicht festgestellt. Dennoch lassen die Ergebnisse darauf schließen, dass der Konsum von Cocain, welches mit Levamisol verschnitten ist, eine größere Gefahr für kardiale Komplikationen birgt. Insbesondere, da bei realen Konsumenten aufgrund kardiovaskulärer Vorerkrankungen und einer möglichen genetischen Prädisposition für die Effekte von Rauschmitteln ein höheres kardiales Risiko bestehen kann.

Summary [Englisch]

The examination of deaths related to the consumption of drugs is a common task in forensic routine-work. In cases in which the detected concentration of cocaine is rather low and other causes of death can be ruled out the question arises, if adulterants might have played a crucial role. The most frequently used adulterant of cocaine is levamisole, which is otherwise used as an anthelmintic for artiodactyls. We worked with the isolated Langendorff-heart in order to evaluate if levamisole enhances or amplifies cardiac (side-)effects of cocaine. The hearts were excised from rats as a post-mortem organ removal. With a view on cardiac function parameters cocaine and levamisole were each tested as single substances and in mixtures with different ratios. The application was realized via a perfusor over five minutes. Afterwards the hearts were monitored up to 120 minutes. The functional parameters coronary flow, left ventricular pressure and heart rate were recorded and documented at specific points of time. For both cocaine and levamisole relevant changes were found in all parameters. The heart rate decreased during the administration of cocaine and increased under the influence of levamisole. Left ventricular pressure showed fluctuations in both single substances, whereby pressure peaks were observed for cocaine during the administration and for levamisole afterwards. The coronary flow decreased sharply during the administration of cocaine and increased during the administration of levamisole. The mixtures of different ratios showed a combination of the effects of the single substances. The emergence of new alterations or obvious aggravations were not detected. Nevertheless, the results imply that the consumption of cocaine that is adulterated with levamisole entails a high risk for cardiac complications. In particular, since real consumers may have a higher cardiac risk due to pre-existing cardiovascular diseases and a possible genetic predisposition to the effects of drugs.

Abkürzungsverzeichnis

AChR	Acetylcholin-Rezeptor
ACN	Acetonitril
BKA	Bundeskriminalamt
Ca ²⁺	Calcium-Ion
CF	Coronary flow, Koronarfluss
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
DBDD	Deutschen Beobachtungsstelle für Drogen und Drogensucht
DEA	Drug Enforcement Administration
DIZ	Drogeninformationszentrum (Zürich)
EKG	Elektrokardiogramm
g	Gramm
ha	Hektar
HE	Hämatoxylin-Eosin
IE	Internationale Einheiten
K ⁺	Kalium-Ion
LVP	Left ventricular pressure, linker Ventrikeldruck
MAO	Monoaminoxidase
µM	Mikromol
Na ⁺	Natrium-Ion
ng	Nanogramm
O ₂	Sauerstoff
t	Tonne
UNODC	United Nation Office on Drug and Crime
WDR	World Drug Report

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Cocain	2
1.1.1	Herkunft und Verbreitung von Cocain	2
1.1.2	Wirkstoff	4
1.1.3	Pharmakokinetik.....	4
1.1.4	Allgemeine Wirkung	5
1.1.5	Kardiovaskuläre Wirkung	6
1.2	Levamisol	7
1.2.1	Wirkstoff	8
1.2.2	Pharmakokinetik.....	8
1.2.3	Allgemeine Wirkung	9
1.2.4	Kardiovaskuläre Wirkung	10
1.3	Gemeinsame Wirkung von Cocain und Levamisol	11
1.4	Das isoliert perfundierte Langendorff-Herz.....	11
1.5	Ziele der Arbeit.....	12
2	Publikation	13
3	Diskussion	26
3.1	Kontroll-Herzen	26
3.2	Cocain-Herzen	26
3.2.1	Veränderung der Herzfrequenz	27
3.2.2	Veränderung des Koronarflusses	28
3.2.3	Veränderung des linksventrikulären Druckes.....	28
3.3	Levamisol-Herzen	29
3.3.1	Veränderung der Herzfrequenz	29
3.3.2	Veränderung des Koronarflusses	30
3.3.3	Veränderung des linksventrikulären Druckes.....	31

3.4	Mischungs- Herzen	31
3.4.1	Veränderung der Herzfrequenz	31
3.4.2	Veränderung des Koronarflusses	32
3.4.3	Veränderung des linksventrikulären Druckes	32
3.5	Übertragung der Ergebnisse auf den realen Konsumenten	32
3.5.1	Vorerkrankungen.....	33
3.5.2	Genetische Disposition.....	33
3.5.3	Limitationen	35
3.6	Schlussfolgerung.....	35
	Literatur- und Quellenverzeichnis.....	37
	Danksagung.....	

1 Einleitung

Eine der am häufigsten konsumierten Drogen weltweit mit beständig wachsender Konsumenten-Zahl ist Cocain, welches mit verschiedenen Stoffen verschnitten und im Folgenden als Straßen-Cocain bezeichnet wird. In Deutschland wurden im Jahr 2016 mehr als 13.000 Straftaten in Verbindung mit Straßen-Cocain begangen, dies ist ein Plus von 20 Prozent zum Vorjahr (1). Zum vierten Mal in Folge konnte in Deutschland ein Anstieg der Todesfälle dem Konsum von Drogen zugeschrieben werden. Im Jahr 2016 waren dies etwa 1300 Personen (2). Bei fünf Prozent der Rauschgifttoten konnte bei einer Obduktion die Ursache auf Straßen-Cocain oder eine Kombination von Straßen-Cocain und anderen Drogen zurückgeführt werden (3). Den neusten Zahlen des Bundeskriminalamtes (BKA) zufolge wurden 2018 fast 18000 Straftaten in Verbindung mit Straßen-Cocain begangen, die Zahl der Rauschgifttoten bleibt mit circa 1280 in etwa konstant, die Zahl der Toten durch Straßen-Cocain oder eine Mischintoxikation mit Straßen-Cocain stieg auf circa sieben Prozent (4). Die Konsumenten von Straßen-Cocain finden sich in jeder Schicht der Gesellschaft (5). Laut einer Studie der Deutschen Beobachtungsstelle für Drogen und Drogensucht (DBDD) aus 2017 liegt das Einstiegsalter für den Konsum von Straßen-Cocain bei 22,5 Jahren, wobei der Anteil der männlichen Konsumenten mit 5 Prozent deutlich höher ist als der Anteil der Konsumentinnen mit 2,5 Prozent (6). Das Durchschnittsalter der Konsumenten von Straßen-Cocain in Deutschland liegt bei etwa 31 Jahren (7). In der Studie von Kozor et al. betrug der Altersdurchschnitt 33 ± 7 Jahre; auch hier war mit 85 Prozent der Großteil männlich (5). Die übliche Menge pro *Sniff* beträgt zwischen 10 bis 35 mg. Die tödliche Dosis unterliegt, je nach Konsument und Gewohnheit, starken Schwankungen. Es wird dabei aber von etwa einem Gramm ausgegangen (8).

1.1 Cocain

Cocain wirkt wie ein starkes Stimulans, welches den Konsumenten sich stark, wach, gut gelaunt und leistungsfähiger fühlen lässt. Cocain wird nicht als reine Substanz vertrieben, sondern mit verschiedenen Stoffen verschnitten. Diese Stoffe sollen den Effekt von Cocain imitieren und den Rausch verlängern und intensivieren. Der Hauptzweck des Streckens liegt aber wahrscheinlich eher in einem Anstieg des Profits für die Produzenten und *Dealer* des Grundstoffes (9). Bei den am häufigsten verwendeten Verschnittstoffen handelt es sich um Levamisol (Anthelminthikum), Diltiazem (Calcium-Kanal-Blocker), verschiedene Lokalanästhetika und Hydroxyzin (Antihistaminikum) (10).

1.1.1 Herkunft und Verbreitung von Cocain

Columbien gilt als einer der größten Cocain-Produzenten weltweit. Im Jahr 2017 berichtete das United Nation Office on Drugs and Crime (UNODC) in seinem World Drug Report (WDR), dass die Anbaufläche von Coca um 52 Prozent auf 146000 ha angestiegen sei. Das bedeutet einen geschätzten Anstieg der Cocain-Produktion um 34 Prozent. Das heißt pro Jahr wurden etwa 866 t reines Cocain produziert und in den Handel gebracht (11). Im WDR von 2019 wird schon von einer Anbaufläche von 245000 ha gesprochen mit einer Produktionsmenge von 1976 t reinen Cocains (12). [Abbildung 1]



Note: Data refer to 2017.

Abbildung 1 Anbaufläche und Produktionsvolumen von Cocain im Jahr 2017, entnommen aus (13)

Von Südamerika aus wird Cocain weltweit verbreitet, vor allem in die USA und Europa. [Abbildung 2]

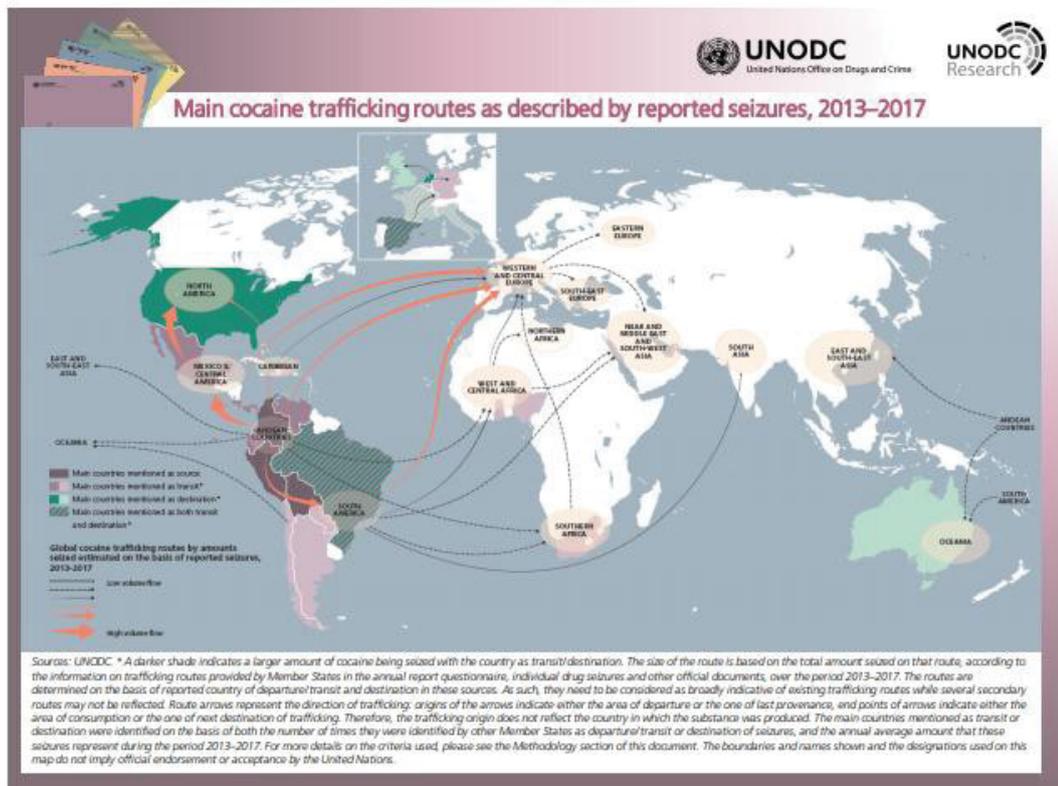


Abbildung 2 Hauptverkehrsrueten des Cocain-Handels, entnommen aus (13)

Auch die Reinheit von Straßen-Cocain hat sich in den letzten Jahren verändert. Das Drogeninformationszentrum (DIZ) der Stadt Zürich testet regelmäßig Proben von Straßen-Cocain und konnte einen Anstieg des Reinheitsgrades von 40 Prozent auf 70 Prozent feststellen (14).

1.1.2 Wirkstoff

Erythroxylum coca, eine Strauchpflanze, die in den Anden beheimatet ist, enthält in ihren Blättern als Hauptinhaltsstoff das Alkaloid Cocain. Über einen aufwändigen Extraktionsprozess wird Cocain aus den Blättern der Pflanze gewonnen, und man erhält Cocain-Hydrochlorid als stabiles Endprodukt. Die Summenformel von Cocain lautet $C_{17}H_{21}NO_4$ (7).

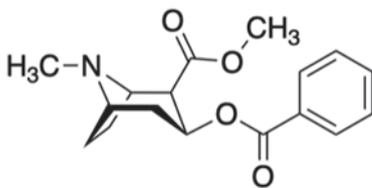


Abbildung 2: Strukturformel von Cocain

Das Molekül besteht aus einem lipophilen Aromaten, welcher über eine Esterbindung an eine hydrophile Aminogruppe gebunden ist (15). Das entstandene weiße Pulver kann nasal oder intravenös konsumiert werden. Als Crack bezeichnet man die freie Base des Cocains, welche durch das Erhitzen beim Rauchen aus Cocain-Hydrogencarbonat freigesetzt wird (16,17).

1.1.3 Pharmakokinetik

Durch die unterschiedlichen Konsumarten des Cocains ergeben sich unterschiedliche Wege der Aufnahme. Intravenös appliziertes Cocain erreicht innerhalb weniger Minuten einen hohen Plasmaspiegel. Annähernd genauso schnell wird ein hoher Plasmaspiegel erreicht, wenn Cocain als Crack geraucht wird. Durch die hohe Absorptionsrate der Alveolen wird Cocain dort schnell ins

Blut aufgenommen. Wenn Cocain geschnupft wird, muss es zunächst durch die Nasenschleimhaut aufgenommen werden. Dieser Prozess dauert im Vergleich zu den anderen Konsumarten länger. Etwa nach dreißig Minuten wird der höchste Plasmaspiegel erreicht, allerdings hält der Effekt auch länger an. Cocain kann aufgrund des lipophilen Aromaten in der Molekülstruktur die Blut-Hirn-Schranke überwinden und gelangt direkt in das zentrale Nervensystem (18). Es bindet reversibel an unterschiedliche Rezeptoren, zum Beispiel an Natriumkanäle. Die Wirkung des Cocains tritt nach nasaler Aufnahme nach einigen Minuten ein, die höchste Plasmakonzentration wird nach 30 bis 60 Minuten erreicht, die Halbwertszeit von Cocain beträgt etwa zwei bis fünf Stunden (7,16). Der Abbau erfolgt zu etwa 80 Prozent durch Pseudocholinesterasen im Blut, welche sowohl Acetylcholin als auch Cocain spalten (19). Ebenso wird Cocain in der Leber durch hepatische Esterasen abgebaut. Die restlichen 20 Prozent werden fast unverändert renal eliminiert (15).

1.1.4 Allgemeine Wirkung

Cocain hat eine katecholaminerge Wirkung. Durch Katecholamine kann das vegetative Nervensystem aktiviert werden. Adrenalin und Noradrenalin gehören zur Familie der Katecholamine. Sie können sowohl peripher als auch zentral eine Erregung oder Hemmung der Zelle vermitteln (20). Die Membranrezeptoren für Adrenalin und Noradrenalin werden Adrenorezeptoren genannt. Adrenorezeptoren bestehen aus transmembranalen Proteinen, welche an allen Zellen im Körper zu finden sind. Sie vermitteln die Wirkung von Noradrenalin bzw. Adrenalin an den prä- und postsynaptischen Membranen der Zellen. Adrenorezeptoren werden in die beiden Haupttypen α - und β -Adrenorezeptoren unterschieden und in die Untergruppen α_1 -, α_2 -, β_1 -, β_2 und β_3 -Rezeptoren unterteilt, wobei letztere für den hier dargelegten Sachverhalt nicht relevant sind, da sie hauptsächlich im braunen Fettgewebe vorliegen. Die α_1 -vermittelte Wirkung führt zu Kontraktionen in glatten Muskelzellen und zu Vasokonstriktionen. Über α_2 -Rezeptoren wird eine generelle Vasodilatation ausgelöst. Die β_1 -Rezeptoren finden sich hauptsächlich am Herzen und haben

dort eine positive inotrope, chronotrope und dromotrope Wirkung. Zu einer erhöhten Freisetzung von Noradrenalin kommt es über die Aktivierung der β_2 -Rezeptoren, außerdem noch zur Bronchodilatation (17,20). Cocain fördert die Ausschüttung dieser Neurotransmitter in den synaptischen Spalt (21) und verstärkt die Wirkung auf das sympathische Nervensystem. Gleichzeitig greift Cocain als zentraler indirekter Wiederaufnahmehemmer für Serotonin, Noradrenalin und Dopamin auch in den Transport von Neurotransmittern im synaptischen Spalt ein (17,22). Dadurch kann es zu einer ausgeprägten adrenergen Symptomatik kommen. Außerdem hat Cocain die Fähigkeit, schnelle Natrium-Kanäle zu blockieren, ähnlich wie ein Lokalanästhetikum, und verhindert die Entstehung oder Weiterleitung eines elektrischen Signals (23,24). Cocain hat auch eine membran-stabilisierende Wirkung, wodurch es antidysrhythmische Eigenschaften aufweist (25).

1.1.5 Kardiovaskuläre Wirkung

Viele Studien sowie *Reviews* über die physiologischen Auswirkungen von Cocain auf das kardio-vaskuläre System, zum Beispiel Karch's Pathology of Drug Abuse (26), wurden mit ähnlichen Forschungsergebnissen veröffentlicht. Es ist bekannt, dass Cocain einen Einfluss auf kardio-vaskuläre Funktionsparameter wie Herzfrequenz und Blutdruck hat (5). Bei der Herzfrequenz zeigt sich zuerst eine vorübergehende Bradykardie, welche am ehesten durch die sympathische Aktivierung in einer Tachykardie endet (25). Der Blutdruck steigt bei Cocain-Konsum teilweise sehr stark an, fällt allerdings im Verlauf ab. Trotzdem haben Konsumenten generell eher einen Hypertonus (5). Ebenso verursacht es eine Konstriktion der Koronararterien (24,25), bis hin zum arteriellen Koronarspasmus (27,28). Chronischer Cocain-Konsum verursacht sogar Veränderungen in der Struktur des Herzes in Form von Linksherzhypertrophie sowie Veränderungen der Blutgefäße wie arterielle Steifigkeit und Arteriosklerose, wodurch es zu Einbußen in der Funktionalität kommt (5). Kardiovaskuläre Komplikationen wie Hypertrophie des Herzens,

obstruktive Erkrankung der kleinen Gefäße sowie vorzeitige Koronarsklerose sind die Hauptursachen für einen plötzlichen Tod im Zusammenhang mit Cocain (23).

1.2 Levamisol

Mitte der 1960er-Jahre wurde Levamisol in Deutschland, Österreich und der Schweiz als Appetitzügler zur Bekämpfung von Übergewicht in der Humanmedizin eingesetzt (29). 1972 wurde Levamisol in diesen Ländern für die Verwendungen in der Humanmedizin wieder verboten. Bei Personen, die diesen Levamisol-haltigen Appetitzügler zu sich genommen hatten, war eine steigende Anzahl von Fällen mit pulmonalem Hypertonus aufgetreten (22,29,30). Heutzutage wird Levamisol in der Veterinärmedizin lediglich noch als Mittel gegen Fadenwürmer bei Paarhufern eingesetzt. Im Jahr 2003 wurde erstmalig mit Levamisol verschnittenes Cocain in den USA durch die Drug Enforcement Administration (DEA) entdeckt (31). Im Jahr 2004 fielen im Pferderennsport epidemische Zahlen von positiven Dopingtests auf. Der Urin der Rennpferde wurde positiv auf Aminorex, eine als Doping gelistete Substanz, getestet. Diese Pferde wurden vorher alle mit Levamisol zur Entwurmung behandelt (32). Aufgrund von weiteren Untersuchungen fiel eine Umwandlung von Levamisol in Aminorex bei Pferden auf (32). Daraufhin wurde auch der Urin von Menschen untersucht, die Levamisol zu sich genommen hatten, und in diesen Urinproben wurde ebenfalls Aminorex nachgewiesen (30). Seit 2005 häufen sich die Berichte über das Vorhandensein von Levamisol in beschlagnahmtem Straßen-Cocain (9), in 2014 deckte eine Studie von Hofmeier et al. auf, dass 70 Prozent des Straßen-Cocains mit Levamisol versetzt wurden (22). Der Verschnittstoff wird dem Cocain schon in den Produktionsländern beigemischt. Womöglich ist dies der Tatsache geschuldet, dass in Ländern mit einem hohen Anteil an Viehwirtschaft Levamisol weit verbreitet und sehr einfach in den verschiedensten Formen wie Tabletten, Pulver und Pasten zu erwerben ist (33,34). Eine Analyse von Straßen-Cocain in 2014 zeigte, dass dieses Cocain eine durchschnittliche Menge von 55 Prozent \pm 22 Prozent Levamisol enthält (22).

1.2.1 Wirkstoff

Levamisol, oder auch (S)-6-Phenyl-2,3,5,6-tetrahydro-imidazo[2,1-b][1,3]thiazol, gehört zur Gruppe der Imidazolthiazole mit der Summenformel $C_{11}H_{12}N_2S$.

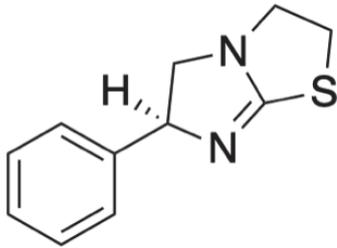


Abbildung 3 Strukturformel von Levamisol

In der Medizin wird hauptsächlich das Salz Levamisolhydrochlorid eingesetzt, welches das Aussehen und die Konsistenz eines weißlichen Pulvers hat (35). Das Molekül besteht aus einem Imidazolring, welcher mit einem Thiazolring verbunden und gut wasserlöslich ist (36). Im Körper wird Levamisol in Aminorex umgewandelt, was durch Urinalysen nach Levamisol-Einnahme gezeigt werden konnte (30). Nachdem eine Methode zum Erkennen von Levamisol und dessen Metaboliten in menschlichem Plasma etabliert worden war, haben Hess et al. allerdings eher niedrige Konzentrationen von Aminorex nach Einnahme von Levamisol gefunden (37). Aminorex, 5-phenyl-4,5-dihydro-1,3-oxazol-2-amine, hat die Summenformel $C_9H_{10}N_2O$ (38) und ist ebenfalls wasserlöslich (39).

1.2.2 Pharmakokinetik

Levamisol wird gut und schnell sowohl transdermal, über den Gastrointestinaltrakt als auch intramuskulär resorbiert (40). Es wirkt als Stimulans auf ionotrope Acetylcholin-Rezeptoren, auch nikotinische Acetylcholin-Rezeptoren (AChR) genannt (22,41), und inhibiert die Monoaminoxidase (MAO) in Nematoden (Fadenwürmer) und in der Säugetiermuskulatur (42). Bei hohen Dosierungen von Levamisol wird ebenfalls die Acetylcholinesterase gehemmt und die cholinerge Wirkung dadurch

verstärkt (35). Nikotinerge AChR gehören zu den Ionenkanal-Rezeptoren (30,43). Diese sorgen bei Öffnung für einen Einstrom von hauptsächlich Na⁺-Ionen aus dem synaptischen Spalt in die Zelle, allerdings werden auch K⁺-Kanäle über diesen Mechanismus geöffnet (20,44). Wenn das Schwellenpotenzial überschritten ist, führt dies zur Depolarisierung der Zelle (17). In Muskelzellen können durch die Depolarisierung Ca²⁺-Kanäle geöffnet werden und einen Ca²⁺-Einstrom in die Zelle zur Folge haben (44). Aminorex hingegen wirkt Amphetamin-ähnlich (45). Es erhöht leicht die Serotoninausschüttung, vor allem hemmt es die Wiederaufnahme der drei Neurotransmitter Serotonin, Noradrenalin und Dopamin (22). Levamisol wird weitestgehend in der Leber metabolisiert und über die Niere ausgeschieden (46,47). Aminorex ist von der Leber umgewandeltes Levamisol, allerdings ist die genaue Verstoffwechslung noch nicht verstanden (35,45,46,48). Es wird jedoch genau wie Levamisol über die Niere ausgeschieden (30). Aufgrund der unklaren Verstoffwechslung ist noch nicht abschließend geklärt, in welchem Ausmaß jeweils Levamisol und Aminorex für die im Nachfolgenden beschriebenen Effekte im Herzkreislaufsystem verantwortlich sind.

1.2.3 Allgemeine Wirkung

Levamisol hat zum einen Auswirkungen auf das Immunsystem und zum anderen auf Neurotransmitter. Im Immunsystem erhöht es unter anderem die T-Zell-Aktivierung und deren Proliferation. Außerdem werden die Mobilität, Adhärenz und Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten erhöht sowie die Bildung von Antikörpern gegen Antigenkomplexe gesteigert (49). Diese gebildeten Antikörper können eine Immunantwort auslösen, welche die Opsonierung und Zerstörung von Leukozyten beinhaltet (33). Dies führt unter anderem zu Agranulozytose (31,33,49,50), Neutropenie (33), Leukopenie (49), multifokaler inflammatorischer Leukenzephalopathie (31,49), Vaskulitiden in der Lunge, in peripheren Gefäßen oder am Herzen (31,49,50) sowie zu kutaner Vaskulopathie (31,33). Im Nervensystem soll Levamisol vor allem die Wirkung von Noradrenalin verstärken. Die genaue Wirkweise ist noch nicht bekannt, allerdings gibt es einige Hypothesen, wie dies zustande kommt. Eine

Hypothese besagt, dass Levamisol die Wiederaufnahme der Neurotransmitter blockiert (30,31,50). Es gibt ebenfalls die Hypothese, dass durch Levamisol MAO und/oder Catechol-O-Methyltransferase (COMT) inhibiert werden (30,31,50). Sowohl MAO als auch COMT sind für den Abbau von Katecholaminen zuständig (17). Eine weitere Hypothese ist, dass ganglionäre Nikotinrezeptoren durch Levamisol stimuliert werden. Jede dieser Wirkweisen würde die Wirkung der Neurotransmitter verlängern. Auch die Möglichkeit, dass Levamisol in eine Amphetamin-ähnliche Verbindung, Aminorex, metabolisiert wird, besteht (30–32,50). Ebenso besteht die Möglichkeit, dass Levamisol die endogenen Opiode sowie die neuronale Freisetzung von Dopamin erhöht (31).

1.2.4 Kardiovaskuläre Wirkung

Levamisol hat unterschiedliche Effekte auf das Herzkreislaufsystem. Zum einen wurde bei Patienten, die mit einem Appetitzügler behandelt wurden, welcher ein Levamisol-Stoffwechselprodukt enthielt, eine Vielzahl von pulmonalen Hypertonien diagnostiziert (51–53). H.P. Gurtner stellte fest, dass bei 84 Prozent der durch die Einnahme von Levamisol als Appetitzügler an pulmonaler arterieller Hypertonie Erkrankten in der Folge an Rechtsherzversagen verstorben sind (54). Des Weiteren hat Levamisol einen Einfluss auf die Herzfrequenz in Form von schweren Bradykardien, Tachykardien, Herzrhythmusstörungen sowie Kammerflimmern (55). Auch eine Wirkung auf die Koronargefäße im Sinne des Auslösens einer eosinophilen Inflammation kann Levamisol zugeschrieben werden. Dadurch wird wie bei Plaques durch Makrophagen das Koronargefäß eingeeengt und kann ebenso zum akuten Koronarsyndrom führen (49,50). Da durch Levamisol Ca^{2+} -Kanäle geöffnet werden, führt ein erhöhter Einstrom von Ca^{2+} in der Herzmuskelzelle zu einer erhöhten Kontraktilität (44).

1.3 Gemeinsame Wirkung von Cocain und Levamisol

Da Levamisol eine längere Halbwertszeit als Cocain aufweist (48,56), kann angenommen werden, dass die Wirkung von Levamisol einsetzt, wenn die von Cocain nachlässt (22). Die Halbwertszeit von Levamisol liegt mit etwa vier bis viereinhalb Stunden deutlich über der von Cocain mit etwa zwei Stunden (7,57). Außerdem verlangsamt Levamisol die Spaltung von Cocain in inaktive Metaboliten durch Hemmung der Cholinesterase (34,41). Durch Levamisol wird ebenfalls der Dopaminspiegel im Gehirn erhöht, dies sorgt unter anderem für einen verstärkten euphorisierenden Effekt von Cocain und ahmt eine positive Verstärkung im neurohormonalen System nach (33,34). Im Gehirn kann eine positive Verstärkung zur Entwicklung der Sucht führen (20). Allerdings können durch diese Effekte auch die schädigenden Effekte von Cocain verstärkt werden (50).

1.4 Das isoliert perfundierte Langendorff-Herz

Im Jahr 1895 gelang es Oscar Langendorff erstmals, ein aus dem Kadaver eines Warmblüters entnommenes Herz am Leben zu halten. Dies eröffnete die Möglichkeit, dass man die Funktion der beiden Ventrikel, die Koronargefäße und den vom Herzen produzierten Druck erstmals isoliert betrachten konnte. Um eine ausreichende Versorgung des Herzens sicherzustellen, wurde im Laufe der Zeit das Blut durch eine oxygenierte Pufferlösung ersetzt (58). Das isoliert perfundierte Langendorff-Herz bietet somit die besten Möglichkeiten, die Veränderungen der kardialen Funktion unter dem Einfluss bestimmter Substanzen zu beobachten. Durch den Versuchsaufbau können einzelne Funktionsparameter abgeleitet werden. Dazu gehören unter anderem der linksventrikuläre Druck (LVP), die Herzfrequenz und der Koronarfluss (CF). Auch die Ableitung eines Elektrokardiogramms (EKG) ist möglich. Durch den Aufbau lässt sich die Wirkung von verschiedenen Substanzen auf die verschiedenen Parameter des Herzens während der Verabreichungsperiode beobachten ohne vorherige Verstoffwechslung in der zu testenden Dosierung. In der Beobachtungsperiode, dem Zeitraum nach der Zugabe der zu

untersuchenden Substanzen, können Veränderungen über die Zeit an den verschiedenen Parametern beobachtet werden. Das Herz kann so über mehrere Stunden an der Anlage schlagen.

1.5 Ziele der Arbeit

In der Rechtsmedizin wird bei Sektionen regelmäßig der Konsum von Straßen-Cocain als Todesursache festgestellt. Allerdings ist es bei einigen Fällen so, dass die gemessenen Cocain-Konzentrationen eher niedrig sind und den Tod nicht ohne Weiteres erklären können. Wenn sich keine andere plausible Todesursache findet, kommt die Frage auf, ob nicht der Einfluss von Verschnittstoffen eine Rolle bei der Todesursache spielen könnte. Mit Blick auf das Wirkprofil von Cocain und Levamisol wäre insbesondere an letale kardiale Effekte des verschnittenen Rauschmittels zu denken. Dementsprechend ergeben sich für die vorliegende Arbeit die folgenden Fragen:

- Welche Effekte haben Cocain und Levamisol als Reinsubstanzen auf die Funktionsparameter des isoliert perfundierten Langendorff-Herzens?
- Ist eine Veränderung, eventuell sogar eine Potenzierung der Effekte zu beobachten, wenn die Herzen einer Mischung aus beiden Substanzen ausgesetzt werden?

1.6 Anmerkung zu Cocain- und Kontroll-Herzen

Aufgrund eines sehr ähnlichen Versuchsaufbaus wurden die Experimente zu den Herzen, welche lediglich Cocain ausgesetzt wurden, sowie zu den Kontrollherzen aus tierethischen Gründen gemeinsam mit Janina Eckhardt durchgeführt, die eine Promotionsarbeit zur kardialen Wirkung des Verschnittstoffs Hydroxycin verfasste. Die Verfasserin der vorliegenden Arbeit führte bei den Cocain-Herzen jeweils ein Experiment zu einer Cocain-Menge

durch, lediglich bei den Mengen 1,5 µg und 3,5 µg waren es je zwei Versuche. Auch die Versuche zu den Acetonitril (ACN) Kontrollherzen wurden ausschließlich von der Verfasserin der vorliegenden Arbeit durchgeführt.

2 Publikation

Originalpublikation folgt auf den nächsten Seiten



Effects of cocaine and levamisole (as adulterant) on the isolated perfused Langendorff heart

A. Gartz¹ & E. Pawlik¹ & J. Eckhardt¹ & St. Ritz-Timme¹ & R. Huhn² & F. Mayer¹

Received: 1 October 2019 / Accepted: 14 April 2020
The Author(s) 2020

Abstract

Cocaine-related deaths occur regularly in forensic routine work. In cases in which the detected concentration of cocaine is rather low and other causes of death apart from intoxication can be ruled out, the question arises if adulterants of cocaine might have played a crucial role. In the present study, cardiac effects of cocaine, of the adulterant levamisole and of mixtures of both were evaluated using the isolated perfused Langendorff heart. While exposed to the substances, functional parameters heart rate, left ventricular pressure and coronary flow were documented. Relevant alterations of these parameters were found for cocaine as well as for levamisole. Exposing the hearts to a mixture of both resulted in a combination of these effects; the emergence of new alterations or an obvious aggravation were not detected. Nevertheless, the results imply that the consumption of cocaine adulterated with levamisole bares an increased risk for cardiac complications, especially in the presence of preexisting cardiac pathologies.

Keywords Cocaine · Levamisole · Langendorff-heart · Cardiac function · Heart rate · Cardiac flow · Left ventricular pressure

Introduction

Cocaine is one of the most frequently consumed drugs, and the number of consumers is still rising. Columbia is the largest producer of coca worldwide. In 2016, the UNODC, the United Nation Office on Drugs and Crime, described an increase of the coca cultivation area of 52% to 146,000 ha with an estimated increase of cocaine production of 34% to 866 t per year [1]. In 2016, Germany faced more than 13.000 crimes related to cocaine which means a plus of 20.7% [2]. In the same year, approximately 1300 cases of death in Germany were related to the consumption of drugs. This number has risen for the fourth time in succession [3]. Five percent of drug fatalities were caused by cocaine or a combination of cocaine and other drugs [4].

A lot of studies that investigated the physiologic effects of cocaine as well as reviews of the respective research findings,

e.g. Karch's Pathology of Drug Abuse [5], have been published. Cocaine acts as a stimulant, making the consumer feel powerful, awake, cheerful and more productive. It is also known to influence cardiovascular function parameters such as heart rate and blood pressure and to cause constrictions of coronary vessels, even coronary artery spasms. Chronic consumption also causes changes in structure and function of heart and blood vessels like arterial stiffness and increase of left ventricular mass [6]. Cardiovascular complications like cardiac hypertrophy, obstructive small vessel disease and premature coronary sclerosis are the main reasons for cocaine-related sudden deaths [7].

Though street cocaine purity has increased over the last 10 years, the share of cocaine has increased from 40 to 70% [8], the use of adulterants is still common practice. Frequently used adulterants are levamisole (anthelmintic), diltiazem (calcium channel blocker), local anaesthetics and hydroxyzine (antihistaminic) [9]. These adulterants are supposed to imitate the effect of cocaine and to prolong and intensify the high, but their main purpose is to increase the profit of drug producers and dealers. In 2003, cocaine adulterated with levamisole was discovered in the USA for the first time by the DEA (Drug Enforcement Administration) [10] and since 2005 there were multiple reports on the presence of levamisole in confiscated cocaine [11]. In 2014, a study revealed that 70% of street

* F. Mayer
felix.mayer@med.uni-duesseldorf.de

¹ Institute for Legal Medicine, University Hospital Düsseldorf, Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf, Germany

² Departement of Anaesthesiology, University Hospital Düsseldorf, Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf, Germany

cocaine was adulterated with levamisole [12]. It has been suggested that levamisole might act synergistically with cocaine in producing a longer and intensified 'high' [13]. With a view to cardiac function, levamisole can cause right heart failure [14]. Furthermore, effects on heart rate have been observed including severe bradycardia, tachycardia and ventricular fibrillation, as well as cardiac dysrhythmias [15]. In veterinary medicine, levamisole is used as an anthelmintic for artiodactyls. It is metabolized to aminorex which has amphetamine-like effects [16]. In the 1970s, levamisole was forbidden in human medicine because of increasing numbers of pulmonary hypertension that have been attributed to a levamisole-containing appetite suppressor [17]. Also, cases of pulmonary vasculitis have been described after consumption of levamisole adulterated cocaine [18]. It is presumed that levamisole is absorbed in the gastrointestinal tract and metabolized to aminorex in the liver; however, this is not completely clear [19, 20]. When establishing a method to detect levamisole and its metabolites in human plasma, Hess et al. found rather low concentrations of aminorex after ingestion of levamisole [21]. It is also unclear to which extend each levamisole and aminorex contribute to the described effects on the cardiovascular system.

In forensic routine work, cases of death related to the consumption of cocaine occur regularly. However, in some of these cases, the measured cocaine concentrations are quite low and cannot explain death without further ado. If no other plausible cause of death can be found, the question arises, if influences of one or more adulterants, especially effects on heart function, might have played a crucial role and contributed to cardiac failure.

With the present study, we wanted to address this question. We worked with an animal model, the isolated perfused Langendorff heart, in order to find out if levamisole might cause cardiac adverse effects that may play a role in sudden death after the consumption of street cocaine. The Langendorff system offers the possibility to observe heart function under the influence of one or more substances. Changes of functional parameters like intra-ventricular pressure, heart rate and coronary flow can be monitored as well as changes of the electrocardiogram. Post mortem harvested hearts of rats were exposed to cocaine and levamisole as pure substances, as well as to defined mixtures of both. With a view to the above mentioned scenario, we worked with rather low amounts of cocaine and levamisole respectively.

The study aimed on answering the following questions:

- Which effects do cocaine and levamisole as single substances have on the function of the isolated perfused Langendorff heart?
- Is there an alteration, maybe even a potentiation of the observed effects when the hearts are exposed to a mixture of both substances?

Material and methods

All experiments were performed in accordance with the German legislation on protection of animals and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revised 1996). The protocol for the Langendorff system was approved by the local Animal Ethics Committee (project no. O 27/11).

The isolated Langendorff heart

The preparation of the rats' hearts was to a great extent performed as described before [22]. White male Wistar rats aged 2 to 3 months and weighing 250 to 400 g were used for this study. The rats were anaesthetised by intraperitoneal injection of 29 ng pentobarbital and 1000 IE heparin. Absence of reflexes was tested to verify deep sedation. Rats were decapitated and the hearts were excised immediately and mounted on the Langendorff system. The hearts were perfused at constant pressure (around 80 mmHg) with a modified Krebs-Henseleit buffer solution. Oxygenation was realized with a carbogen mixture consisting of 95% O₂ and 5% CO₂. All hearts underwent a stabilization period of 20 min. Left ventricular pressure (LVP) was measured with a balloon in the left ventricle. Electric activity (electrocardiogram - ECG) and heart rate were measured by placing one electrode at the apex, one electrode left to the left coronary artery (LCR) near the left atrial appendage and one electrode at the aorta. Coronary flow (CF) was measured by collecting and weighing the buffer solution that passed through the heart in 1 min.

The modified Krebs-Henseleit buffer solution was prepared as follows:

- 118 mM sodium chloride (VWR chemicals prolabo)
- 4.7 mM potassium chloride (Fluka)
- 1.2 mM magnesium sulphate hepta-hydrate (Sigma-Aldrich)
- 1.2 mM potassium dihydrogen phosphate (Merck)
- 25 mM sodium hydrogen carbonate (Roth)
- 0.5 mM Ethylenediaminetetraacetic acid (Roth)
- & 11 mM D-glucose (VWR life science and Roth)
- & 1 mM L-lactic acid sodium salt (Serva)
- 2.25 mM calcium chloride (Merck).

The data were digitalized using an analogue to digital converter (PowerLab/8SP, ADInstruments Pty Ltd., Castle hill, Australia) at a sampling rate of 500 Hz, and they were recorded continuously on a personal computer using Chart for Windows v5.0 (ADInstruments).

After the experiments all hearts were fixed in formalin, tissue sections were prepared and stained with hematoxylin and eosin (H&E).

Study group

The study group contained 42 hearts in total. All substances (cocaine, levamisole, mixture of cocaine and levamisole) were administered by a perfusor with a rate of 60 mL/h over 5 minutes (“exposure-period”). During the application of the substances, LVP and heart rate were measured every minute, CF in the first and in the fifth minute. After the application of the substances, we aimed on monitoring the hearts for another 2 h and capture all parameters after 1, 5, 10, 20, 30, 60, 90, and 120 min (“recovery-period”). However, due to a sharp decline of their function some hearts had to be removed earlier.

Stock solutions of each cocaine and levamisole in acetonitrile (ACN) with concentrations of 100 µg/mL and 1 mg/mL were prepared. Cocaine was dissolved in acetonitrile to prevent its spontaneous hydrolysis to benzoylecgonine (BZE). Different quantities of these stock solutions were added to 5 mL of Krebs-Hensleit buffer in a 50-mL perfusor syringe in order to expose the study hearts to different amounts of the substances.

Multiple measurements were performed especially for cocaine, the numbers of which are shown in brackets. Mixture ratios were chosen according to analytical results of confiscated cocaine.

Twenty-three hearts were exposed to cocaine in the following quantities: 0.5 µg (2), 0.7 µg (2), 0.9 µg (2), 1 µg (2), 1.5 µg (3), 2 µg (2), 2.5 µg (2), 3 µg (2), 3.5 µg (3), 5 µg (1) and 50 µg (2).

Ten hearts were exposed to levamisole in quantities of 0.3 µg (1), 0.4 µg (1), 0.5 µg (2), 0.7 µg (1), 0.9 µg (2), 1 µg (1), 1.5 µg (1) and 5 µg (1).

Defined mixtures of cocaine and levamisole were prepared and added to ACN in a concentration of 100 µg/mL. Different quantities of this stock solution were then added to 5 mL of Krebs-Hensleit buffer in a 50-mL perfusor syringe so that the hearts in the Langendorff system were exposed to either 0.7 µg or 2 µg cocaine and the respective amount of levamisole deriving from ratios of 60:40, 70:30, 80:20, 90:10 (cocaine: levamisole). One heart was exposed to 5 µg of cocaine in a mixture with levamisole at the ratio of 80:20.

Control group

The control group comprised 4 hearts. One heart was mounted on the Langendorff-system and exposed to five millilitres of buffer solution over 5 min by a perfusor with a rate of 60 mL/h in addition to the basic amount of buffer solution needed for the experiment. Three hearts were exposed to 0.1 mL of ACN administered by a perfusor with a rate of 60 mL/h over 5 min in 5 ml of buffer.

LVP, heart rate and CF were captured after 1, 5, 10, 20, 30, 60, 90 and 120 min. One heart treated with an additional

amount of ACN had to be removed after 90 min due to a rapid decline of its function.

Results

For some amounts of levamisole and especially cocaine multiple measurements were performed (see above). Figures show mean values of the results for each cocaine/levamisole quantity for a clearer depiction, since obvious deviations of the measured values were found only in single cases which are described separately. Figures are presented as stacked line charts in order to make them clearer. This has to be kept in mind when comparing the graphs with the values presented in the text.

Heart rate

Hearts in the Langendorff system showed varying heart rates after the stabilization period between 250 and 450 bpm. Changes of heart rate during the exposure to the evaluated substances and the following recovery-period are expressed as the deviation from these individual “base lines” and are presented in Figs. 1 and 2.

The heart rate of control hearts (Fig. 1a) showed a decrease of 21 to 47 bpm during the exposure to buffer or ACN and restabilized until minute 5 around the individual baseline value. During the recovery period, the heart rate slightly decreased by 39 to 71 bpm until the end of the experiment.

During the exposure to cocaine (Fig. 2a) study hearts mainly presented a deceleration of the heart rate by 6 to 63 bpm followed by a stabilization around the baseline values. Merely for the hearts exposed to 1 µg cocaine an acceleration of the heart rate by 24 bpm during the exposure-period could be observed. The results for the ongoing measurement are slightly inhomogeneous but overall, a further deceleration of the heart rate by of 13 to 88 bpm was observed.

While exposed to levamisole (Fig. 2b) most hearts presented a deceleration of the heart rate by 7 to 27 bpm. Single hearts showed only little changes (1 µg levamisole) or an acceleration of the heart rate by 10 bpm (1.5 µg levamisole). In the recovery period, the observed alterations were very inhomogeneous. Accelerations as well as decelerations were observed at different points of time, a uniform tendency could not be determined.

Administration of a cocaine and levamisole mixture (Fig. 2c) caused a deceleration of heart rate by 3 to 27 bpm. Afterwards the heart rate accelerated by 4 to 25 bpm before once again showing a decline by 9 to 41 bpm at the end of the recovery period. Only the heart exposed to a mixture at a ratio of 90:10 (cocaine:levamisole) with 2 µg cocaine presented an acceleration of the heart rate during the exposure-period by

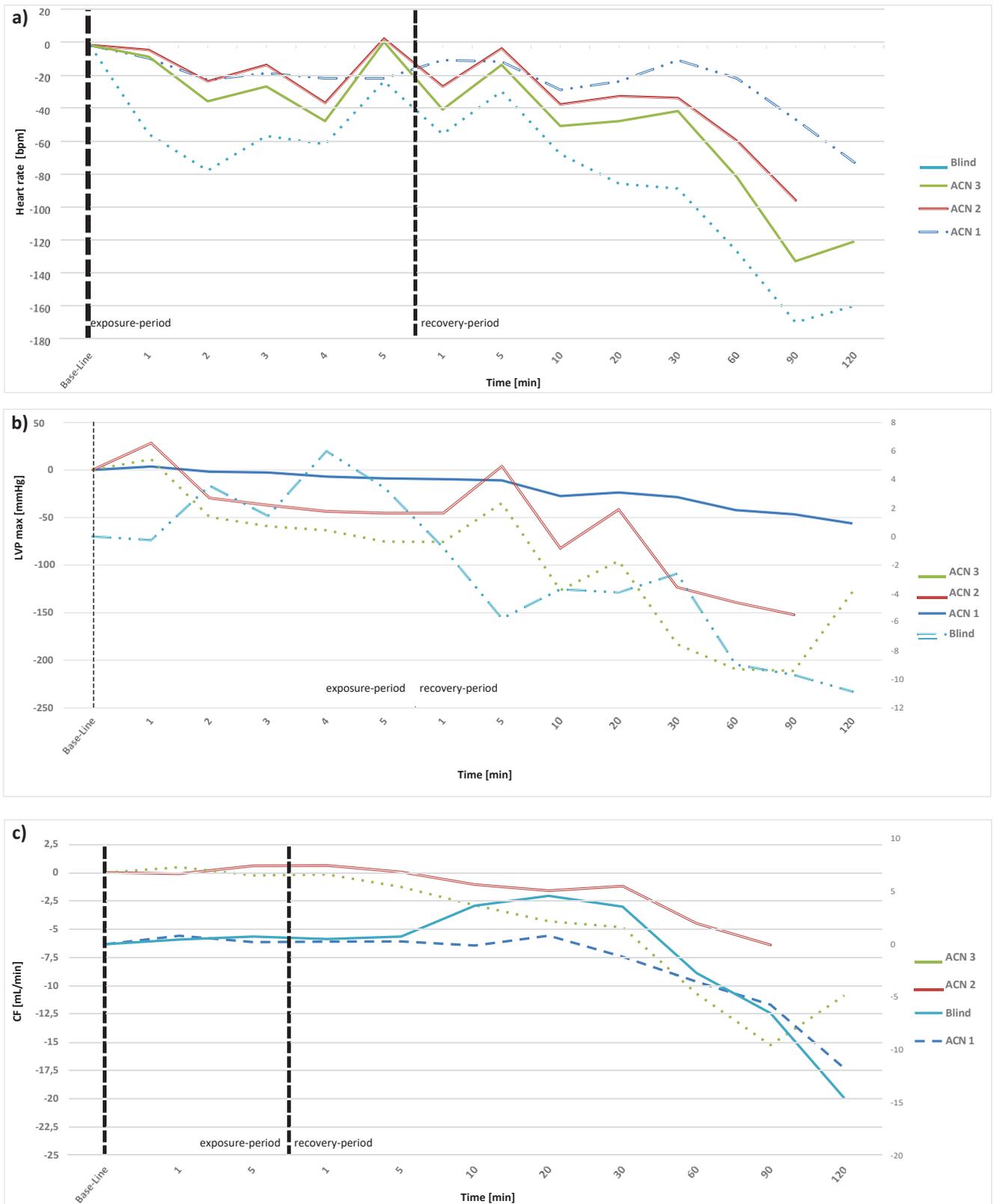


Fig. 1 Results of control hearts, presented as stacked line charts: a heart rate, b cardiac flow, c left ventricular pressure. Hearts were either exposed to an additional amount of buffer solution (Blind) or acetonitrile (ACN).

Value "0" is equivalent to the individual base line of each heart after the stabilization period. The first 5 min represent the exposure period, the following minutes 1 to 120 represent the recovery period

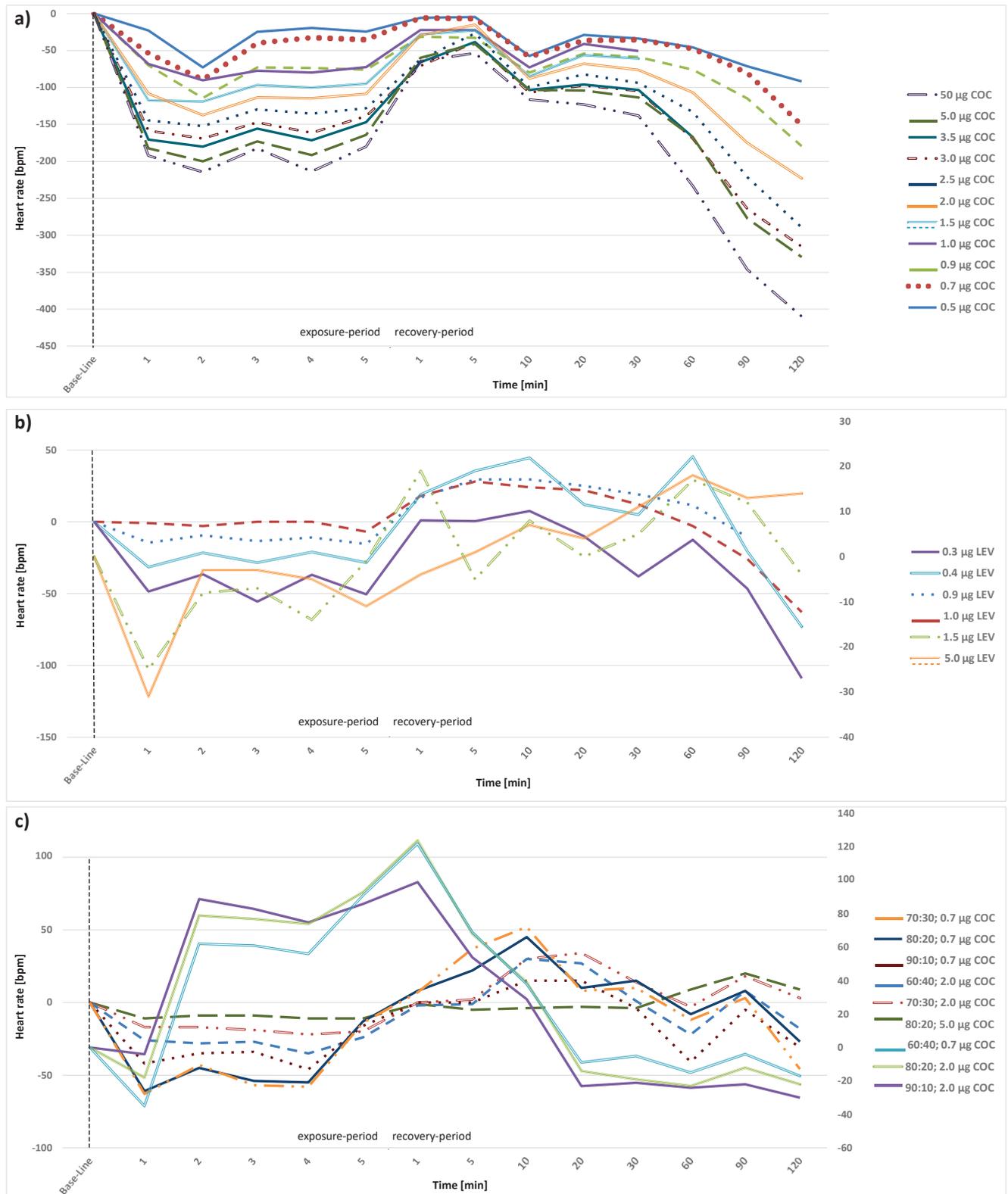


Fig. 2 Alterations of heart rate in study hearts, presented as stacked line charts: a cocaine hearts (COC), b levamisole hearts (LEV), c mixture hearts cocaine: levamisole with either 0.7 µg or 2.0 µg cocaine (COC). Value “0” is equivalent to the individual base line of each heart after the

stabilization period. The first 5 min represent the exposure period, the following minutes 1 to 120 represent the recovery period. Mean values of several individual measurements are shown for a clearer depiction

99 bpm, followed by a sharp decline by 122 bpm in the recovery period until the 20th minute.

LVP_{max}

Hearts in the Langendorff system showed varying maximum left ventricular pressure (LVP_{max}), ranging from 33 to 203 mmHg after the stabilization period. Changes of LVP_{max} during the exposure to the evaluated substances and the following recovery period are expressed as the deviation from these individual “base lines” and are presented in Figs. 1 and 3.

LVP_{max} of the hearts of the control group was rather stable, increasing only slightly from 68 to 74 mmHg during the addition of buffer. Afterwards, LVP_{max} decreased continuously by 10 mmHg. During the administration of ACN, the LVP_{max} increased slightly by 3 to 24 mmHg in the first minute and then decreased during and after the addition until the end of the experiment by 56 to 106 mmHg (Fig. 1b).

In the study group, LVP_{max} of cocaine hearts (Fig. 3a) increased during the exposure period by 4 to 74 mmHg. Most of the hearts also showed a second peak between minute 1 and 20 of the recovery period with an increase of 14 to 56 mmHg. Only the hearts that were exposed to 0.5 µg and 5 µg of cocaine did not show this second peak. Furthermore, the hearts exposed to 5 µg cocaine presented a continuous decrease of LVP_{max} during the recovery-period.

During the exposure to levamisole (Fig. 3b) both an increase of LVP_{max} and a decrease could be observed. The extend of the increase ranged from 4 to 70 mmHg while the decrease ranged from 51 to 57 mmHg. During the recovery period, several hearts showed further “peaks”, meaning an increase of LVP_{max} at different points of time ranging from 6 to 65 mmHg while other hearts presented only little changes or a slight but steady decrease.

LVP_{max} of hearts exposed to a mixture of cocaine and levamisole (Fig. 3c) increased initially during the exposure-period by 2 to 92 mmHg, except two hearts with an immediate decrease of LVP_{max} by 14 mmHg (70:30 mixture with 2 µg cocaine) and 103 mmHg (80:20 mixture with 0.7 µg cocaine). During the recovery period, the overall picture was again very inhomogeneous with temporary increases and decreases of LVP_{max}. Overall, LVP_{max} decreased until the end of the period of measurement.

CF

Hearts in the Langendorff system showed varying CF ranging from 11.56 to 30.45 mL/min after the stabilization period. Changes of CF during the exposure to the evaluated substances and the following recovery period are expressed as the deviation from these individual “base lines” and are presented in Figs. 1 and 4.

CF of the control-hearts was rather stable during the exposure to buffer and ACN, accounting for the time of the administration and the following 30 min. Afterwards, a distinct decrease was seen between 7.7 and 10.5 mL/min (Fig. 1c).

CF of hearts exposed to 1 µg, 1.5 µg, 2 µg and 2.5 µg cocaine showed a decrease during the exposure-period by 0.5 to 4 mL/min and recovered until minute 5 (Fig. 4a). Hearts exposed to 0.9-µg, 3-µg, 3.5-µg, 5-µg and 50-µg cocaine on the other hand presented an increase of CF during the exposure-period by 0.4 to 1.5 mL/min. Afterwards, CF was stable for another 30 min before it started to decrease again by 3 to 7 mL/min until the end of the experiment. The hearts exposed to 0.5 µg cocaine showed a steady decrease of CF of 3.35 mL/min from the beginning until the end of the experiment. The two hearts that were exposed to 0.7 µg cocaine were the only cases in which measurements of one parameter under the influence of the same quantity of one substance differed: one heart presented a decrease of CF during the exposure-period by 5.3 mL/min, while CF of the other heart increased by 0.46 mL/min, followed by unsteady values until minute 10 and a subsequent decrease.

Levamisole treated hearts (Fig. 4b) showed a slight increase of CF by 0.1 to 4.2 mL/min during the exposure-period with the exception of two hearts that presented a decrease of 0.6 (1.5 µg levamisole) and 0.82 mL/min (0.5 µg levamisole). Afterwards CF dropped slowly until the 30th minute and then sharply by 1.14 mL/min to 2.94 mL/min in total. Only for the heart exposed to 0.9-µg levamisole, a final increase was noticed.

In the hearts exposed to a mixture of cocaine and levamisole (Fig. 4c), CF was rather stable (- 0.4 to + 2.5 mL/min) during the exposure-period. Afterwards CF decreased slowly until the end of the experiment by 2.17 mL/min to 7.73 mL/min in total. Only the hearts exposed to the 80:20 mixture with 5 µg cocaine presented a continuous decrease of CF from the beginning to the end of the experiment by 9.67 mL/min.

H&E staining

Tissue sections of all hearts showed very discreet signs of ischemia, namely hyper eosinophilia of single cells located subendocardial in the left ventricle. No differences were seen between study hearts and hearts of the control group. Examples are shown in Fig. 5.

Discussion

In the present study, we wanted to evaluate if the adulterant levamisole alters, maybe even enhances the cardiac effects of cocaine. We worked with an animal model, the isolated perfused Langendorff heart, and exposed post mortem harvested hearts of rats to different quantities of cocaine, levamisole and



Fig. 3 Alterations of left ventricular pressure (LVPmax) in study hearts, presented as stacked line charts: a cocaine hearts (COC), b levamisole hearts (LEV), c mixture hearts cocaine: levamisole with either 0.7 µg or 2.0 µg cocaine (COC). Value “0” is equivalent to the individual base line

of each heart after the stabilization period. The first 5 min represent the exposure period, the following minutes 1 to 120 represent the recovery period. Mean values of several individual measurements are shown for a clearer depiction

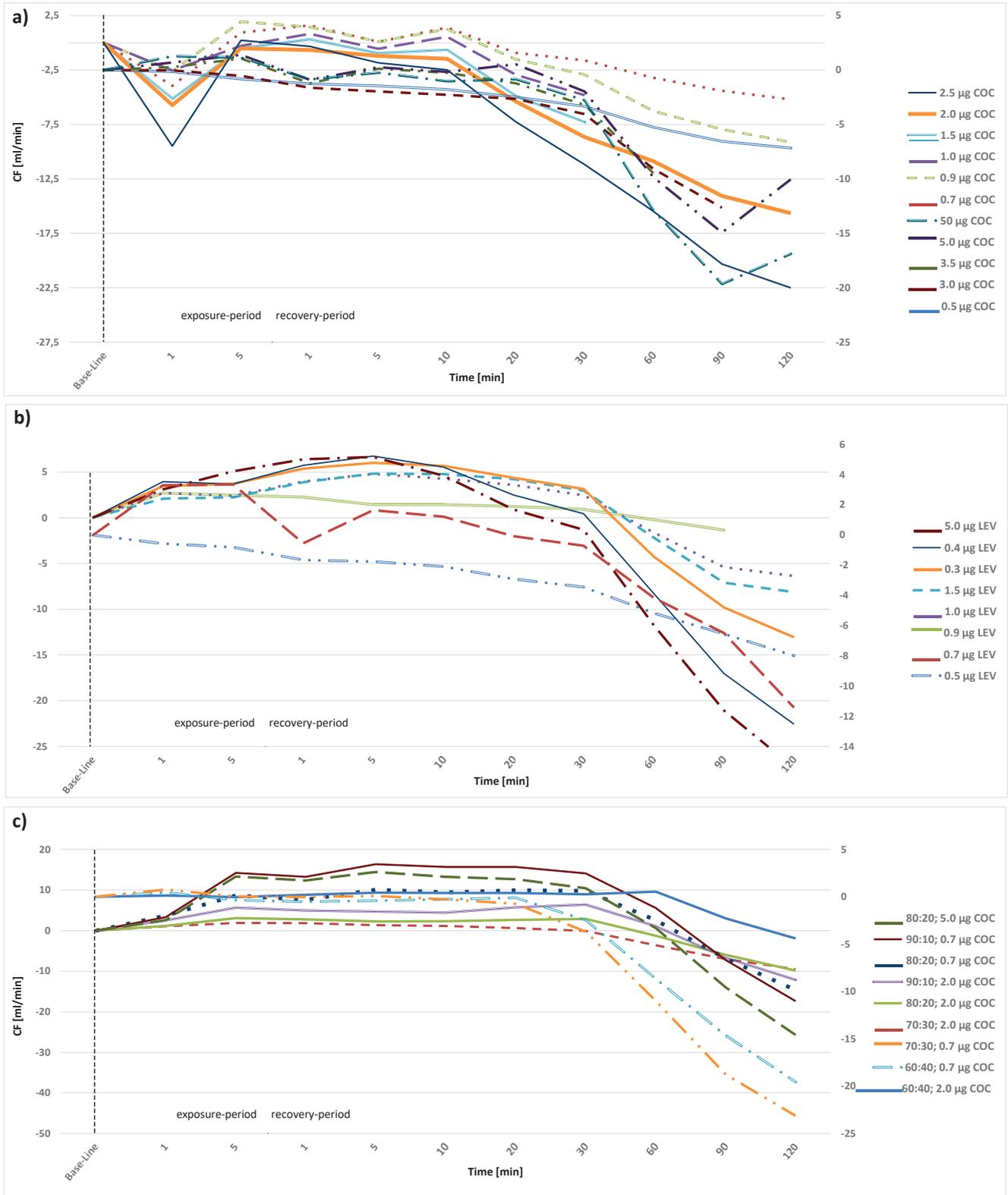


Fig. 4 Alterations of coronary flow (CF) in study hearts, presented as stacked line charts: a cocaine hearts (COC), b levamisole hearts (LEV), c mixture hearts cocaine: levamisole with either 0.7 µg or 2.0 µg cocaine (COC). Value “0” is equivalent to the individual base line of each heart

after the stabilization period. The first 5 min represent the exposure period, the following minutes 1 to 120 represent the recovery period. Mean values of several individual measurements are shown for a clearer depiction

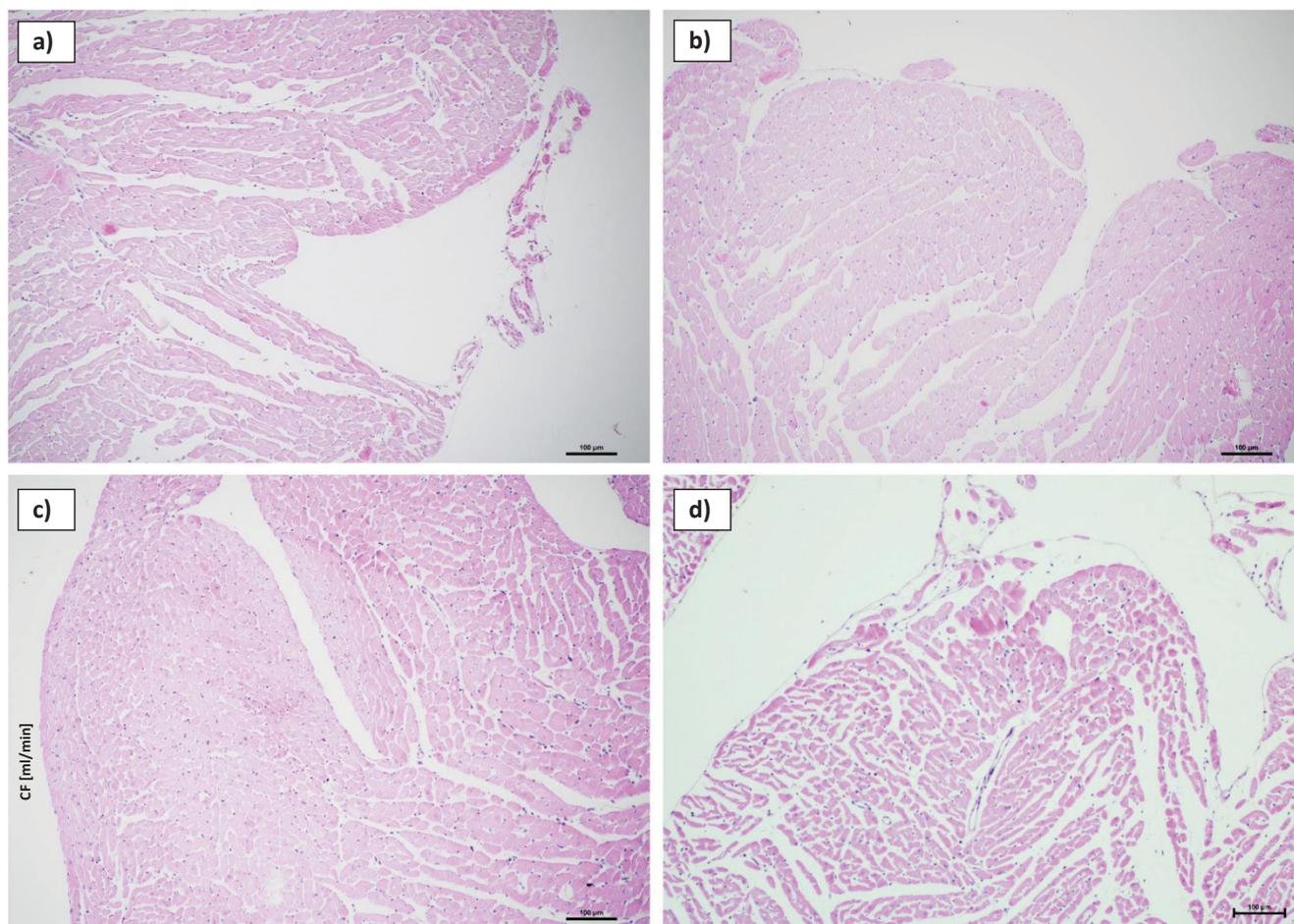


Fig. 5 H&E staining results (examples, 100-fold magnification): Sections of the left chamber of three study hearts and one control heart with discrete hypereosinophilic staining of single cells a) study heart exposed to 5 µg cocaine, b) study heart exposed to 0.9 µg levamisole

c) study heart exposed to a mixture of cocaine and levamisole at a ratio of 60:40 with 0.7 µg cocaine, d) control heart exposed to an additional amount of 0.1 mL acetonitrile over 5 min

a mixture of these two substances while monitoring the functional parameters heart rate, cardiac flow and left ventricular pressure. This observing approach was chosen with a view to unclear cases of death in forensic routine work that are related to a consumption of only low amounts of cocaine.

The results of the hearts of the control group show that administration of ACN or an extra amount of buffer solution alone over 5 min (exposure-period) has some effects on the functional parameters monitored throughout the experiments. However, the range of these alterations was smaller than the ones observed when hearts were exposed to cocaine and/or levamisole. Therefore, the results of the study hearts can be attributed to effects of the two substances on the heart function and are not merely derived from the experimental setup.

The results of the hearts that were exposed to cocaine comply with cardiac effects of cocaine that have been published before [23–25]. For example, our experiments came up with a decrease of heart rate and coronary flow as it was also described by Simkhovich et al. [23] and Vitullo et al. [24]. A decrease of

coronary flow and an initial increase of LVP_{max} with a subsequent decrease until the end of the experiment also goes along with the findings of Simkhovich et al. [23]. As the underlying mechanisms, a block of potassium and sodium channels, resulting in systolic and diastolic dysfunction, arrhythmias and a decrease of myocardial contractility and ejection fraction has been described [25]. Cocaine stimulates the release of endothelin-1 which causes vasoconstriction in endothelial cells and inhibits the production of vasodilating nitric oxide [25], resulting in coronary artery spasms that can explain the CF-decrease in our experiments [24]. Furthermore, the decrease of heart rate in cocaine hearts during the exposure period, with the exception of hearts exposed to 1 µg and 2 µg cocaine (see Fig. 2), might be connected to the fact that cocaine blocks fast sodium channels and stabilizes the axonal membrane [26]. With a view to heart rate, severe bradycardia is not uncommon in cocaine users according to Mahoney et al. [27].

Levamisole inhibits monoamine oxidase and has agonistic effects on nicotinic receptors [28] in nematodes and mammalian muscles [29]. In our experiment, levamisole triggered an

increase of LVP_{max} during the exposure period in some cases which might be caused by a block of open acetylcholine receptors resulting in a calcium influx [12]. This mechanism might also be responsible for an increase of blood pressure and cases of pulmonary hypertension [14, 18, 30] that had been observed under the treatment of patients with levamisole. In our experiments, there was a slight increase of coronary flow and a deceleration of heart rate while hearts were exposed to levamisole. In the recovery period, the heart rate accelerated, seemingly dose dependent, for at least 5 minutes (0.5 μg levamisole) up to 120 min (5 μg levamisole). The interpretation of this effect is challenging as it suggests that levamisole remains in the myocardium even after it has been administered or triggers a reaction in the cells/in the tissue leading to a long lasting effect [19, 31]. However, research findings are not clear when it comes to the question if cardiovascular effects of levamisole in humans are caused by the substance itself or by the metabolite aminorex. Therefore, it has to be acknowledged that our experiments clearly show alterations of the cardiac function parameters during and after the administration of levamisole, but the underlying mechanism, however, cannot be explained comprehensively.

Regarding the experiments with mixtures of cocaine and levamisole, we observed a deceleration of heart rate during exposure to the substances similar to the one provoked by cocaine alone, followed by an acceleration for up to 90 min that resembled the effect of levamisole as a pure substance. CF of mixture hearts showed only little changes, as if the substances nullified each others' effect in this respect. LVP_{max} increased but only in the same range as it did under the influence of the individual substances. This means that our experiments did not reveal an exponentiation but rather a combination of the cardiac effects of cocaine and levamisole. No obvious aggravation of certain effects and no emergence of new effects were observed.

When evaluating the results of our experiments, it has to be taken into account that we worked with healthy (rats') hearts that were not habituated to the exposure of cocaine and levamisole. The function of these hearts was influenced by even low amounts of cocaine and levamisole in several ways. Long-term cocaine consumers might on the one hand be accustomed to the effects of these substances. On the other hand, they typically present chronic heart diseases like coronary artery sclerosis or cardiomyopathy; even more, when cocaine consumption goes along with the abuse of other drugs like marijuana, heroin, alcohol and/or tobacco [6, 32–34], which is quite common. Under such conditions, the risk for fatal cardiac complications triggered by cocaine intake is even higher. Additionally, there is an individual disposition concerning the

sensitivity for drug (side) effects. This can be explained by genetic polymorphisms [35]. Numerous studies were able to show that the effects of drugs depend on several genes [36–39]. Referring to cocaine, genes which encode for dopamine transporters [37] or dopamine receptors [36] seem to play the most important role. They may modulate drug sensitivity [36] and reward consuming drugs when dopamine receptors work deficient or an inefficient dopamine system is present [39]. Thus, some persons are especially sensitive and show drug-related (cardiac) effects even when consuming relatively low doses of cocaine. With a view to forensic case work this means that death as a consequence of cocaine consumption does not necessarily require the presence of high concentrations of cocaine in the body. If not only cocaine but also the adulterant levamisole is detected, even low concentrations of these substances might have the potential to cause lethal cardiac effects. The chance is even higher, if at the same time morphologically visible heart diseases exist.

In summary, the results of our experiments demonstrate that not only high but also low doses of cocaine have measurable effects on cardiac function. The same accounts for levamisole. A mixture of both substances does not result in an exponentiation but nevertheless in an addition of the effects of the pure substances. This implies that even consumption of relatively small amounts of cocaine adulterated with levamisole might lead to lethal cardiac complications; even more in cases with a genetic disposition for such side effects and/or preexisting cardiovascular pathologies.

Limitations of our study are the rather small number of examined hearts, due to ethical considerations, and the uncertainty regarding the metabolism and the effects of levamisole/aminorex.

Acknowledgments Open Access funding provided by Projekt DEAL.

Compliance with ethical standards

All experiments were performed in accordance with the German legislation on protection of animals and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revised 1996). The protocol for the Langendorff system was approved by the local Animal Ethics Committee (project no. O 27/11). The study did not include human participants or experiments with human tissues.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source,

provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- UNODC (2017) Colombia Monitoreo de territorios afectados por cultivos ilícitos 2016. https://www.unodc.org/documents/colombia/2017/julio/CENSO_2017_WEB_baja.pdf. Accessed 08 Jan 2020
- Bundeskriminalamt (2017) Rauschgiftkriminalität Bundeslagebild 2016. <https://www.bka.de/SharedDocs/Downloads/DE/Publikationen/JahresberichteUndLagebilder/Rauschgiftkriminalitaet/2016RauschgiftBundeslagebildZ.html?nn=27972>. Accessed 08 Jan 2020
- Bundeskriminalamt (2017) Presseinformation Rauschgifttote. https://www.drogenbeauftragte.de/fileadmin/dateien-dba/Drogenbeauftragte/4_Presse/1_Pressemitteilungen/2017/2017_II_Quartal/PK_RG_Presseinformation_08052017_BKA-DdB.pdf. Accessed 08 Jan 2020
- Bundeskriminalamt (2017) Bundeslagebericht Rauschgift 2106 - Tabellenanhang. <https://www.bka.de/SharedDocs/Downloads/DE/Publikationen/JahresberichteUndLagebilder/Rauschgiftkriminalitaet/2016RauschgiftBundeslagebildTabellen.html?nn=27972>. Accessed 08 Jan 2020
- Karch SB, Drummer OH (2015) Cocaine. In: Karch's pathology of drug abuse, 5th edn. CRC Press, Boca Raton, pp 1–123
- Kozor R, Grieve SM, Buchhoz S, Kaye S, Darke S, Bhindi R, Figtree GA (2014) Regular cocaine use is associated with increased systolic blood pressure, aortic stiffness and left ventricular mass in young otherwise healthy individuals. *PLoS One* 9:1–8
- Lucena J, Blanco M, Jurado C, Rico A, Salquero M, Vazquez R, Thiene G, Basso C (2010) Cocaine-related sudden death: a prospective investigation in South-West Spain. *Eur Heart J* 31:318–329
- Osswald D, Rüegg M (2016) Im Kokain ist das Wurmmitel drin. <https://blog.tagesanzeiger.ch/datenblog/index.php/12248/kokain>, Accessed 08 Jan 2020
- Knuth M, Temme O, Daldrup T, Pawlik E (2018) Analysis of cocaine adulterants in human brain in cases of drug-related death. *Forensic Sci Int* 285:86–92
- Larocque A, Hoffman RS (2012) Levamisole in cocaine: unexpected news from an old acquaintance. *Clin Toxicol* 50:231–241
- Lynch KL, Dominy SS, Graf J, Kral AH (2011) Detection of levamisole exposure in cocaine users by liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Anal Toxicol* 35:2009–2011
- Hofmaier T, Luf A, Seddik A, Stockner T, Holy M, Freissmuth M, Ecker GF, Schmid R, Sitte HH, Kudlacek O (2014) Aminorex, a metabolite of the cocaine adulterant levamisole, exerts amphetamine like actions at monoamine transporters. *Neurochem Int* 73:32–41
- Raymon LP, Isenschmidt DS (2009) The possible role of levamisole in illicit cocaine preparations. *J Anal Toxicol* 33:620–622
- Seferian A, Chaumais MC, Savale L, Günther S, Tubert-Bittner P, Humbert M, Montani D (2013) Drugs induced pulmonary arterial hypertension. *Presse Med* 42:e303–e310
- Onuaguluchi G, Igbo IN (1990) Electrocardiographic changes induced by levamisole hydrochloride in the rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 305:55–62
- Auffenberg C, Rosenthal LJ, Dresner N (2013) Levamisole: a common cocaine adulterant with life-threatening side effects. *Psychosomatics* 54:590–593
- Fishman AP (1999) Aminorex to Fen/Phen an epidemic foretold. *Circulation* 99:156–161
- Karch SB, Busardò FP, Vaiano F, Portelli F, Zaami S, Bertol E. (2016) Levamisole adulterated cocaine and pulmonary vasculitis: presentation of two lethal cases and brief literature review. *Forensic Sci Int* 96–102
- Reid JM, Kovach S, O'Connell MJ, Bagniewski PG (1998) Clinical and pharmacokinetic studies of high-dose levamisole in combination with 5-fluorouracil in patients with advanced cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 41:477–484
- Kouassi E, Caillé G, Léry L, Larivière L, Vézina M (1986) Novel assay and pharmacokinetics of levamisole and p-hydroxylevamisole in human plasma and urine. *Biopharm Drug Dispos* 7:71–89
- Hess C, Ritke N, Sydow K, Mehling LM, Ruehs H, Madea B, Musshoff F (2014) Determination of levamisole, aminorex, and pemoline in plasma by means of liquid chromatography-mass spectrometry and application to a pharmacokinetic study of levamisole. *Drug Test Anal* 6: 1049–1054
- Falk M, Huhn R, Behnenburg F, Ritz-Timme S, Mayer F (2017) Biomechanical stress in myocardial infarctions: can endothelin-1 and growth differentiation factor 15 serve as immunohistochemical markers? *Int J Legal Med* 132:509–518
- Simkhovich BZ, Kloner RA, Alker KJ, Giaconi J (1994) Time course of direct cardiotoxic effects of high cocaine concentration in isolated rabbit heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 23:509–516
- Vitullo JC, Karam R, Mekhail N, Wicker P, Engelmann GL, Khairallah PA (1989) Cocaine-induced small vessel spasm in isolated rat hearts. *Am J Pathol* 135:85–91
- Schwartz BG, Rezkalla S, Kloner RA (2010) Cardiovascular effects of cocaine. *Circulation* 122:2558–2569
- Hollander JE (2008) Cocaine intoxication and hypertension. *Ann Emerg Med* 51:S18–S20
- Mahoney JJ III, Haile CN, De La Gazra IIR, Thakkar H, Newton TF (2017) Electrocardiographic characteristics in individuals with cocaine use disorder. *Am J Addict* 26:221–227
- Pawlik E, Mahler H, Hartung B, Plässer G, Daldrup T (2015) Drug-related death: adulterants from cocaine preparations in lung tissue and blood. *For Sci Int* 249:294–303
- Rayes D, De Rosa MJ, Bartos M, Bouzat C (2004) Molecular basis of the differential sensitivity of nematode and mammalian muscle to the anthelmintic agent levamisole. *J Biol Chem* 279:36372–36381
- Chin KM, Channick RN, Rubin LJ (2006) Is methamphetamine use associated with idiopathic pulmonary arterial hypertension? *Chest* 130:1657–1663
- von Bruchhausen F, Dannhardt G, Ebel S, Frahm AW, Hackenthal E, Holzgrabe U (1993) Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Band 8, Stoffe E-O. Springer, Berlin
- Harrell PT, Trenz RC, Scherer M, Pacek LR, Latimer WW (2012) Cigarette smoking, illicit drug use, and routes of administration among heroin and cocaine users. *Addict Behav* 37:678–681
- Epstein DH, Marrone GF, Heishman SJ, Schmittner J, Preston KL (2010) Tobacco, cocaine, and heroin: craving and use during daily life. *Addict Behav* 35:318–324

34. Krönig B, Raupach T, Schaller K, Pötschke-Langer (2008) Durch Rauchen und Passivrauchen verursachte Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems. Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg
35. Vanyukov MM, Tarter RE (2000) Genetic studies of substance abuse. *Drug Alcohol Depend* 59:101–123
36. Crabbe JC, Phillips TJ (1998) Genetics of alcohol and other abused drugs. *Drug Alcohol Depend* 51:61–71
37. Thomsen M, Hall FS, Uhl GR, Caine SB (2009) Dramatically decreased cocaine self-administration in dopamine but not serotonin transporter knock-out mice. *J Neurosci* 29:1087–1092
38. Schmidt LS, Thomsen M, Weikop P, Dencker D, Wesse J, Woldbye DPD, Wortwein G, Fink-Jensen A (2011) Increased cocaine self-administration in M₄ muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Psychopharmacology* 216:367–378
39. Sillaber I, Henniger MSH (2002) Genetik und Drogensucht. *BIOspektrum* 8:252–255

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations

3 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte geprüft werden, ob der Verschnittstoff Levamisol die Wirkung von Cocain auf das Herz verändert oder eventuell sogar potenziert. Direkt nach dem Tod entnommene Rattenherzen wurden in einem Tiermodell, dem isoliert perfundierten Langendorff-Herz, untersucht. Während der Versuche wurden die folgenden Vitalparameter standardisiert dokumentiert: Herzfrequenz, Koronarfluss und linksventrikulärer Druck. Den Herzen wurden unterschiedliche Mengen von Cocain, Levamisol und einer Mischung aus beiden Substanzen über einen Perfusor über fünf Minuten zugeführt. Anlass für die Studie waren die rechtsmedizinischen Untersuchungen unklarer Todesfälle im Zusammenhang mit dem Konsum von Straßen-Cocain, bei denen lediglich geringe Mengen an Straßen-Cocain nachgewiesen werden konnten, die nicht ohne weiteres als tödlich zu werten sind.

3.1 Kontroll-Herzen

Die Ergebnisse der Kontroll-Herzen zeigen, dass die Verabreichung von ACN oder von zusätzlicher Pufferlösung über fünf Minuten (Verabreichungsperiode) Auswirkungen auf die Vitalparameter während des Experimentes hat. Diese Abweichungen waren aber deutlich geringer als jene, die unter dem Einfluss von Cocain und/oder Levamisol beobachtet wurden. Aus diesem Grund können die Ergebnisse der Studienherzen den zu untersuchenden Substanzen zugeschrieben werden und lassen sich nicht ausschließlich auf den Aufbau des Experimentes zurückführen (59).

3.2 Cocain-Herzen

Wie schon in vorherigen Studien veröffentlicht wurde, können an Herzen, welche der Wirkung von Cocain ausgesetzt werden, Veränderungen der Funktionsparameter nachgewiesen werden (24,27,60). Die Veränderungen der vorliegenden Studie werden nachfolgend einzeln betrachtet.

3.2.1 Veränderung der Herzfrequenz

In dieser Studie wurden während der Verabreichungsperiode ein primäres Absinken der Herzfrequenz sowie eine nachfolgende Erholung auf die Ausgangswerte beobachtet. Während der Beobachtungsperiode wurde ein stetiges Absinken beobachtet (59).

Simkhovich et al. (24), Vitullo et al. (27) beschrieben in Tierexperimenten (Hasen(24), Ratten(27)), Hollander et al. (25) beim Menschen ein Absinkender Herzfrequenz unter dem Einfluss von Cocain. Dies zeigte sich auch bei den hier durchgeführten Experimenten. Der Abfall der Herzfrequenz bei den Cocain- Herzen während der Verabreichungsperiode könnte mit der Tatsache zusammenhängen, dass Cocain schnelle Natriumkanäle blockiert und die axonale Membran stabilisiert (25). Bei Simkhovich et al. wurden den Hasenherzen zwischen 10 μM (circa 3033 μg) und 50 μM (circa 15168 μg) Cocain zugeführt (24), Vitullo et al. verabreichten den Rattenherzen zwischen 100 μg und 500 μg Cocain. Trotz einer vielfach geringeren Dosis von Cocain in diesem Experiment konnte das Absinken der Herzfrequenz ebenfalls nachgewiesen werden. Mit Ausnahme der Herzen, denen 1 μg und 2 μg Cocain zugeführt wurden, zu sehen in Abbildung 2 bei Gartz et al. (59), kam es nach anfänglichem Anstieg zu einem Abfall während der Verabreichungsperiode. Der Stand der Wissenschaft liefert für den initialen Herzfrequenz-Anstieg dieser beiden Herzen keine sichere Erklärung. Mahoney et al. und Sharma et al. konnten bei regelmäßig Konsumierenden Bradykardien bis hin zu schweren Bradykardien nachweisen (61,62). Mit einem Blick auf den Abfall der Herzfrequenz schon bei sehr geringer Dosierung und erstmaligem Konsum lässt sich bei der Übertragung auf den Menschen annehmen, dass Bradykardien bis hin zu schweren Bradykardien nicht nur bei langfristigem Konsum, sondern auch bei einmaligem Konsum auftreten können.

3.2.2 Veränderung des Koronarflusses

Während der Verabreichungsperiode ließ sich bei fast allen Cocain-Zugaben ein anfängliches Absinken des CF beobachten, welcher sich bis zum Ende der Verabreichungsperiode wieder um den Ausgangswert einpendelte. Während der Beobachtungsperiode wurde ein konstanter CF-Wert für etwa 30 Minuten gemessen, welcher danach bis zum Ende des Versuchs abfiel (59).

Simkhovich et al. (24) und Vitullo et al. (27) beschrieben ebenfalls ein Absinken des Koronarflusses. Der in fast jedem Experiment dieser Studie aufgetretene CF-Abfall nach Zuführung von Cocain könnte durch eine Koronararterienkonstriktion oder einen Koronararterienspasmus erklärt werden (27). Schwartz et al. haben nach Cocain-Zugabe eine Freisetzung von Endothelin-1 beschrieben (60). Endothelin-1 ist ein potenter Vasokonstriktor, welcher aus Endothelzellen freigesetzt wird. Zusätzlich wird durch Cocain die Produktion von vasodilatierendem Stickstoffmonoxid inhibiert und somit eine Vasokonstriktion gefördert (60). Dabei hat eine Konstriktion der Koronararterien nicht nur zur Folge, dass das Myokard schlechter mit sauerstoffreichem Blut versorgt wird (20). Sie kann außerdem zu Herzrhythmusstörungen führen, da durch die Arteria coronaria dextra die wichtigsten Erregungsbildungsstellen wie Sinusknoten, AV-Knoten und His-Bündel versorgt werden (63).

3.2.3 Veränderung des linksventrikulären Druckes

Während der Verabreichungsperiode wurde bei allen Herzen eine LVP-Spitze beobachtet. Bei den meisten getesteten Mengen kam eine zweite Spitze während der Beobachtungsperiode dazu (59).

Ein initialer Anstieg des LVP_{max} mit einem anschließenden Abfallen bis zum Ende jedes einzelnen Experimentes stimmt ebenfalls mit den Erkenntnissen von Simkhovich et al. (24) überein. Eine Blockierung der Kalium- und Natriumkanäle wurde von Schwartz et al. als zugrunde liegender Mechanismus für die Veränderungen beschrieben (60). Dadurch können

systolische und diastolische Funktionsstörungen wie erhöhter Blutdruck, Arrhythmien und Verringerungen der myokardialen Kontraktilität sowie Verringerung der Ejektionsfraktion auftreten (60).

3.3 Levamisol-Herzen

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen deutlich, dass es im Langendorff-Modell unter dem Einfluss von Levamisol zu einer Veränderung der beobachteten kardialen Funktionsparameter kommt. Welcher Mechanismus diesen Veränderungen aber genau zugrunde liegt, kann aufgrund der spärlichen und noch lückenhaften Forschungserkenntnisse zur Wirkung und Pharmakokinetik von Levamisol nicht eindeutig festgestellt werden.

3.3.1 Veränderung der Herzfrequenz

Bei Zugabe von Levamisol war während der Verabreichungsperiode keine eindeutige Tendenz zu beobachten. In der Beobachtungsperiode beschleunigte sich die Herzfrequenz, scheinbar dosisabhängig, für mindestens fünf Minuten (bei 0,5 µg Levamisol) bis hin zu 120 Minuten (bei 5 µg Levamisol) (59).

Die Ergebnisse legen auf den ersten Blick nahe, dass Levamisol auch nach Verabreichung im Myokard verbleibt und dadurch eine Reaktion in den Zellen/im Gewebe ausgelöst wird, die wiederum dosisabhängig zu einer länger anhaltenden Wirkung führt (48,57). Auch hier ist durch die Herzfrequenz-Erhöhung wieder eine schlechtere Versorgung des Herzens über die Koronargefäße zu erwarten. Koronargefäße werden hauptsächlich in der Diastole durchblutet, und die Diastole wird bei Herzfrequenz-Erhöhung verkürzt (44). Al-Salmani et al. beschreiben in ihrer Studie eine arrhythmische, teils mit Tachykardien verbundene Auswirkung von Levamisol (64). Die Autoren beschrieben ebenfalls eine Erhöhung der Leberenzyme Alanin-Aminotransferase und Aspartat-Aminotransferase durch den Konsum von Levamisol. Diese könnten direkt oder indirekt einen Schaden am Myokard verursachen, welcher ebenfalls zu Arrhythmien und ventrikulären Tachykardien

führen kann (64). Da in dieser Studie allerdings nicht der Gesamtorganismus betrachtet wurde, sondern ausschließlich das Herz, lassen sich die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit durch diese Wirkung nicht erklären. Allerdings können Schäden am Myokard dieser Art auch durch die Veränderung des transmembranären Ionengradienten zustande kommen, welcher ebenfalls durch Levamisol beeinflusst wird (64).

3.3.2 Veränderung des Koronarflusses

Es wurde während der Verabreichungsperiode ein leichter Anstieg des CF beobachtet. In der Beobachtungsperiode wurde ein beginnend langsamer Abfall des CF-Wertes gemessen, welcher nach 30 Minuten stärker abfiel (59).

Bei der Literaturrecherche ergaben sich keine Hinweise auf eine Erklärung zu diesem Effekt unter den Bedingungen des vorliegenden Versuchsaufbaus. Mit Blick auf Veränderungen des CF fand sich lediglich eine von Michaud et al. und Indorato et al. beschriebene, durch eosinophile Inflammation hervorgerufene Verdickung der Intima mit einem darauf folgenden Vasospasmus der Koronargefäße (49,50). Dies hätte, wie oben unter Punkt 3.2.2 beschrieben, ebenfalls zur Folge, dass das Herz nicht mehr ausreichend mit Sauerstoff versorgt würde. Allerdings stellt sich auch hier die Frage, ob Levamisol bei den für die vorliegende Arbeit durchgeführten Versuchen überhaupt so lange im Gewebe verbleibt, um diese Reaktion zu verursachen. Auch besteht der von der Verfasserin eingesetzte Puffer lediglich aus den im Blut vorhandenen Salzen, Ionen und Zuckern. Es wurden dem Puffer keinerlei Zellen zugesetzt, die eine derartige Inflammation hervorrufen könnten. Entsprechend können derartige Inflammationen am Langendorff-Modell nicht auftreten. Folglich ist zu vermuten, dass ein anderer Mechanismus für diese Reaktion vorliegt. Allerdings findet sich aktuell in der Literatur hierzu keine Erklärung.

3.3.3 Veränderung des linksventrikulären Druckes

Der LVP zeigte während der Verabreichungsperiode von Levamisol entweder einen starken Anstieg oder einen starken Abfall. Während der Beobachtungsperiode konnte bei einigen Herzen ein erneuter LVP Anstieg gemessen werden (59).

In diesem Experiment löste Levamisol in einigen Fällen einen Anstieg des LVP_{max} schon bei geringer Konzentration während der Verabreichungsperiode aus. Das könnte sich eventuell dadurch erklären lassen, dass durch eine Blockierung von offenen Acetylcholin-Rezeptoren durch Levamisol ein Einstrom von Calcium-Ionen verursacht wird (22), aus dem wiederum eine erhöhte Kontraktilität des Myokards resultiert (20).

3.4 Mischungs-Herzen

Die Experimente an den Mischungs-Herzen zeigen, dass die Effekte an den Funktionsparametern eine Kombination der beiden Stoffe in ihrer Wirkung darstellen. Eine Potenzierung der Wirkung trat nicht auf. Weiterhin wurden weder offensichtliche Verstärkungen noch das Auftreten neuer Effekte beobachtet.

3.4.1 Veränderung der Herzfrequenz

Auf die Herzfrequenz bezogen, ließ sich ein Absinken der Herzfrequenz während der Zugabe beobachten. Dies war ähnlich wie bei der Verabreichung des reinen Cocains. Darauf folgte ein Anstieg der Herzfrequenz über einen Zeitraum von bis zu 90 Minuten, welcher der Zugabe von reinem Levamisol glich (59).

3.4.2 Veränderung des Koronarflusses

Bei der Beobachtung des CF konnten nur minimale Veränderungen festgestellt werden. Es wäre zu diskutieren, ob sich die Wirkungen der beiden Stoffe in dieser Hinsicht gegenseitig aufgehoben haben. Unter Zugabe der Einzelsubstanzen zeigte sich bei den Cocain-Herzen ein Absinken und bei den Levamisol-Herzen ein Anstieg des CF (59). Dieses Phänomen lässt sich allerdings bei der aktuellen Studienlage nicht abschließend erklären. Möglich wäre durch eine fehlende Verstoffwechslung ein gleichzeitiges Wirken beider Substanzen.

3.4.3 Veränderung des linksventrikulären Druckes

Beim LVP zeigte sich keine Änderung zur Wirkung der Einzelsubstanzen; er stieg leicht an, allerdings im selben Rahmen, wie es auch bei den Einzelsubstanzen der Fall war: völlig unabhängig von der Höhe der Dosierung sowohl der Einzelsubstanzen als auch der Kombination der beiden Stoffe in unterschiedlichen Verhältnissen (59).

3.5 Übertragung der Ergebnisse auf den realen Konsumenten

Das Langendorff-Modell stellt eine gute Möglichkeit dar, grundlegende Erkenntnisse zur kardialen Wirkung von Drogen und deren Verschnittstoffen zu untersuchen. Die Übertragung der Ergebnisse auf den realen Konsumenten kann aber nicht vorbehaltlos erfolgen, hier gilt es zwei wichtige Aspekte zu beachten: Typischerweise bestehen insbesondere bei langjährigen Drogenkonsumenten Vorerkrankungen, welche die in der vorliegenden Studie genutzten Rattenherzen nicht aufwiesen. Zudem ist mit Blick auf (Neben-) Wirkungen bei Drogen im Einzelfall auch immer eine mögliche genetische Disposition zu berücksichtigen. Sowohl der Einfluss von Vorerkrankungen als auch die genetische Disposition sollen im Folgenden näher betrachtet werden.

3.5.1 Vorerkrankungen

Konsumenten von Straßen-Cocain sind in der Regel etwa Mitte 30 (5,7) und konsumieren mehr oder weniger regelmäßig. Durch diese Regelmäßigkeit könnten Konsumenten einerseits an die Wirkung dieser Stoffe gewöhnt sein, andererseits könnten auch die negativen Folgen auf das Herz dadurch verstärkt werden. Bei Konsumenten von Straßen-Cocain finden sich typischerweise chronische Herzkrankheiten wie koronare Arteriosklerose oder Kardiomyopathien. In Studien von Michaud et al. (49) sowie Lai et al. (65) wurde gezeigt, dass der Konsum von Straßen-Cocain frühzeitig zu Arteriosklerose der Koronargefäße führen kann. Schwartz et al. (60) und Fischbach (28) berichten bei Konsumenten von Straßen-Cocain über vermehrte Kardiomyopathien. Auch werden in diesem Zusammenhang mit dem Konsum von Straßen-Cocain häufiger Linksherzhypertrophien beschrieben (23,25). Chronische Herzkrankheiten treten vermehrt auf, wenn der Konsum von Straßen-Cocain mit dem Missbrauch anderer Drogen, wie Marihuana, Heroin, Alkohol und/oder Tabak einhergeht (5,10,62,66–68). Diese Praktik ist recht weit verbreitet (6). Sowohl Alkohol als auch Tabakkonsum erhöhen vor allem das Risiko für Herz-Kreislaufkrankungen (68), aber auch für Kardiomyopathien (69). Dadurch wird ebenfalls die Ausbildung einer Arteriosklerose, auch in den Koronargefäßen, gefördert. Auch scheint der Sauerstoffbedarf des Herzens bei gleichzeitigem Konsum von Tabak und Straßen-Cocain viel mehr zu steigen als bei einem Einzelkonsum der Substanzen (23). Unter derartigen Bedingungen ist das Risiko für verhängnisvolle kardiale Komplikationen, die durch die Einnahme von Straßen-Cocain ausgelöst werden, deutlich erhöht (28) – umso mehr, wenn das Straßen-Cocain mit einem ebenfalls kardial wirksamen Verschnittstoff versetzt ist.

3.5.2 Genetische Disposition

Durch die genetische Vielfalt kann eine individuelle Disposition bezüglich der Anfälligkeiten für (Neben-)Wirkungen von Drogen erklärt werden (70). In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, dass die Wirkung von Drogen von

verschiedenen Genen abhängig ist (71–74). Auf Cocain bezogen, scheinen vor allem Gene, welche für Dopamin-Transporter (72) oder Dopamin-Rezeptoren (71) kodieren, eine besonders wichtige Rolle zu spielen. Sie könnten die Sensitivität für die Drogen verändern (71). Ebenfalls ist eine Belohnung des Drogenkonsums denkbar, welcher durch mangelhaft arbeitende Dopamin-Rezeptoren oder ein ineffizientes Dopamin-System gefördert wird. Dies hat einen erhöhten Konsum der Droge zur Folge (74). Ebenso besteht die Möglichkeit, dass einige Menschen eine genetische Disposition für eine Überempfindlichkeitsreaktion auf Levamisol besitzen. Dadurch kann unter anderem ein hypersensitives Koronarsyndrom ausgelöst werden. Dazu zählen vasospastische allergische Angina, allergischer Myokardinfarkt und Thrombosen (49). Bei Menschen mit einer genetischen Disposition einer HLA-B27-Positivität werden unter Einfluss von Levamisol vermehrt neutrophile Zellwandantigene ausgebildet. Diese Antigene stimulieren die Produktion von antineutrophilen zytoplasmatischen Antikörpern (ANCA) (34). In der Folge kann dies zum Churg-Strauss-Syndrom führen, welches mit dem klinischen Bild von nekrotisierenden Vaskuliditen, Myokarditiden und Koronaritiden einhergeht (69). Bei einigen Menschen existiert auch ein Gendefekt, welcher zu einer atypischen Pseudocholinesterase oder auch zu einem Pseudocholinesterase-Mangel führt. Dadurch werden die Halbwertszeit der Substrate, die durch Pseudocholinesterasen abgebaut werden, stark verlängert (17,75). Dieser Gendefekt fällt normalerweise nur auf, wenn Patienten nach einer Vollnarkose verlängert beatmet werden müssen. Ein solcher Fall im Rahmen einer 18-stündigen Beatmung nach einer Intervention ist bekannt (76). Eine so verlängerte Wirkung von Straßen-Cocain auf das Herz könnte verheerende Folgen haben. Dementsprechend gibt es einige Menschen, die besonders sensibel sind und drogenbezogene kardiale Wirkungen schon bei dem Konsum von relativ niedrig dosiertem Straßen-Cocain zeigen.

3.5.3 Limitationen

Bei der vorliegenden Studie muss berücksichtigt werden, dass das Herz isoliert betrachtet wurde. Alle Auswirkungen, die Cocain und Levamisol auf andere Gewebe und in der Folge auf die Herzfunktion haben, konnten somit nicht beurteilt werden. Die hier durchgeführten Experimente stellen eine gleichzeitige und direkte Wirkung von Cocain und Levamisol auf das Herz dar. Bei realem Konsum wirkt Cocain aufgrund der geringeren Halbwertszeit deutlich schneller als Levamisol. Ebenso findet in diesem *setting* keine Freisetzung von Katecholaminen im Gehirn statt. Beide Faktoren bedingen, dass es zu keinem zweizeitigen Einfluss auf das Herz kommen kann. In mehreren Studien, zum Beispiel von Pawlik et al., Seferian et al. und Chin et al. (41,51,53), konnte nachgewiesen werden, dass der Konsum von Levamisol zu pulmonaler Hypertonie führt. Dies kann eine Versteifung der Pulmonalgefäße sowie ein Rechtsherzversagen zur Folge haben (51). Auf Dauer führt dies zu einer Beeinträchtigung des Herzens in Form einer verminderten Auswurfleistung des linken Herzens. Zwar konnte in einigen Studien (30,32) die Verstoffwechslung von Levamisol zu Aminorex nachgewiesen werden. Es fehlen allerdings genauere Informationen, in welchem Organ und auf welchem Weg die Verstoffwechslung stattfindet. Auch die genaue Wirkung von Aminorex ist aufgrund fehlender Informationen schlecht zu beurteilen. Ebenfalls muss die geringe Fallzahl von insgesamt 42 getesteten Herzen (Cocain: 23, Levamisol: 10, Kontrolle: 4, Mischung: 5) berücksichtigt werden, welche im Hinblick auf eine (tier-) ethische Vertretbarkeit aber bewusst gewählt wurde.

3.6 Schlussfolgerung

Im Hinblick auf die rechtsmedizinische Fallarbeit lässt sich aus den vorliegenden Ergebnissen ableiten, dass der Tod in Konsequenz eines Konsums von Straßen-Cocain nicht unbedingt eine hohe Konzentration von Straßen-Cocain im Körper erfordert. Unsere Experimente konnten demonstrieren, dass auch niedrige Dosen von Cocain messbare Effekte auf die Herzfunktion haben. Dies gilt ebenso für Levamisol. Eine Mischung aus beiden

Substanzen resultierte zwar nicht in einer Potenzierung, allerdings dennoch in einer Addition der Wirkung der reinen Substanzen. Dies impliziert, dass auch der Konsum verhältnismäßig geringer Mengen von mit Levamisol verschnittenem Cocain zu tödlichen kardialen Komplikationen führen könnte. Die Möglichkeit dafür ist umso höher, wenn zur gleichen Zeit eine vorbestehende Herzerkrankung vorliegt, was bei langjährigen Konsumenten von Straßen-Cocain nicht unüblich ist. Auch eine genetische Disposition kann das Risiko für kardiale Komplikationen durch den Konsum von mit Levamisol verschnittenem Cocain erhöhen.

Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Bundeskriminalamt (BKA). Rauschgiftkriminalität Bundeslagebild 2017. 2017; Verfügbar unter: <https://www.bka.de/SharedDocs/Downloads/DE/Publikationen/JahresberichteUndLagebilder/Rauschgiftkriminalitaet/2017RauschgiftBundeslagebildZ.html>
2. Bundesregierung. Presse- information Rauschgifttote. 2017;1–8. Verfügbar unter: https://www.bka.de/DE/Presse/Listenseite_Pressemitteilungen/2017/Presse2017/170508_Rauschgiftkriminalitaet.html
3. Bundeskriminalamt (BKA). Rauschgiftkriminalität 2016 - Tabellenanhang. 2017; Verfügbar unter: <https://www.bka.de/SharedDocs/Downloads/DE/Publikationen/JahresberichteUndLagebilder/Rauschgiftkriminalitaet/2016RauschgiftBundeslagebildTabellen.html>
4. Bundeskriminalamt (BKA). Rauschgiftkriminalität Bundeslagebild 2018. 2018; Verfügbar unter: <https://www.bka.de/SharedDocs/Downloads/DE/Publikationen/JahresberichteUndLagebilder/Rauschgiftkriminalitaet/2018RauschgiftBundeslagebildZ.html>
5. Kozor R, Grieve SM, Buchholz S, Kaye S, Darke S, Bhindi R, u. a. Regular cocaine use is associated with increased systolic blood pressure, aortic stiffness and left ventricular mass in young otherwise healthy individuals. PLoS One. 2014;9(4):1–8.
6. Piontek D, Dammer E, Schneider F, Pfeiffer-Gerschel T, Bartsch G, Friedrich M. Drogen DEUTSCHLAND Bericht 2018 des nationalen REITOX-Knotenpunkts an die EMCDDA (Datenjahr 2017 / 2018). Berlin; 2018.
7. BZgA. Kokain , Crack & Freebase. 2020.

8. Giftzentrale Bonn. Kokain - Informationszentrale gegen Vergiftungen [Internet]. 2020. Verfügbar unter: <https://gizbonn.de/giftzentrale-bonn/drogen/kokain>
9. Lynch KL, Dominy SS, Graf J, Kral AH. Detection of Levamisole Exposure in Cocaine Users by Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry. 2011;35(October 2009):2009–11.
10. Knuth M, Temme O, Daldrup T, Pawlik E. Analysis of cocaine adulterants in human brain in cases of drug-related death. Forensic Sci Int [Internet]. 1. April 2018 [zitiert 11. März 2018];285:86–92. Verfügbar unter: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073818300446?via%3Dihub>
11. UNODC. Monitoreo de territorios afectados por cultivos ilícitos 2016. 2017;217. Verfügbar unter: https://www.unodc.org/documents/colombia/2017/julio/CENSO_2017_WEB_baja.pdf
12. United Nations. World Drug Report 2019 [Internet]. Vienna; 2019. Verfügbar unter: www.unodc.org/wdr2019
13. United Nations. World Drug Report 2019 Pre-release to Member States. 2019;(June). Verfügbar unter: https://wdr.unodc.org/wdr2019/prelaunch/pre-launchpresentation_WDR_2019.pdf
14. Osswald, Dominik; Rüegg M. Im Kokain ist das Wurmmittel drin. 2016; Verfügbar unter: <https://blog.tagesanzeiger.ch/datenblog/index.php/12248/kokain>
15. Pittrich WD. Therapie der Kokainabhängigkeit. Münster; 1997.
16. Musshoff F. Haaranalytik Technik und Interpretation in Medizin und Recht. 2004;(January):163–78.
17. Greafe KH, Lutz W, Bönisch H., Pharmakologie und Toxikologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2011. 78–79; 756–757 S.

18. Cone EJ. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Cocaine. 1995;19(October):459–78.
19. R.E. KS. Cocain - Lexikon der Wissenschaft. Spektrum Akad Verlag [Internet]. 2020; Verfügbar unter:
<https://www.spektrum.de/lexikon/neurowissenschaft/cocain/2274>
20. Schmidt RF, Lang F. Physiologie des Menschen. 30. Auflag. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2007. 440–473, 566–597 S.
21. Hollander JE. Cocaine-associated myocardial infarction. J R Soc Med. 1996;89(August):443–7.
22. Hofmaier T, Luf A, Seddik A, Stockner T, Holy M, Freissmuth M, u. a. Aminorex, a metabolite of the cocaine adulterant levamisole, exerts amphetamine like actions at monoamine transporters. Neurochem Int [Internet]. 2014;73(1):32–41. Verfügbar unter:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2013.11.010>
23. Lucena J, Blanco M, Jurado C, Rico A, Salguero M, Vazquez R, u. a. Cocaine-related sudden death: A prospective investigation in south-west Spain. Eur Heart J. 2010;31(3):318–29.
24. Simkhovich B.Z., Kloner R.A., Alker K.J. GJ. Time course of direct cardiotoxic effects of high cocaine concentration in isolated rabbit heart. New York: Journal of Cardiovascular Pharmacology; 1994. S. 23(3):509-16.
25. Hollander JE. Cocaine Intoxication and Hypertension. Ann Emerg Med. 2008;51(3 SUPPL. 1).
26. Milroy C. Karch's Pathology of Drug Abuse. J R Soc Med. 2002;95.
27. Vitullo JC, Karam R, Mekhail N, Wicker P, Engelmann GL, Khairallah P a. Cocaine-induced small vessel spasm in isolated rat hearts. Am J Pathol. 1989;135(1):85–91.

28. Fischbach P. The role of illicit drug use in sudden death in the young. *Cardiol Young* [Internet]. 2017;27(S1):S75–9. Verfügbar unter: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1047951116002274/type/journal_article
29. Fishman AP. Aminorex to Fen/Phen: An Epidemic Foretold. 1999;156–61.
30. Hess C, Ritke N, Broecker S, Madea B, Musshoff F. Metabolism of levamisole and kinetics of levamisole and aminorex in urine by means of LC-QTOF-HRMS and LC-QqQ-MS. *Anal Bioanal Chem.* 2013;405(12):4077–88.
31. Larocque ARSH. Levamisole in cocaine: Unexpected news from an old acquaintance. *Clin Toxicol.* 2012;50(4):231–41.
32. Barker SA. The formation of aminorex in racehorses following levamisole administration. A quantitative and chiral analysis following synthetic aminorex or levamisole administration vs. aminorex-positive samples from the field: A preliminary report. *J Vet Pharmacol Ther.* 2009;32(2):160–6.
33. Buchanan JA, Lavonas EJ. Agranulocytosis and other consequences due to use of illicit cocaine contaminated with levamisole. *Curr Opin Hematol* [Internet]. 2012;19(1):27–31. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22143075>
34. Auffenberg C, Rosenthal LJ, Dresner N. Levamisole: A Common Cocaine Adulterant with Life-Threatening Side Effects. *Psychosomatics* [Internet]. 2013;54(6):590–3. Verfügbar unter: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psych.2013.02.012>
35. Perbix C. Die Resistenzlage von Magen-Darm-Strongyliden gegenüber Moxidectin in deutschen Schafherden. 2008;
36. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 26879, Levamisole. In: PubChem [Internet]. 2020. Verfügbar unter: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Levamisole>

37. Hess C, Ritke N, Sydow K, Mehling L. Determination of levamisole, aminorex, and pemoline in plasma by means of liquid chromatography-mass spectrometry and application to a pharmacokinetic study of levamisole. 2014;(December 2013):1049–54.
38. Sigma-Aldrich. Aminorex Datasheet. Bd. 490. Germany; 1982. S. 1982.
39. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 16630, Aminorex. In: PubChem [Internet]. 2020. Verfügbar unter: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Aminorex>
40. Adams JG. Pharmacokinetics of levamisole. J Rheumatol Suppl [Internet]. 1978;4:137–42. Verfügbar unter: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/282444/>
41. Pawlik E, Mahler H, Hartung B, Plässer G, Daldrup T. Drug-related death: Adulterants from cocaine preparations in lung tissue and blood. Forensic Sci Int. 2015;249:294–303.
42. Rayes D, Rosa D, Bartos M, Bouzat C, Bahı B. Molecular Basis of the Differential Sensitivity of Nematode and Mammalian Muscle to the Anthelmintic Agent Levamisole *. 2004;279(35):36372–81.
43. Levandoski MM, Piket B, Chang J. The anthelmintic levamisole is an allosteric modulator of human neuronal nicotinic acetylcholine receptors. 2003;471:9–20.
44. Huppelsberg J, Walter K. Kurzlehrbuch Physiologie. 2.Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005. 251–273 S.
45. Ho ENM, Leung DKK, Leung GNW, Wan TSM, Wong ASY, Wong CHF, u. a. Analytica Chimica Acta Aminorex and rexamino as metabolites of levamisole in the horse. 2009;638:58–68.
46. Kouassi E., Caillé G., Léry L., Larivière L. VM. Novel assay and pharmacokinetics of levamisole and p-hydroxylevamisole in human plasma and urine. Biopharm Drug Dispos. 1986;7(1):71–89.

47. Engelmann GL, Richardson AG. EFFECTS OF LEVAMISOLE ON PRIMARY CULTURES OF ADULT RAT HEPATOCYTES. 1986;35(9):1547–54.
48. Reid JM, Kovach S, Connell MJO, Bagniewski PG. Clinical and pharmacokinetic studies of high-dose levamisole in combination with 5-^uuorouracil in patients with advanced cancer. 1998;477–84.
49. Michaud K, Grabherr S, Shiferaw K, Doenz F, Augsburger M, Mangin P. Acute coronary syndrome after levamisole-adulterated cocaine abuse. J Forensic Leg Med [Internet]. 2014;21:48–52. Verfügbar unter: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jflm.2013.10.015>
50. Indorato F, Romano G, Barbera N. Levamisole-adulterated cocaine: Two fatal case reports and evaluation of possible cocaine toxicity potentiation. Forensic Sci Int [Internet]. 2016;265:103–6. Verfügbar unter: <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.01.005>
51. Seferian A, Chaumais M-C, Savale L, Günther S, Tubert-Bitter P, Humbert M, u. a. Drugs induced pulmonary arterial hypertension. Presse Med [Internet]. 2013;42(9):e303–10. Verfügbar unter: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0755498213006672>
52. Karch SB, Busardò FP, Vaiano F, Portelli F, Zaami S, Bertol E. Levamisole adulterated cocaine and pulmonary vasculitis: Presentation of two lethal cases and brief literature review. Forensic Sci Int. 2016;265:96–102.
53. Chin KM, Channick RN, Rubin LJ. Is Methamphetamine Use Associated With Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension? Chest [Internet]. 2006;130(6):1657–63. Verfügbar unter: <http://dx.doi.org/10.1378/chest.130.6.1657>
54. Gurtner HP. Aminorex and pulmonary hypertension. Cor vasa. 1985;27(2–3):160–72.

55. Onuaguluchi G II. Electrocardiographic changes induced by levamisole hydrochloride in the rat. Arch Int Pharmacodyn Ther [Internet]. 1990;May-June(305):55–62. Verfügbar unter: <https://www.pubmed.de/gateway/nlm-pubmed/>
56. Muralt A v. Praktische Physiologie. 3rd Aufl. Springer-Verlag OBG. in Berlin and Beideiberg; 1943.
57. v. Bruchhausen F, Dannhardt G, Ebel S, Frahm AW, Hackenthal E, Holzgrabe U. Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis: Band 8: Stoffe E-O. 1993. 711 S.
58. Döring HJ. The Isolated Perfused Heart according to Langendorff - History and Presence, Modifications and Applications. Acta Chir Austriaca [Internet]. 1996;(2):328–33. Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1007/BF02616276>
59. Gartz A, Pawlik E, Eckhardt J, Ritz-timme S, Huhn R, Mayer F. Effects of cocaine and levamisole (as adulterant) on the isolated perfused Langendorff heart. Int J Legal Med. 2020;134:1741–52.
60. Schwartz BG, Rezkalla S, Kloner RA. Cardiovascular effects of cocaine. Circulation. 2010;122(24):2558–69.
61. Mahoney JJI, Haile CN, De La Garza RI, Thakkar H, Newton TF. Electrocardiographic Characteristics in Individuals With Cocaine Use Disorder. 2017;221–7.
62. Sharma J, Rathnayaka N, Green CPD, Moeller FGMD, Schmitz JMPD, Shoham D, u. a. Bradycardia as a marker of chronic cocaine use: A novel cardiovascular findin. Behav Med. 2016;42:1–8.
63. Aumüller G, Aust G, Doll A, Engele J, Kirsch J, Mense S, u. a. Anatomie. 1.Auflage. Bob A, Bob K, Herausgeber. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2007.

64. Al-Salmany AKM, Alaa Z. Effect of toxic dose of levamisole on electrocardiogram and serum enzymes concentration in lambs Effect of toxic dose of levamisole on electrocardiogram and serum enzymes concentration in lambs. 2019;(January 2017).
65. Lai S, Lima JAC, Lai H, Vlahov D, Celentano D, Tong W, u. a. Human Immunodeficiency Virus 1 Infection, Cocaine, and Coronary Calcification. Arch Intern Med [Internet]. 28. März 2005;165(6):690–5. Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1001/archinte.165.6.690>
66. Harrell PT, Trenez RC, Scherer M, Pacek LR, Latimer WW. Cigarette smoking, illicit drug use, and routes of administration among heroin and cocaine users. Addict Behav [Internet]. 2012;37(5):678–81. Verfügbar unter: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addbeh.2012.01.011>
67. Epstein DH, Marrone GF, Heishman SJ, Schmittner J, Preston KL. Tobacco, cocaine, and heroin: Craving and use during daily life. Addict Behav [Internet]. 2010;35(4):318–24. Verfügbar unter: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addbeh.2009.11.003>
68. Krönig B, Raupach T, Schaller K, Pötschke-Langer M. Fakten zum Rauchen: Durch Rauchen und Passivrauchen verursachte Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems. Dtsch Krebsforsch. 2008;
69. Herold G. Innere Medizin. Herold G, Herausgeber. Köln: Gerd Herold; 2017.
70. Vanyukov MM, Tarter RE. Genetic studies of substance abuse. Drug Alcohol Depend. 2000;59(2):101–23.
71. Crabbe JC, Phillips TJ. Genetics of alcohol and other abused drugs. Drug Alcohol Depend. 1998;51(1–2):61–71.
72. Thomsen M, Hall FS, Uhl GR, Caine SB. Dramatically Decreased Cocaine Self-Administration in Dopamine But Not Serotonin Transporter Knock-Out Mice. J Neurosci [Internet]. 2009;29(4):1087–92. Verfügbar unter: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.4037-08.2009>

73. Schmidt LS, Thomsen M, Weikop P, Dencker D, Wess J, Woldbye DPD, u. a. Increased cocaine self-administration in M4 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Psychopharmacology (Berl)* [Internet]. 2011;216(3):367–78. Verfügbar unter:
<http://link.springer.com/10.1007/s00213-011-2225-4>
74. Sillaber I, Henniger MSH. *Genetik und Drogensucht*. BIOSpektrum. 2002;3(8. Jahrgang):252–5.
75. Schulte am Esch J, Bause H, Kochs E, Scholz J, Standl T, Werner C. *Anästhesie*. 4. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2011.
76. Robles A, Michael M, McCallum R. Pseudocholinesterase Deficiency: What the Proceduralist Needs to Know. *Am J Med Sci* [Internet]. 2019;357(3):263–7. Verfügbar unter:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002962918304154>

Danksagung

Mein Dank gilt zunächst Frau Prof. Dr. Stefanie Ritz-Timme, meiner Doktormutter, für die Bereitstellung des Themas und ihre Unterstützung.

Außerdem danke ich Herrn Dr. Felix Meyer für seine Unterstützung und die hilfreichen Anmerkungen sowohl bei der Ausarbeitung der Publikation als auch der Dissertation.

Frau Dr. Evelyn Pawlik möchte ich für die Bereitstellung der Substanzen und die Unterstützung bei Umrechnungen sowie für die Hilfe bei der Ausarbeitung der Diagramme danken.

Ein besonderer Dank gilt sowohl meiner Schwester, Frau Dr. Esther Mose, für Hilfestellungen bei Formatierungen und der Diagrammerstellung als auch Gabriele Monjau, deren mehrfache Durchsicht, sowie differenzierte Anmerkungen und kritisches Hinterfragen die Anfertigung der Dissertation erleichterten.

Mein außerordentlicher Dank gilt meinen Eltern, die mir mein Studium ermöglichten und stets an mich glauben.